

# BAB I PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang

*Colletotrichum gloeosporioides* adalah jamur patogen penyebab penyakit antraknosa yang menginfeksi tanaman monokotiledon dan dikotiledon. Jamur patogen ini tersebar luas dan menyerang tanaman secara umum di dunia yang menyebabkan busuk pada buah. *C. gloeosporioides* menyerang tanaman pada saat pascapanen maupun langsung di lapangan. Seperti pada tanaman Jeruk Siam yang mengalami kebusukan pada produk pascapanennya yang disebabkan oleh penyakit antraknosa (Suryaningsih *et al.*, 2015). Produk pascapanen pepaya juga sering terserang oleh penyakit antraknosa dari jamur *C. gloeosporioides* (Bautista-Baños *et al.*, 2003). Jamur *C. gloeosporioides* juga menyerang tanaman stroberi yang akan tampak bintik hitam pada daun, busuk pada buah dan hawar pada bunga (Howard and Albrechts, 1984). Pada tanaman kakao, penyakit antraknosa menyerang pada pucuk dan ranting yang menyebabkan daun gugur dan mati (Semangun, 2000). Penyakit antraknosa pada tanaman cabai ditandai dengan adanya bercak cokelat pada buah. Bercak cokelat ini yang kemudian membesar dan menyebabkan busuk lunak pada buah (Kirana *et al.*, 2014).

Umumnya para petani menggunakan senyawa sintesis seperti pestisida untuk dapat membasmi hama serangga yang mengganggu tanaman maupun vektor pembawa patogen. Pestisida dapat membasmi serangga dan jamur secara masal. Penggunaannya yang instan serta harganya yang murah dipilih petani untuk pengendalian hama dan penyakit dibanding melakukan pengendalian secara terpadu yang dianggap sulit dan memakan waktu yang lama untuk dapat melihat hasilnya (Efri, 2010).

Penggunaan pestisida yang berlebihan akan memberikan dampak yang buruk bagi tanaman, lingkungan bahkan terhadap kesehatan manusia. Bagi pengguna pestisida maupun masyarakat yang mengkonsumsinya akan mengalami kontaminasi secara langsung dan mengakibatkan keracunan, mulai dari keracunan ringan seperti pusing, mual dan diare hingga keracunan kronis seperti kanker, gangguan saraf, ginjal dan pernafasan. Sedangkan dampaknya untuk lingkungan

adalah seperti pencemaran lingkungan (pada air, tanah dan udara) sehingga akan membunuh organisme-organisme non-target akibat pestisida yang digunakan secara langsung. Beberapa OPT akan mengalami resistensi terhadap pestisida sehingga dapat meningkatkan populasi hama sebagai vektor patogen serta pemakaian pestisida dan fungisida yang berlebihan akan bersifat meracun terhadap tanaman (Runia, 2008).

Dalam upaya menggantikan peran pestisida sintetik, beberapa penelitian telah dilakukan untuk tujuan pengendalian penyakit pada tanaman akibat jamur patogen menggunakan agen biokontrol dan biofungisida. Biofungisida diketahui bersifat lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan fungisida sintesis, sehingga dapat memberikan dampak yang lebih aman terhadap kesehatan dan lingkungan (Efri, 2010). Biofungisida dapat dikembangkan dari golongan enzim pendegradasi dinding sel jamur patogen. Enzim-enzim ini dikenal sebagai enzim hidrolase, diantaranya yaitu: protease, glukonase, selulase, dan kitinase. Dari keempat jenis enzim hidrolase tersebut, kitinase diketahui mampu mendegradasi kitin yang memainkan peranan sangat penting dalam menjaga kekuatan dinding sel jamur agar tidak mudah terkikis. Pemanfaatan dan pengembangan kitinase sebagai biofungisida akan menjadi pilihan yang tepat dan efektif untuk mengatasi jamur patogen pada tanaman (Frankowski *et al.*, 2001).

Kitinase terbagi menjadi dua kelompok enzim berdasarkan sistem degradasi kitin, yaitu eksokitinase (*ChiA* dan *ChiB*), dan endokitinase (*ChiC*). Eksokitinase bekerja atau memotong ujung terminal-N pada molekul rantai polimer kitin. Enzim *ChiA* akan memotong pada bagian ujung tereduksi, sedangkan pada *ChiB* akan memotong kitin dari ujung non-reduksi. Sedangkan endokitinase (*ChiC*) bekerja secara acak untuk memotong rantai polimer kitin (Vaaje-Kolstad *et al.*, 2013).

Kitinase B memiliki kesamaan produk yang dihasilkan dengan kitinase A yaitu  $(\text{GlcNAc})_2$  tetapi *ChiB* memiliki substrat penempelan lebih sedikit dibandingkan dengan *ChiA*, oleh karena itu *ChiB* dapat dioptimalkan untuk pemotongan chito-oligosakarida yang relatif singkat. *ChiB* memiliki aktifitas spesifik terhadap kitin yang lebih rendah dibandingkan dengan *ChiA* dan memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap  $(\text{GlcNAc})_3$  dibandingkan dengan

*ChiA* (Brurberg *et al.*, 1996). Substrat *ChiB* memiliki domain residu yang lebih banyak dibandingkan substrat *ChiA* dan *ChiC* dimana domain ini berfungsi untuk penempelan substrat dan efisiensi dari hidrolisis substrat. Setelah degradasi  $\beta$ -kitin oleh ketiga kitinase, rasio dimer/trimer akhir masing-masing enzim adalah 7,3 untuk *ChiA*, 12,6 untuk *ChiB* dan 4,1 untuk *ChiC*, dimana enzim *ChiB* memiliki ratio dimer/trimer akhir yang lebih besar dibanding *ChiA* dan *ChiC*. Dari rasio ini dapat dilihat bahwa enzim *ChiB* menunjukkan kerja yang lebih progressif dibandingkan dengan *ChiA* dan *ChiC* (Vaaje-Kolstad *et al.*, 2013). Oleh karena itu dipilih *ChiB* untuk diteliti lebih lanjut sebagai calon agen biokontrol alternatif atau biofungisida.

Isolasi gen *ChiB* diharapkan dapat menjadi langkah awal dalam strategi pengembangan senyawa biofungisida alternatif. Isolasi gen *ChiB* dilakukan , menggunakan strategi kloning berbasis PCR. Gen tersebut diisolasi dari bakteri-bakteri antagonis terhadap jamur patogen yang diketahui mampu menghasilkan kitinase. Saat ini di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas telah dikoleksi 4 isolat bakteri antagonis terhadap *C. gloeosporioides* yaitu UBCR\_12, UBCF\_01, UBCF\_13 dan UBCR\_36. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa ketiga isolat pertama merupakan bakteri *Serratia plymuthica* dengan kode masing-masing KU299959, KX394778, KX394779 dan KX394777 (Syafriani *et al.*, 2016). Spesies *S. plymuthica* diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase. Sejauh ini, hanya sekuens gen *ChiA* yang telah dilaporkan dari *S. plymuthica* (Frankowski *et al.*, 2001). Penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi gen Kitinase dari bakteri *S. plymuthica* UBCR\_12 yaitu, gen *ChiA* yang diisolasi oleh Fatiah (2016), gen *ChiC* oleh Lubis (2016), gen *ChiB* dan *putative chitinase* oleh Syafriani (2016) dengan ukuran gen masing masing 1781 bp, 1564 bp, 1681 bp dan 1299 bp. Informasi sekuens gen *ChiB* dalam penelitian ini akan menjadi laporan pertama gen tersebut dari spesies *S. plymuthica* dari strain UBCF\_13.

## **B. Tujuan**

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menganalisis struktur sekuens gen kitinase B dari isolat UBCF\_13.

## **C. Manfaat Penelitian**

Data gen *ChiB* yang didapatkan dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai sumber informasi untuk penelitian selanjutnya dalam ekspresi gen *ChiB* untuk dapat digunakan sebagai biofungisida.

