

**KARAKTERISASI FISILOGI DAN PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI
Bacillus thuringiensis DARI TANAH NAUNGAN DI LINGKUNGAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**

Melani Pakpahan¹, C.N. Ekowati¹ dan K. Handayani¹

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung
Jurusan Biologi –FMIPA- Universitas Lampung
Jl. Prof.Dr. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia,
35145
Surel: mela_pakpahan@yahoo.co.id

ABSTRACT

The bacillus in nature is influenced by the environmental condition of naungan's tree. The environmental condition of naungan's bungur tree, melinjo's tree and beringan's tree can give the difference in the nature of microbial physiology. The purpose of this research is to know the properties of *Bacillus thuringiensis* isolates physiology that comes from the naungan' land covers the catalase, motility, the influence of temperature and pH on the growth of *Bacillus thuringiensis*. The research was conducted in microbiology laboratory of Lampung University on April until June 2013. Rendomized design with 3 replication of each treatments was applied in this study. The parameters of observe are the enzyme catalase of isolates, the nature of isolate mortality, the growth of colony isolate on different pH and temperature. The isolates tested are isolate Bg BT, M BT, and Br BT. All of isolate produced enzyme catalase and mortil.The isolates of Bg BT(Lagerstroemia), Br BT (Beringin) and M BT (Melinjo) showed the characteristic of bacillus that toxic to caterpillars. The optimum growth temperature is Bg Bt 30°C and pH 7.5; 30°C and ph >8 for Br BT, 30°C and pH 7,4 for M BT.

Keyword : the characteristic of physiology, *Bacillus thuringiensis*, growth

PENDAHULUAN

Bacillus thuringiensis merupakan salah satu bakteri patogen serangga yang telah dikembangkan menjadi bioinsektisida. Keunggulan bioinsektisida tersebut adalah memiliki sifat yang spesifik terhadap hama serangga sehingga tidak membahayakan organisme non target lainnya (Carrozi *et al*, 1991).

Keberadaan *Bacillus thuringiensis* dalam tanah dipengaruhi oleh faktor lingkungan antara lain pH dan suhu. Mikroorganisme memiliki suhu minimum dan suhu maksimum yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Suhu pertumbuhan untuk *Bacillus thuringiensis* berkisaran antara 15 °C – 40 °C. *Bacillus thuringiensis* dapat

tumbuh pada medium yang memiliki pH pada kisaran 5.5 - 8.5 dan tumbuh optimum pada pH 6.5 - 7.5 (Bernhard dan R. Utz, 1993).

Naungan pohon berpengaruh terhadap faktor biotik dan abiotik yang dapat mengakibatkan perbedaan sifat fisiologi mikroba. Universitas Lampung memiliki banyak jenis pohon naungan, beberapa diantaranya di peroleh isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* yang diisolasi dari naungan Bungur, Melinjo, dan Beringin. Naungan tersebut memiliki kondisi lingkungan yang berbeda. Oleh karena itu, perlu diadakan penelitian untuk mengetahui karakter fisiologi isolat *Bacillus thuringiensis* yang berasal dari tanah naungan tersebut. Karakterisasi fisiologi *Bacillus thuringiensis* adalah uji katalase dan motilitas, pertumbuhan isolat *Bacillus thuringiensis* dari naungan pohon Bungur, Beringin dan Melinjo pada suhu dan pH yang berbeda.

METODE

Bahan Penelitian.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Nutrient Agar (NA) 0,3%, Nutrient Broth (NB) 1,3%, garam fisiologis, H₂O₂ 3%, dan isolat *Bacillus thuringiensis* yang berasal dari naungan pohon Bungur (*Bt Bg*), pohon Melinjo (*Bt M*), dan pohon Beringin (*Bt Br*) koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung.

Metode Penelitian.

Sifat fisiologi isolat *Bacillus thuringiensis* diperoleh dengan melakukan uji katalase, uji motilitas, uji pengaruh pH dan suhu terhadap pertumbuhan bakteri. Hasil uji katalase, dan uji motilitas disajikan dalam bentuk data deskriptif. Uji pengaruh pH dan suhu terhadap pertumbuhan bakteri menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 ulangan. Variasi pH yang digunakan dalam penelitian adalah pH 4, 5, 6, 7, dan 8 dan variasi suhu yang digunakan adalah suhu 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, dan 60 °C. Data yang diperoleh adalah jumlah sel bakteri berdasarkan absorbansi yang diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm. Data yang diperoleh dilakukan analisis ragam. Perlakuan yang terdapat perbedaan nyata pada taraf $\alpha = 5\%$, dilanjutkan dengan menggunakan analisis polinomial orthogonal.

Uji katalase (Brown, 2007).

Satu jarum ose koloni bakteri diambil dari stok kultur, kemudian dioleskan pada gelas objek. Senyawa H₂O₂ diteteskan pada preparat bakteri tersebut kemudian diamati adanya gelembung udara (O₂) yang timbul.

Uji Motilitas (Brown, 2007).

Dengan ose runcing diambil satu ose dari masing-masing isolat *Bt Bg*, *Bt M*, dan *Bt Br*, lalu ditusukkan tegak pada media tegak NA padat yang telah disiapkan pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi 2 hari dalam inkubator pada suhu 37 °C. Motilitas bakteri ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang menyebar sedangkan non-motil jika pertumbuhan koloni bakteri hanya berbentuk garis

Pengaruh pH.

Media cair Nutrient Broth (NB) diatur pada pH 4, 5, 6, 7, dan 8. Masing-masing perlakuan diinokulasi kultur isolat *Bacillus thuringiensis* sebanyak 10⁶ CFU/ml. Sebagai kontrol adalah media NB cair tanpa penambahan bakteri. Kultur diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 620 nm. pH media yang menunjukkan pertumbuhan terbaik digunakan untuk uji pengaruh suhu.

Pengaruh Suhu.

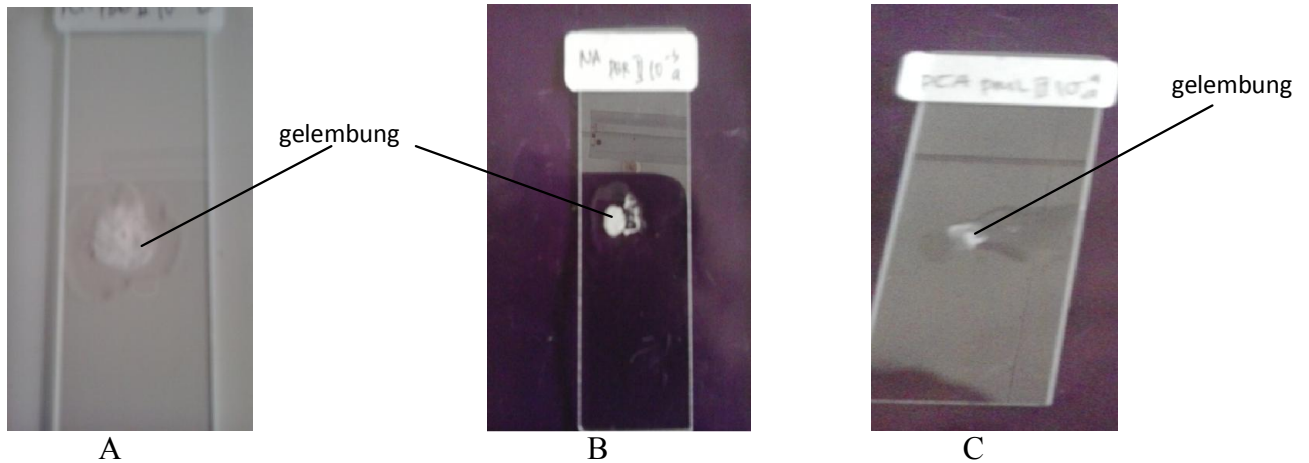
pH media Nutrient Broth (NB) terpilih pada pH optimum pertumbuhan, kemudian diinokulasi dengan kultur isolat *Bacillus thuringiensis* sebanyak 10⁶ CFU/ml. Kultur diinkubasi pada variasi suhu 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, dan 60 °C selama 24 jam. Sebagai kontrol adalah media NB cair tanpa penambahan bakteri. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absoransi menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 620 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

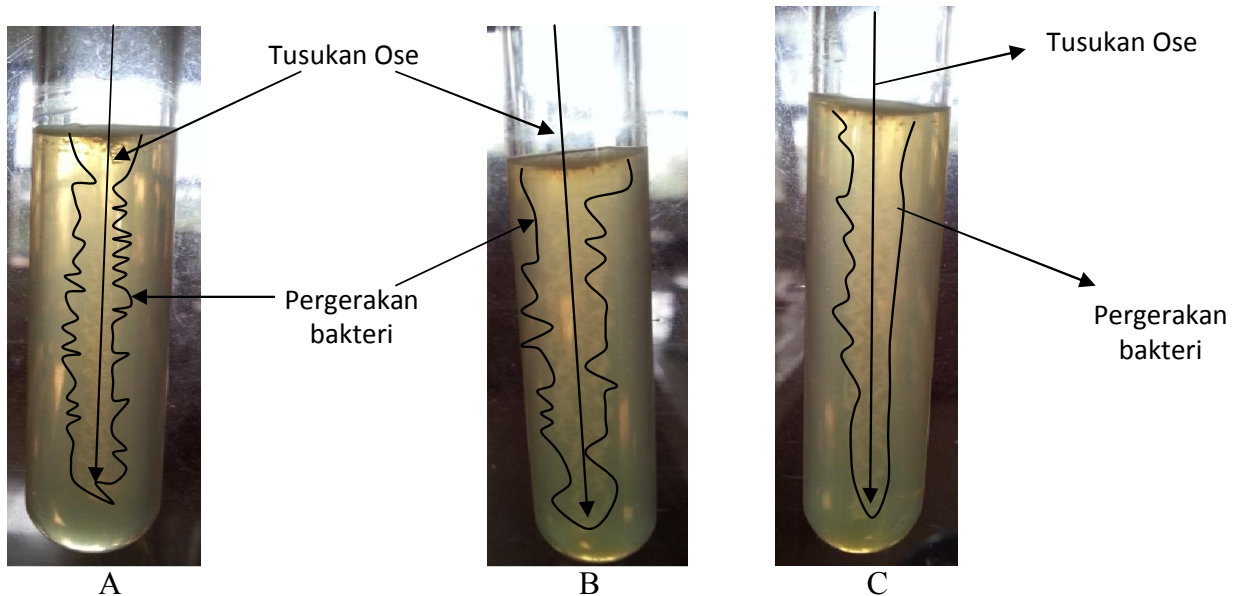
Uji Katalase dan Motilitas Isolat Bakteri.

Isolat *Bt Bg*, *Bt M*, dan *Bt Br* menunjukkan kemampuan menghasilkan enzim katalase dan bersifat motil. Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan terbentuknya

gelembung-gelembung. Gelembung tersebut adalah pembentukkan gas Oksigen (O_2) sebagai hasil pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri (Suryani, 2010). Motilitas isolat *Bt Bg*, *Bt M*, dan *Bt Br* dapat dilihat dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang menyebar. Menurut Waluyo (2008), isolat yang positif motil ditunjukkan dengan penyebaran isolat ke seluruh media.



Gambar 1. Uji Katalase isolat bakteri (A) *Bt Bg*; (B) *Bt Br*; (C) *Bt M*

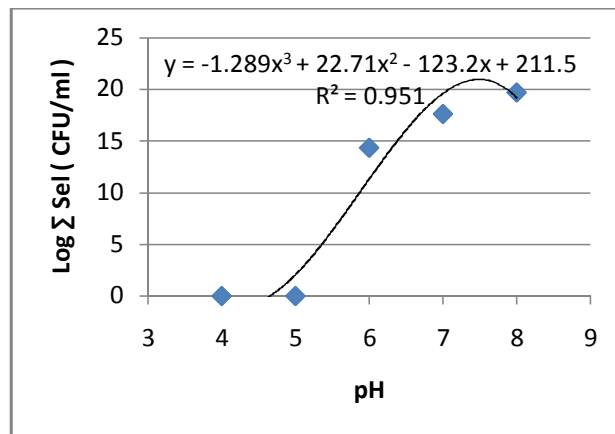


Gambar 2. Uji Motilitas isolat bakteri (A) *Bt Bg*; (B) *Bt Br*; (C) *Bt M*

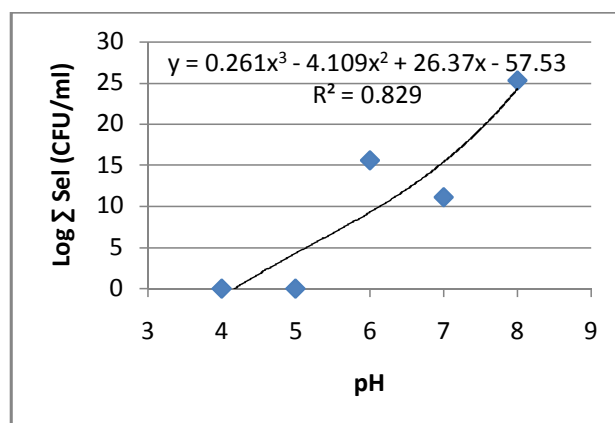
Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri.

Isolat *Bt Bg*, *Bt M*, dan *Bt Br* di uji terhadap perlakuan pH dengan variasi pH 4, 5, 6, 7, dan 8. Pertumbuhan sel tertinggi isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* terdapat pada pH 8, sedangkan pertumbuhan sel terendah terdapat pada pH 4 dan pH 5. Hasil analisis ragam menunjukkan hubungan antara isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* berbeda nyata.

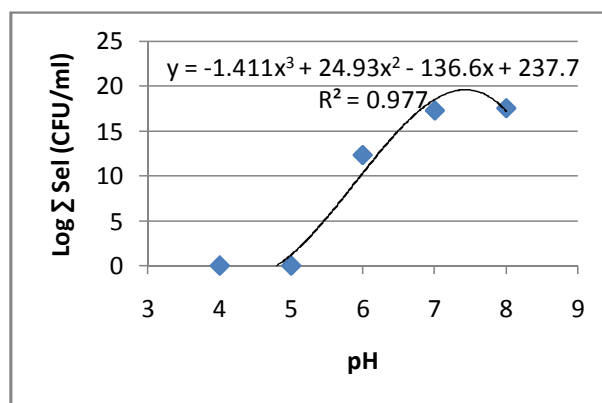
Berdasarkan hasil uji polinomial orthogonal (Gambar 6, 7 dan 8), isolat *Bt* Bg, *Bt* Br, dan *Bt* M memiliki pertumbuhan optimum yang berbeda pada pH basa.



Gambar 6. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat *Bt* Bg



Gambar 5. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat *Bt* Br



Gambar 6. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat *Bt* PML

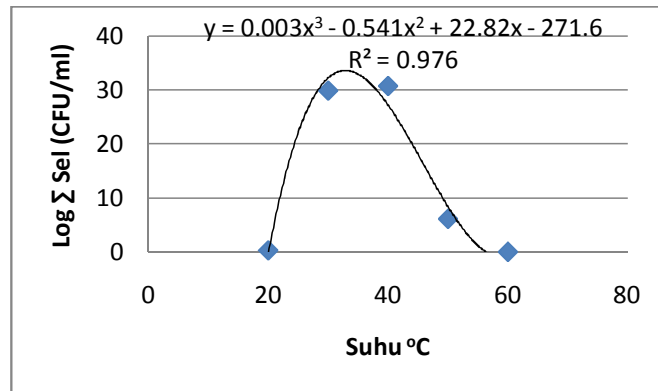
Pertumbuhan isolat *Bt Bg* yang tertera pada gambar 4 menunjukkan bahwa pH optimum pertumbuhan sel terdapat pada rentang pH 7 dan 8 dengan persamaan garis $y = -1,289x^3 + 22,71x^2 - 123,2x + 211,5$, $R^2 = 0,951$. Jika persamaan ini dijabarkan, maka dapat diprediksikan pH optimum pertumbuhan sel terdapat pada pH 7,5 dengan pendugaan jumlah sel ($\text{Log } \sum \text{sel}$) sebesar 21,140 CFU/ml. Hal ini berarti isolat *Bt Bg* dapat diprediksikan sebagai bakteri yang bersifat basa. Grafik pertumbuhan isolat *Bt Br* (Gambar 5) menunjukkan pertumbuhan yang terus meningkat hingga perlakuan pH 8. Hal ini menjelaskan bahwa pH optimum pertumbuhan sel belum dapat ditentukan, tetapi karakteristik isolat *Bt Br* adalah mampu hidup dalam kondisi pH basa. Pertumbuhan sel isolat *Bt M* (Gambar 6) menunjukkan bahwa pH optimum pertumbuhan sel terdapat pada rentang pH 7 dan 8 dengan persamaan garis $y = -1,411x^3 + 24,93x^2 - 136,6x + 237,7$, $R^2 = 0,977$. Jika persamaan ini dijabarkan, maka dapat diprediksikan pH optimum pertumbuhan sel isolat *Bt M* terdapat pada pH 7,4 dengan pendugaan jumlah sel ($\text{Log } \sum \text{sel}$) sebesar 20,255 CFU/ml. Karakteristik pertumbuhan isolat *Bt M* juga sama seperti karakteristik pertumbuhan isolat *Bt Bg* dan *Bt Br* yaitu mampu tumbuh dengan baik pada kondisi pH basa, akan tetapi berdasarkan uji polinomial orthogonal dapat dilihat perbedaan ketiga isolat ini yaitu terletak pada tingkat kemampuan pertumbuhan pada pH basa. Isolat *Bt M* memiliki karakter pertumbuhan sel pada pH basa yang lebih rendah dibandingkan dengan isolat *Bt Bg* dan *Bt Br*. Berdasarkan penelitian Ahdianto (2006), *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* yang berasal dari biakan produk komersial (*Vectobac*) memiliki kisaran pertumbuhan pada pH antara 5,6 – 7,9. Hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus thuringiensis* tidak tumbuh dengan baik pada pH asam.

Hasil penelitian pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa *Bacillus thuringiensis* dapat tumbuh pada medium yang memiliki pH pada kisaran 5,5 – 8,5 dan tumbuh optimum pada pH 6,5 – 7,5 (Bernhard dan R. Utz, 1993).

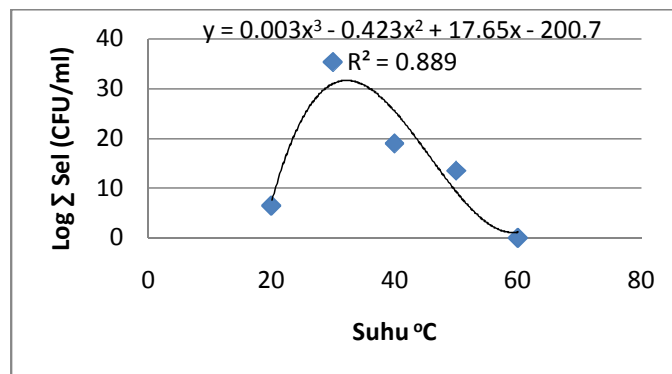
Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri.

Pertumbuhan sel tertinggi pada masing-masing isolat terdapat pada suhu 30 °C, sedangkan pertumbuhan sel terendah terdapat pada suhu 60 °C. Hasil analisis ragam

menunjukkan bahwa pengaruh suhu terhadap pertumbuhan sel isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* tidak berbeda nyata. Hal ini berarti ketiga isolat membutuhkan suhu lingkungan yang sama dalam pertumbuhan. Berdasarkan hasil uji polinomial orthogonal (Gambar 3, 4 dan 5), pertumbuhan optimum isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* terdapat pada rentang suhu 30°C dan 40°C.



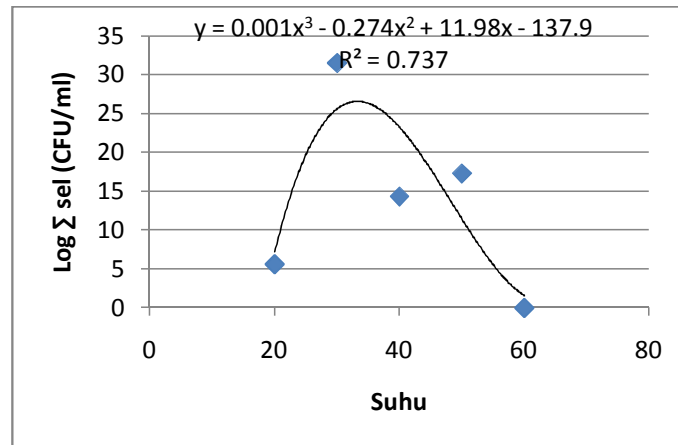
Gambar 3. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat *Bt Bg*



Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat *Bt PBR1*

Perlakuan dengan variasi suhu terhadap masing-masing isolat menunjukkan beda nyata dengan membentuk garis lengkung (kubik) dengan persamaan regresi $0,003x^3 - 0,541x^2 + 22,82x - 271,6$, $R^2 = 0,976$ untuk isolat *Bt Bg*, $y = 0,003x^3 - 0,423x^2 + 17,65x - 200,7$, $R^2 = 0,889$ untuk isolat *Bt Br* dan $y = 0,001x^3 - 0,274x^2 + 11,98x - 137,9$, $R^2 = 0,737$ untuk isolat *Bt M*. Jika persamaan tersebut masing-masing dijabarkan, maka dapat diprediksikan suhu optimum isolat *Bt Bg* terdapat pada suhu 30 °C dengan pendugaan jumlah sel ($\text{Log } \Sigma \text{sel}$) sebesar 7,1 CFU/ml, isolat *Bt Br* terdapat

pada suhu 30°C dengan pendugaan jumlah sel ($\text{Log } \Sigma \text{sel}$) sebesar 21 CFU/ml dan isolat *Bt M* terdapat pada suhu 30 °C dengan pendugaan jumlah sel ($\text{Log } \Sigma \text{sel}$) sebesar 1,9 CFU/ml. Penelitian Ahdianto (2006) menyatakan bahwa faktor suhu memberikan pengaruh positif terhadap laju pertumbuhan, semakin tinggi suhu pada interval suhu 25-35 °C menyebabkan semakin cepat laju pertumbuhan *Bacillus thuringiensis*.



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat *Bt PML*

Menurut Bernhard dan R. Utz (1993), *Bacillus thuringiensis* dapat tumbuh pada medium buatan dengan suhu pertumbuhan berkisar antara 15 °C-40 °C, sehingga dapat dikatakan bahwa *Bacillus thuringiensis* merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu mempunyai suhu optimum antara 25 °C- 37 °C, dengan suhu minimum 15 °C dan suhu maksimum antara 45 °C-55 °C (Hidayat, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* merupakan bakteri mesofilik.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan identifikasi terhadap 9 isolat bakteri tanah terdapat 3 isolat yaitu isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* yang menunjukkan karakter *Bacillus thuringiensis* yaitu bersifat toksik terhadap ulat, menghasilkan enzim katalase dan bersifat motil.
2. Isolat *Bt Bg*, *Bt Br*, dan *Bt M* merupakan golongan bakteri mesofilik dengan pertumbuhan sel optimum terletak antara suhu 30°C dan 40°C.



3. Isolat *Bt* Bg, *Bt* Br, dan *Bt* M tumbuh dengan baik pada pH basa yaitu dengan perkiraan pH 7,5 pada isolat *Bt* Bg, pH >8 pada isolat *Bt* Br, dan pH 7,4 pada isolat *Bt* M.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahdianto D. F. 2006. *Kajian Pengaruh ph dan Suhu Terhadap Produksi Bioinsektisida oleh Bacillus thuringiensis subsp.israelensis Menggunakan Substrat Onggok Tapioka*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bernhard K., R. Utz. 1993. Production of *Bacillus thuringiensis* Insecticides for Experimental and Commercial Uses, Hlm. 255-265. Di dalam P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey dan S. Higgs (Penyunting). *Bacillus thuringiensis an Enviromental Biopesticide theory and Practice*. John Wiley and Sons, Chichester.
- Brown, A. E. 2007. *Microbiological Applications*. Higher Education. New York
- Carozzi, N.B., V.C. Kramer, G.W. Warren, S. Evola, and M.G. Koziel. 1991. Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 3057– 3061.
- Hidayat, N. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta : Andi Yogyakarta.
- Suryani Y, Astuti, B. Oktavia, dan S. Umniyati. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam Sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase*. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 138-147
- Waluyo, L. 2008. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.