

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fosfor adalah makronutrien utama setelah nitrogen yang diperlukan oleh tumbuhan untuk tumbuh dan akan mempengaruhi semua proses biologis baik secara langsung maupun tidak langsung (Taliman *et al.*, 2019; Raghothama, 2005). Secara alami, fosfor dijumpai di tanah maupun sedimen dalam bentuk fosfat yang kemudian dibedakan menjadi molekul fosfat organik dan anorganik (Das *et al.*, 2014). Makhluk hidup khususnya tumbuhan membutuhkan fosfor dalam bentuk tersedia yaitu ortofosfat (H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-}) untuk menjalankan berbagai reaksi metabolisme misalnya fotosintesis, oksidasi biologi, serapan nutrisi (*nutrition uptake*), dan lain sebagainya (Cabugao *et al.*, 2017). Ketersediaan fosfor tersedia bagi tumbuhan di alam hanya sebesar $\leq 1 \text{ mg/kg}$ (Ahemad, 2015). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu mekanisme khusus untuk mentransformasikan fosfor ke bentuk yang tersedia bagi tumbuhan. Transformasi fosfor tersebut dapat dicapai dengan bantuan sekresi metabolit (enzim fosfatase) oleh akar tumbuhan itu sendiri dan mekanisme oleh bakteri pelarut fosfat (Das *et al.*, 2014).

Bakteri pelarut fosfat (BPF) dikenal sebagai bakteri heterotrof dengan kemampuan pelarutan fosfat (Chawngthu *et al.*, 2020). Pelarutan fosfat oleh BPF terjadi melalui dua macam mekanisme, meliputi: sekresi asam organik, dan mineralisasi fosfat secara enzimatik dengan mensekresi fosfatase sebagai enzim penghidrolisis fosfat. Sebagian besar BPF secara alami terdistribusi di tanah

khususnya rhizosfer dan beberapa hidup bersimbiosis dengan tumbuhan (Bargaz *et al.*, 2018; Oufdou *et al.*, 2016). BPF membantu meningkatkan ketersediaan P bagi tumbuhan menghasilkan eksudat akar yang kaya akan karbon, asam organik, asam amino dan menjadi sumber makanan bagi BPF (Chen dan Liu, 2015). Dengan demikian, keberadaan BPF menjadi sangat penting bagi tumbuhan. Berdasarkan beberapa penelitian dilaporkan bahwa BPF juga berperan sebagai *plant growth promoting bacteria* dengan mensekresi fitohormon yaitu hormon auksin (IAA) (Chawngthu *et al.*, 2020; Kudoyarova *et al.*, 2017).

Eksplorasi BPF asal tanah mangrove telah banyak dilakukan khususnya di wilayah Indonesia. Beberapa penelitian melaporkan diversitas BPF asal tanah mangrove dari beberapa negara di antaranya India (Kothamasi *et al.*, 2006), Mexico (Vazquez *et al.*, 2012), Iran (Teymouri *et al.*, 2016) dengan genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Enterobacter* sebagai yang paling banyak diidentifikasi. Sementara itu, eksplorasi BPF di Indonesia telah dilakukan di wilayah Mangrove Teluk Awur Jepara (Oktaviani *et al.*, 2020), Mangrove Wonorejo Surabaya (Octaviani, 2011), dan Mangrove Teluk Naga Banten (Sari dan Fitri, 2019). Hasil eksplorasi menunjukkan beberapa genus teridentifikasi sebagai BPF, di antaranya *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, dan *Klebsiella*. Tanah mangrove dikenal sebagai wilayah dengan karakteristik tingginya tingkat salinitas, rentang suhu iklim yang luas (wide seasonal temperature variation) dan defisiensi nutrien khususnya fosfat (El-Tarabily *et al.*, 2010). Karakteristik unik tersebut yang kemudian menjadikan BPF yang hidup di dalamnya memiliki karakter aktivitas

pelarutan fosfat secara enzimatis yang berbeda dengan enzim konvensional lainnya. (Behera *et al.*, 2017a).

Fosfatase membentuk kelompok enzim yang bekerja mengkatalis reaksi hidrolisis ester dan anhidrida asam fosfat. Di antara beberapa jenis fosfatase yang terlibat, fosfatase asam dan fosfatase alkali termasuk yang paling banyak diteliti perannya dalam mineralisasi fosfat organik (Nannipieri *et al.*, 2011). Kedua jenis enzim dibedakan berdasarkan kondisi optimal pH yang diperlukan. Fosfatase asam bekerja optimal pada pH asam, dan sebaliknya fosfatase alkali membutuhkan pH basa (Behera *et al.*, 2017a; Behera *et al.*, 2017b). Saat ini, aplikasi enzim fosfatase di skala industri telah banyak dilakukan di beberapa bidang, seperti di antaranya digunakan secara khusus dalam bidang medis sebagai alat diagnostik atau untuk pemeriksaan klinis beberapa penyakit seperti malaria (Devi *et al.*, 2017), gangguan ginjal (Freethi *et al.*, 2016), kanker prostat (Kirschenbaum *et al.*, 2011), dan juga digunakan dalam biosintesis hidroksiapatit sebagai komponen pengganti tulang atau *bone graft* (Ahmadzadeh *et al.*, 2017) serta teknik biologi molekuler (Van dan Pletschke, 2011). Selain itu, fosfatase juga dikenal sebagai salah satu komponen esensial pupuk alami atau biofertilizer yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman (Sarikhani *et al.*, 2019). Beberapa penelitian juga menunjukkan kemampuan fosfatase asal bakteri dalam menurunkan tingkat toksisitas berbagai jenis pencemar logam berat seperti timbal (Pb) oleh *Achromobacter xylosoxidans* (Sharma *et al.*, 2018), dan uranium (U) oleh *Bacillus cereus* (Zhang *et al.*, 2018).

Penelitian ini merupakan bagian dari payung penelitian yang dihasilkan dalam pengembangan biofertilizer untuk tanaman yang memiliki nilai ekonomi di Indonesia. Mangrove adalah salah satu jenis ekosistem unik karena lokasinya yang berada di tepi pantai beriklim tropis dan dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Keberadaan ekosistem mangrove di Indonesia sangat penting yaitu sebagai alat mitigasi bencana yang terkait dengan abrasi, dan tsunami serta merupakan salah satu objek ekowisata (Senoaji dan Hidayat, 2016). Penelitian mengenai eksplorasi Bakteri Pelarut Fosfat asal tanah mangrove di Indonesia sudah beberapa kali dilakukan di beberapa wilayah seperti mangrove Teluk Awur Jepara (Oktaviani *et al.*, 2020), mangrove Wonorejo Surabaya (Oktaviani, 2020), dan mangrove Teluk Naga Banten (Sari dan Fitri, 2019). Sebelumnya, Nuraini (2019) dalam penelitiannya telah mengisolasi bakteri dari tanah mangrove Jenu Tuban dan menemukan total 20 isolat yang belum pernah diuji potensinya terhadap pelarutan fosfat. Penelitian saat ini bertujuan untuk melakukan skrining dari total 20 isolat tersebut dan menguji aktivitas enzim fosfatase terhadap satu isolat yang paling potensial. Uji skrining dilakukan untuk mendapatkan isolat yang berpotensi melarutkan fosfat menggunakan media Pikovskaya Agar dengan metode totol. Isolat bakteri yang dipilih untuk diuji aktivitas fosfatasenya adalah yang mampu menghasilkan zona halo terbesar dan tercepat dalam 72 jam masa inkubasi. Terbentuknya zona halo oleh isolat sebagai indikator adanya reaksi hidrolisis trikalsium fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber fosfat di dalam media oleh enzim fosfatase. Melalui terbentuknya zona halo yang besar diharapkan juga terdapat sintesis enzim fosfatase dalam jumlah besar. Selanjutnya, penelitian dilanjutkan

dengan produksi dan karakterisasi enzim fosfatase dari isolat potensial yang meliputi pengaruhnya terhadap faktor suhu, pH, ion – ion logam, dan biosurfaktan. Menurut Das, (2014) beberapa faktor memainkan peran kunci dalam mempengaruhi aktivitas fosfatase yaitu di antaranya: pH, salinitas, suhu, dan konsentrasi substrat fosfat – fosfor.

Fosfatase yang diperoleh melalui penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan sebagai komponen biofertilizer khusus untuk tanaman mangrove dan sekaligus dapat menjadi agen bioremediasi untuk mengurangi tingkat toksisitas pencemaran logam berat di pesisir pantai di Indonesia. Bentuk pemanfaatan fosfatase di atas menjadi harapan serta bentuk upaya atau langkah awal pemanfaatan isolat lokal sebagai produsen enzim fosfatase. Sebagaimana yang diketahui oleh Peneliti, bahwa hingga saat ini masih belum ada pemanfaatan isolat lokal sebagai produsen enzim fosfatase. Dengan demikian, penelitian lanjutan terkait dengan uji aktivitas enzim fosfatase beserta karakteristiknya perlu untuk dilakukan yang mana hal ini belum pernah dilakukan di wilayah tanah Mangrove Jenu Tuban. Selain itu, pengujian aktivitas enzim fosfatase yang dilakukan pada penelitian ini juga diharapkan dapat menyediakan informasi mengenai karakteristik enzim sehingga dapat ditentukan kondisi optimum yang dibutuhkan fosfatase asal bakteri kode TBN13 dalam bekerja sebagai pengkatalis reaksi enzimatik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diambil adalah:

- 1.2.1 Bagaimana karakteristik isolat yang tertinggi potensinya terhadap pelarutan fosfat dan berapa indeks pelarutan fosfat yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang paling berpotensi ?
- 1.2.2 Apakah nama spesies isolat bakteri yang paling berpotensi dalam melarutkan fosfat ditinjau dari indeks pelarutan fosfat yang terbentuk ?
- 1.2.3 Berapa nilai aktivitas crude enzim fosfatase dari isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat paling tinggi pada kondisi optimum inkubasi ?
- 1.2.4 Berapa nilai aktivitas enzim fosfatase dari hasil purifikasi parsial isolat bakteri dengan indeks pelarutan paling tinggi ?
- 1.2.5 Bagaimana pengaruh variasi suhu, pH, ion – ion logam, dan surfaktan terhadap aktivitas enzim fosfatase asal isolat bakteri dengan indeks pelarutan paling tinggi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1.3.1 Mengetahui karakteristik isolat yang tertinggi potensinya terhadap pelarutan fosfat dan berapa indeks pelarutan fosfat yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang paling berpotensi
- 1.3.2 Mengetahui nama spesies bakteri yang paling berpotensi dalam melarutkan fosfat ditinjau dari indeks pelarutan fosfat yang dihasilkan

- 1.3.3 Mengetahui nilai aktivitas crude enzim fosfatase dari isolat bakteri dengan indeks pelarutan paling tinggi pada kondisi optimum inkubasi
- 1.3.4 Mengetahui nilai aktivitas enzim fosfatase dari hasil purifikasi parsial isolat bakteri dengan indeks pelarutan paling tinggi
- 1.3.5 Mengetahui bagaimana pengaruh variasi suhu, pH, ion – ion logam, dan surfaktan terhadap aktivitas enzim fosfatase asal isolat bakteri dengan indeks pelarutan paling tinggi

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmiah

Manfaat ilmiah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.4.1.1 Memberikan informasi nama spesies dari isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat tertinggi berdasarkan analisis 16S rRNA
- 1.4.1.2 Memberikan informasi kemampuan isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat tertinggi dalam menghasilkan enzim fosfatase
- 1.4.1.3 Memberikan informasi terkait dengan proses purifikasi enzim fosfatase yang dihasilkan oleh isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat tertinggi
- 1.4.1.4 Memberikan informasi karakteristik enzim fosfatase yang dihasilkan oleh isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat tertinggi terhadap variasi suhu, pH, ion – ion logam, dan surfaktan

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Manfaat aplikatif dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.4.1 Memberikan acuan untuk pemanfaatan enzim fosfatase yang dihasilkan oleh isolat bakteri dengan indeks pelarutan fosfat tertinggi pada berbagai bidang di antaranya sebagai agen bioremediasi untuk mengurangi tingkat toksisitas daerah yang telah tercemar logam berat; sebagai komponen biofertilizer untuk menyediakan fosfat terlarut bagi tumbuhan; dan juga sebagai alat diagnostik berbagai penyakit
- 1.4.2 Memberikan acuan dalam memproduksi enzim fosfatase untuk dikembangkan ke tahap produksi fosfatase secara efisien baik berdasarkan biaya, tenaga, dan waktu