

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim kitinolitik (EC.3.2.1.14) merupakan kelompok enzim glikosil hidrolase yang mengkatalisis degradasi polimer kitin, suatu polimer linear dari monomer N-asetilglukosamin (NAG) yang terikat oleh ikatan β -1-4 ikatan glikosida. Polimer kitin terdistribusi di alam dalam bentuk sebagai penyusun utama kerangka krustasea (kepiting, udang), eksoskeleton dari serangga dan dinding sel jamur. Kitin banyak ditemukan dalam bentuk senyawa yang berikatan dengan senyawa protein dan senyawa glukan. Kitin merupakan senyawa organik kedua paling banyak di alam setelah selulosa. Kitin memiliki sifat biokompatibel, bidegradabel dan bioabsorbel, sifat antimikroba, sehingga kitin banyak digunakan dalam bidang biomedik (Bholay *et al.*, 2015).

Enzim kitinolitik dapat dihasilkan dari bermacam organisme, sehingga karakteristik enzim kitinolitik yang dihasilkan memiliki tingkat kespesifikan substrat yang berbeda serta karakteristik yang bervariasi. Pada bakteri, enzim kitinolitik memainkan peran penting yang berkaitan dengan nutrisi dan parasitisme, sedangkan pada jamur, protozoa dan invertebrata, enzim kitinolitik berperan dalam proses morfogenesis. Enzim kitinolitik telah berhasil digunakan untuk menghasilkan *single cell protein* (SCP), preparasi senyawa bioaktif oligosakarida dan mekanisme pertahanan tanaman terhadap inhibisi dari

mikroba patogen. Isolasi dan produksi enzim kitinolitik sangat dipengaruhi oleh waktu dan pH lingkungan (Islam dan Datta., 2015).

Enzim kitinolitik dapat diisolasi dari tanaman, jamur, yeast, bakteri, organisme vertebrata dan berbagai sumber lainnya. Enzim kitinolitik yang sudah diisolasi ini bahkan sudah dikarakterisasi dan diaplikasikan dalam berbagai bidang (Battacharya *et al.*, 2007). Proses enzimatik melibatkan enzim kitinolitik dalam degradasi kitin relatif lebih baik dibandingkan secara termokimia karena reaksi mudah dikendalikan, terurai secara biologis (biodegradable), ramah lingkungan (biocompatible), lebih ekonomis, serta dapat membentuk oligomer atau polimer yang diinginkan (Bholay *et al.*, 2015). Kito-oligomer yang dihasilkan dari hidrolisis kitin secara enzimatik memiliki aplikasi yang luas terutama di bidang medis, pertanian dan industri farmasi. Produk turunan kitin seperti kitin-oligosakarida dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas antioksidan,, meningkatkan imunitas yang sangat membantu untuk pengobatan AIDS, kanker, jantung dan penyakit darah, dapat diaplikasikan pada makanan, obat-obatan dan produk kosmetik. Produk turunan kitin seperti karboksimetil kitin, hidroksil kitin dan etil kitin dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang.

Dalam bidang kedokteran senyawa- senyawa tersebut dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan benang operasi yang mempunyai keunggulan dapat diserap dalam jaringan tubuh, tidak toksik dan dapat disimpan dalam waktu lama. Monomer dari kitin yaitu NAG

dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, diantaranya dapat digunakan sebagai obat pengontrol kadar gula darah, sebagai suplemen, antiinflamasi dan sebagainya. Untuk kosmetik, senyawa gula ini dapat membantu mengurangi hilangnya hiperpigmentasi karena NAG dapat membantu mengurangi aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam produksi melanin (Shahidi *et al.*, 1999). Karakteristik enzim kitinolitik sangat beragam, dapat diketahui dari studi dasar terkait peran biologis mereka terhadap degradasi kitin. Pasar dunia memprediksikan bahwa produk kitin dan turunannya masih merupakan produk termahal, yaitu senilai \$60.000/ton (Varum *et al.*, 2003).

Peranan enzim kitinolitik yang sangat prospektif terhadap kehidupan mengakibatkan eksplorasi dan penelitian yang berkaitan dengan mikroorganisme penghasil enzim kitinolitik semakin banyak dilakukan. Mikroorganisme penghasil enzim kitinolitik dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti *rizhosphere*, *phyllosphere*, tanah, dari lingkungan laut dan sebagainya. Selain lingkungan mesofil, mikroorganisme enzim kitinolitik juga telah berhasil diisolasi dari lingkungan termofil seperti sumber air panas, daerah geothermal dan lain-lain. Walaupun kitin merupakan salah satu polimer yang melimpah di alam namun diversitas dan karakteristik enzim kitinolitik yang dihasilkan masih belum banyak diketahui sehingga perlu adanya penelitian yang lebih mendalam untuk mengetahuinya.

Kemampuan enzim kitinolitik dalam mendegradasi senyawa kitin menjadikannya sebagai salah satu alternatif agen biokontrol untuk

menghambat serangan jamur patogen. Sebagaimana diketahui bahwa kitin merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel jamur, sehingga gangguan pada proses morfogenesis dinding sel jamur berupa degradasi dinding sel akan mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan sel jamur. Enzim kitinolitik mampu menghancurkan dinding sel jamur sehingga mengakibatkan kerusakan pada proses pembentukan hifa, terbentuknya zona halo pada sel jamur, penyusutan dan lisis miselia jamur dan degenarasi yang signifikan dari konidia jamur. Untuk jangka tertentu, aplikasi enzim kitinolitik terhadap jamur patogen akan memberikan efek yang signifikan terhadap pertumbuhan jamur patogen (Narayanasamy., 2013)

Enzim kitinolitik yang diisolasi dari *Pseudomonas fluorescens* telah dapat digunakan sebagai agen biokontrol terhadap jamur patogen *R.solani*. Beberapa bakteri dari genus *Serratia* juga memiliki kemampuan menghasilkan enzim kitinolitik dan diaplikasikan terhadap jamur *Fusarium*. Penelitian lainnya menyebutkan *P.aeruginosa* strain GRC memiliki kemampuan antagonis terhadap *Sclerotinia sclerotiorum*, karena memiliki kemampuan menghasilkan enzim kitinolitik ekstraseluler yang mampu melisis dan menfragmentasi hifa *S.sclerotiorum* (Gupta et al., 2006).

Bakteri *Serratia plymuthica* (bakteri rizosfer) yang berperan sebagai endofit pada tanaman juga banyak diaplikasikan sebagai agen biokontrol karena memiliki kemampuan menekan pertumbuhan patogen di

tanah dengan mensekresikan enzim kitinolitik ekstraseluler . Beberapa patogen tanaman yang telah dilaporkan mampu menekan pertumbuhannya oleh *S.plymuthica* adalah *R. solani* yang menginfeksi tanaman kapas dan kacang hijau (Chernin *et al.*, 1995; Ovadis *et al.*, 2004), *Pythium aphanidermatum* yang meninfeksi tanaman mentimun (Ovadis *et al.*, 2004), *C lindemuthianum* dan *Botrytis cinerea* yang meninfeksi tanaman kacang hijau (Meziane *et al.*, 2006) dan *Phytophthora capsici* yang menginfeksi tanaman cabe (Park dan Shen., 2002; Shen *et al.*, 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Riwani (2012) memperlihatkan isolat UBCR_12 (Unand Bacterial Collection Rhizosphere_12) yang diisolasi dari perakaran (rhizosphere) tanaman bawang mampu menekan pertumbuhan jamur *C.gloesporoides* sebesar 33.3% menggunakan ekstrak ekstraseluler dan 43.3% dengan menggunakan koloni bakteri. Beberapa jenis jamur yang berasal dari genus *Colletotrichum* mampu menyerang tanaman cabai dan menyebabkan penyakit antraknosa. Penyakit antraknosa adalah salah satu penyebab terjadinya penurunan dalam produksi cabai di seluruh dunia khususnya daerah tropis dan subtropis, bahkan di negara Thailand penyakit antraknosa mampu mengakibatkan penurunan produksi tanaman cabai mencapai 10-80 % (Poonpolgul dan Kumpai, 2007). Antraknosa pada tanaman cabe dapat disebabkan oleh lebih dari satu spesies *Colletotrichum*, yaitu *Colletotrichum acutatum*,

Colletotrichum capsici, *Colletotrichum gloeosporoides* dan *Colletotrichum coccode* (Than *et al*, 2008).

Pengujian kemampuan bakteri isolat UBCR_12 menghambat pertumbuhan

jamur *C. gloeosporoides* dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metoda difusi agar. Sejauh ini belum dilakukan penelitian mengenai senyawa antijamur yang dihasilkan dari isolat UBCR_12 terutama berkaitan dengan kemampuan isolat UBCR_12 menghasilkan enzim kitinolitik ekstraseluler. Oleh sebab itulah maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat UBCR_12 menghasilkan enzim kitinolitik ekstraseluler dan aplikasinya sebagai senyawa antijamur terhadap jamur *C. gloeosporioides*.

1.2 Perumusan masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah isolat UBCR_12 mampu menghasilkan enzim kitinolitik ekstraseluler, bagaimanakah sifat dan karakteristik enzim kitinolitik ekstraseluler dari isolat UBCR_12, apakah enzim kitinolitik ekstraseluler dari isolat UBCR_12 mampu berfungsi sebagai senyawa antijamur terhadap jamur patogen *C. gloeosporioides*, serta mengamtai bagaimanakah interaksi enzim kitinolitik ekstraseluler dari isolat UBCR_12 dengan jamur *C. gloeosporioides*.

1.3 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi enzim kitinolitik ekstraseluler dari bakteri isolat UBCR_12. Karakterisasi enzim kitinolitik ekstraseluler terdiri dari uji biokimia, penentuan media produksi optimum, penentuan pH optimum, pengaruh induser, pengaruh penambahan ion logam terhadap aktifitas enzim kitinolitik, fraksinasi amonium sulfa, pemisahan dengan elektroforesis 2D SDS-PAGE serta mempelajari interaksi enzim kitinolitik dengan jamur *C.gloesporoides*.

1.4 Manfaat penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan manfaat yaitu menambah wawasan mengenai aplikasi enzim kitinolitik ekstraseluler sebagai senyawa antijamur terhadap jamur *C.gloesporoides* dan sebagai salah satu solusi untuk menekan penyakit antraknosa pada tanaman cabai. Penelitian ini juga diharapkan memberikan alternatif penggunaan agen biokontrol dalam rangka mengurangi penggunaan fungisida sintetik. Hasil yang diperoleh penelitian ini nantinya dapat menjadi rujukan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.