

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada jaman yang semakin maju ini, masyarakat *modern* semakin peka terhadap ancaman penyakit yang melanda dan peduli terhadap kesehatan mereka serta pola makan yang menentukan kualitas dari kehidupan mereka. Salah satu solusi untuk memperbaiki kesehatan secara rutin tanpa mengonsumsi suplemen dan obat-obatan secara berlebih yaitu adalah dengan mengonsumsi produk pangan fungsional. Pangan fungsional merupakan produk pangan yang mengandung komponen aktif dan dapat memberikan manfaat yang baik bagi kesehatan. Selain itu, pangan fungsional menjadi salah satu penemuan yang selalu didapati kebaruan karena semakin hari, permintaan konsumen yang beragam dan selektif menjadi persaingan bagi para produsen pangan fungsional, terutama dalam pembuatan pangan fungsional tersebut, produsen mulai memakai bahan-bahan utama yang didapatkan dari tanaman dan buah-buahan lokal. Inovasi untuk mengembangkan sebuah produk menggunakan sumber alami lokal, salah satunya yaitu adalah memberdayakan tanaman-tanaman disekitar dan mencari tahu manfaat apa yang dapat diolah menjadi suatu penemuan baru contohnya seperti Bambu Ampel.

Bagian tunas dari bambu ampel yaitu rebungnya dapat diolah menjadi olahan pangan berupa acar, isian dari makanan tradisional atau sebagai lauk yang biasa dikonsumsi sehari-hari. Khususnya pada olahan acar, dari proses fermentasi tersebut didapati kemungkinan organisme yang dikandung oleh acar rebung memiliki manfaat yang baik bagi kesehatan dan juga berpotensi menjadi pengganti suplemen yang didasari oleh bahan yang alami. Organisme yang didapatkan pada isolat acar rebung kemudian diidentifikasi melalui dasar ilmu DNA filogenetika yang diaplikasikan untuk mengetahui hubungan antara organisme dengan spesies lain yang memiliki kemiripan dan mengestimasi perubahan yang terjadi dari satu asal usul sampai pada turunannya (Li *et al.*, 1999).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang banyak berperan dalam proses fermentasi dalam makanan dan minuman. Produk pangan fermentasi memiliki nilai gizi lebih baik dibandingkan bahan asalnya karena mikroorganisme yang berada pada produk

fermentasi yang memecahkan komponen kompleks menjadi lebih sederhana agar dapat dicerna lebih mudah oleh tubuh kita. Salah satu contoh bakteri asam laktat yang sering digunakan untuk proses fermentasi bahan pangan dan minuman adalah genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus* adalah bakteri gram positif, katalase negatif yang memproduksi asam laktat sebagai produk terakhir dari fermentasi karbohidrat (Claesson, 2008). *Lactobacillus spp.* banyak ditemukan pada produk pangan seperti susu, acar sayuran, wine, buah-buahan, air dan didalam saluran pencernaan makhluk hidup. Bakteri asam laktat *Lactobacillus spp.* juga memiliki turunan bervariasi yang masing-masing mengandung asam amino, vitamin dan asam lemak yang dapat memberi nilai gizi pada tubuh manusia (Hammes, 2009). Maka dari itu, bakteri asam laktat *Lactobacillus* dapat diteliti mulai dari asal usul serta turunannya pada sebuah bahan pangan untuk mengenal lebih dalam mengenai nilai gizi yang dikontribusikan pada masing-masing turunan bakteri asam laktat tersebut.

Untuk mengetahui sejarah evolusi sejarah suatu organisme, dibutuhkan filogeni yang menjadi dasar ilmu sistematika dalam evolusi biologis tersebut (Mount, 2001). Analisis filogenetika pertama-tama dapat dilakukan dengan metode analisis 16S rRNA yang menganalisis sekuen asam amino dan protein secara rinci untuk mengetahui perbedaan karakteristik antara satu organisme dengan yang lain dan juga untuk mengidentifikasi spesies baru yang sedang diuji dan setelah sekuens diketahui, dapat dilanjutkan dengan identifikasi nama spesies dengan peluang tertinggi dan gen FASTA didapatkan untuk lanjutan pembuatan pohon filogenetik dari acar rebung bambu "Ampel". Oleh karena itu, penelitian lanjutan ini dilakukan untuk mengidentifikasi keragaman bakteri asam laktat yang terdapat pada hasil fermentasi acar rebung serta fungsi yang diberikan pada kesehatan manusia.

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. DNA Filogenetik

DNA filogenetik merupakan ilmu yang mempelajari genetika antar diferensiasi dan variasi, jarak genetik dapat dihitung pula dari basa polimorfik suatu lokus gen masing-masing populasi berdasarkan urutan DNA (Cavalli-Sforza, 2001). Analisa dasar pada

DNA filogenetika meliputi analisa secara sistematis dengan mencari sejarah evolusi dan hubungan evolusi diantara keturunan nenek moyangnya berdasarkan kemiripan pada karakter sebagai dasar perbandingan sebab ada kemungkinan bahwa sebuah organisme berasal dari nenek moyang yang sama. Oleh karena itu, proses evolusi melibatkan proses rekombinan dan mutasi genetik dalam sebuah organisme untuk membentuk spesies yang baru. Riwayat evolusi dapat diketahui melalui perubahan karakteristik sebuah organisme dan karakteristik yang sama merupakan dasar untuk menganalisis suatu hubungan dengan yang lain (Brinkman & Leipe, 2011).

Pembuatan pohon filogenetika dapat dilakukan dengan analisis keluarga sekuens asam amino atau nukleotida untuk mengetahui proses evolusi dan hubungan evolusi diantara sekuens yang digambarkan dengan penempatan sekuens sebagai cabang luar dari sebuah pohon dan cabang bagian dalam merupakan tingkat dimana sekuens yang berbeda saling berhubungan dalam cabang umum (Mount, 2001). Untuk membuat pohon filogenetika, terdapat 2 kategori yang digunakan sebagai dasar untuk menghasilkannya. Kategori pertama meliputi pemeriksaan semua atau sejumlah besar dan memilih satu yang terbaik dengan kriteria-kriteria tertentu dan metode yang digunakan dalam kategori ini adalah *Maximum Parsimony*, *Fitch Margoliash* dan *Maximum likelihood*. Kategori yang kedua yaitu mengkonfirmasi hubungan antar topologi lokal dari pohon dan dilakukan dengan menggunakan metode *Neighbor-joining* dan beberapa metode *Distance* lainnya (Saitou & Imanishi, 1989).

Filogenetika dapat digunakan untuk mengetahui perubahan yang terjadi dalam evolusi organisme berbeda dan sekuens yang memiliki kedekatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang yang bertetangga pada pohon filogenetika. Pohon filogenetika memiliki 2 tipe pohon yaitu adalah *rooted tree* dan *unrooted tree*. *Rooted tree* menggambarkan keberadaan asal usul serta laju evolusi yang terjadi pada suatu mikroorganisme. Sedangkan, *unrooted tree* hanya menggambarkan hubungan kekerabatan antar mikroorganisme tanpa memaparkan lokasi asal usul dari suatu mikroorganisme (Dharmayanti, 2011). Ketika keluarga gen ditemukan dalam organisme atau kelompok organisme, hubungan antara gen dapat memberikan prediksi kemungkinan yang satu mempunyai fungsi ekuivalen (McDonald & Kreitman, 1991).

1.2.2. Teknik Analisa Sekuensing Gen 16S rRNA

Isolasi dari kultur murni dengan analisis karakteristik biokimia dan fisiologis dapat dilakukan dengan aplikasi pendekatan melalui analisis gen sekuensing 16S rRNA yang dapat mengidentifikasi keragaman bakteri karena pada semua organisme hidup, terdapat gen tersebut yang terdiri atas sekuen gen yang konservatif dan berguna untuk identifikasi pohon filogenetik yang lebih akurat, detail dan diskriminatif.

Gen 16S rRNA mempunyai ukuran 1550 pasang basa dan 500 basa di ujungnya yang disebut dengan *hypervariable region*. *Hypervariable region* adalah bagian yang menentukan perbedaan antar organisme sehingga gen pengkode RNA ribosomal bersifat konservatif, sehingga kemiripan dan hubungan kekerabatan tertentu dapat disejajarkan dengan mudah agar perbedaan sebuah mikroorganisme dapat ditentukan dengan yang lainnya. Metode 16S rRNA merupakan metode berbasis molekuler dengan tingkat spesifitas dan sensitivitas yang sangat tinggi (Rinanda, 2011). Oleh karena itu, teknik 16S rRNA sering digunakan pada metode mikrobiologi konvensional karena waktu yang dibutuhkan untuk sekuensing sangat singkat pada saat tahapan PCR. Primer yang digunakan dalam PCR adalah primer 16S rRNA yang memiliki sifat universal yaitu sekitar 1500 pb, sehingga dapat mengamplifikasi seluruh wilayah bakteri (Clarridge, 2004). Analisis sekuensing gen 16S rRNA sering digunakan untuk mengidentifikasi sampel klinis karena tingkat spesifitas dan sensitivitas yang tinggi, contohnya seperti mengidentifikasi bakteri tertentu yang tidak dapat diidentifikasi secara fenotipik dan organisme yang sulit untuk dikulturkan kembali karena adanya resistensi terhadap antibiotik tertentu (Rinanda, 2011).

1.2.3. Program Identifikasi Isolat dan DNA Filogenetik

GenBank dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) merupakan program *website* yang digunakan untuk mengidentifikasi nama spesies isolat setelah didapatkan dari hasil sekuensing 16S rRNA acar rebung bambu “Ampel”. Setelah didapatkan identifikasi nama spesies isolat acar rebung bambu “Ampel”, gen FASTA dari *website* GenBank disalin dan disejajarkan dengan *software* BioEdit untuk mensejajarkan sekuens gen secara biologis. Lalu akan dilanjutkan dengan pembuatan

pohon DNA filogenetik dari isolat acar rebung bambu “Ampel” menggunakan *software* MEGA X yang akan menguji kemiripan, evolusi dan perbandingan diantara organisme pembanding lainnya.

GenBank dari NCBI yang disusun atas urutan nukleotida secara publik dan berisi sekitar 260.000 nama organisme yang diperoleh dari pengajuan dari laboratorium individu dan kiriman dari proyek sekuensing *batch* skala besar. *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL) dan Jepang yaitu adalah *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ) bekerja sama untuk mempertahankan kelayakan informasi yang tertera pada situs NCBI karena setiap bulannya, GenBank menambahkan data terbaru mengenai suatu mikroorganisme yang diajukan oleh laboratorium pribadi maupun umum. Setelah didapatkan sekuens pembanding dari mikroorganisme lainnya, akan dilakukan identifikasi DNA filogenetik menggunakan *software* MEGA X. *Software* MEGA X yang berisi data hasil penjelajah untuk representasi visual, menggambarkan pohon filogenetik dan perkiraan jarak evolusi sebuah organisme yang telah diteliti (Haryadi, 2011).

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian untuk pembuatan pohon filogenetika dari isolat acar rebung bambu “Ampel” LLA18 dan LLB3, aplikasi filogenetika terhadap industri pangan dan fungsi kesehatan keragaman bakteri asam laktat yang terdapat didalam acar rebung bambu “Ampel”.