

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tanaman yang berada dalam keadaan sehat, tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit, dan tidak menimbulkan kerugian bagi tanaman inang. Mikroorganisme endofit diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif yang berperan sebagai senyawa antimikroba. Keunggulan bakteri endofit sebagai agen hayati dibandingkan dengan *rhizo* bakteri melibatkan beberapa aspek. Pertama, keberadaan bakteri endofit lebih terlindungi karena mereka hidup di dalam jaringan tanaman. Keunggulan lain dari bakteri endofit adalah kemampuannya dalam mentranslokasikan senyawa metabolik yang diproduksi di dalam jaringan tanaman lebih unggul. Mikroorganisme endofit berperan sangat penting dalam penyerapan unsur hara tanaman (Prihanto, 2018). Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri endofit yang telah diisolasi dari rimpang kunyit (*Curcuma longa* L), dimana bakteri endofit ini telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri, sehingga penting dilakukan pengujian 16S rRNA.

Gen 16S RNA ini menjadi tahap awal untuk mengidentifikasi bakteri endofit. Gen 16S rRNA merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan untuk identifikasi bakteri. Gen 16S rRNA ini bagian dari RNA ribosom 16S, yang merupakan komponen penting dari subunit kecil ribosom pada bakteri. Gen ini sering digunakan dalam studi filogenetik dan identifikasi bakteri karena urutannya sangat konservatif diantara berbagai spesies. Urutan gen 16S rRNA memiliki panjang sekitar 1.550 pb dan terdiri dari wilayah yang dilestarikan (*conserved regions*). Keuntungan identifikasi menggunakan 16S rRNA antara lain identifikasi bakteri non-kultural, akurasi tinggi, dan waktu relatif singkat. Selain berbagai kelebihan, metode 16S rRNA memiliki kelemahan seperti, tidak cocok untuk spesies tertentu. Langkah-langkah umum untuk mengidentifikasi bakteri menggunakan 16S rRNA yaitu meliputi isolasi DNA, amplifikasi wilayah 16S menggunakan PCR, visualisasi gen menggunakan elektroforesis, sekuensing, identifikasi spesies meliputi analisis bioinformatika dan pembuatan pohon filogenetik (Noer, 2021). Isolasi DNA ini dimana salah satunya menjadi langkah awal untuk mengidentifikasi bakteri dengan menggunakan 16S rRNA. Prinsip dasar isolasi DNA dari bakteri adalah dengan

mengekstrak DNA. Isolasi DNA melibatkan beberapa langkah seperti Lisis, DNA Binding, pencucian, elusi.prinsip untuk memisahkan DNA yaitu sentrifugasi (Faatih, 2009). Untuk tahap selanjutnya yaitu melakukan amplifikasi DNA menggunakan PCR.

Reaksi berantai polimerase (PCR) adalah teknik untuk mensintesis dan memperkuat DNA secara in vitro. Teknologi ini pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1985. Dengan menggunakan teknologi PCR, segmen DNA dapat diamplifikasi jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Penemuan teknologi PCR dan teknik lain seperti pengurutan DNA telah merevolusi bidang ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya dibidang diagnosis penyakit genetik, kedokteran forensik, dan evolusi molekuler. Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) Pra-denaturasi DNA templat; (2) Denaturasi DNA templat; (3) Penempelan primer pada templat (*annealing*); (4) Pemanjangan primer (*extension*) dan (5) Pemantapan (*postextension*). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo and Rudiretna, 2001). berikutnya yaitu melakukan tahap elektroforesis yang dimana secara keseluruhan elektroforesis ini merupakan teknik penting dalam isolasi DNA karena memungkinkan visualisasi dari pemisahan DNA berdasarkan ukuran fragmen. Elektroforesis ini merupakan teknik laboratorium yang digunakan untuk memisahkan molekul, seperti DNA, RNA, atau protein, berdasarkan ukuran dan muatan listriknya. Proses ini melibatkan penerapan medan listrik pada sampel yang ditempatkan dalam media gel agarosa (Ridwan Harahap *et all*, 2018). Langkah berikutnya yaitu sekuensing, dimana secara keseluruhan sekuensing adalah alat penting untuk memberikan informasi

Sekuensing gen 16S rRNA dalam bakteri, memungkinkan identifikasi dan klasifikasi bakteri lebih akurat dengan Urutan nukleotida dari gen ini dibandingkan dengan database sekuens yang ada untuk menentukan spesies. Dan tahap berikutnya yaitu identifikasi spesies yaitu meliputi analisis bioinformatika dan pembuatan pohon filogenetik. Analisis bioinformatika ini bertujuan untuk mendapatkan spesies yang memiliki kesamaan gen 16S rRNA yang tinggi dengan bakteri BE13 secara bioinformatika. Pembuatan pohon filogenetik yaitu untuk menggambarkan

hubungan antara organisme atau gen berdasarkan kesamaan dan perbedaan dalam urutan DNA, RNA, atau protein (Lubis, 2014).

1.2 Rumusan masalah

Bagaimana profil genetik bakteri endofit BE13 berdasarkan analisis 16S rRNA sehingga dapat teridentifikasi sebagai suatu nama spesies ?

1.3 Tujuan dan manfaat penelitian

Untuk mengetahui jenis spesies bakteri endofit BE13 yang telah diisolasi dari sampel rimpang kunyit dengan menggunakan metode 16S rRNA untuk mendapatkan spesies bakteri yang memiliki potensial dan pengobatan dibidang farmasi.

1.4 Hipotesis penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu diperoleh informasi spesies bakteri endofit BE13 pada sampel rimpang kunyit.