BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rimpang Kunyit

Kunyit adalah tanaman obat yang mudah ditemukan di seluruh Indonesia dan memiliki banyak manfaat. Salah satu jenis rumput-rumputan yang memiliki tingginya sekitar 1 meter. Bunga kunyit tumbuh dari puncuk batang semu dan berwarna putih dan panjangnya sekitar 10–15 cm. Umbi akarnya berwarna kuning tua, memiliki bau wangi dan rasa sedikit manis. Tanaman kunyit bergantung pada rimpangnya yang tumbuh menjalar dan banyak cabang di dalam tanah. Kulit luar rimpang kunyit biasanya berwarna kuning jingga dan berbentuk elips (Febri Yanti, 2019). Tanaman kunyit dapat mencapai tinggi antara empat puluh dan seratus sentimeter. Batang kunyit terdiri dari pelepah daun yang agak lunak dan memiliki bentuk semu, tegak, dan bulat. Daun tunggal (lanset) dengan bentuk telur bulat memanjang 30–100 cm, lebar 8-12,5 cm, dan menyirip dengan warna hijau muda (Kusbiantoro, 2018).

Menurut Winarto 2004, dalam taksonomi tumbuhan, kunyit dikelompokkan sebagai berikut :

• Kingdom : Plantae

• Divisi : Spermatophyta

• Sub-divisi : Angiospermae

• Kelas : Monocotyledonae

• Ordo : Zingiberales

• Family : Zingiberaceae

• Genus : Curcuma

• Spesies : Curcuma longa

Rimpang kunyit terdiri dari dua bagian yaitu rimpang induk (juga dikenal sebagai umbi) dan tunas (juga dikenal sebagai cabang). Tunas yang

bertumbuh ke arah samping, mendatar, atau melengkung biasanya menumbuhkan rimpang utama. Tunas berbuku dapat berbentuk pendek, lurus, atau melengkung. Jumlah tunai biasanya cukup besar. Anakannya dapat mencapai tinggi sekitar 10,85 cm (Winarto, 2004).

2.2 Bakteri Endofit

Menurut *Encyclopedia Britannica*, bakteri atau Bacterium, adalah kelompok mikroorganisme bersel satu yang diklasifikasikan pada tingkat domain Arkea yang juga termasuk kedalam jenis organisme prokariotik karena tidak memiliki inti sel. Sel bakteri berukuran mikro dan dapat berbentuk menyerupai bola, batang, atau spiral. Ukuran nya yang mikroskopik membuat bakteri sulit untuk dideteksi, terutama sebelum mikroskop ditemukan. Dinding sel bakteri sangat tipis dan elastis dan terbuat dari peptidoglikan yaitu jenis polimer yang hanya dimiliki oleh bakteri. Tugas dinding sel adalah untuk memberi bentuk, melindungi sel dari lingkungan luar, dan mengatur pertukaran zat dari luar ke dalam. Studi mengenai bakteri disebut sebagai bakteriologi yang juga merupakan salah satu cabang ilmu mikrobiologi. Bakteri mendapatkan makanannya melalui beberapa cara, tergantung pada spesies dan lingkungan sekitarnya. Berikut adalah beberapa cara bakteri mendapatkan makanannya:

- Autotrof: Bakteri autotrof dapat membuat makanannya sendiri dengan menggunakan energi yang berasal dari cahaya matahari atau reaksi kimia. Contoh bakteri autotrof adalah bakteri fotosintetik yang memanfaatkan cahaya matahari untuk membentuk senyawa organik seperti glukosa.
- **Heterotrof**: Bakteri heterotrof tidak dapat membuat makanannya sendiri dan memperoleh makanan dari organisme lain atau lingkungan sekitarnya. Contoh bakteri heterotrof adalah bakteri saproba yang menguraikan organisme yang sudah mati atau bahan organik lainnya untuk mendapatkan makanan (Artha *et al.*, 2019).

Bakteri heterotrof dibagi menjadi dua jenis:

- Saprofit: Bakteri saprofit menguraikan organisme yang sudah mati atau bahan organik lainnya untuk mendapatkan makanan. Contoh bakteri saprofit adalah *Escherichia coli* yang hidup di usus besar manusia.
- Parasit: Bakteri parasit memperoleh makanan dari organisme lain dengan cara menginfeksi dan menguras sumber daya organisme tersebut. Contoh bakteri parasit adalah bakteri yang hidup di dalam tubuh manusia dan memperoleh makanan dari sisa pencernaan.

Bakteri juga dapat mendapatkan makanan melalui simbiosis mutualisme, di mana bakteri memperoleh makanan dari organisme lain yang juga memberikan keuntungan bagi organisme tersebut (Artha *et al.*, 2019). Contoh bakteri yang hidup dengan bersimbiosis mutualisme adalah bakteri yang hidup di dalam tubuh manusia dan memperoleh makanan dari sisa pencernaan, sedangkan manusia mendapat manfaat karena bakteri membantu menguraikan sisa-sisa makanan dan menghasilkan vitamin K (Yan *et al.*, 2022).

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang termasuk bakteri dan jamur, yang hidup di dalam jaringan tanaman yang hidup setidaknya selama sebagian dari siklus hidupnya tanpa menimbulkan penyakit pada tanaman inangnya (Kandel *et al.*, 2017)

Bakteri endofit dapat memasuki tanaman melalui beberapa jalur yaitu:

Akar

Bakteri endofit dapat masuk ke dalam tanaman melalui akar sehingga memungkinkan untuk berkoloni di dalam jaringan tanaman. Akar lateral dan akar yang berkecambah dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit ke dalam tanaman.

Stomata

Stomata, yang berfungsi sebagai lubang udara, memungkinkan bakteri endofit untuk masuk ke dalam tanaman melalui daun.

Luka

Luka pada tumbuhan yang diakibatkan oleh faktor biotik seperti nematoda juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Luka ini memungkinkan bakteri endofit untuk berkoloni di dalam jaringan tanaman.

Kotiledon

Kotiledon yang merupakan bagian dalam biji tanaman, juga dapat menjadi jalur masukmya bakteri endofit. Bakteri endofit dapat masuk ke dalam biji dan kemudian berkoloni di dalam jaringan tanaman ketika biji tumbuh (Safira *et al.*, 2017).

Simbiosis bakteri endofit dengan inangnya merupakan hubungan mutualisme. Bakteri endofit memperoleh nutrisi dan melindungi tanaman, sedangkan tanaman memperoleh derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan. Proses ini melibatkan kolonisasi, nutrisi dan pertahanan, pemindahan materi genetik, karakterisasi dan optimasi, dan pengaruh pada pertumbuhan tanaman, Simbiosis bakteri endofit dengan inangnya melibatkan beberapa proses, termasuk:

Kolonisasi

Bakteri endofit pertama-tama kolonisasi pada permukaan tanaman inang melalui celah yang ada pada permukaannya atau melalui perpindahan yang dilakukan oleh inang dari generasi ke generasi berikutnya pada saat reproduksi (Khare *et al.*, 2018).

• Pemindahan Materi Genetik

Pemindahan materi genetik dari tanaman inang ke bakteri endofit memungkinkan terjadinya perpindahan gen metabolit. Bakteri endofit memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tanaman, sedangkan tanaman memperoleh derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Safira *et al.*, 2017). Bakteri endofit menghasilkan senyawa-senyawa yang penting bagi tumbuhan, seperti fitohormon seperti *indole-3-acetic* acid (IAA), citokinin, dan hormon pemacu pertumbuhan lainnya (Wu *et al.*, 2021).

• Pertahanan

Bakteri endofit juga memiliki peran dalam melindungi tanaman dalam melawan patogen, seperti bakteri dan fungi, melalui mekanisme kompetisi nutrisi, pertahanan tanaman, dan produksi senyawa enzim dan antibiotik (Wu *et al.*, 2021). Dalam hal pertahanan, bakteri endofit dapat digunakan sebagai pengendali penyakit tanaman, menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *E. coli dan S. aureus* (Safira *et al.*, 2017).

Bakteri endofit terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan inang, perolehan nutrisi, dan meningkatkan kemampuan tanaman untuk mentoleransi tekanan abiotik seperti kekeringan serta mengurangi tekanan biotik dengan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangga, patogen, dan herbivora. Bakteri endofit juga telah ditemukan menghasilkan senyawa bioaktif dengan sifat antibakteri, antijamur, dan pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit telah diisolasi dari berbagai lingkungan, termasuk tropis, akuatik, xerofit, gurun, Antartika, tanah panas bumi, hutan hujan, rawa bakau, dan hutan pantai. Memahami keanekaragaman dan fungsi bakteri endofit dapat memberikan implikasi penting bagi pertanian, bioteknologi, dan kedokteran (Kandel *et al.*, 2017).

2.3 Isolasi DNA Bakteri

Isolasi DNA bakteri merupakan metode pemisahan DNA dari komponen sel bakteri lainnya. Teknik ini merupakan salah satu teknik penting dalam biologi molekuler yang dapat digunakan untuk melakukan studi tentang data genetik. DNA menggunakan basa nukleotida adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T) untuk menyimpan data. Urutan basa nukleotida setiap organisme mengandung informasi genetik yang memengaruhi proses perkembangan dan pengaturannya (Lister *et al.*, 2013). Materi genetik (DNA) setiap sel organisme diatur ke dalam kromosom atau genom dan diturunkan melalui semua sistem kehidupan. DNA dapat diekstraksi dari manusia, tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme (Nishiguchi *et al.*, 2010).

Secara umum, proses isolasi DNA terdiri dari sentrifugasi, inkubasi, presipitasi, elusi, pencucian, dan pengeringan. Prosedur ini memungkinkan pemisahan molekul DNA dari komponen sel. Gaya sentrifugasi dan perbedaan berat molekul menjadi prinsip kerja dari sentrifugasi, sedangkan presipitasi dilakukan untuk mengendapkan DNA agar terpisah dari zat lain yang berada dalam sel. Isolasi DNA dapat dilakukan dengan menggunakan kit atau metode konvensional. Kit isolasi DNA dinilai lebih cepat, lebih mudah, dan lebih efektif daripada metode konvensional (Biologi *et al.*, 2021). DNA maupun RNA adalah polimer linier yang terdiri dari subunit atau monomer nukleotida. Nukleotida terdiri dari tiga jenis komponen molekul yaitu gula pentosa (deoksiribosa pada DNA atau ribosa pada RNA), basa nitrogen, dan gugus fosfat. Basa nukleotida terdiri dari purin (adenin = A, guanin = G) dan pirimidin (cytosine = C, tymin = T, dan urasil = U).

Pemahaman mengenai ilmu replikasi, transkripsi, dan translasi gen meningkat dengan ditemukannya struktur rantai ganda DNA oleh James Watson dan Crick pada tahun 1953. Sejak penemuan itu, terjadi kemajuan besar dan cepat dalam menejermahkan kode informasi kimia dalam molekul DNA menjadi komponen sel dan organisme. Secara alami, molekul DNA

dapat mengalami perubahan dengan dua cara, yaitu melalui mutasi, yang berarti penggantian (substitusi), penghapusan (delesi), atau penambahan (adisi) satu atau lebih bagian dari molekul DNA, dan melalui reproduksi seksual, di mana informasi genetik bertukar antar organisme sejenis.

2.4 Identifikasi Gen 16S rRNA

Gen 16S rRNA adalah bagian prokariot dengan bagian yang terkonsevasi. Selain gen 16S rRNA, nukleotida lain seperti gen 5S rRNA dan 23S rRNA juga digunakan untuk mengidentifikasi, tetapi kedua metode ini dinilai kurang efektif dan efisien. Gen 5S rRNA memiliki panjang 120 nt dan mengikat pada protein ribosomal L5, L18, dan L25 pada prokariotik. Menentukan 5S rRNA sangat sulit karena strukturnya yang terlalu kecil, dan dalam beberapa kasus, gennya dapat berubah sehingga analisis filogenetik tidak akurat. Struktur tersier dan sekunder dari gen 23S rRNA yang panjang (2900 basa) menyebabkan metode ini kurang efisien dalam mengidentifikasi dibandingkan dengan gen 16S (Akihary & Kolondam, 2020).

Metode identifikasi gen 16S rRNA merupakan metode yang saat ini paling umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Metode identifikasi 16S rRNA sangat efektif digunakan karena keakuratan yang tinggi dan waktu pengidentifikasian yang relatif lebih singkat (Akihary & Kolondam, 2020). Tahapan umum dalam identifikasi gen 16S rRNA yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi daerah 16S menggunakan PCR, visualisasi gen, sekuensing, Untuk sekuensing, gen yang digunakan dapat berupa gen penuh sepanjang (1500 pb) maupun gen sebagian (500 pb) (Noer, 2021). Hasil sekuensing digunakan untuk membandingkan urutan dalam berbagai database. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) adalah metode yang umum digunakan. National Center for Biotechnology Information (NCBI) telah mengumpulkan ribuan sekuens dari berbagai isolat lingkungan dan klinis ke dalam satu basis data yang dapat diakses melalui server online (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Rinanda, 2011).