

## Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Proteolitik dari Kumbang Penggerek Buah Kopi

Jihan Lutfi Utami\*, Christina Nugroho Ekowati\*, Sumardi\*, dan Emantis Rosa\*

\*Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

Email: jihanlutfiutami@gmail.com

### ABSTRACT

One of coffee grower major problems are pests and diseases. Major pests at coffee-growing areas is coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). The use of the bacteria is one of the alternatives to reduce the pests control. The bacteria must break body composition compounds, for example protein. One of proteolytic bacteria is *Bacillus* sp. The result of isolation from the body of coffee berry borer weevil is five isolates, they are H, K, A1, A2, and A3. The result of morphology identification and Gram character, all isolates show that *Bacillus* character and proteolytic. *Bacillus* K isolate shows the highest proteolytic index at 1,94.

**Keyword:** *Bacillus* sp., proteolytic, the coffee berry borer.

### PENDAHULUAN

Salah satu kendala utama petani kopi adalah serangan hama dan penyakit. Kendala ini menyebabkan penurunan produktivitas dan kualitas kopi.

Menurut Najiyati dan Danarti (2001), hama utama yang terdapat di seluruh perkebunan kopi adalah penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei*). Hal ini disebabkan karena hama ini menyerang kopi dari buah yang masih hijau hingga pasca panen buah kopi. Serangan hama dapat terus menyebar luas ke seluruh area perkebunan, sehingga diperlukan strategi dalam upaya pengendalian serangan hama penggerek buah kopi ini.

Pengendalian serangga hama penggerek buah kopi menggunakan pestisida yang berbahan kimiawi dan dikhawatirkan berbahaya bagi lingkungan. Pengendalian hayati merupakan alternatif biokontrol untuk mengendalikan hama dengan memanfaatkan mikroba entomopatogenik, diantaranya adalah *Bacillus* sp. Pemanfaatan *Bacillus* sp. sebagai biokontrol mulai banyak dilakukan. Hal ini salah satunya disebabkan oleh

kemampuan bakteri ini dalam menghasilkan endospora yang dapat bertahan di lingkungan yang ekstrem dan tahan panas.

Selain adanya endospora, beberapa jenis *Bacillus* mampu menghasilkan  $\delta$ -endotoksin (protein *Cry*) yaitu kristal protein yang bersifat toksik. Dari aktivitas metabolik *Bacillus* yang menghasilkan enzim protease dan kitinase, dapat mendegradasi telur dan larva insekta sehingga akan menekan perkembangan maupun pertumbuhan hama penggerek buah kopi tersebut.

Kandungan protein pada serangga merupakan komponen yang digunakan sebagai sumber nutrisi dari bakteri proteolitik, seperti *Bacillus* sp.. Oleh karena itu, dilakukan isolasi dan karakterisasi *Bacillus* sp. proteolitik dari kumbang penggerek buah kopi.

### METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### A. Isolasi *Bacillus* sp.

Sampel diambil dari kumbang penggerek buah kopi yang ada di desa Sumber Rejo, Kabupaten Tanggamus, Lampung. Isolasi dilakukan dengan cara sampel disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,2 M dalam tabung reaksi. Suspensi tersebut kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer* dan dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 85°C selama 15 menit. Kemudian sebanyak 1 mL suspensi diambil secara aseptik menggunakan mikropipet dan diinokulasikan dengan metode goresan pada media *Nutrient Agar* dalam cawan petri steril. Selanjutnya diinkubasi secara terbalik pada suhu kamar selama 24 jam.

#### B. Pemurnian Isolat *Bacillus* sp.

Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian dimurnikan pada media *Nutrient Agar* (NA) padat dengan metode goresan kuadran. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni tunggal setelah inkubasi kemudian diinokulasikan ke dalam *Nutrient Agar* (NA) miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kultur yang tumbuh pada NA miring merupakan isolat *Bacillus* murni.

#### C. Uji Proteolitik

Substrat yang digunakan pada uji protease adalah susu. Satu ose isolat *Bacillus* sp. berumur 24 jam diinokulasikan pada medium *Nutrient Agar* (NA) + 1 % anlene dengan metode goresan. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni.

#### D. Penentuan Indeks Proteolitik

Penentuan indeks proteolitik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Agustien, 2010) :

$$IP = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter Koloni}}$$

#### E. Uji Fisiologis Isolat *Bacillus* sp. Proteolitik

##### Uji Katalase

Satu ose isolat bakteri berumur 24 jam diinokulasikan pada gelas objek yang telah dibubuhi 1 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Terbentuknya gelembung menunjukkan katalase positif.

##### Uji Motilitas

Satu ose isolat bakteri berumur 24 jam diinokulasikan menggunakan ose runcing yang ditusukkan secara tegak lurus hingga setengah tinggi pada media *Nutrient Agar* (NA) semi padat. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Motilitas koloni bakteri ditunjukkan dengan bentuk sebaran koloni.

##### Karakteristik Mikroskopik *Bacillus* sp. Proteolitik

Karakteristik mikroskopik yang diamati melalui pengamatan morfologi sel bakteri yaitu pengecatan Gram dan spora.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

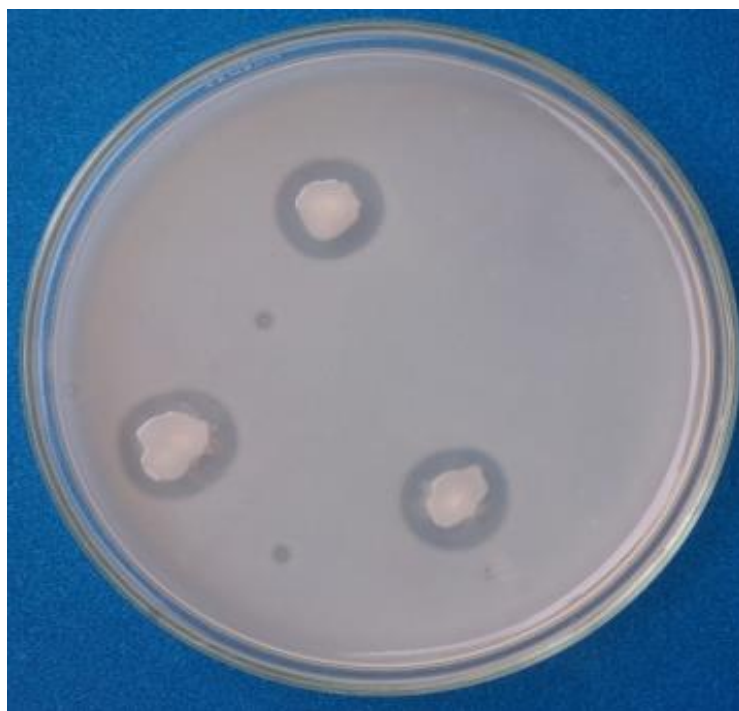
#### A. Hasil

Hasil penentuan indeks proteolitik dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Penentuan Indeks Proteolitik

No.	Nama Isolat	Pengulangan	Luas Koloni (cm <sup>2</sup> )	Luas Zona Jernih (cm <sup>2</sup> )	Indeks Proteolitik
1.	K	1	0,006	0,019	1,94
		2	0,008	0,022	
		3	0,006	0,018	
2.	H4	1	0,008	0,015	1,125
		2	0,008	0,018	
		3	0,008	0,018	
3.	A1	1	0,004	0,007	1,05
		2	0,009	0,019	
		3	0,009	0,019	
4.	A2	1	0,006	0,011	0,77
		2	0,017	0,028	
		3	0,015	0,029	
5.	A3	1	0,008	0,018	1,44
		2	0,011	0,023	
		3	0,006	0,020	

Keterangan : K : permukaan tubuh kumbang, H : Hypo, dan A : Abdomen



**Gambar 1.** Koloni *Bacillus* sp. Isolat K pada media NA+1% anlene

Keterangan : a) *Bacillus* sp. yang tumbuh, b) Terbentuk zona jernih di sekitar koloni, c) Media NA+1% anlene

Hasil isolasi bakteri dari kumpang kopi diperoleh 5 isolat. Koloni tunggal yang terpisah kemudian dimurnikan. Berdasarkan ciri mikroskopik dan sifat katalase, isolat teridentifikasi sebagai genus *Bacillus* dengan ciri berbentuk batang, Gram positif, dan membentuk spora. Seluruh isolat bersifat katalase positif. Bakteri katalase positif memiliki kemampuan memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang dihasilkannya sendiri (Alhadi, 2010). Pada uji motilitas, hampir semua isolat bersifat motil dan memiliki pola pertumbuhan yang sama yaitu echinulate. *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang. Pengujian bakteri dengan uji katalase menunjukkan bahwa *Bacillus* memiliki kemampuan katalase positif (Pelczar dan Chan, 2005).

Hasil uji protease kelima isolat menunjukkan aktivitas proteolitik, namun kemampuan setiap isolat berbeda. Indeks proteolitik tertinggi terdapat pada isolat *Bacillus* K sebesar 1,94. Indeks proteolitik terendah terdapat pada isolat *Bacillus* A2 sebesar 0,77.

## KESIMPULAN

Adapun kesimpulan yang diperoleh adalah :

1. Hasil isolasi dari tubuh kumpang penggerek kopi diperoleh lima isolat yaitu H, K, A1, A2, dan A3.
2. Hasil identifikasi morfologi dan sifat Gram, seluruh isolat menunjukkan karakter *Bacillus*, dan bersifat proteolitik.
3. Isolat *Bacillus* K menunjukkan indeks proteolitik tertinggi yaitu 1,94.

## REFERENSI

- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. Unpad Press. Bandung.
- Alhadi, Fatri. 2010. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Streptococcus Ecqui* Penyebab Strangles Pada Kuda. *Skripsi*. FKH IPB. Bogor.
- Najiyati, S dan Danarti. 2001. Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen. PT Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pelczar. M.J. dan E.C.S. Chan. 2005. Dasar Dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta.