

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan pupuk anorganik mengalami peningkatan secara signifikan sejak revolusi hijau digadangkan di Indonesia. Berdasarkan data Asosiasi Produsen Pupuk Indonesia (2019), sepanjang tahun 2018 konsumsi urea meningkat 5% dari tahun 2017 menjadi 6,27 juta ton, sedangkan konsumsi NPK naik 7,88% menjadi 2,80 juta ton. Kenaikan juga terlihat pada konsumsi pupuk jenis fosfat dan ZA. Penggunaan pupuk anorganik secara terus-menerus dan tidak bijaksana akan berdampak negatif terhadap lingkungan, seperti: menurunnya kandungan bahan organik tanah, rentannya tanah terhadap erosi, menurunnya permeabilitas tanah, serta menurunnya populasi mikroba tanah (Herdiyanto dan Setiawan, 2015). Melihat hal tersebut untuk menciptakan pertanian yang ramah lingkungan, penggunaan pupuk anorganik perlu diimbangi dengan penggunaan pupuk organik atau pupuk hayati.

Prinsip pupuk hayati adalah memanfaatkan mikroorganisme tertentu dalam tanah sebagai penghancur bahan organik, membantu proses mineralisasi atau bersimbiosis dengan tanaman dalam menambat maupun menyediakan unsur-unsur hara (Antonius *et al.*, 2014). Pemberian pupuk hayati membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman karena mengandung *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB), yaitu kelompok bakteri menguntungkan yang dapat memicu pertumbuhan tanaman serta melindungi tanaman dari penyakit dan cekaman abiotik. Salah satu peran kelompok bakteri ini adalah menghasilkan fitohormon. Fitohormon adalah sekumpulan senyawa organik bukan hara, baik yang terbentuk alami maupun dibuat oleh manusia, yang dalam kadar sangat kecil dapat mendorong pertumbuhan, perkembangan dan atau pergerakan tumbuhan (Souza *et al.*, 2015; Ningrum, 2018).

Salah satu fitohormon yang dihasilkan oleh kelompok bakteri PGPB yaitu IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) yang merupakan bagian utama dari hormon auksin. IAA banyak digunakan di bidang kultur jaringan karena fitohormon ini memiliki peranan penting pada proses fisiologi tanaman, diantaranya yaitu: pembesaran dan

pembelahan sel, diferensiasi jaringan serta respon terhadap cahaya dan gravitasi. Fitohormon IAA diketahui dapat menghasilkan lebih banyak akar lateral, rambut akar dan cabang rambut akar (Shokri dan Emtiazi, 2010; Lestari, 2007).

Serratia plymuthica UBCF_13 merupakan salah satu strain koleksi Laboratorium Bioteknologi Universitas Andalas yang dapat memproduksi fitohormon IAA. Bakteri yang termasuk kedalam kelompok gram negatif ini diisolasi dari filosfer tanaman sawi (*Brassica juncea* L.) (Aisyah, 2017). Hasil studi Aisyah *et al.* (2019) menunjukkan bakteri ini mampu memproduksi IAA secara optimal (116,09 µg/mL) pada media Luria Bertani (LB) dengan penambahan 0,2% L-Triptofan (L-Trp) selama 48 jam.

Optimasi produksi IAA pada strain UBCF_13 telah dilakukan juga oleh Wandira *et al.* (2021) dengan membedakan pH pada media LB. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa produksi IAA optimum diperoleh dengan penambahan L-Trp 0,2% pada pH 6 (24,13 µg/mL), tetapi tidak terlalu berbeda antara pH 6 dengan pH 7 jika tanpa adanya penambahan L-Trp. Optimasi konsentrasi L-Triptofan serta media kultur yang digunakan pada bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13 lebih lanjut sudah dilakukan oleh Yusfi *et al.* (2021) dengan kombinasi media YEM (*Yeast Extract Mannitol*) dengan pH mendekati normal dan konsentrasi L-Triptofan 300 µg/mL. Studi tersebut mampu memproduksi IAA lebih tinggi yakni 107,01 µg/mL dibandingkan media serta konsentrasi L-Trp lainnya. Selain itu dengan penambahan logam Kalsium 0,1% juga dapat meningkatkan produksi IAA sebanyak 12-14 µg/mL.

Faktor penting lain yang mempengaruhi produksi IAA adalah periode kultur. Regulasi aktivitas dan produksi suatu senyawa di sebagian besar mikroba tidak berlangsung di semua fase pertumbuhan. Biosintesis senyawa metabolit umumnya berlangsung di akhir fase pertumbuhan, tepatnya pada fase stasioner (Sanchez *et al.*, 2010). Studi yang dilakukan oleh Aisyah *et al.* (2019) menunjukkan waktu kultur terbaik untuk bakteri *S. plymuthica* UBCF_13 pada media LB adalah 48 jam. Sedangkan hasil penelitian Bhutani *et al.* (2018) mendapatkan bahwa waktu kultur terbaik untuk produksi IAA bakteri *Bacillus* spp. adalah 72 jam pada media YEM.

Waktu kultur optimum strain UBCF_13 pada media YEM untuk memproduksi IAA belum diketahui secara pasti.

Optimasi produksi IAA juga mempengaruhi level ekspresi gen-gen yang terlibat dalam jalur biosintesisnya. Jalur biosintesis IAA yang bergantung L-Triptofan pada bakteri berdasarkan gen pengkode senyawa intermediet yang terlibat, yaitu: jalur *indole-3-acetamide* (IAM), *indole-3-pyruvic acid* (IPyA), dan *indole-3-acetonitrile* (IAN) (Duca *et al.*, 2018). Pada jalur *indole-3-acetamide* (IAM), gen yang diketahui terlibat dalam produksi IAA yaitu gen *nthA* dengan panjang sekuen 624 bp dan *nthB* dengan panjang sekuen 660 bp. Gen *nthA* mengkodekan enzim *Nitrile hydratase* sub unit alpha, sedangkan gen *nthB* mengkodekan enzim *Nitrile hydratase* sub unit beta. Kedua gen ini berada pada jalur biosintesis IAM yang berfungsi mengubah *Indole-3-acetonitrile* (IAN) menjadi *Indole-3-acetamide* (IAM) (Duca, 2014b). Jalur biosintesis yang digunakan serta gen utama yang berperan dalam menghasilkan IAA pada bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13 belum diketahui. Berdasarkan data genom UBCF_13 dengan nomor asesi CP068771, diketahui terdapat gen *nthA* dan *nthB* (Fatiah *et al.*, 2021). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penentuan level ekspresi dari kedua gen tersebut.

Mempertimbangkan kedua aspek di atas, maka telah dilakukan penelitian dengan judul “**Penentuan Waktu Optimum Produksi IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) serta Analisis Ekspresi Gen *nthA* dan *nthB* pada *Serratia plymuthica* UBCF_13**”

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Berapa waktu kultur optimum bakteri *Serratia plymuthica* strain UBCF_13 untuk memproduksi senyawa IAA pada media YEM dengan konsentrasi L-Triptofan 300 µg/mL dan ada atau tidaknya penambahan ion logam Kalsium 0,1%?
2. Bagaimana level ekspresi dari gen *nthA* dan *nthB* berdasarkan waktu kultur optimum?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum kultur produksi IAA pada bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13 serta kurva pertumbuhannya dan untuk menganalisis level ekspresi gen *nthA* dan *nthB* berdasarkan waktu optimum kultur bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi terkait waktu optimum kultur bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13 untuk memproduksi IAA serta memberi informasi mengenai level ekspresi dari beberapa gen yang terlibat dalam jalur biosintesis IAA (gen pengkode enzim *Nitrile hydratase subunit A* dan *B*).

