

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penemuan senyawa bioaktif baru dari tanaman obat tradisional saat ini sedang banyak diteliti, berbagai pendekatan *ethnopharmacological* banyak dipelajari. *Ageratum conyzoides* merupakan salah satu tumbuhan obat yang telah banyak digunakan di Asia, Afrika, dan Amerika Selatan. Tumbuhan ini memproduksi produk alami yang memiliki aktifitas antibakteri, antifungi, insektisidal, dan *allelopathic* (Okunade, 2012). Selain tanaman yang dapat memproduksi produk alami, bakteri endofit yang berkontribusi dalam bioaktifitas keseluruhan tanaman inang juga mampu memproduksi berbagai produk alami. Bakteri endofit ini dianggap sebagai sumber berharga yang menghasilkan senyawa bioaktif dan menjadi jalan untuk meningkatkan penelitian pada produk alami. Bakteri endofit tanaman obat juga diketahui memiliki aktifitas antibakteri dan antifungi (Strobel, Daisy, Castillo, & Harper, 2004). Oleh karena itu eksplorasi pada senyawa alami yang dihasilkan oleh bakteri endofit perlu dilakukan untuk bahan analisis dalam pencarian senyawa yang memiliki aktifitas antimikroba yang nantinya dapat digunakan sebagai obat.

Berbagai bidang ilmu turut berperan dalam peningkatan produktifitas produk alami ini. Biologi molekuler yang tengah berkembang pesat saat ini juga turut berperan penting dalam peningkatan ketersediaan senyawa baru yang dapat dengan mudah diproduksi dalam bakteri atau ragi. Peningkatan senyawa baru ini dapat dilakukan melalui pendekatan kimia kombinatorial. Pendekatan ini sedang berusaha membuat produk alami yang mirip dengan senyawa obat. Berbagai metode *screening* sedang dikembangkan untuk mempermudah penemuan produk alami. Harapannya semakin efisien dan efektif aplikasi untuk produk alami maka proses penemuan obat akan semakin meningkat (Harvey, 2008).

Poliketida merupakan salah satu keluarga besar dari produk alami yang ditemukan dalam bakteri, jamur, dan tanaman. Poliketida juga banyak digunakan sebagai obat klinis yang dinilai penting misalnya sebagai antimikroba,

immunosuppressive, atau anti-kolesterol (Shen, 2003). Beberapa penelitian juga telah dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa ini sebagai obat, diantaranya yaitu bleomycin dari *Streptomyces verticillus* dan stambomycin yang dihasilkan oleh *Streptomyces ambofaciens* sebagai obat antikanker (Laureti *et al.*, 2011; Shen *et al.*, 2001).

Poliketida ini dibentuk oleh bantuan polyketida synthase (PKS). PKS adalah mega-enzim, multidomain atau kompleks enzim yang menghasilkan berbagai kompleks yang luar biasa dari produk alami mulai dari asam yang berukuran kecil, seperti asetil CoA, propionil-Co, butiril-CoA dan derivat-derivatnya (Khosla *et al.*, 2014 dalam Fischer, 2014). Pada beberapa penelitian gen *polyketida synthase (pks)* telah banyak digunakan sebagai aplikasi yang memudahkan dalam pencarian poliketida sebagai produk alami untuk obat, seperti yang dilakukan Courtois *et al.* (2002) yang melakukan *screening* pada 5.000-klon pustaka DNA dengan menggunakan PCR dari sekuens yang sama ke gen *pks*

Beberapa penelitian telah memaparkan bahwa sejumlah bakteri endofit dapat mensintesis enzim PKS, namun analisis secara biologi molekuler untuk menganalisis keberadaan gen *pks* pada bakteri tersebut belum dilakukan. Analisis diversitas dari bakteri endofit pada tanaman yang memiliki potensi antimikroba perlu dilakukan untuk mendapatkan identitas spesies bakteri endofit yang terlibat didalamnya. Identifikasi jenis bakteri ini dapat dilakukan melalui karakteristik genotif secara molekuler. Identifikasi bakteri secara molekuler yang banyak digunakan saat ini melalui analisis gen 16S rRNA (Clarridge, 2004). Gen ini banyak digunakan karena memiliki beberapa keuntungan diantaranya gen ini bersifat universal, hampir ada di semua bakteri dan sekuens gen 16S rRNA memiliki tingkat konservasi yang tinggi, yang menjadi faktor penting untuk membedakan organisme. Oleh karena itu gen 16S rRNA memungkinkan untuk digunakan dalam analisis taksonomi dan filogenetik (Woo, Lau, Teng, Tse, & Yuen, 2008). Empat bakteri endofit dari akar *A. conyzoides* yang diketahui memiliki aktifitas antibakteri belum diidentifikasi secara molekuler untuk analisis taksonomi dan filogenetik dari bakteri tersebut.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, penelitian mengenai eksplorasi gen *pks* dan identifikasi molekuler pada bakteri endofit penting untuk

dilakukan. Penelitian yang dilakukan difokuskan pada eksplorasi penelitian untuk mengeksplorasi keragaman gen *pks* dan identifikasi molekuler pada bakteri endofit dari akar *A. conyzoides*. Hasil analisis gen tersebut diharapkan dapat menambah pengetahuan mengenai diversitas bakteri endofit dalam sistem biosintesis dan produksi bioaktif dari poliketida.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan sebelumnya, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Bagaimana keragaman gen *pks* dan identifikasi gen 16S rRNA pada bakteri endofit *A. conyzoides* ?”

C. Pertanyaan Penelitian

Rumusan masalah yang telah dipaparkan sebelumnya dijabarkan ke dalam beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana hasil identifikasi gen 16S rRNA pada empat bakteri endofit akar *A. conyzoides* ?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan antara gen 16S rRNA yang dimiliki bakteri endofit akar *A. conyzoides* dengan gen 16S rRNA yang dimiliki bakteri lain yang ada di *database*?
3. Bagaimana keberadaan gen *pks* pada empat bakteri endofit akar *A. conyzoides* ?
4. Bagaimana hubungan kekerabatan antara gen *pks* yang dimiliki bakteri endofit akar *A. conyzoides* dengan gen *pks* yang dimiliki bakteri lain yang ada di *database*?

D. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah empat isolat biakan bakteri endofit *A. conyzoides*. Sampel ini didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya dan dipilih berdasarkan aktivitas antimikroba pada penelitian sebelumnya (Ihsan, 2011)
2. Analisis yang dilakukan adalah identifikasi dan hubungan kekerabatan empat isolat biakan bakteri endofit *A. conyzoides* dengan menggunakan

gen 16S rRNA dan analisis keberadaan dan hubungan kekerabatan gen *pks* pada bakteri endofit akar *A. conyzoides*. Analisis ini dilakukan berdasarkan hasil amplifikasi dan komparasi sekuens gen *pks* dan gen 16S rRNA dari isolat bakteri endofit yang diteliti.

3. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA adalah pasangan primer 63F-1387R (Marchesi *et al.*, 1998). Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen *pks* khususnya gen domain *ketosynthase* adalah primer *degenerate* DKF-DKR (Moffit & Neilan, 2002).

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman gen *pks* dan mendapatkan identitas spesies bakteri endofit akar *A. conyzoides* berdasarkan gen 16S rRNA.

F. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi beberapa manfaat, diantaranya yaitu :

1. Sebagai sumber informasi baru tentang jenis bakteri endofit yang ada pada akar *A. conyzoides*.
2. Menambah biodiversitas bakteri endofit yang ada pada akar *A. conyzoides*.
3. Sebagai sumber informasi baru tentang keberadaan jenis bakteri endofit *A. conyzoides* yang memiliki gen *pks*.