

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroba endofit adalah salah satu sumber senyawa bioaktif. Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Mikroba endofit memiliki potensi yang besar dalam pencarian sumber-sumber obat baru. Hal ini karena mikroba merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi (Prihatiningtyas, 2005).

Senyawa antimikroba tidak hanya dapat dihasilkan oleh tumbuhan maupun hewan, akan tetapi dapat juga berasal dari mikroba. Salah satu yang berpotensi tersebut adalah bakteri endofit. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan vascular tumbuhan tanpa menyebabkan efek negatif (Nursanty dan Suhartono, 2012). Mikroba endofit memiliki aktivitas biologi yang tinggi. Beberapa penelitian tentang mikroba endofit, menunjukkan bahwa mikroba endofit memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba, anti kanker, antimalarial, antioksidan dan antibakteri (Prihatiningtyas, 2005).

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti

terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Nursanty dan Suhartono, 2012). Bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya. Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengembangan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman tersebut (Priharta, 2008). Penggunaan ekstrak tanaman tentunya membutuhkan banyak tanaman sehingga, lebih banyak membutuhkan biaya untuk bibit dan lahan. Perawatannya juga memakan waktu yang sangat lama selain itu, memiliki resiko hasil yang kurang baik akibat faktor cuaca, intensitas cahaya, tanah yang kurang bernutrisi dan lain – lain (Prihatiningtyas, 2005).

Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) mengandung senyawa kurkumin, minyak atsiri, tannin, saponin, alkaloid dan lain- lain. Senyawa tersebut bermanfaat sebagai antibakteri. Bakteri endofit yang diisolasi dari rimpang tersebut kemungkinan besar juga menghasilkan senyawa yang sama dengan tumbuhan inangnya (Radji, 2005).

Penelitian yang dilakukan melanjutkan penelitian sebelumnya yang mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit tanaman rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Hasil isolat yang didapat ada 4 isolat yaitu 2 spesies *Actinomyces viscosus* hasil isolasi dari tanaman temulawak di Batu (BT1) dan Purwodadi (PD1), *Pseudomonas stutzeri* dari Batu (BT2) dan *Bacillus brevis* dari

Purwodadi (PD2) (Imawati, 2015). 4 isolat tersebut yang akan diuji antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit ikan yaitu *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae*.

Penelitian yang dilakukan, menggunakan isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak. Di Indonesia satu-satunya bagian temulawak yang dimanfaatkan adalah rimpang temulawak untuk dibuat jamu godog. Rimpang ini mengandung 48-59,64 % zat tepung, 1,6-2,2 % kurkumin dan 1,48-1,63 % minyak atsiri. Senyawa kurkumin pada tanaman *Curcuma* sp. paling dominan terdapat pada tanaman *Curcuma* sp. dari pada senyawa – senyawa berkhasiat lainnya yaitu minyak atsiri, tannin, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid dan glikosida selain itu, manfaat kurkumin lebih besar dibanding senyawa lainnya yaitu dipercaya dapat meningkatkan kerja ginjal serta anti inflamasi, sebagai obat jerawat, meningkatkan nafsu makan, anti kolesterol, anti inflamasi, anemia, antioksidan, pencegah kanker, dan antimikroba (Rahmat, 1995). Maka dari itu, penelitian ini mengkaji lebih dalam terkait enzim penghasil kurkumin yang kemungkinan dimiliki oleh bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). 3 spesies dari 4 isolat bakteri yang sudah teridentifikasi pada penelitian sebelumnya, dikaji dengan bioinformatika untuk mengetahui kesamaan sekuens gen antara spesies bakteri dan enzim penghasil kurkumin. Melihat kesamaan sekuens gen bisa dilakukan dengan metode BLAST.

Penelusuran BLAST (BLAST *search*) pada data sekuens memungkinkan ilmuwan untuk mencari sekuens baik asam nukleat maupun protein yang mirip dengan sekuens tertentu yang dimilikinya. Hal ini berguna misalnya untuk

menemukan gen sejenis pada beberapa organisme atau untuk memeriksa keabsahan hasil sekuensing atau untuk memeriksa fungsi gen hasil sekuensing. Algoritma yang mendasari kerja BLAST adalah pensejajaran sekuens (Fatchiyah, 2009).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat menghasilkan senyawa kurkumin karena memiliki enzim kurkumin sintase. Enzim ini yang bereaksi dengan substrat Feruloil diketida koenzim A dan menghasilkan senyawa kurkumin. Penelitian sebelumnya belum diteliti bahwa spesies bakteri endofit rimpang temulawak juga menghasilkan senyawa kurkumin yang sama dengan tumbuhan inangnya. Maka dari itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui spesies bakteri endofit rimpang temulawak memiliki enzim penghasil kurkumin.

Bakteri endofit yang memiliki enzim penghasil senyawa kurkumin kemungkinan besar bisa menghasilkan senyawa kurkumin karena enzim tersebut dapat merubah suatu substrat yang cocok menjadi kurkumin. Penelitian tentang bakteri endofit memiliki substrat yang cocok dengan enzim penghasil kurkumin bisa dilakukan oleh peneliti selanjutnya apabila bakteri endofit pada penelitian ini, memang positif memiliki enzim penghasil kurkumin.

Penelitian ini lebih memilih menggunakan bakteri endofit untuk uji antibakteri dari pada ekstrak tanamannya karena penggunaan ekstrak tanaman membutuhkan banyak tanaman. Hal itu lebih banyak membutuhkan biaya untuk bibit dan lahan. Perawatannya juga memakan waktu yang sangat lama selain itu, memiliki resiko hasil yang kurang baik akibat faktor cuaca, intensitas cahaya, tanah yang kurang bernutrisi dan lain – lain (Prihatiningtyas, 2005).

Ikan menjadi salah satu komoditas perikanan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Kandungan protein dalam ikan ini cukup tinggi dan harga ikan yang murah, sehingga sangat digemari oleh masyarakat. Sasaran produksi yang tinggi akan mengakibatkan pembudidaya melakukan budidaya ikan (contohnya) secara intensif. Sistem budidaya yang bersifat intensif tersebut akan mengalami dampak negatif, antara lain timbulnya penyakit. Supriyadi dan Bastiawan (2004) menjelaskan bahwa budidaya ikan yang semakin intensif memiliki relevansi dengan semakin tingginya tingkat infeksi terhadap serangan bakteri.

Penyakit yang mewabah pada budidaya ikan nila di Jawa Barat dan beberapa pulau di Indonesia pada tahun-tahun belakangan ini adalah penyakit *streptococcosis*. Penyakit tersebut disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*, yang menyerang otak, mata, dan ginjal ikan. Bakteri tersebut juga ditemukan pada hewan mamalia laut dan bersifat patogen bagi hewan mamalia teresterial dan ikan (Hardi *et al.*, 2011).

Jenis penyakit bakterial ganas lain yang menyerang ikan-ikan budidaya air tawar adalah *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) atau *Haemorrhagic Septicemia*. Penyakit ini memperlihatkan gejala-gejala seperti kehilangan nafsu makan, luka-luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisik lepas, sirip ekor lepas, jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Biasanya bakteri ini menyerang ikan mas, gurami, mujair, serta ikan nila. Penyakit ini menyebabkan kematian diatas 80% dalam waktu relatif

singkat. Hal ini dikarenakan tingkat keganasan bakteri *Aeromonas hydrophilla* sangat tinggi (Tantu *et al.*, 2013).

Ikan yang terserang penyakit Motile Aeromonas Septicemia (MAS) pertumbuhannya terganggu bahkan, dapat menyebabkan kematian, sehingga menimbulkan kerugian yang besar di bidang perikanan. Penyakit bakterial pada ikan khususnya yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophilla* menyebabkan wabah penyakit pada ikan karper di Jawa Barat dan berakibat kematian sebanyak 125 ton. Hal yang demikian sangat merugikan pihak perikanan (Lukisetiowati dan kurniasih, 2011).

Penyakit ikan yang mewabah banyak disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah infeksi dari *Aeromonas hydrophilla* yang menyebabkan kematian 82.288 ikan di Jawa Barat. Pada tahun 2005 sebanyak 47 ton ikan gurame dan 2,1 juta ekor benih gurame yang siap dipasarkan mati disebabkan penyakit serupa di Lubuk Pandan, Sumatra Barat. Berbagai usaha telah dilakukan untuk mengatasi masalah penyakit ikan air tawar dari mulai menciptakan lingkungan optimal, karantina, vaksinasi, disinfeksi wabah hingga penggunaan antibiotik. Pemberian antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dan dilakukan terus menerus dapat pula menyebabkan pencemaran lingkungan. Selain itu terjadi resistensi terhadap bakteri. Dampak lebih jauh, ikan-ikan yang mengandung antibiotik melebihi standar tidak laku untuk diekspor. Pasalnya beberapa negara Eropa menerapkan standar antibiotik yang aman yaitu Kloramfenikol maksimal 0 Ppb Nitrofurantoin maksimal 0 Ppb, Tetrasiklin maksimal 100 Ppb (Wahono, 2011).

Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* adalah dengan pemberian bahan kimia maupun antibiotik sintetis seperti *tetracycline*. Pemberian bahan kimia ini memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan, akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan efek negatif. Residu antibiotik dapat mencemari lingkungan dan juga dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk dikonsumsi oleh manusia (Lukisetiowati dan kurniasih, 2011). Upaya dengan membuat vaksin juga sudah dilakukan namun, hasil dari vaksinasi kurang memuaskan (Rindangsah, 2001).

Upaya pencegahan penyakit dengan menggunakan bahan-bahan antibiotik telah banyak dilakukan karena sifat antibiotik yang secara selektif dapat menghambat dan membunuh organisme patogen tanpa merusak inang sejauh dosisnya tepat. Penggunaan antibiotik yang digunakan memiliki dampak negatif yaitu dapat menyebabkan residu dan resistensi pada ikan sehingga, tingkat mortalitas semakin tinggi dan biaya pengobatan semakin mahal untuk menggunakan antibiotik baru (Sarjito, 2014).

Pemanfaatan jamu pada ternak di Indonesia masih sangat terbatas (Sinurat, 2009). Beberapa tanaman berkhasiat yang sudah diteliti penggunaannya untuk ternak diantaranya adalah: mengkudu (*Bananas latifolia* Rumph.) (Bintang *et al.*, 2007), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) (Sinurat, 2009). Tanaman ini memiliki khasiat yang luar biasa sebagai obat.

Salah satu alternatif aman untuk pencegahan penyakit ini adalah dengan memanfaatkan bahan alami seperti rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Rimpang temulawak diketahui mengandung zat antimikroba, salah satu kandungannya adalah kurkumin yang dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikroorganisme (Ardiansyah, 2007).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji antibakteri pada ikan *Aeromonas hydrophilla* dengan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Berdasarkan hasil Uji MIC, konsentrasi ekstrak temulawak diatas 5% menunjukkan warna jernih, berarti pada tingkat konsentrasi tersebut mampu menekan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Hasil uji cakram menunjukkan adanya pengaruh nyata dari ekstrak temulawak terhadap zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak temulawak yang diberikan, memiliki kecenderungan meningkatkan zona hambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* (Samsundari, 2006).

Mengenai sejarah asal usul keberadaan bakteri diciptakan dan sebangsanya (hewan), dijelaskan melalui firman Allah SWT. dalam kitab suci Al-Qur'an surah An-Nur (45) ayat 45:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِنْ مَاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ

مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۗ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۗ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ

artinya: "Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki.

Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu”.(Q.S.An-Nur (24): 45)

Menurut M.Quraish Shihab dalam kitabnya yang berjudul tafsir al-misbah menjelaskan bahwa tafsir ayat di atas yaitu; ayat di atas menegaskan bahwa: Dan disamping bukti-bukti kekuasaan dan limpahan anugerah-Nya, Allah juga telah menciptakan semua jenis hewan dari air yang memancar sebagaimana Dia menciptakan tumbuhan dari air tercurah. Lalu Allah menjadikan hewan-hewan itu beraneka ragam jenis, potensi dan fungsinya, termasuk bakteri. Betapa penciptaan binatang menunjukkan kekuasaan Allah sekaligus kehendak-Nya yang mutlak dari satu sisi, bahan penciptaannya sama yaitu air, tetapi air dijadikannya berbeda-beda, lalu dengan perbedaan itu Dia menciptakan makhluk yang memiliki potensi dan fungsi berbeda-beda pula yang sungguh berbeda dengan substansi serta kadar air yang merupakan bahan kejadiannya (Shihab, 2002).

Ayat di atas menjelaskan aneka macam cara berjalan. Tentulah untuk berjalan diperlukan kaki. Sungguh menakjubkan sesuatu yang dapat berjalan dengan empat kaki, tetapi lebih menakjubkan lagi jika dia berjalan hanya dengan dua kaki, dan lebih menakjubkan dari ini adalah yang berjalan tanpa kaki. Ayat di atas memulai dari yang sangat menakjubkan, yaitu yang berjalan tanpa kaki hingga yang berjalan dengan empat kaki (Shihab, 2002).

Menurut tafsir Departemen Agama RI (1994), ayat di atas Allah mengarahkan perhatian manusia supaya memperhatikan binatang-binatang termasuk bakteri yang bermacam-macam jenis dan bentuknya. Dia telah menciptakan semua jenis binatang

itu dari air. Ternyata memang air itulah yang menjadi pokok bagi kehidupan binatang dan sebagian besar dari unsur-unsur yang ada dalam tubuhnya adalah air, dan tidak akan dapat bertahan dalam hidupnya tanpa air. Allah menerangkan bahwa Dia menciptakan apa yang dikehendaki-Nya bukan saja binatang-binatang yang berkaki banyak tetapi mencakup semua binatang dengan berbagai macam bentuk termasuk bakteri.

Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah menyebutkan kekuasaan-Nya yang maha sempurna dan kerajaan-Nya yang Maha Agung dengan menciptakan berbagai jenis makhluk dalam bentuk, rupa, warna dan gerak gerik yang berbeda dari satu unsur yang sama, yaitu air. Firman Allah “Sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya,” seperti ular dan sejenisnya. Firman Allah : “Sebagian berjalan dengan dua kaki,” seperti manusia dan burung. “Sedang bagian yang lain berjalan dengan empat kaki,” seperti hewan ternak dan binatang lain (Bin Ishaq Alu Syaikh, 2004).

Berdasarkan tafsir al misbah menjelaskan bahwa Allah menjadikan hewan-hewan dengan beraneka ragam jenis, potensi dan fungsinya, termasuk bakteri. Sebagaimana bakteri yang dimanfaatkan pada penelitian ini juga memiliki potensi dalam menghasilkan metabolit sekunder untuk antibakteri. Berdasarkan tafsir Departemen Agama RI Allah mengarahkan perhatian manusia supaya memperhatikan binatang-binatang termasuk bakteri yang bermacam-macam jenis dan bentuknya. Sebagaimana pada penelitian ini terdapat bakteri yang memiliki bentuk bermacam – macam dan berbeda jenis (spesies) ada yang pathogen dan ada yang tidak.

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir, Allah menyebutkan kekuasaan-Nya yang Maha Sempurna dengan menciptakan berbagai jenis makhluk dalam bentuk, rupa, warna dan gerak-gerik yang berbeda dari satu unsur yang sama, yaitu air, dari air bisa tercipta berbagai jenis makhluk hidup termasuk bakteri. Setiap makhluk hidup juga membutuhkan air termasuk bakteri. Bakteri membutuhkan air untuk media pertumbuhannya.

Adanya persoalan terkait penyakit pada ikan, menimbulkan banyak penelitian yang mencari kandidat bahan antibakteri terhadap bakteri patogen ikan yang berasal dari alam atau bahan biologi. Rimpang temulawak memiliki khasiat antibakteri yang baik karena mengandung senyawa kurkumin. Isolat yang sudah diisolasi dari tanaman rimpang temulawak yaitu *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* akan dianalisis dengan bioinformatika memiliki enzim penghasil senyawa kurkumin yang kedepannya dapat dikaji lebih dalam bahwa spesies tersebut dapat menghasilkan kurkumin. Bakteri endofit rimpang temulawak diharapkan dapat menjadi antibakteri yang baik dalam membantu pengendalian penyakit ikan akibat bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Aeromonas hydrophilla*.

1.2 Rumusan masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus agalactiae* dan *Aeromonas hydrophilla*?

2. Apakah bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki enzim penghasil senyawa kurkumin?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui bahwa isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus agalactiae* dan *Aeromonas hydrophilla*.
2. Untuk mengetahui bahwa bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki enzim penghasil senyawa kurkumin.

1.4 Manfaat penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Bagi masyarakat, dapat membantu peternak ikan dalam mengatasi penyakit ikan yang disebabkan mikroba patogen. Tentunya dengan memberikan alternatif lebih baik dari pada penggunaan obat-obatan yang memiliki efek samping.
2. Bagi peneliti selanjutnya, dapat dijadikan salah satu trobosan untuk perkembangan antibakteri yang tepat dalam pengendalian penyakit ikan secara in vitro dan dapat memberikan inovasi dalam memanfaatkan bakteri endofit hasil isolasi dalam penggunaan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan yaitu kurkumin.

1.5 Hipotesis

1. Adanya pengaruh pemberian antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit rimpang temulawak yaitu dari bakteri *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* terhadap daya hambat pertumbuhan *Streptococcus agalactiae* dan *Aeromonas hydrophilla*
2. Bakteri endofit rimpang temulawak yaitu *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* memiliki enzim penghasil senyawa metabolit sekunder berupa senyawa kurkumin

1.6 Batasan masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri tersebut yaitu Zona Hambat antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit ikan
2. Mengkaji adanya enzim penghasil senyawa kurkumin pada bakteri endofit secara in silico dengan bioinformatik secara kualitatif