

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hewan dekomposer siput dan kecoa merupakan hewan dekomposer yang kelimpahannya paling tinggi yang ditemukan di komposter limbah domestik rumah tangga (Ni'matuzahroh *et al.*, 2019). Hal tersebut disebabkan karena adanya bahan limbah tertentu yang mendominasi dan menjadi sumber makanan bagi hewan dekomposer. Menurut Setyaningsih *et al.* (2017), komposisi sampah domestik rumah tangga yang biasanya dihasilkan meliputi seperti sampah sisa tanaman, buah, sayuran, daging, dan sampah organik lainnya. Bahan-bahan tersebut merupakan sumber makanan bagi hewan dekomposer siput (*A. fulica*) dan kecoa (*P. surinamensis*).

Kemampuan kecoa dalam mendekomposisi senyawa organik dapat berhubungan dengan bakteri simbiotik yang terdapat pada saluran pencernaannya di mana pada bagian tersebut merupakan tempat berbagai enzim seperti amilase, lipase, selulase, dan protease diproduksi serta disekresikan (Khilia, 2018). Selain kecoa, berbagai penelitian juga telah dilakukan untuk mengetahui peranan bakteri simbiotik dalam usus siput terkait kemampuan siput dalam mendekomposisi sampah organik. Bakteri dalam usus siput diketahui mampu menghasilkan enzim selulolitik (Wijanarka *et al.*, 2016). Bakteri ini dapat menghasilkan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Menurut Castro *et al.* (2002) kelenjar *midgut* pada kelas Mollusca mampu menghasilkan enzim selulase yang di dalamnya terdapat eksoglukanase dan endoglukanase. Sedangkan untuk mikroba yang sering ditemukan di dalamnya meliputi genus *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* dan *Zymomonas* (Wenzel *et al.*, 2002). Adanya bakteri dan protozoa dalam saluran pencernaan yang bersimbiosis satu sama lain berguna untuk memecah bahan selulosa atau glukon.

Mikroba yang berasosiasi dalam hewan dekomposer inilah yang dinamakan dengan bakteri endosimbion. Berdasarkan Ni'matuzahroh *et al.* (2019) diketahui bahwa bakteri endosimbion hewan dekomposer yang didapatkan dari kompos

limbah domestik memiliki potensi besar dalam menghasilkan berbagai enzim. Potensi enzimatis mikroba asosiatif dalam degradasi berbagai komponen penyusun sampah domestik rumah tangga tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri. Salah satu potensi enzimatis yang diketahui adalah untuk mendegradasi selulase di mana enzim yang berperan dalam merombak selulosa adalah enzim selulolitik.

Enzim selulolitik terdiri dari enzim endoglukanase, eksoglukanase, serta beta glukosidase. Endoglukanase bekerja sama dengan eksoglukanase akan menghidrolisis selulosa menjadi selobiosa, kemudian selobiosa dihidrolisis menjadi glukosa oleh enzim β -glukosidase (Silva *et al.*, 2005). Kemampuan selulase ini membuka jalan untuk dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Selulosa dapat dikonversi menjadi produk bernilai ekonomi tinggi. Salah satunya adalah peranan dari enzim β -glukosidase. Aktivitas ganda β -glukosidase yang berperan untuk pemutusan dan sintesis ikatan glikosidik memegang peranan utama dalam banyak jalur biologis penting seperti pensinyalan seluler, biosintesis dan degradasi struktural polisakarida, interaksi host-patogen, serta berperan dalam sejumlah aplikasi bioteknologi (Bhatia *et al.*, 2002).

Untuk aplikasi bioteknologi, enzim β -glukosidase diketahui memiliki banyak manfaat potensial untuk digunakan pada berbagai proses seperti pelepasan rasa (flavor), aroma, aglikon isoflavon dan sintesis oligosakarida serta alkil glikosida. Pada produksi bioetanol dari biomassa lignoselulosa, β -glukosidase berperan dalam menghidrolisis selobiosa yang merupakan senyawa intermediet dari hidrolisis selulosa menjadi monomer glukosa (Krisch *et al.*, 2010; Singhanian *et al.*, 2013). Sedangkan pada industri kertas dan pulp, β -glukosidase bersama dengan selulase dan hemiselulase digunakan untuk menghilangkan warna tinta pada proses daur ulang limbah kertas (Ahmed *et al.*, 2017). Pada serangga dan tumbuhan β -glukosidase terlibat dalam pelepasan sianida dari prekursor sianoglukosida. Selain itu fungsi lain β -glukosidase pada tumbuhan adalah berperan dalam hidrolisis prekursor fitohormon, metabolisme pigmen, perkembangan benih, dan konversi biomassa. Geraldi *et al.* (2019) juga berhasil melakukan eksplorasi mengenai enzim β -glukosidase untuk biotransformasi senyawa aktif ginseng.

Hasil yang diperoleh adalah enzim β -glukosidase dapat mengkonversi *Major Ginsenoside* yang memiliki khasiat anti-kanker dan anti-inflamasi. Namun di samping banyaknya peranan enzim β -glukosidase di atas, umumnya selulase yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik tertentu menghasilkan jumlah β -glukosidase yang sedikit, yang mana akhirnya produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa. Oleh karena itu dibutuhkan eksplorasi mikroba potensial penghasil enzim β -glukosidase (Hartanti, 2010).

Berdasarkan penelitian terdahulu, terdapat beberapa penelitian yang sudah berhasil mengisolasi berbagai mikroba penghasil enzim hidrolitik dari hewan dekomposer yang memiliki potensi untuk menghasilkan enzim β -glukosidase. Ferbiyanto *et al.* (2015), berhasil mengisolasi beberapa bakteri endosimbion yang terdapat dalam hewan dekomposer rayap tanah (*Macrotermes gilvus*). Jenis bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan *M. gilvus* meliputi *B. megaterium* dan *Paracoccus yeei* yang mampu menghasilkan enzim hidrolitik selulase. Kemudian Banerjee *et al.* (2016), juga berhasil mengisolasi beberapa bakteri endosimbion yang terdapat dalam hewan dekomposer jangkrik mol Afrika (*Gryllotalpa africana*). Jenis bakteri yang terdapat dalam pencernaan *G. africana* meliputi *B. licheniformis*, *B. subtilis* dan *Rhodococcus opacus* yang mampu menghasilkan enzim hidrolitik amilase. Selanjutnya Ng *et al.* (2019) berhasil mengungkap adanya enzim hidrolitik lipase dan protease yang berasal dari bakteri *Enterococcus faecalis* yang terdapat dalam saluran cerna hewan dekomposer lalat tentara hitam (*Hermetia illucens*). Hussin *et al.* (2020) berhasil mengisolasi bakteri *B. tequilensis* yang terdapat dalam saluran cerna hewan dekomposer siput (*A. fulica*) yang mampu menghasilkan enzim hidrolitik kitinase. Sedangkan Ni'matuzahroh *et al.* (2019) telah berhasil mengisolasi 63 isolat bakteri dari hewan dekomposer siput (*A. fulica*) dan kecoa (*P. surinamensis*) di mana 4 dari 63 isolat (ESD 4, EKA 4, EKA 19, dan EKA 20) diketahui berpotensi sebagai bakteri penghasil enzim selulolitik. Isolat ESD 4 berasal dari usus hewan dekomposer siput (*A. fulica*), sedangkan isolat EKA 4, EKA 19, dan EKA 20 berasal dari usus hewan dekomposer kecoa (*P. surinamensis*).

Eksplorasi bakteri penghasil enzim β -glukosidase di Indonesia masih terbatas sehingga perlu dilakukan riset eksplorasi yang lebih lanjut. Salah satu sumber potensial penghasil enzim β -glukosidase adalah bakteri selulolitik yang berasal dari saluran pencernaan hewan dekomposer. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan *screening* aktivitas enzim β -glukosidase dari isolat bakteri endosimbion siput (*A. fulica*) dan kecoa (*P. surinamensis*), identifikasi isolat penghasil enzim β -glukosidase potensial, dan deteksi gen penyandi enzim β -glukosidase dari isolat tersebut sebagai langkah awal untuk mengeksplorasi potensi bakteri endosimbion dari hewan dekomposer siput (*A. fulica*) dan kecoa (*P. surinamensis*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka dalam penelitian ini didapatkan rumusan masalah :

1. Apakah isolat bakteri endosimbion siput (*A. fulica*) (isolat EKA 4) dan kecoa (*P. surinamensis*) (isolat EKA 4, EKA 19, dan EKA 20) mampu menghasilkan enzim β -glukosidase?
2. Apa nama spesies isolat bakteri endosimbion yang mampu menghasilkan enzim β -glukosidase berdasarkan identifikasi secara molekuler?
3. Bagaimana urutan gen penyandi β -glukosidase dari isolat bakteri endosimbion yang mampu menghasilkan enzim β -glukosidase?

1.3 Asumsi Penelitian

Salah satu sumber potensial enzim β -glukosidase adalah bakteri endosimbion hewan dekomposer. Kemampuan bakteri endosimbion dalam menghasilkan enzim diinduksi oleh makanan yang dikonsumsi oleh hewan dekomposer inangnya. Siput dan kecoa merupakan salah satu hewan dekomposer yang menggunakan selulosa sebagai sumber energi sehingga di dalam tubuhnya banyak ditemukan mikroba selulolitik (Sugiyarto dan Setyaningsih, 2007). Salah satu enzim hidrolitik adalah selulase yang terdiri atas enzim eksoglukanase, endoglukanase, serta β -glukosidase.

Untuk mengetahui apakah suatu isolat bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim β -glukosidase maka perlu dilakukan *screening* aktivitas

β -glukosidase. *Screening* dilakukan dengan menggunakan substrat *5-Bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucoside* (X-Glc) dan pelarut *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna koloni bakteri menjadi warna biru (Gerald *et al.*, 2019). Hasil *screening* isolat yang mampu menghasilkan enzim β -glukosidase dapat dilanjutkan dengan identifikasi secara molekuler untuk mengetahui spesiesnya menggunakan 16S rRNA di mana gen ini mempunyai bagian *hypervariable region* yang mempermudah dalam mengidentifikasi jenis bakteri (Noer, 2021).

Untuk mendeteksi gen penyandi suatu isolat bakteri perlu dilakukan adanya desain primer terlebih dahulu dikarenakan keberhasilan amplifikasi DNA sangat tergantung dari ketepatan primer yang digunakan (Prakoso, 2006). Dalam melakukan desain primer, isolat bakteri harus teridentifikasi spesiesnya terlebih dahulu untuk dapat mengetahui urutan gen yang akan dijadikan template dalam mendesain primer. Deteksi gen penyandi enzim β -glukosidase menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer yang telah didesain berdasarkan urutan gen penyandi β -glukosidase yang terdapat di *GenBank*. Kemudian sekuens gen penyandi enzim β -glukosidase yang dideteksi dapat diketahui menggunakan sekuensing *Sanger* dan dapat dibandingkan dengan sekuens sejenis yang terdapat di *GenBank*.

Berdasarkan landasan teori di atas, maka dalam penelitian ini didapatkan asumsi :

1. Bakteri endosimbion siput (*A. fulica*) dan kecoa (*P. surinamensis*) dapat menghasilkan enzim β -glukosidase apabila hasil *screening* aktivitas enzim β -glukosidase menunjukkan perubahan warna isolat menjadi biru.
2. Isolat bakteri endosimbion yang mampu menghasilkan enzim β -glukosidase berdasarkan hasil *screening* dapat diidentifikasi spesiesnya secara molekuler berdasarkan analisis hasil sekuensing gen 16S rRNA menggunakan algoritma BLASTn yang dicocokkan dengan sekuens sejenis di *GenBank* yang mana spesies dapat dikatakan sejenis apabila homologinya menunjukkan *per.identity* di atas 99%.