

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan analisa DNA filogenetik dari hasil gen sekuensing 16S rRNA isolat acar rebung bambu “Ampel” oleh Lindayani & Hartayanie (2018). Hasil sekuens 16S rRNA isolat acar rebung bambu “Ampel” diidentifikasi dan sekuens dianalisa untuk pembuatan pohon filogenetik yang akan menunjukkan identitas, kekerabatan antar organisme pembanding lainnya.

4.1. Identifikasi Bakteria Asam Laktat Isolat Acar Rebung Bambu “Ampel” LLA18 dan LLB3

Teknik analisa sekuensing 16S rRNA merupakan teknik analisa berbasis molekuler dengan spesifitas dan sensitivitas yang tinggi sehingga banyak digunakan untuk menganalisa mikroorganisme yang susah dibiakan. Bagian primer 16S rRNA yang digunakan untuk penelitian ini adalah primer 27F dan 1492R yang merupakan primer protokol standard yang digunakan untuk PCR karena dapat menghasilkan produk amplifikasi 16S rRNA dengan sempurna (Senthilraj, 2016).

Sekuens gen 16S rRNA isolat acar rebung bambu disalin untuk identifikasi menggunakan situs GenBank dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) yang mencakup 260.000 macam sekuens organisme untuk informasi guna penelitian dan setiap harinya diperbarui oleh pusat-pusat penelitian terkemuka di dunia seperti *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL) dan *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ) yang bekerja sama untuk mempertahankan kelayakan informasi yang tertera pada situs NCBI (Haryadi *et al.*, 2011).

Hasil identifikasi bakteri asam laktat dengan peluang tertinggi pada isolat acar rebung bambu “Ampel” LLA18 adalah *Lactobacillus plantarum* dengan persentase 91.96%. Bakteri asam laktat pembanding yang diikuti dengan *Lactobacillus modestisalitolersans* (91.72%), *Lactobacillus paraplantarum* (91.71%) *Lactobacillus saniviri* (91.63%) dan *Lactobacillus suebicus* (91.38%) yang digunakan sebagai bakteri asam laktat pembanding untuk diuji kekerabatan saat pembuatan pohon filogenetika. Sedangkan pada hasil identifikasi bakteri asam laktat yang terdapat pada isolat acar

rebung bambu “Ampel” LLB3, peluang tertinggi adalah *Lactobacillus parabuchneri* (94.39%), kemudian diikuti dengan *Lactobacillus buchneri*(94.19%), *Lactobacillus otakiensis* (94.19 %), *Lactobacillus sunkii* (94.29%) dan *Lactobacillus kefir* (94.09%) yang digunakan sebagai bakteri asam laktat pembanding untuk diuji kekerabatan saat pembuatan pohon filogenetika.

4.2. Filogenetika Isolat Acar Rebung Bambu “Ampel” LLA18 dan LLB3

Setelah melakukan identifikasi terhadap bakteri asam laktat yang terkandung pada isolat acar rebung bambu “Ampel”, gen FASTA bakteri asam laktat dengan peluang tertinggi serta pembanding lainnya disalin pada *Notepad* dan disejajarkan menggunakan perangkat lunak BioEdit yang berfungsi untuk mensejajarkan sekuens gen agar bisa dilanjutkan dengan pembuatan pohon filogenetik. Setelah disejajarkan, sekuens kemudian dibuka lagi dengan *software* MEGA X untuk menganalisa kekerabatan dan hubungan antar organisme. Pembuatan pohon filogenetik menggunakan metode *neighbour-joining* karena rata-rata evolusi dari pemisahan *lineage* (Saitou & Nei, 1987). *Neighbor-joining* merupakan metode yang terbaik untuk memberikan estimasi yang cukup akurat dengan menunjukkan panjang cabang yang menggambarkan jarak yang nyata diantara sekuens (Dharmayanti, 2011).

Berdasarkan hasil penggambaran pohon filogenetika oleh MEGA X, dapat dilihat pada Gambar 13. Bahwa pohon filogenetika hasil dari analisa kekerabatan yang digambarkan oleh MEGA-X menunjukkan bahwa pohon yang dihasilkan adalah *unrooted tree* yaitu, pohon filogenetika yang digunakan untuk membandingkan hubungan dan hubungan evolusi, namun tidak memberikan informasi tentang nenek moyang asal sebuah mikroorganisme yang dibandingkan (Dharmayanti, 2011). *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus paraplantarum* memiliki kekerabatan yang sungguh dekat karena kedua pasangan ini berada di satu cabang dengan tingkat kepercayaan 96%. Sedangkan dicabang sebelahnya, *Lactobacillus saniviri* dan *Lactobacillus suebicus* memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan tingkat kepercayaan 100% atau dapat disimpulkan bahwa kedua organisme tersebut ekuivalen. *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus paraplantarum* dapat dikatakan tidak berubungan dekat dengan pasangan *Lactobacillus*

saniviri dan *Lactobacillus suebicus* karena pasangan tersebut berada di cabang yang berbeda dari awal mula terjadinya perpecahan cabang.

Sedangkan pada isolat LLB3, dapat dilihat pada Gambar 14. pohon filogenetika hasil dari analisa kekerabatan yang digambarkan oleh MEGA-X menunjukkan bahwa pohon yang dihasilkan adalah *unrooted tree*. Berdasarkan pohon filogenetik, dapat dilihat bahwa *Lactobacillus parabuchneri* dan *Lactobacillus buchneri* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan tingkat kepercayaan 60%. Di cabang yang berbeda, terdapat *Lactobacillus otakiensis* dan *Lactobacillus sunkii* dengan nilai tingkat kepercayaan 42% yang memiliki hubungan kekerabatan yang tidak terlalu dekat. Sedangkan, *Lactobacillus kefir* merupakan organisme yang tidak memiliki hubungan kekerabatan secara dekat atau kemiripan karakteristik karena *Lactobacillus kefir* menempati posisi cabang terjauh dari keempat organisme lainnya karena terjadi perpecahan ranting pohon dari awal mula yang menandakan adanya perbandingan jelas bahwa organisme dengan karakteristik yang berbeda.

4.3. Fungsi Bakteri Asam Laktat yang Terkandung pada Isolat Acar Rebung Bambu (*Bambusa vulgaris*) “Ampel” LLA18 dan LLB3

Berdasarkan hasil identifikasi yang didapatkan dari GenBank, diketahui bahwa isolat acar rebung bambu “ampel” mengandung keragaman bakteri asam laktat dan salah satu peluang tertinggi pada isolat acar rebung bambu “Ampel” LLA18 adalah *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus paraplantarum* dan LLB3 adalah *Lactobacillus parabuchneri* dan *Lactobacillus buchneri*. Berdasarkan dari hubungan kekerabatan yang dipaparkan oleh hasil pohon filogenetika LLA18 dan LLB3, dapat dikatakan bahwa kedua organisme yang paling dekat hubungannya memiliki karakteristik yang hampir sama serta fungsi yang dikontribusikan (Mc Donald & Kreitman, 1991).

Lactobacillus plantarum merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang tumbuh optimal pada suhu 10°C hingga 40°C, dapat beradaptasi pada kondisi yang asam dan secara banyak ditemukan pada produk fermentasi sayuran, produk susu, keju dan mentega (Landete *et al.*, 2010). Fungsi kesehatan yang dikontribusikan oleh

Lactobacillus plantarum cukup banyak dikenal, contohnya menyembuhkan iritasi saluran pencernaan menurut penelitian yang dilakukan oleh Olek *et al.* pada tahun 2017. *Lactobacillus plantarum* dapat meringankan radang yang terjadi pada saluran pencernaan dan juga meningkatkan imunitas saluran pencernaan dan meredakan gejala diarrhea pada anak-anak. Berdasarkan penelitian Bergillos-Meca *et al.* pada tahun 2015 *Lactobacillus plantarum* pada susu kambing fermentasi yang dikonsumsi dapat membantu tubuh untuk mencerna mineral-mineral seperti kalsium, phosphorus, magnesium serta zinc lebih baik. Selain itu, *Lactobacillus plantarum* yang terkandung dalam acar sayuran fermentasi dikonsumsi sebagai probiotik yang dapat mempertahankan kesehatan kulit dengan memperbaiki sel-sel kulit menjadi lebih baik, melembapkan kulit dan dapat mengencangkan kembali menurut penelitian yang dilakukan oleh Kim *et al* pada tahun 2015. Oleh karena itu, dapat dikatakan *Lactobacillus plantarum* mempunyai banyak khasiat positif terhadap kesehatan manusia serta dapat menyembuhkan penyakit dan menjadi salah satu pilihan bakteri asam laktat dengan fungsi probiotik yang dapat dikonsumsi secara umum karena bakteri asam laktat tersebut cukup banyak dan umum dipasar.

Lactobacillus parabuchneri merupakan bakteri gram positive tunggal yang berbentuk batang, tumbuh optimal pada suhu 28°C (Hammes, 2009). Strain *Lactobacillus parabuchneri* yang diidentifikasi pada penelitian ini merupakan strain LMG 11457 yang berasal biasa didapati pada air liur manusia, sehingga kemungkinan besar bahwa identitas isolat LLB3 adalah *Lactobacillus buchneri* yang berasal dari fermentasi sayuran yang juga digunakan untuk bahan penelitian ini. Oleh karena itu, *Lactobacillus buchneri* merupakan bakteri asam laktat yang kaya akan fungsi kesehatannya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Zeng *et al.* (2009), yaitu mengisolasi *Lactobacillus buchneri* dari fermentasi sayur kimchi menunjukkan bahwa *Lactobacillus buchneri* memiliki kemampuan untuk menurunkan tingkat kolesterol pada tubuh manusia, kemudian aktivitas antimikrob yang cukup tinggi dan juga dapat menghilangkan kandungan kolesterol pada sel tubuh manusia yang sedang bertumbuh. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian pare fermentasi (Hartajanie *et al.*, 2020) dan susu fermentasi isolat LLB3 oleh Wulansari (2018), bahwa bakteri asam laktat dapat menurunkan kolesterol dan gula darah secara signifikan dikarenakan fungsi probiotik pada bakteri

asam laktat yang mempengaruhi metabolisme kolesterol dengan melakukan dekonjugasi asam empedu yang memecah kolesterol untuk mengembalikan kondisi empedu pada proses homeostasis. Kemudian bakteri asam laktat juga dapat membebaskan asam ferulat pada usus yang dapat mempengaruhi mekanisme penurunan kadar gula darah dalam tubuh.

4.4. Kontribusi Filogenetika terhadap Industri Pangan

Filogenetika yang merupakan ilmu dasar kekerabatan, kemiripan dan evolusi suatu organisme memiliki peran yang penting dalam penanganan keamanan pangan serta dalam menghasilkan bahan pangan yang lebih berkualitas dengan menelusuri kekerabatan dan evolusi pada suatu organisme. Patogen berbahaya dapat diperkirakan dengan idenifikasi organisme yang memiliki hubungan kekerabatan yang dapat menyebabkan *foodborne diseases* atau kontaminasi pangan agar dapat mencegah *outbreak* yang dapat terjadi sewaktu-waktu dan industri pangan dapat mempersiapkan langkah untuk mencegah permasalahan tersebut (Timme *et al.*, 2019). Selain itu, dengan mengidentifikasi ciri-ciri bahan pangan serta peluang kekerabatan dari bahan tertentu yang digunakan dapat mengetahui kelebihan dan kekurangan suatu bahan pangan agar dapat memproduksi bahan pangan yang unggul (Barus *et al.*, 2017).