

Identifikasi Secara Fenotipik dan Genomik Isolat Bakteri Potensial Pendegradasi Herbisida Glifosat dari Rhizosfer Cabai Rawit

Phenotypic and Genomic Identification of Glyphosate-Herbicide Degrading Bacterial Isolate From the Rhizosphere of Chilli Pepper

Khilma Ziyadatur Rizka Maulida*, Lisa Lisdiana

Program Studi S1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: maulidarizka70@gmail.com

Abstrak. Bakteri merupakan salah satu agen bioremediasi untuk mengatasi pencemaran di lahan pertanian. Bakteri memiliki kemampuan mendegradasi senyawa kontaminan. Isolat bakteri CF6 merupakan isolat bakteri rhizosfer dari tanah pertanian cabai rawit yang berpotensi mampu mendegradasi herbisida glifosat. Namun, perlu diidentifikasi untuk diaplikasikan sebagai agen bioremediasi dan dipahami pengaruhnya terhadap ekosistem. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi secara fenotipik dan genomik isolat bakteri rhizosfer yang berpotensi sebagai pendegradasi herbisida glifosat sehingga dapat diaplikasikan lebih lanjut. Metode identifikasi secara fenotipik terdiri dari uji motilitas, pewarnaan gram, katalase, sitrat, urease, endospora, Voges-Proskauer, produksi indol, methyl red, pertumbuhan pada 5% NaCl, dan uji reduksi gula. Metode identifikasi secara genomik terbagi empat tahap, yaitu isolasi DNA, amplifikasi gen 16S rRNA, elektroforesis, dan sekuensing gen 16S rRNA. Analisis data dari hasil uji fenotipik secara numerik menggunakan NTSys 2.11a dan hasil uji genomik menggunakan MEGA11. Hasil dendrogram dalam penelitian ini menunjukkan isolat bakteri CF6 termasuk dalam satu klad dengan bakteri-bakteri anggota genus *Klebsiella*. Sedangkan hasil analisis BLASTn menunjukkan isolat uji CF6 memiliki kesamaan sekuen gen 16S rRNA dengan *Klebsiella quasipneumoniae* sebesar 98,62%. Dari hasil kedua metode identifikasi tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri CF6 adalah bakteri *K. quasipneumoniae*. Aspek patogenitas dan laju degradasi bakteri tersebut perlu diuji sebelum diimplementasikan.

Kata kunci: bakteri rhizosfer; bioremediasi; identifikasi; lahan pertanian

Abstract. Bacteria are one of the bioremediation agents to treat pollution in agricultural land. Bacteria can degrade contaminant compounds. Bacterial isolate CF6 is a rhizosphere bacterial isolate from chili pepper agricultural soil which has the potential to degrade glyphosate herbicide. However, it needs to be identified to be applied as a bioremediation agent and its effects on the ecosystem understood. This research aims to identify phenotypically and genomically isolates of rhizosphere bacteria that have the potential to degrade glyphosate herbicides so that they can be applied further. Phenotypic identification methods consisted of motility tests, gram staining, catalase, citrate, urease, endospores, Voges-Proskauer, indole production, methyl red, growth in 5% NaCl, and sugar reduction tests. The genomic identification method was divided into four stages, namely DNA isolation, 16S rRNA gene amplification, electrophoresis, and 16S rRNA gene sequencing. Data from phenotypic and genomic tests were analyzed numerically using NTSys 2.11a and MEGA11, respectively. The dendrogram results in this study showed that the CF6 bacterial isolate belonged to the same clade as bacteria of the genus *Klebsiella*. Meanwhile, the results of BLASTn analysis showed that the CF6 test isolate had a 16S rRNA gene sequence similarity with *Klebsiella quasipneumoniae* of 98.62%. From the results of the two identification methods, it can be concluded that the CF6 bacterial isolate is *K. quasipneumoniae*. Aspects of pathogenicity and bacterial degradation rate need to be tested before implementation.

Keywords: rhizosphere bacteria; bioremediation; identification; agricultural land

PENDAHULUAN

Pengendalian gulma secara kimiawi atau penggunaan herbisida menjadi pilihan bagi para petani yang cenderung meningkat dari tahun ke tahun (Anwar *et al.*, 2021). Namun, pemakaian herbisida glifosat dalam jangka waktu yang panjang juga dapat mengakibatkan residu herbisida glifosat terakumulasi dalam tanah (Widowati *et al.*, 2017). Hal itu disebabkan karena glifosat tidak

mudah terdegradasi dan terakumulasi dengan mengikat kation tanah sehingga mengakibatkan penurunan kemampuan akar tanaman dalam menyerap nutrisi dan terakumulasi pada tanaman non target (Faqihudin *et al.*, 2014; Widowati *et al.*, 2017).

Untuk mengatasi masalah permasalahan akumulasi glifosat, dapat memanfaatkan bakteri rhizosfer (Apriliya *et al.*, 2020). Bakteri memiliki mekanisme untuk toleran atau resisten terhadap senyawa beracun dengan cara menghilangkan toksik atau memproduksi enzim yang dapat mendegradasi senyawa tersebut (Widowati *et al.*, 2017). Nikmah & Lisdiana (2024) berhasil mengisolasi 14 isolat bakteri rhizosfer dari sampel tanah pertanian cabai rawit dengan 7 isolat yang memiliki potensi tinggi dalam mendegradasi herbisida glifosat, salah satunya adalah CF6. CF6 merupakan salah satu isolat yang mampu tumbuh pada media MSM dengan penambahan konsentrasi herbisida glifosat 25 ppm dan 50 ppm serta tumbuh koloni dengan rata-rata sejumlah 14 dan 19 koloni. Dalam kondisi tersebut, CF6 merupakan isolat yang memiliki jumlah koloni terbanyak. Jumlah koloni terbanyak tersebut menunjukkan potensinya dalam memanfaatkan herbisida glifosat sebagai satu-satunya sumber karbon (Pratama *et al.*, 2016).

Mikroorganisme yang memiliki kemampuan sebagai agen biodegradator polutan di lingkungan penting untuk diidentifikasi supaya dapat dipahami pengaruhnya terhadap ekosistem (Emerson *et al.*, 2008). Selain itu, supaya dapat diaplikasikan sebagai agen bakteri potensial untuk bioremediasi tanah dan air yang terkontaminasi herbisida glifosat (Fan *et al.*, 2012).

Identifikasi merupakan suatu proses membandingkan ciri atau karakter individu yang belum diketahui identitasnya dengan individu yang sudah diketahui identitasnya (Pelczar & Chan dalam Arista *et al.*, 2018). Identifikasi bakteri terdiri dari dua metode, yaitu secara fenotipik dan secara genomik. Identifikasi bakteri secara fenotipik adalah metode identifikasi secara konvensional berdasarkan pengamatan terhadap morfologi sel, pewarnaan gram, uji oksidasi, uji biokimia, uji fisiologi, dan uji fermentasi (Prastio *et al.*, 2022). Sedangkan, identifikasi bakteri secara genotipik merupakan identifikasi menggunakan metode molekuler berdasarkan urutan nukleotida gen 16S rRNA dengan metode sekuensing dan pembuatan pohon filogenetik (Nuritasari *et al.*, 2017).

Kryuchkova *et al.* (2014) berhasil mengidentifikasi bakteri pendegradasi glifosat dari tanah (*Helianthus tuberosus L*) secara fenotipik adalah *Enterobacter cloacae* dan secara genomik adalah *Enterobacter cloacae* strain EcWSU1. Selain itu, Obiefuna & Onuorah (2022) juga berhasil mengidentifikasi bakteri pendegradasi glifosat dari tanah pertanian di Nigeria. Hasil identifikasi bakteri pendegradasi glifosat tersebut secara fenotipik adalah *Alcaligen sp.*, *Rhizobium sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Acinetobacter sp.* sedangkan secara genomik teridentifikasi sebagai *Exiguobacterium alkaliphilum*, *Alcaligenes faecalis*, *Sinorhizobium fredii*, dan *Acinetobacter nosocomialis*. Penelitian sejenis juga dilakukan oleh Manogaran *et al.* (2017) yang mengidentifikasi bakteri pendegradasi herbisida glifosat dari tanah pertanian di Malaysia. Hasil identifikasi bakteri pendegradasi glifosat tersebut secara genomik adalah *Burkholderia vietnamiensis* dan *Burkholderia sp.* Selain itu, ditemukan bakteri indigenus dari lahan perkebunan kelapa sawit di Indonesia yang diidentifikasi secara fenotipik sebagai *Bacillus subtilis* (Triwahyuni, 2019).

Identifikasi bakteri secara fenotipik dan genomik bakteri memiliki kelebihan dan kekurangan. Identifikasi bakteri dengan uji fenotipik tidak dapat mengidentifikasi hingga tingkat strain (Sulistyanto & Trimulyono, 2019). Selain itu, dapat terjadi kesalahan dalam membedakan spesies dan strain bakteri karena terdapat karakter fenotip bakteri yang tidak biasa, misalnya spesies *Mycoplasma* tidak dapat diidentifikasi secara fenotipik karena membutuhkan waktu lama untuk ditumbuhkan (Celebi *et al.*, 2022; Nuroniyah & Putra, 2012 dalam Rosahdi *et al.*, 2019). Karakter fenotipik bakteri tidak bersifat statis dan dapat berubah seiring dengan perubahan kondisi organisme dan lingkungan. Kelemahan tersebut mendorong untuk dilakukannya identifikasi dengan analisis genotipik melalui pembacaan urutan nukleotida pada fragmen gen 16S rRNA bakteri. Metode tersebut dinilai lebih baik karena gen 16S rRNA dari hampir seluruh spesies bakteri telah diketahui urutan basa nitrogennya sehingga dapat dijadikan pedoman jika ditemukan spesies baru (Acinas *et al.*, 2004). Namun, identifikasi menggunakan gen 16S rRNA tidak dapat menjamin hasil identifikasi bakteri sama dengan hasil identifikasi bakteri berdasarkan karakter fisiologi dan morfologi (Noer, 2021). Identifikasi metode fenotipik dan genomik masing-masing memiliki kelemahan sehingga perlu dilakukan pendekatan polifasik. Pendekatan polifasik dinilai lebih akurat dan terpercaya karena prinsip metode ini adalah menggabungkan informasi fenotipik, genotipik, dan informasi filogenetik yang diperoleh (Akihary & Kolondam, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara fenotipik dan genomik isolat bakteri rhizosfer yang berpotensi sebagai pendegradasi herbisida glifosat dari penelitian Nikmah & Lisdiana (2024) sehingga dapat diaplikasikan lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah observasional yang dilakukan mulai bulan Agustus 2023 – Januari 2024. Proses identifikasi bakteri secara fenotipik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi gedung C10 dan secara genomik yang terdiri dari isolasi DNA, uji kualitas, kuantitas, dan kemurnian DNA, serta amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan di Laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler gedung C1, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya. Sekuensing DNA dilakukan di 1st Base DNA Sequencing Services, Malaysia.

Bahan yang digunakan dalam identifikasi secara fenotipik adalah kultur murni isolat CF6, *nutrient agar* (Merck cat# 1.05450.0500), *nutrient broth*, *crystal violet*, lugol, alkohol 96%, safranin, H₂O₂ 3%, *media Simmon's Citrate* (Himedia cat# M099), *urea base agar* (Himedia cat# M122), α -naphthol, pepton, gelatin, *malachite green*, *media MR-VP* (Himedia cat# GM070I), KOH 40%, *media pepton* (Merck cat# 1.07212.100), reagen Kovacs (Himedia cat# R005), methyl red, NaCl (Merck cat# 6404.0500), *mannitol salt phenol-red agar* (Merck cat# 1.05404.0500), sorbitol (Merck cat# 1.07758.1000), inositol (Merck cat# 4728), *phenol red* (Merck cat# 3288699), dan akuades. Bahan yang digunakan dalam identifikasi secara genomik adalah kultur murni isolat CF6, akuades steril, *media luria bertani*, Bacterial DNA Preparation Kit (Jena Biosciences cat# PP-214S), master mix (GoTaq[®] Green Master Mix, Promega, USA), loading dye 2x (Blue/Orange Loading Dye 6x, Promega, USA), DNA Ladder (BenchTop 100bp, Promega, USA), *nuclease free water* (Promega, USA), primer 27F 10 μ M (IDT), primer 1492R 10 μ M (IDT), agarose (Genaxxon Bioscience cat# M3044.0500), etidium bromida, dan TAE 10X. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow* (LCB-1101VE), *dry block thermostat* (Bio TDB-100), *centrifuge*, mikropipet, *microtube*, *PCR tube*, thermo cycler, inkubator (LBI-250E), mikroskop, oven (LDO-060E), neraca analitik (ABJ220-4NM), autoclave (SX-700), spektrofotometer UV-Vis (NanoDrop 2000), dan UV transilluminator.

Metode identifikasi secara fenotipik terdiri atas uji motilitas, pewarnaan gram, katalase, sitrat, urease, endospora, Voges-Proskauer, produksi indol, methyl red, pertumbuhan pada 5% NaCl, dan kemampuan reduksi gula manitol, sorbitol, serta inositol.

Metode identifikasi secara genomik terbagi empat tahap, yaitu isolasi DNA, amplifikasi, elektroforesis, dan sekuensing. Prosedur isolasi DNA dilakukan berdasarkan prosedur kit pabrik yang digunakan, yaitu Jena Biosciences, Germany. Hasil isolasi DNA dilakukan uji kualitatif menggunakan elektroforesis dan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil isolasi DNA dilanjutkan pada tahap amplifikasi. Amplifikasi sekuens gen 16S rRNA menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR). Komposisi bahan dan siklus amplifikasi sekuens 16S rRNA terdapat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Selanjutnya, amplikon dianalisis secara kualitatif dengan menggunakan elektroforesis pada gel agarose 2% dan hasil visualisasi dibandingkan dengan DNA ladder 100 bp dan kontrol negatif serta didokumentasi. Hasil amplifikasi tersebut akan dikirimkan ke 1st Base DNA Sequencing Services, Malaysia melalui PT. Genetika Science Indonesia untuk sekuensing gen 16S rRNA. Sekuensing tersebut dilakukan dengan metode *Sanger DNA Sequencing* menggunakan *Capillary Electrophoresis*.

Tabel 1. Komposisi bahan amplifikasi sekuens Gen 16S rRNA

Bahan	Jumlah	Konsentrasi
PCR master-mix, 2x	12,5 μ l	1x
Primer 27F, 10 μ M (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')	0,5 μ l	0,2 M
Primer 1492R, 10 μ M (5'-GTTTACCTTGTTACGACTT-3')	0,5 μ l	0,2 M
DNA cetakan	1 μ l	-
<i>Nuclease free water</i>	10,5 μ l	-
Total	25 μl	

Teknik analisis data hasil karakterisasi fenotipik dianalisis secara numerik menggunakan aplikasi NTSys 2.11a sehingga diperoleh dendrogram berdasarkan kesamaan karakter fenotipik (Preena *et al.*, 2020). Sedangkan, teknik analisis data hasil identifikasi secara genomik dilakukan analisis kromatogram, pembentukan *consensus sequence*, analisis BLAST, dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan aplikasi MEGA 11. Dengan demikian, dilakukan analisis secara deskriptif terkait hasil dendrogram, analisis BLAST, dan rekonstruksi pohon filogenetik.

Tabel 2. Tahapan amplifikasi gen 16S rRNA

No	Siklus PCR	Suhu	Waktu (s)	Siklus
1.	Pra-denaturasi	96°C	120	1x
2.	Denaturasi	96°C	30	30x
3.	Annealing	55°C	30	30x
4.	Extension	72°C	90	30x
5.	Final Extension	72°C	240	1x

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data dari hasil karakterisasi fenotipik dan data dari hasil sekuensing gen 16S rRNA isolat bakteri CF6 dari hasil isolasi Nikmah & Lisdiana (2024). Data yang diperoleh dari identifikasi fenotipik adalah hasil karakterisasi karakter kunci dan dendogram sedangkan dari identifikasi genomik adalah hasil isolasi DNA, hasil amplifikasi, hasil sekuensing, dan rekonstruksi pohon filogenetik.

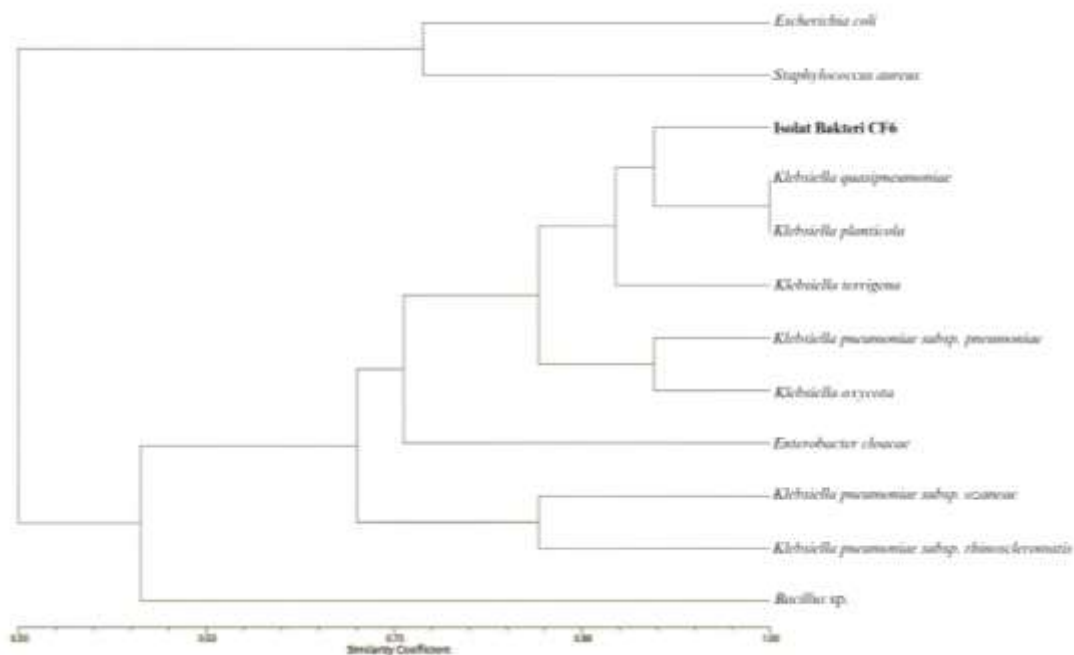
Hasil karakterisasi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 3. Karakter yang sudah diketahui tersebut kemudian dianalisis dendogramnya dengan dibandingkan kesamaan karakternya dengan bakteri-bakteri yang hidup di rhizosfer dan mampu mendegradasi herbisida glifosat, yaitu *Klebsiella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Bacillus* sp. (Elarabi *et al.*, 2020; Kryuchkova *et al.*, 2014; Obiefuna & Onuorah, 2022) serta *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai *out group*. Hasil dendogram dalam penelitian ini, isolat bakteri CF6 termasuk dalam satu klad dengan bakteri dari genus *Klebsiella*. Isolat bakteri CF6 juga termasuk dalam klad *E. cloacae* dan *Bacillus* sp. Berikut adalah dendogram isolat bakteri CF6 (Gambar 1).

Tabel 3. Hasil karakterisasi fenotipik isolat bakteri CF6

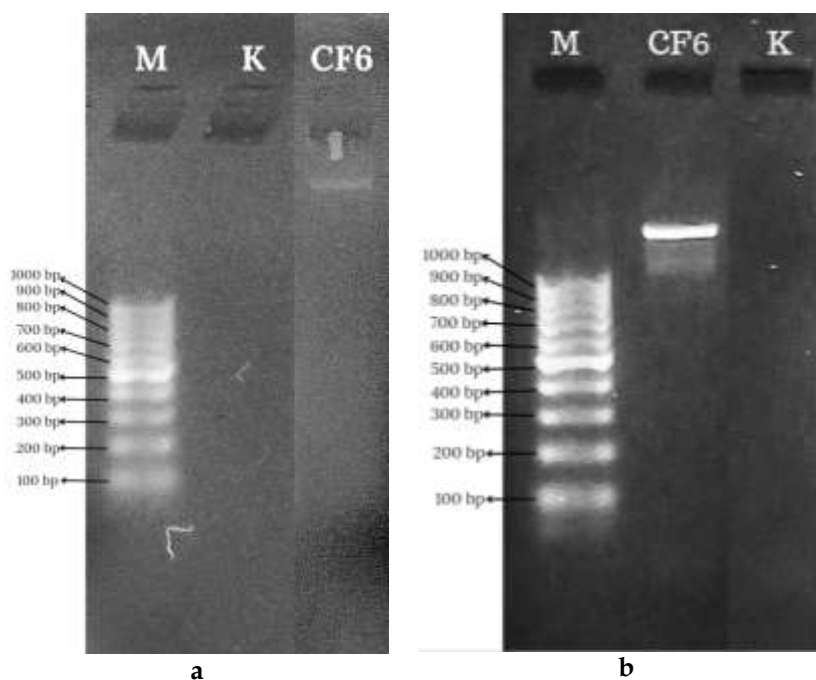
No	Uji Fenotipik	Hasil Karakterisasi CF6
1.	Motilitas	-
2.	Pewarnaan Gram	-
3.	Katalase	+
4.	Sitrat	+
5.	Urease	+
6.	Endospora	-
7.	Voges-Proskauer	-
8.	Methyl Red	+
9.	Produksi Indol	-
10.	5% NaCl	-
11.	Manitol	+
12.	Inositol	+
13.	Sorbitol	+

Data hasil isolasi DNA isolat bakteri CF6 secara kualitatif menunjukkan bahwa ukuran DNA lebih dari 1.000 bp (Gambar 2a) sedangkan secara kuantitatif memiliki konsentrasi 31,8 ng/ μ l dan nilai kemurnian 1,97 pada absorbansi 260/280. Sampel DNA yang telah memenuhi syarat secara kualitatif dan kuantitatif diamplifikasi dengan teknik PCR dengan menggunakan primer universal yaitu 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-GTTTACCTTGTTACGACTT-3'). Hasil amplifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri CF6 divisualisasikan dengan elektroforesis ditandai adanya pita DNA yang terang dan tebal (Gambar 2b). Amplikon tersebut kemudian disekuensing dengan metode *Sanger DNA Sequencing* menggunakan *Capillary Electrophoresis*. Hasil sekuensing berupa AB1 format kromatogram dan text file. Hasil sekuensing sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri CF6 kurang lebih berjumlah 1.500 bp.

Hasil sekuensing analisis BLAST dengan hasil yaitu sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri CF6 memiliki kesamaan sekuen dengan *Klebsiella quasipneumoniae* sebesar 98.62%. Cluster yang menunjukkan bakteri yang memiliki kekerabatan terdekat dengan isolat bakteri CF6 dapat dilihat pada hasil rekonstruksi pohon filogenetik (Gambar 3).



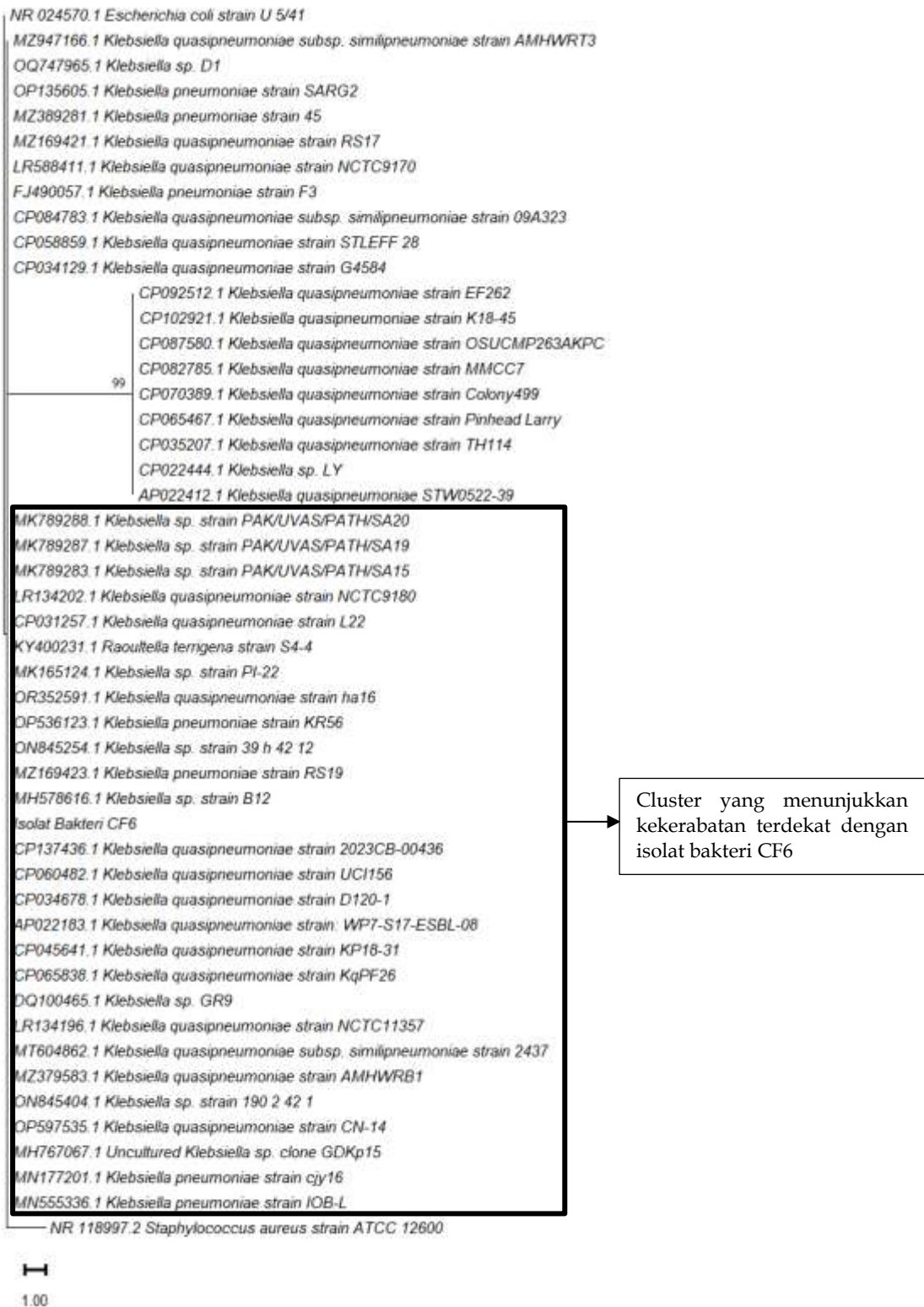
Gambar 1. Hasil dendrogram isolat bakteri CF6



Gambar 2. Hasil visualisasi pada gel agarose. a: Hasil Isolasi DNA, b: hasil Amplifikasi dengan Metode PCR.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, menggunakan 13 karakter yang merupakan karakter kunci digunakan untuk mengidentifikasi bakteri rhizosfer pendegradasi herbisida glifosata (Elarabi *et al.*, 2020; Kryuchkova *et al.*, 2014). Selain itu, menggunakan karakter sebanyak-banyaknya merupakan prinsip dasar analisis numerik-fenetik. Analisis numerik-fenetik bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan similaritas antar takson sehingga menghasilkan dendrogram dan nilai similaritas (Wangiyana, 2019).



Gambar 3. Pohon filogeni dari isolat bakteri CF6 dan bakteri acuan

Hasil dendogram dalam penelitian ini, isolat bakteri CF6 termasuk dalam satu klad dengan bakteri dari genus *Klebsiella*. Isolat bakteri CF6 juga termasuk dalam klad *E. cloacae* dan *Bacillus* sp. yang juga merupakan bakteri pendegradasi herbisida glifosat (Obiefuna & Onuorah, 2022). Dalam dendogram tersebut *E. coli* dan *S. aureus* membentuk klad terpisah sebagai *out group*. Tingkat similaritas berada pada kisaran 0 sampai 1. Tingkat similaritas antibakteri yang mendekati 1 artinya hubungan kekerabatannya semakin dekat (Anggara *et al.*, 2014). Isolat bakteri CF6 memiliki nilai similaritas tertinggi dengan *Klebsiella quasipneumoniae* dan *Klebsiella planticola* sebesar 0,923. Menurut

Goodfellow dan O'Donnell (1993) dalam Teul *et al.* (2023) menyatakan bahwa jika suatu strain mikroorganisme memiliki indeks similaritas $\geq 70\%$ dapat dinyatakan sebagai satu spesies. Hal tersebut berdasarkan konsep taksospecies (Nursulistyarini & Ainy, 2014).

Pada penelitian ini hasil visualisasi pita DNA terlihat cukup tebal, terang, dan tidak terdapat smear. Hal tersebut juga didukung dari uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Hasil isolasi DNA bakteri dikatakan murni jika memiliki nilai A_{260}/A_{280} sebesar 1,8 - 2,0 (Oliveira *et al.*, 2014). Hasil uji kuantitatif DNA pada penelitian ini adalah 1,97 pada A_{260}/A_{280} . Nilai kemurnian tersebut cukup tinggi untuk dilanjutkan pada tahap amplifikasi sekuen gen 16S rRNA dengan metode PCR. Hasil amplifikasi sekuens gen 16S rRNA isolat bakteri CF6 ditandai pita DNA yang terang dan tebal. Isolat bakteri CF6 teramplifikasi pada ukuran 1.500 bp

Hasil sekuensing dari penelitian ini menunjukkan bahwa isolat bakteri CF6 dapat teridentifikasi hingga tingkat spesies yaitu dengan menganalisis similaritas gen 16S rRNA sampel dengan sekuen referensi yang terdapat di *GenBank* (NCBI/*National Center of Biotechnology Information*). Nilai similaritas isolat bakteri CF6 dengan *Klebsiella quasipneumoniae* sebesar 98,62%. Hagström *et al.* (2002) menyatakan bahwa nilai similaritas 97% adalah nilai yang masuk akal untuk mengelompokkan bakteri dalam suatu spesies. Nilai similaritas 98,62% dalam penelitian ini berhasil mengidentifikasi bahwa isolat bakteri CF6 merupakan *Klebsiella quasipneumoniae*. Nilai similaritas yang telah didapatkan bakteri dari referensi acuan juga dapat dikonfirmasi keakuratannya dalam rekonstruksi pohon filogenetik (Yan *et al.*, 2019 dalam Syah, 2022).

Hasil identifikasi secara fenotipik menggunakan karakter-karakter kunci dalam dendrogram menunjukkan bahwa isolat bakteri CF6 termasuk dalam kelompok genus *Klebsiella*. Sedangkan hasil identifikasi secara genomik menggunakan gen 16S rRNA teridentifikasi menjadi *K. quasipneumoniae*. Hasil dari analisis blast juga dapat dilakukan rekonstruksi pohon filogenetik untuk mengetahui kekerabatannya. Dalam penelitian ini, hasil identifikasi secara fenotipik yang menunjukkan hingga tingkat genus dilengkapi secara genomik. Metode identifikasi genomik melalui pembacaan urutan nukleotida pada fragmen gen 16S rRNA bakteri dinilai lebih terpercaya sehingga dijadikan pedoman dalam penemuan spesies baru (Acinas *et al.*, 2004). Namun, jika hanya dilakukan identifikasi secara genomik tidak dapat diketahui karakter-karakter spesifik pada isolat bakteri CF6. Dengan menggabungkan hasil dari identifikasi fenotipik, genomik, dan rekonstruksi pohon filogenetik, termasuk dalam sebuah prinsip pendekatan polifasik yang dinilai lebih akurat dan terpercaya (Akihary & Kolondam, 2020). Sifat polifasik dalam studi taksonomi dapat digunakan untuk menjelaskan fenomena adanya biodiversitas antar spesies (Wangiyana, 2019).

Pada penelitian terdahulu anggota genus *Klebsiella* juga telah mengidentifikasi sebagai pendegradasi herbisida glifosat. Hernández-Alomia *et al.* (2022) berhasil mengisolasi tiga strain dari perairan air tawar di Ekuador yang mampu tumbuh menggunakan glifosat sebagai sumber karbon berdasarkan urutan gen 16S rRNA, strain tersebut termasuk dalam genus *Pantoea*, *Pseudomonas*, dan *Klebsiella*. Selain itu, Kuklinsky-Sobral *et al.* (2005) berhasil mendapatkan bakteri endofit dari tanaman yang dibudidayakan di tanah dengan kandungan glifosat, salah satunya *Klebsiella pneumoniae*. Beberapa spesies dalam genus *Klebsiella* juga dapat mendegradasi fosfonat melalui jalur C-P liase, yaitu *Klebsiella oxycota*, *K. pneumoniae*, dan *Klebsiella aerogenes*. Ketiga spesies *Klebsiella* tersebut dapat mendegradasi *methylphosphonate*, *2-aminoethylphosphonate*, dan *phenyl phosphonate* (Kononova & Nesmeyanova, 2002).

Klebsiella merupakan bakteri yang umum dijumpai pada rhizosfer tumbuhan (Shi *et al.*, 2020). *Klebsiella* dapat berkoloni di rhizosfer tumbuhan dalam waktu yang lama (Yang & Yang, 2020). Bakteri dalam genus *Klebsiella* tersebar luas di alam dengan beberapa strain terbukti cocok untuk melakukan bioremediasi karena pertumbuhannya yang cepat, kapsul yang tebal pada permukaan dinding sel, dan ketahanan terhadap polutan (Zhang *et al.*, 2019). Bakteri genus *Klebsiella* terbukti bisa menjadi pilihan yang terjangkau, efisien, dan ramah lingkungan dalam mereduksi bahkan menghilangkan kontaminan (Olukanni *et al.*, 2023).

Isolat bakteri yang telah teridentifikasi merupakan salah satu syarat bakteri dapat diaplikasikan ke lapangan secara langsung (Arista *et al.*, 2018). Namun, sebelum itu harus dilakukan penelitian tentang sifat antagonis dan penelitian efektivitas bakteri tersebut dalam skala *in vitro*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa hasil identifikasi isolat bakteri CF6 berdasarkan karakter fenotipik termasuk dalam genus *Klebsiella* dan berdasarkan

karakter genomik merupakan bakteri *K. quasipneumoniae*. Jadi isolat bakteri CF6 adalah *K. quasipneumonia*.

DAFTAR PUSTAKA

- Acinas SG, Marcelino LA, Klepac-Ceraj V, & Polz MF, 2004. Divergence and Redundancy of 16S rRNA Sequences in Genomes with Multiple *rrn* Operons. *Journal of Bacteriology*; 186(9): 2629-2635. <https://doi.org/10.1128/JB.186.9.2629-2635.2004>
- Akihary CV, & Kolondam J, 2020. Pemanfaatan Gen 16S rRNA Sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri Untuk Penelitian-penelitian di Indonesia. *PHARMACONJ: Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*; 9(1): 16-22. <http://dx.doi.org/10.35799/pha.9.2020.27405>
- Anggara BS, Yuliani Y, & Lisdiana L, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar. *LenteraBio*; 3(3): 160-167. <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- Anwar R, Suzanna E, & Djatmiko D, 2021. Pengujian Efektivitas Herbisida Hayati di Perkebunan Kopi pada Berbagai Kondisi Agroekologi. *Jurnal Agroqua*; 19(1): 33-41. <https://doi.org/10.32663/ja.v>
- Apriliya I, Prasetyo D, & Remila S, 2020. Isolasi Bakteri Rhizosfer Resisten Pestisida dan Herbisida pada Berbagai Jenis Tutupan Lahan. *Agrotekma*; 5(1): 64-71. <https://doi.org/10.31289/agr.v5i1.4466>
- Arista AM, Yuliani Y, & Lisdiana L, 2018. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit A1 dan B1 dari Akar Tanaman Ubi Jalar Berdasarkan Sekuens 16S rDNA. *LenteraBio*; 7(1): 9-14. <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- Celebi O, Ozdemir U, Buyuk F, Unsul BA, Erpek S, Karahan M, Otlu S, Sahim M, Coskun M, Celik E, Gulmes SA, Buyuk E, & Akca D, 2022. Isolation of *Mycoplasma* spp. from Geese with Pneumonia and Identification of Microbial Isolates via Molecular Methods. *Brazilian Journal of Poultry Science*; 24: (eRBCA-2021-1522).
- Dovich NJ, & Zhang J, 2000. How Capillary Electrophoresis Sequenced the Human Genome. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*; 39(24): 4463-4468. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20001215\)39:24<4463::aid-anie4463>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20001215)39:24<4463::aid-anie4463>3.0.co;2-8)
- Elarabi NI, Abdelhadi AA, Ahmed RH, Saleh I, Arif IA, Osman G, & Ahmed DS, 2020. *Bacillus aryabhatai* FACU: A Promising Bacterial Strain Capable of Manipulate The Glyphosate Herbicide Residues. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 27(9): 2207-2214. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.050>
- Emerson D, Agulto L, Liu H, & Liu L, 2008. Identifying and Characterizing Bacteria in An Era of Genomics and Proteomics. *BioScience*; 58(10): 925-936. <https://doi.org/10.1641/B581006>
- Fan J, Yang G, Zhao H, Shi G, Geng Y, Haou T, & Ke T, 2012. Isolation, Identification and Characterization of a Glyphosate Degrading Bacterium *Bacillus cereus* CB4 from Soil. *J. Gen. Appl. Microbiol*: 58: 263-271.
- Faqihhudin MD, Haryadi H, & Purnamawati H, 2014. Penggunaan Herbisida IPA-Glifosat Terhadap Pertumbuhan, Hasil Residu pada Jagung. *Ilmu Pertanian*; 17(1): 1-12.
- Hagström Å, Pommier T, Rohwer F, Simu K, Stolte W, Svensson D, & Zweifel UL, 2002. Use of 16S Ribosomal DNA for Delineation of Marine Bacterioplankton Species. *Applied and Environmental Microbiology*; 68(7): 3628-3633. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3628-3633.2002>
- Hernández-Alomia F, Ballesteros I, & Castillejo P, 2022. Bioremediation Potential of Glyphosate-Degrading Microorganisms in Eutrophicated Ecuadorian Water Bodies. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 29(3): 1550-1558. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.013>
- Kononova SV, & Nesmeyanova MA, 2002. Phosphonates and Their Degradation by Microorganisms. *Biochemistry (Moscow)*; 67(2): 184-195.
- Kryuchkova YV, Burygin GL, Gogoleva NE, Gogolev YV, Chernyshova MP, Makarov OE, Fedorov EE, & Turkovskaya OV, 2014. Isolation and Characterization of A Glyphosate-Degrading Rhizosphere Strain, *Enterobacter cloacae* K7. *Microbiological Research*; 169(1): 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.03.002>
- Kuklinsky-Sobral J, Araújo WL, Mendes R, Pizzirani-Kleiner AA, & Azevedo JL, 2005. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria From Soybean (*Glycine max*) Grown in Soil Treated with Glyphosate Herbicide. *Plant and Soil*; 273(1-2): 91-99. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-6894-1>
- Manogaran M, Shukor MY, Yasid NA, Johari WLW, & Ahmad SA, 2017. Isolation and Characterisation of Glyphosate-Degrading Bacteria Isolated From Local Soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*; 28(3): 471-479. <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0620-4>
- Nikmah AL, & Lisdiana L, 2024. Penapisan Bakteri Rizosfer Pendegradasi Herbisida Glifosat dari Tanah Pertanian Cabai Rawit (*Capsicum frutescent* L.). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 13(1): 24-31.
- Noer S, 2021. Identifikasi Bakteri Secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*; 1(1): 1. <https://doi.org/10.30998/edubiologia.v1i1.8596>
- Nuritasari D, Sarjono PR, & Aminin ALN, 2017. Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedongsongo dengan Media Pengaya MB (*Minimal Broth*) dan TS (Taoge Sukrosa) serta Identifikasi Fenotip dan Genotip. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*; 20(2): 84-91. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.2.84-91>
- Nursulistyarini F, & Ainy EQ, 2014. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria Producing Antibacteria Compounds From *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaf Fenni. *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*; 11(1): 114-120.

- Obiefuna HO, & Onuorah SC, 2022. Isolation and Characterization of Glyphosate-Degrading Bacteria from Agricultural Soil in Awka, Anambra State, Nigeria. *MJSAT*; 2(4): 194-198. <https://doi.org/10.56532/mjsat.v2i4.81>
- Oliveira CF, Paim TGS, Reiter KC, Rieger A, & D'Azevedo PA, 2014. Evaluation of Four Different DNA Extraction Methods in Coagulase-Negative Staphylococci Clinical Isolates. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*; 56(1): 29-33. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000100004>
- Olukanni OD, Albert AA, Farinto M, Awotula AO, & Osuntoki AA, 2023. Tween-80 Enhanced Biodegradation of Naphthalene by *Klebsiella quasipneumoniae*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*; 116(7): 697-709. <https://doi.org/10.1007/s10482-023-01839-8>
- Prastio RA, Isnawati I, & Rahayu DA, 2022. Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Tumbuhan Kantong Semar (*Nepenthes gracillis*). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 11(2): 255-262. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p255-262>
- Pratama MA, Amin M, & Suarsini E, 2016. Isolasi Bakteri Indigen Pengoksidasi Sulfida (H₂S) pada Limbah Cair Industri Pengolahan Ikan di Sungai Kali Mati, Kecamatan Muncar. *Prosiding SNPBS*; 1(3): 357-362.
- Preena PG, Dharmaratnam A, & Swaminathan TR, 2020. Antimicrobial Resistance Analysis of Pathogenic Bacteria Isolated From Freshwater Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Cultured in Kerala, India. *Current Microbiology*; 77(11): 3278-3287. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02158-1>
- Rosahdi TD, Tafiani N, & Hafsari AR, 2019. Identifikasi Spesies Isolat Bakteri K2Br5 dari Tanah Karst dengan Sistem Kekeabatan Melalui Analisis Urutan Nukleotida Gen 16S rRNA. *Al-Kimiya*; 5(2): 84-88. <https://doi.org/10.15575/ak.v5i2.3836>
- Shi YW, Yang H, Chu M, Niu XX, Huo XD, Gao Y, Zeng J, Zhang T, Li YG, Outi KE, Lou K, Li XY, Dang WF, & Li C, 2020. *Klebsiella*. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*; 233-257. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00013-7>
- Sulistiyanto WN, & Trimulyono G, 2019. Karakterisasi Fenotip dan Indeks Similaritas Isolat Actinomycetes yang Memiliki Kemampuan Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*; 7(3): 112-120. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2019.007.03.4>
- Syah MA, 2022. Isolasi dan Karakterisasi Molekuler Gen 16S rRNA Bakteri Lipolitik Asal Limbah Kulit Biji Jambu Mete. *Jurnal Sumberdaya Hayati*; 8(1): 20-26. <https://doi.org/10.29244/jsdh.8.1.20-26>
- Teul SM, Rahmawati R, & Ifadatin S, 2023. Identification of Lactic Acid Bacteria from Fermented Kimchi Sawi Ansabi (*Brassica juncea* L.) using Phenotypic Similarities. *Jurnal Biologi Tropis*; 23(4): 50-60. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5315>
- Triwahyuni D, 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri *Indigenous* Pendegradasi Residu Herbisida Glifosat dari Lahan Perkebunan Kelapa Sawit Lampung Tengah. *Skripsi*. Universitas Airlangga.
- Wangiyana IGAS, 2019. Comparison of Dendrogram and Cladogram Topology of *Gyrinops versteegii* and Others Gyrinops Member For Polyphasic Taxonomy. *Jurnal Silva Samalas*; 2(1): 13-18.
- Widowati T, Ginting RCB, Widyastuti U, Nugraha A, & Ardiwinata A, 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida Glifosat dan Paraquat dari Rizosfer Tanaman Padi. *Biopropal Industri*; 8(2): 63-70.
- Yang L, & Yang K, 2020. Biological Function of *Klebsiella variicola* and Its Effect On The Rhizosphere Soil of Maize Seedlings. *PeerJ*; 8: 1-24. <https://doi.org/10.7717/peerj.9894>
- Zhang C, Hao Q, Zhang Z, Zhang X, Pan H, Zhang J, Zhang H, & Sun F, 2019. Whole Genome Sequencing and Analysis of Chlorimuron-Ethyl Degrading Bacteria *Klebsiella pneumoniae* 2n3. *International Journal of Molecular Sciences*; 20(12). <https://doi.org/10.3390/ijms20123053>

Article History:

Received: 26 Januari 2024

Revised: 26 Maret 2024

Available online: 1 April 2024

Published: 31 Mei 2024

Authors:

Khilma Ziyadatur Rizka Maulida, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jala Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, e-mail: maulidarizka70@gmail.com

Lisa Lisdiana, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jala Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, e-mail: lisalisdiana@unesa.ac.id

How to cite this article:

Maulida KZR dan Lisdiana L., 2024. Identifikasi Secara Fenotipik dan Genomik Isolat Bakteri Potensial Pendegradasi Herbisida Glifosat dari Rhizosfer Cabai Rawit. *LenteraBio*; 13(2): 253-261