

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit pada tanaman yang disebabkan oleh jamur dapat mengakibatkan penurunan produksi tanaman secara signifikan. Salah satu diantaranya adalah *antraknosa pada cabai (Capsicum annum)* yang disebabkan oleh *Colletotrichum* spp. yang menyebabkan penurunan hasil produksi tanaman 10% sampai 80% (Freeman, 1998; Than, 2008; Mahasuk, 2013). Pengendalian jamur fitopatogen menggunakan fungisida sintetik menyebabkan akumulasi residu bahan kimia berbahaya yang dapat menimbulkan masalah ekologi yang serius. Penggunaan agen biokontrol untuk mengatasi serangan jamur fitopatogen menjadi sebuah strategi pengendalian yang potensial dalam beberapa tahun terakhir. Sejumlah agen biokontrol memproduksi enzim yang menghidrolisis kitin, protein, selulosa, dan hemiselulosa, yang berkontribusi secara langsung untuk menghambat patogen tanaman (Nega *et al.*, 2014).

Kitin dan glukukan merupakan senyawa utama penyusun dinding sel jamur. β -1,3-glukanase dan kitinase merupakan enzim utama yang berperan untuk lisis dinding sel dan degradasinya (Küçük dan Kivanç, 2004). Kitinase merupakan enzim yang krusial untuk mendegradasi dinding sel jamur (Moebius *et al.*, 2014). Dengan demikian kitinase bisa dijadikan sebagai biokontrol untuk mengatasi jamur fitopatogen.

Selama bertahun-tahun, beberapa spesies bakteri yang menghasilkan kitinase sudah dipelajari untuk berbagai aplikasi, diantaranya adalah *Serratia*, *Chromobacterium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Vibrio*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Streptomyces* dan *Bacillus* (Singh *et al.*, 2013; Islam *et al.*, 2015). Kitinase bakteri umumnya dikelompokkan ke dalam famili GH-18, yang terdiri atas subfamili kitinase A (*ChiA*), kitinase B (*ChiB*), dan kitinase C (*ChiC*) (Metcalf *et al.*, 2002). *ChiA* dan *ChiB* merupakan eksonuklease yang mendegradasi kitin dari arah yang berlawanan (eksoenzim) dan *ChiC* bersifat endoenzim (Horn *et al.*, 2006).

Gen-gen pengkode kitinase telah dikloning dari berbagai jenis organisme, termasuk bakteri. Bakteri kitinolitik dari genus Aeromonas dan Serratia merupakan agen yang potensial sebagai biokontrol berbagai jamur fitopatogen (Chernin et al., 1996). Gen pengkode ChiA, ChiB, dan ChiC dari Serratia marcescens, masing-masingnya sudah dikloning dan diekspresikan dalam E. coli BL21 (Danişmazoğlu et al., 2015). Hasil pengujiannya menunjukkan bahwa 1000 U/mL ChiA, ChiB, dan ChiC memiliki aktivitas insektisida 80%, 45%, dan 50% terhadap H. armigera dalam sepuluh hari. Pengujian yang dilakukan oleh Shapira et al. (1989) menunjukkan bahwa enzim ChiA mampu menekan penyakit yang disebabkan oleh S. rolfsii pada buncis dan Rhizoctonia solani pada kapas sebesar 62%.

Pengujian yang dilakukan oleh Kamelia (2015, komunikasi pribadi) menunjukkan bahwa UBCR_12 memiliki kemampuan untuk menghidrolisis kitin oleh enzim kitinase yang dihasilkannya. Isolat UBCR_12 (*Unand Bacterial Collection Rhizosphere_12*) ini merupakan bakteri yang diisolasi dari perakaran (*Rhizosphere*) tanaman bawang. Sebelumnya, Riwani (2012) telah melakukan pengujian kemampuan antagonis UBCR_12 terhadap jamur *Colletotrichum gloeosporioides* secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi agar. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa *persentase kemampuan penekanan bakteri ini terhadap pertumbuhan jamur tersebut adalah 33,3% menggunakan ekstrak ekstraselulernya dan 43,3% dengan menggunakan koloni bakteri.*

Chernin (1997) dan Downing (2000) melaporkan bahwa beberapa kitinase dari bakteri kitinolitik, seperti enzim kitinase A (ChiA) dari Serratia marcescens dan S. plymuthica merupakan agen yang potensial sebagai biokontrol penyakit tanaman yang disebabkan berbagai jenis jamur fitopatogen. Dengan diketahuinya bahwa isolat UBCR_12 adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase, maka upaya rekayasa genetika terhadap gen pengkode ChiA dari isolat UBCR_12 menjadi mungkin untuk dilakukan. Rekayasa genetika adalah salah-satu upaya untuk meningkatkan kemampuan enzim kitinase sebagai antijamur.

Langkah awal yang dilakukan dalam rekayasa gen *ChiA* dari isolat UBCR_12 adalah menkloning gen tersebut. Melalui kloning, gen pengkode *ChiA* diamplifikasi

menggunakan PCR, lalu diligasikan ke *pGEM-T Easy*, dan selanjutnya diperbanyak di dalam *E. coli*. Setelah kloning dilakukan, gen *ChiA* tersebut dikarakterisasi untuk memastikan bahwa gen yang ditransformasikan ke *E. coli* tersebut adalah gen *ChiA* yang sesuai harapan. Berdasarkan uraian tersebut penulis melakukan penelitian dengan judul **Kloning Gen Pengkode Kitinase-A (*ChiA*) dari Bakteri Rizosfer (UBCR_12)**.

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengkloning gen *ChiA* dari isolat UBCR_12 dan mengkarakterisasi gen tersebut.

