

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION  
RAYAP YANG BERPERAN SEBAGAI AGENSIA HAYATI  
PENGENDALI JAMUR PATOGEN TANAMAN**

**(Skripsi)**

Oleh

**Desi Apriani Teresa Tampubolon**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2021**

## ABSTRAK

### **EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION RAYAP YANG BERPERAN SEBAGAI AGENSIA HAYATI PENGENDALI JAMUR PATOGEN TANAMAN**

Oleh

Desi Apriani Teresa Tampubolon

Rayap adalah serangga yang mampu mendegradasi lignoselulosa. Dekomposisi lignoselulosa salah satunya membutuhkan enzim selulosa dan xilanase. Enzim-enzim tersebut diperoleh dari bakteri yang bersimbiosis pada saluran pencernaan rayap. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri simbion rayap sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman. Pada penelitian ini terdapat 8 pengujian yaitu uji gram menggunakan KOH 3%, uji oksidatif fermentatif (O/F), uji *softrot* (pembusukan umbi kentang), uji hipovirulen, uji hipersensitif, uji antagonis terhadap jamur *Phytophthora capsici*, *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus lignosus*, uji pelarut fosfat, uji degradasi kitin dan identifikasi molekuler. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2020 – Maret 2021, bertempat di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan Laboratorium Ilmu Hama Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Hasil penelitian menyatakan bahwa dari 39 isolat bakteri yang diuji, sebanyak 8 isolat bersifat gram negatif dan 31 isolat bersifat gram positif, 16 isolat bersifat oksidatif dan 23 isolat bersifat fermentatif, seluruh isolat bersifat *softrot* negatif,

seluruh isolat bersifat hipovirulen, seluruh isolat bersifat hipersensitif negatif, 21 isolat mampu menghambat pertumbuhan jamur *G. boninense*, 16 isolat mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. lignosus*, seluruh isolat mampu menghambat pertumbuhan jamur *P. capsici*, seluruh isolat mampu melarutkan fosfat dan seluruh isolat tidak mampu mendegradasi kitin. Pada identifikasi molekuler diketahui bahwa isolat 1K3.1P adalah bakteri *Lysinibacillus fusiformis* dan isolat 1B1.2P adalah bakteri *Paenibacillus alvei*.

Kata kunci : Agensia hayati, antagonis, simbion.

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION RAYAP YANG  
BERPERAN SEBAGAI AGENSIA HAYATI PENGENDALI JAMUR  
PATOGEN TANAMAN**

Oleh

Desi Apriani Teresa Tampubolon

**Skripsi**

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

Pada

Jurusan Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2021**

Judul Skripsi

**: EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI  
BAKTERI SIMBION RAYAP YANG  
BERPERAN SEBAGAI AGENSIA HAYATI  
PENGENDALI JAMUR PATOGEN  
TANAMAN**

Nama Mahasiswa

**: Desi Apriani Teresa Tampubolon**

Nomor Pokok Mahasiswa

**: 1614121027**

Jurusan

**: Agroteknologi**

Fakultas

**: Pertanian**

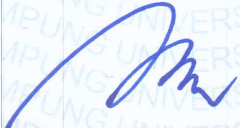


**MENYETUJUI**  
1. Komisi Pembimbing

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

  
**Puji Lestari, S. P., M. Si.**  
NIDN 0004078704

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

  
**Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.**  
NIP 196305081988112001

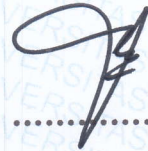


**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

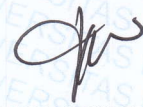
Ketua

: **Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.** .....



Sekretaris

: **Puji Lestari, S.P., M.Si.** .....



Penguji  
Bukan Pembimbing

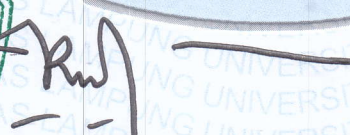
: **Dr. Radix Suharjo, S.P., M. Agr.** .....



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si.**  
NIP. 196110201986031002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **16 Agustus 2021**

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“EKSPLOKASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SIMBION RAYAP YANG BERPERAN SEBAGAI AGENSIA HAYATI PENGENDALI JAMUR PATOGEN TANAMAN”** merupakan hasil karya sendiri, bukan orang lain. Semua yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari skripsi ini terbukti merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 21 September 2021

Penulis



Desi Apriani Teresa Tampubolon

NPM 1614121027



## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Desa Pohan Tonga, Kecamatan Siborongborong, Kabupaten Tapanuli Utara, Provinsi Sumatera Utara pada tanggal 28 April 1998, sebagai anak pertama dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Torang Tampubolon dan Ibu Ratna Sibagariang.

Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Siborongborong diselesaikan pada tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMP Negeri 1 Siborongborong pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di SMA Negeri 1 Siborongborong pada tahun 2016.

Tahun 2016, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi (SNMPTN). Pada tahun 2019, penulis melakukan Praktik Umum di Taman Buah Mekarsari, Cileungsi, Bogor. Pada tahun 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Ketapang, Kecamatan Sungkai Selatan, Kabupaten Lampung Utara, Provinsi Lampung.



## **PERSEMBAHAN**

Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai ungkapan terimakasihku untuk :

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Torang Tampubolon dan Ibu Ratna Sibagariang, yang senantiasa mendoakan dan mengiringi langkahku dengan segala daya serta tiada henti memberikan nasihat, doa, bimbingan dan curahan kasih sayang.
2. Adik-adikku, Christian Tampubolon, Jhon Agus Tampubolon dan Gita Tampubolon, terimakasih atas doa, perhatian dan dukungannya selama ini, semoga kita bisa menjadi putra-putri yang membanggakan orang tua.

Karya sederhana ini ku bingkiskan untuk :

1. Teman-teman seperjuangan Agroteknologi 2016
2. Almamaterku Universitas Lampung sebagai tempatku mencari ilmu

## MOTTO

“Sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada pada-Ku mengenai kamu, demikianlah firman Tuhan, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepadamu hari depan yang penuh harapan”  
(Yeremia 29:11)

“Karena masa depan sungguh ada dan harapanmu tidak akan hilang”  
(Amsal 23:18)

“Sebab Tuhan, Dia sendiri akan menyertai engkau, Dia tidak akan membiarkan engkau dan tidak akan meninggalkan engkau, janganlah takut dan janganlah patah hati”  
(Ulangan 31:8)

## SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yesus atas segala berkat dan karunia yang senantiasa dicurahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Symbion Rayap yang berperan sebagai Agensia Hayati Pengendalian Jamur Patogen Tanaman”**.

Selama penelitian, penulis telah mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku pembimbing utama dan selaku Ketua Bidang Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, nasehat, saran, masukan serta arahan kepada penulis selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi hingga selesai.
4. Puji Lestari, S.P., M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, nasehat, masukan, saran, dan ide selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi hingga selesai.
5. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., selaku pembahas yang telah banyak memberikan semangat, masukan, kritik, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Ir. M. A. Syamsul Arif, M.Sc., Ph. D., selaku dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan saran dan nasehat kepada penulis

7. Keluargaku tercinta, kedua orang tuaku Bapak Torang Tampubolon dan Ibu Ratna Sibagariang serta adik-adikku Christian Tampubolon, Jhon Agus Tampubolon dan Gita Tampubolon yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat, motivasi dan doa yang tak henti-hentinya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung.
8. Teman-teman seperjuangan Dea, Adha, Jepri, Shinta, Myranda, Nanda, Jenita, Reni, Fahri, Nastiti, Intan, Desta, Sony, Risa, Wahyu, Aulian dan Intan atas persahabatan, bantuan dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
9. Teman-teman pondok indah Chaterina, Bintang, Etha, Herlinda dll., yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama penulis menyelesaikan skripsi ini.
10. Yeyen Ilmiasari, Tari Yati, Mutiara Ulfa, Firnando, Lily Agustini Waruwu dan adik-adik biotek atas bantuan dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
11. Teman-teman Agroteknologi 2016 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.
12. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat. Penulis juga berharap semoga Tuhan Yesus memberikan balasan atas kebaikan dan bantuan yang telah diberikan.

Bandar Lampung, 21 September 2021

Penulis

**Desi Apriani Teresa Tampubolon**



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iv</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran .....	2
1.4 Hipotesis .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Rayap.....	4
2.2 Simbion .....	4
2.3 Peranan Simbion.....	5
2.3.1 Bakteri Simbion sebagai Pendegradasi Selulosa.....	5
2.3.2 Bakteri Simbion sebagai Pendegradasi Pektin .....	6
2.3.3 Bakteri Simbion sebagai Pendegradasi Bahan Organik .....	6
2.3.4 Bakteri Simbion sebagai Agensia Hayati Pengendali Patogen Tanaman.....	6
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	<b>8</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	8
3.2 Alat dan Bahan.....	8
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	9
3.3.1 Penyiapan Media.....	9
3.3.1.1 Pembuatan Media <i>Yeast Peptone Agar</i> (YPA).....	9
3.3.1.2 Pembuatan Media <i>Potato Peptone Glucose Agar</i> (PPGA) .....	9
3.3.1.3 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	9
3.3.1.4 Pembuatan Media <i>Water Agar</i> (WA).....	10
3.3.1.5 Pembuatan Media Oksidatif Fermentatif (O/F).....	10
3.3.1.6 Pembuatan Media <i>Pikovskaya</i> .....	10
3.3.2 Isolasi Simbion Rayap .....	10
3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan Bakteri .....	11

3.3.4 Uji Gram menggunakan KOH 3% .....	11
3.3.5 Uji Oksidatif Fermentatif (O/F) .....	11
3.3.6 Uji <i>Softrot</i> (Pembusukan Umbi Kentang) .....	11
3.3.7 Uji Hipovirulen .....	12
3.3.8 Uji Hipersensitif .....	13
3.3.9 Uji Antagonis .....	13
3.3.10 Uji Pelarut Fosfat .....	14
3.3.11 Uji Degradasi Kitin .....	15
3.3.11.1 Pembuatan Koloidal Kitin .....	15
3.3.11.2 Pembuatan Kitin Agar .....	16
3.3.12 Identifikasi Molekuler .....	17
3.3.12.1 Ekstraksi DNA .....	17
3.3.12.2 Amplifikasi DNA dengan PCR .....	18
3.3.12.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR .....	18
3.3.12.4 Sekuensing dan Analisis Hasil .....	18
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>19</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	19
4.1.1 Isolasi Symbion Rayap .....	19
4.1.2 Uji Gram menggunakan KOH 3% .....	23
4.1.3 Uji Oksidatif Fermentatif (O/F) .....	24
4.1.4 Uji <i>Softrot</i> (Pembusukan Umbi Kentang) .....	24
4.1.5 Uji Hipovirulen .....	26
4.1.6 Uji Hipersensitif .....	26
4.1.7 Uji Antagonis .....	27
4.1.8 Uji Pelarut Fosfat .....	29
4.1.9 Uji Degradasi Kitin .....	30
4.1.10 Identifikasi Molekuler .....	30
4.2 Pembahasan .....	31
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>35</b>
5.1 Simpulan .....	35
5.2 Saran .....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>40</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema uji antagonis isolat bakteri simbiosis rayap. (A) cawan perlakuan, (B) cawan kontrol, (BA) bakteri antagonis, (JP) jamur patogen tanaman.....	14
2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri simbiosis rayap.....	15
3. Skema uji pereduksi kitin isolat bakteri simbiosis rayap (A: luas koloni bakteri, B: luas zona bening).....	16
4. Rayap. (a) kasta prajurit; (b) kasta pekerja.....	19
5. Isolat hasil isolasi bakteri. (a) berwarna kuning; (b) berwarna putih) ....	20
6. Hasil uji gram (a) bakteri gram positif (b) bakteri gram negatif.....	23
7. Hasil uji oksidatif fermentatif (a) isolat bakteri bersifat oksidatif; (b) isolat bakteri bersifat fermentatif.....	24
8. Isolat bakteri bersifat <i>softrot</i> negatif.....	24
9. Hasil uji hipovirulen pada kecambah mentimun.....	26
10. Reaksi negatif uji hipersensitif pada daun tembakau.....	26
11. Uji antagonis isolat bakteri (a) antagonis jamur <i>G. boninense</i> ; (b) antagonis jamur <i>P. capsici</i> ; (c) antagonis jamur <i>R. lignosus</i> .....	27
12. Uji pelarut fosfat isolat bakteri pelarut fosfat.....	29
13. Isolat bakteri pereduksi kitin negatif.....	30
14. Pohon filogenik hasil analisis sekuen 16SrDNA yang dibuat menggunakan program MEGA 6 dengan metode <i>neighbor joining method (jukes end cantor model)</i> .....	31

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kode isolat dan asal isolat.....	21
2. Karakteristik uji gram menggunakan KOH 3% .....	23
3. Karakteristik uji oksidatif fermentatif (O/F) .....	25
4. Persentase Antagonisme.....	28
5. Nilai indeks pelarut fosfat .....	29
6. Kode isolat dan karakteristik yang didapatkan dari simbiosis rayap .....	41



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rayap adalah serangga sosial pemakan selulosa dan termasuk ke dalam ordo Isoptera. Rayap memiliki keragaman spesies yang cukup tinggi, tercatat 2500 spesies telah berhasil diidentifikasi. Spesies tersebut terbagi ke dalam tujuh famili, 15 subfamili, dan 200 genus yang tersebar di berbagai negara di dunia. Rayap bersifat polimorfis yaitu terdapat sistem kasta dalam koloninya yaitu terdiri dari kasta reproduksi, pekerja dan prajurit (Nandika dkk., 2003).

Rayap adalah serangga yang mampu mendegradasi lignoselulosa. Dekomposisi lignoselulosa salah satunya membutuhkan enzim selulosa dan xilanase. Enzim-enzim tersebut diperoleh dari bakteri yang bersimbiosis pada saluran pencernaannya (Trakulnaleamsai *et al.*, 2004). Dalam tubuh rayap diketahui terdapat bakteri simbiosis yang cukup beragam.

Kemampuan bakteri simbiosis rayap dalam mendekomposisi selulosa memungkinkan bakteri dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman. Hal ini disebabkan karena selulosa merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel pada jamur patogen tanaman (Salma dan Gunarto, 1999). Bakteri simbiosis diharapkan mampu menguraikan selulosa pada dinding sel patogen tersebut sehingga pertumbuhan patogen menjadi terhambat.

Hingga saat ini belum ada laporan mengenai kemampuan bakteri simbiosis rayap sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya bakteri simbiosis rayap yang berperan sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengeksplorasi bakteri yang terdapat dalam tubuh rayap.
2. Mempelajari karakteristik bakteri yang terdapat dalam tubuh rayap.
3. Mempelajari potensi bakteri yang ditemukan sebagai agensia hayati pengendali jamur patogen tanaman.
4. Mengetahui identitas bakteri yang berperan sebagai agensia hayati pengendali jamur patogen tanaman.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Simbiosis merupakan suatu interaksi antara makhluk hidup satu dengan lain yang dapat bersifat saling menguntungkan (mutualisme) atau saling merugikan (parasitisme). Simbiosis antara bakteri dengan serangga telah diketahui memberikan dampak biologis pada inangnya. Bakteri simbion pada serangga banyak dijumpai pada kelompok serangga pemakan kayu, baik kelompok serangga omnivora maupun serangga herbivora. Mikroorganisme yang ada pada tubuh serangga bertujuan untuk mendegradasi beberapa senyawa atau nutrisi dari tumbuhan yang tidak dapat dicerna secara langsung oleh serangga. Dengan adanya bakteri simbion dapat meningkatkan proses pencernaan dengan menyediakan enzim-enzim pencernaan yang dapat mendegradasi senyawa tersebut (Dillon and Dillon, 2004).

Bakteri simbion rayap diketahui memiliki berbagai peran. Contoh peranan bakteri simbion rayap ialah sebagai pendegradasi bahan organik misalnya bakteri *Sporocytophaga* sp. dan *Staphyococcus* sp. (Diba *et al.*, 2012). Bakteri simbion rayap diduga mampu menjadi agensia hayati pengendali patogen tanaman karena mempunyai kemampuan untuk menguraikan selulosa, dimana selulosa merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel pada kelompok patogen.

#### **1.4 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut maka dapat diajukan beberapa hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat bakteri simbion yang ada di dalam tubuh rayap.
2. Bakteri simbion mempunyai karakteristik yang berbeda.
3. Terdapat bakteri simbion yang berperan sebagai agensia pengendali hayati jamur patogen tumbuhan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rayap

Rayap adalah serangga kecil yang mirip dengan semut, sering dijumpai di banyak tempat seperti hutan, pekarangan, kebun, dan bahkan di dalam rumah. Sarang rayap terdapat di tempat lembab di dalam tanah dan batang kayu basah, tetapi ada juga yang hidup di dalam kayu kering. Makanan utamanya adalah kayu dan bahan-bahan dari selulosa lain serta jamur (Amir, 2003).

Rayap memegang peranan penting dalam degradasi tanaman. Hal ini disebabkan karena pada sel tanaman mengandung serat atau lignoselulosa termasuk selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Rayap mampu mendegradasi tanaman karena dalam tubuhnya terdapat mikroba simbiosis pencernaan serat. Mikroba di dalam tubuh rayap terdiri dari protozoa, bakteri, spirochetes, dan fungi (Ramin *et al.*, 2008).

Menurut Brune (1998), rayap memiliki kemampuan luar biasa untuk hidup di tanaman yang mengandung lignoselulosa seperti kayu lapuk, rumput, feses hewan, atau sampah tumbuhan pada berbagai tingkat kelembaban. Usus belakang rayap yang membesar diperkirakan sebagai pencernaan anaerobik yang didalamnya terdapat mikroflora usus seperti bakteri dan protozoa yang mendegradasi selulosa dan hemiselulosa.

### 2.2 Simbiosis

Simbiosis merupakan interaksi antara makhluk hidup satu dengan lain yang dapat bersifat saling menguntungkan maupun merugikan. Simbiosis antara bakteri dengan serangga diketahui memberikan dampak biologis pada inangnya.



Bakteri tersebut memberikan dampak positif salah satunya dengan memproduksi enzim pencernaan yang dapat meningkatkan kemampuan dalam mencerna makanan (Dillon and Dillon, 2004).

Beberapa jenis bakteri simbiosis yang banyak dijumpai di dalam tubuh serangga yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* dan *Erwinia*. Selain bakteri juga terdapat mikroorganisme lain seperti protozoa, fungi yang banyak ditemukan dalam sistem pencernaan serangga seperti rayap atau pemakan kayu lainnya. Mikroorganisme tersebut berperan sangat penting dalam membantu proses pencernaan, meningkatkan respon imun dan juga melindungi dari patogen pada beberapa spesies (Anand *et al.*, 2010).

### **2.3 Peranan Simbiosis**

Pada serangga, bakteri simbiosis banyak dijumpai pada kelompok serangga pemakan kayu, baik omnivor ataupun herbivor. Mikroorganisme yang ada pada tubuh serangga berperan untuk mendegradasi beberapa senyawa atau nutrisi pada tanaman seperti selulosa, pektin, xilan dan juga beberapa jenis vitamin yang tidak dapat dicerna langsung oleh serangga. Sehingga dengan adanya bakteri simbiosis dapat meningkatkan proses pencernaan dengan menyediakan enzim-enzim pencernaan yang dapat mendegradasi senyawa tersebut (Dillon and Dillon, 2004).

#### **2.3.1 Bakteri Simbiosis sebagai Pendegradasi Selulosa**

Selulosa merupakan karbohidrat utama yang disintesis oleh tanaman dan menempati hampir 60% komponen penyusun struktur tumbuhan. Jumlah selulosa di alam sangat berlimpah sebagai sisa tanaman atau dalam bentuk sisa pertanian seperti jerami, padi, kulit jagung, gandum, kulit tebu dan tumbuhan lainnya (Han and Chen, 2007).

Bakteri pendegradasi selulosa banyak diisolasi dan dikarakterisasi dari berbagai sumber seperti tanah, tanaman busuk, air panas, bahan organik, feses ruminansia dan kompos. Selain itu bakteri selulolitik juga banyak terdapat dalam saluran pencernaan hewan termasuk serangga (Irfan *et al.*, 2012).

### **2.3.2 Bakteri Simbion sebagai Pendegradasi Pektin**

Pektin merupakan salah satu komponen utama dinding sel tanaman yang banyak dijumpai pada bagian tengah dinding sel primer yang berkontribusi dalam proses fisiologis tanaman (Marcia *et al.*, 1999). Secara umum pektin pada tanaman berperan dalam pembentukan dinding sel tanaman, pertumbuhan sel, diferensiasi sel, mempengaruhi sifat dinding sel tanaman (Voragen *et al.*, 2009).

Jenis bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa pektin adalah bakteri pektinolitik. Beberapa jenis serangga diketahui memiliki bakteri pektinolitik pada sistem pencernaannya (Anand *et al.*, 2010). Hal ini didukung oleh pernyataan Dillon and Dillon (2004) bahwa kelompok serangga Lepidoptera memiliki bakteri simbion pada sistem pencernaan yang dapat mencerna senyawa polisakarida yaitu selulosa, pektin dan xylan.

### **2.3.3 Bakteri Simbion sebagai Pendegradasi Bahan Organik**

Salah satu cara produksi pupuk organik yaitu menggunakan sampah atau limbah yang sangat melimpah. Proses pengomposan tidak dapat dipisahkan dengan peran agen biologis. Agen biologis yang sering dimanfaatkan dalam proses pengomposan adalah cacing, bakteri, jamur dan serangga (Simanungkalit dkk., 2009).

Bakteri yang berperan pada proses pengomposan sangat beragam. Bakteri yang berperan dalam degradasi selulosa merupakan bakteri simbion yang tidak hanya diperankan oleh bakteri selulolitik tetapi juga diperankan oleh bakteri non selulolitik yang membantu dalam proses degradasi material kompos lainnya (Gupta *et al.*, 2012).

### **2.3.4 Bakteri Simbion sebagai Agen Hayati Pengendali Patogen Tanaman**

Hingga saat ini, belum ditemukan adanya laporan tentang kemampuan bakteri simbion serangga sebagai agen hayati pengendali patogen tanaman.

Maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya bakteri simbiosis serangga, khususnya rayap yang mampu berperan sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman.

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan dan Laboratorium Ilmu Hama Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2020 hingga Maret 2021.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, *laminar air flow* (LAF), mikropipet, pinset, cawan petri, gelas beaker, tabung erlenmeyer, tisu, spidol, drigalski, plastik *wrap*, nampan, jarum ose, kaca preparat, *eppendorf*, tabung reaksi, rak tabung, lampu bunsen, kapas, jarum *ent*, gelas ukur, pembakar bunsen, bor gabus, *rotamixer*, *microwave*, timbangan elektrik, *magnetic stirer*, penggaris, *aluminium foil*, plastik tahan panas, gunting, karet gelang, pisau, kertas label, polibag, toples, tub dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rayap, media *potato dextrose agar* (PDA), media *yeast peptone agar* (YPA), media *water agar* (WA), media *pikovskaya*, media *potato peptone glucose agar* (PPGA), koloidal kitin, media kitinolitik, media *skim milk*, agar, kentang, tisu, alkohol 70%, air steril, klorok, PBS, benih mentimun, tembakau, jamur patogen tanaman (*Ganoderma boninense*, *Phytophthora capsici*, *Rigidoporus lignosus*).



### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari delapan pengujian. Pengujian bakteri yang dilakukan yaitu uji gram, uji O/F, uji *softrot*, uji hipovirulen, uji hipersensitif, uji antagonis, uji pelarut fosfat dan uji degradasi kitin.

#### 3.3.1 Penyiapan Media

##### 3.3.1.1 Pembuatan Media *Yeast Peptone Agar (YPA)*

Media yang digunakan untuk isolasi bakteri yaitu media YPA. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 10 g *pepton*, 5 g *yeast*, 20 g agar batang, 1 L akuades. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditutup menggunakan *aluminium foil* kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

##### 3.3.1.2 Pembuatan Media *Potato Peptone Glucose Agar (PPGA)*

Media yang digunakan untuk peremajaan isolat bakteri adalah media PPGA. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 200 g kentang, 5 g *pepton*, 3 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 3 g NaCl, 0,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 5 g *glucose*, 20 g agar dan, 1000 mL akuades. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditutup menggunakan *aluminium foil* kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* agar bahan-bahan larut. Setelah bahan larut, media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

##### 3.3.1.3 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Media yang digunakan untuk peremajaan isolat jamur adalah media PDA. Media PDA dibuat dengan cara mencampurkan ekstrak kentang dari 200 g kentang dan 1000 ml akuades yang telah dipanaskan di *microwave*, agar batang 20 g, dan *dextrose* 20 g. Selanjutnya bahan-bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan

1 atm selama 15 menit. Media PDA selanjutnya ditambahi larutan asam laktat sebanyak 1,4 mL, kemudian dituangkan secukupnya ke dalam cawan petri.

#### **3.3.1.4 Pembuatan Media *Water Agar* (WA)**

Media WA dibuat dengan mencampurkan 20 g agar batang dengan air steril 1000 mL dan dipanaskan dengan *microwave* hingga larut, lalu disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama kurang lebih 15 menit.

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

Media O/F digunakan dalam uji oksidatif fermentatif (O/F) bakteri. Media OF dibuat dengan cara mencampurkan 9,38 g OF Basal Medium, 10 g glukosa dan 1000 ml akuades. Media tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer 1000 ml dan dipanaskan dengan *microwave* sampai larut. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

#### **3.3.1.6 Pembuatan Media *Pikovskaya***

Pengujian bakteri sebagai pelarut fosfat dilakukan pada media *pikovskaya* yang dibuat dengan cara mencampurkan 31,3 g media *pikovskaya*, 1000 mL akuades, dan 2 g agar batang ke dalam erlenmeyer. Media *pikovskaya* dalam erlenmeyer dihomogenkan dan selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121° C.

#### **3.3.2 Isolasi Symbion Rayap**

Hal pertama yang dilakukan yaitu rayap diambil dari tiga sarang berbeda dan dari masing-masing sarang diambil tiga rayap. Rayap yang digunakan berasal dari dua kasta yaitu kasta prajurit dan kasta pekerja. Rayap tersebut dicuci sebanyak 3 kali menggunakan air steril, klorok, kemudian air steril lagi selama satu menit lalu dikeringkan dengan menggunakan tisu. Rayap kemudian dibagi menjadi dua bagian yaitu kepala rayap dan tubuh (toraks dan abdomen) rayap. Masing-masing

bagian rayap ditaruh di tub berisi PBS sebanyak 20  $\mu$ l. Bagian rayap dihancurkan hingga halus menggunakan pinset. Setelah halus, kemudian disebar di media YPA menggunakan *drigalski*.

### **3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan Bakteri**

Koloni bakteri yang tumbuh dari hasil isolasi dimurnikan dengan cara satu koloni bakteri diambil dan digores pada cawan berisi media YPA. Hasil dari pemurnian bakteri, kemudian diremajakan pada media dalam tabung reaksi yang dimiringkan dengan menggunakan metode penggoresan. Isolat bakteri yang telah digoreskan pada media PPGA diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam agar bakteri bisa diuji.

### **3.3.4 Uji Gram menggunakan KOH 3%**

Uji Gram dilakukan dengan cara satu ose isolat bakteri diambil dan diletakkan pada kaca preparat yang telah ditetesi KOH 3% satu tetes. Setelah itu, isolat diangkat dengan perlahan, kemudian diamati terbentuk tidaknya lendir. Jika terbentuk lendir maka bakteri tersebut dikelompokkan ke dalam gram negatif namun jika tidak terbentuk lendir maka tergolong gram positif.

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

Uji O/F dilakukan dengan cara satu ose isolat bakteri ditusukkan ke dalam 2 tabung reaksi berisi media O/F dan salah satu tabung diberi minyak parafin sebanyak 1 ml. Selama 7 hari, diamati ada tidaknya perubahan warna pada media. Jika terjadi perubahan warna pada kedua media tersebut maka bakteri bersifat fermentatif. Jika perubahan warna hanya terjadi pada media yang tidak diberi minyak parafin maka bakteri bersifat oksidatif.

### **3.3.6 Uji *Softrot* (Pembusukan Umbi Kentang)**

Uji ini dilakukan pada kentang dengan cara umbi kentang diiris dengan ketebalan  $\pm$  1 cm dan dicuci di air mengalir selama 30 menit. Setelah itu umbi kentang

diletakkan ke dalam cawan petri yang telah diberi tisu yang dilembabkan dengan air steril. Selanjutnya, satu ose isolat bakteri digoreskan pada bagian tengah umbi kentang. Pengamatan dilakukan selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya pembusukan pada bagian yang diberi isolat bakteri.

### 3.3.7 Uji Hipovirulen

Uji ini dilakukan dengan menggunakan benih mentimun yang telah direndam di air hangat selama 30 menit untuk mempercepat pertumbuhan benih, lalu direndam dengan alkohol selama 15 menit dan direndam dengan klorok selama 30 detik agar benih steril dan tidak terjadi kontaminasi dari luar. Setelah itu, benih dicuci sebanyak 3 kali menggunakan akuades, lalu dikecambahkan pada nampan yang berisi kertas merang lembap. Nampan ditutup dengan plastik wrap dan ditunggu selama 1 hari agar benih berkecambah. Setelah berkecambah, benih dipindahkan ke dalam media (WA) dan diinkubasi selama 1 hari.

Kemudian, dibuat suspensi biakan murni bakteri dengan cara satu ose isolat bakteri dicampurkan dengan 1 ml air steril, lalu dimasukkan ke dalam *ependorf* dan dihomogenkan. Suspensi biakan murni bakteri diletakkan pada bagian hipokotil sebanyak 10 µl. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari dan dilihat pertumbuhan serta perkembangan gejala penyakit pada hipokotil. Kemudian dihitung indeks keparahan penyakit (DSI) menggunakan rumus (Worosuryani *et al.*, 2006) :

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

dengan :

DSI : *Disease Severity Index* (Indeks Keparahan Penyakit)

N : Nilai tingkat keparahan penyakit pada masing-masing individu

Z : Jumlah individu yang diamati

Nilai tingkat keparahan penyakit (N) :

0 : sehat, tidak ada infeksi pada hipokotil

1 : satu atau dua bercak coklat muda berukuran  $\leq 0,25$  cm

- 2 : bercak coklat terang (ukuran 0,25-0,5 cm) luas daerah basah pada kecambah  $\leq 10\%$
- 3 : bercak coklat terang sampai gelap (ukuran  $\geq 1$  cm) luas daerah basah pada kecambah 10-100%
- 4 : bercak hitam pada hipokotil, daun layu dan bibit mati.

Apabila gejala yang timbul pada kecambah hanya sedikit ( $DSI \leq 2,0$ ) maka isolat tersebut termasuk sebagai isolat yang hipovirulen.

### 3.3.8 Uji Hipersensitif

Pengujian ini dilakukan dengan cara suspensi biakan murni bakteri diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau berumur 1 bulan sebanyak 300  $\mu$ l. Gejala hipersensitif terlihat jika pada bagian yang diinfiltrasi suspensi bakteri terjadi nekrosis.

### 3.3.9 Uji Antagonis

Uji antagonis dilakukan dengan cara isolat jamur patogen ditumbuhkan terlebih dahulu pada media (PDA). Isolat jamur patogen tanaman yang digunakan untuk uji antagonis diantaranya *Phytophthora capsici*, *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus lignosus*. Isolat jamur tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 5x24 jam (isolat yang diuji adalah biakan berumur 5x24 jam).

Pengujian antagonis bakteri dilakukan dengan cara isolat bakteri digoreskan pada dua sisi medium dengan jarak 2,5 cm dari tepi cawan. Selanjutnya isolat jamur yang sudah berumur 5 hari dengan diameter 0,5 cm diletakkan pada bagian tengah cawan, lalu diinkubasi pada suhu kamar. Pada kontrol, jamur patogen tanaman diletakkan pada bagian tengah cawan yang berisi media PDA tanpa diinokulasikan bakteri pada dua sisi medium. Pertumbuhan koloni jamur diukur pada 7 hari setelah inokulasi (hsi).

Kemampuan antagonis bakteri diukur dengan mencatat diameter koloni jamur patogen tanaman pada cawan kontrol dan perlakuan. Persentase penghambatan

bakteri terhadap jamur patogen dikelompokkan pada dua kategori yaitu tinggi (> 50%) dan rendah (< 50%) (Dewi dkk., 2015).

Persentase penghambatan dihitung dengan rumus menurut Dwiastuti dkk. (2015) sebagai berikut :

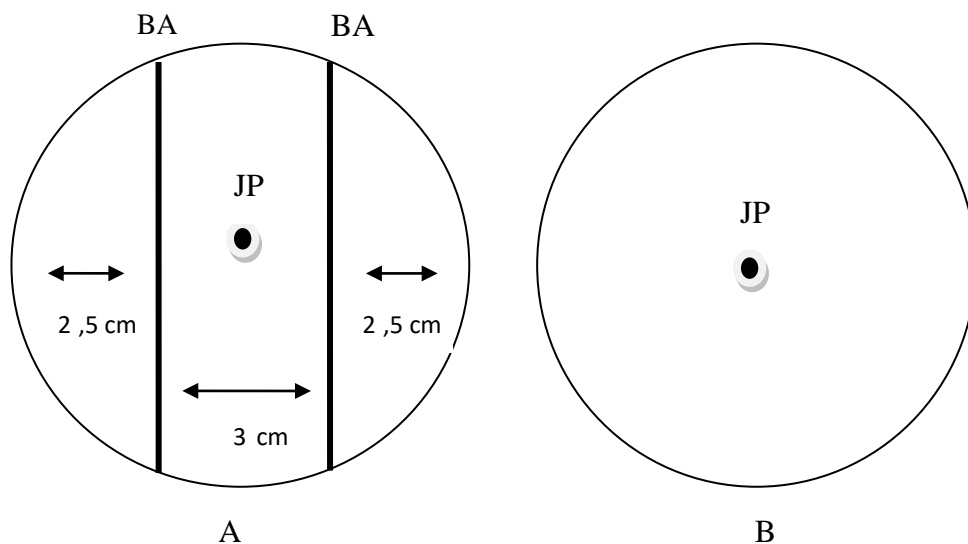
$$H = \frac{D1 - D2}{D1} \times 100\%$$

dengan :

H = persentase penghambatan bakteri sebagai agen antagonis (%)

D1 = diameter pertumbuhan jamur patogen pada kontrol (cm)

D2 = diameter pertumbuhan jamur patogen pada tiap perlakuan (cm)



Gambar 1. Skema uji antagonis isolat bakteri simbiosis rayap. (A) Cawan perlakuan, (B) cawan kontrol, (BA) bakteri antagonis, (JP) jamur patogen tanaman.

### 3.3.10 Uji Pelarut Fosfat

Bagian bawah cawan petri yang berisi media *pikovskaya* diberi garis menjadi 4 bagian. Setiap bagian diinokulasikan isolat bakteri menggunakan jarum ose dengan cara digoreskan. Pengamatan pertumbuhan zona bening dilakukan setiap hari selama 7 hari. Pengamatan dilakukan menggunakan plastik transparan dengan cara menggambar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri dengan spidol dan dihitung luas zona bening menggunakan kertas *milimeterblock*.

Nilai indeks pelarut fosfat diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu tinggi (> 3), sedang (> 2-3), rendah (> 1-2), dan sangat rendah (> 0-1).

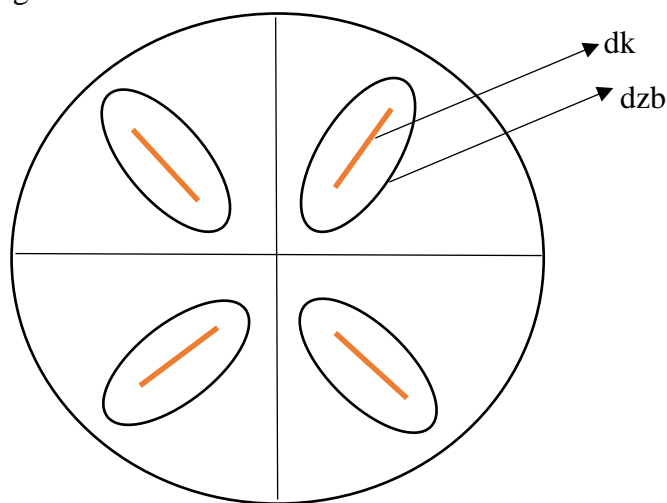
Nilai indeks pelarut fosfat dihitung dengan rumus menurut Widawati (2015) sebagai berikut :

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

dengan:

dk = Luas koloni bakteri

dzb = Luas zona bening



Gambar 2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri simbiosis rayap (dk : luas koloni, dzb : luas zona bening).

### 3.3.11 Uji Degradasi Kitin

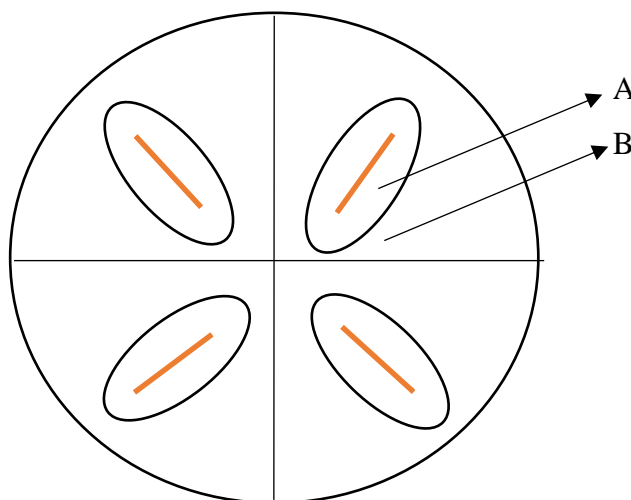
#### 3.3.11.1 Pembuatan Koloidal Kitin

Koloidal kitin dibuat dengan cara 6 g bubuk kitin (cangkang kepiting) dicampurkan dengan HCl 60 mL lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan kemudian disaring menggunakan *glass wool* dan ditambahkan dengan ethanol 200 mL. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan *filter paper* dan dibilas dengan akuades hingga pH 7,0 (netral). Koloidal kitin yang menempel pada filter paper dimasukkan dalam cawan petri dan disimpan pada ruang gelap dengan suhu 4°C.

### 3.3.11.2 Pembuatan Kitin Agar

Media kitinolitik atau kitin agar dibuat dengan cara 1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1,6 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g  $\text{NaCl}$ ; 0,01 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ditambahkan dengan 2% agar (20 g) dan dilarutkan dengan 1000 mL akuades, serta ditambahkan 12 g koloidal kitin. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi dituang ke dalam cawan petri  $\pm 20$  mL dan ditunggu hingga media memadat. Kemudian, bagian bawah cawan petri digaris menjadi 3 bagian. Setiap bagian diinokulasikan isolat bakteri menggunakan jarum ose dengan cara digoreskan.

Pengamatan pertumbuhan zona bening dilakukan selama 7 hari menggunakan plastik transparan kemudian zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri digambar dengan spidol dan dihitung luas zona bening menggunakan kertas *milimeterblock*. Besarnya kemampuan bakteri dalam mereduksi kitin dilihat dari besarnya luas zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri dan tingginya nilai indeks kitinolitik (IK). Indeks kitinolitik (IK) dihitung dengan membandingkan luas zona bening yang terbentuk (B) dengan luas isolat bakteri (A) setelah tujuh hari inkubasi.



Gambar 3. Skema uji pereduksi kitin isolat bakteri simbion rayap (A: Luas koloni bakteri, B: Luas zona bening).



### 3.3.12 Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan pada dua isolat bakteri sebagai representasi isolat yang diuji. Identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA dengan PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, serta sekuensing DNA dan analisis hasilnya.

#### 3.3.12.1 Ekstraksi DNA

Satu ose isolat bakteri yang sudah diremajakan selama 24 jam diambil dari media PPGA dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL lalu ditambahkan 20  $\mu$ l TE kemudian dihomogenkan, setelah itu ditambah 10 mL SDS 10% + 3 mL prokinase K dan dihomogenkan. Tabung *ependorf* berisi bakteri diinkubasi di *water bath* selama satu jam dengan suhu 37°C lalu ditambahkan 100  $\mu$ l NaCl dan dihomogenkan secara manual kemudian ditambahkan 80  $\mu$ l CTAB 2%, setelah itu diinkubasi pada suhu 65°C selama 10-15 menit di *water bath*. Setelah inkubasi, ditambahkan 720  $\mu$ l CI (*Chloroform Isoamyl alcohol*), lalu dihomogenkan dan disentrifus pada 14.000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya, diambil supernatan lalu dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL dan ditambahkan PCI dengan volume yang sama seperti supernatan, kemudian dihomogenkan dan disentrifus pada 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung *ependorf* baru dan ditambahkan isopropanol 60% dengan volume yang sama seperti supernatan lalu dihomogenkan kemudian diinkubasi di dalam *freezer* selama 20 menit. Hasil inkubasi disentrifus pada 14.000 rpm selama 5 menit kemudian supernatan pada tabung *ependorf* dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 400  $\mu$ l lalu disentrifus kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Alkohol dibuang dan pelet diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah itu, tub berisi pelet ditambahkan 20  $\mu$ l TE. Untuk melihat ada tidaknya *template* DNA maka dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digi-Doc-Imaging System*.

### 3.3.12.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Sebanyak 12,5  $\mu$ l *Master Mix (Red Mix) (bioline)* dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 100  $\mu$ l lalu ditambahkan primer fD1 (5' CCGAATTTCGTCGACAACAG AGTTTGATCCTGGCTCAG 3') dan rP2 (5' CCCGGGATCCAAGCTTACGGC TACCTTGTTACGACTT 3') (Marchesi *et al.*, 1998) masing-masing sebanyak 1  $\mu$ l dan ditambahkan larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1  $\mu$ l lalu aquades steril sebanyak 9,5  $\mu$ l. Larutan yang sudah dibuat diamplifikasi menggunakan mesin PCR *Sensaquest Labcycler*, selanjutnya dilakukan PCR dengan tahapan inisiasi, denaturasi, aneling, ekstensi dan elongasi. Tahapan inisiasi dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit (1 kali siklus), dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, aneling pada suhu 58°C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Terakhir tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit (1 kali siklus).

### 3.3.12.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Tahap awal dilakukan dengan pembuatan gel agarose 0,5% dan 20 ml TBE kemudian ditambah 1  $\mu$ l *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/ml), lalu dituang pada cetakan dengan sisir. Setelah gel agarose padat, dimasukkan ke dalam alat elektroforesis, pada sumur agar pertama dimasukkan 3  $\mu$ l *Marker DNA Ladder*. Pada setiap sumur diberikan 3  $\mu$ l hasil ekstraksi DNA yang sudah dicampur dengan 1  $\mu$ l *loading dye* sebagai pemberat. Kemudian, dilakukan elektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 60-70 menit. Hasil elektroforesis ditunggu hingga DNA bergerak sampai ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan *Digi-Doc-Imaging System*. Keberadaan profil DNA antar lokus gen akan terlihat berupa pita terang.

### 3.3.12.4 Sekuensing dan analisis Hasil

Hasil amplifikasi yang telah didapatkan dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Untuk menganalisis hasil sekuensing digunakan program MEGA 6.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat isolat bakteri simbion yang terdapat dalam tubuh rayap.
2. Isolat bakteri simbion yang diperoleh memiliki bentuk koloni bulat dengan warna kuning dan putih.
3. Sebagian besar bakteri yang ditemukan bersifat gram positif, fermentatif, *softrot* negatif, hipovirulen, hipersensitif negatif, pelarut fosfat dan kitin negatif.
4. Sebagian kecil isolat bakteri simbion yang diperoleh memiliki potensi sebagai agensia hayati pengendali patogen tanaman yang dilihat dari persentase antagonisme pada uji antagonis.
5. Isolat bakteri simbion yang berpotensi sebagai agensia hayati pengendali jamur patogen tanaman yaitu isolat 1K3.1P yang merupakan bakteri *Lysinibacillus fusiformis* dan isolat 1B1.2P yang merupakan bakteri *Paenibacillus alvei*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap kemampuan 2 isolat terpilih dalam menekan pertumbuhan patogen di lapang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amir, M. 2003. Rayap dan Peranannya. Dalam: M. Amir dan S . Kahono. Serangga Taman Nasional Gunung Halimun Jawa Bagian Barat. *Biodiversity Conservation Project*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 51-62.
- Anand, A.A.P., Vennison, S.J., Sankar, S.G., Prabhu, D.I.G., Vasani, P.T., Geoffery, C.J. and Vendan, S.E. 2010. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut of *Bombyx mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and their Impact on Digestion. *Journal of Insect Science*. 10(107): 1-20.
- Benson. 2001. *Microbiological Applications. Laboratory Manual in General Microbiology*. Eighth Edition. McGraw-Hill Science Company : New York. pp. 72-175.
- Brune, A. 1998. Termite Guts. The World Smallest Bioreactors. *Trends in Biotechnol.* 16:16-21.
- Chandra, T.J. and Mani, S. 2011. A Study of 2 Rapid Tests to Differentiate Gram Positive and Gram Negative Aerobic Bacteria. *Journal Medicine Allied Science*. 1(2): 84-85.
- Cohen, I.I.G., Ron, E., and Ben Jacob. 2000. From Branching to Nebula Patterning During Colonial Development of the *Paenibacillus alvei* bacteria. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 286: 321-336.
- Cook, J.R. and Baker, F.K. 1989. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. *The American Phytopathological Society*. St. Paul Minnesota. pp. 80-84.
- David, H., Paul, V., dan Whitman, W.B. 2009. *The Firmicutes*. 2<sup>nd</sup> Edition. Dordrecht. Springer.

- Dewi, T.K., Arum, E.S., Imamuddin, H., dan Antonius, S. 2015. Karakterisasi Mikroba Perakaran (PGPR) Agen Penting Pendukung Pupuk Organik Hayati. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(2): 289-295.
- Diba, F., Khotimah, S., and Febriyana, U. 2012. Isolation and Identification Cellulolytic Bacteria From the Termite *Coptotermes curvignatus* Holmgren and *Macrotermes gilvus* Hagen from Secondary Forest in West Kalimantan Indonesia. *Proceedings of the 9th Pacific Rim Termite Research Group Conference*. pp. 105-111
- Dillon, R.J., and Dillon, V.M. 2004. The Gut Bacteria of Insects. *Nonpathogenic Interactions. Annual Review of Entomology*. 49:71-92.
- Dwiastuti, E., Fajri, M.N., dan Yunimar. 2015. Potensi *Trichoderma* spp. sebagai Agen Pengendali *Fusarium* spp. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa Dutch*). *Journal of Hortikultura*. 25(4): 331-339.
- Gupta, P., Samant, T., and Sahu, A. 2012. Isolation of Cellulose Degrading Bacteria and Determination of their Cellulolytic Potential. *International Journal of Microbial*. 10(115) : 1-5.
- Han, Y. and Chen, H.Z. 2007. Synergism Between Corn Stoverprotein and Cellulose. *Enzyme and Microbial Technology. Journal Sains and Technology*. 41: 638-645.
- Hyodo, F., Inoue, T., Azuma, J.I., Tayasu, I., and Abe, T. 2000. Role of the Mutualistic Fungus in Lignin Degradation in the Fungus-Growing Termite *Macrotermes gilvus* (Isoptera; *Macrotermitinae*). *Soil Biol & Biochem*. 32: 653-658.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q., and Nadeem, M. 2012. Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity. *Turkish Journal of Biochemistry*. 37(3): 287-293.
- Khaeruni, A., Sutariati, G.A.K., dan Wahyuni, S. 2010. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Bakteri Rizosfer Lahan Ultisol sebagai Pemacu Pertumbuhan dan Agensia Hayati Cendawan Patogen Tular Tanah secara In Vitro. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*. 10(2): 123-130.
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sand, D.C. 1990. *Methods in Phytobacteriology. Academia Kiado*. Budapest.

- Marcia, M.C.N., Soares, Silva, R.D., and Gomes, E. 1999. Screening of Bacterial Strains for Pectinolytic Activity. Characterization of the Polygalacturonase Produced by *Bacillus* sp. *J. Revista de Microbiologia*. 30: 299-3003.
- Nandika, D., Rismayadi Y., dan Diba F. 2003. *Rayap. Biologi dan Pengendaliannya*. Muhamadiyah University Press. Surabaya.
- Nurhayati. 2010. *Senarai Istilah-Istilah Mikologi*. UNSRI Press. Palembang.
- Oviana, T., Aeny, T.N., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Busuk pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.
- Purwaningsih, S. 2003. Isolasi Populasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Taman Nasional Bogani Nani Wartabone, Sulawesi Utara. *Biologi*. 3 (1): 22-31.
- Ramin, M., Alimon, A. R., and Abdullah, N. 2008. Identification of Cellulolytic Bacteria Isolated from the Termite *Coptotermes curvignathus* (Holmgren). *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*. 17: 103-116.
- Salma, S. dan L. Gunarto. 1999. Enzim Selulase dari *Trichoderma* spp. *Buletin AgroBio*. 2: 9-12.
- Simanungkalit, R. D. M., Suriadikarta, D. A., Saraswati, R., Setyorini, D., dan Hartatik, W. 2009. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian .
- Situmorang, E. C., Prameswara, A. S. H. C., Mathius, N. T., and Liwan, T. 2015. Indigenous Phosphate Solubilizing Bacteria from Peat Soil for an Eco-friendly Biofertilizer in Oil Palm Plantation. *Renewable Energy and Energy Conversion Conference and Exhibition*. 1: 65-72.
- Susanna. 2000. Analisis Introduksi Mikroorganisme Antagonis untuk Pengendalian Hayati Penyakit Layu (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) pada Pisang (*Musa sapientum* L.). *Tesis*. IPB. Bogor.
- Trakulnaleamsai, S., Yuichi, H., Deevong, P., and Noparatnaraporn, N. 2004. Phylogenetic Diversity of Bacterial Symbionts in the Guts of Wood-Feeding Termites. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 38: 45-51.
- Voragen, A. G. C., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., and Schols, H. A. 2009. Pectin a Versatile Polysaccharide Present in Cell Walls. *Struct Chem*. 20: 263-275.

- Widawati, S. 2015. Uji Bakteri Simbiotik dan Nonsimbiotik Pelarutan Ca vs P dan Efek Inokulasi Bakteri pada Anakan Turi (*Sesbania grandiflora* L. Pers). *Jurnal Biologi Indonesia*. 11(2): 295-307.
- Worosuryani, C., Priyatmojo, A., dan Wibowo, A. 2006. Uji Kemampuan Jamur yang Diisolasi dari Lahan Pasir sebagai PGPF (*Plant Growth Promoting Fungi*). *Jurnal Agrosains*. 19(1): 179-192.
- Wu, M.L., Chuang, Y.C., Chen, J.P., Chen, C.S. and Chang, M.C. 2001. Identification and Characterization of Three Chitin Binding Domains Within the Multidomain Chitinase Chi92 from *Aeromonas hydrophilla* jp 101. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5100-5106.