

## BAB I PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Bakteri berpotensi sebagai agen biokontrol dalam mengendalikan jamur patogen yang menjadi masalah penting pada bidang pertanian. Agen biokontrol memiliki kemampuan menekan pertumbuhan patogen melalui proses kompetisi dalam hal nutrisi makanan, antibiosis, hiperparasit, memacu pertumbuhan tanaman dan induksi resistensi. Antibiosis memiliki mekanisme menghambat pertumbuhan patogen dengan menghasilkan senyawa antibiotik.

Senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh agen biokontrol seperti zat pelisis, enzim dan senyawa *volatile* (Nurhayati, 2011). Pengendalian secara antibiosis oleh bakteri melalui senyawa antifungal seperti enzim kitinase akan aktif saat berinteraksi dengan jamur patogen (Selitrennikoff, 2001). Enzim kitinase ini memiliki mekanisme antibiosis dengan cara mendegradasi dinding sel jamur patogen yang terbentuk dari kitin. Dinding sel jamur yang didegradasi oleh kitinase kemudian mengalami kerusakan dan menghambat pertumbuhan jamur patogen (Gutierrez *et al.*, 2013).

Enzim kitinase mendegradasi kitin dari polimer  $\beta$ -1,4-*N*-acetylglucosamine (GlcNAC) menjadi monomer dan oligomernya (Stoykov *et al.*, 2015). Kitin merupakan polimer ke-2 terbesar yang terdapat di alam, pembentuk tubuh berbagai organisme seperti dinding sel jamur, serangga, krustase dan beberapa tumbuhan tingkat tinggi (Funkhouser dan Aronson, 2007). Klasifikasi enzim kitinase berdasarkan sisi katalitik domain dibagi menjadi enzim kitinase A (*ChiA*), kitinase B (*ChiB*) dan kitinase C (*ChiC*) (Hartl *et al.*, 2012).

Bakteri yang menghasilkan kitinase telah banyak diidentifikasi seperti *Bacillus licheniformis* mampu mengendalikan jamur *Rhizoctonia solani*, *Macrophonia phasiolina* dan *Fusarium culmorum* (Kamil *et al.*, 2007). *Serratia marcescens* strain JPP1 dapat menekan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* (Wang *et al.*, 2013). *S. plymuthica* dapat menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* and *Pythium aphanidermatum* (Ovadis *et al.*, 2004).

UBCR\_12 adalah salah satu strain bakteri yang telah diidentifikasi di laboratorium bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas yang dapat digunakan sebagai antifungal dan menghasilkan kitinase. UBCR\_12 diketahui memiliki kemampuan daya hambat yang tinggi terhadap jamur patogen pada cabai *C. gloeosporioides* yaitu sebesar 43%. Hasil sekuensing 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat UBCR\_12 adalah bakteri *S. plymuthica* (Syafriani *et al.*, 2016).

*S. plymuthica* strain UBCR\_12 juga telah diuji hasil ekstraselularnya dan memiliki kemampuan daya hambat terhadap *C. gloeosporioides* sebesar 30,66% (Aisyah *et al.*, 2016). Pada bakteri *S. marcescens* terdapat kitinase A, B dan C dan juga beberapa gen kitinase putatif yang belum diidentifikasi. Apabila ketiga kitinase A, B dan C diaplikasikan untuk mendegradasi kitin, *ChiC* akan memicu kehadiran eksokitinase dengan menghasilkan substrat untuk *ChiA* dan *ChiB*. *ChiC* melakukan degradasi kitin secara endokitinase sedangkan *ChiA* dan *ChiB* melakukan degradasi kitin secara eksokitinase.

Gen kitinase putatif *ChiPut-II* dari *S. plymuthica* strain UBCR\_12 telah diisolasi dan disekuensing. Gen *ChiPut-II* dikloning dalam plasmid atau vektor yaitu pGem - T Easy dalam *host E. coli* DH5 $\alpha$  (Syafriani, 2017). Gen *ChiPut-II* yang telah dikloning dan disekuensing didaftarkan pada *gene bank* NCBI dengan nomor aksesinya KX863673. Ekspresi gen *ChiPut-II* ini belum dianalisis baik karakteristiknya maupun kemampuannya sebagai biofungisida.

Gen *ChiPut-II* ini diproduksi protein kitinasenya dalam *host E. coli* BL21. Pengujian ekspresi ini dilihat dari protein ekstraseluler dan intraseluler yang dihasilkan. Profil protein ekstraseluler dan intraseluler dianalisis berat molekulnya dengan menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulfate Gel Electrophoresis* (SDS - PAGE). Menurut Bollag dan McCormick (1991), SDS-PAGE adalah metode untuk memisahkan molekul protein berdasarkan perbedaan berat molekul. Metode untuk memisahkan berat molekul ini dengan memanfaatkan medan listrik untuk menggerakkan molekul protein dan matriks penyangga berpori yaitu gel. Teknik pemisahan memungkinkan proses pemisahan protein berdasarkan berat molekulnya.

Pengujian ekspresi gen kitinase putatif II pada protein yang dihasilkan ini adalah fungsionalnya sebagai biofungisida dan kemampuan kitinolitiknya.

Pengujian sebagai biofungisida ini dilakukan secara *in vitro* melalui uji antagonis secara *dual culture* (Islam *et al.*, 2012). Enzim *ChiPut-II* yang diaplikasikan pada media padat yang ditumbuhi jamur *C. gloeosporioides*. Penghambatan pertumbuhan *C. gloeosporioides* oleh enzim *ChiPut-II* akan menjadi indikator fungsionalitas enzim tersebut.

Jamur *C. gloeosporioides* merupakan jamur patogen penyebab penyakit antraknosa pada berbagai tanaman (Agrios, 2005). Penurunan produksi yang sangat signifikan akibat serangan jamur patogen mendorong petani menggunakan pestisida sintetik secara besar-besaran. Hal ini berdampak negatif bagi kesehatan konsumen dan lingkungan. Keberhasilan enzim *ChiPut-II* dalam menghambat pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada penelitian ini nantinya akan memberi peluang bagi pemanfaatannya sebagai biofungisida yang menggantikan fungisida sintetik. Oleh karena itu, sesuai uraian yang telah dipaparkan di atas, maka telah dilakukan penelitian dengan judul **Ekspresi Gen Kitinase Putatif II (*ChiPut-II*) dari Bakteri *Serratia plymuthica* Strain UBCR\_12.**

## **B. Perumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah mengkaji ekspresi gen *ChiPut-II* dari *S. plymuthica* strain UBCR\_12. Menguji fungsionalitas gen *ChiPut-II* dari *S. plymuthica* strain UBCR\_12 apakah dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*.

## **C. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari ekspresi gen pengkode kitinase putatif II (*ChiPut-II*) dari *S. plymuthica* strain UBCR\_12 pada bakteri *E. coli* BL21, kemampuan daya hambat protein gen *ChiPut-II* terhadap jamur patogen dan kemampuan kitinolitiknya.

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat dan informasi mengenai ekspresi gen *ChiPut-II* dalam menghasilkan enzim kitinase. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini nantinya digunakan sebagai langkah untuk memproduksi enzim kitinase dari gen *ChiPut-II* dan pengembangan sains.