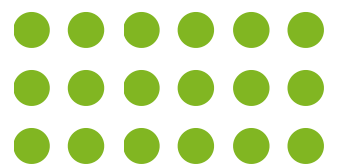


“Konstruksi Plasmid Untuk Genome Editing Thermo Tolerant *Pseudomonas putida* dalam Upaya Meningkatkan Aktivitas Penguraian”

Project Leader :

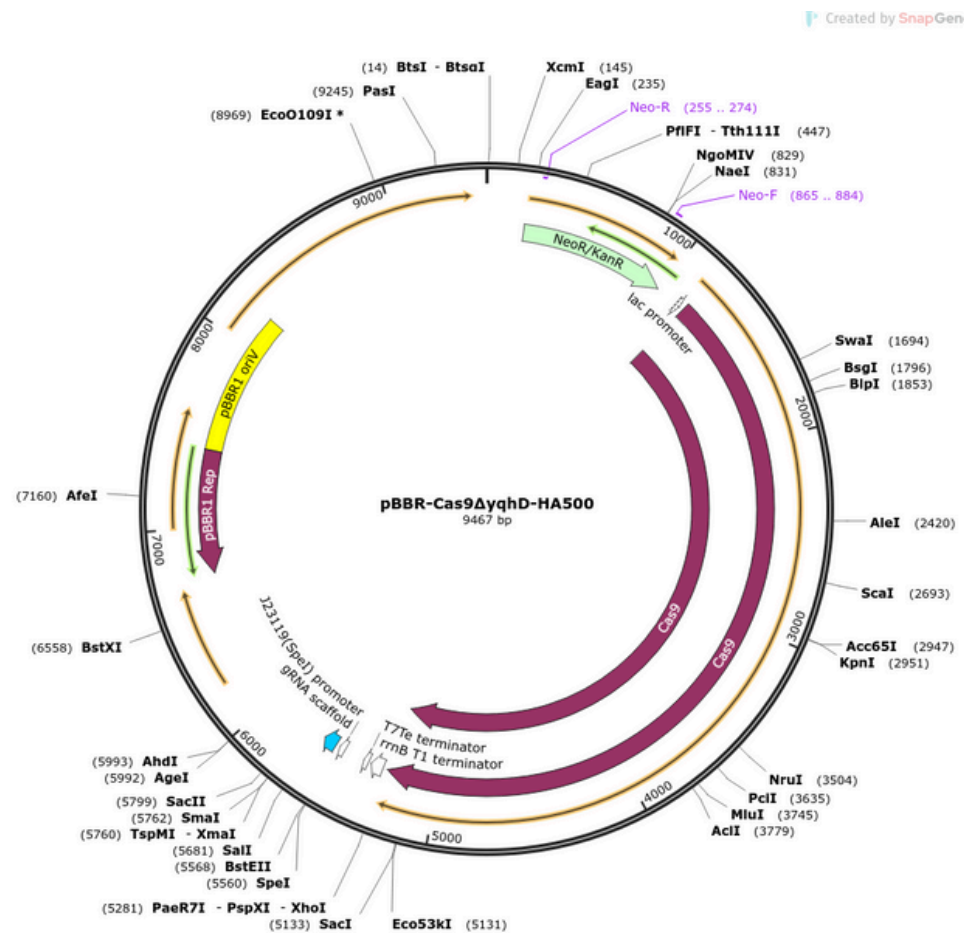
Sozia Dikria Aulina Amahera

Team Project : Muhammad Syahidus Zaman
Muhammad Iqbal Septianam
Angela Martha Theo Sabrina
Bela Indri Ayunita
Pembimbing : Ali Wafa SP., M.Si



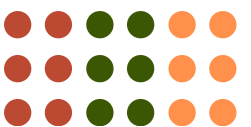
TUJUAN RISET

Pseudomonas putida adalah bakteri pembantu penguraian janjang kosong yang memiliki kemampuan rendah dalam pengurai bahan organik [1]. Rendahnya penguraian ini terjadi karena tingginya suhu ketika proses dekomposisi yang dapat mematikan bakteri. Hal ini dapat ditangani dengan genetika engineering bakteri dengan metode Genome editing yang diawali dengan konstruksi plasmid.



Konstruksi plasmid ini merupakan perombakan segmen DNA makhluk hidup dalam kaitan peningkatan kemampuan makhluk hidup atau menghentikan potensi buruknya [2].

Teknologi ini memungkinkan dilakukannya peningkatan aktivitas bakteri sehingga mampu membantu penguraian janjang kosong kelapa sawit di lahan.



JUSTIFIKASI RISET



Sumber PT.Kharismapratama Abadisejatindo



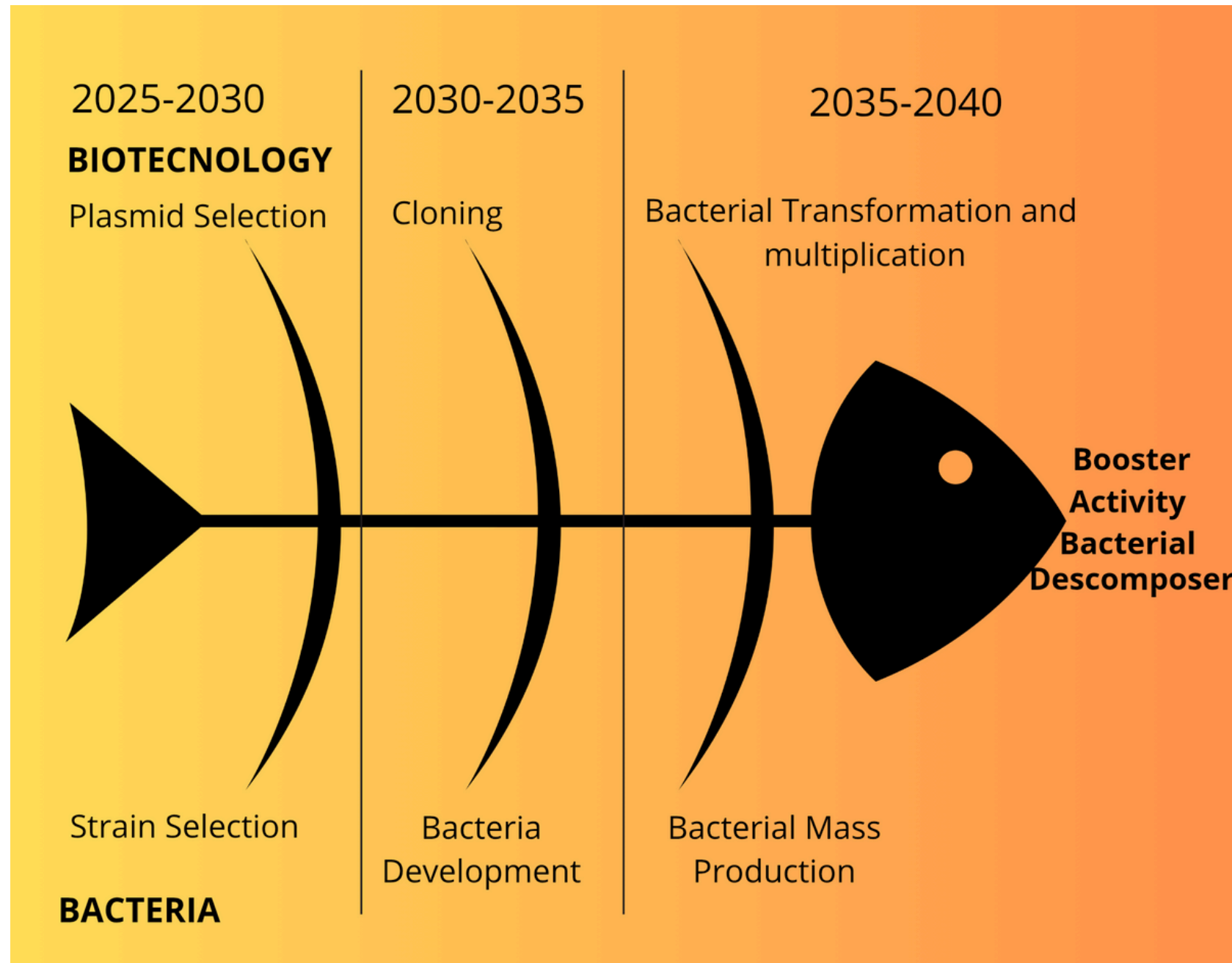
Sumber Dokumentasi Pribadi

Pengembangan *Pseudomonas putida* telah dilaksanakan oleh tim dan pendahulu sejak 2011.

Dimulai dari seleksi kandidat *P. putida* dan di tahun 2025 dilakukan pemilihan plasmid yang stabil.

Selanjutnya mulai 2026 dengan berbasis plasmid yang diperoleh, keberlanjutan project ini adalah menggunakan pendekatan bioteknologi CRISPR/CAS 9 untuk melakukan modifikasi genetik agar *P. putida* lebih tahan kondisi ekstrem panas atau menjadi bakteri yang thermo toleran.

BIG PICTURE RISET



Pada tahun 2025 dilakukan kontruksi sekuensi DNA bakteri *Pseudomonas putida*. Pemilihan plasmid yang sesuai dan merancang SgRNA.

Pada tahun 2027 Transformasi plasmid pada bakteri *P. putida*.

Pada tahun 2030 produksi masal bakteri *P. putida* yang telah ditingkatkan kemampuan gennya. untuk pengujian yang terbatas.

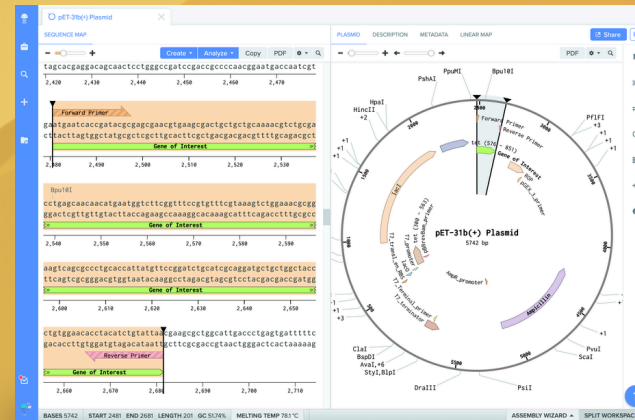
Pada tahun 2032 produksi masal bakteri *P. putida* untuk pengaplikasian di beberapa wilayah PT BGA yang telah ditingkatkan kemampuan gennya.

Pada tahun 2035 produksi masal bakteri *P. putida* untuk pengaplikasian diseluruh wilayah PT BGA yang telah ditingkatkan kemampuan gennya.

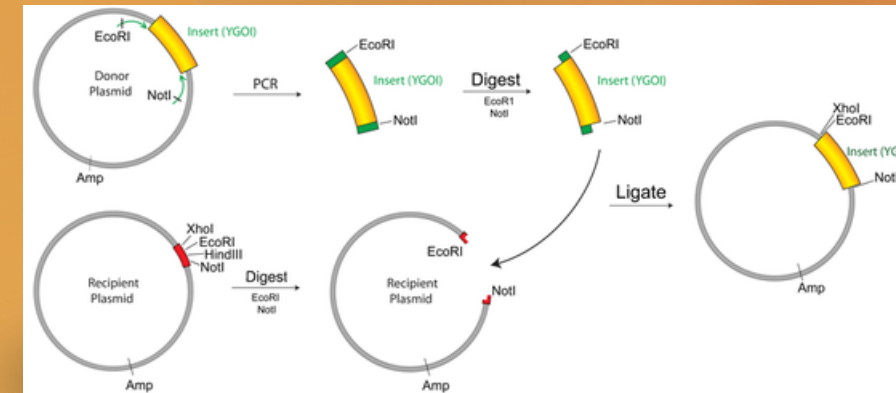
Pada tahun 2040 janjang kosong di PT BGA menjadi lebih cepat teruraikan dan jumlah bahan organik yang siap diserap oleh tanaman sawit di PT BGA mengalami peningkatan.



All figures are only for illustration and extracted from several related article



Sumber Benchling



Sumber Addgene

STAGE 1

Retrieving DNA sequence data of *Pseudomonas putida*

Feb-Apr 2025

STAGE 2

Designing single guide RNA

May-Jul 2025

STAGE 3

Selecting plasmid to be used

Jun-Aug 2025

STAGE 4

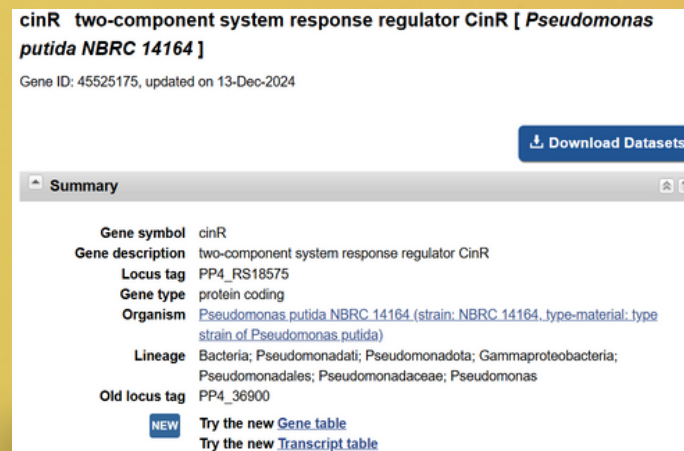
Cloning using PCR

Jul-Okt 2025

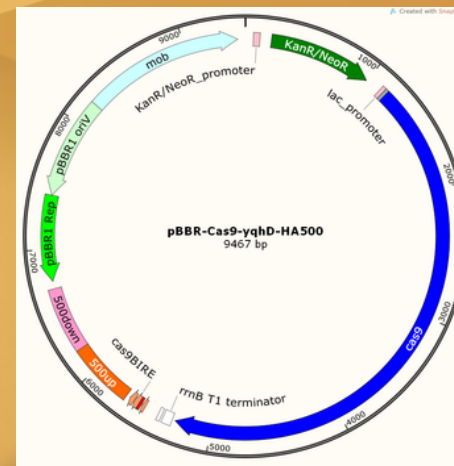
STAGE 5

Stability check

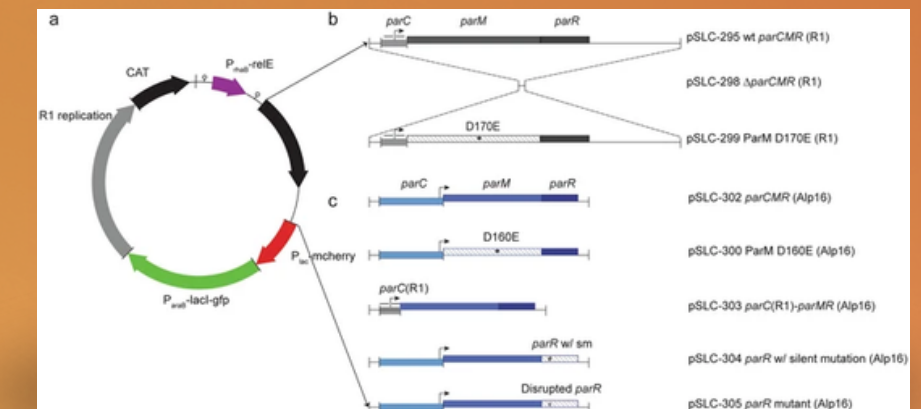
Aug-Nov 2025



Sumber NCBI



Sumber Addgene



Sumber (Chen et al. 2017)



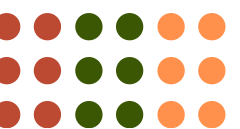
RENCANA ANGGARAN RISET

Total Anggaran yang di perlukan di Tahun Pertama Kegiatan adalah Rp. 10,000,000 Dengan beberapa rincian Anggaran alat dan bahan seperti Petridish Disposable, Media YPGA (Yeast Peptone Glucose Agar), SgRNA, Plasmid *Pseudomonas putida*

No.	Nama Barang	Jumlah	Satuan	Harga
1.	Petridish Disposable	1	Paket dus	Rp. 1,700,000
2.	Media YPGA (Yeast Peptone Glucose Agar	500	Gram	Rp. 2,300,000
3.	SgRNA	40	bp	Rp. 2,500,000
4.	Plasmid pBBR-Cas9 Δ yqhD-HA500	1	Unit	Rp. 3,500,000
Total				Rp. 10,000,000

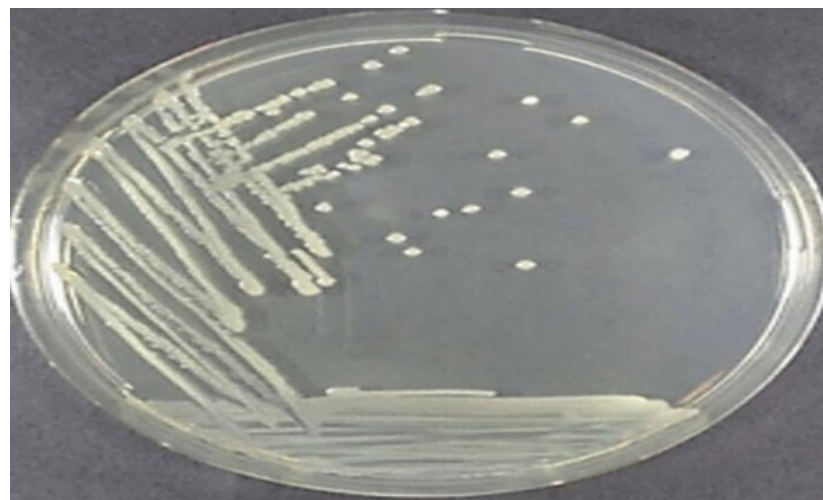
GANTT CHART RISET

To-Dos	Februari-Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agustus	September	Oktober	November	Desember
Proposal dan Presentasi	Active									
Mengambil data sekuens DNA <i>Pseudomonas putida</i>	Active	Active								
Mendesain Sg RNA			Active	Active	Active					
Seleksi plasmid yang akan digunakan				Active	Active	Active				
Cloning menggunakan PCR					Active	Active	Active	Active		
Cek Stabilitas						Active	Active	Active	Active	
Pelaporan										Active

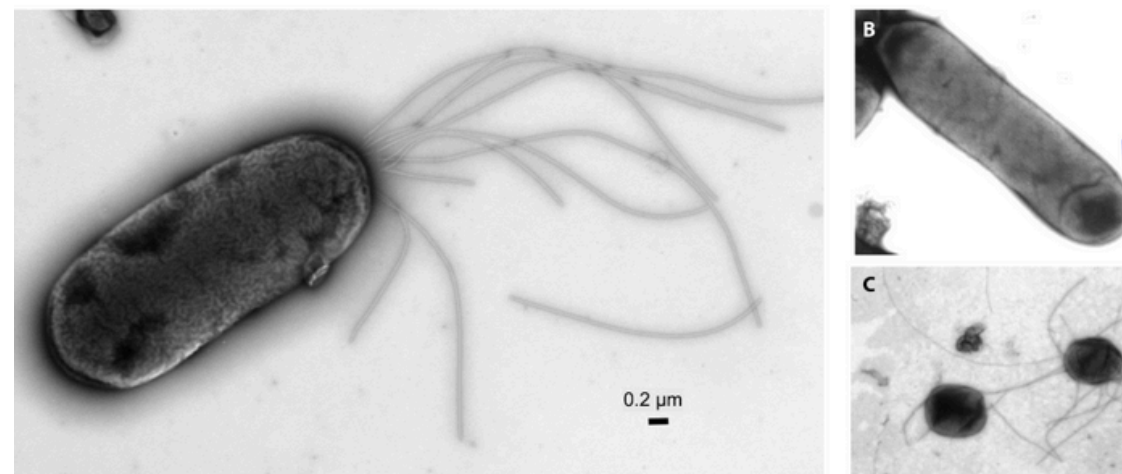


LUARAN RISET

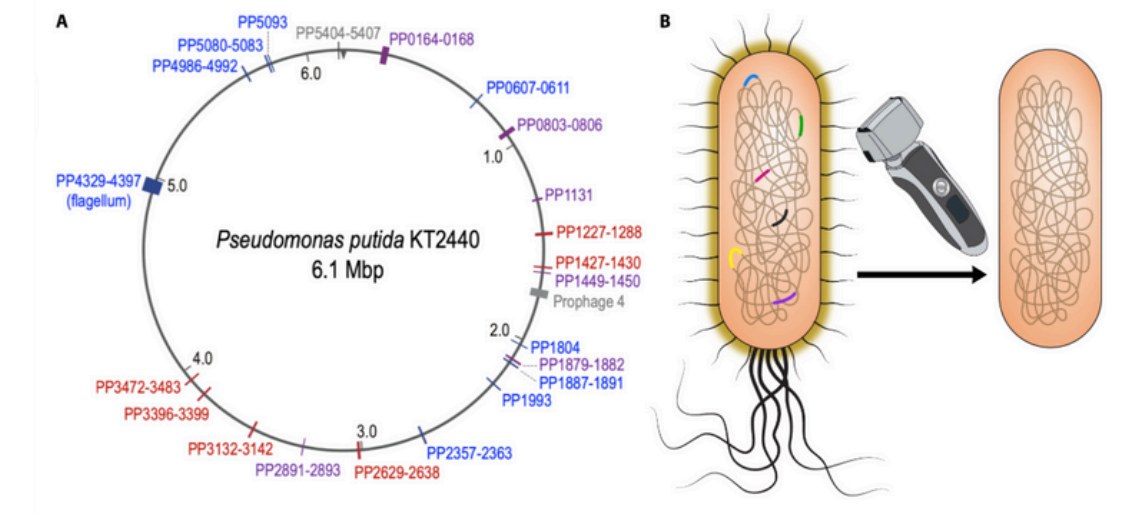
Ditemukannya Plasmid stabil untuk perkembangan *Pseudomonas putida* yang mampu bertahan disuhu panas sekitar 70°C sehingga dapat mempercepat proses penguraian janjang kosong pada lahan sawit. Penguraian janjang kosong yang cepat dapat mengurangi sampah hasil panen sawit dan pengeluaran alokasi tempat untuk sampah janjang kosong.



(Sumber Mouayed *et.al* 2019)



Sumber (de Lorenzo *et.al* 2024)



Sumber (de Lorenzo *et.al* 2024)



DAMPAK RISET (FINANCIAL & NON FINANCIAL)

Dampak secara Finansial :

PT BGA dapat mengembangkan dan memperjual belikan plasmid yang telah dikonstruksi untuk keperluan komersil perusahaan lain sesuai dengan ketentuan BGA. Juga dapat mengembangkan lebih lanjut secara mandiri bakteri thermo tolerant, guna bahan organik dari jangkoa yg lebih mudah terurai lebih cepat dan efisien di seluruh lahan BGA.





DAMPAK RISET (FINANCIAL & NON FINANCIAL)

Dampak secara Non Finansial :

PT BGA mampu mempunyai kandidat plasmid untuk keperluan Genome editing bakteri Thermo tolerant *Pseudomonas putida* yang dapat didaftarkan sebagai hak kekayaan intelektual (HKI) oleh BGA dan UNEJ secara bersama.





DAFTAR PUSTAKA

[1]de Lorenzo, V., Pérez-Pantoja, D., & Nikel, P. I. (2024). *Pseudomonas putida* KT2440: the long journey of a soil-dweller to become a synthetic biology chassis. *Journal of bacteriology*, 206(7), e00136-24.

[2]Grether, J., Dittmann, H., Willems, L., Schmiegelt, T., Benatto Perino, EH, Hubel, P., ... & Hausmann, R. (2025). Pemanfaatan bioproses auto-induksi mikroaerobik menggunakan contoh biosintesis rhamnolipid dalam *Pseudomonas putida* KT2440. *Jurnal Rekayasa Biologi* , 19 (1), 8.

[3]Zorea, A., Pellow, D., Levin, L., Pilosof, S., Friedman, J., Shamir, R., & Mizrahi, I. (2024). Plasmid dalam usus manusia menunjukkan penyebaran dan rekombinasi netral yang dikalahkan oleh penyakit inflamasi. *Nature Communications* , 15 (1), 3147.

[4]Mouayed, H., Wardy, GA, & Sedeeq, ASS (2019). Isolasi dan identifikasi *Pseudomonas putida* dari tanah akar tanaman dan menentukan kemampuan untuk menghasilkan enzim hidrolase. *Jurnal Sains Irak* , 228-233.

[5]Chen, S., Larsson, M., Robinson, R. C., & Chen, S. L. (2017). Direct and convenient measurement of plasmid stability in lab and clinical isolates of *E. coli*. *Scientific reports*, 7(1), 4788.





Terimakasih



Open Innovation BGA Tahun 2025

