

**EKSPLORASI KHAMIR SIMBION PADA SALURAN PENCERNAAN  
LARVA *Oryctes rhinoceros* L.**

**EXPLORATION OF SYMBIOTIC YEAST FROM THE DIGESTIVE TRACT  
OF *Oryctes rhinoceros* L. LARVAE**

Irisa Trianti\*, Yogo Setiawan, Tomo Agus Supriyantono, Sholikhah Widyanitta Rachmawati

Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia

\*Penulis korespondensi : irisa.trianti@ub.ac.id

**ABSTRACT**

*Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) is a phytophagous insect and has been reported as a pest in several countries. *Oryctes rhinoceros* larvae feed on decaying vegetation and do not cause economic damage. Like many insects, *O. rhinoceros* interacts with microorganisms in its digestive system. Furthermore, microorganisms in the insect's digestive tract are also valuable natural resources for human purposes, such as enzymes that play a significant role in the industrial field and are used as bioremediation agents to address environmental pollution issues. This study aimed to explore and identify yeasts in the digestive system of *O. rhinoceros* larvae. Yeast was isolated from digestive track of third instar *O. rhinoceros* larvae and was then growth in Yeast Meal Agar (YMA). Based on their macroscopic and microscopic characteristics, 7 yeast isolates were identified as *Candida* sp. (K1 and K4 isolates), *Pichia* sp. (K3 isolate), and *Debaromyces* sp. (K2, K5, K6, and K7 isolates).

**Keywords :** Larvae, microorganism, *Oryctes rhinoceros*, symbiont, yeast

**ABSTRAK**

*Oryctes rhinoceros* merupakan serangga fitofag dan telah dilaporkan sebagai hama di beberapa negara. Larva *O. rinocheros* makan pada bahan organik (bagian tanaman yang membusuk) dan tidak menyebabkan kerusakan ekonomi. Seperti pada kebanyakan serangga, *O. rhinoceros* berinteraksi dengan mikroorganisme pada sistem pencernaannya. Selain itu, mikroorganisme dalam saluran pencernaan serangga juga merupakan sumber daya alam yang bermanfaat untuk kepentingan manusia, seperti enzim-enzim yang memiliki arti penting dalam bidang industri dan digunakan sebagai agens bioremediator untuk mengatasi masalah pencemaran lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi dan mempelajari keanekaragaman khamir dalam saluran pencernaan larva *O. rhinoceros*. Pada studi ini, khamir diisolasi dari saluran pencernaan instar tiga *O. rhinoceros* dan ditumbuhkan pada media Yeast Malt Agar (YMA). Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis, 7 isolat khamir yang diperoleh teridentifikasi sebagai *Candida* sp. (isolat K1 dan K4), *Pichia* sp. (isolat K3), dan *Debaromyces* sp.(K2, K5, K6 dan K7).

**Kata kunci :** Khamir, larva, mikroorganisme, *Oryctes rhinoceros*, simbion

**PENDAHULUAN**

Serangga merupakan organisme yang memiliki keanekaragaman spesies tertinggi dan dominan di muka bumi. Dalam

kehidupannya, serangga dilaporkan juga berasosiasi dengan mikroorganisme, baik bakteri, jamur, maupun protista (Hadi *et al.*, 2021; Tarno *et al.*, 2016). Mikrobiota serangga sangat penting untuk pertumbuhan

dan perkembangan normal, hal ini telah ditunjukkan bahwa sekitar 65% serangga memiliki bakteri simbiotik. Hubungan simbiosis antara bakteri dan serangga bervariasi dari mutualistik dan komensal. Berdasarkan peran bakteri simbiosis tersebut, simbiosis intraselular pada serangga diklasifikasikan sebagai endosimbion primer atau sekunder (Krishnan *et al.*, 2014). Saluran pencernaan serangga, khususnya, mengandung beragam jenis mikroorganisme dalam jumlah yang berlimpah dibandingkan pada organ-organ yang lain. Beberapa jenis serangga termasuk kumbang badak *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) membutuhkan bantuan biokatalisator seperti bakteri dalam sistem pencernaannya untuk mencerna makanan (Sari *et al.*, 2016). Bakteri tersebut dikenal sebagai bakteri simbiosis saluran pencernaan serangga. Jenis bakteri yang bersimbiosis dengan saluran pencernaan serangga tergantung pada sumber makanan yang akan dicerna. Salah satu mikroorganisme simbiosis saluran pencernaan adalah bakteri selulolitik. Bakteri ini dapat ditemui di dalam sistem pencernaan hama *O. rhinoceros* karena sumber makanan hama ini berupa akar batang pohon kelapa. Mikroorganisme tersebut juga meningkatkan imunitas serangga inang terhadap infeksi patogen dan cekaman lingkungan (Bashir *et al.*, 2013; Mereghetti *et al.*, 2017).

Pentingnya interaksi antara serangga dan mikroorganisme, menjadikan studi komprehensif tentang keanekaragaman mikroorganisme, khususnya dalam saluran pencernaan serangga menjadi sangat penting untuk memahami secara lebih detail peran ekologis mikroorganisme simbiosis dan interaksinya dengan serangga inang. Selain itu, mikroorganisme dalam saluran pencernaan serangga juga merupakan sumber daya alam yang bermanfaat untuk kepentingan manusia, terutama dalam bidang bioteknologi. Mikroorganisme-mikroorganisme tersebut dapat digunakan untuk biokonversi biomassa tumbuhan

dalam proses pembuatan biofuel karena memproduksi enzim selulase, hemiselulase dan xylanase (Bashir *et al.*, 2013). Di samping itu, mikroorganisme saluran pencernaan serangga diketahui mampu mendegradasi senyawa pestisida, sehingga dapat diaplikasikan sebagai agens bioremediasi untuk mengatasi permasalahan pencemaran lingkungan (Hadi *et al.*, 2021). Namun demikian, kebanyakan studi mengenai keanekaragaman dan pemanfaatan mikroorganisme saluran pencernaan serangga masih berfokus pada kelompok bakteri. Sedangkan informasi khamir masih sangat minim (Yun *et al.*, 2014).

*Oryctes rhinoceros*, juga dikenal sebagai kumbang badak adalah serangga fitofag yang pada fase larva hidup di batang pohon mati (lapuk). Larva kumbang badak juga memakan serasah organik, material membusuk, dan bahan-bahan organik lainnya. larva *O. rhinoceros* berperan dalam membantu memecah bahan organik menjadi komponen yang lebih sederhana. Hal ini sangat penting untuk menjaga keseimbangan ekosistem dan membantu dalam proses daur ulang alami (Moore, 2013). Peran *O. rhinoceros* sebagai dekomposer ini diduga melibatkan mikroorganisme simbiosis di saluran pencernaannya. Namun, sampai saat ini, kajian tentang profil microbiota terutama khamir pada saluran pencernaan larva *O. rhinoceros* belum pernah dilaporkan. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengeksplorasi mikroorganisme yang berasosiasi dengan larva kumbang badak *O. rhinoceros* sehingga dapat memberikan informasi awal mengenai keragaman microbiota simbiosis, khususnya khamir pada saluran pencernaan.

## METODE PENELITIAN

### Pengambilan Spesimen dan Isolasi Khamir pada Larva *O. rhinoceros*

Larva kumbang badak *O. rhinoceros* diperoleh dari serasah di sekitar perkebunan kelapa di Desa Ploso Lor, Kecamatan Karangjati, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Isolasi mikroba dilaksanakan di Laboratorium

Penyakit Tumbuhan, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Mikroba diisolasi dari pencernaan larva *O. rhinoceros* instar tiga yang diawali dengan metode pembedahan. Larva *O. rhinoceros* yang telah dikoleksi, disterilisasi permukaannya menggunakan alkohol 70%, selanjutnya sistem pencernaan diambil dan dimasukkan dalam *micro-centrifuge* tube. Sampel kemudian digerus menggunakan micro pastle dan ditambahkan larutan penyangga PBS pH 7,00 dan dihomogenisasi. Suspensi tersebut kemudian diencerkan dengan pengenceran berseri ( $10^{-1}$  hingga  $10^{-9}$ ), kemudian disebar menggunakan metode cawan sebar pada media *Yeast Malt Agar* (YMA) untuk menumbuhkan khamir. Isolat khamir diidentifikasi berdasarkan karakteristik mikroskopis dan makroskopis.

#### Purifikasi Khamir

Isolat khamir yang telah diperoleh kemudian dipurifikasi kembali pada media YMA (pH 6,8) dan diinkubasi pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Koloni yang terpisah dengan baik dipilih dan dikultur kembali pada media yang sama sebanyak dua kali ulangan. Koloni berumur 48 jam dilakukan pengamatan morfologi di bawah mikroskop.

#### Identifikasi Khamir

Isolat khamir yang diperoleh dari hasil purifikasi selama 48 jam kemudian diamati dan diidentifikasi dengan menggunakan

mikroskop *compound* (Olympus CX33) berdasarkan karakter morfologi meliputi bentuk koloni, warna koloni, dan warna balik koloni.

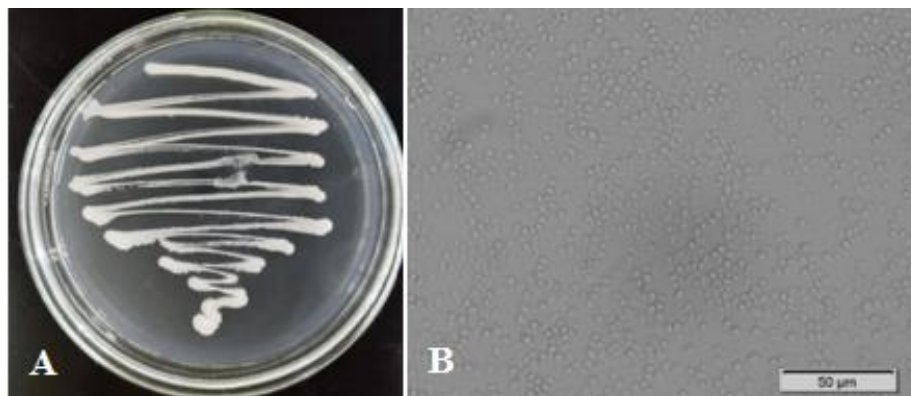
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Isolat Khamir dari Saluran Pencernaan Larva *O. rhinoceros*

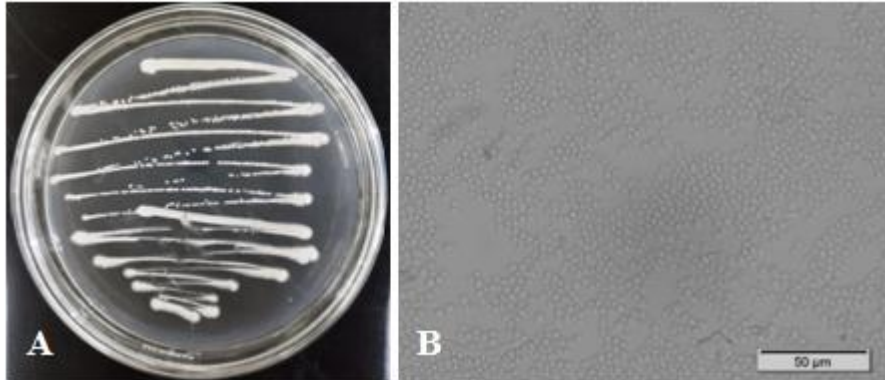
Pada penelitian ini, diperoleh tujuh isolat khamir yang dieksplorasi dari saluran pencernaan larva *O. rhinoceros* yaitu isolat K1, isolat K2, isolat K3, isolat K4, isolat K5, isolat K6, dan isolat K7. Hasil identifikasi secara mikroskopis dan makroskopis, isolat K1 dan K4 merupakan *Candida* sp. (Gambar 1), isolat K3 merupakan *Debaromyces* sp. (Gambar 2), dan isolat K2, K5, K6, dan K7 yaitu *Pichia* sp (Gambar 3).

#### Karakterisasi Morfologi Khamir *Candida* sp. (Isolat K1 dan K4)

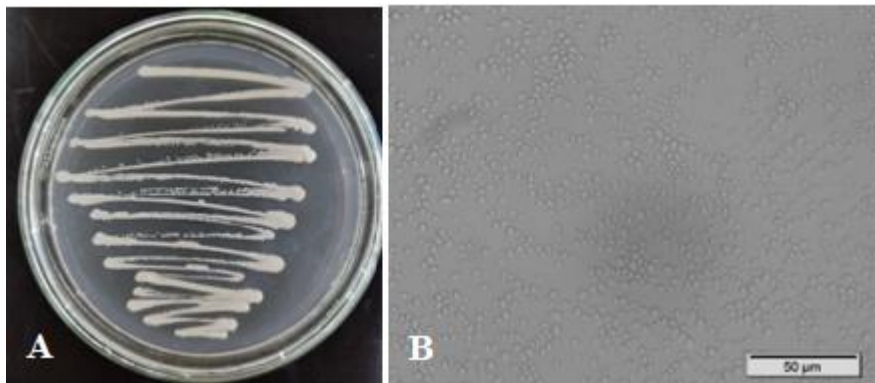
Koloni khamir K1 pada media PDA berwarna putih, bertekstur padat dan tebal. Pada koloni tunggal, khamir memiliki elevasi datar, permukaan mengkilap dengan tepian koloni rata (Gambar 1A). Sel khamir berbentuk oval dengan ukuran  $6,35 \times 7,42 \mu\text{m}$  dengan tipe pertunasan multilateral (Gambar 1B). Menurut Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa khamir genus *Candida* sp. berwarna putih hingga krem, bertekstur butiran, tepi koloni rata hingga bergerigi dengan ukuran sel tunggal antara  $2-5 \times 3-9 \mu\text{m}$ .



Gambar 1. Khamir *Candida* sp. yang diisolasi dari *O. rhinoceros*, A) koloni *Candida* sp. pada media PDA berumur 7 hari, B) morfologi sel *Candida* sp. pada perbesaran 400x.



Gambar 2. Khamir *Debaromyces* sp. yang diisolasi dari *O. rhinoceros*, A) koloni *Debaromyces* sp. pada media PDA berumur 7 hari, B) morfologi sel *Debaromyces* sp. pada perbesaran 400x.



Gambar 3. Khamir *Pichia* sp. yang diisolasi dari *O. rhinoceros*. A) koloni *Pichia* sp. pada media PDA berumur 7 hari, B) morfologi sel *Pichia* sp. pada perbesaran 400x.

### **Karakterisasi Morfologi Khamir *Debaromyces* sp. (Isolat K3)**

Koloni khamir pada media PDA berwarna putih, bertekstur padat, dan butiran. Koloni khamir memiliki elevasi datar, permukaan agak mengkilap, dan tepian rumbai (Gambar 2A). Sel khamir berbentuk bulat dengan ukuran sel tunggal 7,69 x 8,61 µm. Tipe pertunasan khamir multilateral (Gambar 2B). Menurut Kurtzman dan Fell (1998), mendeskripsikan bahwa khamir *Debaromyces* sp. berwarna putih kecoklatan, permukaan halus dan mengkilap serta bertekstur butiran. Sel tunggal berukuran antara 2-7 x 2-9 µm.

### **Karakterisasi Morfologi Khamir *Pichia* sp. (Isolat K2, K5, K6, dan K7)**

Koloni khamir K2 pada media PDA berwarna putih, bertekstur butiran, padat dan

tebal. Khamir memiliki elevasi agak cembung, permukaan agak mengkilap, dan tepian koloni rata (Gambar 3A). Sel khamir berbentuk oval, sel tunggal atau berpasangan dengan tipe pertunasan multilateral. Ukuran sel khamir berkisar antara 2,95-4,56 x 3,45-5,63 µm (Gambar 3B). Menurut Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa khamir genus *Pichia* sp. berwarna putih kecoklatan, agak berkilau, bertekstur butiran dengan ukuran sel tunggal 2,2-5,5 x 4-11 µm.

Hasil eksplorasi didapatkan khamir dari pencernaan larva *O. rhinoceros* yang berpotensi sebagai kandidat khamir yang dapat dimanfaatkan dalam produksi enzim. Ciani *et al.* (2010), mengungkapkan bahwa khamir seperti *Candida spp.* dapat menghasilkan aktivitas enzimatis dengan mengaktifkan hidrolisis terpenylglycosides.

Hal ini didukung oleh penelitian dari Moreno *et al.* (2020), menjelaskan isolat galur baru *Candida intermedia* CBS 141442 memiliki potensi untuk konversi aliran lignoselulosa serta dapat memfermentasi glukosa dan xilosa. Selain itu Gana *et al.* (2014) melaporkan bahwa khamir *Pichia* sp. memproduksi berbagai jenis enzim yang berguna dalam berbagai aplikasi industri, seperti enzim protease, amilase, dan selulase yang memiliki peran dalam pemecahan protein, pati, dan selulosa secara efisien. Kemampuan *Pichia* dalam memproduksi berbagai enzim ini membuatnya menjadi kandidat yang menjanjikan dalam pengembangan bioteknologi dan industri enzim (Kanti, 2006).

Kumbang badak *O. rhinoceros* selain menyerang kelapa sawit, kelapa, dan sagu, juga diduga menyerang Famili Arecaceae lainnya, seperti pinang. Larva *O. rhinoceros* biasanya banyak dijumpai pada batang pohon mati (lapuk) yang dapat dijadikan sarang sekaligus sumber makanan larva. Batang kelapa sawit dan kelapa sangat disukai oleh *O. rhinoceros* karena mengandung bahan organik yang dibutuhkan. Oleh karena itu, batang pohon yang mati dapat dijadikan sarang larva *O. rhinoceros* untuk berkembang biak (Moore, 2013). Faktor penting kehidupan larva *O. rhinoceros* dipengaruhi oleh kesesuaian media tumbuh yang akan mempengaruhi perkembangan larva *O. rhinoceros* (Okaraonye dan Ikewuchi, 2009). Selain itu, kehidupan larva *O. rhinoceros* dipengaruhi oleh kesesuaian media tumbuh yang akan memengaruhi perkembangan larva *O. rhinoceros*. Pada suhu dan kelembapan yang optimal menyebabkan dekomposisi terjadi sempurna sehingga tersedia nutrisi untuk pertumbuhan larva *O. rhinoceros*. Suhu dan kadar air mempengaruhi laju dekomposisi limbah organik karena mikroorganisme membutuhkan kadar air dan suhu yang optimal untuk menguraikan material organik agar dapat menjadi sumber nutrisi (Indriyanti *et al.*, 2017 dan Yustina *et al.*, 2012).

## KESIMPULAN

Khamir yang berhasil diisolasi dari saluran pencernaan larva *O. rhinoceros* yaitu sebanyak tujuh isolat. Isolat khamir K1 dan K4 yang telah diisolasi dikarakterisasi secara morfologi yang tergolong *Candida* sp. Isolat khamir K3 yaitu *Debaromyces* sp, sedangkan isolat K2, K5, K6 dan K7 adalah genus *Pichia* sp.. Khamir yang telah teridentifikasi selanjutnya perlu dilakukan pengujian terkait kemampuannya dalam mendegradasi bahan organik ditanah.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian dan Hibah Penelitian PNBPN yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bashir, Z., Kondapalli, V.K., Adlakha, N., Sharma, A., Bhatnagar, R. K., Chandel, G., & Yazdani, S.S. (2013). Diversity and functional significance of cellulolytic microbes living in termite, pill-bug and stem-borer guts. *Scientific Reports*, 3, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep02558>
- Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I., & Domizio, P. (2010). Controlled mixed culture fermentation: A new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Research*, 10(2), 123–133. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00579.x>
- Gana, N.H.T., Mendoza, B.C., & Monsalud, R.G. (2014). Isolation, screening and characterization of yeasts with amyolytic, lipolytic, and proteolytic activities from the surface of Philippine bananas (*Musa* spp.). *Philippine Journal of Science*, 143(1), 81–87.

- Hadi, M.S., Abadi, A.L., Himawan, T., Masruri, Lestari, S.R., Rahardjo, B.T., Aini, L.Q., Setiawan, Y., & Tarno, H. (2021). The role of bacterial symbionts in the biodegradation of chlorpyrifos in the digestive tract of *plutella xylostella* larvae. *Biodiversitas*, 22(2), 702–712. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220222>
- Indriyanti, D.R., Anggraeni, S.D., & Slamet, M. (2017). Density and composition of *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) stadia in field. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*, 12(22), 6364–6371.
- Kanti, A. (2006). Aktivitas enzim selulase dari khamir *Candida* sp. dan *Debaryomyces* sp. yang diisolasi dari lahan gambut Taman Nasional Bukit Duabelas Jambi. *Indonesian Journal of Biology*, 4(1).
- Krishnan, M., Bharathiraja, C., Pandiarajan, J., Prasanna, V.A., Rajendhran, J., & Gunasekaran, P. (2014). Insect gut microbiome - An unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(Suppl 1), S16–S21. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C95>
- Kurtzman, C.P. & Fell, J.W. (1998) *The yeasts: a taxonomic study*. Amsterdam : Elsevier Science. 77-100.
- Mereghetti, V., Chouaia, B., & Montagna, M. (2017). New insights into the microbiota of moth pests. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/ijms18112450>
- Moore, A. (2013). *Nontarget species collected in MATT experiment prepared by*. 30, 1–4.
- Moreno, A.D., Tomás-Pejó, E., Olsson, L., & Gejjer, C. (2020). *Candida intermedia* CBS 141442: A novel glucose/xylose co-fermenting isolate for lignocellulosic bioethanol production. *Energies*, 13(20). <https://doi.org/10.3390/en13205363>
- Okaraonye, C.C., & Ikewuchi, J.C. (2009). Nutritive and anti-nutritive components of *Pennisetum pinpureum* (Schnach). *Pakistan Journal of Nutrition*, 8, 32-34. <http://doi.org/10.3923/pjn.2009.32.34>.
- Sari, S.L.A., Pangastuti, A., Susilowati, A., Purwoko, T., Mahajoeno, E., Hidayat, W., Mardhena, I., Panuntun, D.F., Kurniawati, D., & Anitasari, R. (2016). Cellulolytic and hemicellulolytic bacteria from the gut of *Oryctes rhinoceros* larvae. *Biodiversitas*, 17(1), 78–83. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d170111>
- Tarno, H., Septia, E.D., & Aini, L.Q. (2016). Microbial community associated with ambrosia beetle, *Euplatypus parallelus* on sonokembang, *Pterocarpus indicus* in Malang. *Agrivita*, 38(3), 312–320. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v38i3.628>
- Yun, J.H., Roh, S.W., Whon, T.W., Jung, M.J., Kim, M.S., Park, D.S., Yoon, C., Nam, Y.Do, Kim, Y.J., Choi, J.H., Kim, J.Y., Shin, N.R., Kim, S.H., Lee, W.J., & Bae, J.W. (2014). Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(17), 5254–5264. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>
- Yustina, Fauziah, Y., & Sofia, R. (2012). Struktur populasi kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) di area perkebunan kelapa sawit masyarakat Desa Kenantan Kabupaten Kampar-Riau. *Jurnal Biogenesis*, 8(2), 54–63.