



Mikrobiologi merupakan suatu istilah luas yang berarti sudi tentang mikroorganisme hidup yang terlalu kecil untuk dapat dilihat dengan mata telanjang. Mikrobiologi mencakup studi tentang bakteri (bakteriologi : ilmu yang mempelajari susunan dan pembagian kelompok jasad yang termasuk bakteri).

Buku ini membahas bab i. pengertian arti dan peranan mikrobiologi, bab ii. nutrisi dan medium kultur mikroba, bab iii. reproduksi dan pertumbuhan mikroorganisme, bab iv pengaruh lingkungan biotik dan abiotik terhadap mikroorganisme, bab v mikroorganisme dan perannya dibidang pertanian dan bioteknologi pangan, bab vi. teknik-teknik dalam isolasi, pemurnian, perbanyakan, dan penghitungan mikroorganisme, bab vii. pengelolaan mikroorganisme pengganggu tanaman, bab viii mikroorganisme bermanfaat untuk pengendalian hayati



Jl. Nyi Wiji Adisoro Rt. 03/01 Pelemsari
Prenggan Kotagede, Yogyakarta. 55172
Email Marketing Cs.: nutamedijogja@gmail.com
IKAPI No. 135/DIY/2021



ISBN: 978-623-5967-04-2



Tim Penulis

MIKROBIOLOGI PERTANIAN



Book Chapter

MIKROBIOLOGI PERTANIAN



SRI WIYATININGSIH, MULONO APRIYANTO,
YETTI ELFINA S, EKO SUTRISNO, MUHAMMAD INDAR PRAMUDI

Editor : Saediman



Bab V. Mikroorganisme dan perannya dibidang pertanian, Bioteknologi pangan

Muhammad Indar pramudi SP., MP

Prodi Proteksi Tanaman. Fakultas Pertanian. Universitas Lambung Mangkurat

Mikroorganisme tidak lepas dari bidang ilmu Mikrobiologi ditakrifkan sebagai ilmu yang mempelajari mahluk hidup berukuran mikroskopis (mikrobia) meliputi bakteri, algae, protozoa, fungi, dan virus. Mikrobiologi dapat dipandang sebagai ilmu dasar yang mempelajari biologi dari mikrobia baik yang berguna dalam bidang Medik, Immunologi, Pangan, Industri, Lingkungan, dan Pertanian. Pemanfaatan mikroorganisme ini dalam bidang pertanian dimanfaatkan untuk meningkatkan produksi pertanian baik kuantitas maupun kualitas dan menekan kemungkinan kehilangan produksi karena berbagai sebab.

Mikroorganisme dalam satu ekosistem dapat terjadi berbagai kemungkinan ada yang dapat melakukan sinergisme, satu mikroorganisme dengan yang lainnya saling berinteraksi positif dan menimbulkan penyakit yang lebih parah pada tanaman yang diserangnya, ada yang bersifat antagonis yaitu satu mikroorganisme menekan mikroorganisme yang lain sehingga kerusakan tanaman dapat dikurangi dan ada juga yang bersifat adaptif mikroorganisme satu dengan yang lainnya tidak saling mempengaruhi. Mikroorganisme bersifat antagonis dapat langsung menghambat patogen dengan sekresi antibiotik, berkompetisi dengan patogen-patogen terhadap makanan atau tempat, menginduksi proses ketahanan dalam inang serta langsung berinteraksi dengan patogen (Giller dan Wilson, 1991).

Mikroorganisme telah digunakan untuk produk seperti roti, yoghurt, minuman beralkohol, keju, dll, untuk waktu yang lama tanpa mengetahui keterlibatan mereka dalam fermentasi. Louis Pasteur menunjukkan peran mikroorganisme dalam pembusukan dan fermentasi juga melibatkan mikroorganisme. Setelah fakta ini ditetapkan, ilmuwan mencoba mengisolasi mikroorganisme, yang lebih efisien dalam menghasilkan produk yang lebih baik atau perbaikan proses. Beberapa spesies berguna untuk pengembangan rasa yang unik untuk anggur tertentu. Jadi secara tradisional mikroorganisme tertentu digunakan dalam makanan fermentasi seperti itu.

Mikroorganisme yang yang paing banyak dimanfaatkan adalah mikroorganisme mikro yang bersimbiosis dengan akar tanaman sehingga dapat meningkatkan unsur hara tanah, petani memanfaatkan leguminosae, belukar, tanaman pelindung, tanaman pakis Azolla atau rerumputan, atau dengan Azotobacter (Reijntjes *et al.*, 1999 *dalam* Aminah, 2019).

Beberapa organisme, seperti sebagai bakteri dan virus patogen serangga, bekerja melalui pencernaan dan berkerja sebagai racun perut. Seperti patogen serangga jamur, bakteri dan jamur yang mengendalikan patogen tanaman dan gulma, inokulan *Rhizobium*. dan galur patogen tanaman yang avirulen -yang bertindak, menginfeksi, atau berkoloni setelah kontak dengan permukaan luar hama.

Mikroorganisme, terutama bakteri dan jamur, banyak dimanfaatkan dalam budidaya tanaman. Peran mikroorganisme dalam pertanian organik umumnya sebagai pupuk maupun pestisida. Aplikasi mikroorganisme dalam pertanian organik adalah untuk menurunkan kandungan kimia dalam produk-produk pertanian dan mengurangi pencemaran untuk menjaga kelestarian lingkungan. Beberapa jenis mikroorganisme berfungsi sebagai pupuk, bio dekomposer, penghasil zat pengatur tumbuh dan biopestisida. Mikroorganisme yang berfungsi sebagai bio dekomposer mendegradasi selulosa dan lignin sehingga bahan organik tersedia untuk tanaman. Selain itu ada juga mikroorganisme yang langsung diaplikasikan ke tanaman sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan kesuburan tanah. Beberapa spesies ada juga yang berfungsi sebagai penghasil zat pengatur tumbuh. Mikroorganisme juga dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida untuk proteksi tanaman melalui kompetisi, antibiosis/lisis, menginduksi kekebalan tanaman terhadap penyakit dan hyphal interference (Nurhayati & Darwati, 2014).

Tabel 1. Peran mikroorganisme atau organisme dan lingkungan tempat tinggalnya serta daya kerjanya

| Mikroorganisme/ organisme | Cara penyebaran | Cara kerja | Habitat |
|--|--|---|--|
| Insektisida dari Bakteri pembentuk spora (spore-forming bacterial) | Crytal toxin, spora tahan lama | Racun perut, infeksi | Permukaan tanaman, air dan tanah |
| Protozoa sebagai insektisida | Spora tahan lama | Menginfeksi usus serangga | Permukaan tanaman |
| Virus serangga | Inkusi bodi yang bertahan lama | Menginfeksi usus serangga | Permukaan tanaman |
| Mycoinsektisida | spora yang relatif halus atau tahan lama | Menginfeksi ketika terkena atau kontak langsung | Permukaan tanaman, tanah, air, kutikula serangga |
| Mycoherbisida | spora yang relatif halus | Menginfeksi ketika terkena | Permukaan tanaman, tanah |

| | | | | |
|--|--|---|---|--------------------------|
| | | | atau kontak langsung | |
| | Bakteri herbisida | sel bakteri halus, spora keras | Menginfeksi ketika terkena atau kontak langsung | Permukaan tanaman, tanah |
| | Fungi, bakteri berguna untuk melawan pathogen penyakit tanaman | spora tahan lama atau halus, sel bakteri atau actinomycete | Menginfeksi atau menghambat kontak | Permukaan tanaman, tanah |
| | Bakteri, fungi simbiosis | Bakteri, halus | Menginfeksi ketika terkena atau kontak langsung | Tanah |
| | Nematoda entomopatogen | Tahap infeksi (dan berasosiasi dengan bakteri terkait), halus | Menginfeksi setelah menemukan inangnya | Tanah, air |
| | Bakteri, kapang dan kamir | Proses pembusukan makanan | | |

Mikroorganisme yang digunakan untuk proses pengolahan makanan bisa berasal dari kelompok bakteri maupun fungi. Bakteri yang digunakan bisa berasal dari kelompok Actinobacteriaceae seperti *Bifidobacterium thermophilum* (Xiao *et al.*, 2010), Firmicutes seperti *Bacillus* (Kubo *et al.*, 2011; Schwan & Wheals, 2004), dan Proteobacteriaceae seperti *Acetobacter* dan *Gluconacetobacter* (Sengun & Karabiyikli, 2011). Sedangkan dari fungi bisa berasal dari yeast maupun filamentous fungi (Bourdichon *et al.*, 2012).

Bioteknologi mikroba adalah proses fermentasi yang melibatkan mikroorganisme atau turunannya dimana substrat alami diubah menjadi produk bernilai tambah seperti produk makanan

olahan, enzim, asam organik, alkohol, polimer, dan banyak lagi. Mikroorganisme terutama bakteri, jamur, dan ragi digunakan di banyak sektor industri dan pengolahan makanan tradisional di seluruh dunia, seperti produksi makanan fermentasi tradisional, produk susu, enzim, vitamin, polisakarida, alkohol polihidrat, pigmen, lipid, dan glikolipid selain itu. detoksifikasi dan peningkatan fungsi beberapa item makanan. Beberapa dari produk ini diproduksi secara komersial, sementara yang lain berpotensi berharga dalam bioteknologi. Metabolit sekunder mikroba sangat penting untuk kesehatan dan gizi kita dan memiliki dampak ekonomi yang luar biasa. Saat ini, peningkatan produksi produk fermentasi yang penting secara ekonomi telah diuntungkan dari teknik rekayasa genetika yang ditargetkan hingga strain mikroba industri yang mapan untuk industri (Bhowmik & Patil, 2018).

Ketika komersialisasi besar-besaran produk tersebut terjadi, ada kebutuhan untuk meningkatkan produksi untuk memenuhi permintaan yang meningkat. Berbagai teknik peningkatan jumlah mikroba (seleksi, isolasi kultur murni, mutasi, fusi protoplas, dan lain-lain), dikembangkan dengan baik pada pertengahan abad terakhir, digunakan secara menguntungkan dalam output maksimum dari produk yang diinginkan dengan pembentukan produk sampingan minimum. Teknik-teknik ini, bagaimanapun, lambat dalam mengembangkan mikroorganisme yang memiliki sifat yang diinginkan dan sangat sedikit sifat yang tidak diinginkan. Kadang-kadang ketika fusi protoplas dilakukan, beberapa sifat yang tidak diinginkan ditransfer, yang harus perlahan-lahan dihilangkan dengan mutasi lebih lanjut. Semua ini memakan waktu lama dan hasilnya tidak tepat seperti banyak pengembangan sedang dilakukan secara empiris (Pai, 2003).

Dengan kemampuan bioteknologi modern, ilmuwan sekarang dapat mentransfer karakteristik yang diinginkan atau gen, tanpa transfer simultan gen yang tidak diinginkan lainnya (Ray, 2005). Potong dan teknik tempel, dikembangkan dalam rekayasa genetika, hanya dapat menggabungkan gen yang diinginkan. Jadi organisme yang dimodifikasi secara genetik hanya membutuhkan waktu beberapa bulan dibandingkan dengan beberapa tahun kerja laboratorium dengan metode tradisional. Komunikasi ini menyajikan perkembangan yang berkaitan dengan makanan, dimana tinjauan mikroorganisme rekayasa genetika yang berguna dalam makanan adalah diberikan. Upaya juga dilakukan untuk menunjukkan beberapa sifat yang diinginkan untuk budaya komersial, yang mungkin terbukti berguna dalam produksi dan pengolahan makanan industri.

Spesies *Bacillus* telah menyediakan produk biotek tradisional seperti enzim ekstraseluler dan toksin serangga. *B. strain thuringiensis* dengan toksisitas terhadap berbagai hama telah dieksploitasi dengan memasukkan gen ke dalam tanaman pangan untuk keberhasilan pengembangan ketahanan terhadap hama.

Corynebacterium glutamicum adalah organisme yang paling serbaguna, organisme yang digunakan secara komersial untuk menyiapkan glutamat, lisin, treonin, fenilalanin. *Escherichia*, *Serratia*, *Bacillus*, *Hansenula*, *Candida*, dan *Saccharomyces* juga digunakan dalam produksi asam amino, beberapa di antaranya dimodifikasi secara genetik. Bakteri biasanya tidak mengakumulasi sejumlah besar asam amino karena kontrol regulasi atas sintesisnya. Mutan harus disiapkan dengan mutagenesis yang melelahkan dan memilih mutan yang menghasilkan jumlah tertinggi. Dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan, produsen baru dapat dikembangkan dengan cepat dengan meningkatkan pembatasan aktivitas enzim (Eggeling & Sahm, 1999).

Di negara berkembang, makanan fermentasi diproduksi terutama di tingkat rumah tangga dan desa, di mana mereka mendapatkan penerimaan konsumen yang luas. Fermentasi makanan berkontribusi besar terhadap keamanan pangan dan ketahanan pangan, terutama di daerah pedesaan di banyak negara berkembang. Proses fermentasi tradisional yang digunakan dalam produksi makanan ini tidak terkontrol dan bergantung pada mikroorganisme dari lingkungan atau substrat fermentasi untuk memulai proses fermentasi. Oleh karena itu, proses seperti itu menghasilkan produk dengan hasil yang rendah dan kualitas yang bervariasi. Mikroorganisme dan jalur metabolisme yang terkait dengan produksi makanan fermentasi adalah subjek penelitian yang cukup besar, menargetkan isolasi dan identifikasi strain; peningkatan efisiensi proses fermentasi dan kualitas, keamanan dan konsistensi makanan fermentasi. Banyak dari penelitian ini menggabungkan penggunaan teknologi genetik untuk pengembangan dan perbaikan strain, dan untuk studi diagnostik.

Sementara mikroorganisme bermanfaat dalam sebagian besar proses fermentasi, beberapa dapat menimbulkan risiko kontaminasi makanan dan dapat menyebabkan penyakit bawaan makanan. Metodologi diagnostik yang mengintegrasikan penggunaan teknik genetik molekuler, meningkatkan kecepatan dan sensitivitas pengujian mikroba dan semakin banyak diterapkan di negara berkembang.

Dalam konferensi yang diselenggarakan oleh Forum Bioteknologi FAO, topik yang didefinisikan dengan jelas terkait dengan bioteknologi pertanian di negara-negara berkembang dibahas untuk waktu yang terbatas. Topik di sini adalah penerapan bioteknologi pada pengolahan makanan (termasuk minuman) yang dihasilkan dari pertanian. Konferensi email ini membahas alat dan opsi bioteknologi yang dapat diterapkan untuk studi dan peningkatan mikroorganisme yang menawarkan potensi untuk meningkatkan kualitas, keamanan, dan konsistensi makanan fermentasi; meningkatkan efisiensi produksi pangan fermentasi, bahan pangan, bahan tambahan pangan, dan alat bantu pengolahan pangan (enzim); diversifikasi hasil proses fermentasi dan, akhirnya, meningkatkan sistem diagnostik dan identifikasi yang berlaku untuk makanan. Aplikasi bioteknologi pada tanaman atau

hewan untuk meningkatkan sifat pemrosesan makanannya (misalnya pengembangan varietas tomat Flavr Savr, dimodifikasi secara genetik untuk mengurangi tingkat pematangannya) atau untuk menghasilkan protein dari mikroorganisme yang dimodifikasi secara genetik (GM) untuk meningkatkan produksi tanaman atau hewan (mis. produksi bovine somatotropin (BST), hormon yang meningkatkan produksi susu pada sapi perah, oleh bakteri GM) tidak dipertimbangkan di sini.

Bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, dan *Lactococcus*) telah digunakan untuk meningkatkan rasa, tekstur, pengawetan dan nilai gizi susu serta sayuran, produk fermentasi sereal dan kacang-kacangan termasuk yoghurt, buttermilk, keju, acar sayuran (Luchansky *et al* 1988; Patrick, 2012). Selain itu, beberapa bahkan digunakan sebagai probiotik, yang berkontribusi terhadap kesehatan pengguna secara keseluruhan. Dalam susu, asam laktat bakteri memfermentasi laktosa dan gula lainnya. Beberapa protease berperan dalam proses bersama dengan gula enzim metabolisme. Pembentukan produk ini sebagai senyawa yang mempengaruhi rasa dan tekstur memberikan aroma khas yang menyenangkan, rasa dan tubuh untuk produk. Aktivitas metabolisme juga membentuk beberapa vitamin yang berguna. Banyak bakteri asam laktat seperti *L. acidophilus* dan *L. sake* menghasilkan bakteriosin antimikroba, yang membantu mengendalikan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Strategi molekuler sedang dipelajari. Laktat yang direkayasa secara genetik dengan fermentasi yang lebih baik, efisiensi, umur simpan yang lebih baik, nutrisi dan sensorik properti untuk produk (Lin & Savage, 1986).

Ketika keju, yoghurt, dibuat, tidak diinginkan kontaminan dapat menyebabkan rasa yang buruk, hasil yang rendah dan keracunan makanan. Bakteri asam laktat dapat direkayasa secara genetik untuk tumbuh lebih cepat dari kontaminan, serta menghambat dan menghancurkan pertumbuhan kontaminan termasuk patogen dengan memproduksi antimikroba. Kultur starter telah dimodifikasi untuk menghasilkan agen antimikroba, yang menghancurkan dinding sel *Listeria monocytogenes*. Modifikasi serupa juga dapat dilakukan untuk melindungi terhadap organisme seperti *Salmonella*.

Bioteknologi dalam produksi bahan makanan. Bahan penyedap, asam organik, bahan tambahan makanan dan asam amino adalah semua metabolit mikroorganisme selama proses fermentasi. Oleh karena itu, proses fermentasi mikroba dieksploitasi secara komersial untuk produksi bahan makanan ini. Rekayasa metabolisme, pendekatan baru yang melibatkan manipulasi jalur metabolisme organisme yang ditargetkan dan bertujuan, sedang diteliti secara luas untuk meningkatkan kualitas dan hasil bahan makanan ini. Ini biasanya melibatkan perubahan aktivitas seluler dengan manipulasi fungsi enzimatik, transportasi dan pengaturan sel menggunakan DNA rekombinan dan

teknik genetik lainnya. Memahami jalur metabolisme yang terkait dengan proses fermentasi ini, dan kemampuan untuk mengarahkan kembali jalur metabolisme, dapat meningkatkan produksi metabolit ini dan mengarah pada produksi metabolit baru dan basis produk yang beragam.

Bioteknologi dalam produksi enzim. Enzim adalah katalis biologis yang digunakan untuk memfasilitasi dan mempercepat reaksi metabolisme pada organisme hidup. Mereka adalah protein dan membutuhkan substrat khusus untuk bekerja. Kondisi katalisnya diatur dalam batas yang sempit, mis. suhu optimum, kondisi pH dan konsentrasi oksigen. Sebagian besar enzim mengalami denaturasi pada suhu di atas 42°C. Namun, enzim bakteri tertentu toleran terhadap kisaran suhu yang lebih luas. Enzim sangat penting dalam metabolisme semua organisme hidup dan digunakan secara luas sebagai alat bantu pemrosesan dalam industri makanan dan minuman.

Di masa lalu, enzim diisolasi terutama dari sumber tumbuhan dan hewan, dan dengan demikian jumlah enzim yang relatif terbatas tersedia untuk pengolahan makanan dengan biaya tinggi. Saat ini, bakteri dan jamur dieksploitasi dan digunakan untuk produksi komersial berbagai enzim. Beberapa strain mikroorganisme telah dipilih atau dimodifikasi secara genetik untuk meningkatkan efisiensi produksi enzim. Dalam kebanyakan kasus, gen yang dimodifikasi berasal dari mikroba, meskipun mereka mungkin juga berasal dari kingdom yang berbeda. Misalnya, pengkodean DNA untuk chymosin, enzim yang ditemukan di perut anak sapi, yang menyebabkan susu mengental selama produksi keju, telah berhasil dikloning menjadi ragi (*Kluyveromyces lactis*), bakteri (*Escherichia coli*) dan jamur (*Aspergillus niger* var. *awamori*). Kimosin yang dihasilkan oleh mikroorganisme rekombinan ini saat ini diproduksi secara komersial dan banyak digunakan dalam pembuatan keju.

Produksi industri enzim dari mikroorganisme melibatkan pembiakan mikroorganisme dalam tangki besar di mana enzim disekresikan ke dalam media fermentasi sebagai metabolit aktivitas mikroba. Enzim yang dihasilkan diekstraksi, dimurnikan dan digunakan sebagai alat bantu pemrosesan dalam industri makanan dan untuk aplikasi lain. Enzim yang dimurnikan adalah entitas bebas sel dan tidak mengandung makromolekul lain seperti DNA.

Teknologi genetika tidak hanya meningkatkan efisiensi produksi enzim, tetapi juga meningkatkan ketersediaannya, mengurangi biayanya, dan meningkatkan kualitasnya. Ini memiliki dampak yang menguntungkan dari peningkatan efisiensi dan perampingan proses yang menggunakan penggunaan enzim sebagai alat bantu pengolahan dalam industri makanan.

Selain itu, melalui rekayasa protein, dimungkinkan untuk menghasilkan enzim baru dengan struktur termodifikasi yang memberikan sifat baru yang diinginkan, seperti peningkatan aktivitas atau termostabilitas atau kemampuan untuk bekerja pada substrat baru atau pada pH yang lebih tinggi.

Evolusi terarah adalah salah satu metode utama yang saat ini digunakan untuk rekayasa protein. Teknik ini melibatkan pembuatan sejumlah besar varian enzim baru dengan mutasi genetik acak dan kemudian menyaringnya untuk mengidentifikasi varian yang ditingkatkan. Proses ini dilakukan berulang-ulang, sehingga meniru proses evolusi alam.

Bioteknologi dalam diagnostik untuk pengujian makanan. Banyak metode mikrobiologi makanan klasik yang digunakan di masa lalu berbasis kultur, dengan mikroorganisme yang tumbuh di piring agar dan dideteksi melalui identifikasi biokimia. Metode ini seringkali membosankan, padat karya dan lambat. Sistem diagnostik dan identifikasi berbasis genetik dapat sangat meningkatkan spesifisitas, sensitivitas dan kecepatan pengujian mikroba. Metodologi pengetikan molekuler, umumnya melibatkan reaksi berantai polimerase (PCR), ribotyping (metode untuk menentukan homologi dan perbedaan antara bakteri pada tingkat spesies atau sub-spesies (strain), menggunakan analisis restriksi fragmen panjang polimorfisme (RFLP) asam ribonukleat ribosom (rRNA) gen) dan elektroforesis gel bidang berdenyut (PFGE, metode pemisahan molekul DNA besar yang dapat digunakan untuk mengetik strain mikroba), dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan memantau keberadaan flora pembusuk (mikroba yang menyebabkan makanan menjadi tidak layak untuk makan), flora normal dan mikroflora dalam makanan. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) atau sistem penanda molekuler amplified fragment length polymorphism (AFLP) juga dapat digunakan untuk perbandingan perbedaan genetik antara spesies, subspecies dan strain, tergantung pada kondisi reaksi yang digunakan. Penggunaan kombinasi teknologi ini dan tes genetik lainnya memungkinkan karakterisasi dan identifikasi organisme pada genus, spesies, sub-spesies dan bahkan tingkat strain, sehingga memungkinkan untuk menentukan sumber kontaminasi makanan, untuk melacak mikroorganisme di seluruh rantai makanan. atau untuk mengidentifikasi agen penyebab penyakit bawaan makanan. Antibodi monoklonal dan poliklonal juga dapat digunakan untuk diagnostik, mis. dalam kit enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Microarrays adalah biosensor yang terdiri dari sejumlah besar reseptor hibrida paralel (DNA, protein, oligonukleotida). Microarray juga disebut sebagai biochip, DNA chip, DNA microarray atau gen array dan menawarkan peluang dan pendekatan yang belum pernah ada sebelumnya untuk metode diagnostik dan deteksi. Mereka dapat digunakan untuk mendeteksi patogen, pestisida dan racun dan menawarkan potensi yang cukup besar untuk memfasilitasi kontrol proses, kontrol proses fermentasi dan pemantauan kualitas dan keamanan bahan baku.

Nutrisi dan keamanan pangan. Proses fermentasi meningkatkan nilai gizi makanan melalui biosintesis vitamin, asam amino esensial dan protein, melalui peningkatan pencernaan protein dan serat;

meningkatkan bioavailabilitas mikronutrien dan menurunkan faktor antinutrisi. Banyak bakteri dalam makanan fermentasi juga menunjukkan sifat fungsional (probiotik).

Keamanan produk makanan fermentasi ditingkatkan melalui pengurangan senyawa beracun, seperti mikotoksin dan glukosida sianogenik, dan produksi faktor antimikroba, seperti bakteriosin, karbon dioksida, hidrogen peroksida dan etanol, yang memfasilitasi penghambatan atau penghapusan patogen bawaan makanan.

Tumbuhan yang memiliki sifat unggul, seperti tahan hama, produksi panen banyak, tahan kekeringan, dan waktu panen lebih singkat dapat diperoleh dari rekayasa genetika dengan cara menyisipkan gen tumbuhan dengan gen yang memiliki sifat yang dikehendaki melalui perantara bakteri *Agriobaetarium* sp. Tumbuhan yang mendapatkan perlakuan demikian disebut sebagai Tumbuhan transgenik. Biomassa mikroba juga dimanfaatkan dalam tahapan sebelum panen, misalnya membuat formulasi pupuk hayati atau pestisida hayati. Pupuk hayati = *Rhizobium* sp., *Azobacter* sp., *Azospirillum* sp., Pestisida hayati = *Bacillus thuringiensis*.

Inovasi bioteknologi telah sangat membantu dalam industrialisasi produksi makanan fermentasi asli tertentu. Tempe Indonesia dan kecap Oriental adalah contoh terkenal dari makanan fermentasi asli yang telah diindustrialisasi dan dipasarkan secara global. Hasil penelitian bioteknologi akan mengarah pada peningkatan kualitas, keamanan dan konsistensi pangan fermentasi.

Taktik Pengendalian dan pengelolaan populasi hama yang sengaja dilakukan dengan memanfaatkan musuh alami sehingga dapat menurunkan, menekan dan mengendalikan populasi hama pada tanaman budidaya. Pengendalian hayati sangat dilatarbelakangi oleh berbagai pengetahuan dasar ekologi, pengaturan populasi dan keseimbangan ekosistem hidupnya. Musuh alami berfungsi sebagai pengendali hama yang tergantung pada kepadatan populasi hama, sehingga keefektifannya ditentukan pula oleh kehidupan dan perkembangan hama yang ada. Ketersediaan lingkungan yang cocok bagi perkembangan musuh alami merupakan prasyarat akan keberhasilan pengendalian hayati.

Salah satu Pengendalian hayati yang sering ditemui adalah penggunaan pestisida Hayati yang merupakan pestisida yang bahan dasarnya berasal dari mikroorganisme (fungi, virus, bakteri dan nematoda) serta bahan lainnya yang mudah terdegradasi secara alamiah dan aman bagi lingkungan sekitarnya termasuk manusia.

Mikroorganisme tanah untuk pupuk organik. Menurut (Sharma, 2021) peran mikroba tanah yang bermanfaat dalam meningkatkan bahan organik tanah dapat melalui berbagai aktivitasnya seperti meningkatkan kandungan dan ketersediaan hara di dalam tanah, efisiensi penyerapan unsur hara,

menekan mikroba tular tanah patogen melalui interaksi kompetisi. Memproduksi zat pengatur tumbuh pada sistem perakaran tanaman, meningkatkan aktivitas mikroba tanah heterotrof.

Di dalam tanah kandungan unsur N relatif kecil (<2%), sedangkan di udara kandungan N berlimpah. Hampir 80% kandungan gas di udara adalah gas N₂. Bakteri Rhizobium dapat memanfaatkan sumber N yang berlimpah dari udara dengan bersimbiosis pada tanaman legum. Ada beberapa yang non simbiotik untuk menghasilkan N seperti *Azomonas*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Rhodomicrobium*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aulosira*, *Calothrix*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*, *Fischerella*, *Gloeocapsa*, *Lyngbya*, *Hapalosiphon*, *Mastigocladus*, *Oscillatoria*.

Mikroba Pelarut Fosfat. Mikroba pelarut fosfat terdiri dari golongan bakteri dan Jamur. Kelompok bakteri pelarut fosfat adalah: Pseudomonas, Bacillus, Escherichia, Brevibacterium dan Seralia, sedangkan dari golongan Jamur adalah: Aspergillus, Penicillium, Culvularia, Humicola dan Phoma. Bakteri pengoksidasi sulfur (Thiobacillus) dan pengoksidasi ammonium (Nitrosomonas).

Jamur Mikoriza Arbuskula (CMA). Mikoriza atau jamur akar yang simbiotik yang ada antara jamur dan akar tumbuhan, terdiri atas Ektomikoriza dan endomikoriza. Bagi tanaman yang sistem perakarannya kurang berkembang, peran akar dapat ditingkatkan dengan adanya interaksi simbiosis dengan jamur mikoriza (Douds & Patricia, 2017). Jamur mikoriza dapat pula meningkatkan penyerapan sebagian besar unsur hara makro dan mikro terutama unsur hara immobil yaitu P dan Cu (Sharma, 2021).

Mikroorganisme antagonis. Mikroorganisme antagonis dalam pengendalian hayati patogen tanaman seperti bakteri, aktinomyces, jamur, virus tanaman tingkat tinggi dan predator mikrofauna seperti protozoa, nematoda, collembola dan tungau (Baker and Cook, 1982). Mikroorganisme yang bersifat antagonis dapat langsung menghambat patogen dengan sekresi antibiotik, berkompetisi dengan patogen-patogen terhadap makanan atau tempat, menginduksi proses ketahanan dalam inang serta langsung berinteraksi dengan pathogen (Giller, 1993). *Trichoderma* sp. merupakan jamur yang paling banyak terdapat di dalam tanah dan bersifat antagonistik terhadap jamur lain (Singh & Shilpi, 2012). Biofungisida menyediakan alternatif yang dipakai untuk mengendalikan penyakit jamur. Beberapa biofungisida yang telah digunakan adalah spora *Trichoderma* sp. digunakan untuk mengendalikan penyakit akar putih pada tanaman karet dan layu fusarium pada cabai. Merek dagangnya ialah Saco P dan Biotri P (Novizan, 2002).

Menurut Streets (1980) dalam Tindaon, (2008), *Trichoderma* spp. diklasifikasikan dalam Kingdom Plantae, Devisio Amastigomycota, Class Deutromycetes, Ordo Moniliales, Famili Moniliaceae, Genus

Trichoderma, Spesies *Trichoderma spp.*. Cendawan marga *Trichoderma* terdapat lima jenis yang mempunyai kemampuan untuk mengendalikan beberapa patogen yaitu *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma hamatum* dan *Trichoderma polysporum*. Jenis yang banyak dikembangkan di Indonesia antara lain *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*.

Trichoderma spp. memiliki konidiofor bercabang – cabang teratur, tidak membentuk berkas, konidium jorong, bersel satu, dalam kelompok-kelompok kecil terminal, kelompok konidium berwarna hijau biru (Semangun, 1996). *Trichoderma spp.* juga berbentuk oval, dan memiliki sterigma atau phialid tunggal dan berkelompok. Koloni *Trichoderma spp.* pada media agar pada awalnya terlihat berwarna putih selanjutnya miselium akan berubah menjadi kehijau-hijauan lalu terlihat sebagian besar berwarna hijau ada ditengah koloni dikelilingi miselium yang masih berwarna putih dan pada akhirnya seluruh medium akan berwarna hijau (Umrah *et al.*, 2009).

Koloni pada medium OA (20°C) mencapai diameter lebih dari 5 cm dalam waktu 9 hari, semula berwarna hialin, kemudian menjadi putih kehijauan dan selanjutnya hijau redup terutama pada bagian yang menunjukkan banyak terdapat konidia. Konidifor dapat bercabang menyerupai piramida, yaitu pada bagian bawah cabang lateral yang berulang-ulang, sedangkan kearah ujung percabangan menjadi bertambah pendek. Fialid tampak langsing dan panjang terutama apeks dari cabang, dan berukuran (2,8-3,2) μm x (2,5-2,8) μm , dan berdinding halus. Klamidospora umumnya ditemukan dalam miselia dari koloni yang sudah tua, terletak interkalar kadang terminal, umumnya bulat, berwarna hialin, dan berdinding halus (Gandjar *et al.*, 1999 dalam Tindaon, 2008).

Menurut Harman (1998) dalam Gultom, (2009), mekanisme utama pengendalian patogen tanaman yang bersifat tular tanah dengan menggunakan cendawan *Trichoderma spp.* dapat terjadi melalui:

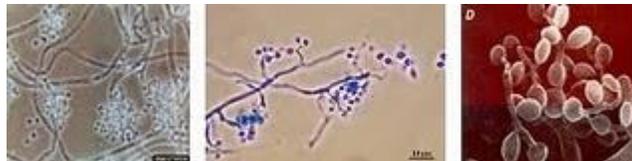
- a. Mikoparasit (memarasit miselium cendawan lain dengan menembus dinding sel dan masuk kedalam sel untuk mengambil zat makanan dari dalam sel sehingga cendawan mati).
- b. Menghasilkan antibiotik seperti alametichin, paracelsin, trichotoxin yang dapat menghancurkan sel cendawan melalui pengrusakan terhadap permeabilitas membran sel, dan enzim chitinase, laminarinase yang dapat menyebabkan lisis dinding sel.
- c. Mempunyai kemampuan berkompetisi memperebutkan tempat hidup dan sumber makanan.
- d. Mempunyai kemampuan melakukan interfensi hifa. Hifa *Trichoderma spp.* mengakibatkan perubahan permeabilitas dinding sel.

Biofungisida lainnya menurut Novizan (2002), yaitu *Gliocladium* spesies *G. roseum* dan *G. virens*. Produk komersialnya sudah dapat dijumpai di Indonesia dengan merek dagang *Ganodium P* yang direkomendasikan untuk mengendalikan busuk akar pada cabai akibat serangan jamur *Sclerotium Rolfsii*. *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri saprofit mampu mengendalikan serangan jamur *Fusarium sp.* pada tanaman tomat. Bakteri ini telah diproduksi secara masal dengan merek dagang Emva dan Harmoni BS (Novizan, 2002).

Bioherbisida. Termasuk dalam golongan herbisida ini ialah pengendalian gulma dengan menggunakan penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri, jamur dan virus. Bioherbisida yang pertama kali digunakan ialah DeVine yang berasal dari *Phytophthora palmivora* yang digunakan untuk mengendalikan *Morrenia odorata*, gulma pada tanaman jeruk. Bioherbisida yang kedua dengan menggunakan *Colletotrichum gloeosporioides* yang diperdagangkan dengan nama Collego dan digunakan pada tanaman padi dan kedelai di Amerika (Sastroutomo, 1992).

Jamur Entomopatogen. Jamur patogen serangga atau dikenal juga sebagai entomopatogen. Watson *et al* (1975) menyatakan bahwa salah satu unsur pengelolaan populasi hama adalah pengendalian dengan cara agen pengendali alami atau musuh alaminya. Beberapa jamur yang dapat digunakan sebagai musuh alami hama adalah *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces sp.*, *Verticillium sp.*, dan *Spicaria sp.* kelima Jamur ini adalah cendawan entomopatogen (Rehner & Buckley, 2005; Wagner & Lewis, 2000). Cendawan *B. bassiana* memiliki inang yang luas, diketahui 175 jenis serangga hama yang menjadi inang cendawan *B. bassiana*. *B. bassiana* paling mudah ditemukan pada hama walang sangit (*Leptocoris oratorius*), wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens*), kutu daun (*Aphis sp.*) dan ulat grayak (*S. litura*). Herlinda *et al.*, (2008) meneliti Efikasi bioinsektisida formulasi cair berbahan aktif *B. bassiana* (bals.) Vuill. Dan *Metarhizium sp.* Pada wereng punggung putih (*Sogatella furcifera* horv.). Sedang Wraight *et al.*, (2000), menggunakan *B. bassiana* dan *Paecilomyces fumosoroseus* untuk mengendalikan *Bemisia argentifolii*. Berikut ini adalah penggunaan cendawan entomopatogen di dalam pengendalian hayati.

1. *B. bassiana*



Gambar 1. mikroskopis *Beauveria bassiana*



Gambar 2. serangga yang terinfeksi *Beauveria bassiana*

B. bassiana adalah cendawan mikroskopik dengan tubuh berbentuk benang-benang halus (hifa). cendawan ini bersifat parasit terhadap serangga inangnya, umumnya ditemukan pada serangga tanah. Tetapi jamur ini juga mampu memparasit serangga yang hidup pada permukaan tanaman atau pohon. *B. bassiana* dapat menyerang dan menyebabkan kematian pada semua fase tumbuh serangga (telur, larva, pupa, imago) namun jika serangga dapat mencapai fase imago maka imago cacat dengan perkembangan sayap yang tidak sempurna. *B. bassiana* merupakan cendawan entomopatogenik yang dapat digunakan sebagai biopestisida. Wereng batang coklat pada tanaman padi dapat dikendalikan dengan *B. bassiana*. Untuk penerapan pada masyarakat memerlukan sosialisasi yang intensif dan harus disertai dengan peragaan cara aplikasi pada hama sasaran. Walaupun biopestisida ini berdampak positif terhadap pengendalian serangga hama tanaman dan ramah lingkungan (Priyatno & Kardin, 1996).

B. bassiana ditemukan pada lapisan top soil dengan kedalaman 5-15 cm dari permukaan tanah. *B. bassiana* dari tanah dapat diperoleh dengan menggunakan metoda umpan serangga (insect bait method). Tanah yang diduga terdapat *B. bassiana* diambil secara acak misalnya pada pertanaman pisang. Tanah pada kedalaman 5–10 cm diambil sebanyak 2 kg kemudian dimasukkan ke kantong plastik dan diberi label lokasi dan tanggal pengambilan sampel. kemudian ayak tanah dan dimasukkan ke dalam kotak plastik berukuran 13 x 13 x 10 cm masing-masing sebanyak 400 g (tiap lokasi menggunakan 4 buah kotak). Letakkan ke dalam kotak tanah tadi 10 ekor Larva *T. molitor* stadia larva instar 3 sebagai perangkap umpan *B. bassiana*. Lapsi tubuh larva ini dengan selapis tipis tanah dan dilembabkan dengan menyemprotkan aquadest steril di atasnya. Selanjutnya tutupi kotak dengan kain puring hitam yang telah dilembabkan ukuran 25 x 25 cm. setiap hari amati larva *T. molitor* apakah ada yang diduga terserang jamur *B. bassiana* kemudian diisolasi sebagai sumber isolat.

Larva yang terinfeksi disterilisasi bagian permukaannya dengan larutan 1% Natrium hipoklorit selama 3 menit. Kemudian bilas dengan air steril sebanyak 3 kali dan dikering anginkan diatas kertas saring steril. Larva tersebut kemudian diletakkan dalam petridish berisi tisu lembab steril dan diinkubasikan

untuk merangsang pertumbuhan jamur. Spora yang keluar dari tubuhnya kemudian dibiakkan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) dan diinkubasikan selama 7 hari.

CARA KERJA *B. bassiana*

B. bassiana menginfeksi tubuh serangga mula-mula dari bagian alat tambahan (apendages) seperti antara antena, kepala, toraks, antara segmen toraks dengan abdomen dan antara segmen abdomen dengan ekor. Inokulum jamur yang menempel pada tubuh serangga inang akan berkecambah dan berkembang membentuk tabung kecambah, kemudian masuk menembus kulit tubuh. Penembusan dilakukan dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Permukaan tubuh serangga yang terinfeksi akan diselubungi oleh lapisan jamur berwarna putih. Miselia jamur menembus ke luar tubuh inang, tumbuh menutupi seluruh tubuh inang. serangga akan mengalami proses mumifikasi sehingga tubuhnya menjadi keras. Menurut beberapa hasil penelitian *B. bassiana* mampu mematikan 95% serangga yang diuji.

Aplikasi di lapang

Pengendalian dengan *B. Bassiana* akan efektif apabila penyemprotan dilakukan waktu sore hari (pukul 15.00 – 18.00) untuk mengurangi kerusakan oleh sinar ultraviolet. Formulasi *B. bassiana* yang sudah jadi disimpan di tempat yang sejuk dan terlindung dari sinar matahari langsung untuk mempertahankan efektivitasnya.

2 *Metarrhizium anisopliae*

Jamur *M. anisopliae* telah dikenal sebagai patogen pada berbagai jenis serangga hama dan dapat diproduksi secara komersial sebagai bioinsektisida. Walaupun jamur ini dapat menginfeksi begitu banyak serangga, ternyata intensitas serangan terbesar dan inang yang terbaik untuk berkembang biak adalah larva *Orytes. rhinoceros*. Semua stadia *O. rhinoceros* kecuali telur dapat diinfeksi oleh jamur ini. Sifat jamur ini yang dapat menginfeksi hampir semua stadia *O. rhinoceros* itulah yang menjadi dasar untuk memanfaatkan jamur ini sebagai agens hayati hama tersebut (Sambiran dan Meldy, 2018).

Cendawan *M. anisopliae* merupakan jamur yang bersifat entomopatogen dan dapat di jadikan sebagai salah satu bioinsektisida, khususnya bagi hama jenis belalang dan kumbang penggerek. *M. anisopliae* dapat menembus ke jaringan atau kutikula serangga. Menurut (Thomas & Read, 2007), mekanisme penetrasi *M. anisopliae* pada kultikula serangga dapat di golongkan menjadi 4 tahap sebagai berikut.

1. Kontak antara propagul cendawan dengan tubuh serangga.
2. Proses penempelan dan perkecambahan propagul cendawan pada integumen serangga.
3. Penetrasi dan infasi. Saat penetrasi menembus integumen, cendawan dapat menembus tabung kecambah (appresorium). Titik penetrasi sangat di pengaruhi oleh konfigurasi morfologi

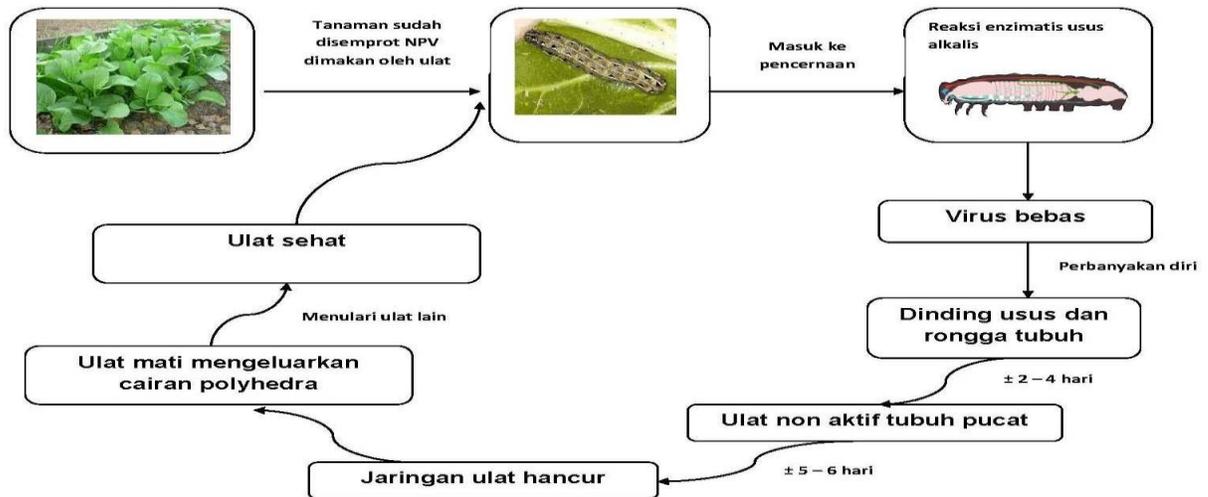
integumen. Penembusan dilakukan dengan cara mekanis atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim dan toksin.

4. Dextruksi di titik penetrasi dan terbentuknya blastospora. Setelah itu, spora akan beredar ke dalam haemolymph dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang jaringan lainnya.

Pestisida Hayati dengan Menggunakan Virus Serangga. Nucleo Polyhedron Virus (NPV) adalah virus yang berbentuk polihedra dan bereplikasi di dalam inti sel (nukleus). Polihedral NPV merupakan kristal protein dengan diameter 0.2 – 20 μ m. Kristal protein ini berukuran kurang lebih 29.000 - 31.000 Dalton, yang berfungsi sebagai pelindung infektifitas partikel virus dan menjaga viabilitasnya di alam serta melindungi DNA virus dari degradasi akibat sinar ultra violet matahari.

523 spesies serangga diketahui sebagai inang dari NPV, virus ini bersifat spesifik inang, Penamaan NPV pada awalnya disamakan dengan nama inang asli dimana virus ini diisolasi contoh NPV yang menginfeksi ulat *Spodoptera litura* maka dinamakan *Spodoptera litura Nucleopolyhedrovirus (SINPV)* dan yang menginfeksi *Spodoptera exigua* dinamakan dengan *Spodoptera exigua Nucleopolyhedrovirus (SeNPV)*.

NPV dapat ditemukan menempel pada tanaman dan media tanam. Jika permukaan tanaman dan daunnya termakan oleh serangga inang maka virus ini dapat masuk ke dalam saluran pencernaan. Polihedra virus ini akan pecah dan melepaskan virion infeksi. Virion yang terlepas dari selubung protein akan memulai infeksi ke dalam sel-sel saluran pencernaan yang memungkinkan virus untuk mereplikasikan DNA nya pada inti sel inang.



Gambar 3. Proses infeksi SINCNPV atau SeNPV dimulai dari tertelannya polihedra (berisi virus) bersama pakan

warna kulit ulat akan berubah warna dari pucat menjadi kehitaman, jika serangan berlanjut maka kulit akan hancur. Apabila disentuh akan mengeluarkan bau dan cairan kental seperti cairan nanah. proses ini memerlukan waktu 3 sampai 7 hari tergantung pada ketahanan tubuh ulat. walaupun terinfeksi virus, ulat masih dapat makan dan merusak bagian tanaman. menurut penelitian kemampuan makan ulat akan turun sampai 84 %.

NPV dapat diaplikasikan dalam bentuk larutan menggunakan handsprayer ataupun semprotan punggung (knapsack sprayer). waktu yang tepat untuk aplikasi adalah sore atau malam hari karena ulat grayak aktif pada malam hari (nocturnal). penyemprotan sebaiknya dilakukan pada bagian bawah daun.

Pestisida Hayati dengan Menggunakan Bakteri

Menurut penelitian *Pseudomonas* sp. dapat digunakan sebagai agens hayati pengendali penyakit tumbuhan. terutama *P.fluorescens* dan *P. putida*. Kedua bakteri jika diaplikasikan pada umbi kentang akan meningkatkan pertumbuhan dan jumlah umbi yang dihasilkan sebesar 5-33 %, gula beet 4-8 ton/ha dan menambah berat akar tumbuhan radish 60-144%. Strain ini disebut rizobakteri Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR). Benih timun yang diberi PGPR akan tahan terhadap serangan penyakit antraknosa (*Colletotrichum orbiculare*). Pada benih kacang yang diaplikasi dengan *P.fluorescens* strain S97 akan menimbulkan ketahanan terhadap penyakit hawar (*P. syringe pv. phaseolicola*). tanaman terbakau tahan virus nikrotik karena diaplikasikan dengan *P. fluorescens* strain CHAO.

Perlakuan akar, tanah, atau biji dengan rizobakteri PGPR mampu berperan sebagai agen penyebab ketahanan sistemik. Umumnya mekanisme kerja dari agen pengendalian hayati pada persaingan zat makanan, proses parasitisme dan antibiosis.

Bio-insektisida berbahan aktif *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bacillus thuringiensis adalah bakteri batang (gram positif) yang terdiri atas 67 sub spesies (1988). bakteri ini dapat hidup pada permukaan daun dan tanah. Bt dapat membentuk kristal paraspora dan akan membentuk fase sporulasi jika kondisi tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya. toksin yang dihasilkan Bt dibawa oleh protein Cry yang akan menyebabkan kematian serangga jika memakannya. Sehingga toksin Cry dapat digunakan sebagai pestisida alami. Bt juga menghasilkan antibiotik, enzim dan metabolit selain toksin diatas. sebagian subspecies *B. thuringiensis* dapat membentuk beta-eksotoksin yang toksik bagi manusia dan insekta (Coleoptera, Lepidoptera, hemiptera dan diptera). *Bt* dapat ditemukan pada berbagai jenis tanaman, termasuk sayuran, kapas, tembakau, dan tanaman hutan. respon terhadap toksisitas Bt berbeda-beda. hal ini diperkuat oleh hasil (Heimpel *et al.*, 1960 dan Heimpel, 1967) yang menyatakan senyawa α -eksotoksin yang tahan terhadap suhu tinggi beracun bagi mencit dan *Plutella xylostella* dan spesies dari *Lepidoptera* lainnya. terjadi mekanis intraseluler dari β -eksotoksin, senyawa ini dapat menghambat sintesa asam ribonukleat, dengan cara menghentikan proses katalisa polimerasi oleh DNA-dependen RNA-polymersae.

Mekanisme Patogenisitas

Serangga akan mati karena mengalami gangguan pencernaan akut. karena enzim Bt (kristal protein) akan aktif apabila enzim yang ada dalam pencernaan serangga yang bersifat basa saling bercampur akibatnya akan terjadi lisis pada dinding usus serangga.

Cara Isolasi

Isolat *Bt* dapat diisolasi dari tanah, bagian tumbuhan, kotoran hewan, serangga dan bangkainya dan sumber lain. Isolasi *Bt* dari berbagai isolat disuspensikan ke dalam media yang mengandung natrium asetat kemudian dikocok. Media ini dapat menghambat pertumbuhan spora *B. thuringiensis* menjadi sel vegetatif. Setelah beberapa jam media tersebut dipanaskan pada suhu 80°C selama beberapa menit. Pemanasan ini dapat mematikan sel atau spora-spora tumbuh. Kemudian paskan suspensi dan ratakan pada media padat. Koloni yang tumbuh kemudian dipindahkan ke media sporulasi, cek spora atau protein kristalnya untuk menentukan apakah koloni tersebut termasuk *Bt* atau bukan.

Penapisan Isolat yang Toksik

Isolat *Bt* tidak semuanya bersifat racun bagi serangga. Untuk mengetahui isolat mana yang beracun maka perlu dilakukan penapisan daya racun. Pendekatan yang dapat dilakukan dengan pendekatan secara molekular dan bioasai.

Pendekatan molekular *PCR* menggunakan primer-primer khusus yang dapat menggandakan bagian tertentu gen penyandi protein kristal (gen *cry*). Hasil dari *PCR* ini dapat dipakai memprediksi potensi racun tanpa melakukan proses bioasai terhadap serangga target. Sehingga penapisan dari berbagai isolat dengan kandungan gen *cry* tertentu dapat dilakukan dengan cepat dan menghemat banyak waktu.

Setelah dilakukan proses *PCR* maka perlu dilakukan bioasai dari isolat tersebut ke serangga target. Bioasai ini dapat membandingkan daya racun dari isolate yang berbeda sehingga didapatkan isolat *Bt* lokal yang efektif untuk mengendalikan beberapa serangga uji.

Cara Perbanyakan

Perbanyakan *Bt* dapat dilakukan dengan media cair, karena media ini dapat memicu terbentuknya protein kristal dari *Bt*. Media yang telah diuji dan efektif adalah yang mengandung *tryptose*. Kandungan *tryptose* dapat memicu sporulasi *Bt* (2-5 hari) dengan pengocokan (30°C). Perbanyakan skala besar *Bt* dengan menggunakan fermentor. *Bt* sebagai bioinsektisida biasanya berbentuk kering dan padatan yang berupa protein Kristal. bioinsektisida *Bt* dalam bentuk padatan berupahasil fermentasi dari fermentor yang telah disaring dan diendapkan yang kemudian dikeringkan. Endapan yang sudah kering dapat dicampurkan dengan bahan lain (pembawa, pengemulsi, perekat, perata). Sehingga diperoleh produk bioinsektisida yang siap dipakai maupun dimasukkan dalam kemasan jadi.

Langkah yang dilakukan untuk menghasilkan bioinsektisida, yaitu

1. Isolasi Mikroba

Isolasi dilakukan untuk mendapatkan biakan murni mikroba. Mikroba ditumbuhkan pada media selektif yang diperkaya dengan penambahan nutrisi khusus. Media ini diusahakan sama seperti habitat alamnya mikroba.

2. Seleksi Mikroba

Mikroba hasil isolasi di atas perlu diseleksi lagi agar diperoleh isolat yang pertumbuhannya subur sehingga didapatkan mikroba yang memiliki tingkat kemurnian tinggi dan bebas kontaminan, spesifik target, mempunyai konsentrasi tinggi dan mudah disimpan untuk jangka waktu lama.

3. Karakterisasi dan Identifikasi

Beberapa karakterisasi yang perlu diketahui adalah morfologi (koloni dan sifat tumbuh) dan struktur, termasuk dalam jenis bakteri gram positif atau negatif, media tumbuh baik padat maupun cair, keperluan akan oksigen, suhu, pH optimal untuk tumbuh serta kurva pertumbuhan.

Selanjutnya isolat mikroba dapat diidentifikasi dengan berbagai cara berdasarkan:

1. Reaksi enzimatik atau biokimia, diantara seperti proses oksidase, fermentasi gula, katalase, TSIA, citrate, urease.
2. Tes serologi untuk mengetahui reaksi antigen dan antibodi
3. Sifat genetik dengan PCR untuk mengetahui komposisi dan urutan basa nukleotida
4. Urutan asam amino, urutan asam amino yang menyusun protein adalah spesifik.

4. Pemeliharaan Kultur

Kegiatan pemeliharaan kultur penting untuk mencegah kontaminasi dan mempertahankan mutu genetik, tingkat aktivitas dan viabilitas sel. Oleh karena itu tahap ini merupakan tahap yang paling menentukan dalam memproduksi bioinsektisida karena mikroba mudah sekali mengalami mutasi, sehingga dapat menurunkan kemampuan mikroba menghasilkan metabolit.

5. Propagasi Kultur dan Pembuatan Starter

inokulum sehat dan aktif memerlukan propagasi kultur. akan tetapi kultur ini tidak dapat langsung digunakan untuk fermentasi. Hasil propagasi biasanya dalam jumlah sedikit sehingga tidak mencukupi maka perlu dibiakan kembali dalam jumlah banyak. Inokulum yang berupa biakan aktif (starter) yang sudah diperbanyak siap diinokulasikan ke fermentor.

6. Fermentasi

Proses menghasilkan produk dari mikroba dalam kondisi aerob dan anaerob pada fermentor disebut fermentasi. hal yang paling diperhatikan dalam fermentasi adalah kandungan nutrisi medium sehingga pertumbuhannya optimal, suhu, pH, aerasi maupun homogenitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, S. (2019). Pengaruh Berbagai Interval Waktu Aplikasi Pupuk Hayati Tadabur Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Sawi. *Jurnal Ilmiah Agrotani*, 1(1), 59–65.
- Bhowmik, S. N., & Patil, R. T. (2018). Application of Microbial Biotechnology in Food Processing. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Crop Improvement through Microbial Biotechnology* (pp. 73–106). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00005-0>
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I. B., Prajapati, J. B., Seto, Y., Ter Schure, E., Van Boven, A., Vankerckhoven, V., Zgoda, A., Tuijelaars, S., & Hansen, E. B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030>
- Douds Jr, D. D., & Patricia, D. M. (2017). Handbook of weed management systems. *Handbook of Weed Management Systems*, 74, 1–741. <https://doi.org/10.1201/9780203752470>
- Eggeling, L., & Sahm, H. (1999). L-glutamate and L-lysine: Traditional products with impetuous developments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(2), 146–153. <https://doi.org/10.1007/s002530051501>
- Giller, K. E. (1993). Nitrogen fixation in tropical cropping systems. In *Field Crops Research* (2nd ed., Vol. 34, Issue 2). CAB International 2001. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(93\)90012-c](https://doi.org/10.1016/0378-4290(93)90012-c)
- Gultom, J. M. (2008). Pengaruh pemberian beberapa jamur antagonis dengan berbagai tingkat konsentrasi untuk menekan perkembangan jamur *Phyitium* sp. penyebab rebah kecambah pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.), Skripsi. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan. USU. Medan.
- Heimpel, A. M. (1967). A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner and other crystalliferous bacteria. In *Annual review of entomology* (Vol. 12, pp. 287–322). <https://doi.org/10.1146/annurev.en.12.010167.001443>
- Heimpel, A. M., Angus, T. A., & Agriculture, C. (1960). Bacetrial insecticides. In *Bacteriology reviews* (Issue 17, pp. 266–288).
- Herlinda, S., Hartono, & Irsan, C. (2008). Efikasi Bioinsektisida Formulasi Cair Berbahan Aktif *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. dan *Metarhizium* sp. pada Wereng Punggung Putih (*Sogatella furcifera* Horv.). *Seminar Nasional Dan Kongres PATPI 2008, Palembang 14-16 Oktober 2008*

EFIKASI, 1–15.

- Kubo, Y., Rooney, A. P., Tsukakoshi, Y., Nakagawa, R., Hasegawa, H., & Kimura, K. (2011). Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* strains applicable to natto (fermented soybean) production. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6463–6469. <https://doi.org/10.1128/AEM.00448-11>
- Lin, J. H. C., & Savage, D. C. (1986). Genetic transformation of rifampicin resistance in *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of General Microbiology*, 132(8), 2107–2111. <https://doi.org/10.1099/00221287-132-8-2107>
- Nurhayati, H., & Darwati, I. (2014). Peran mikroorganisme dalam mendukung pertanian organik. *Prosiding Seminar Nasional Pertanian Organik*, 3, 295–300. <https://balittro.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2015/10/37-Hera-Peran-Mikroorganisme-mendukung-PO.pdf>
- Pai, J. S. (2003). Applications of Microorganisms in Food Biotechnology. *Indian Journal of Biotechnology*, 2(July), 382–386.
- Patrick, O. M. (2012). Lactic acid bacteria in health and disease. *Rwanda Journal of Health Sciences*, 1(1), 39–50. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0_5
- Priyatno, T. P., K. M. K. (1996). *jamurpatogen1996.pdf*. 1(1), 1–10. <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/12345>
- Ray, B. (2005). Food microbiology laboratories. In B. Ray (Ed.), *Nutrition & Food Science* (Third, Vol. 35, Issue 1). Taylor & Francis e-Library. <https://doi.org/10.1108/nfs.2005.01735aab.015>
- Rehner, S. A., & Buckley, E. (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: Evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97(1), 84–98. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832842>
- Sambiran W. J. dan Meldy L. A. H. (2018). Patogenisitas *Metarhizium anisopliae* dari Beberapa Media Air Kelapa Terhadap *Oryctes rhinoceros* L. *Buletin Palma*, 32, 1–11. <https://doi.org/10.21082/bp.v0n32.2007.1-11>
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Sengun, I. Y., & Karabiyikli, S. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22(5), 647–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.008>
- Sharma, A. K. (2021). *A Handbook of Organic Farming* (A. K. Sharma (ed.); 2021st ed.). Agrobios India.

- Singh, V. K., S. C. (2012). Cultural Practices: An Eco-friendly Innovative Approach in Plant Disease Management. In Y. S. and A. S. V.K. Singh (Ed.), *Eco-friendly Innovative Approach in Plant Disease Management* (1st ed., Issue January, pp. 1–20). International Book Publishers and Distributers, Dehradun - 248 001 (India). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4216.2327>
- Thomas, M. B., & Read, A. F. (2007). Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 377–383. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1638>
- Tindaon, H. (2008). *Pengaruh jamur antagonis*. Skripsi. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Umrah, Anggraeni, T., Esyanti, R. R., & Aryantha, I. N. P. (2009). Antagonisitas daan efektifitas *Trichoderma* sp dalam menekan perkembangan *Phytophthora palmivora* pada buah kakao. *J. Agroland*, 16(1), 9–16.
- Wagner, B. L., & Lewis, L. C. (2000). Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3468–3473. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3468-3473.2000>
- Wraight, S. P., Carruthers, R. I., Jaronski, S. T., Bradley, C. A., Garza, C. J., & Galaini-Wraight, S. (2000). Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control*, 17(3), 203–217. <https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0799>
- Xiao, J. Z., Takahashi, S., Nishimoto, M., Odamaki, T., Yaeshima, T., Iwatsuki, K., & Kitaoka, M. (2010). Distribution of In Vitro fermentation ability of lacto-TV-Biose I, a major building block of human milk oligosaccharides, in bifidobacteria! strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(1), 54–59. <https://doi.org/10.1128/AEM.01683-09>

Profil Penulis.

Muhammad Indar Pramudi, SP., MP. Dosen dari Prodi proteksi Tanaman Jurusan hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Lambung Mangkurat sejak tahun 2005. Bidang Hama Tanaman. Aktif mengajar dan menulis dalam berbagai jurnal Proteksi Tanaman. ID scholar google <https://scholar.google.com/citations?user=A0EGn7sAAAAJ&hl>, orcid ID 0000-0003-1085-5873, Publons ID <https://publons.com/researcher/1325497/m-indar-pramudi/>