

ISOLATION MICROBE *Indigenous* TO DEGRADE PROFENOFOS FROM SOIL BEDUGUL AREA

I Wayan Wisma Pradnyana Putra¹, I. B Wayan Gunam², A. A Made Dewi Anggreni²

¹ Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UNUD

² Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UNUD

Email : iwismapradnyana_wp@yahoo.com¹

Email koresponden: dewianggreni@unud.ac.id²

ABSTRACT

This study aimed to isolate microbe indigenous. Samples were taken of soil that has been contaminated by pesticides in Bedugul area. In addition, experiments were conducted to determine resistance isolates at high concentrations of profenofos. The result of the research showed 6 isolates. Isolates with IPP 02 code, which showed good growth on *Mineral Salt Peptone Yeast* medium with 200 ppm concentration of profenofos.

Keywords : isolation, screening, indigenous

PENDAHULUAN

Pestisida merupakan sarana untuk membunuh organisme (serangga, gulma, mikroba) pengganggu tanaman (OPT). Penggunaan pestisida dalam produksi hortikultura tidak dapat dihindarkan, hal ini dilakukan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya gagal panen sehingga petani tetap meraih keuntungan yang maksimal. Selain keuntungan yang didapatkan oleh petani, ada pula kerugian yang ditimbulkan dari pestisida yakni pencemaran lingkungan.

Tanah pertanian dengan aplikasi pestisida mempunyai kandungan C-organik sebesar 2,81% dan N-total hanya 0,19% (Tengkano *et al.*, 1992). Hal yang sama pula dikemukakan Setiyo *et al.*, (2011) dari hasil pengamatan sifat kimia, sifat fisik dan sifat biologis terhadap sampel tanah di Candikuning Bedugul selepas dibudidayakan hortikultura adalah : N-organik 0,42%; C-organik 2,9%; P₂O₅ 7,26 ppm; K₂O 0,48 me/100 g; Mg 1,03 me/100g; Na 0,42 me/100 g; KTK 35,8 me/100g; C/N 10,6; pH tanah 6,3.

Salah satu alternatif yang dapat diaplikasikan dalam mengurangi pencemaran pestisida adalah bioremediasi. Bioremediasi adalah salah satu teknologi untuk mengatasi masalah lingkungan dengan memanfaatkan bantuan mikroorganisme lokal (*Indigenous*). Mikroba *indigenous* telah dikarakterisasi dalam usaha untuk menghapus residu pestisida di dalam tanah. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa mikroba *indigenous* yang banyak berperan dalam menghapus residu pestisida di dalam tanah adalah bakteri. Beberapa bakteri yang teridentifikasi dalam mereduksi residu pestisida adalah genus *Pseudomonas* (Porto *et al.*, 2011).

Dari hal di atas, diperlukan penelitian untuk mengisolasi beberapa mikroba *indigenous* yang berpotensi mendegradasi profenofos dengan mengambil sampel tanah yang telah tercemar pestisida selama bertahun-tahun di area atau lahan pertanian Bedugul. Selain itu, percobaan dilakukan untuk mengetahui tingkat ketahanan mikroba *indigenous* pada konsentrasi profenofos yang lebih tinggi.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian dan Laboratorium Bioindustri Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dari bulan Februari 2014 hingga Mei 2014.

Prosedur Percobaan

Pembuatan Media Selektif MSPY

Media selektif MSPY (*Mineral Salt Peptone Yeast*) padat dibuat dengan melarutkan 0,2 gram KH_2PO_4 , 0,5 gram K_2HPO_4 , 0,2 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 gram NaCl , 0,05 gram $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,025 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 MnSO_4 , 1,0 gram Peptone, 2,0 gram *Yeast Extract* dan 1,5 gram *Bacto Agar* dalam erlenmeyer yang berisi 1 liter aquades. Setelah itu, pH diatur pada kisaran 7,0 (pH netral) dan disterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril didinginkan sampai suhu $\pm 50^\circ\text{C}$, kemudian ditambahkan profenofos (dalam larutan curacron) sampai konsentrasi 100 ppm. Pembuatan media selektif MSPY cair sama seperti pembuatan media MSPY padat diatas dengan melarutkan bahan pada media MSPY padat, akan tetapi *bacto agar* tidak ditambahkan (Ningsih, 2001).

Pengambilan sampel tanah

Sampel tanah diambil secara *simple random sampling* dengan kedalaman $\pm 5 - 10$ cm. Sampel tanah kemudian di bawa ke laboratorium menggunakan *coolbox* sampai suhunya berkisar pada 0°C sampai dengan 4°C (Setiyo *et al.*, 2011).

Skrining mikroba

Sampel ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 9 ml NaCl 0.85% steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Suspensi kemudian divortex dan dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kembali ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl 0,85% steril sehingga didapat pengenceran 10^{-2} dan dilakukan sampai 10^{-5} . Suspensi pada pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} sebanyak 0,1 ml diinokulasikan ke media selektif MSPY padat dengan konsentrasi profenofos 100 ppm yang telah disiapkan sebelumnya secara aseptis. Selanjutnya disebar dengan batang gelas bengkok steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Isolasi mikroba

Mikroba yang tumbuh (berbeda secara fisik) pada tahap skrining kemudian diisolasi dengan metode gores kuadran (*quadrant streak*). Koloni yang terpisah pada kuadran terakhir dipindahkan kembali pada media selektif MSPY padat yang baru dengan konsentrasi profenofos 100 ppm dengan metode yang sama sampai 2 kali.

Analisis Ketahanan Isolat pada Konsentrasi Profenofos yang lebih tinggi

Mikroba yang tumbuh pada tahap isolasi di *streak* kembali pada media MSPY dengan konsentrasi profenofos 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm (Ningsih, 2001). Mikroba yang tumbuh pada media MSPY dengan konsentrasi tertinggi dianggap bahwa mikroba tersebut mampu menggunakan profenofos sebagai sumber kehidupannya dan mengubah profenofos menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk menyuburkan tanah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

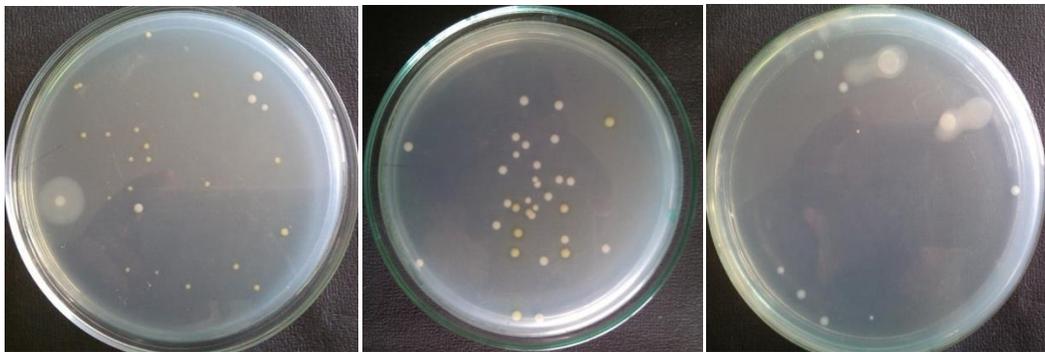
Pengambilan Sampel Tanah

Hasil survei pada beberapa pemilik lahan pertanian di Bedugul didapatkan satu lahan yang menggunakan profenofos sebagai pestisida yang paling dominan untuk mengurangi organisme pengganggu tanaman (OPT). Lahan pertanian tersebut mempunyai luas 300 m^2 . Berdasarkan hasil wawancara dengan pemilik lahan pertanian tersebut, ada beberapa jenis pestisida yang digunakan yakni fungisida merek dagang daconil dengan bahan aktif klorotalonil, herbisida merek sidastar, dan insektisida merek curacron dengan bahan aktif profenofos. Jenis

pestisida yang paling dominan digunakan adalah insektisida dengan merek dagang curacron 500 EC bebahan aktif profenofos. Insektisida ini digunakan untuk memberantas serangga yang menyerang budidaya sayur mayur di lahan pertanian tersebut. Hal ini memungkinkan bahwa akan terdapat mikroba indigenous yang sudah beradaptasi dan menggunakan profenofos sebagai salah satu sumber kehidupannya. Sampel tanah kemudian di ambil pada 2 titik.

Skrining

Hasil skrining mikroba pada media *Mineral Salt Peptone Yeast* yang mengandung 100 ppm profenofos mempunyai ciri-ciri seperti koloni bakteri yakni berlendir dan mengkilap. Koloni yang berbeda secara fisik berjumlah 6 koloni. Hal ini menunjukkan bahwa koloni-koloni tersebut mampu beradaptasi dengan media *Mineral Salt Peptone Yeast* yang mengandung profenofos dan kemungkinan mempunyai potensi untuk mendegradasi profenofos. Foto koloni yang berbeda secara fisik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Foto koloni yang tumbuh pada media selektif MSPY

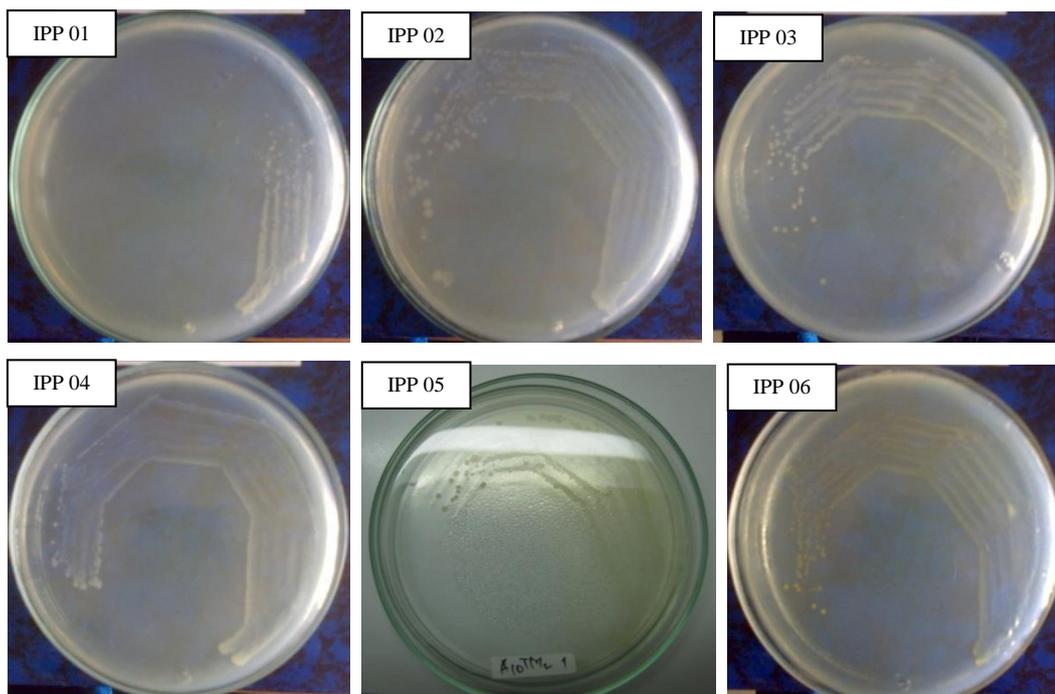
Isolasi

Koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif MSPY diisolasi dan diberi kode huruf yang sama tetapi angka yang diberikan berbeda yaitu IPP01, IPP02, IPP03, IPP04, IPP05, IPP06 dan dikarakterisasi. Hasil isolasi yang menggunakan metode gores kuadran (*quadrant streak*) menunjukkan bahwa isolat mempunyai pertumbuhan yang berbeda, hal ini dilihat dari kuadran yang dapat ditumbuhi oleh isolat. Karakteristik koloni yang tumbuh pada media selektif MSPY dan berbeda secara fisik disajikan pada Tabel 1 dan gambar koloni setelah di gores disajikan pada Gambar 2.

Tabel 1. Karakteristik koloni yang tumbuh pada media selektif MSPY

Kode isolat	Karakteristik isolat		
	Bentuk	Ukuran	Warna
IPP 01	Bulat	Sedang	Hijau
IPP 02	Bulat + sangat berlendir	Sedang	Putih susu
IPP 03	Bulat	Sedang	Kuning kecoklatan
IPP 04	Bulat	Sedang	Putih
IPP 05	Bulat+ zona bening	Sedang	Putih
IPP 06	Bulat	Sedang	Kuning terang

Berikut ini adalah gambar pertumbuhan isolat setelah di gores.



Gambar 2. Foto isolat IPP 01 sampai isolat 06 setelah digores kuadran pada media MSPY dengan konsentrasi profenofos 100 ppm

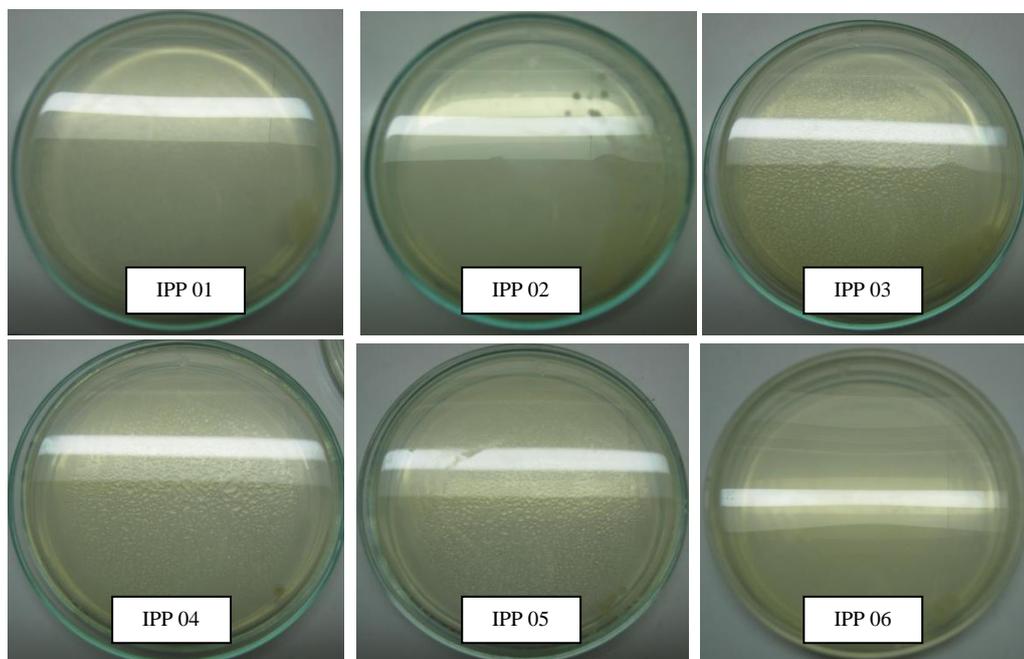
Analisis Ketahanan Isolat pada Konsentrasi Profenofos yang lebih tinggi

Hasil analisis secara kuitatif ketahanan isolat pada konsentrasi pestisida yang lebih tinggi yakni 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm didapatkan isolat IPP 02 mampu tumbuh pada konsentrasi profenofos 200 ppm. Hasil analisis disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Pertumbuhan isolat pada media MSPY dengan konsentrasi profenofos 150 ppm, 200 ppm, 20 ppm.

Kode isolat	Tingkat pertumbuhan		
	150 ppm	200 ppm	250 ppm
IPP 01	***	*	-
IPP 02	*****	***	-
IPP 03	***	*	-
IPP 04	**	*	-
IPP 05	**	-	-
IPP 06	***	*	-

Keterangan : * (amat sangat tidak bagus), ** (sangat tidak bagus), *** (bagus), **** (sangat bagus), ***** (amat sangat bagus).



Gambar 3. Foto isolat IPP 01 sampai isolat 06 setelah digores kuadran pada media MSPY dengan konsentrasi profenofos 200 ppm

Isolat IPP 02 mempunyai tingkat ketahanan yang tinggi dibandingkan dengan isolat yang lainnya, kemungkinan isolat IPP 02 mempunyai tingkat degradasi profenofos yang tinggi sehingga dapat mengubah atau menggunakan profenofos sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Selain itu, mikroba yang mempunyai ketahanan untuk tumbuh pada media yang mengandung senyawa toksik (dalam hal ini adalah profenofos) mengubah profenofos menjadi

senyawa yang tidak toksik dan selanjutnya senyawa tersebut digunakan untuk pertumbuhannya (Humaidi, 1999).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil isolasi mikroba *indigenus* yang diisolasi dari tanah yang telah tercemar pestisida didapatkan 6 isolat yang berbeda secara fisik. Isolat IPP 02 mempunyai tingkat ketahanan yang tinggi terhadap profenofos sampai konsentrasi 200 ppm.

Saran

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui tingkat degradasi profenofos secara kuantitatif, kondisi optimum (pH dan suhu), metabolit hasil degradasi profenofos dan kemampuan mendegradasi residu profenofos di lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Humaidi, F. 1999. *Tingkat Residu Fungisida Methyl Thiophanate Dalam Tanah Pada Tanaman Kentang Serta Dampak Terhadap Kehidupan Jamur Tanah Di Batu Malang*. Program Pascasarjana, Universitas Brawijaya, Malang.
- Ningsih, D. 2001. *Bioremediasi Diazinon Secara Ex Situ Menggunakan Mikrob Indigenous Isolat B3*. Skripsi. Jurusan Kimia, Fak. MIPA, IPB. Bogor.
- Porto, A.L.M., Melgar, G.Z., Kasemodel M.C., and Nitschke, M. 2011. *Biodegradation of Pesticides*. Universitas de São Paulo, Brazil.
- Setiyo, Y., Gunam, I. B. W., Gunadnya, I. B. P., Tika, I. W. 2011. *Bioremediasi In-Situ Lahan Tercemar Pestisida Oleh Mikroba Yang Ada Pada Kompos*. UNUD
- Tengkano, W., Harnoto, M. Taufik, dan M. Iman. 1992. *Dampak negatif insektisida terhadap musuh alami pengisap polong*. Seminar Hasil Penelitian Pendukung Pengendalian Hama Terpadu. Kerjasama Program Nasional PHT, BAPPENAS dengan Faperta-IPB.