

METAGENOMIK

*Revolusi dalam
Eksplorasi Enzim
dan Komunitas
Mikroba*

Fitra Adi Prayogo, M.Si
Dr.rer.nat. Anto Budiharjo, S.Si, M.Biotech
Dyah Wulandari, S.Si, PhD

***METAGENOMIK:
Revolusi dalam Eksplorasi
Enzim dan Komunitas
Mikroba***



Fitra Adi Prayogo, M.Si

Dr.rer.nat. Anto Budiharjo, S.Si, M.Biotech

Dyah Wulandari, S.Si, PhD

UU No 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penulisan ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. Penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser *Fonogram*, atau Lembaga Penyiaran.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

METAGENOMIK:
Revolusi dalam Eksplorasi Enzim dan Komunitas
Mikroba

Fitra Adi Prayogo, M.Si

Dr.rer.nat. Anto Budiharjo, S.Si, M.Biotech

Dyah Wulandari, S.Si, PhD



Penerbit:



PT. Sanskara Karya Internasional
Grand Slipi Tower Level 42 Unit G-H
Jl. S. Parman Kav. 22-24 Jakarta Barat-Indonesia.
<https://sanskarakarya.com>

METAGENOMIK:

Revolusi dalam Eksplorasi Enzim dan Komunitas Mikroba

Penulis:

Fitra Adi Prayogo, M.Si

Dr.rer.nat. Anto Budiharjo, S.Si, M.Biotech

Dyah Wulandari, S.Si, PhD

Halaman:

iv, 54

Editor:

Lucky Anggi Kurniawati, M.Sc.

ISBN:

978-634-7499-21-9

Desain Cover:

Ilham Akbar B.

Terbit:

Januari, 2026

Ukuran:

Unesco:15,5 x 23 cm

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari Penerbit.

 **Sanskara Karya
Internasional**

PT. Sanskara Karya Internasional

Grand Slipi Tower Level 42 Unit G-H

Jl. S. Parman Kav. 22-24 Jakarta Barat-Indonesia.

<https://sanskarakarya.com>

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas terselesaikannya buku referensi yang berjudul **METAGENOMIK: Revolusi dalam Eksplorasi Enzim dan Komunitas Mikroba**. Metagenomik telah membuka era baru dalam eksplorasi keanekaragaman mikroba, mengatasi keterbatasan metode kultur tradisional dengan memungkinkan akses langsung ke materi genetik seluruh komunitas mikroba di lingkungan.

Buku ini dirancang sebagai panduan komprehensif yang membahas perkembangan metagenomik dari konsep dasar hingga aplikasi mutakhir. Enam bab dalam buku ini akan mengantarkan pembaca memahami pendekatan struktural dan fungsional, teknologi sekuensing, analisis bioinformatika, strategi eksplorasi enzim novel, serta aplikasi industri dan prospek masa depan bidang ini.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah mendukung penyusunan buku ini, termasuk kolega, mitra penelitian, dan keluarga. Kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan edisi mendatang.

Semoga kehadiran buku ini dapat menjadi inspirasi dan referensi berharga bagi mahasiswa, peneliti, dan praktisi yang tertarik untuk mengembangkan potensi metagenomik dalam berbagai bidang aplikasi.

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	ii
BAB 1 PENGANTAR METAGENOMIK DAN KOMUNITAS MIKROBA	1
1.1 Definisi dan Konsep Metagenomik	1
1.2 Sejarah Perkembangan Metagenomik	2
1.3 Pentingnya Komunitas Mikroba dalam Siklus Biogeokimia 4	
1.4 Keterbatasan Metode Kultur Tradisional	5
1.5 Keunggulan Pendekatan Metagenomik	6
1.6 Ringkasan	8
Daftar Pustaka.....	9
BAB 2 ARAH STUDI METAGENOMIK: STRUKTURAL DAN FUNGSIONAL	11
2.2 Metagenomik Fungsional: Eksplorasi Gen dan Protein.....	13
2.3 Perbedaan dan Aplikasi Setiap Pendekatan.....	14
2.4 Integrasi Kedua Pendekatan dalam Penelitian.....	15
2.5 Ringkasan	16
Daftar Pustaka.....	16
BAB 3 TEKNOLOGI SEKUENSING DAN METODE ANALISIS METAGENOMIK.....	18
3.1 Evolusi Teknologi Penyekuesan: Sanger, NGS, dan Generasi Ketiga	18

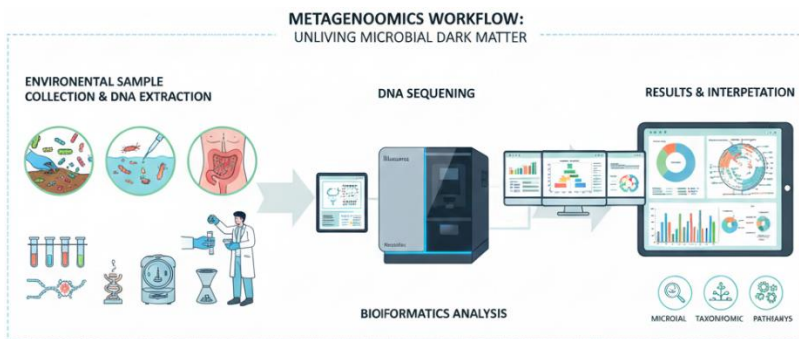
3.2 Metode Molekuler: Ekstraksi DNA dan Amplifikasi 16S rRNA	20
3.3 Metode Bioinformatika: Assembly, Binning, dan Analisis Sekuens.....	22
3.4 Kontrol Kualitas (Quality Control) dan Validasi Data	25
3.5 Ringkasan	26
Daftar Pustaka.....	27
BAB 4 EKSPLORASI ENZIM BARU DENGAN PENDEKATAN METAGENOMIK.....	29
4.1 Strategi Eksplorasi Sumber Daya Genetik Alam.....	29
4.2 Metode Penapisan (Screening) Enzim dari Perpustakaan Metagenom	30
4.3 Karakterisasi Enzim: Struktur, Fungsi, dan Optimasi	31
4.4 Studi Kasus Penemuan Enzim Baru.....	32
4.5 Ringkasan	33
Daftar Pustaka.....	33
BAB 5 JENIS-JENIS ENZIM INDUSTRIAL DARI SUMBER METAGENOM.....	36
5.1 Selulase: Aplikasi dalam Industri Kertas, Tekstil, dan Bahan Bakar Hayati	36
5.2 Protease: Aplikasi dalam Detergen, Farmasi, dan Makanan	37
5.3 Lipase: Aplikasi dalam Biodiesel dan Bioremediasi	38
5.4 Enzim Lainnya: Kitinase, Amilase, dan Esterase	38
5.5 Enzim yang Telah Dipatenkan untuk Komersial	39
5.6 Ringkasan	40

Daftar Pustaka.....	40
BAB 6 TANTANGAN, PELUANG, DAN MASA DEPAN METAGENOMIK ENZIM.....	43
6.1 Tantangan Teknis: Pengambilan Sampel, Ekstraksi DNA, dan Kontaminan	43
6.2 Pemilihan Lokasi Pengambilan Sampel yang Strategis	44
6.3 Peluang Komersial dan Industri	45
6.4 Tren Teknologi Masa Depan.....	46
6.5 Prospek Pengembangan Enzim untuk Aplikasi Khusus	47
6.6 Ringkasan	47
Daftar Pustaka.....	48
GLOSARIUM	51



BAB 1 PENGANTAR METAGENOMIK DAN KOMUNITAS MIKROBA

1.1 Definisi dan Konsep Metagenomik



Gambar 1.1. Alur Kerja Metagenomik dari Pengambilan Sampel hingga Analisis Data

Metagenomik adalah ilmu yang mempelajari materi genetik dari seluruh organisme dalam suatu lingkungan tertentu, yang memberikan wawasan tentang komposisi, keragaman, dan potensi fungsional komunitas mikroba tanpa perlu mengisolasi dan membiakkan masing-masing spesies secara individual (Roy et al., 2024). Istilah "metagenom" merujuk pada keseluruhan genom kolektif dari anggota-anggota komunitas mikroba yang hidup bersama dalam suatu habitat.

Konsep dasar metagenomik dibangun atas pemahaman bahwa sebagian besar mikroorganisme di alam tidak dapat dibiakkan

menggunakan metode kultur tradisional di laboratorium. Handelsman (2004) mendefinisikan metagenomik sebagai analisis genomik mikroorganisme melalui ekstraksi dan kloning DNA secara langsung dari kumpulan mikroorganisme di lingkungan. Pendekatan ini memungkinkan peneliti untuk menganalisis komunitas mikroba dalam kondisi alamiah mereka, tanpa bias yang ditimbulkan oleh proses kultivasi.

Metagenomik dapat dibagi menjadi dua kategori utama: metagenomik senapan (shotgun metagenomics) dan sekuensing amplicon (amplicon sequencing). Metagenomik senapan melibatkan sekuensing seluruh materi genetik dalam sampel, memungkinkan analisis komprehensif tentang keragaman mikroba dan potensi fungsional komunitas. Sementara itu, sekuensing amplicon menargetkan gen penanda taksonomi yang penting, seperti gen 16S rRNA, namun analisisnya terbatas pada sekuens DNA yang telah diketahui sebelumnya (Kim et al., 2024).

1.2 Sejarah Perkembangan Metagenomik

Perkembangan metagenomik tidak terlepas dari evolusi teknologi biologi molekuler dan sekuensing DNA. Akar sejarah metagenomik dapat ditelusuri hingga tahun 1980-an, ketika Norman R. Pace dan rekan-rekannya menggunakan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction) untuk mengeksplorasi keragaman sekuens rRNA ribosom langsung dari lingkungan. Pendekatan ini berhasil menghindari bias yang ditimbulkan oleh kultivasi dan membuka mata dunia ilmiah terhadap keragaman kehidupan mikroba yang sangat luas (Lemke et al., 2023).

Terobosan besar terjadi pada tahun 1998 ketika Jo Handelsman dan rekan-rekannya memperkenalkan istilah "metagenomik" untuk pertama

kalinya dalam penelitian mereka tentang akses molekuler terhadap kimia mikroba tanah yang tidak dikenal. Sejak saat itu, metagenomik berkembang pesat sebagai pendekatan untuk mengeksplorasi enzim-enzim novel dan potensi bioteknologi dari komunitas mikroba. Prayogo et al. (2020) dalam review mereka menjelaskan bahwa aplikasi metagenomik sangat penting untuk eksplorasi enzim baru karena memungkinkan peneliti memperoleh data keragaman mikroba hingga 99% dan berbagai jenis gen pengkode enzim yang belum teridentifikasi sebelumnya.

Perkembangan teknologi sekuensing generasi kedua (next-generation sequencing/NGS) pada tahun 2000-an memberikan revolusi besar dalam bidang metagenomik. Teknologi seperti Illumina, yang menghasilkan sekuens pendek sepanjang 300-400 pasang basa, memungkinkan analisis metagenomik dengan skala yang jauh lebih besar dan biaya yang lebih terjangkau dibandingkan dengan metode Sanger yang konvensional (Kim et al., 2024).

Era terkini metagenomik ditandai dengan munculnya teknologi sekuensing bacaan-panjang (long-read sequencing) generasi ketiga, seperti PacBio dan Oxford Nanopore Technologies, yang dapat menghasilkan bacaan sepanjang beberapa kilobasa. Teknologi ini memungkinkan perakitan genom yang lebih lengkap dan kontinu, karakterisasi variasi struktural, serta studi modifikasi epigenetik pada komunitas mikroba (Kim et al., 2024).

1.3 Pentingnya Komunitas Mikroba dalam Siklus Biogeokimia

Komunitas mikroba memainkan peran fundamental dalam menjaga keseimbangan ekosistem Bumi melalui berbagai proses biogeokimia. Mikroorganisme berperan sebagai "arsitek tak terlihat" yang mengatur siklus nutrisi, dekomposisi bahan organik, dan transformasi unsur-unsur kimia penting di biosfer (Lemke et al., 2023). Tanpa aktivitas mikroba, siklus karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor yang esensial bagi kehidupan tidak akan dapat berjalan dengan baik.

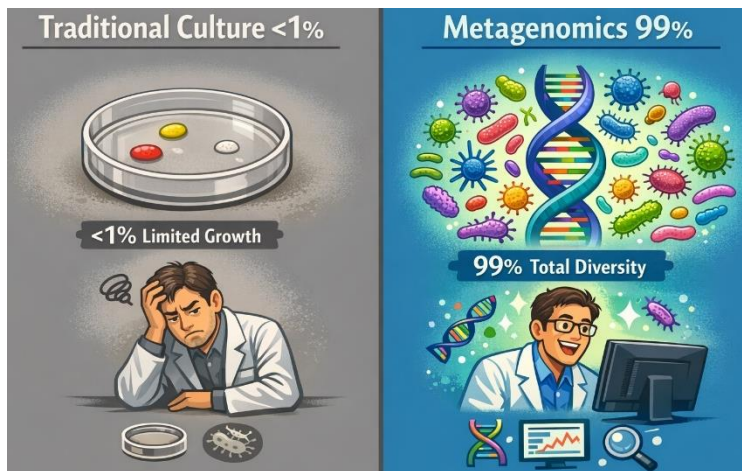
Dalam siklus karbon, mikroba berperan sebagai pengurai (dekomposer) utama yang memecah bahan organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Proses ini tidak hanya melepaskan CO₂ ke atmosfer, tetapi juga menyediakan nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh organisme lain. Kemampuan mikroba untuk mengubah karbon organik menjadi berbagai bentuk kimia menjadikan mereka kunci dalam regulasi iklim global dan penyimpanan karbon di tanah dan sedimen (Lemke et al., 2023).

Siklus nitrogen sangat bergantung pada aktivitas mikroba, mulai dari fiksasi nitrogen atmosfer oleh bakteri rhizobia, nitrifikasi oleh bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*, hingga denitrifikasi yang mengembalikan nitrogen ke atmosfer. Mikroba juga berperan dalam transformasi sulfur, termasuk oksidasi sulfida dan reduksi sulfat, yang penting untuk ketersediaan sulfur bagi organisme lain (Roy et al., 2024).

Komunitas mikroba tanah khususnya memiliki peran yang sangat signifikan dalam produktivitas pertanian. Mereka tidak hanya berperan dalam siklus nutrisi, tetapi juga dalam pembentukan struktur tanah,

pengendalian penyakit tanaman, dan peningkatan toleransi tanaman terhadap stres biotik dan abiotik. Keragaman mikroba yang tinggi berkontribusi pada stabilitas ekosistem, siklus nutrisi yang efisien, dan penekanan patogen (Lemke et al., 2023).

1.4 Keterbatasan Metode Kultur Tradisional



Gambar 1.2. Keterbatasan Metode Kultur Tradisional (<1%) dan Keunggulan Pendekatan Metagenomik (99%) dalam Mengungkap Keragaman Mikroba

Metode kultur tradisional dalam mikrobiologi memiliki keterbatasan fundamental yang sangat membatasi pemahaman kita tentang keragaman mikroba di alam. Pendekatan kultivasi konvensional hanya mampu mengisolasi kurang dari 1% dari total mikroorganisme yang ada di lingkungan, suatu fenomena yang dikenal sebagai "anomali jumlah lempeng besar" (Great Plate Count anomaly) (Handelsman, 2004). Keterbatasan ini menjadi salah satu alasan utama mengapa metagenomik berkembang sebagai pendekatan alternatif.

Sebagian besar mikroorganisme di alam hidup dalam kondisi yang sangat kompleks dan saling bergantung satu sama lain. Mereka membentuk jaringan interaksi yang rumit untuk pertukaran nutrisi, produk biokimia, dan sinyal kimia. Sistem kultivasi murni di laboratorium tidak mampu mereplikasi kompleksitas lingkungan alamiah ini, sehingga banyak mikroorganisme tidak dapat tumbuh dalam kondisi buatan (Roy et al., 2024).

Banyak mikroorganisme memiliki persyaratan pertumbuhan yang sangat spesifik dan seringkali tidak diketahui. Mereka mungkin memerlukan kondisi fisiko-kimia tertentu seperti pH, temperatur, tekanan parsial oksigen, atau konsentrasi nutrisi yang sangat spesifik yang sulit direplikasi di laboratorium. Beberapa mikroorganisme juga bersifat obligat simbiosis, yang berarti mereka hanya dapat hidup dalam hubungan mutualistik dengan organisme lain (Kim et al., 2024).

Metode kultur tradisional juga menimbulkan bias seleksi yang signifikan. Media kultur yang digunakan biasanya dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang sudah dikenal, sehingga mikroorganisme dengan metabolisme unik atau persyaratan nutrisi yang tidak biasa akan terlewatkan. Selain itu, organisme yang tumbuh cepat cenderung mendominasi kultur campuran, sehingga organisme yang tumbuh lambat atau dengan densitas rendah tidak terdeteksi (Handelsman, 2004).

1.5 Keunggulan Pendekatan Metagenomik

Metagenomik menawarkan berbagai keunggulan signifikan dibandingkan metode kultur tradisional dalam mempelajari komunitas mikroba. Keunggulan utama metagenomik adalah kemampuannya untuk

menganalisis keseluruhan keragaman mikroba dalam suatu sampel tanpa memerlukan proses kultivasi yang bias dan memakan waktu. Pendekatan ini dapat mengungkap hingga 99% keragaman mikroba yang ada di lingkungan, jauh melampaui kemampuan metode kultur konvensional (Roy et al., 2024).

Melalui pendekatan metagenomik, peneliti dapat memperoleh informasi komprehensif tentang komposisi taksonomi dan potensi fungsional komunitas mikroba secara bersamaan. Metagenomik senapan memungkinkan identifikasi tidak hanya spesies mikroba yang ada, tetapi juga gen-gen yang mereka miliki dan jalur metabolik yang mungkin aktif dalam komunitas tersebut. Informasi ini sangat berharga untuk memahami peran ekologis dan potensi bioteknologi dari komunitas mikroba (Kim et al., 2024).

Keunggulan lain dari metagenomik adalah kemampuannya untuk mengungkap organisme dan gen-gen baru yang sebelumnya tidak dikenal. Banyak penemuan enzim industri, senyawa bioaktif, dan jalur metabolik baru berasal dari studi metagenomik. Pendekatan ini juga memungkinkan penemuan mikroorganisme dari filum-filum baru yang sebelumnya tidak pernah ditemukan melalui kultivasi (Handelsman, 2004).

Metagenomik juga memberikan pemahaman yang lebih baik tentang dinamika komunitas mikroba dalam merespons perubahan lingkungan. Dengan teknologi sekuensing yang semakin canggih dan biaya yang terus menurun, studi metagenomik kini dapat melakukan profiling ratusan hingga ribuan sampel, memungkinkan eksplorasi skala besar tentang komunitas mikroba dan perannya dalam kesehatan global serta ekosistem (Roy et al., 2024).

Integrasi metagenomik dengan teknologi pembelajaran mendalam (deep learning) dan kecerdasan buatan telah membuka peluang baru dalam analisis data metagenomik yang kompleks. Pendekatan ini memungkinkan deteksi patogen baru, klasifikasi sekuens, stratifikasi pasien, dan prediksi penyakit dengan akurasi yang tinggi, menjadikan metagenomik sebagai alat yang sangat kuat untuk penelitian biomedis dan aplikasi klinis (Roy et al., 2024).

1.6 Ringkasan

Metagenomik merupakan pendekatan revolusioner dalam mikrobiologi yang memungkinkan analisis keseluruhan materi genetik dari komunitas mikroba secara langsung tanpa memerlukan kultivasi. Perkembangan metagenomik dimulai sejak tahun 1980-an dengan eksplorasi sekuens rRNA lingkungan, dan terus berkembang pesat dengan kemunculan teknologi sekuensing generasi kedua dan ketiga yang semakin canggih. Aplikasi metagenomik telah terbukti sangat penting dalam berbagai bidang, mulai dari eksplorasi enzim novel untuk industri hingga pemahaman peran ekologis komunitas mikroba dalam siklus biogeokimia global.

Keterbatasan fundamental metode kultur tradisional yang hanya mampu mengisolasi kurang dari 1% mikroorganisme lingkungan menjadi pendorong utama berkembangnya pendekatan metagenomik. Komunitas mikroba memiliki peran krusial dalam menjaga keseimbangan ekosistem, khususnya dalam siklus karbon, nitrogen, dan sulfur yang esensial bagi kehidupan. Melalui metagenomik, peneliti kini dapat mengakses hingga 99% keragaman mikroba yang ada, mengungkap organisme dan gen-gen

baru, serta memahami dinamika komunitas mikroba dalam merespons perubahan lingkungan.

Dengan integrasi teknologi kecerdasan buatan dan pembelajaran mendalam, metagenomik terus berkembang sebagai alat yang powerful untuk penelitian biomedis, aplikasi bioteknologi, dan pemahaman ekosistem. Pendekatan ini tidak hanya memberikan wawasan tentang komposisi taksonomi komunitas mikroba, tetapi juga potensi fungsional yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai aplikasi praktis dalam kesehatan, pertanian, dan keberlanjutan lingkungan.

Daftar Pustaka

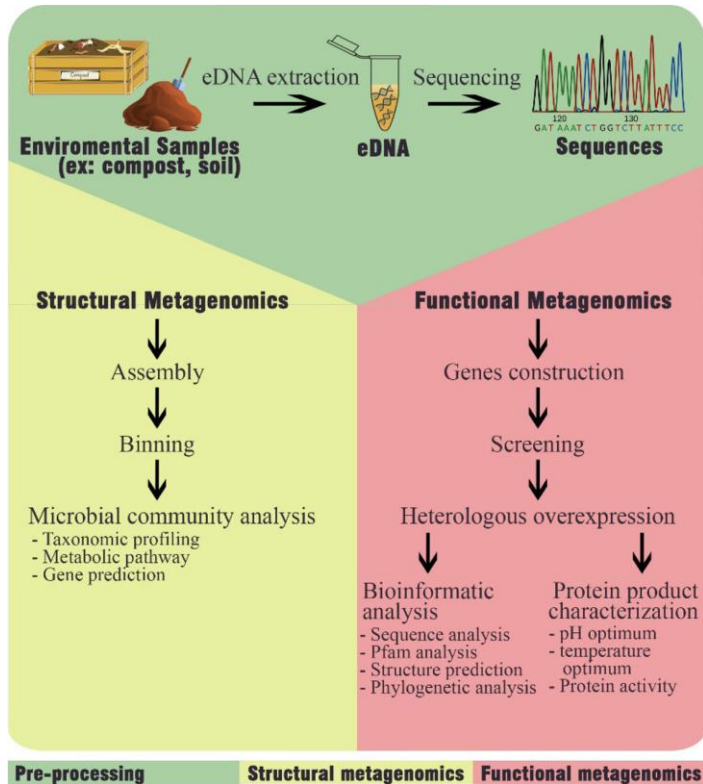
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4), 669-685.
- Kim, C., Pongpanich, M., & Porntaveetus, T. (2024). Unraveling metagenomics through long-read sequencing: a comprehensive review. *Journal of Translational Medicine*, 22, 111.
- Lemke, M. J., Lienau, E. K., Rothe, J., Pareja-Sanchez, Y., Schulze, D. G., & Tekwarrananwong, R. (2023). The next generation of microbial ecology and its importance in environmental sustainability. *Microbial Ecology*, 85(3), 781-795.
- Prayogo, F. A., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P., Wijanarka, W., Supriyadi, A., & Nurhayati, N. (2020). Metagenomic applications in exploration and

development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18, 39. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00043-9>

Roy, G., Prifti, E., Belda, E., & Zucker, J. D. (2024). Deep learning methods in metagenomics: a review. *Microbial Genomics*, 10(4), 001231.



BAB 2 ARAH STUDI METAGENOMIK: STRUKTURAL DAN FUNGSIONAL



Gambar 2.1. Kerangka kerja untuk metagenomik dengan dua studi utama, metagenomik struktural dan fungsional (Prayogo *et al.*, 2020).

2.1 Metagenomik Struktural: Analisis Struktur Komunitas

Metagenomik struktural adalah pendekatan yang berfokus pada analisis struktur dan komposisi komunitas mikroba dalam suatu lingkungan. Studi ini bertujuan untuk memahami hubungan antar-komponen individu dalam membentuk komunitas, serta mengidentifikasi "siapa saja yang ada di sana" (who is there) dalam sampel metagenomik (Prayogo et al., 2020). Pendekatan ini memberikan gambaran menyeluruh tentang keragaman taksonomi serta sebaran mikroorganisme dalam komunitas tersebut.

Metode dasar dalam metagenomik struktural terdiri atas tiga tahap utama:

1. Tahap Assembly: Proses penyusunan kembali sekuens pendek hasil penyekuesan (sequencing) menjadi sekuens yang lebih panjang yang disebut contigs. Proses ini menggunakan algoritma komputer untuk menyatukan potongan DNA yang tumpang tindih menjadi urutan yang utuh dan bermakna (Mallawaarachchi et al., 2024).
2. Tahap Binning: Proses pengelompokan contigs berdasarkan ciri tertentu, seperti komposisi nukleotida dan profil kelimpahannya (coverage). Tujuannya adalah menyatukan contigs yang berasal dari organisme yang sama untuk merekonstruksi genom individu. Metode binning modern, seperti MetaBAT, MaxBin, dan CONCOCT, menghasilkan Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) berkualitas tinggi (Wang et al., 2025).

3. Analisis Komunitas: Meliputi penentuan profil taksonomi menggunakan gen penanda (seperti 16S rRNA), prediksi gen untuk mengenali daerah pengode protein, serta analisis jalur metabolisme untuk memetakan potensi fungsi biokimia komunitas tersebut (Prayogo et al., 2020).

2.2 Metagenomik Fungsional: Eksplorasi Gen dan Protein

Metagenomik fungsional berfokus pada identifikasi dan karakterisasi gen pengode protein tertentu. Berbeda dengan pendekatan struktural, metode ini menjawab pertanyaan "apa yang mereka lakukan" (what are they doing) dengan mengeksplorasi potensi fungsi komunitas mikroba tersebut (Prayogo et al., 2020).

Pendekatan ini memungkinkan survei fungsi mikroba secara luas tanpa harus menumbuhkan mikroba tersebut di laboratorium. Karena tidak bergantung pada kemiripan (homologi) dengan gen yang sudah diketahui fungsinya, metode ini memberikan peluang besar untuk menemukan informasi fungsional baru (Varaljay et al., 2022).

Tahapan dasarnya meliputi:

1. Konstruksi dan Screening: Penyisipan (cloning) DNA lingkungan ke dalam inang (biasanya *E. coli*) dan dilanjutkan dengan penapisan (screening) untuk menemukan klon yang menunjukkan aktivitas enzim yang diinginkan (Prayogo et al., 2020).
2. Ekspresi Gen dan Analisis: Gen target diproduksi dalam sistem inang untuk dikarakterisasi lebih lanjut melalui analisis bioinformatika (seperti prediksi struktur protein Pfam) serta

pengujian fisikokimia seperti pH dan suhu optimum (Prayogo et al., 2020).

Kemajuan terbaru menggunakan pendekatan berbasis struktur (structure-guided) yang memanfaatkan model tiga dimensi protein untuk memahami fungsi mikroba secara lebih detail, termasuk interaksi antar-residu asam amino (Liao et al., 2023).

2.3 Perbedaan dan Aplikasi Setiap Pendekatan

Perbedaan mendasar keduanya terletak pada tujuan: metagenomik struktural menekankan pada klasifikasi mikroorganisme, sedangkan metagenomik fungsional berfokus pada aktivitas biokimia dan potensi metaboliknya (Prayogo et al., 2020).

Secara metodologi, pendekatan struktural bergantung pada pangkalan data referensi (reference-based). Sebaliknya, pendekatan fungsional dapat menemukan gen atau jalur metabolik yang benar-benar baru karena dapat dilakukan tanpa bergantung pada referensi gen yang sudah ada (reference-free) (Baltoumas et al., 2023).

Aplikasi:

1. Struktural: Digunakan untuk studi ekologi, pemantauan lingkungan, dan rekonstruksi pohon kehidupan (tree of life) (Varaljay et al., 2022).
2. Fungsional: Diaplikasikan dalam pencarian enzim industri (bioprospeksi), penemuan senyawa obat, dan bioteknologi (Varaljay et al., 2022).

Kelebihan pendekatan struktural adalah kemampuannya memberikan gambaran komunitas dengan cepat melalui alur analisis yang sudah mapan, meski sangat bergantung pada kelengkapan database (Mallawaarachchi et al., 2024). Sementara itu, kelebihan pendekatan fungsional adalah kemampuannya mengungkap "materi gelap" (functional dark matter) atau fungsi mikroba yang belum terpetakan, meskipun tantangannya terletak pada kompleksitas ekspresi gennya (Liao et al., 2023).

2.4 Integrasi Kedua Pendekatan dalam Penelitian

Penggabungan kedua pendekatan ini sangat penting untuk memahami komunitas mikroba secara holistik. Keduanya saling melengkapi untuk menjawab jenis mikroba apa yang ada dan apa fungsinya di lingkungan tersebut (Prayogo et al., 2020).

Integrasi dimulai dengan analisis struktural untuk memetakan keragaman, lalu dilanjutkan dengan analisis fungsional untuk mengarakterisasi aktivitas enzimatisnya. Hasil dari satu pendekatan memberikan konteks biologis bagi pendekatan lainnya (Baltoumas et al., 2023). Teknologi long-read sequencing terbaru semakin mempermudah integrasi ini dengan menyediakan data genom yang lebih lengkap dan kontinu (Wang et al., 2025).

Dalam industri, integrasi ini membantu menemukan lingkungan yang kaya akan mikroba potensial dan mengisolasi enzim baru dengan sifat yang diinginkan (Liao et al., 2023). Masa depan metagenomik akan mengandalkan kecerdasan buatan (AI) untuk memprediksi fungsi protein dan mengintegrasikan berbagai data "omics" lainnya guna mendapatkan gambaran aktivitas mikroba yang utuh (Varaljay et al., 2022). Tantangan

utamanya tetap pada standarisasi metode dan pengembangan perangkat bioinformatika yang mampu mengolah data besar secara efisien (Mallawaarachchi et al., 2024).

2.5 Ringkasan

Metagenomik struktural dan fungsional adalah dua pilar utama dalam mempelajari komunitas mikroba tanpa proses kultivasi. Pendekatan struktural berfokus pada identifikasi "siapa yang ada di sana" melalui analisis komposisi taksonomi dan rekonstruksi genom. Sementara itu, pendekatan fungsional menjawab pertanyaan "apa yang mereka lakukan" dengan mengeksplorasi potensi biokimia dan aktivitas enzim baru dari sampel lingkungan.

Perbedaan keduanya terletak pada metodologi, di mana studi struktural sangat bergantung pada pangkalan data referensi, sedangkan studi fungsional mampu mengungkap fungsi gen baru yang belum pernah terpetakan sebelumnya. Integrasi kedua metode ini melalui teknologi penyekuesan modern dan bioinformatika sangat krusial untuk menghasilkan pemahaman ekologi mikroba yang holistik. Sinergi ini membuka peluang besar bagi kemajuan bioteknologi, mulai dari penemuan obat herbal hingga pengembangan enzim industri yang presisi.

Daftar Pustaka

Baltoumas, F. A., Zafeiropoulou, S., Karatzas, E., Koutrouli, M., Thanati, F., Voutsadaki, K., ... & Georgakilas, G. K. (2023). Exploring microbial functional biodiversity at the protein family level—From metagenomic sequence reads to annotated protein clusters. *Frontiers in Bioinformatics*, 3, 1157956.

- Liao, Y. C., Lasky, M., Roux, S., Guo, J., Bowman, J. S., & Pennacchio, L. A. (2023). Unraveling the functional dark matter through global metagenomics. *Nature*, 622(7983), 594-602.
- Mallawaarachchi, V., Wickramarachchi, A., Xue, H., Papudeshi, B., Grigson, S. R., Bouras, G., ... & Edwards, R. A. (2024). Solving genomic puzzles: computational methods for metagenomic binning. *Briefings in Bioinformatics*, 25(5), bbae372.
- Prayogo, F. A., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P., Wijanarka, W., Suprihadi, A., & Nurhayati, N. (2020). Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 39.
- Varaljay, V. A., Charles, T. C., & Daniel, R. (2022). Editorial: Functional metagenomics for enzyme discovery. *Frontiers in Microbiology*, 13, 964584.
- Wang, Q., Zhou, X., Yang, Y., Li, G., Zhang, Q., Li, F., ... & Yang, R. (2025). Benchmarking metagenomic binning tools on real datasets across sequencing platforms and binning modes. *Nature Communications*, 16(1), 1577.

BAB 3 TEKNOLOGI SEKUENSING DAN METODE ANALISIS METAGENOMIK

3.1 Evolusi Teknologi Penyekuesan: Sanger, NGS, dan Generasi Ketiga

Perkembangan teknologi penyekuesan (sequencing) DNA telah mengalami kemajuan pesat selama empat dekade terakhir. Evolusi ini dapat dikategorikan menjadi tiga generasi utama yang masing-masing memberikan kontribusi besar terhadap kemajuan penelitian genomik dan metagenomik. Pemahaman mengenai evolusi teknologi ini sangat penting dalam memilih platform penyekuesan yang tepat sesuai dengan tujuan penelitian metagenomik (Satam et al., 2023). Ringkasan evolusi teknologi ini dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Garis Waktu Evolusi Teknologi Penyekuesan DNA dari Metode Sanger hingga Generasi Ketiga.

Generasi pertama diwakili oleh metode Sanger yang dikembangkan pada tahun 1977. Frederick Sanger menciptakan metode penyekuesan DNA dengan penghambat terminasi rantai (chain-terminating inhibitors). Metode ini menggunakan penambahan dideoxyribonucleotide yang diberi label radioaktif (pada pendekatan awal) atau fluoresensi (pada pendekatan lanjutan). Fragmen DNA kemudian dipisahkan berdasarkan ukurannya menggunakan elektroforesis gel untuk menentukan urutan nukleotida. Metode Sanger mampu menghasilkan pembacaan (reads) sepanjang 500–1000 pasang basa dengan akurasi sangat tinggi. Namun, metode ini memiliki keterbatasan pada laju hasil (throughput) karena hanya dapat menganalisis satu reaksi penyekuesan dalam satu waktu (Satam et al., 2023).

Proyek Genom Manusia (Human Genome Project) yang menggunakan penyekuesan Sanger memerlukan waktu lebih dari 10 tahun dan biaya hampir 3 miliar dolar Amerika. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun akurat, metode Sanger relatif lambat, mahal, dan memiliki kapasitas hasil yang rendah untuk analisis skala besar. Keterbatasan inilah yang mendorong pengembangan teknologi penyekuesan generasi kedua yang lebih efisien (Satam et al., 2023).

Generasi kedua, yang dikenal sebagai Next-Generation Sequencing (NGS), diperkenalkan antara tahun 2004–2006. Teknologi ini mentransformasi penelitian biomedis melalui peningkatan drastis dalam keluaran data. NGS menggunakan prinsip penyekuesan paralel secara masif (massively parallel sequencing) yang memungkinkan penyekuesan jutaan fragmen DNA secara bersamaan. Platform NGS utama, seperti Illumina dan Ion Torrent, menggunakan pendekatan sequencing by

synthesis (SBS) untuk menghasilkan pembacaan pendek sepanjang 50–500 pasang basa. Keunggulan utama NGS adalah laju hasil yang sangat tinggi, biaya per basa yang jauh lebih murah, dan waktu analisis yang lebih cepat dibandingkan metode Sanger (Satam et al., 2023).

Teknologi generasi ketiga, yang diwakili oleh PacBio dan Oxford Nanopore Technologies, menawarkan kemampuan penyekuesan dengan pembacaan panjang (long reads >10 kb) secara langsung dari DNA asli (native DNA) tanpa memerlukan amplifikasi PCR. Penyekuesan generasi ketiga (Third-Generation Sequencing/TGS) mengatasi keterbatasan NGS dalam hal panjang pembacaan dan mampu memberikan informasi mengenai modifikasi epigenetik secara waktu nyata (real-time). Meskipun akurasi awal TGS lebih rendah dibandingkan NGS, perbaikan algoritma dan teknologi terbaru telah meningkatkan akurasi secara signifikan, sehingga menjadi pilihan menarik untuk aplikasi metagenomik yang membutuhkan informasi genomik lengkap (Satam et al., 2023).

3.2 Metode Molekuler: Ekstraksi DNA dan Amplifikasi 16S rRNA

Ekstraksi DNA berkualitas tinggi merupakan langkah dasar yang krusial dalam analisis metagenomik karena sangat memengaruhi keberhasilan analisis lanjutan (downstream). Kualitas dan kuantitas DNA yang diisolasi sangat bergantung pada pemilihan prosedur pemurnian (purification) yang tepat serta jenis sampel yang dianalisis. Pemilihan metode ekstraksi yang sesuai untuk jenis material baru sering kali memerlukan proses uji coba (trial and error) yang panjang. Selain itu,

setiap pendekatan pemurnian DNA berpotensi menimbulkan bias yang memengaruhi komposisi komunitas mikroba yang dipelajari (Elie et al., 2023).

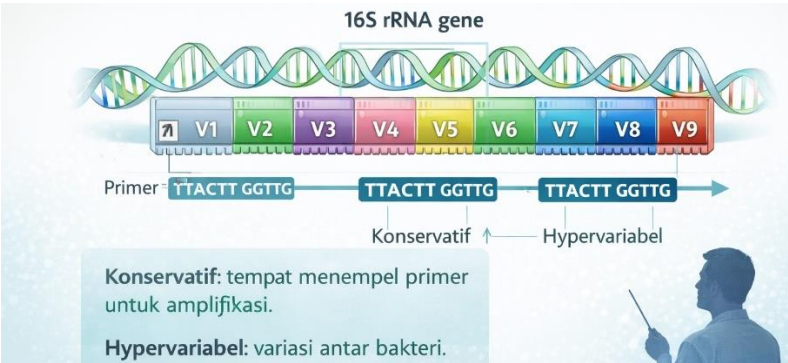
Metode ekstraksi DNA dari sampel lingkungan terbagi menjadi dua kategori utama: penggunaan kit komersial dan protokol standar. Kit komersial seperti PowerSoil dan DNeasy PowerMax (Qiagen) merupakan metode yang paling praktis karena menggunakan bahan kimia siap pakai dari produsen. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan protokol standar terkadang dapat memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan kit komersial dalam hal konsentrasi DNA yang dihasilkan (Aleksiev et al., 2024).

Proses ekstraksi DNA metagenomik harus menghasilkan ukuran fragmen DNA yang ideal untuk analisis selanjutnya, biasanya berkisar antara 600 bp hingga 25 kbp. Hasil ekstraksi yang buruk akan menyebabkan sampel tidak dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut. Oleh karena itu, penting untuk memastikan materi genetik tidak rusak secara fisik serta menghindari kontaminasi protein, asam humat, dan logam. Faktor lain yang memengaruhi hasil ekstraksi meliputi pH, kadar mineral, serta jenis tanah (Marotz et al., 2017).

Evaluasi kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi dapat dilakukan melalui tiga metode: absorbansi UV, pewarnaan fluoresensi (fluorescent staining), dan reaksi difenilamin. Metode absorbansi UV adalah yang paling populer karena mudah, praktis, dan murah. DNA memiliki serapan UV tertinggi pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein pada 280 nm. Oleh karena itu, rasio A260/A280 digunakan untuk mengukur kemurnian asam nukleat; sampel DNA yang

baik umumnya memiliki rasio kemurnian antara 1,8 hingga 2,0 (Elie et al., 2023).

Amplifikasi gen 16S rRNA merupakan metode umum dalam analisis metagenomik untuk menentukan profil taksonomi komunitas bakteri. Gen ini dipilih sebagai penanda molekuler karena memiliki daerah yang sangat konservatif (tetap) pada semua organisme prokariotik, hampir tidak mungkin mengalami transfer gen lateral, dan memiliki struktur protein ribosom yang stabil. Gen 16S rRNA memiliki sembilan daerah hipervariabel (V1–V9) dengan panjang total sekitar 1500 bp yang mampu membedakan keragaman berbagai organisme prokariotik (Aleksiev et al., 2024).



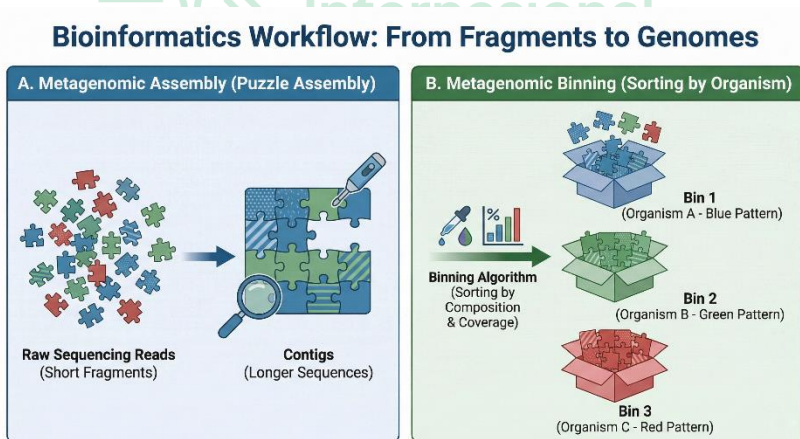
Gambar 3.2. Struktur Gen 16S rRNA Bakteri

3.3 Metode Bioinformatika: Assembly, Binning, dan Analisis Sekuens

Analisis bioinformatika adalah komponen utama dalam studi metagenomik yang mencakup serangkaian tahap komputasi untuk memproses data penyekuesan menjadi informasi biologis. Alur kerja

(pipeline) bioinformatika metagenomik umumnya terdiri dari kontrol kualitas, penyusunan metagenom (assembly), pengelompokan (binning), penentuan taksonomi, serta analisis keragaman dan visualisasi (Mallawaarachchi et al., 2024).

Tahap Assembly Metagenomik adalah proses rekonstruksi hasil pembacaan pendek (reads) menjadi sekuens yang lebih panjang yang disebut contigs. Proses ini menggunakan algoritma khusus untuk menyusun kembali fragmen-fragmen DNA yang tumpang tindih. Assembly metagenomik lebih rumit dibandingkan assembly genom tunggal karena harus menangani keragaman spesies yang tinggi, perbedaan kelimpahan antar-spesies, serta adanya daerah genom yang serupa pada spesies yang berbeda. Perangkat seperti MEGAHIT dan metaSPAdes dirancang khusus untuk mengatasi tantangan tersebut (Mallawaarachchi et al., 2024).



Gambar 3.3. Perbedaan Assembly dan Binning

Binning Metagenomik adalah proses pengelompokan contigs yang berasal dari organisme yang sama untuk merekonstruksi genom individu

dari data yang kompleks. Tahap ini penting untuk mengubah data fragmen menjadi Metagenome-Assembled Genomes (MAGs). Metode binning modern menggunakan kombinasi informasi komposisi sekuens (seperti frekuensi tetranukleotida), profil kelimpahan (coverage), dan grafik assembly. Perangkat binning yang populer meliputi MetaBAT, MaxBin, CONCOCT, dan SemiBin (Mallawaarachchi et al., 2024).

Analisis Sekuens mencakup berbagai pendekatan untuk mengkarakterisasi data metagenomik. Penentuan taksonomi menggunakan perangkat seperti Kraken2, MetaPhlAn, atau BLAST untuk mengidentifikasi organisme berdasarkan kemiripan sekuens dengan pangkalan data referensi. Analisis fungsional menggunakan perangkat seperti HUMAnN, KEGG, atau COG untuk memprediksi jalur metabolik dan fungsi biologis. Sementara itu, analisis keragaman menggunakan metrik seperti indeks Shannon, indeks Simpson, dan analisis PCoA untuk memahami struktur komunitas mikroba (Koenig et al., 2022).

Pipeline bioinformatika modern kini semakin terintegrasi dan otomatis melalui platform seperti Galaxy, QIIME2, dan Nextflow. Perkembangan terbaru juga mencakup penggunaan pembelajaran mesin (machine learning) dan kecerdasan buatan (AI) untuk meningkatkan akurasi klasifikasi taksonomi dan prediksi fungsi gen (Koenig et al., 2022).

3.4 Kontrol Kualitas (Quality Control) dan Validasi Data

Kontrol kualitas (QC) merupakan aspek krusial dalam analisis metagenomik yang menentukan validitas hasil penelitian. Prosedur QC bertujuan untuk mengidentifikasi dan membuang gangguan teknis hasil penyekuesan (artefak), seperti pembacaan berkualitas rendah atau sekuens terkontaminasi yang dapat menyesatkan analisis lanjutan. Kontrol kualitas data NGS untuk komunitas mikroba sangat menantang karena kompleksitas alami dari data metagenomik (Su et al., 2014).

Tahap QC pra-analisis meliputi evaluasi kualitas pembacaan mentah menggunakan perangkat seperti FastQC atau PRINSEQ. Perangkat ini menyediakan statistik ringkasan mengenai kualitas sekuens, distribusi panjang pembacaan, kandungan GC, dan keberadaan kontaminan. Pembacaan yang berkualitas rendah, terlalu pendek, atau mengandung adaptor penyekuesan harus dihilangkan atau diperbaiki menggunakan perangkat seperti Trimmomatic, Cutadapt, atau fastp. Proses pemotongan (trimming) dan penyaringan ini sangat penting untuk mencegah kesalahan pada tahap assembly dan klasifikasi taksonomi (Cansdale & Chong, 2024).

Kontrol Kualitas Assembly meliputi evaluasi metrik seperti N50, N90, total panjang sekuens, jumlah contigs, dan distribusinya. Perangkat seperti QUAST dan MetaQUAST menyediakan evaluasi komprehensif terhadap kualitas assembly metagenomik. Assembly yang baik ditandai dengan nilai N50 yang tinggi, jumlah celah (gap) yang minim, serta contigs yang panjang dengan cakupan (coverage) memadai (Cansdale & Chong, 2024).

Validasi MAGs menggunakan perangkat seperti CheckM, CheckM2, atau GUNC untuk menilai kelengkapan dan tingkat kontaminasi genom hasil binning. MAGs berkualitas tinggi harus memiliki tingkat kelengkapan $>90\%$ dan kontaminasi $<5\%$. Evaluasi ini juga mencakup analisis konsistensi taksonomi dan deteksi duplikasi gen. MAGs yang tidak memenuhi standar harus diperbaiki melalui proses pemurnian bin (bin refinement) atau dikeluarkan dari analisis (Cansdale & Chong, 2024).

Implementasi QC yang menyeluruh juga mencakup penggunaan mock communities (sampel kontrol dengan komposisi yang diketahui) untuk memvalidasi akurasi alur analisis. Normalized Shannon Entropy (NSE) dapat digunakan sebagai indikator keragaman dan kualitas sampel; nilai NSE $>0,96$ menunjukkan dataset berkualitas baik, sedangkan NSE $<0,93$ dianggap berkualitas rendah. Protokol QC yang kuat sangat penting untuk memastikan hasil analisis metagenomik dapat diulang (reproducible) dan diandalkan, terutama dalam aplikasi klinis (Koenig et al., 2022).

3.5 Ringkasan

Teknologi penyekuesan DNA telah berevolusi secara drastis dari metode Sanger menuju Next-Generation Sequencing (NGS) dan penyekuesan generasi ketiga yang memungkinkan pembacaan data lebih panjang serta cepat. Keberhasilan seluruh analisis ini sangat bergantung pada kualitas ekstraksi DNA serta ketepatan pemilihan penanda molekuler, seperti gen 16S rRNA yang stabil. Prosedur molekuler yang akurat menjadi fondasi utama bagi validitas data metagenomik pada tahap selanjutnya.

Analisis data melalui alur bioinformatika yang mencakup tahapan assembly, binning, dan penentuan profil taksonomi sangat krusial untuk mengubah data mentah menjadi informasi biologis yang bermakna. Implementasi kontrol kualitas (QC) dan validasi data yang ketat di setiap tahap sangat penting guna menjamin keandalan hasil penelitian, terutama untuk aplikasi klinis. Integrasi antara teknologi mutakhir dan protokol validasi yang standar memastikan hasil analisis metagenomik dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Daftar Pustaka

- Aleksiev, S., Kostov, K., Dimova, M., Ivanova, P., Tomova, A., Kostadinova, S., ... & Kabaivanova, L. (2024). Assessment of skimmed milk flocculation for bacterial enrichment from water samples, and benchmarking of DNA extraction and 16S rRNA databases for metagenomics. *Microorganisms*, 12(10), 2034.
- Cansdale, A., & Chong, J. P. J. (2024). MAGqual: a stand-alone pipeline to assess the quality of metagenome-assembled genomes. *Microbiome*, 12(1), 226.
- Elie, C., Perret, M., Hage, H., Richet, H., Baron, S. A., Chaudet, H., & Lagier, J. C. (2023). Comparison of DNA extraction methods for 16S rRNA gene sequencing in the analysis of the human gut microbiome. *Scientific Reports*, 13(1), 10279.
- Koenig, J. E., Bourne, D. G., Curtis, B., Dufour, S., Eisen, J. A., Eyice, O., ... & Spang, A. (2022). Efficient and

- quality-optimized metagenomic pipeline designed for taxonomic classification in routine microbiological clinical tests. *Frontiers in Microbiology*, 13, 782585.
- Mallawaarachchi, V., Wickramarachchi, A., Xue, H., Papudeshi, B., Grigson, S. R., Bouras, G., ... & Edwards, R. A. (2024). Solving genomic puzzles: computational methods for metagenomic binning. *Briefings in Bioinformatics*, 25(5), bbae372.
- Marotz, C., Amir, A., Humphrey, G., Gaffney, J., Gogul, G., & Knight, R. (2017). DNA extraction for streamlined metagenomics of diverse environmental samples. *Biotechniques*, 62(6), 290-293.
- Satam, H., Joshi, K., Mangrolia, U., Waghoo, S., Zaidi, G., Rawool, S., ... & Malonia, S. K. (2023). Next-generation sequencing technology: current trends and advancements. *Biology*, 12(7), 997.
- Su, X., Pan, W., Song, B., Xu, J., & Ning, K. (2014). Assessment of quality control approaches for metagenomic data analysis. *Scientific Reports*, 4(1), 6957.

BAB 4 EKSPLORASI ENZIM BARU DENGAN PENDEKATAN METAGENOMIK

4.1 Strategi Eksplorasi Sumber Daya Genetik Alam

Eksplorasi sumber daya genetik melalui pendekatan metagenomik membuka peluang besar untuk menemukan enzim baru yang potensial bagi aplikasi industri. Strategi ini didasarkan pada kenyataan bahwa lebih dari 99% mikroorganisme di alam tidak dapat dikultivasi dengan metode konvensional. Oleh karena itu, metagenomik hadir sebagai solusi untuk mengakses keragaman genetik yang sangat luas tersebut (Ariaeenejad et al., 2024).

Pemilihan lokasi pengambilan sampel (sampling) merupakan strategi dasar yang sangat krusial. Kondisi lingkungan yang spesifik akan membentuk komunitas mikroba dengan karakteristik metabolik yang unik. Lingkungan ekstrem, seperti mata air panas, daerah berkadar garam tinggi, atau wilayah bersuhu rendah, sering kali menjadi sumber enzim dengan sifat unggul. Sebagai contoh, enzim dari lingkungan termofil memiliki stabilitas panas yang tinggi, sementara enzim dari lingkungan psikrofil tetap aktif pada suhu rendah (Robinson et al., 2021).

Strategi pengayaan (enrichment) menggabungkan kultivasi selektif dengan metagenomik. Sampel lingkungan diinkubasi dengan substrat tertentu untuk memicu pertumbuhan mikroba yang memiliki aktivitas enzim target sebelum dilakukan ekstraksi DNA. Metode ini efektif meningkatkan peluang penemuan enzim spesifik tanpa menghilangkan

keragaman mikroba yang sulit dikultur (Thies et al., 2016). Selain itu, terdapat pendekatan habitat-targeted yang menargetkan lokasi spesifik berdasarkan fungsi enzim yang dicari, misalnya menargetkan saluran pencernaan herbivora untuk mencari enzim pendegradasi selulosa (Santos-Pereira et al., 2023). Strategi pengambilan sampel secara temporal (berdasarkan waktu) juga penting untuk memahami dinamika komunitas mikroba akibat perubahan suhu atau nutrisi lingkungan (Ariaeenejad et al., 2024).

4.2 Metode Penapisan (Screening) Enzim dari Perpustakaan Metagenom

Penapisan (screening) merupakan tahap kritis yang menentukan keberhasilan penemuan enzim baru. Terdapat dua pendekatan utama: berbasis sekuens (sequence-based) dan berbasis fungsi (function-based) (Robinson et al., 2021).

Penapisan berbasis fungsi tidak bergantung pada kemiripan urutan gen, sehingga memungkinkan penemuan keluarga protein yang benar-benar baru. Metode ini biasanya menggunakan substrat berwarna (kromogenik) atau berpendar (fluorogenik) yang akan berubah ketika enzim target aktif, terutama untuk menemukan enzim hidrolitik seperti protease dan glikosidase (Kwon et al., 2017). Teknik penapisan pada media agar padat adalah yang paling sederhana, di mana koloni positif akan membentuk zona bening di sekitar sampel (Ngara & Rodriguez, 2018).

Teknologi penapisan berkapasitas tinggi (high-throughput screening) menggunakan sistem mikrotiter plate dan alat pembaca

otomatis (plate reader) untuk menganalisis ribuan klon secara cepat (Rich et al., 2023). Kemajuan terbaru mencakup teknologi droplet microfluidics (mikrofluida tetesan) yang mampu melakukan penapisan pada tingkat sel tunggal dengan sensitivitas sangat tinggi (Robinson et al., 2021). Selain itu, terdapat metode inovatif SIGEX (Substrate-Induced Gene Expression) yang mendeteksi gen yang teraktivasi oleh substrat tertentu menggunakan protein pelapor pendar (GFP) (Ufarté et al., 2016).

4.3 Karakterisasi Enzim: Struktur, Fungsi, dan Optimasi

Setelah enzim ditemukan, tahap selanjutnya adalah karakterisasi komprehensif untuk memastikan kelayakannya sebagai biokatalis komersial (Ariaeenejad et al., 2024). Analisis struktur dimulai dengan penentuan urutan asam amino dan penggunaan pangkalan data seperti Pfam atau InterPro untuk memprediksi fungsi berdasarkan kemiripan domain protein (Robinson et al., 2021). Prediksi struktur tiga dimensi kini dapat dilakukan dengan akurasi tinggi menggunakan teknologi kecerdasan buatan seperti AlphaFold, yang sangat membantu dalam merancang strategi rekayasa protein (Ariaeenejad et al., 2024).

Karakterisasi biokimia dilakukan untuk menentukan parameter kinetika seperti konstanta Michaelis (K_m) dan kecepatan maksimum (V_{max}), serta mencari kondisi pH dan suhu optimal (Santos-Pereira et al., 2023). Stabilitas enzim terhadap suhu, pH, dan pelarut organik juga harus diuji untuk menentukan kondisi operasional terbaik di industri (Rich et al., 2023). Selanjutnya, spesifisitas substrat diuji untuk memahami fleksibilitas katalitik enzim (Kwon et al., 2017). Optimasi lebih lanjut

dapat dilakukan melalui rekayasa protein, baik dengan evolusi terarah (directed evolution) maupun desain rasional (rational design) untuk meningkatkan performa enzim (Ariaeenejad et al., 2024).

4.4 Studi Kasus Penemuan Enzim Baru

Berbagai studi kasus membuktikan efektivitas metagenomik dalam penemuan biokatalis inovatif. Salah satu terobosan besar adalah penemuan enzim pendegradasi plastik PET dari tanah yang terkontaminasi, di mana ditemukan ribuan gen potensial yang terkait dengan degradasi polimer sintetik (Shah et al., 2025). Studi lain pada kompos termofil berhasil mengidentifikasi enzim CAZymes yang stabil pada suhu tinggi, yang sangat berguna untuk produksi bahan bakar nabati (biofuel) (Santos-Pereira et al., 2023).

Inovasi metodologi juga terlihat pada penemuan nitroreduktase menggunakan strategi kloning khusus yang meningkatkan ekspresi gen dibandingkan metode standar (Rich et al., 2023). Eksplorasi pada biofilm rumah potong hewan juga mengungkap enzim lipase dan protease baru yang unik (Thies et al., 2016). Di lingkungan laut dalam, ditemukan enzim yang telah beradaptasi dengan tekanan tinggi dan suhu rendah, memberikan karakteristik katalitik yang berbeda dari enzim darat (Robinson et al., 2021). Terakhir, penapisan terhadap jutaan klon dari 16 lingkungan berbeda berhasil menemukan ratusan karboksilesterase baru, termasuk enzim yang mampu mendegradasi plastik poliester (Kwon et al., 2017).

4.5 Ringkasan

Eksplorasi enzim melalui metagenomik merupakan strategi kunci untuk mengakses potensi biokatalis dari mikroorganisme yang tidak dapat dikultur. Keberhasilan metode ini sangat ditentukan oleh ketepatan pemilihan lokasi pengambilan sampel, penggunaan teknik pengayaan (enrichment), serta penerapan metode penapisan (screening) baik berbasis fungsi maupun sekuens. Teknologi modern seperti droplet microfluidics dan sistem high-throughput telah mempercepat proses penemuan enzim baru secara signifikan.

Setelah enzim teridentifikasi, karakterisasi mendalam menggunakan bantuan kecerdasan buatan (AlphaFold) dan analisis kinetika biokimia menjadi landasan penting untuk optimasi melalui rekayasa protein. Studi kasus nyata pada berbagai lingkungan, mulai dari laut dalam hingga limbah industri plastik, menunjukkan bahwa metagenomik adalah alat yang sangat ampuh untuk menemukan solusi bioteknologi masa depan, termasuk dalam upaya pelestarian lingkungan dan efisiensi industri global.

Daftar Pustaka

- Ariaeenejad, S., Gharechahi, J., Foroozandeh Shahraki, M., Hosseini Salekdeh, G., & Kavousi, K. (2024). Precision enzyme discovery through targeted mining of metagenomic data. *Natural Products and Bioprospecting*, 14(1), 7.
- Kwon, M. A., Kim, H. S., Hahm, D. H., Song, J. K., Choi, K. Y., Park, S. J., ... & Kim, H. (2017). Activity screening

- of environmental metagenomic libraries reveals novel carboxylesterase families. *Scientific Reports*, 7(1), 44103.
- Ngara, T. R., & Rodriguez, H. (2018). Recent advances in function-based metagenomic screening. *Current Opinion in Microbiology*, 43, 89-97.
- Rich, M. H., Sharrock, A. V., Mulligan, T. S., Matthews, F., Brown, A. S., Lee-Harwood, H. R., ... & Ackerley, D. F. (2023). A metagenomic library cloning strategy that promotes high-level expression of captured genes to enable efficient functional screening. *Cell Chemical Biology*, 30(11), 1403-1417.
- Robinson, S. L., Piel, J., & Sunagawa, S. (2021). A roadmap for metagenomic enzyme discovery. *Natural Product Reports*, 38(11), 1994-2023.
- Santos-Pereira, C., Sousa, J., Costa, Â. M. A., Rodrigues, C. F., Ferreira, B. S., Alexandrino, D. A., ... & Carvalho, M. F. (2023). Functional and sequence-based metagenomics to uncover carbohydrate-degrading enzymes from composting samples. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(16), 5379-5401.
- Shah, A. A., Kato, S., Shintani, N., Kamini, N. R., & Nakajima-Kambe, T. (2025). Metagenomic exploration and computational prediction of novel enzymes for polyethylene terephthalate degradation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 270, 115815.

- Thies, S., Rausch, S. C., Kovacic, F., Schmidt-Thaler, A., Wilhelm, S., Rosenau, F., ... & Jaeger, K. E. (2016). Metagenomic discovery of novel enzymes and biosurfactants in a slaughterhouse biofilm microbial community. *Scientific Reports*, 6(1), 27035.
- Ufarté, L., Bozonnet, S., Laville, E., Cecchini, D. A., Pizzut-Serin, S., Jacquiod, S., ... & Veronese, G. P. (2016). Functional metagenomics: construction and high-throughput screening of fosmid libraries for discovery of novel carbohydrate-active enzymes. *Methods in Molecular Biology*, 1399, 257-271.



BAB 5 JENIS-JENIS ENZIM INDUSTRIAL DARI SUMBER METAGENOM

5.1 Selulase: Aplikasi dalam Industri Kertas, Tekstil, dan Bahan Bakar Hayati

Selulase adalah kelompok enzim krusial dalam industri modern yang mampu menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana. Enzim ini bekerja melalui sinergi tiga komponen utama: endoglukanase (memotong ikatan internal rantai selulosa), eksoglukanase (melepaskan selobiosa dari ujung rantai), dan β -glukosidase (mengonversi selobiosa menjadi glukosa). Teknologi metagenomik telah membuka peluang besar untuk menemukan selulase baru dengan sifat unik yang sesuai untuk kebutuhan industri (Kholousi Adab et al., 2024).

Dalam industri kertas dan pulp, selulase digunakan untuk meningkatkan kualitas melalui proses pemutihan hayati (biobleaching) yang mengurangi kadar lignin sehingga kertas menjadi lebih putih dan kuat. Selain itu, selulase membantu menggantikan proses kimiawi yang keras pada tahap penggilingan bahan baku (Borthakur et al., 2024). Di industri tekstil, enzim ini berperan dalam proses biopolishing untuk menghaluskan permukaan kain dan memberikan tampilan khas (stone-washed) pada denim secara ramah lingkungan (Hakim et al., 2023). Sementara itu, dalam industri bahan bakar hayati (biofuel), selulase hasil

metagenomik—terutama yang bersifat tahan panas (termofil)—sangat dibutuhkan untuk mengonversi biomassa menjadi etanol secara efisien dan ekonomis (Borthakur et al., 2024). Contoh nyata keberhasilan ini adalah enzim Celcm05-2 dari rumen unta yang tetap aktif meski terpapar kondisi ekstrem, menjadikannya kandidat kuat untuk aplikasi industri (Kholousi Adab et al., 2024).

5.2 Protease: Aplikasi dalam Detergen, Farmasi, dan Makanan

Protease (peptidase) adalah enzim yang memotong ikatan peptida dalam protein, yang terbagi menjadi endopeptidase dan eksopeptidase. Protease mikroba sangat populer dalam berbagai aplikasi industri karena sifatnya yang menguntungkan (Song et al., 2023).

Protease alkali memegang pangsa pasar terbesar, terutama sebagai bahan tambahan dalam detergen cucian. Enzim ini mampu melepaskan noda protein secara efisien, sehingga proses pencucian dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah dan waktu yang lebih singkat, yang berarti menghemat energi (Song et al., 2023). Di bidang farmasi, protease berperan penting dalam sintesis obat, produksi peptida bioaktif, hingga pengembangan terapi kanker dan anti-inflamasi (Prayogo et al., 2020). Sementara dalam industri makanan, enzim ini digunakan untuk memodifikasi gluten pada roti, klarifikasi bir, pengempukan daging, hingga proses pembuatan keju (Song et al., 2023). Penemuan gen Prt1A melalui metagenomik menunjukkan potensi besar dalam menemukan protease yang bekerja optimal pada suhu tinggi (55–60°C) sesuai kebutuhan spesifik industri (Prayogo et al., 2020).

5.3 Lipase: Aplikasi dalam Biodiesel dan Bioremediasi

Lipase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Melalui proses transesterifikasi, lipase dapat mengubah minyak nabati menjadi biodiesel, sebuah alternatif bahan bakar fosil yang ramah lingkungan (Bhardwaj et al., 2021). Dibandingkan katalis kimia, penggunaan lipase lebih unggul karena mampu mencapai konversi hampir sempurna dalam waktu singkat (sekitar 6 jam) dan meminimalkan produk sampingan yang merugikan (Bhardwaj et al., 2025).

Selain itu, lipase berperan penting dalam bioremediasi untuk mengatasi pencemaran lingkungan akibat limbah minyak, pestisida, dan plastik. Teknik pembersihan berbasis enzim ini dianggap lebih aman dan efektif dibandingkan metode fisik atau kimia tradisional (Bhardwaj et al., 2025). Organisme seperti *Staphylococcus pasteurii*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* telah dilaporkan sebagai penghasil lipase yang efektif dalam memulihkan ekosistem yang tercemar petroleum atau limbah rumah potong hewan (Bhardwaj et al., 2025). Penemuan gen Lip-1 dari mata air panas melalui metagenomik juga memberikan harapan baru bagi produksi biodiesel skala industri yang membutuhkan enzim dengan toleransi suhu tinggi (López-López et al., 2014).

5.4 Enzim Lainnya: Kitinase, Amilase, dan Esterase

Selain selulase, protease, dan lipase, metagenomik juga mengungkap potensi besar dari enzim kitinase, amilase, dan esterase.

1. Kitinase: Digunakan dalam pertanian sebagai insektisida biologis untuk mengendalikan hama serangga yang memiliki eksoskeleton kitin (Jia et al., 2024).
2. Amilase: Memiliki aplikasi luas mulai dari pembuatan sirup glukosa di industri makanan, penghilangan kanji (desizing) di industri tekstil, hingga produksi bioetanol (López-López et al., 2014).
3. Esterase: Berperan dalam sintesis bahan kimia halus dan biodegradasi plastik poliester seperti asam polilaktat (PLA) (Kwon et al., 2017).

Penemuan gen 53D1 (kitinase) dan berbagai karboksilesterase baru melalui penapisan jutaan klon metagenom membuktikan bahwa lingkungan alam menyimpan ribuan biokatalis yang siap dikembangkan untuk kepentingan manusia (Prayogo et al., 2020; Kwon et al., 2017).

5.5 Enzim yang Telah Dipatenkan untuk Komersial

Nilai komersial penemuan metagenomik terlihat dari banyaknya paten enzim yang diterbitkan dalam lima tahun terakhir, mulai dari selulase hingga β -glukosidase (Prayogo et al., 2020). Pasar enzim industri global diproyeksikan tumbuh pesat hingga mencapai angka USD 12,6 miliar pada tahun 2033, dengan segmen protease sebagai pendorong utama pertumbuhan tersebut (Grand View Research, 2024).

Komersialisasi ini didukung oleh teknologi rekayasa protein (enzyme engineering) seperti desain rasional dan bantuan kecerdasan buatan (machine learning) yang mampu meningkatkan stabilitas dan efektivitas enzim sesuai kebutuhan pabrik (López-López et al., 2014). Strategi hilirisasi yang melibatkan kolaborasi antara peneliti dan industri,

mulai dari optimasi produksi hingga persetujuan regulasi, menjadi kunci utama agar enzim metagenomik dapat diproduksi massal dengan biaya kompetitif menggunakan sistem ekspresi seperti *E. coli* atau ragi (López-López et al., 2014).

5.6 Ringkasan

Metagenomik telah mengubah wajah industri dengan menyediakan akses ke berbagai enzim unggul seperti selulase, protease, dan lipase yang sebelumnya sulit ditemukan melalui metode kultur biasa. Enzim-enzim ini menjadi solusi ramah lingkungan untuk meningkatkan efisiensi di berbagai sektor, mulai dari produksi bahan bakar hayati, pembuatan detergen hemat energi, hingga teknologi pembersihan limbah plastik dan minyak.

Potensi ekonomi yang sangat besar, dengan proyeksi nilai pasar mencapai belasan miliar dolar, mendorong percepatan paten dan komersialisasi produk biokatalis. Melalui dukungan rekayasa protein modern dan integrasi teknologi bioinformatika, enzim hasil eksplorasi metagenomik kini bukan sekadar temuan laboratorium, melainkan produk komersial nyata yang mendukung industri berkelanjutan di masa depan.

Daftar Pustaka

- Bhardwaj, N., Kumar, B., Agrawal, K., & Verma, P. (2025). Microbial lipases: advances in production, purification, biochemical characterization, and multifaceted applications in industry and medicine. *Microbial Cell Factories*, 24(1), 39.

- Borthakur, I., Devi, R. P., Karthikeyan, S., Ramesh, D., & Murugananthi, D. (2024). Microbial cellulase production: current technologies and future prospects. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(4), 2485-2503.
- Grand View Research. (2024). Industrial enzymes market size, share & trends analysis report by product, by application, by source, by region, and segment forecasts, 2025-2033. Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/industrial-enzymes-market>
- Hakim, A., Bhuiyan, F. R., Iqbal, A., Emon, T. H., Ahmed, J., & Khan, R. A. (2023). Microbial cellulase production and its potential application for textile industries. *Annals of Microbiology*, 73(1), 10.
- Jia, W., Li, C., Zhang, H., Li, G., Liu, X., & Wei, J. (2024). Engineering bacterial chitinases for industrial application: from protein engineering to bacterial strains mutation! A comprehensive review of physical, molecular, and computational approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(42), 23082-23096.
- Kholousi Adab, F., Mehdi Yaghoobi, M., & Gharechahi, J. (2024). Enhanced crystalline cellulose degradation by a novel metagenome-derived cellulase enzyme. *Scientific Reports*, 14(1), 8560.
- Kwon, M. A., Kim, H. S., Hahm, D. H., Song, J. K., Choi, K. Y., Park, S. J., ... & Kim, H. (2017). Activity screening of environmental metagenomic libraries reveals novel

- carboxylesterase families. *Scientific Reports*, 7(1), 44103.
- López-López, O., Cerdán, M. E., & González Siso, M. I. (2014). New extremophilic lipases and esterases from metagenomics. *Current Protein & Peptide Science*, 15(5), 445-455.
- Prayogo, F. A., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P., Wijanarka, W., Suprihadi, A., & Nurhayati, N. (2020). Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 39.
- Song, P., Zhang, X., Wang, S., Xu, W., Wang, F., Fu, R., & Wei, F. (2023). Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1236368.

BAB 6 TANTANGAN, PELUANG, DAN MASA DEPAN METAGENOMIK ENZIM

6.1 Tantangan Teknis: Pengambilan Sampel, Ekstraksi DNA, dan Kontaminan

Tantangan teknis dalam metagenomik enzim mencakup berbagai aspek yang memengaruhi kualitas dan validitas hasil penelitian. Salah satu kendala utama adalah kontaminasi DNA lingkungan yang dapat membatasi akurasi penyekuesan (sequencing). Masalah ini menjadi sangat kritis pada sampel dengan jumlah mikroba yang rendah, di mana kontaminasi dapat menutupi sinyal mikroba asli dan mengurangi sensitivitas deteksi (Zemb et al., 2022).

Proses ekstraksi DNA berkualitas tinggi merupakan tugas yang menantang dan sangat memengaruhi analisis lanjutan. Kualitas serta kuantitas DNA yang diisolasi bergantung pada ketepatan prosedur pemurnian dan jenis sampelnya. Sering kali, pemilihan metode isolasi untuk material baru memerlukan proses uji coba (trial and error) yang panjang, karena setiap pendekatan dapat menimbulkan bias yang mengubah gambaran komposisi komunitas mikroba (Marchukov et al., 2023).

Selain itu, kontaminasi DNA pada reagen ekstraksi menjadi tantangan signifikan yang menyulitkan interpretasi hasil. Penelitian menunjukkan bahwa profil mikroba latar belakang berbeda-beda antar-

merek reagen, bahkan antar-lot produksi dari merek yang sama. Oleh karena itu, penting untuk melakukan pemetaan (profiling) mikrobiota spesifik pada setiap lot reagen yang digunakan (Khan et al., 2025). Penggunaan metode amplifikasi seperti Multiple Displacement Amplification (MDA) memang membantu meningkatkan hasil DNA pada sampel minimalis, namun berisiko menimbulkan masalah kontaminasi reagen dan bias sekuens (Thomas et al., 2012). Terakhir, pada sampel klinis dengan kandungan DNA inang yang tinggi, DNA manusia sering kali menutupi DNA mikroba, sehingga diperlukan metode deplesi (penghilangan) DNA inang yang efektif dan konsisten (Liu et al., 2022).

6.2 Pemilihan Lokasi Pengambilan Sampel yang Strategis

Pemilihan lokasi pengambilan sampel (sampling) merupakan faktor dasar yang menentukan keberhasilan eksplorasi enzim. Kondisi lingkungan yang spesifik akan membentuk komunitas mikroba dengan karakteristik metabolisme yang unik. Oleh karena itu, lingkungan ekstrem seperti mata air panas, daerah berkadar garam tinggi, atau wilayah bersuhu rendah sering menjadi sumber enzim dengan sifat unggul untuk aplikasi industri (Sharma et al., 2023).

Lingkungan dengan tekanan selektif yang tinggi cenderung menghasilkan enzim yang tangguh; misalnya, lingkungan termofil menghasilkan enzim tahan panas, sementara lingkungan halofil menghasilkan enzim yang toleran terhadap garam tinggi (Marchukov et al., 2023). Selain lokasi, ketersediaan nutrisi di lingkungan juga

menentukan jenis enzim yang dapat ditemukan. Lingkungan yang kaya selulosa akan meningkatkan peluang ditemukannya mikroba penghasil selulase (Thomas et al., 2012). Aspek waktu (temporal) juga perlu diperhatikan, karena perubahan musim atau siklus harian dapat mengubah aktivitas komunitas mikroba, sehingga pengambilan sampel berulang pada waktu yang berbeda dapat memberikan gambaran potensi enzim yang lebih lengkap (Sharma et al., 2023). Pemahaman mendalam tentang ekologi mikroba dan interaksi antar-spesies di alam menjadi kunci strategi sampling yang efektif (Liu et al., 2022).

6.3 Peluang Komersial dan Industri

Pasar metagenomik global tumbuh sangat menjanjikan, dengan nilai yang diperkirakan mencapai USD 2,03 miliar pada tahun 2023 dan diproyeksikan tumbuh pesat hingga tahun 2030. Penurunan biaya penyekuesan mendorong adopsi teknologi ini dalam berbagai proyek genom nasional dan internasional (Grand View Research, 2024). Segmen perangkat (kits) dan reagen mendominasi pasar karena dirancang khusus untuk kebutuhan studi spesifik, mulai dari analisis tanah hingga deteksi patogen klinis (Grand View Research, 2024).

Secara regional, Amerika Utara memimpin pasar karena infrastruktur penelitian yang maju, diikuti oleh Eropa yang sangat bergantung pada pendanaan publik untuk proyek kesehatan dan lingkungan (Future Market Insights, 2025). Industri bioteknologi secara luas diperkirakan akan mencapai nilai USD 3,88 triliun pada tahun 2030, didorong oleh pertumbuhan big data dan kecerdasan buatan (AI) (Grand View Research, 2024). Dalam konteks industri, terdapat dorongan global untuk mempromosikan "Bioteknologi Putih" (industri) sebagai pilar

ekonomi berkelanjutan, yang membutuhkan pengembangan enzim dan produk baru melalui sistem ekspresi yang efisien agar sukses secara ekonomi (Lorenz & Eck, 2005).

6.4 Tren Teknologi Masa Depan

Integrasi kecerdasan buatan (AI) dan machine learning (ML) menandai era baru dalam rekayasa protein. AI generatif mampu mengidentifikasi pola rumit dalam urutan gen dan menemukan enzim fungsional baru yang sulit ditemukan secara manual (Madani et al., 2023). Model ML kini menjadi alat bantu utama untuk memprediksi fungsi protein dan mengoptimalkan karakteristik enzim agar sesuai dengan kebutuhan industri (Yang et al., 2024).

Platform baru yang menggabungkan sintesis DNA tanpa sel (cell-free) dengan analisis fungsi secara cepat memungkinkan evaluasi ribuan varian enzim dalam waktu singkat (Landwehr et al., 2025). Otomatisasi laboratorium yang dipandu oleh ML juga mempercepat pengembangan biokatalis unggul melalui sistem evolusi laboratorium yang terencana (Rapp et al., 2024). Selain itu, desain protein de novo menggunakan alat bantu AI seperti AlphaFold, RFDiffusion, dan DiffDock telah merevolusi kemampuan manusia dalam menciptakan protein dengan struktur dan fungsi khusus, termasuk dalam memerangi resistensi antimikroba (Wheeler, 2025). Namun, kemajuan ini juga membawa tantangan biosekuriti; kemampuan AI untuk mendesain protein baru menuntut perhatian serius agar teknologi ini tidak disalahgunakan untuk tujuan yang berbahaya (Wheeler, 2025).

6.5 Prospek Pengembangan Enzim untuk Aplikasi Khusus

Metagenomik fungsional menawarkan peluang luar biasa untuk mengeksplorasi fungsi mikroba yang tidak dapat dikultur tanpa harus bergantung pada kemiripan gen yang sudah ada (Berini et al., 2015). Di industri makanan dan farmasi, pendekatan ini membantu identifikasi enzim yang mampu bekerja dalam kondisi ekstrem (suhu, pH, tekanan) untuk menggantikan katalis kimia yang mahal atau berbahaya (Berini et al., 2015).

Penelitian masa depan akan bersifat multidimensi, mengintegrasikan data struktural, fungsional, serta aspek ruang dan waktu. Penggabungan dengan teknologi metatranskriptomik dan metabolomik akan memberikan gambaran aktivitas mikroba yang lebih utuh di lokasi aslinya (Thomas et al., 2012). Prospek menarik lainnya adalah di bidang bioremediasi, di mana enzim metagenomik direkayasa untuk mendegradasi polutan lingkungan sejalan dengan konsep ekonomi sirkular (Sharma et al., 2023). Integrasi teknologi CRISPR dan biologi sintetik juga memungkinkan modifikasi enzim secara presisi untuk meningkatkan efektivitasnya (Madani et al., 2023). Secara jangka panjang, metagenomik enzim akan berkembang menjadi platform terpadu yang menyatukan proses eksplorasi hingga rekayasa dalam satu alur kerja otomatis yang sangat cepat dan beragam (Yang et al., 2024).

6.6 Ringkasan

Pengembangan metagenomik enzim menghadapi tantangan teknis yang nyata, terutama terkait kontaminasi DNA dan kompleksitas

pengambilan sampel di lingkungan yang beragam. Namun, melalui pemilihan lokasi yang strategis dan pemahaman mendalam tentang ekologi mikroba, hambatan tersebut dapat diatasi untuk mengungkap potensi biokatalis unggul dari alam. Pasar global yang terus tumbuh dan dukungan infrastruktur penelitian yang kuat mempertegas bahwa teknologi ini memiliki nilai komersial dan industri yang sangat strategis bagi masa depan ekonomi berkelanjutan.

Tren masa depan menunjukkan dominasi kecerdasan buatan (AI) dan otomatisasi laboratorium dalam mempercepat penemuan serta rekayasa protein secara presisi. Integrasi berbagai data "omics" serta pemanfaatan teknologi penyuntingan gen seperti CRISPR akan membuka prospek luas bagi aplikasi khusus di bidang farmasi, pangan, hingga pemulihan lingkungan. Dengan alur kerja yang semakin otomatis dan terpadu, metagenomik enzim siap menjadi fondasi utama dalam inovasi bioteknologi global yang lebih efisien dan ramah lingkungan.

Daftar Pustaka

- Berini, F., Katz, M., Grond, S., Petras, D., Gogol-Döring, A., Kai, M., ... & Marinelli, F. (2015). Biotechnological applications of functional metagenomics in the food and pharmaceutical industries. *Frontiers in Microbiology*, 6, 672.
- Future Market Insights. (2025). Metagenomics market size & growth 2025-2035. Retrieved from <https://www.futuremarketinsights.com/reports/metagenomics-market>

- Grand View Research. (2024). Metagenomics market size, share & growth report, 2030. Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/metagenomics-market>
- Khan, A. H., Smith, J. L., Ramoneda, J., Zhang, L., Johnson, M. K., Brown, R. S., ... & Davis, P. (2025). Deciphering the impact of contaminating microbiota in DNA extraction reagents on metagenomic next-generation sequencing workflows. *Applied and Environmental Microbiology*, 91(2), e01256-24.
- Landwehr, G., Yang, J., Chen, M., Rodriguez, A., Kim, S., Thompson, L., ... & Arnold, F. H. (2025). Accelerated enzyme engineering by machine-learning guided cell-free expression. *Nature Communications*, 16(1), 792.
- Liu, J., Zhang, Y., Wang, X., Chen, L., Li, M., Zhao, H., ... & Wu, D. (2022). Metagenomic sequencing for microbial DNA in human samples: emerging technological advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2744.
- Lorenz, P., & Eck, J. (2005). Metagenomics and industrial applications. *Nature Reviews Microbiology*, 3(6), 510-516.
- Madani, A., Krause, B., Greene, E. R., Subramanian, S., Mohr, B. P., Holton, J. M., ... & Naik, N. (2023). Harnessing generative AI to decode enzyme catalysis and evolution for enhanced engineering. *National Science Review*, 10(12), nwad331.

- Marchukov, D., Li, J., Juillerat, P., Misselwitz, B., & Yilmaz, B. (2023). Benchmarking microbial DNA enrichment protocols from human intestinal biopsies. *Frontiers in Genetics*, 14, 1184473.
- Rapp, J. T., Chen, Y., Liu, H., Martinez, K., Thompson, R., White, M., ... & Keasling, J. D. (2024). Automated in vivo enzyme engineering accelerates biocatalyst optimization. *Nature Communications*, 15(1), 3447.
- Sharma, N., Kumar, S., Patel, R., Singh, A., Gupta, M., Reddy, P., ... & Verma, S. (2023). Metagenomics: an emerging tool for the chemistry of environmental remediation. *Frontiers in Environmental Chemistry*, 4, 1052697.
- Thomas, T., Gilbert, J., & Meyer, F. (2012). Metagenomics: a guide from sampling to data analysis. *Microbial Informatics and Experimentation*, 2(1), 3.
- Wheeler, N. E. (2025). Responsible AI in biotechnology: balancing discovery, innovation and biosecurity risks. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13, 1537471.
- Yang, J., Li, F. Z., & Arnold, F. H. (2024). Opportunities and challenges for machine learning-assisted enzyme engineering. *ACS Central Science*, 10(2), 226-241.
- Zemb, O., Lee, M., Etienne, A., de Sousa, K., Bedu, E., Chabbert, E., ... & Hamelin, J. (2022). A metagenomic DNA sequencing assay that is robust against environmental DNA contamination. *Nature Communications*, 13(1), 4373.

GLOSARIUM

Istilah

Definisi

16S rRNA (16S ribosomal RNA)

Gen penanda taksonomi yang sangat konservatif dan hadir pada semua organisme prokariotik, sering digunakan dalam *amplicon sequencing* untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan bakteri dalam sampel metagenomik.

Amplicon Sequencing

Metode sekuensing metagenomik yang hanya menargetkan gen penanda taksonomi yang penting, seperti gen 16S rRNA, sehingga analisis terbatas pada sekuens DNA yang telah diketahui sebelumnya.

Assembly
(Perakitan)

Proses rekonstruksi sekuens pendek (*reads*) hasil sekuensing menjadi sekuens yang lebih panjang dan berkelanjutan (*contigs*), yang dilakukan menggunakan algoritma komputasi.

Binning

Proses pengelompokan *contigs* yang dihasilkan dari *assembly* berdasarkan karakteristik tertentu (seperti komposisi nukleotida dan profil kelimpahan) untuk merekonstruksi genom individu (*Metagenome-Assembled Genomes* atau MAGs) dari data metagenomik yang kompleks.

Istilah

Definisi

Cellulases

Kelompok enzim yang menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana, terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase, dan penting dalam industri kertas, tekstil, dan biofuel.

Chitinases

Enzim yang memecah kitin, polimer alami yang ditemukan dalam eksoskeleton krustasea dan serangga, penting dalam aplikasi pertanian dan bioteknologi.

Contigs

Sekuens DNA yang lebih panjang dan berkelanjutan yang direkonstruksi dari fragmen-fragmen sekuens pendek (*reads*) yang tumpang tindih selama proses *assembly*.

Functional Dark Matter

Keragaman fungsional yang belum terjelajahi atau gen-gen baru yang tidak dapat diprediksi berdasarkan sekuens yang sudah diketahui di database.

Lipases

Kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Enzim ini digunakan secara luas dalam produksi biodiesel melalui transesterifikasi dan bioremediasi.

MAGs

(*Metagenome-*

Genom individu berkualitas tinggi yang direkonstruksi dari data metagenomik yang kompleks melalui proses *binning*.

Istilah

Definisi

Assembled

Genomes)

Metagenom

Keseluruhan genom kolektif dari seluruh anggota komunitas mikroba yang hidup bersama dalam suatu habitat tertentu.

Metagenomik (*Metagenomics*)

Ilmu yang mempelajari materi genetik dari seluruh organisme dalam suatu lingkungan tertentu, memberikan wawasan tentang komposisi, keragaman, dan potensi fungsional komunitas mikroba tanpa perlu mengisolasi spesies secara individual.

Metagenomik **Fungsional**

Pendekatan studi metagenomik yang berfokus pada identifikasi dan karakterisasi gen yang mengkode protein tertentu ("apa yang mereka lakukan"), sering melibatkan *screening* berbasis fungsi.

Metagenomik **Struktural**

Pendekatan studi metagenomik yang berfokus pada analisis struktur dan komposisi komunitas mikroba dalam suatu lingkungan, bertujuan mengidentifikasi "siapa yang ada di sana".

Next-Generation **Sequencing** (NGS)

Teknologi sekuensing generasi kedua yang menggunakan prinsip *massively parallel sequencing* untuk menghasilkan *reads* pendek

Istilah

Definisi

Proteases

(50-500 pasang basa) dengan *throughput* yang sangat tinggi dan biaya per basa yang rendah.

Kelompok enzim hidrolitik yang memotong ikatan peptida dalam protein, diklasifikasikan menjadi endopeptidase dan eksopeptidase, dan digunakan dalam industri detergen, farmasi, dan makanan.

Shotgun

Metagenomics

Metode sekuensing yang melibatkan sekuensing seluruh materi genetik (DNA) yang ada dalam sampel lingkungan, memungkinkan analisis komprehensif taksonomi dan fungsi komunitas.

Third- Generation Sequencing (TGS)

Teknologi sekuensing generasi ketiga (seperti PacBio dan Oxford Nanopore) yang mampu menghasilkan *reads* panjang (>10 kb) secara langsung dari DNA *native*, berguna untuk perakitan genom yang lebih lengkap.

BIODATA PENULIS

Fitra Adi Prayogo, S.Si., M.Si

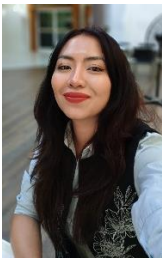


Penulis adalah dosen Program Studi S1 Ilmu Biomedis Universitas Karya Husada Semarang. Ia Menyelesaikan pendidikan S1 Biologi di Universitas Diponegoro, lalu melanjutkan pendidikan S2 Biologi dengan konsentrasi Mikrobiologi, Molekuler, dan Biokimia di Universitas Diponegoro.



Dr.rer.nat. Anto Budiharjo, S. Si, M. Biotech

Dr. Anto menyelesaikan Pendidikan S1 Biologi di Universitas Diponegoro, dan melanjutkan S2 Master of Biotechnology di Flinders Universtiy of South Australia serta menyelesaikan S3 pada bidang rekayasa genetika di Humboldt University Berlin, Germany. Dan menjadi dosen pada Departemen Biologi dan Program Studi Bioteknologi – UNDIP.



Dyah Wulandari, S. Si, Ph.D

Dr. Dyah adalah dosen Program Studi S1 Teknologi Pangan, Soegijapranata Catholic University (SCU-Semarang). Ia menyelesaikan Pendidikan S1 Biologi di Universitas Diponegoro, dan melanjutkan S2 dan S3 di Program Bioteknologi, Suranaree University of Technology, Thailand.

Buku Metagenomik: Revolusi dalam Eksplorasi Enzim dan Komunitas Mikroba menyajikan pembahasan komprehensif mengenai perkembangan dan penerapan metagenomik sebagai pendekatan revolusioner dalam mempelajari keanekaragaman serta potensi fungsional komunitas mikroba tanpa melalui metode kultur tradisional. Dimulai dari konsep dasar, sejarah, dan peran penting mikroba dalam siklus biogeokimia, buku ini menguraikan secara sistematis pendekatan metagenomik struktural dan fungsional, teknologi sekuensing DNA dari generasi awal hingga terkini, serta metode analisis bioinformatika yang menjadi tulang punggung penelitian metagenomik modern. Selain itu, buku ini menyoroti eksplorasi dan karakterisasi enzim-enzim baru berbasis metagenomik, lengkap dengan contoh aplikasi industri seperti bioteknologi, energi, lingkungan, dan kesehatan, serta membahas tantangan, peluang, dan prospek masa depan pengembangan enzim berbasis sumber daya genetik mikroba. Disusun sebagai referensi ilmiah, buku ini ditujukan bagi mahasiswa, peneliti, dan praktisi yang ingin memahami dan memanfaatkan metagenomik secara mendalam dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan aplikasi terapan.