

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pada saat ini terdapat kebutuhan yang terus menerus terhadap penemuan obat-obatan baru yang memiliki keefektifan yang tinggi dalam pengobatan kanker, resistensi bakteri, infeksi fungi dan virus, serta infeksi organisme parasit lainnya. Telah tercatat bahwa produk-produk alami dari berbagai varietas tumbuhan telah disiapkan sebagai dasar pembuatan sebagian besar obat-obatan baru dan senyawa bioaktif lainnya. Peran dari produk-produk alami tersebut terlihat dari sering dimanfaatkannya senyawa aktif yang terkandung dalam berbagai jenis tumbuhan sebagai pengobatan tradisional. Penelitian terkait keberhasilan penggunaan tumbuhan dalam pengobatan tradisional dan produksi obat herbal modern menunjukkan bahwa terdapat minat dan perhatian baru dalam pemanfaatan berbagai aspek yang mendasari bioaktivitas dari suatu senyawa bioaktif (Miller *et al.*, 2012).

Potensi-potensi yang dimiliki mikroba endofit telah dikaji untuk berbagai tujuan, salah satunya adalah untuk memproduksi senyawa bioaktif sebagai agen proteksi tumbuhan yang biasanya terdapat dalam suatu sistem jaringan seperti daun, batang, atau akar tumbuhan. Mikroba ini mampu menghasilkan mikotoksin, enzim dan antibiotik. Bahan aktif yang dihasilkan mikroorganisme endofit diperkirakan memiliki kemampuan yang sama dengan bahan aktif yang dihasilkan oleh tumbuhan induknya (Strobel & Daisy, 2003).

Berat molekuler yang rendah dari suatu metabolit sekunder pada mikroba endofit menunjukkan tingkat struktur diversitas yang besar dari gugus senyawa yang paling besar dan penting, yaitu poliketida, senyawa derivat asam amino, dan *terpena*. Metode genetika dan biologi molekuler telah banyak digunakan untuk mengetahui jalur biosintesis yang terlibat dalam produksi metabolit sekunder. Studi genetika dan molekuler terkait gen penghasil enzim untuk sintesis metabolit sekunder pada mikroba telah berkembang pesat dan sekarang ini kebanyakan difokuskan ke dalam pendeteksian jalur sintesis poliketida dan *non-ribosomal* peptida (Miller *et al.*, 2012), dikarenakan sintesis poliketida memiliki potensi yang besar untuk menghasilkan produk-produk alami bernilai tinggi. Poliketida diproduksi oleh kebanyakan jamur, tumbuhan, bakteri, dan organisme-organisme perairan. Superfamili dari berbagai macam produk senyawa aktif struktural ini telah banyak digunakan dalam aplikasi bidang farmasi, diantaranya *rapamycin* (*immunosuppressant*), *erythromycin* (antibiotik), *lovastatin* (obat antikolesterol), dan *epothilone β* (antikanker). Biosintesis poliketida dilakukan oleh enzim kompleks multimodular besar, yaitu *polyketide synthase* (PKS). Pemanjangan rantai senyawa poliketida membutuhkan tiga bagian inti domain dari *polyketide synthase*, yaitu domain *acyltransferase* (AT), *acyl carrier protein* (ACP), dan domain *ketosynthase* (KS) (Miller *et al.*, 2012).

Selama beberapa tahun terkini, *ketosynthase* diketahui sebagai salah satu superfamili dari enzim kompleks biosintetik yang berasosiasi dengan prokariotik, fungi, dan tumbuhan. Enzim *ketosynthase* telah banyak diketahui dapat membantu produksi berbagai produk seperti antibiotik maupun produk lainnya yang

diperlukan untuk keperluan medis dan industri dalam skala yang besar. Domain *ketosynthase* dibutuhkan untuk kondensasi unit pemanjangan rantai poliketida selama biosintesis poliketida berlangsung. Oleh karena itu, *ketosynthase* memiliki hubungan untuk menentukan produksi struktur metabolit yang beraneka ragam (Moffit & Neilan, 2002).

Berdasarkan sejumlah penelitian yang pernah dilakukan, diketahui bahwa superfamili enzim *ketosynthase* dapat disintesis oleh sejumlah bakteri endofit khususnya bakteri endofit pada jaringan tumbuhan aromatik, sehingga salah satunya diindikasikan terdapat pada tumbuhan *Vetiveria zizanioides* (akar wangi). Terdapat penelitian sebelumnya mengenai keragaman bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L., bahwa telah ditemukan 17 isolat bakteri yang memiliki karakteristik morfologi beragam dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Permatasari, 2011).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penting sekali untuk mengetahui diversitas dan ketersediaan enzim *ketosynthase* dari bakteri endofit, sehingga dilakukan eksplorasi gen *ketosynsase* pada bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. Hasil analisis dari gen tersebut diharapkan dapat mengindikasikan bahwa kelompok *ketosynthase* dari satu jenis bakteri berbeda dengan kelompok *ketosynthase* dari bakteri lainnya. Analisis evolusioner seperti ini sangat penting dilakukan untuk mencapai pengetahuan yang lebih baik mengenai diversitas sistem biosintesis dan produksi bioaktif dari poliketida. Hasilnya dapat dipakai untuk keperluan pembuatan obat baru, antibiotik serta keperluan medis lainnya di masa yang akan datang (Moffit & Neilan, 2002).

B. Rumusan Masalah

Bagaimana keberadaan dan diversitas gen *ketosynthase* pada bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L ?

C. Pertanyaan Penelitian

1. Jenis bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. apa saja yang memiliki gen *ketosynthase*?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan atau kedekatan antara jenis *ketosynthase* yang dimiliki oleh bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. dengan jenis *ketosynthase* yang dimiliki oleh bakteri lain ?

D. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan yaitu sebanyak 17 isolat bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. Sampel ini didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya (Permatasari, 2011) yang diisolasi dari akar tumbuhan *Vetiveria zizanioides* L. di Perkebunan Usar Kamojang, Kabupaten Garut.
2. Analisis yang dilakukan adalah eksplorasi gen *ketosynthase* pada bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. Analisis ini berdasarkan hasil amplifikasi dan komparasi sekuens gen *ketosynthase* dari isolat bakteri yang terdeteksi memiliki gen tersebut.
3. Gen yang dikaji meliputi gen *ketosynthase* dan *16S rRNA*.

4. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen *ketosynthase* adalah primer *degenerate oligonucleotide*. Primer *degenerate oligonucleotide* tersebut mencakup primer *forward* DKF dan primer *reverse* DKR, serta primer *heterocyst glycolipid* yang meliputi primer *forward* HGLF dan primer *reverse* HGLR (Moffit & Neilan, 2002). Adapun primer yang digunakan untuk amplifikasi gen *16S rRNA* adalah primer *forward* 63F dan primer *reverse* 1387R (Marchesi *et al.*, 1998).

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi mengenai keberadaan dan diversitas gen *ketosynthase* pada bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. serta informasi jenis bakteri yang memiliki gen tersebut.

F. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai jenis bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L. yang memiliki gen *ketosynthase*.
2. Memberikan gambaran tentang keragaman jenis *ketosynthase* dari setiap bakteri endofit akar *Vetiveria zizanioides* L.
3. Sebagai pustaka awal penelitian selanjutnya yang lebih aplikatif, yaitu mengembangkan produk antibiotik dan produk alami lainnya dengan bantuan *ketosynthase* yang disintesis oleh setiap bakteri endofit.
4. Sebagai tambahan ilmu khususnya dalam bidang mikrobiologi, farmasi, biologi molekuler dan tumbuhan.