



**ANALISIS STRUKTUR GENETIK DAN FILOGENETIK
BAKTERI LACTOBACILLUS PLANTARUM YANG DIISOLASI
DARI PRODUK PANGAN**

*Analysis of Genetic Structure and Phylogenetic of Lactobacillus
plantarum Bacteria Isolated from Food Products*

**Ine Karni^{1*}, Indah Nalurita², Kartika Gemma Pravitri², Muhammad Nizhar
Naufali², Ni Wayan Putu Meikapasa²**

¹Program Studi Peternakan, Universitas Mataram

²Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Bumigora

e-mail: inekarni19@gmail.com

DOI: 10.33830/fsj.v4i1.6488.2024

Diterima: 4 Oktober 2023, Diperbaiki: 6 Mei 2024, Disetujui: 21 Juni 2024

ABSTRACT

Lactobacillus plantarum (L. plantarum) is a type of Lactic Acid Bacteria (LAB) that can convert glucose into lactic acid. L. plantarum can mostly be found in milk, meat, fermented vegetables, and the human digestive tract. The L. plantarum bacteria has several strains, each of which has a good function in food fermentation and health. To understand the historical development of an organism's evolution, it is necessary to use phylogeny as the basis for systematic science in biological evolution. The aim of this research was to determine the genetic structure and level of relationship between L. plantarum bacteria isolated from food products. The data used in this research is secondary data taken from GenBank in the form of nucleotide sequences from the bacterium L. plantarum which were then analyzed using clustal W in the Bioedit application, then genetic and phylogenetic structure analysis was carried out using the MEGA 7 application. The results showed that the probability of substitution was the highest. detected in base G, followed by bases A, T/U, and C. The L. plantarum strain that has the highest level of relationship is the strain with GenBank codes AY424355.1 and AJ640082.1 with a bootsrep value of 99. The resulting phylogenetic tree topology is monophyletic, which means that all members in the group come from a common ancestor who passed on genetic, morphological and biochemical characteristics to his descendants.

Keywords : *phylogenetics, Lactobacillus plantarum, genetic structure.*

ABSTRAK

Lactobacillus plantarum (*L. plantarum*) adalah salah satu jenis bakteri asam laktat (BAL) yang dapat mengubah glukosa menjadi asam laktat. *L. plantarum* sebagian besar dapat ditemukan di susu, daging, sayuran fermentasi, dan saluran pencernaan manusia. Bakteri *L. plantarum* memiliki beberapa strain, yang dimana masing-masing strain memiliki fungsi yang baik dalam fermentasi pangan dan kesehatan. Untuk memahami perkembangan sejarah evolusi suatu organisme, diperlukan penggunaan filogeni sebagai dasar ilmu sistematika dalam evolusi biologis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui struktur genetik dan tingkat kekerabatan bakteri *L. plantarum* yang diisolasi dari produk pangan. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekunder yang diambil pada GenBank berupa urutan nukleotida dari bakteri *L. plantarum* yang kemudian di alignment menggunakan clustal W pada aplikasi Bioedit, kemudian dilakukan analisis struktur genetik dan filogenetik menggunakan aplikasi MEGA 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa probabilitas substitusi tertinggi terdeteksi pada basa G, diikuti oleh basa A, T/U, dan C. Strain *L. plantarum* yang memiliki tingkat kekerabatan paling tinggi yaitu strain dengan kode GenBank AY424355.1 dan AJ640082.1 dengan nilai bootsrep adalah 99. Topologi pohon filogenetik yang dihasilkan adalah monofiletik, yang berarti bahwa semua anggota dalam kelompok tersebut berasal dari satu leluhur yang sama yang mewariskan sifat genetik, morfologi, dan biokimia kepada keturunannya.

Kata Kunci : filogenetik, *Lactobacillus plantarum*, struktur genetik.

PENDAHULUAN

Lactobacilli adalah kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki peran signifikan dalam bidang mikrobiologi makanan dan nutrisi manusia. Bakteri tersebut memiliki peran utama dalam menghasilkan dan menjaga kualitas makanan dan pakan, termasuk jenis-jenis tertentu yang bermanfaat sebagai probiotik (Blaiotta *et al.*, 2008). BAL merupakan bakteri yang dapat digunakan sebagai pengawet makanan karena selama proses fermentasi, BAL dapat menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama yang bisa secara langsung menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan menurunkan nilai pH. Selain itu, BAL juga menghasilkan metabolit sekunder seperti hidrogen peroksida (H₂O₂), asam lemak hidroksil, diasetil, reutrin, dan senyawa protein seperti bakteriosin, tripsin, dan peptida yang juga berperan dalam menghambat pertumbuhan senyawa patogen (Dalié *et al.*, 2010).

L. plantarum adalah salah satu jenis BAL yang dapat mengubah glukosa menjadi asam laktat. *L. plantarum* termasuk ke golongan filum Firmicutes, ordo Lactobacillales, family Lactobacillaceae, dan genus Lactobacillus. *L. plantarum* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang berukuran 0,9-1,2 µm hingga 1,0-8,0 µm, dan berbentuk tunggal maupun berpasangan dalam rantai yang pendek (Hidayatulloh *et al.*, 2019). *L. plantarum* sebagian besar dapat ditemukan pada susu,

daging, sayuran fermentasi, dan saluran pencernaan manusia. *L. plantarum* dapat hidup dalam kondisi anaerobik fakultatif. Surono (2004) menyatakan bahwa *L. plantarum* merupakan BAL yang mampu tumbuh pada produk non susu. Peran *L. plantarum* dalam proses fermentasi digunakan untuk memperbaiki nutrisi dan fungsional bahan seperti biji-bijian (Junaidi & Wikandari, 2020).

Penerapan bakteri *L. plantarum* dalam produksi pangan telah banyak dilakukan seperti *L. plantarum* sebagai tambahan pada keju memiliki efek positif pada degradasi dari sitrat menjadi aspartat (Asp), diasetil, dan acetoin (Kieronczyk *et al.*, 2004), dan fermentasi asinan kubis, zaitun hijau dan mentimun (Vaughn *et al.*, 1953). Bakteri ini juga digunakan untuk menekan bakteri patogen dan pembusuk pada daging yang didinginkan (Todorov *et al.*, 2007).

Bakteri *L. plantarum* memiliki beberapa strain, yang dimana masing-masing strain memiliki fungsi yang baik dalam fermentasi pangan dan kesehatan, seperti *L. plantarum strain* WCFS1 yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan berbagai senyawa antimikroba dan memiliki sifat probiotik yang berpotensi menguntungkan bagi kesehatan manusia (van den Nieuwboer *et al.*, 2016). Mantzourani *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa *L. plantarum strain* ATCC 14917 memiliki kemampuan dalam memfermentasi berbagai karbohidrat kompleks dan menyediakan hasil fermentasi yang bermanfaat dalam industri makanan, seperti produksi asam laktat dan senyawa aroma yang positif. Selain itu, *L. plantarum* juga memiliki *strain* 299V, dimana *strain* ini merupakan *strain* probiotik yang umum digunakan dalam produk probiotik komersial. Strain ini telah diketahui memiliki manfaat untuk kesehatan pencernaan dan sistem kekebalan tubuh (Kaźmierczak-Siedlecka *et al.*, 2020).

Bakteri *L. plantarum* diketahui memiliki bermacam-macam *strain* dan bakteri ini juga dapat ditemukan di berbagai bahan pangan. Namun, banyak *strain* bakteri ini belum diketahui secara pasti tingkat kekerabatannya. Untuk mengetahui tingkat kekerabatan bakteri tersebut, maka perlu dipahami perkembangan sejarah evolusi suatu organisme untuk penggunaan filogeni sebagai dasar ilmu sistematika dalam evolusi biologis (Mahfut, 2020). Analisis filogenetika awalnya dapat dilakukan melalui pendekatan analisis 16S rRNA yang memeriksa secara mendetail urutan asam amino dan protein. Hal ini bertujuan untuk mengidentifikasi perbedaan karakteristik

antara organisme yang berbeda serta potensi penemuan spesies baru yang sedang diuji. Setelah sekuen-sekuen tersebut teridentifikasi, langkah selanjutnya adalah mengidentifikasi spesies dengan probabilitas tertinggi dan menghasilkan data gen FASTA yang dapat digunakan untuk membuat pohon filogenetik untuk bakteri *L. plantarum*.

Identifikasi berdasarkan data morfologi atau data molekuler seperti DNA atau protein adalah proses yang memakan waktu lama (Lestari *et al.*, 2018). Sebagai alternatif, tingkat kekerabatan *L. plantarum* dapat diketahui menggunakan data sekunder. Menurut Anafarida dan Badruzsaufari (2020), data sekunder adalah data yang diperoleh melalui sumber seperti internet, jurnal, dan buku. Dalam hal ini, data sekunder yang digunakan adalah susunan DNA yang diambil dari website *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Melalui analisa data sekunder ini, hasil identifikasi akan lebih akurat dan efisien. Selain itu, kedalaman dan keluasan analisis filogenetik dapat ditingkatkan serta dapat mengeksplorasi hubungan filogenetik di antara organisme dengan lebih luas.

Analisis struktur genetik dan kekerabatan digunakan untuk mengetahui substitusi komposisi nukleotida dan hubungan antara spesies – spesies. Hubungan evolusi antara spesies-spesies tersebut dapat direpresentasikan melalui analisis filogenetik dengan menggunakan data molekuler berupa DNA atau protein (Dharmayanti, 2011). Berdasarkan kajian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi struktur genetik dan tingkat kekerabatan bakteri *L. plantarum* yang ada dalam bahan pangan dan produk pangan.

METODE

Penelitian ini menggunakan data sekunder berupa sekuens nukleotida bakteri *L. Plantarum* yang diperoleh dari GenBank melalui website NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Dalam penelitian ini, untuk mengetahui tingkat kekerabatan bakteri *L. plantarum* terdapat 26 data nuklotida *L. plantarum* yang diisolasi dari dari pangan dan bahan pangan yang terdapat pada 12 negara, yaitu Italia, Paris, Taiwan, Nigeria, Jepang, India, Cina, Turki, Korea, Thailand, dan Brazil. Bakteri *L. plantarum* yang digunakan dalam penelitian adalah yang diisolasi dari beberapa bahan pangan yaitu keju, *vegetable matrices*, *plant*, *fermented cummingcordia*, *Sourdough*, *Cassava*, *Sour cassava*, *Olives brine*, *wine*, *Fermentation*

quality of paddy rice, Fermented bamboo shoot, Uttapam Batter, Fermented mustard, traditional fermented meat, Traditional fermented pickle, Chinese cabbage kimchi, Chhang, local fermented alcoholic, Fermented mussel, Traditionally fermented dairy products, Cocoa fermentation, Idli batter, Spontaneous fermentation process of radish sprouts, dan Cheddar cheese. Data penelitian tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Accession Number Sekuen DNA *Lactobacillus Plantarum*

No	Organisme	Strain	Asal isolat	Kode Genbank	Panjang Nukleutida (bp)
1	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	/DSM 20174	Keju/Italia	AY424355.1	506
2	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	ATCC 14917	Vegetable matrices/ Italia	AJ640082.1	462
3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	CIP 103151	Plant/Paris	FR775965.1	705
4	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	NBRC 15891	fermented cummingcordia	AB374337.1	415
5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	C17	Cheese/ Italia	JN620372.2	941
6	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	1069	Sourdough/ Italia	JN620370.1	978
7	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	38AA	Cassava / Colombia	JN620371.1	997
8	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	MTD2 S	Sourdough /Italia	JN620373.1	1072
9	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i>	DKO22	Sour cassava/ Nigeria	JN620376.1	1056
10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1069	Sourdough /Italia	JN620380.1	510
11	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	P1.5	Olives brine/ Italia	JN620384.1	484

No	Organisme	Strain	Asal isolat	Kode Genbank	Panjang Nukleutida (bp)
12	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	UBS3	Wine/Italia	JN620385.1	504
13	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	TO 1003	Fermentation quality of paddy rice/Jepang	AB713901.1	1489
14	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	E1	Fermented bamboo shoot/India	LC191870.1	740
15	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	SJ9	Uttapam Batter/India	JN573618.1	995
16	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	ZJ5	Fermented mustard/ Cina	KF032707.1	946
17	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	P161	Turkish traditional fermented meat/Turkey	KR010995.1	1335
18	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	NCU11 6	Ttraditional fermented pickle/ China	JQ278711.1	1452
19	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	WiKim 0090	Chinese cabbage kimchi/ Korea	MH635158.1	1542
20	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	LUM:0 9	Chhang, local fermented alcoholic/ India	MT337588.1	1236
21	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	LM12- 1	Fermented mussel/ Thailand	LC547230.1	1384
22	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	IMAU1 1364 (YM49 -10)	Traditionally fermented dairy products/ China	KP764195.1	1387
23	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	BCH46 1	Cocoa fermentation/ Brazil	KM982989.1	1437
24	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	JJ 60	Idli batter/India	JN573602.1	941

No	Organisme	Strain	Asal isolat	Kode Genbank	Panjang Nukleotida (bp)
25	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	LZ23	Spontaneous fermentation process of/China	AB778522.1	1468
26	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>	DPC21 59	Cheddar cheese/Italy	JX898995.1	1052

Aligment Urutan Basa Nukleotida *Lactobacillus. Plantarum*

Data yang diperoleh dari GenBank kemudian dianalisis menggunakan aplikasi perangkat lunak Bioedit 7.7 (Tom Hall), dengan cara menginput seluruh data kemudian dilakukan clustal W yang ada dalam aplikasi Bioedit 7.7 guna menyelaraskan urutan nukleotida dari bakteri *L. plantarum*.

Analisis Substitusi Nukleotida

Analisis substitusi nukleotida dilakukan dengan cara menganalisis nukleotida yang menggunakan metode *Maximum Likelihood Estimate of Substitution Matrix* (ML) yang ada pada aplikasi MEGA 7 (megasoftware.net).

Analisis Filogenetik

Urutan nukleotida yang telah dianalisis menggunakan Bioedit kemudian dianalisis filogenetik tree menggunakan aplikasi perangkat lunak MEGA 7 dengan metode "*Neighbour Joining*," dilakukan sebanyak 1000 kali bootstrap, dan menerapkan metode p-distance.

HASIL PEMBAHASAN

Filogenetika adalah salah satu teknik yang digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antara makhluk hidup. Dalam filogenetika, organisme yang memiliki ciri-ciri serupa dianggap memiliki kedekatan kekerabatan. Kemiripan ini diyakini sebagai hasil dari keturunan dari satu nenek moyang tunggal, yang kemudian membentuk kelompok monofiletik (Astarini *et al.*, 2021). Tingkat kekerabatan suatu organisme juga dipengaruhi oleh struktur genetik yang dimiliki. Analisis struktur genetik mempelajari tentang evolusi bakteri, seperti proses rekombinasi genetik, mutasi, dan seleksi alam. Hal ini dapat membantu dalam memahami asal-usul dan divergensi bakteri, serta mekanisme adaptasi mereka terhadap perubahan lingkungan.

Berdasarkan hasil analisis ML untuk probabilitas substitusi nukleotida terhadap 26 strain bakteri *L. plantarum*, diperoleh frekuensi basa A = 28,41%, T/U = 23,50%, C = 19,42%, dan G = 28,67%. Probabilitas substitusi tertinggi terdeteksi pada basa G, diikuti oleh basa A, T/U, dan C. Menurut Wijana dan Mahardika (2010), semakin tinggi frekuensi nukleotida tersebut, semakin besar kemungkinan terjadinya substitusi (seperti $P_{A-T;A-C;A-G}$), yang lebih tinggi daripada ($P_{T-A;T-C;T-G}$), dan seterusnya. Hasil analisis probabilitas substitusi nukleotida disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Propabilitas substitusi nukleotida bakteri *L. Plantarum* dari berbagai strain dengan analisis *Maximum Likelihood*

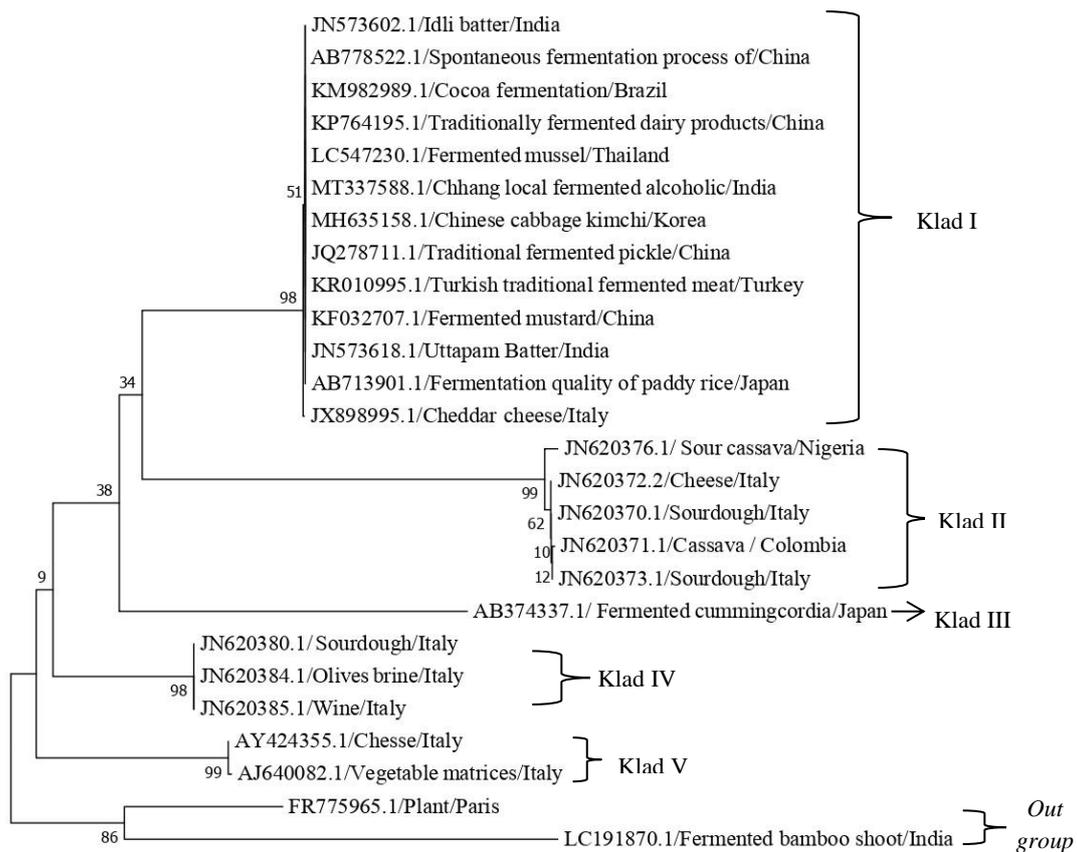
	A	T/U	C	G
A	-	4.58	3.79	13.90
T/U	5.54	-	15.08	5.59
C	5.54	18.25	-	5.59
G	13.77	4.58	3.79	-

Berdasarkan Tabel 2, probabilitas substitusi transisi memiliki nilai lebih besar dibandingkan dengan substitusi transversasi, hal ini biasanya disebabkan karena substitusi transversasi yang terjadi antara nukleotida purin dengan purin, dan antara pirimidin dengan pirimidin, lebih dominan daripada substitusi transversasi yang melibatkan purin dan pirimidin karena perbedaan struktur molekulnya yang lebih besar. Oleh karena itu, probabilitas substitusi transversasi lebih rendah, yang dipengaruhi oleh perbedaan struktur molekul antara nukleotida purin dan pirimidin. Data sekuen yang diunduh dari GenBank menunjukkan adanya hubungan yang kuat, yang dibuktikan oleh nilai koreksi total rasio transisi/transversi (R) sebesar 5,5% (Tamura *et al.*, 2007).

Filogenetik molekuler merupakan elemen esensial dalam penelitian evolusi yang menggunakan pendekatan metode matematis berdasarkan jarak dan karakter (Sohpal *et al.*, 2013). Analisis pohon filogenetik ini dilakukan dengan tujuan presisi dalam menggambarkan hubungan antar organisme serta memperkirakan variasi yang terjadi dari leluhur hingga keturunan (Dharmayanti, 2011). Analisis pohon filogenetik

dilakukan dalam dua tahap dengan memanfaatkan program Clustal W yang digabungkan dengan program Bioedit. Pada tahap awal, program *Clustal W* digunakan untuk mengalignmentasikan sekuen dari semua isolat *L. plantarum* yang telah diambil di GenBank dengan kriteria yang telah ditentukan. Selanjutnya, analisis filogenetik dianalisis menggunakan metode "*Neighbour Joining*," dilakukan sebanyak 1000 kali bootstrap, dan menerapkan metode p-distance menggunakan program Mega 7. Pembentukan pohon filogenetik ini dilakukan dengan menggunakan pendekatan "*Neighbor-joining*," yang termasuk dalam metode jarak, dengan prinsip pengelompokkan taksa berdasarkan nilai jarak evolusioner antara pasangan-pasangan unit taksonomi operasional. Pada proses evolusi dalam pohon filogeni, setiap cabang berkembang pada kecepatan yang berbeda (Pangestika *et al.*, 2015)

Metode *neighbor-joining* menunjukkan kesamaan yang signifikan dengan metode *Fitch* dan *Margoliash*, kecuali dalam hal bagaimana sekuen dipilih untuk dipasangkan, yang ditentukan oleh perbedaan dalam algoritma yang digunakan. Metode *neighbor-joining* menjadi sangat berguna ketika pertimbangan terkait dengan evolusi rata-rata pemisahan garis keturunan berfluktuasi. Saat topologi pohon yang diketahui memiliki panjang cabang yang berubah dengan cara yang mencerminkan tingkat variasi perubahan evolusi, maka metode *neighbor-joining* menjadi pilihan terbaik untuk melakukan prediksi pohon dengan akurasi yang tinggi (Dharmayanti, 2011). Dalam metode *neighbor-joining*, pemilihan sekuen dilakukan dengan mempertimbangkan kemungkinan gabungan sekuen yang akan memberikan perkiraan terbaik untuk panjang cabang yang paling mendekati jarak sebenarnya antara sekuen tersebut.



Gambar 1. Pohon Filogenetik bakteri *L. plantarum* dari berbagai sampel pangan

Topologi pohon filogenetik yang dihasilkan adalah monofiletik, yang berarti bahwa semua anggota dalam kelompok tersebut berasal dari satu leluhur yang sama yang mewariskan sifat genetik, morfologi, dan biokimia kepada semua keturunannya. Ini menunjukkan bahwa anggota dalam kelompok monofiletik memiliki hubungan kekerabatan yang sangat erat satu sama lain (Anafarida & Badruzsaufari, 2020). Kondisi ini konsisten dengan struktur pohon filogenetik yang terbentuk, karena dari 26 sampel, hanya Bakteri *L. plantarum* yang diisolasi dari *plant* yang berasal dari Italia dan *fermented bamboo shoot* dari negara India yang keluar dari cluster analisis filogenetik *L. plantarum*.

Klad dengan metode Neighbor-joining membentuk 5 kelompok *in group* dan 1 *out group*. Kelompok ini terbagi dalam dua klad besar yakni klad I dan klad II serta tiga klad kecil yakni klad III, klad IV dan klad V. Klad I merupakan klad dengan jumlah strain terbanyak yaitu 13 strain yakni sampel dengan kode GenBank JN53602.1, AB778522.1, KM982989.1, KP764195.1, LC547230.1, MT337588.1,

MH635158.1, JQ278711.1, KR010995.1, KF032707.1, JN573618.1, AB713901.1, dan JX898995.1. Sedangkan, klad dengan jumlah strain paling sedikit yaitu sebanyak 2 strain yakni sampel dengan kode GenBank AJ640082.1 dan AY424355.1. Jenis-jenis tersebut disatukan oleh banyaknya urutan sekuens yang mempunyai kemiripan yang sama. Semakin homolog sekuens nukleotida dari suatu gen, maka semakin dekat pula tingkat kekerabatannya. Menurut Fitmawati *et al.* (2013), Panjang cabang yang berbeda mencerminkan tingkat evolusi yang berbeda di antara strain-strain bakteri *L. plantarum* tersebut. Berdasarkan analisis filogenetik tersebut, tingkat kekerabatan dari bakteri *L. plantarum* juga dipengaruhi oleh asal isolat. Terlihat pada gambar 1, bakteri yang diisolasi dari *batter* yang berasal dari India terdapat pada kluster yang sama, yang artinya memiliki tingkat kekerabatan yang dekat. Berbeda dengan sampel yang diisolasi dari *fermented bamboo shoot* memiliki tingkat kekerabatan yang jauh.

Sampel dengan kode GenBank JN620376.1, JN620372.2, JN620370.1, JN620371.1, dan JN620373.1 memiliki tingkat kekerabatan yang dekat terlihat dari hasil analisis filogenetik karena termasuk ke dalam 1 klad yang sama, dalam hal ini masuk ke dalam klad II. Tingkat kekerabatan pada klad ini juga dipengaruhi oleh asal isolat yang digunakan, selain itu juga terlihat dari sumber isolatnya. Tingkat kekerabatan pada klad ini mencapai skor 98. Klad III pada analisis ini merupakan klad terpanjang dibandingkan dengan yang lain. Isolat bakteri *L. plantarum* pada klad ini berasal dari fermentasi *cummingcordia* yang berasal dari Jepang dengan skor kekerabatan 38. Hal ini menggambarkan sejarah evolusi yang lebih panjang bagi spesies ini, dan oleh karena itu dianggap sebagai spesies yang lebih primitif (Juliantari & Sofiyanti, 2017). Panjang cabang yang berbeda dalam pohon tersebut mencerminkan tingkat evolusi yang berbeda-beda dari masing-masing strain (Fitmawati *et al.*, 2013). Garis yang lebih panjang mengindikasikan jarak evolusi yang lebih besar, sementara garis yang lebih pendek menunjukkan kedekatan jarak evolusi antara strain-strain tersebut. Sementara itu, cabang-cabang yang lebih pendek mengindikasikan bahwa strain-strain lain mengalami evolusi yang lebih singkat dengan karakteristik yang lebih maju, sehingga dianggap sebagai keturunan dari leluhurnya. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa *L. plantarum* yang diisolasi dari fermentasi *cummingcordia* yang berasal dari Jepang adalah spesies yang memiliki

sejarah evolusi molekuler yang lebih tua dan berperan sebagai nenek moyang dari strain-strain *L. plantarum* lainnya.

Klad IV terdiri dari 3 strain *L. plantarum* dengan kode GenBank JN620380.1, JN620384.1, dan JN620385.1. Ketiga strain bakteri tersebut merupakan isolat dari negara yang sama yaitu berasal dari negara Italia. Strain tersebut disatukan juga karena banyaknya persamaan karakter sekuens yang dimiliki sehingga mengelompok dalam satu klad. Sedangkan klad V terdiri dari 2 strain dengan kode GenBank AY424355.1 dan AJ640082.1. kedua strain tersebut memiliki tingkat kekerabatan yang tinggi karena memiliki banyak persamaan karakter sekuens dengan nilai *bootstrap* 99. Berdasarkan letak cabang dan nilai *bootstrap*, kekerabatan terdekat dimiliki oleh sampel tersebut. Nilai *bootstrap* dengan rentang 70 – 100 menunjukkan peluang terjadinya perubahan pada klad kecil sedangkan nilai *bootstrap* kurang dari 70 menunjukkan peluang perubahan susunan klad besar (Rosidiani *et al.*, 2013). Besarnya nilai *bootstrap* serta letak garis yang sejajar membuat kedua sampel tersebut berkerabat dekat (Anafarida & Badruzaufari, 2020).

Berdasarkan gambar 1, klad I sampai IV merupakan strain yang memiliki nenek moyang yang sama, dibuktikan karena terdapat pada cabang yang sama. Berbeda halnya dengan sampel yang diisolasi dari *fermented bamboo shoot* yang berasal dari India dengan kode GenBank LC191870 dan isolat yang berasal dari *plant* di Paris, Perancis dengan kode GenBank FR775965 memiliki tingkat kekerabatan yang jauh dengan strain yang lainnya karena memiliki urutan nukleotida yang kurang mirip, dan dibuktikan juga dengan hasil analisis filogenetik bahwa strain tersebut ke dalam kategori *out group*. Kladogram memberi petunjuk bahwa 26 strain bakteri *L. plantarum* berkelompok dalam masing-masing klad berdasarkan kemiripan sekuens nukleotida serta kemiripan pada beberapa karakter morfologi yang digunakan sebagai pendukung. Persamaan serta perbedaan karakter yang dimiliki antar strain tersebut digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatannya (Anafarida & Badruzaufari, 2020).

KESIMPULAN

Analisis hasil analisis *maximum likelihood* 26 strain bakteri *L. plantarum* diperoleh probabilitas substitusi tertinggi terdeteksi pada basa G, diikuti oleh basa A,

T/U, dan C. Sedangkan analisis filogenetik berdasarkan sekuens nukleotida dapat disimpulkan bahwa kladgram yang dihasilkan menggunakan metode *Neighbour Joining* bersifat monofiletik yang terbagi menjadi 5 klad. Klad 1 terdiri dari beberapa sampel dengan kode GenBank JN53602.1, AB778522.1, KM982989.1, KP764195.1, LC547230.1, MT337588.1, MH635158.1, JQ278711.1, KR010995.1, KF032707.1, JN573618.1, AB713901.1, dan JX898995.1. klad II terdiri dari Sampel dengan kode GenBank JN620376.1, JN620372.2, JN620370.1, JN620371.1, dan JN620373.1. Pada klad III terdapat satu strain bakteri *L. plantarum* yang diisolasi dari *fermented cummingcordia* yang berasal dari Jepang. Klad ini merupakan klad terpanjang daripada klad yang lainnya. Klad IV terdiri dari sampel yang memiliki kode GenBank GenBank JN620380.1, JN620384.1, dan JN620385.1, Klad 5 terdiri dari sampel yang memiliki kode GenBank GenBank AY424355.1 dan AJ640082.1. Berdasarkan letak cabang dan nilai *bootstrap* kekerabatan terdekat dimiliki oleh klad V yaitu AY424355.1 dan AJ640082.1. Data tersebut membuktikan bahwa struktur genetik sangat mempengaruhi Tingkat kekerabatan bakteri *L. plantarum* yang diisolasi dari produk pangan. Kekerabatan *L. plantarum* berkontribusi signifikan dalam pengembangan produk pangan yang lebih unggul, aman, efektif, dan inovatif, serta mendukung adaptasi terhadap lingkungan dan bahan baku lokal. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan menganalisis pengaruh lingkungan terhadap variasi genetik dan adaptasi strain dengan memetakan genom strain dari berbagai lingkungan produksi dan geografi. Hal Ini dapat membantu dalam memahami dinamika evolusi dan adaptasi lokal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anafarida, O., & Badruzsaufari, B. (2020). Analisis Filogenetik Mangga (*Mangifera* Spp.) Berdasarkan Gen 5, 8s Rna. *Ziraa'ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 45(2), 120–126.
- Astarini, I. A., Ardiana, S. A., Putra, I. N. G., Pertiwi, P. D., Sembiring, A., Yusmalinda, A., & Al Malik, D. (2021). Genetic diversity and phylogenetic of longtail tuna (*Thunnus tonggol*) landed in Pabean Fish Market, Surabaya. *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 107–115.
- Blaiotta, G., Fusco, V., Ercolini, D., Aponte, M., Pepe, O., & Villani, F. (2008). Lactobacillus strain diversity based on partial hsp60 gene sequences and design of PCR-restriction fragment length polymorphism assays for species identification and differentiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 208–215.
- Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M., & Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria–

- Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21(4), 370–380.
- Dharmayanti, N. (2011). Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1–10.
- Fitmawati, F., Suwita, A., Sofiyanti, N., & Herman, H. (2013). Eksplorasi dan Karakterisasi Keanekaragaman Plasma Nutfah Mangga (Mangifera) di Sumatera Tengah. *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).
- Hidayatulloh, A., Gumilar, J., & Harlia, E. (2019). Potensi senyawa metabolit yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* atcc 8014 sebagai bahan biopreservasi dan anti bakteri pada bahan pangan asal hewan. *Jitp*, 7(2), 1–6.
- Juliantari, E., & Sofiyanti, N. (2017). Phylogenetic Study of Mangifera Central Sumatra Based on rbcL Sequences. *Applied Science and Technology*, 1(1), 126–131.
- Junaidi, A., & Wikandari, P. R. (2020). Pengaruh lama fermentasi ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas*) dengan *Lactobacillus plantarum* B1765 terhadap mutu minuman fermentasi. *Unesa Journal of Chemistry*, 9(1), 78–82.
- Kaźmierczak-Siedlecka, K., Daca, A., Folwarski, M., Witkowski, J. M., Bryl, E., & Makarewicz, W. (2020). The role of *Lactobacillus plantarum* 299v in supporting treatment of selected diseases. *Central European Journal of Immunology*, 45(4), 488–493.
- Kieronczyk, A., Skeie, S., Langsrud, T., Le Bars, D., & Yvon, M. (2004). The nature of aroma compounds produced in a cheese model by glutamate dehydrogenase positive *Lactobacillus* INF15D depends on its relative aminotransferase activities towards the different amino acids. *International Dairy Journal*, 14(3), 227–235.
- Lestari, D. A., Azrianingsih, R., & Hendrian, H. (2018). Filogenetik jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur koleksi Kebun Raya Purwodadi berdasarkan coding dan non-coding sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(1), 1–7.
- Mahfut, M. (2020). KORESPONDENSI: APLIKASI FILOGENETIK DI DUNIA BIOLOGI KESEHATAN: MELACAK PANDEMIC PATHOGEN. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 14(2).
- Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., & Plessas, S. (2018). Potential of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods*, 8(1), 4.
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., & Kusumaningrum, H. P. (2015). Analisis filogenetik *Curcuma zedoaria* (temu putih) berdasarkan gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Akademika Biologi*, 4(4), 8–13.
- Rosidiani, E. P., Arumingtyas, E. L., & Azrianingsih, R. (2013). Analisis variasi genetik *Amorphophallus muelleri* Blume dari berbagai populasi di Jawa Timur berdasarkan sekuen intron trnL. *Floribunda*, 4(6).
- Sohpal, V. K., Dey, A., & Singh, A. (2013). Computational analysis of distance and character based phylogenetic tree for capsid proteins of human herpes virus. *Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics*, 4(2), 128.
- Surono, I. S. (2004). Probiotik susu fermentasi dan kesehatan. *YAPMMI, Jakarta*.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular*

Biology and Evolution, 24(8), 1596–1599.

- Todorov, S. D., Koep, K. S. C., Van Reenen, C. A., Hoffman, L. C., Slinde, E., & Dicks, L. M. T. (2007). Production of salami from beef, horse, mutton, Blesbok (*Damaliscus dorcas phillipsi*) and Springbok (*Antidorcas marsupialis*) with bacteriocinogenic strains of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus curvatus*. *Meat Science*, 77(3), 405–412.
- van den Nieuwboer, M., van Hemert, S., Claassen, E., & de Vos, W. M. (2016). *Lactobacillus plantarum* WCFS 1 and its host interaction: a dozen years after the genome. *Microbial Biotechnology*, 9(4), 452–465.
- Vaughn, R. H., Won, W. D., Spencer, F. B., Pappagianis, D., Foda, I. O., & Krumperman, P. H. (1953). *Lactobacillus plantarum*, the cause of “yeast spots” on olives. *Applied Microbiology*, 1(2), 82–85.
- Wijana, I. M. S., & Mahardika, I. G. N. (2010). Struktur Genetik dan Filogeni Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) berdasarkan Sekuen DNA Mitochondria control region sitokrom oksidase I pada diversitas zone biogeografi. *Jurnal Bumi Lestari*, 10(2), 270–274.