

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Sebagai negara dengan iklim tropis, Indonesia memiliki wilayah dengan biodiversitas yang tinggi. Faktor lingkungan sangat mendukung tumbuhnya berbagai jenis tumbuhan yang tersebar di wilayah Indonesia. Banyak jenis tumbuhan tersebut memiliki nilai etnobotani, menunjukkan tingginya potensi sumber daya hayati nusantara. Penggunaan tersebut tidak terlepas dari keberadaan senyawa bioaktif yang dimiliki oleh tumbuhan. Berbagai senyawa bioaktif yang dimiliki oleh tumbuhan telah banyak diekstraksi, diidentifikasi dan dikaji keefektifannya dalam menangani penyakit dan penyebabnya. Cara tersebut menunjukkan tren baru pemanfaatan senyawa bioaktif dalam pengembangan obat-obatan (Keller & Nugraha, 2011).

Akar wangi (*Vetiveria zizanioides*) dan babadotan (*Ageratum conyzoides*) merupakan tumbuhan yang memiliki nilai etnobotani dengan pemanfaatan sebagai tumbuhan obat oleh masyarakat Indonesia, khususnya dalam penanganan luka. Akar wangi dan babadotan memiliki banyak jenis metabolit sekunder yang terakumulasi pada berbagai bagian organ. Beberapa jenis metabolit sekundernya pun diproduksi sebagai minyak esensial pada kedua jenis tumbuhan (Amadi *et al.*, 2012 ; Maffei, 2002). Kelompok senyawa bioaktif yang disintesis oleh kedua tumbuhan meliputi kelompok senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Variasi senyawa yang tinggi menyebabkan tingginya potensi penggunaan kedua tumbuhan sebagai sumber daya biologis senyawa aktif yang fungsional (Keller & Nugraha, 2011).

Senyawa bioaktif yang berada pada tumbuhan tidak hanya dihasilkan oleh tumbuhan itu sendiri. Beberapa mikroorganisme endofit yang hidup dalam tumbuhan menghasilkan berbagai jenis senyawa aktif yang terakumulasi pada jaringan tumbuhan. Senyawa hasil sintesis bakteri endofit tersebut memiliki fungsi yang bermacam – macam, diantaranya sebagai senyawa antibakteri, antifungal, dan fitohormon. Berbagai jenis senyawa bioaktif telah diisolasi dari mikroorganisme endofit pada tumbuhan. Namun, keragaman jenis senyawa

bioaktif yang dapat diproduksi oleh mikroorganisme sangat tinggi sehingga diperkirakan masih banyak jenis senyawa aktif yang belum tereksplorasi (Clardy *et al.*, 2006). Keragaman senyawa hasil sintesis mikroorganisme menunjukkan potensi mikroorganisme sebagai sumber senyawa bioaktif dengan fungsi spesifik, diantaranya adalah senyawa antibakteri dan antifungal (Gunatilaka, 2006)

Eksplorasi senyawa aktif juga dilakukan dengan mempelajari jalur biosintesis dari senyawa yang dihasilkan mikroorganisme. Kelompok senyawa poliketida dan peptida nonribosom, atau hibrida antara keduanya merupakan kelompok senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Kompleks enzim multimodular *Polyketide Synthase* (PKS) dan *Non Ribosomal Peptide Synthase* (NRPS) merupakan kelompok enzim yang terlibat dalam sintesis kelompok senyawa aktif poliketida dan peptida nonribosom (Fishbach & Walsch, 2006). Studi molekuler saat ini banyak berfokus pada pencarian gen yang mengekspresikan enzim NRPS dan PKS, serta mempelajari evolusi dan keragaman dari enzim tersebut. Studi juga memprediksi senyawa aktif yang dapat disintesis oleh enzim yang dihasilkan. Hal tersebut dilakukan karena kedua gen tersebut memiliki potensi yang besar bagi perkembangan senyawa antibiotik generasi berikutnya (Amoutzias *et al.*, 2008).

Kompleks enzim pada sistem NRPS mikroorganisme terdiri dari banyak modul yang rangkaiannya dapat bermacam - macam pada tiap jenis bakteri, sehingga variasi dari produk peptida nonribosom yang dihasilkan sangat beragam. Selain itu, substrat asam amino yang digunakan oleh enzim NRPS dalam mensintesis peptida non ribosom tidak terbatas pada yang digunakan dalam sistem sintesis protein ribosom. Sintesis protein pada ribosom hanya menggunakan 20 jenis substrat asam amino, sementara enzim NRPS dapat menggunakan 20 asam amino berikut jenis asam amino yang lain misalnya ornithin dan asetilsteamin. Kelebihan tersebut menyebabkan kompleks enzim NRPS digunakan oleh mikroorganisme untuk mensintesis senyawa bioaktif yang bervariasi (Konz & Marahiel, 1999).

Berdasarkan beberapa penelitian, bakteri endofit yang memiliki karakteristik metabolit sekunder dengan aktivitas sebagai antibakteri terdeteksi memiliki

kompleks enzim NRPS (Neilan *et al.*, 1999 ; Okoro *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2009) Tumbuhan obat seperti *V. zizanioides* dan *A. conyzoides* merupakan habitat bagi bakteri endofit yang mengkolonisasi jaringan akar tumbuhan. Bakteri endofit pada tumbuhan obat banyak terdeteksi memiliki gen yang mengekspresikan kelompok enzim NRPS dan PKS (Miller *et al.*, 2012). Isolat bakteri endofit akar tumbuhan *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* diprediksi memiliki gen NRPS yang berperan dalam produksi senyawa bioaktif, terutama isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri. Untuk mempelajari potensi genetik isolat bakteri endofit pada kedua akar tumbuhan, perlu dilakukan deteksi gen biosintesis senyawa aktif, khususnya gen NRPS dengan metode molekuler. Oleh karena itu, perlu dilakukan studi untuk mempelajari gen NRPS pada bakteri endofit akar *A. conyzoides* dan *V. zizanioides*.

B. Rumusan Masalah

“Bagaimana keragaman gen NRPS pada bakteri endofit akar tumbuhan obat (*V. zizanioides* dan *A. conyzoides*) ?”

C. Batasan Masalah

Untuk memfokuskan ruang lingkup penelitian, pembatasan dilakukan pada parameter :

1. Sampel yang digunakan yaitu lima isolat bakteri endofit akar *V. zizanioides* dan empat isolat bakteri endofit *A. conyzoides*.
2. Analisis yang dilakukan adalah analisis homologi sikuen dan kekerabatan sikuen NRPS berdasarkan hasil komparasi sikuen dari isolat bakteri yang terdeteksi memiliki gen tersebut.
3. Primer yang digunakan untuk deteksi gen NRPS adalah pasangan primer forward – reverse A3F dan A7R (Ayuso-Sacido & Genilloud, 2003).

D. Tujuan

Tujuan dari penelitian yaitu menganalisis keragaman gen NRPS pada bakteri endofit akar tumbuhan obat (*V. zizanioides* dan *A. conyzoides*).

E. Manfaat

1. Memberikan informasi isolat bakteri endofit akar *V. zizanioides* dan *A. conyzoides* yang memiliki gen NRPS.
2. Memberikan informasi mengenai keragaman gen NRPS dari isolat bakteri endofit *V. zizanioides* L. dan *A. conyzoides*.
3. Sebagai pustaka dalam pengembangan penelitian selanjutnya, dalam pengembangan produk antibiotik dari metabolit sekunder dengan bantuan gen NRPS yang disintesis dari bakteri endofit.
4. Sebagai tambahan ilmu khususnya dalam bidang mikrobiologi dan biologi molekuler.