

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Indonesia dikenal memiliki keanekaragaman tumbuhan yang sangat tinggi dan telah dimanfaatkan untuk berbagai keperluan oleh masyarakat di antaranya sebagai obat-obatan (Gultom *et al.*, 2020). Pengobatan tradisional berbasis tanaman obat masih menjadi alternatif pengobatan yang banyak diminati oleh masyarakat karena dibandingkan dengan obat kimia efek yang ditimbulkan relatif lebih kecil (Nugraha & Mulyani, 2020). Pemanfaatan tumbuhan obat diharapkan mampu meningkatkan nilai ekonomis tumbuhan tersebut melalui pembudidayaan oleh masyarakat serta dapat melestarikan populasi tanaman obat. Menurut (Hamidah *et al.*, 2020) perlu adanya pengembangan usaha budidaya tumbuhan obat baik secara institusi maupun ekstensi dalam upaya mencegah kepunahan dan komersialisasi tumbuhan obat. Seiring dengan hal tersebut trend pengobatan kembali ke alam (*back to nature*) akan membuat permintaan tumbuhan obat dimasa yang akan datang akan semakin meningkat. Pengolahan tumbuhan obat juga dapat menjadi alternatif dalam mencukupi kebutuhan bahan baku obat dalam negeri sehingga ketergantungan bahan baku obat dari luar negeri dapat berkurang.

Salah satu tanaman obat yang dapat tumbuh di Indonesia namun masih belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat ialah buah tin (*Ficus carica* L.) dari Family Moraceae. Tanaman ini dapat tumbuh dan dibudidayakan di daerah subtropis dan tropis. Di Indonesia terdapat beberapa varietas buah tin yang dapat tumbuh subur dan reproduktif seperti *red israel*, *brown turki*, *panache*, *green yordania*, *purple yordania*, *conadria* (Suherman & Enjang, 2019). Prospek pemasaran tanaman buah tin terus meningkat ke depannya karena manfaatnya dalam bidang kesehatan sehingga banyak dicari oleh masyarakat meskipun harganya masih relatif mahal (Fadhlurrahman *et al.*, 2018). Buah tin memiliki nilai ekonomis yang dapat diolah sebagai bahan baku pada pembuatan sirup, teh, jus, selai, serta buah kemasan kaleng (Mawa *et al.*, 2013) (Mursyid *et al.*, 2018); (Fadhlurrahman *et al.*, 2018). Bagian buah tin yang paling sering digunakan

sebagai obat adalah buah yang bisa dimakan secara langsung dalam bentuk segar atau kering (Zulkarnain, 2021).

Buah tin telah digunakan di seluruh dunia untuk mengobati berbagai macam penyakit. Menurut (Badgajar *et al.*, 2014) buah tin digunakan untuk menyembuhkan gangguan pada sistem endokrin (diabetes), sistem pernapasan (penyakit hati, asma, dan batuk), saluran pencernaan (maag dan muntah), sistem reproduksi (nyeri haid), dan penyakit menular (penyakit kulit, kudis, dan gonore). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Makmun & Azizah, 2020) buah tin dapat menjadi berbagai sumber zat yang dibutuhkan oleh tubuh yaitu serat, vitamin, mineral, zat besi, kalsium, taimin (B1), riboflavin (B2), lignin, dan potasium. Penelitian ini juga menyebutkan bahwa ekstrak buah tin memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antitumor, antikanker, antivirus, antiikterik, antikonvulsan, antihiperqlikemik serta menyembuhkan penyakit kulit. (Chawla *et al.*, 2010), (Joseph & Justin Raj, 2011), (Patil & Patil, 2011) melaporkan bahwa telah dilakukan penelitian berkelanjutan untuk memvalidasi penggunaan buah tin sebagai tanaman obat termasuk aktivitas farmakologisnya.

Berdasarkan penelitian hasil uji ekstrak buah tin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Ramadhan & Kartika, 2020). Buah tin menjadi sumber penting senyawa bioaktif seperti flavonoid, benzaldehida, alkaloid, terpenoid, dan fenol yang bersifat antibakteri (Paarakh, 2010). Senyawa antibakteri ekstrak buah tin melakukan penghambatan melalui ikatan hidrogen dengan membentuk senyawa kompleks bersama membran sel sehingga menghancurkan permeabilitas dinding sel bakteri (Yutika *et al.*, 2015). Saat dinding sel pecah maka senyawa antibakteri akan masuk ke dalam sel serta mengganggu metabolisme sel hingga akhirnya bakteri mati (Mahardika *et al.*, 2014). Berbagai macam manfaat kesehatan yang terkandung dalam buah tin seperti aktivitas antibakteri tersebut diperoleh oleh aktivitas senyawa bioaktif di dalamnya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tanaman buah tin tidak terlepas dari keberadaan mikroorganisme hidup pada jaringan tanamannya yang disebut dengan bakteri endofit.

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang bersifat menguntungkan tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan eksternal saat berinteraksi dengan tanaman (Ginting *et al.*, 2020). Penggunaan bakteri endofit dalam mencari potensi senyawa bioaktif di dasarkan pada kemudahan dalam perbanyakan molekuler serta efisiensi sampel yang digunakan terbatas atau harga yang relatif mahal. Beberapa tahun terakhir penelitian bakteri endofit telah menyita perhatian dunia karena kemampuannya dalam menghasilkan metabolit sekunder yang sama bahkan lebih banyak dibandingkan inangnya. Bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri yang sama seperti ekstrak tanaman inangnya, sehingga tidak perlu memanen tanaman inangnya sebagai simplisia yang memerlukan waktu lama untuk menanamnya (Kusumawati *et al.*, 2014). Seperti yang sudah diketahui bahwa tanaman buah tin (*Ficus carica* L.) memiliki potensi sebagai antibakteri, maka bakteri endofit yang menetap pada buah tin juga memiliki kemampuan yang sama seperti tanaman inangnya dalam mensintesis senyawa antibakteri.

Bakteri endofit dapat menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder yang bermanfaat bagi inangnya serta dapat dimanfaatkan oleh manusia dalam bidang kesehatan. Kemampuan tersebut diduga didapatkan dari hasil transfer gen horizontal antara bakteri endofit dengan inangnya (Ludwig-Müller, 2015). Bakteri endofit dapat menghasilkan enzim ekstraseluler berupa selulase yang menyebabkan mekanisme bakteri endofit dapat melakukan penetrasi ke internal jaringan tanaman (Munif *et al.*, 2007). Setelahnya bakteri endofit akan membentuk koloni serta terjadi kompetisi ruang dan nutrisi sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Pal & Chattopadhyay, 2012). Beberapa bakteri endofit berpengaruh besar bagi bidang kesehatan diantaranya menghasilkan metabolit sekunder seperti antibakteri, antibiotik, antikanker, antifungi, antivirus, dan agen insektisidal. Penelitian bakteri endofit yang terdapat dalam buah tin varietas *Brown Turkey* telah dilaporkan sebelumnya oleh (Alvarado-marchena *et al.*, 2016) yang mendeterminasi isolat bakteri endofit yang diperoleh yaitu *Klebsiellaoxytoca*, *Pseudomonas sp.* dan *Pantoea sp.* yang sebelumnya telah dilaporkan sebagai bakteri endofit pada tanaman lain.

Mempelajari keragaman mikroorganisme termasuk bakteri endofit tidaklah mudah karena 99% mikroorganisme yang ada di lingkungan merupakan jenis yang tidak dapat dikulturkan di laboratorium, bahkan beberapa diantaranya tumbuh sangat lambat hingga bertahun-tahun (Vollmers *et al.*, 2017). Oleh karena itu, diperlukan analisis yang mampu mengkaji keragaman bakteri endofit tanpa kultivasi yang dikenal dengan metagenomik. Teknik modern ini dapat menjadi solusi untuk mempelajari komunitas bakteri yang *culturable* maupun *unculturable*. Prinsip metagenomik berdasarkan analisis DNA dari sampel tanaman secara langsung kemudian diidentifikasi menggunakan gen penanda filogenetik yaitu 16s rRNA (Fiqolbi, 2017). Analisis metagenomik menggunakan *Next Generation Sequencing* (NGS) teknologi peruntukan terkini berbasis informatika yang memberikan informasi dengan lebih efektif dan efisien dalam pemetaan genom, anotasi (penamaan), sekuen identifikasi gen dan interaksi antar gen (Purwoko *et al.*, 2019). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri pada tanaman buah tin menggunakan analisis metagenomik berdasarkan gen 16s rRNA.

1.2. Identifikasi Masalah

Identifikasi masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Penggunaan buah tin (*Ficus carica* L.) sebagai tanaman obat belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat mengingat harga yang masih relatif mahal dan budidaya buah tin belum banyak dilakukan.
2. Pencarian potensi bakteri endofit jenis *culturable* dan *unculturable* yang berpotensi sebagai antibakteri belum banyak dilakukan.
3. Identifikasi molekuler dengan analisis metagenomik bakteri endofit yang berpotensi antibakteri jenis *culturable* dan *unculturable* pada buah tin (*Ficus carica* L.) belum pernah dilakukan sebelumnya.

1.3. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dalam penelitian ini meliputi pengambilan sampel tanaman buah tin, ekstraksi DNA dari jaringan buah tin, amplifikasi gen 16s rRNA, *Next Generation Sequencing*, elektroforesis, konstruksi pohon filogenetik dan *gen prediction* bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah buah tin jenis *Green Yordan* untuk didapatkan bakteri endofit dengan cara dilakukan ekstraksi DNA langsung dari jaringan buah tanaman tin (*Ficus carica* L.).
2. Amplifikasi gen 16s rRNA pada region V3-V4 melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) serta sekuensing DNA bakteri endofit yang dilakukan dengan *Direct Sequencing* dengan tipe *targeted sequencing (with marker) Next Generation Sequencing* (NGS).
3. Analisis yang dilakukan meliputi analisis bioinformatika dari metagenomik 16s rRNA dengan menggunakan *software phyton, flash, uparse, qiime, BLAST* dan MEGA-X.

1.5. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana keragaman bakteri endofit buah tin (*Ficus carica* L.) yang dilakukan dengan analisis metagenomik ?
2. Bagaimana potensi antibakteri pada bakteri endofit buah tin (*Ficus carica* L.) berdasarkan gen prediksi metagenomik?

1.6. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui keragaman bakteri endofit buah tin (*Ficus carica* L.) yang dilakukan dengan analisis metagenomik.
2. Mengetahui potensi antibakteri pada bakteri endofit buah tin (*Ficus carica* L.) berdasarkan gen prediksi metagenomik.

1.7. Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang keragaman bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri terkandung pada buah tin (*Ficus carica* L.).
2. Menambah ilmu pengetahuan di bidang mikrobiologi maupun bidang terkait lainnya, khususnya pada bakteri endofit yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.
3. Sebagai sumber informasi masa yang akan datang bagi mahasiswa yang akan melakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi bakteri endofit pada buah tin (*Ficus carica* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri dengan penanda 16s rRNA.