

Karakterisasi Bakteri Endosimbion pada Saluran Pencernaan Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei* Ferrari) dari Buah Kopi Arabika dan Robusta di Jawa Barat

Indriana Saraswati¹, Yani Maharani^{2*}, Rika Meliansyah² dan Purnama Hidayat³

¹Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Ir. Soekarno KM 21 Jatinangor Sumedang 45363

²Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

³Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

*Alamat korespondensi: yani.maharani@unpad.ac.id

INFO ARTIKEL

Diterima: 15-12-2025

Direvisi: 29-05-2026

Dipublikasi: 09-06-2026

ABSTRACT/ABSTRAK

Characterization of endosymbiotic bacteria in the digestive tract of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferrari) from arabica and robusta coffee in West Java

Keywords:

Enterobacteriaceae,
Gram-negative
bacteria, Gut-associated
endosymbiotic bacteria,
Pectinolytic activity,
Phenotypic
characterization

The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) is the most destructive pest of coffee worldwide. Its ability to adapt within coffee berries and degrade caffeine is presumed to be influenced by the presence of endosymbiotic bacteria, particularly those inhabiting the digestive tract. However, baseline information on gut-associated endosymbiotic bacteria across different coffee species in Indonesia remains limited, especially comparative phenotypic studies between populations associated with arabica and robusta coffee. This study aimed to phenotypically characterize and determine the preliminary grouping of gut endosymbiotic bacteria of *H. hampei* collected from arabica coffee plantations in Garut and Sumedang, and robusta coffee plantations in Bogor and Pangandaran. Bacterial isolation was conducted using a selective pectin agar medium, yielding eight isolates. All isolates exhibited similar colony morphology, characterized by circular shape, entire margins, white to milky-white coloration, and flat to convex elevation. Microscopic characterization revealed that all isolates were Gram-negative, short rod-shaped bacteria; seven isolates were motile, while one was non-motile. Biochemical assays showed positive results for carbohydrate fermentation, Simmons' citrate utilization, and catalase activity. These phenotypic characteristics indicate that the isolates are closely related to the Enterobacteriaceae group, which is commonly reported as insect endosymbionts. Isolates derived from arabica and robusta hosts exhibited consistent phenotypic and metabolic profiles, indicating a relatively conserved gut bacterial community structure in *H. hampei* as a result of selective pressure within the internal gut environment. This study provides an initial phenotypic basis for understanding the role of endosymbionts in the adaptation of the coffee berry borer and highlights the importance of further studies, particularly regarding interactions with plant defense compounds and the insect host.

Kata Kunci:

Aktivitas pektinolitik,
Bakteri endosimbion
usus,
Enterobacteriaceae,

Penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei*) merupakan hama paling merusak pada tanaman kopi di dunia. Kemampuannya untuk beradaptasi di dalam buah kopi dan mendegradasi kafein diduga dipengaruhi oleh keberadaan bakteri endosimbion, khususnya yang menghuni saluran pencernaan. Namun, informasi dasar mengenai bakteri endosimbion usus pada berbagai jenis kopi di

Gram-negatif,
Karakterisasi fenotipik

Indonesia masih terbatas, terutama kajian komparatif fenotipik antara populasi yang berasosiasi dengan kopi arabika dan robusta. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi secara fenotipik dan menentukan kelompok awal bakteri endosimbion usus *H. hampei* yang dikoleksi dari perkebunan kopi arabika di Garut dan Sumedang serta kopi robusta di Bogor dan Pangandaran. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan media selektif pektin agar dan diperoleh delapan isolat. Seluruh isolat menunjukkan morfologi koloni yang serupa, yaitu berbentuk bulat, bertepi rata, berwarna putih hingga putih susu, dengan elevasi datar hingga cembung. Karakterisasi mikroskopis menunjukkan bahwa seluruh isolat merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang pendek; tujuh isolat bersifat motil dan satu isolat tidak motil. Uji biokimia menunjukkan hasil positif pada uji fermentasi karbohidrat, Uji Simmons sitrat, dan uji aktivitas katalase. Karakteristik fenotipik tersebut menunjukkan bahwa isolat mengarah pada kelompok Enterobacteriaceae yang umum dilaporkan sebagai endosimbion serangga. Isolat yang berasal dari inang arabika dan robusta menunjukkan profil fenotipik dan metabolik yang konsisten, yang mengindikasikan adanya struktur komunitas bakteri usus yang relatif konservatif pada *H. hampei* sebagai hasil tekanan seleksi dari lingkungan internal saluran pencernaan. Penelitian ini memberikan dasar awal secara fenotipik untuk memahami peran endosimbion dalam adaptasi penggerek buah kopi serta menegaskan pentingnya kajian lanjutan, khususnya terkait interaksi dengan senyawa pertahanan tanaman kopi dan serangga inangnya.

PENDAHULUAN

Produktivitas kopi dunia saat ini menunjukkan tren penurunan, diperkirakan mencapai sekitar 1% hingga 2% per tahun, termasuk di Indonesia sebagai salah satu negara produsen utama kopi (Dirjenbun, 2024). Salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap penurunan produksi tersebut adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) khususnya hama penggerek buah kopi/PBKO (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Hama ini dikenal sebagai salah satu hama paling merusak karena menyerang buah kopi dari dalam, menyebabkan kerugian tidak hanya secara kuantitatif melalui penurunan hasil panen, tetapi juga secara kualitatif melalui penurunan mutu biji kopi (De Souza *et al.*, 2020). Hama dapat menimbulkan kerusakan pada buah kopi dengan cara menggerek dan masuk ke dalam biji. Hama ini memanfaatkan biji kopi sebagai sumber makanan, tempat berlindung, sekaligus lokasi seluruh siklus hidupnya. Aktivitas biologi PBKO dimulai sejak imago betina meletakkan telur di dalam biji kopi, yang kemudian menetas menjadi larva dan berkembang menjadi imago dewasa. Seluruh tahap perkembangan hidup PBKO mulai dari telur, larva, pupa hingga dewasa, berlangsung di dalam buah kopi, sehingga

menjadikannya sulit dijangkau oleh metode pengendalian konvensional (Damon *et al.*, 2000).

Siklus hidup PBKO yang sebagian besar berlangsung di dalam biji kopi menunjukkan bahwa serangga ini memiliki tingkat adaptasi dan toleransi lingkungan yang tinggi terhadap kondisi biokimia internal buah kopi. Hama PBKO mampu bertahan hidup dan berkembang meskipun biji kopi diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti kafein, polifenol, dan tanin yang secara alami bersifat toksik bagi sebagian besar serangga (Ceja-Navarro *et al.*, 2015). Kemampuan ini diduga berkaitan erat dengan keberadaan bakteri endosimbion yang salah satunya menghuni saluran pencernaan PBKO. Bakteri simbiosis tersebut berperan membantu metabolisme dan kelangsungan hidup serangga inang di lingkungan yang ekstrem secara kimiawi (Mariño *et al.*, 2018).

Kopi arabika dan kopi robusta merupakan jenis kopi yang paling banyak ditanam di Jawa Barat. Biji kopi arabika dan robusta memiliki komposisi kimia yang dipengaruhi agroekosistemnya masing-masing (Zainuri *et al.*, 2023). Kopi Arabika memiliki kafein berkisar 1,09-1,5%, lipid dan sukrosa tinggi untuk rasa manis dan aromatik, sedangkan Robusta memiliki kafein yang lebih tinggi sekitar 2,09-2,7%, protein serta asam klorogenat yang membentuk rasa pahit yang lebih intens (Procida *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2023). Variasi komposisi ini

memengaruhi kerentanan terhadap hama penggerek buah kopi (PBKo), yang selanjutnya bergantung pada interaksi endosimbion dalam sistem pertahanan tanaman (Mejía-Alvarado *et al.*, 2021).

Endosimbion merupakan bentuk interaksi simbiosis antara mikroorganisme dengan inangnya seperti serangga. Mikroorganisme simbiosis ini hidup di dalam tubuh inang dan membentuk komunitas yang berperan penting dalam mendukung pertumbuhan, perkembangan, dan fisiologi serangga (Mondal *et al.*, 2023). Salah satu kelompok mikroorganisme yang umum ditemukan sebagai endosimbion dalam tubuh serangga adalah bakteri. Bakteri endosimbion berperan dalam berbagai aspek fisiologis, antara lain membantu menyediakan nutrisi esensial, detoksifikasi senyawa toksik, pencernaan substrat kompleks, meningkatkan toleransi terhadap stres lingkungan, memperkuat resistensi terhadap patogen dan parasit hingga membantu keberhasilan reproduksi dan kebugaran (*fitness*) serangga (Crotti *et al.*, 2012). Tujuan utama dari penelitian ini yaitu mengeksplorasi dan mengidentifikasi kelompok awal jenis-jenis endosimbion yang ada pada PBKo dari beberapa jenis kopi yang tersebar di Jawa Barat. Selanjutnya, dilakukan karakterisasi secara fenotipik terhadap bakteri endosimbion yang diperoleh untuk memahami peran biologisnya dalam interaksi dengan inang. Informasi yang dihasilkan diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengembangan strategi pengendalian hayati berbasis endosimbion seperti eliminasi simbiosis esensial dan pemanfaatan bakteri yang bersifat merugikan bagi inang. Variasi komposisi endosimbion antar wilayah dan jenis tanaman kopi dapat memberikan informasi terkait kerentanan hama serta mendukung jenis tanaman sehingga mendukung perumusan strategi pengendalian yang lebih adaptif dan berbasis lokasi.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan dari bulan Juni 2025 hingga November 2025. Pengambilan sampel dilakukan di perkebunan kopi arabika di Desa Jatiroke, Kabupaten Sumedang dan Desa Cikajang, Kabupaten Garut, sedangkan untuk perkebunan kopi robusta sampel diperoleh dari Desa Sidamulih, Kabupaten Pangandaran dan Desa Sukamakmur, Kabupaten Bogor. Penelitian laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Hama Tanaman dan Laboratorium Biologi tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran.

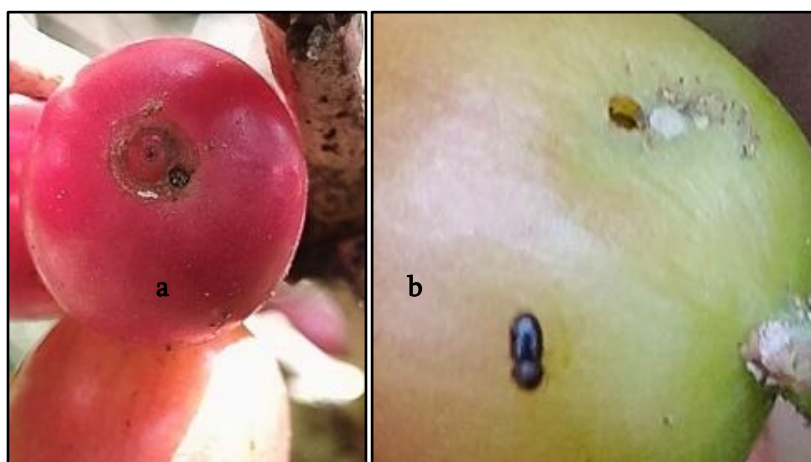
Pembuatan Media Skrining Bakteri Saluran Cerna

Langkah awal meliputi pembuatan media pektin agar dengan komposisi terdiri dari pektin 0,5%, Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NaCl 0,5 g/L, MgSO₄ 0,2 g/L, NH₄Cl 1 mg/L, pepton 2 g/L, dan agar 17 g/L (Kusiyanto dkk., 2019). Seluruh komponen dicampurkan hingga homogen, kemudian dilakukan sterilisasi. Setelah proses sterilisasi, media pektin agar yang masih cair dituangkan ke dalam cawan Petri dan dibiarkan mengeras sebelum digunakan. Media pektin agar digunakan untuk menyeleksi isolat yang tumbuh merupakan bakteri pektinolitik yang mampu mendegradasi pektin (Haile *et al.*, 2022). Pektin merupakan suatu polisakarida penyusun lapisan mukilago yang menyelimuti biji kopi (Bruyn *et al.*, 2017).

Pengumpulan Sampel PBKo, Isolasi dan Screening Bakteri Endosimbion

Serangga imago PBKo dikumpulkan dengan mengambil buah kopi yang memiliki tanda serangan PBKo (Gambar 1) untuk selanjutnya dipelihara di Laboratorium. Imago PBKo yang telah keluar dari buah kopi selanjutnya diseleksi dan dipilih yang masih sehat dan memiliki anggota tubuh lengkap sebanyak 10 ekor untuk masing-masing lokasi sentra kopi Jawa Barat.

PBKo yang telah keluar dari buah kopi dibersihkan permukaan tubuhnya menggunakan kuas steril untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dibilas dua kali menggunakan larutan NaCl 0,9% steril. Selanjutnya, PBKo dimasukkan ke dalam tabung steril dan dihancurkan secara aseptik untuk proses isolasi bakteri. Isolasi bakteri endosimbion PBKo dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang hidup pada saluran pencernaan PBKo. Semua kegiatan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% steril dan dihomogenasi menggunakan mini homogenizer kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻³ dengan mengambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya. Suspensi PBKo selanjutnya diambil sebanyak 1 ml dari pengenceran 10⁻² dan 10⁻³, lalu ditumbuhkan pada media pektin agar dengan metode *pour plate*. Kultur diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu 37 °C. Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya dimurnikan dengan cara mengambil koloni tunggal dan menginokulasikannya menggunakan metode *streak plate* pada media nutrisi agar dalam cawan Petri hingga diperoleh biakan murni.



Gambar 1. Gejala serangan PBKo. (a) Buah kopi yang terserang PBKo, (b) imago PBKo yang keluar dari buah kopi.

Karakterisasi Isolat Bakteri Secara Makroskopis

Pengamatan makroskopis meliputi pengamatan bentuk koloni, bentuk permukaan koloni (elevasi) dan warna pada koloni tunggal yang tumbuh pada media. Kepadatan bakteri dihitung

menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) melalui teknik pengenceran bertingkat. Kepadatan koloni bakteri yang tumbuh diamati dan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$CFU/ml = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{volume inokulum (ml)} \times \text{Faktor Pengenceran}}$$

Pengujian dilakukan sebanyak empat kali ulangan, dan kepadatan koloni dihitung sebagai rata-rata. Data yang diperoleh diuji normalitasnya, sedangkan analisis perbedaan dilakukan menggunakan *one - way* ANOVA untuk membandingkan kepadatan koloni pada tiap lokasi.

dengan warna ungu pada sel sedangkan gram negatif ditandai dengan munculnya warna merah pada sel bakteri. Uji motilitas dilakukan dengan meneteskan 1 tetes isolat pada akuades steril pada preparat cekung kemudian diamati di bawah mikroskop, hasil positif ditandai dengan adanya pergerakan pada akuades.

Karakterisasi Mikroskopis Isolat Bakteri

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk membedakan isolat menjadi kelompok bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri yang berumur 24 jam. Prosedur kerja pewarnaan Gram diawali dengan meneteskan satu tetes akuades steril pada kaca objek bersih, kemudian satu ose isolat bakteri diinokulasikan secara aseptik dan diratakan. Preparat dikeringkan dan difiksasi dengan cara melewati pada api Bunsen 2-3 kali. Selanjutnya, preparat ditetesi larutan kristal violet sebanyak 1 tetes selama 1 menit lalu bilas dengan akuades, kemudian ditetaskan 1 tetes larutan lugol selama 30 detik-1 menit dan dibilas dengan alkohol 70% dan dicuci dengan akuades, terakhir ditetaskan dengan 1 tetes safranin selama 1-2 menit kemudian bilas dengan akuades dan dikeringkan. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop menggunakan perbesaran 1000× dengan minyak emersi. Hasil Gram-positif ditandai

Uji Biokimia

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan isolat bakteri dalam memfermentasikan berbagai jenis karbohidrat sebagai sumber energi. Isolat bakteri diinokulasikan secara aseptik ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media *fermentation broth* dengan indikator *phenol red* dan tabung Durham, mengandung glukosa, laktosa, mannitol, fruktosa dan sukrosa (masing-masing 1%) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Respons positif ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning atau oranye akibat penurunan pH dan produksi asam serta pembentukan gelembung gas sebagai indikator fermentasi positif (Kusiyanto dkk., 2019). Uji fermentasi karbohidrat memberikan informasi mengenai kemampuan bakteri dalam mendegradasi berbagai substrat gula yang relevan dengan lingkungan nutrisi di dalam saluran pencernaan inang (Cappucino & Sherman, 1999). Uji Simmon's

sitrat dilakukan dengan menginokulasikan isolat dari biakan agar ke dalam media *Simmon's citrate* dengan cara ditusuk dan digores secara zigzag pada permukaannya. Medium *Simmon's citrate* agar mengandung indikator *bromthymol blue* sebagai indikator pH dan ditambahkan pepton sebagai sumber nitrogen, vitamin, dan mineral (Bedu-Ferrari *et al.*, 2024). Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media agar dari hijau menjadi biru akibat peningkatan pH setelah inkubasi selama 24–48 jam. Uji ini menunjukkan fleksibilitas metabolisme bakteri dalam menggunakan sumber karbon alternatif. Uji katalase dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat dari biakan agar dan diteteskan dengan larutan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung yang terbentuk pada saat bakteri diinokulasikan. Uji ini menunjukkan kemampuan bakteri endosimbion dalam menghadapi stres oksidatif yang dapat timbul akibat sistem pertahanan tubuh inang. Uji ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui sifat dari suatu bakteri terhadap kebutuhan oksigen dan dapat digunakan

untuk memahami peran potensial bakteri endosimbion dalam mendukung proses pencernaan, kelangsungan hidup serta interaksi fisiologi dengan inangnya. Ketiga uji biokimia ini umum dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisiologis bakteri endosimbion yang hidup dan ditemukan berasosiasi dalam saluran pencernaan serangga.

Uji Pektinolitik Isolat Bakteri

Uji kemampuan pektinolitik dilakukan dengan pengujian zona bening untuk mengetahui kemampuan bakteri mendegradasi pektin dengan menggunakan larutan *congo red* (0,1%) sebagai larutan penguji dan NaCl 1% sebagai larutan pencuci. Sebanyak 1 ml larutan *congo red* (0,1%) dituangkan sampai merata kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar. Kemudian sampel dicuci menggunakan larutan NaCl 2 M sebanyak dua kali. Kemudian diamati dan diukur zona bening yang terbentuk. Indeks aktivitas peptinase diukur dengan menggunakan persamaan sebagai berikut (Kasana *et al.*, 2008):

$$\text{Indeks aktivitas enzim} = \frac{\text{Diameter koloni dengan zona bening (cm)}}{\text{Diameter koloni (cm)}}$$

Pengujian dilakukan sebanyak empat kali ulangan, dan nilai indeks aktivitas enzim dihitung sebagai rata-rata. Data yang diperoleh diuji normalitasnya, sedangkan analisis perbedaan dilakukan menggunakan *independent samples t-test* dengan perangkat lunak SPSS versi 31 untuk membandingkan aktivitas enzim bakteri PBKo yang berasal dari kopi arabika dan robusta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

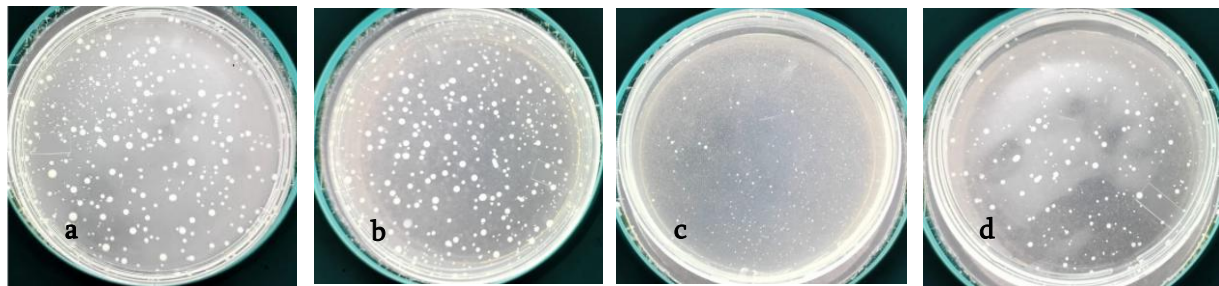
Karakter Makroskopis Koloni Bakteri

Pada penelitian ini, isolasi bakteri endosimbion menghasilkan delapan isolat yang berasal dari PBKo pada buah kopi arabika dan robusta dari empat Lokasi di Jawa Barat. Isolasi dilakukan menggunakan teknik *pour plate* pada media pektin agar untuk menyeleksi bakteri dengan potensi aktivitas pektinolitik (Kasana *et al.*, 2008). Hasil isolasi awal disajikan pada Gambar 2. Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dihitung untuk mengetahui kepadatan koloninya. Hasil perhitungan kepadatan koloni bakteri ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kepadatan populasi koloni bakteri antar lokasi

Jenis kopi	Lokasi	Jumlah koloni	CFU/ml
Arabika	Garut	80	8,0 x 10 ⁵
	Sumedang	67	5,7 x 10 ⁵
Robusta	Bogor	46	4,6 x 10 ⁵
	Pangandaran	32	3,2 x 10 ⁵

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lokasi sampel berpengaruh sangat nyata terhadap kepadatan bakteri pada PBKo (F(3,12) = 140,591; p < 0,001). Uji lanjut Tukey HSD pada taraf 5% menunjukkan bahwa seluruh lokasi pengamatan memiliki kepadatan bakteri yang berbeda nyata satu sama lain. Kepadatan bakteri tertinggi ditemukan pada PBKo asal Garut, diikuti Sumedang, Bogor dan Pangandaran. Hasil tersebut menunjukkan adanya variasi kepadatan bakteri yang signifikan antar lokasi pengambilan sampel. Perbedaan kepadatan bakteri antar lokasi diduga berkaitan dengan perbedaan kondisi agroekologi. Kondisi lingkungan lokasi pengambilan sampel ditampilkan pada Tabel 2.



Gambar 2. Hasil isolasi bakteri endosimbion dengan teknik pour plate pada media pektin agar. (a) Sampel kopi arabika Garut, (b) sampel kopi arabika Sumedang, (c) sampel kopi robusta Pangandaran, (d) sampel kopi robusta Bogor.

Tabel 2. Lokasi pengambilan sampel di wilayah perkebunan kopi arabika dan kopi robusta di Jawa Barat

Lokasi	Desa	Zona elevasi (mdpl)	Suhu (°C)	Letak geografis
Garut	Cikandang	1278	24,6	7°18'30.228" S, 107°46'25.404" E.
Sumedang	Jatiroke	930	29	6°55'53.658" S, 107°47'46.764" E.
Pangandaran	Sidamulih	100	31	7°38'41.544" S, 108°36'27.174" E.
Bogor	Sukaharja	637	27,4	6°36'17.904" S, 107°03'02.310" E.

Kepadatan bakteri tertinggi ditemukan pada PBKo asal Garut yang berasal dari pertanaman kopi arabika di dataran tinggi (>1000 mdpl), sedangkan kepadatan terendah ditemukan pada PBKo asal Pangandaran. Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh kondisi agroekologi masing-masing lokasi. Ketinggian tempat diketahui memengaruhi suhu dan kelembapan lingkungan, di mana suhu udara cenderung menurun seiring bertambahnya ketinggian (Hendriyal dkk., 2024). Aivelo *et al.* (2022) melaporkan bahwa perubahan kondisi lingkungan sepanjang gradien elevasi dapat memengaruhi struktur dan keragaman mikrobiota yang berasosiasi dengan caplak (*Ixodes ricinus*), sehingga lingkungan berperan penting dalam membentuk komunitas mikroba pada organisme ektoterm. Selain faktor lingkungan, karakteristik kimiawi buah kopi juga diduga memengaruhi keberadaan bakteri yang berasosiasi dengan PBKo. Kopi arabika diketahui memiliki kandungan kafein yang lebih rendah, yaitu sekitar 0,6–1,9%, dibandingkan kopi robusta (Wamuyu *et al.*, 2017). Hal ini berpotensi mendukung keberlangsungan hidup bakteri khususnya bakteri pada saluran pencernaan PBKo lebih baik pada kopi arabika dibandingkan dengan kopi robusta.

Hasil karakteristik delapan isolat murni menunjukkan adanya kesamaan karakter seperti

bentuk dan warna koloni serta elevasi pada setiap isolat bakteri yang ditemukan, kecuali pada isolat RP-2. Berdasarkan pengamatan karakteristik makroskopik seluruh isolat endosimbion menunjukkan morfologi koloni yang relatif seragam pada bentuk koloni yaitu berbentuk bulat dengan tepi rata dan warna putih. Variasi hanya ditemukan pada isolat RP-2 yang memiliki elevasi cembung. Karakteristik makroskopik isolat tersebut mengacu kepada metode Jutono dkk. (1980). Secara lengkap, karakteristik morfologi masing-masing isolat disajikan pada Tabel 3.

Berdasarkan pengamatan karakteristik makroskopik seluruh isolat endosimbion menunjukkan morfologi koloni yang relatif seragam pada bentuk koloni yaitu berbentuk bulat dengan tepi rata dan warna putih. Variasi hanya ditemukan pada isolat RP-2 yang memiliki elevasi cembung.

Pengamatan morfologi koloni secara keseluruhan menunjukkan bahwa isolat bakteri yang berhasil diisolasi memiliki karakter makroskopik dengan variasi terbatas, terutama pada elevasi dan warna koloni. Hal ini mengindikasikan adanya tekanan seleksi dari lingkungan saluran cerna PBKo serta media pektin agar yang cenderung menyeleksi kelompok bakteri dengan morfologi yang serupa.

Tabel 3. Karakter makroskopis isolat bakteri dari saluran cerna PBKo

No	Jenis kopi	Lokasi sampel	Kode isolat	Bentuk koloni	Elevasi	Warna koloni	Gambar koloni
1.	Arabika	Kab. Garut	AG-1	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	
2.	Arabika	Kab. Garut	AG-2	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	
3.	Arabika	Kab. Sumedang	AS-1	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	
4.	Arabika	Kab. Sumedang	AS-2	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	
5.	Robusta	Kab. Pangandaran	RP-1	Bulat tepian rata	Datar	Putih susu	
6.	Robusta	Kab. Pangandaran	RP-2	Bulat, tepian rata	Cembung	Putih	
7.	Robusta	Kab. Bogor	RS-1	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	
8.	Robusta	Kab. Bogor	RS-2	Bulat, tepian rata	Datar	Putih susu	

Karakteristik Mikroskopis

Karakterisasi makroskopik dan aktivitas pektinolitik isolat bakteri endosimbion dilengkapi dengan pengamatan mikroskopik dan uji fisiologis sebagai pendekatan awal identifikasi seperti pewarnaan Gram, uji motilitas dan uji biokimia

(Cappucino *et al.*, 1999). Hasil pewarnaan Gram, uji motilitas dan uji biokimia ditampilkan pada Tabel 4.

Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri saluran cerna tergolong Gram negatif dengan bentuk sel batang pendek dan tidak membentuk endospora. Hasil pewarnaan Gram

menunjukkan bahwa seluruh isolat tergolong Gram negatif dengan bentuk sel batang pendek. Karakter Gram-negatif menunjukkan keberadaan membran luar yang mengandung lipopolisakarida, yang berperan dalam meningkatkan toleransi terhadap senyawa toksik seperti kafein, tanin dan polifenol yang terdapat dalam biji kopi. Dinding sel yang tipis ini memungkinkan selektivitas transport molekul melalui porin serta mendukung mekanisme detoksifikasi melalui sistem enzimatis (Ratzka *et al.*, 2012). Bakteri Gram negatif memiliki membran luar

yang lebih kompleks sehingga lebih toleran terhadap tekanan lingkungan kimia, termasuk keberadaan senyawa antimikroba alami tanaman seperti kafein dan polifenol. Kondisi ini diduga penting dalam mendukung kolonisasi bakteri pada saluran pencernaan PBKo yang hidup dan berkembang di dalam buah kopi. Karakter ini menunjukkan bahwa isolat memiliki mekanisme pertahanan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Kasana *et al.*, 2008; Gómez *et al.*, 2025).

Tabel 4. Karakter mikroskopis dan biokimia isolat bakteri endosimbion

Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk sel	Uji motilitas	Fermentasi karbohidrat	Uji simmon's sitrat	Uji katalase
AG-1	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
AG-2	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
AS-1	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
AS-2	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
RP-1	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
RP-2	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Negatif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
RS-1	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)
RS-2	Negatif	Batang (<i>bacilli</i>)	Positif	(+/-)	(+/-)	(+/-)

Bakteri Gram negatif tidak membentuk endospora. Hal ini sesuai dengan karakter bakteri yang beradaptasi pada lingkungan internal inang, seperti saluran pencernaan serangga, yang relatif stabil dan kaya nutrisi bagi bakteri sehingga tidak memerlukan strategi bertahan berupa pembentukan spora (Dillon & Dillon, 2004; Douglas, 2016). Uji motilitas menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri PBKo dari kopi arabika bersifat motil. Motilitas pada bakteri Gram-negatif umumnya berkaitan dengan keberadaan flagel, yang berperan dalam pergerakan sel serta membantu bakteri berkolonisasi dan beradaptasi di dalam saluran pencernaan inang (Cappucino *et al.*, 1999; Callegari *et al.*, 2020). Isolat bakteri PBKo dari kopi robusta yaitu isolat RP-2 tidak menunjukkan pergerakan mengindikasikan adanya variasi fenotip meskipun isolat berasal dari mikrohabitat yang sama.

Uji Biokimia

Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu memfermentasi karbohidrat, memberikan hasil positif pada uji Simmon's sitrat, serta menunjukkan aktivitas katalase (Tabel 3). Perubahan warna media dari merah ke kuning akibat penurunan pH menunjukkan akumulasi asam, sedangkan gelembung gas di tabung Durham mengkonfirmasi adanya aktivitas anaerobik fakultatif

sebagai upaya adaptif bakteri terhadap kondisi saluran cerna PBKo yang minim oksigen (Cappucino *et al.*, 1999; ALatawi *et al.*, 2015). Kemampuan fermentasi karbohidrat tersebut menunjukkan bahwa isolat mampu memanfaatkan berbagai substrat organik sebagai sumber energi, termasuk komponen karbohidrat dari jaringan buah kopi dan hasil degradasi polisakarida tanaman. Dalam saluran pencernaan PBKo, proses ini penting untuk hidrolisis karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana yang mudah diabsorpsi inang (Kusiyanto dkk., 2019). Proses fermentasi juga berpotensi menghasilkan berbagai metabolit seperti asam organik (laktat dan propionat), ester, keton, dan gas CO₂ dari endosperm biji kopi yang menyediakan tambahan energi bagi PBKo di luar aktivitas enzim pencernaan inang sendiri sehingga mendukung efisiensi pencernaan dan reproduksi PBKo lebih efisien (Nikolouli *et al.*, 2021; Bedu-Ferrari *et al.*, 2024). Aktivitas metabolik tersebut menunjukkan bahwa bakteri endosimbion tidak hanya berperan sebagai mikroorganisme penghuni saluran cerna, tetapi juga berkontribusi dalam meningkatkan pemanfaatan nutrisi dan keberhasilan infestasi PBKo pada buah kopi.

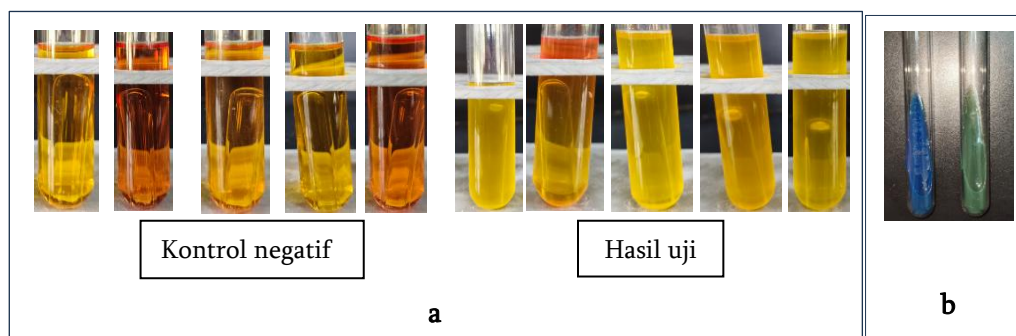
Uji sitrat dilakukan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memfermentasikan sitrat sebagai sumber karbon yang terkandung pada media dengan bantuan enzim *citrate permease* sehingga

menyebarkan sitrat ke dalam sel ditandai dengan perubahan media dari warna hijau menjadi biru karena adanya kenaikan pH dan ammonium dihidrogen fosfat sebagai sumber nitrogen (Cappucino *et al.*, 1999; Kasana *et al.*, 2008). Kemampuan endosimbion dalam memanfaatkan natrium sitrat yang banyak ditemukan dalam buah kopi menunjukkan fleksibilitas metabolik yang cukup tinggi dalam beradaptasi pada lingkungan saluran pencernaan PBKo. Kemampuan endosimbion dalam memanfaatkan natrium sitrat yang banyak ditemukan pada buah kopi menunjukkan bahwa isolat memiliki fleksibilitas metabolik yang cukup tinggi dalam beradaptasi pada lingkungan saluran pencernaan PBKo. Kondisi usus serangga yang dinamis dan terbatas pada jenis nutrisi tertentu menyebabkan kemampuan menggunakan berbagai senyawa organik menjadi keuntungan adaptif bagi bakteri saluran cerna. Pemanfaatan sitrat tidak hanya menunjukkan kemampuan isolat untuk bertahan pada kondisi nutrisi yang bervariasi dan memanfaatkan senyawa antara hasil metabolisme jaringan tanaman, tetapi juga berpotensi menyediakan nutrisi tambahan seperti protein dan asam amino selain gula sederhana bagi inang (Haile *et al.*, 2022; Nie *et al.*, 2025). Dengan demikian, aktivitas pemanfaatan sitrat diduga berkontribusi dalam mendukung stabilitas komunitas bakteri serta meningkatkan efisiensi pemanfaatan nutrisi dalam saluran pencernaan PBKo.

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase, yaitu enzim yang berperan menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Hidrogen peroksida merupakan salah satu senyawa hasil metabolisme normal maupun bagian dari sistem pertahanan yang dapat muncul dalam tubuh serangga dan bersifat toksik bagi sel apabila terakumulasi (Cappucino *et al.*, 1999; Fang, 2011; Engel & Moran, 2013). Hasil positif pada semua isolat baik isolat dari kopi arabika maupun kopi robusta menandakan semua isolat menghasilkan enzim katalase dan mampu menangani stres oksidatif yang mungkin muncul dalam tubuh PBKo (Ratzka *et al.*, 2012; Kusiyanto dkk., 2019). Kemampuan ini penting karena buah kopi mengandung berbagai

senyawa fenolik yang dapat memicu pembentukan senyawa oksidatif reaktif selama proses metabolisme maupun sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tanaman. Aktivitas katalase diduga menjadi salah satu mekanisme detoksifikasi yang tidak hanya mendukung kelangsungan hidup bakteri dalam saluran cerna, tetapi juga berkontribusi secara tidak langsung terhadap toleransi PBKo terhadap senyawa pertahanan tanaman kopi (Ceja-Navarro *et al.*, 2015). Secara keseluruhan, hasil positif pada uji fermentasi karbohidrat, uji sitrat, dan uji katalase mengkonfirmasi bahwa seluruh isolat bakteri yang diperoleh memiliki kemampuan metabolik yang berpotensi mendukung proses pencernaan dan adaptasi fisiologis PBKo, meskipun peran fungsionalnya sebagai endosimbion masih memerlukan verifikasi lebih lanjut melalui pendekatan molekular dan eksperimen *in vivo*.

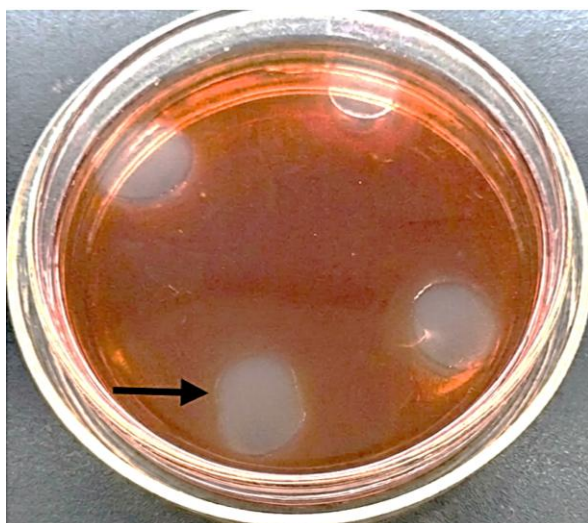
Berdasarkan hasil uji biokimia, tidak ditemukan perbedaan karakter antar isolat bakteri dari saluran cerna yang berasal dari PBKo pada kopi arabika dan robusta. Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun kedua jenis kopi memiliki perbedaan kondisi lingkungan tumbuh dan komposisi kimia, isolat bakteri tetap mempertahankan kemampuan fisiologis dan metabolisme dasar yang serupa. Temuan ini sejalan dengan laporan pada lebah madu (*Apis mellifera*) yang komunitas bakteri usus tetap didominasi oleh kelompok bakteri yang sama meskipun individu memperoleh sumber pakan dari lingkungan yang berbeda (Romero *et al.*, 2019). Fenomena serupa juga dilaporkan pada rayap, di mana kondisi fisiologis usus yang spesifik menyeleksi bakteri dengan kemampuan metabolik untuk mencerna lignoselulosa sehingga fungsi komunitas mikroba tetap terjaga meskipun terdapat variasi habitat dan sumber pakan (Salgado *et al.*, 2024). Kesamaan karakter fisiologis komunitas bakteri ini diduga berkaitan dengan sifat selektif saluran pencernaan serangga yang dipengaruhi oleh kondisi fisiologis inang, seperti pH, ketersediaan nutrisi, dan respons imun, sehingga hanya bakteri tertentu yang mampu bertahan dan berkolonisasi (Engel & Moran, 2013; Douglas, 2016). Hasil positif pada uji biokimia isolat bakteri ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengujian biokimia isolat bakteri endosimbion. (a) Hasil uji fermentasi karbohidrat, (b) uji Simmon's sitrat pada isolat bakteri endosimbion PBKo.

Uji Pektinolitik Isolat Bakteri

Pektin merupakan polisakarida yang paling banyak menyusun buah kopi khususnya bagian eksokarp (kulit buah) dan mesokarp sebesar 20–35% (Chamyuang *et al.*, 2021; Biratu *et al.*, 2024). Pengukuran aktivitas pektinolitik dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endosimbion dari PBKo dalam mendegradasi pektin (Zhang *et al.*, 2023). Metode ini juga dapat digunakan untuk memastikan bahwa isolat yang tumbuh merupakan bakteri yang dapat hidup di saluran pencernaan PBKo (Kasana *et al.*, 2008). Kemampuan pektinolitik isolat ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media pektin agar setelah penambahan larutan indikator seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Pembentukan zona bening oleh isolat bakteri (tanda panah).

Hasil pengukuran zona bening dan indeks aktivitas enzim ditampilkan pada Tabel 5. Delapan isolat bakteri menunjukkan zona bening pada media pektin agar dengan indeks aktivitas enzim berkisar 1,39–1,71 yang masuk dalam kategori sedang (Oumer

& Abate, 2018). Indeks aktivitas enzim tertinggi diperoleh dari isolat endosimbion yang berasal dari PBKo kopi robusta. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan data indeks pektinase terdistribusi normal ($p > 0,05$) pada PBKo dari jenis kopi arabika dan robusta, sehingga memenuhi asumsi untuk uji *independent sample t-test*.

Analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara indeks pektinase isolat bakteri endosimbion PBKo dari kopi arabika dan robusta. Hasil ini, menandakan kemampuan pektinolitik isolat bakteri relatif stabil baik pada PBKo dari jenis kopi arabika dan jenis kopi robusta. Kesamaan aktivitas enzim ini menunjukkan bahwa fungsi enzim pektinase merupakan karakter yang sangat penting bagi endosimbion sehingga selalu ditemukan dalam tubuh PBKo.

Zona bening terbentuk akibat sekresi enzim pektinase, meliputi pektin metilesterase (PME), polygalacturonase (PG), pectate lyase (Pel), dan pectin lyase (PL), yang menghidrolisis pektin sehingga struktur polimer galakturonan terdegradasi dan medium kehilangan kekeruhan (Oumer & Abate, 2018; Callegari *et al.*, 2020). Bakteri endosimbion pada saluran pencernaan PBKo berperan dalam mendukung pemanfaatan komponen struktural biji kopi yang kaya polisakarida kompleks, terutama pektin, sebagai sumber karbon bagi metabolisme PBKo (Haile *et al.*, 2022).

Bakteri endosimbion di saluran cerna PBKo memproduksi enzim pektinase untuk memecah pektin pada buah dan biji kopi sehingga membantu PBKo untuk masuk ke dalam biji kopi (Kusiyanto dkk., 2019). Kemampuan pektinolitik ini menunjukkan potensi isolat bakteri dalam mendegradasi pektin yang berperan penting dalam membantu PBKo mencerna dinding sel biji kopi dan mendukung PBKo menginfestasikan telur dalam buah kopi.

Tabel 5. Indeks aktivitas bakteri pektinolitik isolat uji

Kode isolat	Rata-rata diameter koloni (mm)	Rata-rata diameter zona bening (mm)	Indeks aktivitas enzim
AG-1	7	10,22	1,46
AG-2	7	9,94	1,42
AS-1	7	10,71	1,53
AS-2	7	10,22	1,46
RS-1	7	10,71	1,53
RS-2	7	11,97	1,71
RP-1	7	9,73	1,39
RP-2	7	11,27	1,61

Kopi arabika dan robusta diketahui memiliki ekologi agrohabitat yang berbeda seperti ketinggian, curah hujan, dan iklim yang memengaruhi komposisi kimia buah dan biji kopi namun keberadaan kelompok bakteri dengan karakteristik fenotipik sama ditemukan pada semua isolat. Kondisi ini menunjukkan bahwa komunitas bakteri endosimbion PBKo cenderung stabil dan kemungkinan dipertahankan karena memiliki peran fungsional yang esensial bagi keberlangsungan hidup inangnya. Delapan isolat bakteri yang berhasil dikulturkan dari homogenat saluran pencernaan PBKo menunjukkan karakter fenotipik dan fisiologis yang menyerupai kelompok *Enterobacteriaceae* dengan kemampuan pektinolitik yang mengindikasikan potensi keterlibatan dalam proses degradasi komponen dinding sel tanaman. Kelompok bakteri ini telah banyak dilaporkan berasosiasi sebagai endosimbion pada serangga pemakan jaringan tanaman (Kusiyanto dkk., 2019; Weiss *et al.*, 2019). Kelompok bakteri ini memiliki kemampuan metabolik yang luas khususnya dalam menghasilkan enzim hidrolitik seperti selulase dan pektinase yang berperan dalam mendegradasi komponen dinding sel tanaman (Dillon & Dillon, 2004; Mejía-Alvarado *et al.*, 2021). Aktivitas tersebut mempermudah pemanfaatan jaringan buah oleh serangga inang dan mendukung proses pencernaan substrat yang secara alami sulit didegradasi (Callegari *et al.*, 2020; Nie *et al.*, 2025). Kelompok *Enterobacteriaceae* sebagai komunitas bakteri saluran pencernaan PBKo dapat membantu dalam mendegradasi kafein, meningkatkan ketahanan terhadap patogen melalui kompetisi nutrisi dan produksi senyawa untuk mengatur respon imun sehingga dapat berperan langsung dalam toleransi PBKo terhadap pertahanan buah kopi (Ratzka *et al.*, 2012; Ibrahim *et al.*, 2014; Ceja-Navarro *et al.*, 2015).

Beberapa bakteri saluran cerna serangga lain sebagai perbandingan juga telah dilaporkan berperan

penting dalam mendukung kesehatan dan adaptasi inang. *Enterobacter* ditemukan pada usus *Ceratitis capitata* dan dapat berfungsi sebagai probiotik (Kyritsis *et al.*, 2019), sedangkan pada *Musca domestica* dan PBKo genus ini dikaitkan dengan peningkatan ketahanan inang terhadap bakteri patogen (Ceja-Navarro *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2021). Bakteri *Klebsiella* yang sebelumnya dikenal sebagai *Enterobacter* dikenal sebagai bakteri usus serangga herbivora yang membantu metabolisme nutrisi, degradasi senyawa tanaman, dan detoksifikasi kafein kopi (Engel & Moran, 2013; Ibrahim *et al.*, 2014; Mejía-Alvarado *et al.*, 2021). Bakteri *Kosakonia* dilaporkan memiliki fleksibilitas metabolik tinggi dan juga berasosiasi dengan simbiosis serangga (Weiss *et al.*, 2019).

Karakteristik fenotipik saat ini belum cukup untuk identifikasi bakteri hingga tingkat spesies, namun dapat menjadi dasar awal dalam memahami komposisi dan potensi fungsi ekologis bakteri endosimbion PBKo. Oleh karena itu, diperlukan analisis lanjutan seperti sekuensing gen 16S rRNA, *whole genome sequencing*, dan eksperimen *in vivo* untuk memverifikasi peran fungsional endosimbion, validasi taksonomi, serta analisis filogenetik yang lebih akurat.

SIMPULAN

Isolasi bakteri endosimbion dari saluran pencernaan PBKo yang berasal dari kopi arabika dan robusta di empat sentra kopi Jawa Barat menunjukkan karakter seragam. Seluruh isolat memiliki morfologi koloni bulat dengan tepian rata, berwarna putih hingga putih susu, serta tergolong bakteri Gram-negatif berbentuk batang dan umumnya motil. Karakter biokimia seluruh isolat menunjukkan hasil positif dengan aktivitas pektinolitik sedang dengan indeks 1,39–1,71 menunjukkan adanya sifat konservatif isolat bakteri

PBko yang selalu ditemukan baik pada PBko dari kopi arabika maupun kopi robusta. Karakteristik fenotipik seluruh isolat menyerupai kelompok bakteri Enterobacteriaceae. Identifikasi pada tingkat famili masih bersifat tentatif dan memerlukan konfirmasi molekuler melalui analisis gen 16S rRNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian, Kementerian Pertanian, atas dukungan pendanaan pendidikan. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dukungan dalam memfasilitasi penelitian ini melalui Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi melalui skema Hibah Penelitian Tesis Magister BIMA 2025 dengan nomor kontrak 1703/UN6.3.1/PT.00/2025.

DAFTAR PUSTAKA

- Aivelo, T, M Lemoine, and B Tschirren. 2022. Elevational changes in bacterial microbiota structure and diversity in an arthropod-disease vector. 84(3): 868–878. DOI: 10.1007/s00248-021-01879-5.
- ALatawi, ARA, Sutarno, A Susilowati, and HW Hailu. 2014. Biochemical and molecular characterization of food contaminating bacteria isolates from food stall vegetables. Microbiology Research Journal International. 5(5): 405–11. DOI: 10.9734/BMRJ/2015/13792.
- Bedu-Ferrari, C, P Biscarrat, F Pepke, S Vati, C Chaudemanche, F Castelli, C Chollet, O Rué, C Hennequet-Antier, P Langella, and C Cherbuy, 2024. In-depth characterization of a selection of gut commensal bacteria reveals their functional capacities to metabolize dietary carbohydrates with prebiotic potential. mSystems. 9(4): e0140123. DOI: 10.1128/msystems.01401-23.
- Biratu, G, G Gonfa, M Bekele, and HW Woldemariam. 2024. Macromolecules extraction and characterization of pectin from coffee (*Coffea arabica* L.) pulp obtained from four different coffee producing regions. International Journal of Biological Macromolecules. 274(10): 133321. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133321.
- Bruyn, DF, SJ Zhang, V Pothakos, J Torres, C Lambot, AV Moroni, M Callanan, W Sybesma, S Weckx, and D Vuyst. 2017. Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production. Applied and Environmental Microbiology. 83(1): e02398-16. DOI: 10.1128/AEM.02398-16.
- Callegari, M, C Jucker, M Fusi, MG Leonardi, D Daffonchio, S Borin, S Savoldelli, and E Crotti. 2020. Hydrolytic profile of the culturable gut bacterial community associated with *Hermetia illucens*. Frontiers in Microbiology. 11: 1965. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01965.
- Cappucino, JG, and N Sherman. 1999. Microbiology : A Laboratory Manual. 5th Ed. Benjamin/Cummings Science Publishing. Menlo Park.
- Ceja-Navarro, JA, FE Vega, U Karaoz, Z Hao, S Jenkins, HC Lim, P Kosina, F Infante, TR Northen, and EL Brodie. 2015. Gut microbiota mediate caffeine detoxification in the primary insect pest of coffee. Nature Communications. 6: 7618. DOI: 10.1038/ncomms8618.
- Chamyuang, S, A Owatworakit, U Intatha, and S Duangphet. 2021. Coffee pectin production: An alternative way for agricultural waste management in coffee farms. ScienceAsia 47S(1): 90. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2021.S003.
- Crotti, E, A Balloi, C Hamdi, L Sansonno, M Marzorati, E Gonella, G Favia, A Cherif, C Bandi, A Alma, and D Daffonchio. 2012. Review Microbial symbionts: A resource for the management of insect-related problems. Microbial Biotechnology. 5(3): 307–317. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2011.00312.x.
- Damon, A, E Colegio, D Frontera, dan A Postal. 2000. A review of the biology and control of the coffee berry borer , *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae). Bulletin of Entomological Research. 90(6): 453–465. DOI: 10.1017/S0007485300000584.
- De Souza, RA, D Pratissoli, LM De Araujo Junior, JDA Pinheiro, JFV Souza, FZ Madalon, FD Deolindo, AP Damascena. 2020. *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae) answer to visual and olfactive stimuli in field. Coffee Science. 15: e151656. DOI: 10.25186/v15i.1656.
- Dillon, RJ, and VM Dillon, 2004. The gut bacteria of insects: Nonpathogenic interactions. Annual Reviews of Entomology. 49: 71–92. DOI: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123416.

- [Dirjenbun] Direktorat Jenderal Perkebunan. 2024. *Statistika Perkebunan Jilid I 2023-2025*. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta.
- Douglas, AE. 2016. Multiorganismal insect: Diversity and function of resident microorganisms. *Annual Reviews of Entomology*. 60: 17-34. DOI: 10.1146/annurev-ento-010814-020822.
- Engel, P, and NA Moran. 2013. The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*. 37(5): 699-735. DOI: 10.1111/1574-6976.12025.
- Fang, FC. 2011. Antimicrobial actions of reactive oxygen species. *mBio*. 2(5): e00141-11. DOI: 10.1128/mBio.00141-11.
- Freitas, VV, LLR Borges, GAD Castro, MHD Santos, MCTR Vidigal, SA Fernandes, and PC Stringheta. 2023. Heliyon Impact of different roasting conditions on the chemical composition, antioxidant activities, and color of *Coffea canephora* and *Coffea arabica* L. samples. *Heliyon*. 9: e19580. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e19580.
- Gómez, YFH, JG Espinosa, GCO Rivas, JLA Gómez, JHV Soto, MAR López, AA Reyes, ER de León, C Saldaña, JLH Flores, and JC Guillén. 2025. Volatile metabolome and transcriptomic analysis of *Kosakonia cowanii* Ch1 during competitive interaction with *Sclerotium rolfsii* reveals new biocontrol insights. *Microorganisms*. 13(7): 1483. DOI: 10.3390/microorganisms13071483.
- Haile, S, C Masi, and M Tafesse. 2022. Isolation and characterization of pectinase-producing bacteria (*Serratia marcescens*) from avocado peel waste for juice clarification. *BMC Microbiology*. 22: 145. DOI: 10.1186/s12866-022-02536-8.
- Hendriwal, H, U Usnawiyah, MY Nurdin, HM Ahmadika, dan M Margono. 2024. Populasi, serangan dan pola distribusi *Hypothenemus hampei* Ferr. pada kopi arabika gayo berdasarkan zona elevasi. *Jurnal Agrikultura*. 35(1): 20-29. DOI: 10.24198/agrikultura.v35i1.45701.
- Ibrahim, S, MY Shukor, MA Syed, NAA Rahman, KA Khalil, A Khalid, and SA Ahmad. 2014. Bacterial degradation of caffeine: A review. *Asian Journal of Plant Biology*. 2(1): 19-28. DOI: 10.54987/ajpb.v2i1.84.
- Jutono, J Soedarsono, S Hartadi, S Kabirun, D Suhadi, dan Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. UGM Press. Yogyakarta.
- Kasana, RC, R Salwan, H Dhar, S Dutt, and A Gulati. 2008. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Current Microbiology*. 57(5): 503-7. DOI: 10.1007/s00284-008-9276-8.
- Kusiyanto, G, Purwatiningsih, dan K Muzakar. 2019. Skrining dan identifikasi bakteri pektinolitik endosimbion dalam sistem pencernaan serangga penggerek kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 7(2): 44-50. DOI: 10.21776/ub.biotropika.2019.007.02.1.
- Kyritsis, GA, AA Augustinos, S Ntougias, NT Papadopoulos, K Bourtzis, and C Cáceres. 2019. *Enterobacter* sp. AA26 gut symbiont as a protein source for Mediterranean fruit fly mass-rearing and sterile insect technique applications. *BMC Microbiology*. 19(Suppl 1): 288. DOI: 10.1186/s12866-019-1651-z.
- Mariño, YA, OE Ospina, JC Verle Rodrigues, and P Bayman. 2018. High diversity and variability in the bacterial microbiota of the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae), with emphasis on *Wolbachia*. *Journal of Applied Microbiology*. 125(2): 528-543. DOI: 10.1111/jam.13768.
- Mejía-Alvarado, FS, T Ghneim-Herrera, CE Góngora, P Benavides, and L Navarro-Escalante. 2021. Structure and dynamics of the gut bacterial community across the developmental stages of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Frontiers in Microbiology*. 12: 639868. DOI: 10.3389/fmicb.2021.639868.
- Mondal, S, J Somani, S Roy, A Babu, and AK Pandey. 2023. Insect Microbial Symbionts: Ecology, Interactions, and Biological Significance. *Microorganism*. 11: 2665. DOI: 10.3390/microorganisms11112665.
- Nie, S, Y Liu, and Y Ge. 2025. The host phylogeny and climate determine the gut bacteria of global insects. *Science of the Total Environment*. 966: 178812. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2025.178812.
- Nikolouli, K, F Sassù, S Ntougias, C Stauffer, C Cáceres, and K Bourtzis. 2021. *Enterobacter* sp. Aa26 as a protein source in the larval diet of *Drosophila suzukii*. *Insects*. 12(10): 923. DOI: 10.3390/insects12100923.
- Oumer OJ, and D Abate. 2018. Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. *BioMed*

- Research International. 2018: 2961767. DOI: 10.1155/2018/2961767.
- Procida, G, C Lagazio, F Cateni, M Zacchigna, and A Cichelli. 2020. Characterization of Arabica and Robusta volatile coffees composition by reverse carrier gas headspace gas chromatography – mass spectrometry based on a statistical approach. *Food Science and Biotechnology*. 29(10): 1319–1330. DOI: 10.1007/s10068-020-00779-7.
- Ratzka, C, R Gross, and H Feldhaar. 2012. Endosymbiont tolerance and control within insect hosts. *Insects*. 3(2): 553–572. DOI: 10.3390/insects3020553.
- Romero, S, A Nastasa, A Chapman, WK Kwong, and LJ Foster. 2019. The honey bee gut microbiota: Strategies for study and characterization. *Insect Molecular Biology*. 28(4):455–472. DOI: 10.1111/imb.12567.
- Salgado, JFM, V Hervé, MAG Vera, G Tokuda, and A Brune. 2024. Unveiling lignocellulolytic potential: A genomic exploration of bacterial lineages within the termite gut. *Microbiome*. 12(1): 201. DOI: 10.1186/s40168-024-01917-7.
- Wamuyu, KA, KK Richard, MW Beatrice, and K Cecilia. 2017. Effect of different fermentation methods on physicochemical composition and sensory quality of coffee (*Coffea arabica*). *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*. 11(6): 31–36. DOI: 10.9790/2402-1106023136.
- Weiss, BL, MA Maltz, A Vigneron, Y Wu, KS Walter, MB O'Neill, J Wang, and S Aksoy. 2019. Colonization of the tsetse fly midgut with commensal *Kosakonia cowanii* Zambiae inhibits trypanosome infection establishment. *PLoS Pathogens*. 15(4): e1007688. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007688.
- Zhang, Q, S Wang, X Zhang, K Zhang, W Liu, R Zhang, and Z Zhang, 2021. *Enterobacter hormaechei* in the intestines of housefly larvae promotes host growth by inhibiting harmful intestinal bacteria. *Parasites and Vectors*. 14(1): 598. DOI: 10.1186/s13071-021-05053-1.
- Zainuri, DNA Paramartha, A Fatinah, R Nofrida, N Rahayu, I Marisya, DWI Anggraini, and QD Utama. 2023. The chemical characteristics of arabica and robusta green coffee beans from Geopark Rinjani, Indonesia. *Biotropia*. 30(3): 318–328. DOI: 10.11598/btb.2023.30.3.1940.
- Zhang, Y, S Zhang, and L Xu. 2023. The pivotal roles of gut microbiota in insect plant interactions for sustainable pest management. *npj Biofilms Microbiomes*. 9: 66. DOI: 10.1038/s41522-023-00435-y.