

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Genom merupakan set lengkap informasi genetik dalam makhluk hidup. Material ini menyimpan semua informasi yang dibutuhkan organisme untuk berfungsi atau melangsungkan hidup. Genom disimpan dalam bentuk berupa molekul panjang DNA yang disebut dengan kromosom. Terdapat daerah-daerah pengkode RNA dan protein di dalam DNA, bagian DNA ini disebut dengan gen. Genom juga mengandung daerah bukan pengkode (*non-coding*) yang berperan untuk regulasi ekspresi gen seperti promoter, *enhancer*, dan intron (Goldman and Landweber, 2016).

Genome bakteri biasanya lebih kecil dibandingkan dengan genome eukariota, mulai dari 0,159 Mb pada *Candidatus 'Carsonella ruddii'* (Mondal *et al.*, 2020) sampai 14,782 Mb pada *Sorangium cellulosum* (Han *et al.*, 2013). Terdapat keragaman genetik bakteri dalam berbagai tingkatan taksa, bahkan dalam spesies yang sama. Keragaman tidak hanya terdapat pada ukuran genom, namun juga pada banyak fitur lainnya seperti dari segi struktur, dan konten. Terdapat korelasi antara ukuran genom dan jumlah gen pada bakteri. Selain itu ukuran genom juga berasosiasi dengan gaya hidup bakteri (Ochman and Caro-Quintero, 2016). Kemajuan teknologi *Next Generation Sequencing* (NGS) yang mempermudah untuk melakukan *whole-genome sequencing* (WGS) dalam waktu yang jauh lebih singkat dan biaya yang jauh lebih murah (Schneiker-Bekel *et al.*, 2010). WGS menjadi alat yang merevolusi pendekatan untuk memperoleh pemahaman tentang karakteristik bakteri (Perez-Sepulveda *et al.*, 2021). Informasi dari sekuen genom bakteri dapat memberi gambaran yang lebih komprehensif terkait komparasi genomik untuk mengetahui evolusi dan keunikan bakteri tertentu; genomik fungsional untuk studi ekspresi genetik; dan fenotip bakteri untuk mengetahui potensi bakteri (Kobras *et al.*, 2021).

Bakteri merupakan salah satu mikroba yang dapat menghasilkan metabolit sekunder. Senyawa-senyawa ini dapat bermanfaat seperti sebagai antibiotik terhadap jamur dan mikroba patogen, senyawa yang meningkatkan pertumbuhan tanaman, membantu ketersediaan nutrisi tanaman, dan meningkatkan daya tahan

tanaman terhadap serangan patogen. Ada berbagai jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan untuk tanaman, salah-satu bakteri yang memiliki potensi tersebut adalah *Serratia plymuthica*.

Pemanfaatan *S. plymuthica* untuk implementasi strategi pengendalian patogen tanaman secara biologis dapat menjadi salah satu pilihan yang potensial. Selain dapat hidup di permukaan daun (filoplan), *S. plymuthica* juga ditemukan berkolonisasi pada rizosfer berbagai tanaman dan dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman. Terkait perannya sebagai agen biokontrol, bakteri ini memiliki mekanisme secara langsung (*direct*) atau tidak langsung (*indirect*). Melalui mekanisme langsung, bakteri menghasilkan senyawa yang bersifat antagonis atau langsung menyerang patogen. Sedangkan pada mekanisme tidak langsung, bakteri menghasilkan senyawa yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan resistensi tanaman terhadap serangan patogen (Hernández-León *et al.*, 2015), sehingga tidak rentan mengalami penyakit ketika diserang patogen. Senyawa yang terlibat dalam mekanisme antagonis *S. plymuthica* terhadap patogen umumnya berupa metabolit sekunder (Demain, 2000).

Beberapa studi menunjukkan potensi *S. plymuthica* sebagai agen biokontrol, diantaranya dirangkum dalam artikel review yang ditulis oleh Vleeschauwer dan Höfte (2007) yang memuat daftar beberapa strain *S. plymuthica* yang dapat menghambat berbagai jenis fitopatogen, khususnya jamur yang menyerang beberapa jenis tanaman. *S. plymuthica* juga dapat menghambat penetasan telur dan menyebabkan kematian nematoda patogen penyebab penyakit simpul akar, *Meloidogyne incognita* (Zhao *et al.*, 2021). *S. plymuthica* juga menunjukkan proteksi yang efektif pada rizoma jahe dari busuk lunak (*soft-rot*) yang disebabkan oleh *Pythium myriotylum*. Senyawa pirolnitrin yang dihasilkan strain R51 dapat menyebabkan vakuolasi, pembengkakan, distorsi dan lisis pada miselia jamur pathogen (John and Radhakrishnan, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Aisyah *et al.* (2017) juga menunjukkan kemampuan antagonis salah satu strain *S. plymuthica* yaitu UBCF_13 (UBCF: Unand Bacterial Collection Filoplan). Bakteri ini diisolasi dari daun *Brassica juncea* L. di Kabupaten Solok, Sumatera Barat, Indonesia. *S. plymuthica* UBCF_13 mampu menghambat pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* yang

merupakan patogen penting penyebab penyakit antraknosa pada berbagai jenis tanaman buah dan sayur (Sharma and Kulshrestha, 2015). Pemahaman tentang gen yang terlibat dalam pemanfaatan bakteri ini menjadi hal yang perlu dipelajari lebih jauh untuk menjelaskan mekanismenya sebagai agen biokontrol. Hal ini dapat ditinjau melalui pendekatan eksplorasi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkannya, dan juga gen-gen yang terkait dalam peran tersebut.

Selama beberapa dekade, eksplorasi senyawa metabolit sekunder dilakukan melalui pendekatan konvensional seperti *chemistry-* dan *bioactivity-guided* yang meliputi kultivasi, ekstraksi, isolasi secara kimia, pemurnian dan karakterisasi senyawa. Kultivasi mikroorganisme dilakukan untuk memproduksi antibiotik (baik jamur maupun bakteri) dalam kondisi pertumbuhan yang berbeda. Kemudian dilanjutkan dengan isolasi dan karakterisasi senyawa yang dihasilkan menggunakan teknik kimia analitis (Kumar, 2016). Metode ini sebelumnya telah memfasilitasi penemuan banyak senyawa kimia yang bernilai, namun penemuannya kembali sering menunjukkan bahwa mereka adalah metabolit yang sama dengan yang sebelumnya sudah diketahui (Xu *et al.*, 2018).

Selain itu, identifikasi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri secara konvensional memiliki beberapa keterbatasan di antaranya adalah kebanyakan mikroba dalam kondisi alami hanya memproduksi metabolit sekunder dalam jumlah yang sedikit. Bahkan, biosintesis beberapa senyawa potensial dalam kultur di laboratorium belum berhasil dilakukan. Hal ini dapat disebabkan oleh kondisi kultur yang kurang optimal, dan juga jalur biosintesis senyawa terkait berkompetisi dengan jalur biosintesis metabolit yang esensial (metabolit primer) (Brakhage, 2012; Guoqing dan Huarong, 2013; Rutledge dan Challis, 2015).

Pendekatan berbasis genom menjadi pilihan yang sangat potensial untuk mengeksplorasi gen-gen yang mungkin terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder novel dan bermanfaat. Hal ini juga didukung oleh inovasi teknologi sekuensing DNA dan bioinformatika (Kenshole *et al.*, 2021). Ketersediaan data sekuen genom dan pendekatan bioinformatika berupa *genome mining* dapat menjadi solusi dari keterbatasan pada pendekatan konvensional. Pendekatan *genome mining* digunakan untuk melacak klaster gene yang terlibat dalam sintesis

senyawa alam (*biosynthetic gene cluster/ BGC*) dengan memanfaatkan informasi sekuen genom (Medema *et al.*, 2011). Ketersediaan data sekuen-sekuen genom yang dapat diakses secara bebas dalam basis data Genbank dan juga dengan adanya integrasi dengan perangkat analisis kluster gen sangat mendukung riset tentang gen-gen yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder.

Sejauh ini genom total beberapa strain *Serratia plymuthica* telah diidentifikasi melalui *platform whole-genome sequencing* (Adam *et al.*, 2016). Faktanya, masing-masing strain yang digunakan menunjukkan karakteristik yang berbeda, baik dari segi ukuran genom, maupun gen-gen dan senyawa-senyawa bioaktif yang dihasilkannya (Calteau *et al.*, 2014; Cleto *et al.*, 2014). Sehingga, WGS dibutuhkan untuk memahami secara komprehensif karakteristik genetik *S. plymuthica* UBCF_13. Selain itu, data tersebut akan membuka jalan untuk memahami gen-gen yang berperan dalam produksi senyawa biokontrol fitopatogen. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian mengenai **karakteristik genom dan pemetaan kluster gen yang terlibat dalam biosintesis senyawa metabolit sekunder berbasis *genome mining* pada bakteri *Serratia plymuthica* strain UBCF_13.**

1.2. Identifikasi dan Rumusan Masalah

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme, seperti bakteri *Serratia plymuthica* UBCF_13, dapat menjadi alternatif pengganti pestisida sintetik. Namun, produksinya memiliki keterbatasan karena jumlah yang dihasilkan sedikit dan senyawa-senyawa tertentu yang potensial tidak dihasilkan karena kondisi kultur yang kurang optimal, bahkan beberapa senyawa potensial tidak terekspresi dalam kultur di laboratorium. Salah satu penyebabnya adalah kondisi kultur yang kurang optimal, selain itu juga disebabkan oleh biosintesisnya berkompetisi dengan jalur biosintesis metabolit yang esensial (metabolit primer). Untuk mengatasi masalah tersebut, perlu diketahui sekuen genom *S. plymuthica* UBCF_13 sehingga diketahui karakteristik genomnya dan potensi senyawa metabolit yang bisa dihasilkan dari gen-gen yang dimiliki melalui pendekatan *Genome mining*. Berdasarkan permasalahan tersebut, maka rumusan masalah yang diteliti dalam penelitian ini dapat dirangkum sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik DNA genom bakteri *S. plymuthica* UBCF_13?
2. Bagaimana perbedaan karakteristik DNA genom strain UBCF_13 dengan strain *S. plymuthica* lainnya?
3. Klaster gen-gen apa saja yang mungkin berperan dalam biosintesis berbagai metabolit sekunder pada bakteri *S. plymuthica* UBCF_13?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah

1. Menganalisis karakteristik DNA genom bakteri *S. plymuthica* UBCF_13.
2. Menganalisis perbedaan karakteristik DNA genom strain UBCF_13 dengan strain *S. plymuthica* lainnya.
3. Menganalisis klaster gen-gen yang mungkin berperan dalam biosintesis berbagai metabolit sekunder pada bakteri *S. plymuthica* UBCF_13.

1.4. Hipotesis Penelitian

Mengacu pada rumusan masalah yang telah dijabarkan sebelumnya, maka hipotesis dari penelitian ini antara lain:

1. Informasi karakteristik sekuen DNA genom lengkap bakteri *S. plymuthica* UBCF_13 dapat diketahui menggunakan *NGS* dan juga diketahui karakteristik genomnya.
2. Terdapat perbedaan karakteristik sekuen DNA genom *Serratia plymuthica* UBCF_13 dengan strain *S. plymuthica* lainnya.
3. Ada sejumlah klaster gen-gen yang berperan dalam biosintesis berbagai metabolit sekunder pada bakteri *S. plymuthica* UBCF_13

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini berguna untuk memahami secara komprehensif struktur dan karakteristik genom *S. plymuthica* UBCF_13, mengetahui perbedaan karakteristik sekuen DNA genom UBCF_13 dengan genom *S. plymuthica* lainnya dan gen-gen yang terlibat dalam biosintesis berbagai senyawa metabolit sekunder khususnya yang bersifat anti patogen. Informasi tersebut dapat menjadi dasar untuk dapat mengoptimalkan kemampuan *S. plymuthica* UBCF_13

sebagai agen biokontrol atau produksi berbagai metabolit sekunder melalui ekspresi BGC heterologus.

1.6. Novelti

Novelti hasil penelitian ini antara lain:

1. Sekuen genom *S. plymuthica* UBCF_13 merupakan sekuen genom bakteri spesies *S. plymuthica* diisolasi di Indonesia yang pertama dipublikasikan dalam *genebank* genom *S. plymuthica* di NCBI.
2. Metode *genome assembly* dalam penelitian ini menjadi alternatif untuk *assembly short reads sequencing*.
3. Ditemukan gen unik dalam genom *S. plymuthica* UBCF_13.

