

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION  
*Oryctes rhinoceros* SEBAGAI KANDIDAT AGENS HAYATI  
PENGENDALI HAMA PADA TANAMAN KELAPA SAWIT**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Amelia Putri Handayani  
2214191020**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2026**

## ABSTRAK

### EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION *Oryctes rhinoceros* SEBAGAI KANDIDAT AGENS HAYATI PENGENDALI HAMA PADA TANAMAN KELAPA SAWIT

Oleh

AMELIA PUTRI HANDAYANI

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengkaji potensi bakteri simbion dari tubuh *Oryctes rhinoceros* sebagai agens hayati pengendali hama. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, pada Juni 2025–April 2026, dengan sampel larva dan imago yang diperoleh dari kebun rakyat dan kebun perusahaan. Hasil isolasi didapatkan 94 isolat bakteri simbion. Karakterisasi dilakukan melalui uji biokimia, meliputi pewarnaan Gram, uji oksidatif/fermentatif, *soft rot*, hipersensitif, dan hipovirulen. Uji potensi sebagai agens hayati dilakukan melalui uji patogenisitas terhadap *Tenebrio molitor* sebagai skrining awal, kemudian dilanjutkan pada larva *O. rhinoceros*. Hasil penelitian menunjukkan beberapa isolat mampu menyebabkan mortalitas pada larva *O. rhinoceros* dengan tiga isolat terbaik yaitu i1u1.5 (27,7%), i2i2.1 (20,9%), dan i4u2.6 (25,2%). Identifikasi molekuler terhadap isolat unggul i4u2.6 menggunakan gen 16S rDNA menunjukkan kekerabatan dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Secara keseluruhan, bakteri simbion pada *O. rhinoceros* memiliki keanekaragaman tinggi dan berpotensi sebagai agens hayati yang ramah lingkungan dalam pengendalian hama.

Kata kunci: agens hayati, bakteri simbion *Oryctes rhinoceros*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRAK

### EXPLORATION AND IDENTIFICATION OF SYMBIOTIC BACTERIA OF *Oryctes rhinoceros* AS CANDIDATE BIOLOGICAL CONTROL AGENTS FOR PEST MANAGEMENT IN OIL PALM PLANTS

Oleh

AMELIA PUTRI HANDAYANI

This study aimed to isolate, identify, and evaluate the potential of symbiotic bacteria associated with *Oryctes rhinoceros* as biological control agents. The research was conducted at the Agricultural Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Lampung, from June 2025 to April 2026, using larval and adult specimens collected from smallholder and company-owned oil palm plantations. A total of 94 symbiotic bacterial isolates were successfully obtained. Characterization was performed through biochemical tests, including Gram staining, oxidative/fermentative tests, soft rot tests, hypersensitivity tests, and hypovirulence tests. The potential of the isolates as biological control agents was evaluated through pathogenicity assays against *Tenebrio molitor* as a preliminary screening, followed by bioassays on *O. rhinoceros* larvae. The results showed that several isolates were capable of causing mortality in *O. rhinoceros* larvae, with the three most effective isolates being i1u1.5 (27.7%), i2i2.1 (20.9%), and i4u2.6 (25.2%). Molecular identification of the superior isolate i4u2.6 based on 16S rDNA gene sequencing revealed a close relationship with *Pseudomonas aeruginosa*. Overall, the symbiotic bacteria associated with *O. rhinoceros* exhibited high diversity and demonstrated potential as environmentally friendly biological control agents for pest management.

**Keywords:** biological control agent, *Oryctes rhinoceros*, symbiotic bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*.

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION  
*Oryctes rhinoceros* SEBAGAI KANDIDAT AGENS HAYATI  
PENGENDALI HAMA PADA TANAMAN KELAPA SAWIT**

**Oleh**

**Amelia Putri Handayani**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN**

**pada**

**Jurusan Proteksi Tanaman  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2026**

Judul Skripsi : **EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI  
BAKTERI SIMBION *Oryctes rhinoceros*  
SEBAGAI KANDIDAT AGENS HAYATI  
PENGENDALI HAMA PADA TANAMAN  
KELAPA SAWIT**

Nama Mahasiswa : **Amelia Putri Handayani**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2214191020**

Jurusan : **Proteksi Tanaman**

Fakultas : **Pertanian**



I. Komisi Pembimbing

**Prof. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.**  
NIP. 198108152008122001

**Ir. Lestari Wibowo, M.P.**  
NIP. 196208141986102001

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman

**Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.**  
NIP. 198002082005011002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.



.....

Sekretaris : Ir. Lestari Wibowo, M.P.



.....

Penguji

Bukan Pembimbing : Ir. Solikhin, M.P.



.....



2. Dekan Fakultas Pertanian

Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.  
NIP. 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 11 Mei 2026

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul "**Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Symbion *Oryctes rhinoceros* sebagai Kandidat Agens Hayati Pengendali Hama pada Tanaman Kelapa Sawit**" merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain. Seluruh isi dan data yang terdapat dalam skripsi ini telah disusun sesuai dengan kaidah penulisan karya ilmiah yang berlaku di Universitas Lampung.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiasi, baik sebagian maupun seluruhnya, atau dibuat oleh pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 11 Juni 2026



**Amelia Putri Handayani**  
NPM. 2214191020

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Lampung Timur pada tanggal 1 Oktober 2004, sebagai anak perempuan dari pasangan Bapak Setyo Prihatmojo dan Ibu Milyana. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Negeri 1 Bumi Nabung Udik pada tahun 2016, pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Labuhan Ratu pada tahun 2019, dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Labuhan Ratu pada tahun 2022. Pada tahun 2022, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada tahun 2023, penulis melaksanakan kegiatan Praktik Pengenalan Pertanian (P3) di Kecamatan Candipuro, Kabupaten Lampung Selatan. Selanjutnya, pada tahun 2025 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Karang Endah, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah. Pada tahun yang sama, penulis juga melaksanakan Praktik Umum di Pusat Pelatihan Kelapa Sawit (PPKS) Unit Bogor, Jawa Barat.

Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis pernah menjadi asisten dosen pada kegiatan responsi Mata Kuliah Aplikasi IT. Selain itu, penulis juga aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota bidang eksternal pada periode 2023/2024 dan 2024/2025.

## PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Symbion *Oryctes rhinoceros* sebagai Kandidat Agens Hayati Pengendali Hama pada Tanaman Kelapa Sawit**". Skripsi ini penulis persembahkan sebagai bentuk rasa terima kasih kepada keluarga tercinta, yaitu Ayah Setyo Prihatmojo dan Ibu Milyana, serta Kakak Vicki Handika dan Agungan Sultoni, yang senantiasa memberikan kasih sayang, dukungan baik materiil maupun nonmateriil, serta doa yang tiada henti kepada penulis.

## MOTTO

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain).

Dan hanya kepada TUHAN mu lah engkau berharap"

(QS. Al-Insyirah, 6-8)

“Bertahan dalam sunyi, berjuang tanpa riuh, hingga semesta mengantarkan pada kata selesai.”

(Penulis)

“tidakkah letih kakimu berlari ada hal yang tak mereka mengerti beri waktu tuk bersandar sebentar selama ini kau hebat hanya kau tak didengar”

(Ghea Indrawari - Jiwa yang Bersedih)

## SANWACANA

Alhamdulillah rabbil'alamin, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Symbion *Oryctes rhinoceros* sebagai Kandidat Agens Hayati Pengendali Hama pada Tanaman Kelapa Sawit**". Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW yang syafaatnya senantiasa diharapkan di yaumul qiyamah kelak.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh banyak bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, yang telah memberikan fasilitas kepada mahasiswa dalam melaksanakan penelitian,
2. Bapak Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, yang telah memberikan fasilitas dalam penelitian dan penyusunan skripsi,
3. Ibu Prof. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku pembimbing utama sekaligus pembimbing akademik yang telah memberikan ilmu, motivasi, bimbingan, serta arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini,
4. Ibu Ir. Lestari Wibowo, M.P., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi kepada penulis,
5. Bapak Ir. Solikhin, M.P., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran, masukan, dan arahan dalam penyempurnaan skripsi ini,

6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan motivasi selama masa perkuliahan,
7. Diri penulis sendiri, atas segala keteguhan hati, kesabaran, dan perjuangan yang tidak mudah dalam menyelesaikan skripsi ini. Di tengah tanggung jawab merawat orang tua yang sedang sakit, bekerja untuk memenuhi kebutuhan serta membiayai proses penyusunan skripsi, penulis tetap berusaha bertahan, bangkit, dan tidak menyerah hingga akhirnya mampu menyelesaikan studi ini hingga selesai,
8. Ayah dan Ibuku yang menjadi motivasi terbesar untuk menyelesaikan skripsi ini. Kakak-kakakku Kiyay Vicky dan Aying Agungan, serta Om, Tante dan sepupuku Ami Ratna, Paksu Azuan, Bulek Ambar, dan Tante Ika yang telah menjadi motivasi, memberi doa dan semangatnya,
9. Tim penelitian Laboratorium Bioteknologi, FP Unila, serta tim PuRaYu, atas kebersamaan, bantuan, dan dukungan selama pelaksanaan penelitian,
10. Sahabat-sahabat penulis, Mifta, Rita, Retno, Abel, Ria, Nanad, Ulman, dan Indah, atas semangat dan dukungan yang diberikan, serta selalu mendengarkan keluh kesah penulis,
11. Keluarga besar Proteksi Tanaman, khususnya angkatan 2022, atas kebersamaan, kerja sama, dan kenangan yang telah dilalui bersama, dan
12. Seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan bagi masyarakat.

Bandar Lampung, 11 Juni 2026

Amelia Putri Handayani  
NPM. 2214191020

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Rumusan Masalah .....	5
1.5 Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tanaman Kelapa Sawit .....	6
2.2 Kumbang Tanduk.....	7
2.3 Bakteri Simbion Serangga sebagai Sumber Entomopatogen.....	8
2.4 Pengendalian Hayati Menggunakan Bakteri Entomopatogen .....	9
2.5 Bakteri Entomopatogen pada <i>O. rhinoceros</i> .....	10
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Alat dan Bahan.....	12
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.3.1 Penyiapan Media.....	13
3.3.2 Isolasi Bakteri Simbion <i>O. rhinoceros</i> .....	14
3.3.3 Karakterisasi Bakteri.....	15

3.3.7 Analisis Data.....	19
3.3.8 Identifikasi Molekuler.....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>21</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	21
4.1.1 Isolasi Bakteri Simbion Kumbang Tanduk ( <i>O. rhinoceros</i> ).....	21
4.1.2 Uji Biokimia.....	22
4.2 Pembahasan.....	34
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>37</b>
5.1 Simpulan .....	37
5.2 Saran .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Nilai <i>Disease Severity Index</i> (DSI) pada uji hipovirulen isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> . .....	26
2. Tiga isolat terpilih uji patogenisitas isolat bakteri simbion terhadap larva <i>T. Molitor</i> . .....	30
3. Pengaruh aplikasi simbion bakteri terhadap mortalitas larva <i>O. rhinoceros</i> . .....	33
4. Hasil uji biokimia bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> .....	43
5. Hasil uji pelarut fosfat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> terpilih .....	48
6. Data mortalitas larva <i>O. rhinoceros</i> .....	48
7. Hasil analisis ragam mortalitas larva <i>O. rhinoceros</i> .....	48
8. Data mortalitas terkoreksi larva <i>O. rhinoceros</i> .....	48
9. Hasil analisis ragam mortalitas terkoreksi larva <i>O. rhinoceros</i> .....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri .....	17
2. Sampel kumbang tanduk yang digunakan dalam proses isolasi bakteri simbion.....	21
3. Hasil uji Gram menggunakan metode KOH yang menunjukkan reaksi	22
4. Distribusi hasil uji Gram isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> .....	23
5. Hasil uji oksidatif/fermentif (O/F) .....	23
6. Distribusi hasil uji oksidatif/fermentasi (O/F) isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> .....	24
7. Distribusi hasil uji soft rot isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> .....	25
8. Hasil uji soft rot. ....	25
9. Hasil uji hipovirulen pada kecambah mentimun.....	28
10. Distribusi hasil uji hipersensitif isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> ..	28
11. Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau.....	29
12. Distribusi hasil uji potensi isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> sebagai entomopatogen terhadap serangga uji.....	30
13. Hasil uji patogenesis isolat bakteri simbion terhadap larva <i>T. molitor</i> .	30
14. Hasil uji pelarut fosfat.....	31
15. Distribusi hasil uji pelarut fosfat isolat bakteri simbion <i>O. rhinoceros</i> .	32
16. Uji patogenesis terhadap <i>O. rhinoceros</i> .....	32
17. Pohon filogenik hasil sekuens 16S rDNA menggunakan metode <i>Maximum likelihood Tree</i> menunjukkan isolat i4u2.6 berada dalam satu kelompok yang sama dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain BMT321(Bootstrap 63).....	33

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu komoditas perkebunan strategis di Indonesia yang berperan penting dalam meningkatkan perekonomian nasional. Komoditas ini memiliki produktivitas minyak yang tinggi sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pangan, kosmetik, farmasi, hingga bioenergi. Selain menjadi sumber devisa negara, perkebunan kelapa sawit juga menyediakan lapangan kerja dan mendukung pembangunan sektor agribisnis nasional (Rosmegawati, 2021). Namun demikian, produktivitas kelapa sawit sangat sering kali mengalami kendala akibat serangan organisme pengganggu tumbuhan (OPT), terutama hama kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*).

*Oryctes rhinoceros* merupakan salah satu hama utama pada tanaman kelapa sawit, khususnya pada fase pembibitan, tanaman belum menghasilkan, dan areal replanting. Serangan hama ini terjadi ketika larva maupun imago merusak jaringan muda dan titik tumbuh tanaman sehingga menyebabkan terbentuknya gejala khas berupa potongan daun berbentuk huruf “V”, pertumbuhan tanaman terhambat, bahkan kematian tanaman muda. Serangan berat dapat menurunkan produksi tandan buah segar hingga 69% pada tahun pertama dan menyebabkan kematian tanaman muda mencapai 20% (Lukmana dan Alamudi, 2018). Selain itu, kemampuan berkembang biak yang tinggi serta siklus hidup yang relatif panjang menyebabkan *O. rhinoceros* menjadi hama yang sulit dikendalikan dan berpotensi menimbulkan kerugian ekonomi secara berkelanjutan (Gunawan dkk., 2023).

Pengendalian *O. rhinoceros* di lapangan hingga saat ini masih banyak bergantung pada penggunaan pestisida kimia sintetis. Penggunaan pestisida memang mampu memberikan efek pengendalian yang cepat, namun aplikasi secara terus-menerus dan tidak terkendali dapat menimbulkan berbagai dampak negatif, seperti pencemaran lingkungan, terbunuhnya organisme non-target, residu pada lingkungan perkebunan, gangguan kesehatan manusia, serta munculnya resistensi hama terhadap bahan aktif tertentu (Sidabutar dkk., 2022). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengendalian yang lebih aman, efektif, dan berkelanjutan, salah satunya melalui pemanfaatan agens hayati berbasis mikroorganisme entomopatogen (Santi dkk., 2021).

Entomopatogen merupakan mikroorganisme yang mampu menginfeksi, menyebabkan penyakit, dan menimbulkan kematian pada serangga. Kelompok entomopatogen meliputi jamur, bakteri, virus, dan nematoda yang memiliki kemampuan menghambat perkembangan serangga hama melalui berbagai mekanisme, seperti produksi toksin, enzim hidrolitik, maupun kolonisasi jaringan tubuh serangga (Rahayu dkk., 2021). Selain ditemukan di lingkungan, beberapa entomopatogen diketahui hidup sebagai mikroorganisme simbiosis di dalam tubuh serangga inang. Mikroorganisme simbiosis tersebut dapat berperan dalam proses metabolisme, pencernaan, pertumbuhan, dan pertahanan inang terhadap patogen lain. Beberapa bakteri simbiosis bahkan diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder, toksin, serta enzim yang berpotensi bersifat entomopatogenik (Trianti dkk., 2023; Cahyono dkk., 2019).

Eksplorasi bakteri simbiosis dari tubuh serangga menjadi pendekatan yang prospektif dalam pengembangan agens hayati karena mikroorganisme tersebut telah beradaptasi secara alami dengan inangnya. Adaptasi tersebut memungkinkan bakteri simbiosis memiliki kemampuan kolonisasi, persistensi, dan aktivitas biologis yang lebih spesifik terhadap serangga target. Pada *O. rhinoceros*, bakteri simbiosis terutama ditemukan pada saluran pencernaan larva yang hidup pada bahan organik membusuk seperti tandan kosong kelapa sawit. Bakteri tersebut diketahui berperan dalam mendegradasi lignoselulosa dan membantu proses pencernaan bahan organik kompleks (Marheni dkk., 2021). Selain itu, beberapa

bakteri simbion dari *O. rhinoceros* dilaporkan memiliki aktivitas antagonistik dan potensi sebagai agens hayati.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai eksplorasi dan identifikasi bakteri simbion *O. rhinoceros* penting dilakukan untuk memperoleh kandidat agens hayati yang efektif dan ramah lingkungan dalam pengendalian hama kumbang tanduk pada tanaman kelapa sawit. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai keanekaragaman bakteri simbion pada *O. rhinoceros* serta mendukung pengembangan teknologi pengendalian hayati yang berkelanjutan pada perkebunan kelapa sawit.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri simbion yang terdapat pada tubuh *O. rhinoceros*, dan
2. Mengetahui potensi bakteri simbion hasil isolasi sebagai agens hayati dalam pengendalian hama *O. rhinoceros*.

## **1.3 Kerangka Pemikiran**

Kelapa sawit merupakan komoditas perkebunan bernilai ekonomi tinggi, namun produktivitasnya sering mengalami penurunan akibat serangan hama kumbang tanduk. Hama ini menyerang bagian titik tumbuh dan jaringan muda tanaman sehingga menyebabkan pertumbuhan terganggu dan produksi menurun (Gunawan dkk., 2023). Pengendalian yang umum dilakukan oleh petani masih mengandalkan pestisida kimia sintesis karena dianggap praktis dan cepat dalam menekan populasi hama. Akan tetapi, penggunaan pestisida secara intensif dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, kesehatan manusia, serta memicu resistensi hama. Oleh sebab itu, diperlukan alternatif pengendalian yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan melalui pemanfaatan agens hayati (Hendarjanti, 2021).

Salah satu sumber agens hayati yang potensial adalah mikroorganisme simbion yang hidup di dalam tubuh serangga. Mikroorganisme simbion memiliki hubungan yang erat dengan inangnya sehingga berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif, toksin, maupun enzim yang dapat memengaruhi fisiologi dan kelangsungan hidup serangga. Bakteri simbion pada *O. rhinoceros* diketahui berperan dalam membantu proses degradasi bahan organik kompleks pada saluran pencernaan larva, terutama pada habitat yang kaya lignoselulosa seperti tandan kosong kelapa sawit (Marheni dkk., 2021). Selain membantu proses pencernaan, beberapa bakteri simbion juga dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang berpotensi dimanfaatkan sebagai agens hayati.

Penelitian Surbakti *et al.* (2025) menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus stercoris* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari usus larva *O. rhinoceros* memiliki kemampuan antagonistik terhadap *Ganoderma boninense* secara *in vitro*. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa bakteri simbion *O. rhinoceros* mampu menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antimikroba dan berpotensi dikembangkan sebagai agen pengendali hayati (Anil *et al.*, 2024). Dengan demikian, eksplorasi dan identifikasi bakteri simbion dari tubuh *O. rhinoceros* menjadi langkah penting untuk menemukan kandidat bakteri yang berpotensi sebagai entomopatogen maupun agens hayati pengendali hama.

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan isolasi bakteri simbion dari tubuh *O. rhinoceros*, identifikasi karakter morfologi dan molekuler bakteri, serta pengujian potensi bakteri sebagai agens hayati. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keragaman bakteri simbion *O. rhinoceros* dan menghasilkan kandidat bakteri potensial yang dapat dikembangkan sebagai alternatif pengendalian hama kumbang tanduk secara ramah lingkungan dan berkelanjutan.

#### 1.4 Rumusan Masalah

1. Jenis bakteri simbiosis apa saja yang terdapat pada tubuh *O. rhinoceros*?
2. Apakah bakteri simbiosis *O. rhinoceros* memiliki potensi sebagai agens hayati dalam pengendalian hama *O. rhinoceros*?

#### 1.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat bakteri simbiosis pada tubuh *O. rhinoceros* yang berpotensi sebagai agens hayati pengendali hama, dan
2. Bakteri simbiosis *O. rhinoceros* memiliki kemampuan sebagai agens hayati dalam menekan populasi *O. rhinoceros*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kelapa Sawit

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas perkebunan utama di Indonesia yang memiliki kontribusi besar terhadap perekonomian nasional. Komoditas ini berperan sebagai sumber devisa negara, penyedia lapangan kerja, serta bahan baku berbagai industri, seperti pangan, kosmetik, farmasi, dan bioenergi (Maysaroh dkk., 2022). Tingginya produktivitas minyak nabati yang dihasilkan menjadikan kelapa sawit sebagai komoditas strategis yang terus dikembangkan di berbagai wilayah Indonesia.

Secara taksonomi, klasifikasi kelapa sawit menurut Pahan (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Embryophita Siphonagama  
Kelas : Angiospermae  
Ordo : Arecales  
Famili : Arecaceae  
Subfamily : Coccoideae  
Genus : *Elaeis*  
Species : *Elaeis guineensis* Jacq.

Tanaman kelapa sawit memiliki sistem perakaran serabut, batang tunggal yang tidak bercabang, serta daun majemuk menyirip. Buah kelapa sawit tersusun dalam tandan dan menghasilkan minyak sawit mentah atau *crude palm oil* (CPO) yang bernilai ekonomi tinggi. Dengan luas areal perkebunan yang mencapai jutaan hektar, Indonesia menjadi salah satu produsen CPO terbesar di dunia (Ningsih dkk., 2020).

Meskipun memiliki produktivitas tinggi, budidaya kelapa sawit menghadapi berbagai kendala, salah satunya serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). Serangan hama dapat menurunkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman, terutama pada fase tanaman belum menghasilkan. Salah satu hama penting pada tanaman kelapa sawit adalah kumbang tanduk, *O. rhinoceros*, yang menyerang titik tumbuh dan jaringan muda tanaman sehingga menyebabkan kerusakan serius pada pertumbuhan tanaman.

## 2.2 Kumbang Tanduk

Kumbang tanduk merupakan salah satu hama utama pada tanaman kelapa dan kelapa sawit yang tersebar luas di daerah tropis, termasuk Indonesia. Hama ini termasuk ke dalam famili Scarabaeidae dan dikenal mampu menyebabkan kerusakan berat pada tanaman muda maupun tanaman dewasa. Tingkat kerusakan akibat serangan *O. rhinoceros* dilaporkan dapat mencapai 80% pada tanaman kelapa dan menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan pada perkebunan kelapa sawit (Fauzana dan Ustadi, 2022).

Klasifikasi *O. rhinoceros* menurut USDA (2025) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Klas	: Insecta
Ordo	: Coleoptera
Famili	: Scarabaeidae
Genus	: <i>Oryctes</i>
Spesies	: <i>Oryctes rhinoceros</i>

Siklus hidup *O. rhinoceros* terdiri atas fase telur, larva, pupa, dan imago. Larva berkembang pada bahan organik yang membusuk seperti batang kelapa, tandan kosong kelapa sawit, dan kompos organik. Imago bersifat nokturnal dan aktif pada malam hari serta tertarik terhadap cahaya. Serangan kumbang terjadi dengan cara menggerek pucuk dan jaringan muda tanaman sehingga menimbulkan gejala

khas berupa daun muda yang robek membentuk huruf “V” atau menyerupai kipas saat membuka (Sahetapy dkk., 2018).

Kerusakan akibat serangan kumbang tanduk dapat menghambat pertumbuhan tanaman, menurunkan produktivitas, serta menyebabkan kematian tanaman muda pada serangan berat. Pada tanaman menghasilkan, serangan juga dapat menurunkan kualitas tandan buah dan memperlambat masa panen (Anggini dkk., 2022). Selain dikenal sebagai hama penting, *O. rhinoceros* juga diketahui memiliki komunitas mikroorganisme simbiosis, terutama pada saluran pencernaan. Mikroorganisme tersebut berperan dalam membantu proses degradasi bahan organik kompleks dan berpotensi menghasilkan metabolit yang dapat dimanfaatkan dalam pengendalian hayati.

### **2.3 Bakteri Simbiosis Serangga sebagai Sumber Entomopatogen**

Serangga memiliki hubungan simbiosis dengan berbagai mikroorganisme yang hidup di dalam tubuhnya, terutama pada saluran pencernaan. Mikroorganisme simbiosis tersebut berperan penting dalam membantu metabolisme, sintesis nutrisi, detoksifikasi senyawa berbahaya, serta perlindungan terhadap patogen lain (Fan dkk., 2025). Selain fungsi fisiologis tersebut, beberapa bakteri simbiosis diketahui mampu menghasilkan senyawa bioaktif berupa toksin, enzim hidrolitik, peptida antimikroba, dan metabolit sekunder lainnya yang berpotensi dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati.

Pada larva *O. rhinoceros* telah ditemukan berbagai jenis bakteri simbiosis, antara lain *Bacillus stratosphericus*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus cereus*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Achromobacter xylosoxidans*, dan *Alcaligenes faecalis* (Marheni dkk., 2021). Bakteri tersebut diketahui mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti lipopeptida dan senyawa antimikroba yang berperan dalam aktivitas biokontrol. Sebagai contoh, *Bacillus siamensis* dilaporkan menghasilkan senyawa lipopeptida yang efektif menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* (Marheni dkk., 2019).

Selain memiliki aktivitas antagonistik terhadap patogen tanaman, beberapa bakteri simbiosis juga berpotensi sebagai entomopatogen. Bakteri entomopatogen mampu menginfeksi serangga melalui saluran pencernaan maupun hemocoel, kemudian berkembang biak dan menghasilkan toksin yang menyebabkan kerusakan jaringan, gangguan fisiologis, hingga kematian serangga. Oleh karena itu, bakteri simbiosis pada *O. rhinoceros* memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai agens hayati dalam pengendalian hama kumbang tanduk.

#### **2.4 Pengendalian Hayati Menggunakan Bakteri Entomopatogen**

Pengendalian hayati merupakan salah satu komponen penting dalam konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT) yang bertujuan menjaga populasi hama tetap berada di bawah ambang ekonomi dengan mempertimbangkan aspek ekologi, ekonomi, dan sosial (Pu'u dan Syatrawati, 2022). Strategi ini memanfaatkan musuh alami, seperti predator, parasitoid, serta entomopatogen, termasuk bakteri entomopatogen.

Penggunaan pestisida sintetis yang berlebihan dalam sistem pertanian konvensional sering menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan organisme non-target, termasuk musuh alami hama. Selain menyebabkan pencemaran lingkungan, penggunaan pestisida secara terus-menerus juga dapat memicu resistensi hama dan menurunkan keanekaragaman hayati agroekosistem (Herlinda, 2020).

Bakteri entomopatogen memiliki beberapa keunggulan, antara lain spesifik terhadap serangga target, relatif aman bagi organisme non-target, mudah diperbanyak, serta mampu menghasilkan toksin dan enzim yang efektif dalam membunuh serangga hama (Salaki dan Tarore, 2018). Mekanisme infeksi bakteri entomopatogen dimulai ketika bakteri masuk ke dalam tubuh serangga melalui mulut, spirakel, atau luka pada kutikula. Setelah berhasil masuk, bakteri berkembang biak di dalam hemocoel dan menghasilkan toksin maupun enzim hidrolitik yang merusak jaringan tubuh serangga. Proses tersebut menyebabkan septisemia, kelumpuhan, hingga kematian serangga (Rini dkk., 2018).

Dengan kemampuan tersebut, bakteri entomopatogen yang berasal dari simbion *O. rhinoceros* berpotensi dikembangkan sebagai agens hayati dalam pengendalian hama kumbang tanduk pada tanaman kelapa sawit. Pemanfaatan bakteri lokal yang berasal dari inang yang sama diharapkan memiliki kemampuan adaptasi dan efektivitas yang lebih tinggi dalam menekan populasi hama target.

### **2.5 Bakteri Entomopatogen pada *O. rhinoceros***

Bakteri entomopatogen merupakan kelompok bakteri yang mampu menginfeksi, berkembang biak, dan menyebabkan kematian serangga melalui produksi toksin maupun enzim perusak jaringan. Beberapa genus bakteri entomopatogen yang umum dilaporkan meliputi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, dan *Burkholderia* yang diketahui memiliki aktivitas toksik terhadap berbagai jenis serangga (Lacey dkk., 2015).

Pada serangga penggerek dan kumbang tanah, bakteri entomopatogen sering ditemukan sebagai mikroorganisme simbion alami yang hidup pada saluran pencernaan. Keberadaan bakteri tersebut berkaitan dengan kemampuan serangga dalam mencerna bahan organik kompleks dan mempertahankan keseimbangan fisiologis tubuh. Namun, dalam kondisi tertentu, bakteri simbion juga dapat berperan sebagai patogen bagi inangnya maupun serangga lain (Shelomi dan Chen, 2020).

Beberapa penelitian telah melaporkan keberadaan bakteri potensial pada *O. rhinoceros*. Marheni dkk. (2021) berhasil mengisolasi beberapa bakteri dari usus larva *O. rhinoceros*, antara lain *Bacillus cereus*, *Bacillus siamensis*, *Achromobacter xylosoxidans*, dan *Alcaligenes faecalis*. Beberapa isolat tersebut diketahui mampu menghasilkan enzim hidrolitik seperti protease, kitinase, dan lipase yang berperan dalam degradasi jaringan serangga. Enzim kitinase, misalnya, mampu merusak kutikula serangga yang tersusun atas kitin sehingga mempermudah penetrasi bakteri ke dalam tubuh inang.

Selain menghasilkan enzim hidrolitik, bakteri dari genus *Bacillus* juga diketahui mampu menghasilkan toksin kristal dan metabolit sekunder yang bersifat

insektisidal. Toksin tersebut dapat menyebabkan kerusakan saluran pencernaan, gangguan metabolisme, dan kematian serangga. Sementara itu, bakteri *Pseudomonas* menghasilkan senyawa toksik seperti phenazine dan hydrogen cyanide yang dapat menghambat sistem respirasi serangga (Ruiu, 2015).

Infeksi bakteri entomopatogen pada *O. rhinoceros* umumnya terjadi melalui saluran pencernaan. Setelah tertelan, bakteri berkembang dalam hemocoel dan menghasilkan toksin serta enzim yang menyebabkan septisemia. Gejala infeksi biasanya ditandai dengan perubahan warna tubuh, penurunan aktivitas, tubuh menjadi lunak, hingga kematian larva atau imago (Rini dkk., 2018).

Keberadaan bakteri entomopatogen simbion pada *O. rhinoceros* membuka peluang besar dalam pengembangan agens hayati pengendali hama. Mikroorganisme yang berasal dari inang yang sama memiliki kemampuan adaptasi yang lebih baik terhadap lingkungan serangga target dan cenderung memiliki spesifisitas tinggi. Oleh karena itu, eksplorasi dan identifikasi bakteri entomopatogen simbion dari *O. rhinoceros* menjadi langkah penting dalam pengembangan teknologi pengendalian hayati yang efektif, ramah lingkungan, dan berkelanjutan pada tanaman kelapa sawit.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2025 sampai April 2026 di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sampel *O. rhinoceros* dikoleksi dari beberapa lokasi perkebunan sawit di provinsi Lampung, yaitu Kabupaten Lampung Selatan, Lampung Tengah, dan perusahaan PTPN VII Bekri.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, tabung reaksi, botol semprot, erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, bunsen, jarum ose, timbangan digital, pinset, skapel, nampan plastik, gunting, *Laminar air Flow* (LAF), mikropipet dan tip, mikrotube, autoklaf, microwave, vortex, serta spidol.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi *Phosphate Buffer Salin* (PBS), media *Yeast Pepton Agar* (YPA), media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA), media Oksidatif/Fermentatif (O/F), media Pikovskaya, media Water Agar (WA), alkohol 70%, larutan natrium hipoklorit (klorok), akuades steril, tisu steril, aluminium foil, plastik wrap, plastik tahan panas, karet gelang, kapas, minyak parafin, benih mentimun, larva *Tenebrio molitor*, dan larva *O. rhinoceros*.

### **3.3 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.3.1 Penyiapan Media**

##### **3.3.1.1 Media YPA**

Media YPA digunakan untuk isolasi bakteri dengan komposisi 10 g pepton, 5 g yeast, 20 g agar, dan 1000 mL akuades. Semua bahan dicampurkan dan dipanaskan hingga larut sempurna, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

##### **3.3.1.2 *Phosphate Buffer Salin (PBS)***

Larutan digunakan sebagai larutan penyangga fisiologis untuk menjaga kestabilan pH dan kondisi osmotik selama proses isolasi bakteri. PBS dibuat dari 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dan akuades hingga volume 1000 mL. pH larutan disesuaikan menjadi 7,2–7,4 kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

##### **3.3.1.3 Media PPGA**

Media PPGA digunakan untuk peremajaan isolat bakteri. Media dibuat dari 200 g kentang, 5 g pepton, 3 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 3 g NaCl, 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 g glukosa, 20 g agar, dan 1000 mL akuades. Seluruh bahan dicampurkan dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan aluminium foil, kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

##### **3.3.1.4 Media WA**

Media WA dibuat dari 20 g agar dan 1000 mL akuades. Campuran dipanaskan hingga homogen, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

### 3.3.1.5 Media Oksidatif Fermentatif (O/F)

Media O/F digunakan untuk mengetahui sifat metabolisme bakteri secara oksidatif atau fermentatif. Media dibuat dari 9,38 g O/F basal medium, 10 g glukosa, dan 1000 mL akuades. Campuran dipanaskan hingga larut, kemudian dibagi sebanyak 4 mL per tabung reaksi dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

### 3.3.1.6 Media Pikovskaya

Media Pikovskaya digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat. Media dibuat dari 31,3 g media bubuk Pikovskaya, 2 g agar, dan 1000 mL akuades, kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

### 3.3.2 Isolasi Bakteri Symbion *O. rhinoceros*

Larva dan imago *O. rhinoceros* dikoleksi dari perkebunan kelapa sawit rakyat dan perusahaan. Pada setiap lokasi pengambilan sampel dikoleksi enam ekor serangga yang terdiri atas tiga larva dan tiga imago.

Permukaan tubuh serangga disterilisasi secara bertingkat menggunakan larutan klorok 1%, alkohol 70%, dan akuades steril masing-masing sebanyak tiga kali, kemudian dikeringkan menggunakan tisu steril. Saluran pencernaan serangga diambil secara aseptik menggunakan pinset dan skapel steril, lalu dihancurkan dalam 300 µL PBS steril.

Suspensi hasil homogenisasi digoreskan pada media YPA menggunakan metode gores dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan menggunakan metode gores kuadran hingga diperoleh isolat tunggal. Isolat murni kemudian diremajakan pada media PPGA sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut.

### **3.3.3 Karakterisasi Bakteri**

#### **3.3.3.1 Uji Gram Metode KOH 3%**

Uji Gram dilakukan menggunakan metode KOH 3%. Sebanyak satu tetes larutan KOH 3% diteteskan pada kaca objek, kemudian ditambahkan satu ose isolat bakteri dan diaduk perlahan. Apabila terbentuk lendir saat ose diangkat, maka isolat termasuk Gram negatif. Sebaliknya, jika tidak terbentuk lendir, maka isolat termasuk Gram positif.

#### **3.3.3.2 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)**

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam dua tabung media O/F. Salah satu tabung ditutup menggunakan minyak parafin sebanyak 1 mL untuk menciptakan kondisi anaerob. Inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang. Perubahan warna pada kedua tabung menunjukkan sifat fermentatif, sedangkan perubahan warna hanya pada tabung tanpa parafin menunjukkan sifat oksidatif.

#### **3.3.3.3 Uji *Soft rot***

Umbi kentang dipotong dengan ketebalan  $\pm 1$  cm, dicuci menggunakan air mengalir selama 30 menit, kemudian ditempatkan pada cawan petri yang telah dilapisi tisu lembab steril. Satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada bagian tengah irisan kentang dan diinkubasi selama 24–48 jam. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gejala pembusukan pada area inokulasi.

#### **3.3.3.4 Uji Hipovirulen**

Benih mentimun direndam dalam air hangat selama 30 menit, kemudian disterilisasi menggunakan alkohol selama 15 menit dan larutan klorok selama 30 detik. Benih dicuci menggunakan akuades steril dan dikecambahkan. Setelah berkecambah selama satu hari, bibit dipindahkan ke media WA.

Suspensi bakteri dibuat dari satu ose isolat dalam 1 mL air steril, kemudian sebanyak 10  $\mu$ L suspensi diteteskan pada bagian hipokotil kecambah. Pengamatan dilakukan selama 14 hari dengan menggunakan skoring gejala penyakit. Indeks keparahan penyakit dihitung menggunakan rumus:

$$DSI = \frac{\sum N}{Z}$$

Keterangan:

- DSI = *Disease Severity Index* (Indeks Keparahan Penyakit),
- N = Nilai tingkat keparahan penyakit tiap individu, dan
- Z = Jumlah individu yang diamati.

Skor keparahan penyakit:

- 0 = sehat, tanpa gejala,
- 1 = bercak coklat muda (<0,25 cm),
- 2 = bercak coklat terang (0,25–0,5 cm), luas  $\leq 10\%$ ,
- 3 = bercak coklat gelap ( $\geq 1$  cm), luas 10–100%, dan
- 4 = bercak hitam pada hipokotil, daun layu, bibit mati.

Isolat dinyatakan hipovirulen apabila nilai DSI < 2,0.

### 3.3.3.5 Uji Hipersensitif

Suspensi bakteri murni sebanyak 300  $\mu$ L diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau berumur satu bulan menggunakan syringe tanpa jarum. Reaksi hipersensitif positif ditandai dengan terbentuknya nekrosis pada area infiltrasi.

### 3.3.4 Uji Potensi sebagai Entomopatogen terhadap Serangga Uji

Larva *T. molitor* instar 3 digunakan sebagai serangga uji awal untuk seleksi potensi entomopatogen. Suspensi bakteri dengan kepadatan  $\pm 10^7$  CFU/mL disiapkan dari kultur berumur 24 jam.

Suspensi disemprotkan pada larva menggunakan botol semprot sebanyak 1,5 mL dengan jarak penyemprotan  $\pm 5$  cm. Penelitian dilakukan dengan tiga ulangan, masing-masing terdiri atas 20 larva. Mortalitas diamati setiap hari selama 14 hari. Tiga isolat dengan tingkat mortalitas tertinggi dipilih untuk pengujian lanjutan.

### 3.3.5 Uji Pelarut Fosfat

Tiga isolat bakteri terpilih digoreskan pada media Pikovskaya dan diinkubasi selama tujuh hari. Aktivitas pelarutan fosfat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening yang terbentuk digambar di atas plastik transparan menggunakan spidol, kemudian luas zona diukur dengan kertas milimeterblok (Gambar 1).

Indeks pelarut fosfat dihitung dengan (Widawati, 2015):

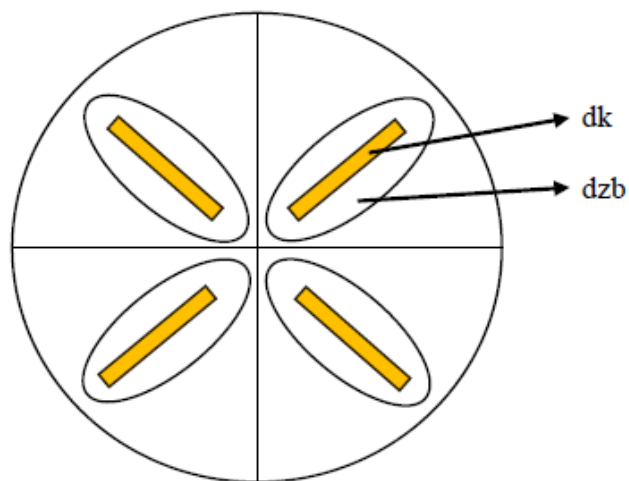
$$\text{Indeks Pelarut Fosfat} = \frac{dk + dzb}{dk}$$

Dengan keterangan:

IPF = Indeks pelarut fosfat,  
 dk = luas koloni bakteri, dan  
 dzb = luas zona bening.

Nilai indeks pelarut fosfat dikategorikan sebagai berikut:

$0 \geq 1$  = sangat rendah,  
 $1 \geq 2$  = rendah,  
 $2 \geq 3$  = sedang, dan  
 $> 3$  = tinggi.



Gambar 1. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri: (a) diameter koloni (dk) dan (b) diameter zona bening (dzb).

### 3.3.6 Uji Patogenisitas terhadap *O. rhinoceros*

Uji patogenisitas dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri entomopatogen dalam menginfeksi dan menyebabkan kematian pada larva *O. rhinoceros* instar 3. Larva yang digunakan dipilih dalam kondisi sehat, aktif bergerak, dan memiliki ukuran relatif seragam.

Suspensi bakteri disiapkan dari kultur berumur 24 jam dalam media *YP Broth* dan diinkubasi menggunakan *shaker* selama 24 jam. Kultur kemudian diperbanyak dalam 295 mL *YP Broth* hingga mencapai kepadatan sekitar  $\pm 10^7$  CFU/mL.

Suspensi bakteri diaplikasikan menggunakan botol semprot sebanyak  $\pm 25$  mL untuk setiap empat ekor larva dengan jarak penyemprotan  $\pm 5$  cm. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat ulangan. Setiap unit percobaan terdiri atas 12 ekor larva yang dipelihara dalam wadah berukuran 1 L berisi media serbuk kayu atau kompos.

Pengamatan dilakukan setiap hari selama 28 hari untuk mencatat mortalitas larva. Individu yang memperlihatkan gejala khas akibat infeksi bakteri, seperti tubuh lemas, perubahan warna, atau keluarnya cairan, dihitung sebagai larva terinfeksi. Data kematian dianalisis guna mengetahui tingkat patogenisitas bakteri terhadap kumbang tanduk kelapa. Persentase mortalitas larva uji dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Mortalitas (\%)} = \left( \frac{\Sigma \text{serangga yang mati}}{\Sigma \text{serangga uji}} \right) \times 100\%$$

Apabila terjadi kematian pada kontrol kurang dari 20%, maka dilakukan koreksi menggunakan rumus Abbot (1925) yaitu:

$$\text{MT} = \frac{(X - Y)}{(100 - Y)} \times 100\%$$

Keterangan:

MT = Kematian terkoreksi,

X = Persentase kematian pada perlakuan, dan

Y = Persentase kematian pada kontrol.

### 3.3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa mortalitas larva *O. rhinoceros* dianalisis homogenitasnya menggunakan Uji Bartlett dan aditivitas data menggunakan Uji Tukey. Apabila data memenuhi asumsi homogen dan aditif, maka dilakukan analisis ragam (ANOVA). Jika hasil ANOVA menunjukkan pengaruh nyata pada taraf 5% ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

### 3.3.8 Identifikasi Molekuler

#### 3.3.8.1 Ekstraksi DNA

Isolat bakteri berumur 24 jam pada media PPGA diambil sebanyak satu ose dan dimasukkan ke dalam tabung mikrotube 1,5 mL yang berisi 20  $\mu$ L buffer TE. Sampel ditambahkan 10  $\mu$ L SDS 10% dan 3  $\mu$ L proteinase K, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama satu jam. Selanjutnya ditambahkan 100  $\mu$ L NaCl dan 80  $\mu$ L CTAB 7%, kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 10–15 menit. Sebanyak 720  $\mu$ L campuran kloroform:isoamil alkohol ditambahkan ke dalam sampel dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama lima menit.

Supernatan dipindahkan ke tabung baru dan ditambahkan isopropanol 60%, kemudian diinkubasi dalam freezer selama 20 menit. Sampel disentrifugasi kembali, pelet DNA dicuci menggunakan etanol 70%, dikeringkan, lalu dilarutkan dalam 20  $\mu$ L buffer TE. Hasil ekstraksi DNA dievaluasi menggunakan elektroforesis.

#### 3.3.8.2 Amplifikasi PCR

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer universal 16S rRNA, yaitu primer fD1 (5'-CCG AAT TCG TCG ACA ACG AGT TTG ATC CTG GCT CAG-3') dan rP2 (5'-CCC GGG ATC CAA GCT TAA GGA GGT GAT CCA GCC GCA-3').

Komposisi reaksi PCR terdiri atas 12,5  $\mu\text{L}$  Master Mix (Red Mix, Bioline), masing-masing 1  $\mu\text{L}$  primer forward dan reverse, 1  $\mu\text{L}$  DNA template, serta akuades steril hingga volume total 25  $\mu\text{L}$ . Program PCR meliputi tahap pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 30 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 1 menit, annealing pada 58°C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit. Tahap akhir berupa ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

#### **3.3.8.3 Elektroforesis dan Visualisasi PCR**

Produk PCR divisualisasikan menggunakan gel agarosa 0,5% dalam buffer TBE yang ditambahkan etidium bromida (EtBr 10 mg/mL). DNA marker sebanyak 3  $\mu\text{L}$  dimasukkan ke sumur pertama, sedangkan sampel DNA hasil PCR dimasukkan ke sumur lainnya setelah dicampur dengan loading dye. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 Volt selama 60–70 menit. Pita DNA diamati menggunakan Digi-Doc Imaging System.

#### **3.3.8.4 Skuensing dan Analisis**

Produk PCR yang berhasil diamplifikasi dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk proses sekuensing. Data sekuens yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak MEGA dan dibandingkan dengan data sekuens pada GenBank menggunakan program BLAST untuk menentukan identitas isolat bakteri.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Penelitian ini berhasil mengisolasi 94 bakteri simbion dari tubuh *O. rhinoceros* yang terdiri atas bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan dominasi bakteri fermentatif. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa salah satu isolat potensial memiliki kedekatan genetik dengan *Pseudomonas aeruginosa*, dan
2. Beberapa isolat bakteri simbion menunjukkan potensi sebagai agens hayati terhadap *O. rhinoceros*, terutama isolat (27,7%), i2i2.1 (20,9%), dan i4u2.6 (25,2%) yang mampu menyebabkan mortalitas larva tertinggi serta bersifat hipovirulen dan tidak memicu reaksi hipersensitif pada tanaman indikator.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian lanjutan meliputi identifikasi molekuler seluruh isolat potensial, karakterisasi senyawa toksik dan enzimatik, serta uji efektivitas dan keamanan hayati pada skala rumah kaca dan lapangan sebelum dikembangkan sebagai agens pengendali hayati.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggini, P. S., Wahyudi, L., dan Mantiri, F. R. 2022. Efektivitas feromon terhadap interest kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) pada tanaman kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Bios Logos*. 12(1): 71-79.
- Andriani, V., Ajiningrum, P. S., and Hanifah, R. P. 2025. Antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* against *Curvularia* sp. causing leaf spot disease in maize. *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*. 18(1): 21-28.
- Anil, Subramanian, S., Nysanth, N. S., Ramesh, K. B., and Rana, A. 2024. Diversity of culturable bacteria in gut of white grub *Maladera insanabilis* (Brenske). *Indian Journal of Entomology*. 10(1): 1-8.
- Argôlo-Filho, R. C. and Loguercio, L. L. 2013. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. *Insects*. 5(1): 62-91.
- Arviyanto, A., Suryanti, S., dan Soebroto, S. P. 2024. Pengaruh populasi dan intensitas serangan hama kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) terhadap pertumbuhan tanaman kelapa sawit belum menghasilkan. *Agroforetech*. 2(2): 673-681.
- Cahyono, A., Purnawati, A., Mudjoko, T., dan Mardiyani, P. 2019. Uji Patogenesitas beberapa isolat bakteri simbion nematoda entomopatogen terhadap larva krop kubis *Crociodolomia pavonana*. *Plumula: Berkala Ilmiah Agroteknologi*. 7(2): 55-63.
- Chrisendo, D., Siregar, H., and Qaim, M. 2021. Oil palm and structural transformation of agriculture in Indonesia. *Agricultural Economics*. 52(5): 849-862.
- Fan, F., Wang, Z., Luo, Q., Liu, Z., Xiao, Y., and Ren, Y. 2025. Medical Potential of Insect Symbionts. *Insects*. 16(5): 457.
- Fauzana, H. dan Ustadi, U. 2020. Pertumbuhan larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) pada berbagai media tumbuh tanaman Famili Arecaceae. *Indonesian Journal of Entomology*. 17(2): 89-96.

- Finanda, A., Mukarlina, M., dan Rahmawati, R. 2021. Isolasi dan karakterisasi genus bakteri asam laktat dari fermentasi daging buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Protobiont*. 10(2): 37-41.
- Gunawan, M., Tarmadja, S., dan Wilisiani, F. 2023. Pengelolaan hama *Oryctes rhinoceros* di Perkebunan Kelapa Sawit Kebun Aek Nabara, PT. Supra Matra Abadi. *Agroforetech*. 1(2): 959-964.
- Hardi, E. H., Pebrianto, C. A., dan Septian, G. 2014. Toksisitas produk ekstraseluler dan intraseluler bakteri *Pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. 15(3): 312-322.
- Hendarjanti, H. 2021. Potensi dan upaya mempertahankan keefektifan beberapa entomopatogen dalam mengendalikan larva *Oryctes rhinoceros* Linn. di perkebunan kelapa sawit. In *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. 9: 411-425.
- Herlinda, S. 2020. Pemanfaatan musuh alami untuk pengendalian hayati hama tanaman pangan dan sayuran guna mendukung keberhasilan pertanian organik. In *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. 1: 39-46.
- Lacey, L. A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frutos, R., Brownbridge, M., and Goettel, M. S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of invertebrate pathology*. 132: 1-41.
- Lukmana, M. dan Alamudi, F. 2018. Intensitas serangan hama kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) pada tanaman kelapa sawit belum menghasilkan di PT Barito Putera Plantation. *Agrisains*. 4(1): 11-15.
- Maulinda, R., Hanifah, W. N., dan Listihani, L. 2026. Skrining isolat bakteri pelarut kalium melalui uji hipersensitivitas, uji hemolisis, serta pengujian viabilitas. *Agrotrop: Journal on Agriculture Science*. 16(1): 40-48.
- Marheni dan Lubis, L. 2019. Bacteria symbion landscape (*Oryctes rhinoceros* L.) as a bioactivator for oil palm empty fruit bottle for organic mulsa. *Abdimas Talenta: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 4(2): 391-398.
- Marheni, Martono, E., and Sijabat, O. S. 2021. Exploration of symbiotic bacteria of *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae from oil palm empty fruit bunches. *Agrivita: Journal of Agricultural Science*. 43(1): 190-197.
- Maysaroh, U., Martono, E., dan Harjaka, T. 2022. The potency of *Metarhizium anisopliae* in disturbing *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) Growth and Development. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 26(1): 51-56.
- Ningsih, T., Maharany, R., dan Fuadh, S. K. 2020. Analisa produktivitas kelapa sawit di dataran tinggi Kebun Bah Birong Ulu-PT. Perkebunan Nusantara IV. *Jurnal Agrium*. 17(1): 45-50.

- Pahan, I. 2015. *Panduan Teknis Budidaya Kelapa Sawit untuk Praktisi Perkebunan*. Cetakan Keempat. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Parlindo, F., dan Septia, E. D. 2019. Keanekaragaman dan sebaran mikroba endofit indigenous pada tanaman kedelai (*Glycine max L. Merril*). *Agriprima*. 1(3): 1-14.
- Pu'u, Y. M. dan Syatrawati, S. 2022. Potensi pengendalian hayati hama *Spodoptera frugiperda* untuk keberlanjutan produksi jagung. *Agrica*. 15(2): 144-160.
- Rahayu, M., Susanna, S., dan Hasnah, H. 2021. Potensi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (isolat lokal) dalam mengendalikan hama ordo Coleoptera. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 6(2): 155-165.
- Reimena, R., Erina, E., Darniati, D., Fakhurrazi, F., Darmawi, D., dan Budiman, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria genus *Pediococcus* from Sumatran Orangutan (*Pongo abelii*) faeces at Kandi Zoo and Kinantan Zoo West Sumatera. *Jurnal Medika Veterinaria*. 11(1): 59-65.
- Rini, M. S., Rahadian, R., Hadi, M., dan Zulfiana, D. 2018. Uji efikasi beberapa isolat bakteri entomopatogen terhadap kecoa (Orthoptera) *Periplaneta americana* L. dan *Blattella germanica* L. dalam skala laboratorium. *Jurnal Biologi Tropika*. 1(1): 1-7.
- Rosmegawati, R. 2021. Peran aspek teknologi pertanian kelapa sawit untuk meningkatkan produktivitas produksi kelapa sawit. *Jurnal Agrisia*. 13(2): 74-80.
- Ruiu, L. 2015. Insect pathogenic bacteria in integrated pest management. *Insects*. 6(2): 352-367.
- Saida, S., Samsul, N., dan Edy, E. 2024. Isolasi dan uji aktivitas bakteri pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman padi (*Oryza sativa L.*) Pada fase vegetatif dan generatif. *AGROTEK: Jurnal Ilmiah Ilmu Pertanian*. 8(2): 147-155.
- Salaki, C. L. dan Tarore, D. 2018. Prospek pemanfaatan biopestisida bakteri entomopatogenik isolat lokal sebagai agen pengendali hayati hama tanaman sayuran. *Eugenia*. 24(2): 97-97.
- Santi, I. S., Kristalisasi, E. N., dan Singh, K. R. 2021. Efektifitas orynet trap terhadap hasil tangkapan kumbang tanduk pada tanaman kelapa sawit belum menghasilkan. *AGROISTA: Jurnal Agroteknologi*. 5(2): 82-93.
- Sahetapy, B., Masauna, E. D., dan Luhukay. R. 2018. Uji efektivitas perangkap feromon terhadap hama *Oryctes rhinoceros* L. dan intensitas kerusakan pada tanaman kelapa di Desa Latuhalat, Kecamatan Nusaniwe, Pulau Ambon. *Jurnal Agrikultura*. 29(1): 19-25.

- Shelomi, M. and Chen, M. J. 2020. Culturing-enriched metabarcoding analysis of the *Oryctes rhinoceros* gut microbiome. *Insects*. 11(11): 2-13.
- Sidabutar, M., Nuraida, N., dan Sofian, A. 2022. Patogenisitas jamur *Trichoderma viride* terhadap hama larva kumbang tanduk pada tanaman kelapa sawit. *Jurnal Agrofolium*. 2(2): 135-141.
- Surbakti, R. L. B., Marheni, M., dan Bakti, D. 2025. Evaluating the potential of gut bacteria in *Oryctes rhinoceros* larvae as biocontrol agents against *Ganoderma boninense* pathogen in oil palm plantations. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 26(3): 1414-1423.
- Susanti, R., Widiyanti, F., dan Dono, D. 2024. Identifikasi molekuler isolat bakteri entomopatogen, uji keamanan hayati serta potensinya untuk pengendalian serangga hama. *Agrikultura*. 35(3): 459-472.
- Trianti, I., Setiawan, Y., Supriyanto, T. A., dan Rachmawati, S. W. 2023. Eksplorasi khamir simbiosis pada saluran pencernaan larva *Oryctes rhinoceros* l.: Exploration of symbiotic yeast from the digestive tract of *Oryctes rhinoceros* L. larvae. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*: 11(2): 93-98.
- USDA. 2025. *Oryctes rhinoceros*. Animal and Plant Health Inspection Services. U.S. Department of Agriculture. <https://acir.aphis.usda.gov/s/cird-taxon/a0ut0000000rENMAA2/oryctes-rhinoceros>. Diakses 29 September 2025.
- Wandita, T. S. dan Ashari, S. 2019. Jarak genetik 47 aksesori plasma nutfah kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) introduksi asal Kamerun berdasarkan karakter morfologi. *Plantropica: Journal of Agricultural Science*. 4(1): 86-93.
- Yuka, R. A., Supono, S., and Setyawan, A. 2021. Identifikasi bakteri bioremediasi pendegradasi total ammonia nitrogen (tan). *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*. 14(1): 20-29.