

ISOLAT BAKTERI DAN KEMAMPUANNYA MENDEGRADASI DIMETOAT

ISOLATE BACTERIA AND THEIR DIMETHOATE DEGRADATION CAPABILITY

Yasa Palaguna Umar¹⁾, Wignyanto²⁾, Nimas Mayang Sabrina Sunyoto²⁾

¹⁾ Alumni Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fak. Teknologi Pertanian Univ. Brawijaya

²⁾ Staf pengajar Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fak. Teknologi Pertanian Univ. Brawijaya

Email korespondensi: mayangsunyoto@gmail.com

ABSTRAK

Pestisida yang banyak direkomendasikan untuk bidang pertanian adalah golongan organofosfat, karena golongan ini lebih mudah terurai di alam. Pestisida jenis organofosfat di negara berkembang seperti Indonesia biasanya ditemukan dalam bentuk insektisida. Penggunaan pestisida yang secara terus menerus dapat menyebabkan akumulasi residu pada tanah yang dapat membahayakan biota tanah dan dapat mencemari tanah sehingga ekosistem terganggu. Oleh karena itu perlu adanya penelitian untuk mengurangi efek buruk dari insektisida pada lingkungan. Pada penelitian ini bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi lalu diujikan kemampuannya dalam mendegradasi salah satu jenis insektisida. Media yang digunakan adalah media Mineral Salt. Pengujian kandungan dimetoat dilakukan dengan Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) untuk melihat kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi dimetoat. Untuk mengetahui efektivitas isolasi bakteri dalam pendegradasian dimetoat, analisa data penelitian dilakukan dengan menggunakan metode uji-T berpasang (paired T-test) untuk populasi saling tergantung (dependen). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu mendegradasi dimetoat dari 1000 ppb pada hari pertama hingga 502,56 ppb pada hari ketiga. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan isolat bakteri dalam menurunkan dimetotat disebabkan adanya sumber karbon pada dimetoat yang berperan sebagai sumber makanan utama bagi isolat bakteri.

Kata Kunci: Biodegradasi, Bakteri, Dimetoat, Insektisida, LC-MS,

ABSTRACT

The organophosphate group is a recommended pesticide in agricultural field since it is easier to decompose in nature. This pesticide type in developing countries, such as Indonesia, is usually found in the form of insecticide. A continuous usage of pesticides may lead to residue accumulation in soil which in turn endangers land biota and pollutes land thus disturbs the ecosystem. Therefore, a research to decrease the unfavourable effect of insecticide to the environment. In the study, the bacteria from isolation result were then tested for their ability to degrade dimethoate, as a type of insecticide. The media used in the study was Mineral Salt and the Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) was used to observe the capability of the bacteria isolate in degrading dimethoate. The study was conducted with paired T-test method for dependent population to identify the effectiveness of bacteria isolate in degrading dimethoate. The result shows that bacteria isolate was able to degrade dimethoate from 1000 ppb on the first day to 502.56 ppb on the third day. It is believe that the bacterial isolate ability in degrading dimethoate was caused by carbon source in dimethoate which acted as a main nutrition for the bacterial isolate.

Keywords: Biodegradation, Bacteria, Dimethoate, Insecticide, LC-MS

PENDAHULUAN

Pestisida yang banyak direkomendasikan untuk bidang pertanian adalah golongan organofosfat, karena golongan ini lebih mudah terurai di alam. Pestisida jenis organofosfat di negara berkembang seperti Indonesia biasanya ditemukan dalam bentuk insektisida. Selama beberapa tahun penggunaan pestisida tersebut cukup sukses dan hama dapat dikendalikan dengan baik. Namun, penggunaan satu jenis pestisida secara terus-menerus atau lebih dari 10 tahun dapat menimbulkan resistensi pada hama sasaran (Brown 1958). Di samping itu, bahan aktif pestisida yang digunakan dalam pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (OPT), bila terakumulasi di tanah dalam jangka waktu lama dapat membahayakan biota tanah dan dapat mencemari tanah sehingga ekosistem terganggu (Rao, 1994). Empat jenis insektisida yang sering digunakan adalah diazinon, fenitrotion, klorpirifos dan, dimetoat yang termasuk golongan organofosfat. Insektisida tersebut bekerja sebagai racun kontak dan racun perut (Regis-Rolle dan Bauville, 1993).

Berdasarkan banyaknya kandungan dimetoat pada organofosfat yang digunakan sebagai insektisida pada tanaman cabai dibandingkan dengan tanaman lainnya di daerah desa Dadaprejo Kota Batu sebanyak 2 Ha, juga dari hasil studi pendahuluan dengan ditemukannya bahaya kandungan dimetoat yang dapat merusak ekosistem tanah. Sehubungan dengan masalah yang ditimbulkan oleh penggunaan pestisida, sehingga perlu adanya penelitian untuk proses perbaikan lingkungan, beberapa tahun terakhir ini berkembang teknologi biodegradasi yang merupakan suatu teknologi pemanfaatan mikroba untuk proses perbaikan

lingkungan. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Ahmed dan Fatma pada tahun 2008 di Mesir. Mikroba yang digunakan yaitu *Pseudomonas aeruginosa* yang disesuaikan dengan lingkungan yang ada di Mesir. Mikroba tersebut mampu mendegradasi dimetoat selama 3 hari. Disamping itu perlu dikaji kesesuaian metode yang dilakukan sebelumnya di Mesir jika di terapkan di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan ini dilaksanakan di Laboratorium Bioindustri, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Analisis kimia dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai Bulan Juli 2013 sampai September 2013.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mineral Salt, insektisida dimetoat dengan konsentrasi 1000 ppb, isolat bakteri pendegradasi dimetoat, aquades, dan media tanah perkebunan cabai di desa Dadaprejo. Alat yang digunakan untuk menguji kandungan dimetoat adalah Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS).

Prosedur Penelitian

Isolasi Bakteri

Pembuatan isolat bakteri dilakukan dari sampel tanah yang digunakan dengan dilakukan pengenceran dengan perbandingan 1 gr tanah diencerkan kedalam aquades sampai 10⁻⁷, kemudian 0,1 ml dari masing-masing hasil pengenceran air limbah tersebut diinokulasikan ke dalam tabung erlenmeyer berisi media Mineral Salt. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media yang telah

diinokulasikan dengan bakteri diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan koloni yang tumbuh diamati.

Uji Kemampuan Isolat Bakteri dalam mendegradasi dimetoat

Bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi lalu diujikan kemampuannya dalam mendegradasi dimetoat. Media yang digunakan adalah media Mineral Salt. Pengujian kandungan dimetoat dilakukan dengan Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS). Pada pengujian sampel waktu yang digunakan yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam (Megeed, 2008).

Pembuatan media Mineral Salt dilakukan dengan cara mencampurkan (NH₄)₂SO₄ 0.472 g, Na₂HPO₄ 1.42 g, KH₂PO₄ 1.36 g, MgCl₂.6H₂O 0.284 g, CaCl₂.2H₂O 0.066 g, 20 ml *trace element*, ke dalam gelas piala yang berisi 1 liter aquades yang telah di sterilisasikan pada suhu 120OC selama 15 menit. *Trace element* memiliki komposisi FeSO₄.7H₂O 350 mg, MnSO₄.H₂O 80 mg, ZnCl₂ 20 mg, CoCl₂.6H₂O 20 mg, Na₂MoO₄.2H₂O 12 mg, H₃BO₃ 5 mg, H₂SO₄ (96%) 1 ml, dan 1 liter aquades yang telah disterilisasikan. Larutan media Mineral Salt tersebut dipindahkan ke dalam erlenmeyer yang berukuran 50 ml, setelah itu dicampurkan isolat bakteri, kemudian ditambahkan dimetoat dengan konsentrasi 1000 ppb (Li, 2013).

Analisis Data

Penelitian dilakukan menggunakan metode uji-T berpasang (paired T-test) ntuk mengetahui efektivitas isolat bakteri dalam pendegradasian dimetoat. Tabel 1 menunjukkan rancangan penelitian. Perlakuan Y1 menunjukkan perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri pendegradasi dimetoat. Perlakuan Y2 menunjukkan perlakuan dengan penambahan isolasi

bakteri pendegradasi dimetoat. Inkubasi terhadap kultur dilakukan selama 24 jam (A1), 48 jam (A2) dan 72 jam (A3).

Tabel 1. Kombinasi Antar variabel

	Y1	Y2
A1	A1Y1	A1Y2
A2	A2Y1	A2Y2
A3	A3Y1	A3Y2

Keterangan :

- A1Y1 : kontrol pada pengamatan 24 jam
- A2Y1 : kontrol pada pengamatan 48 jam
- A3Y1 : kontrol pada pengamatan 72 jam
- A1Y2 : Isolat bakteri pendegradasi dime-
toat pada pengamatan 24 jam
- A2Y2 : Isolat bakteri pendegradasi dime-
toat pada pengamatan 48 jam
- A3Y2 : Isolat bakteri pendegradasi dime-
toat pada pengamatan 72 jam

Berdasarkan perlakuan yang diberikan dan pengulangan sebanyak 3 kali, selanjutnya dilakukan pengamatan dan analisa terhadap parameter yang telah ditentukan meliputi banyaknya kandung-
an dimetoat pada tanah.

Perhitungan tingkat degradasi dimetoat dilakukan berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Degradasi dimetoat} = \frac{(Y1-Y2)}{Y2} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kemampuan Degradasi Dimetoat

Tabel 2 menunjukkan data yang dihasilkan dari pengujian menggunakan LC-MS. Hasil Uji – t, menunjukkan nilai dari |thit|= 2.504 lebih besar dan nilai t *table*=1.886. Dengan kriteria pengamb-
bilan hipotesis terima H0, jika thit| < t *table*, sebaliknya tolak H0, jika thit| > t *table* (Walpole, 1995). Pada hasil perhitungan ditunjukkan bahwa thit| > t *table*, maka tolak Ho terima H1. Dengan

demikian, 1≠2, yaitu kontrol tidak sama dengan perlakuan yang telah diberikan bakteri pendegradasi. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri secara nyata dapat mengurangi kandungan dimetoat.

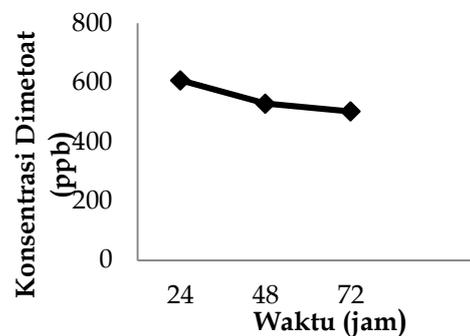
Tabel 2. Data Hasil LCMS

Waktu (Jam)	Kontrol (Y1) (ppb)	Perlakuan (Y2) (ppb)	Dimetoat Removal (%)
24	1000	607.12	39.28
48	1000	528.68	47.132
72	1000	502.56	49.74

Dalam penelitian ini diketahui bahwa dengan menggunakan isolat bakteri dari tanah yang telah dikenakan pemberian insektisida, dimetoat dapat didegrasi sebesar 49.70% setelah inkubasi selama 3 hari. Hal ini secara signifikan dapat mengurangi waktu degradasi dimetoat jika dibandingkan dengan waktu degradasi dimetoat tanpa adanya biodegradasi. Diketahui bahwa tanpa adanya biodegradasi, waktu paruh dari dimetoat dalam tanah adalah selama 206 hari pada suhu 25°C (Hassal, 1990). Li dkk (2010) menyatakan bahwa dengan bantuan bacteria pada tanah dan aliran air sungai, dimetoat dapat didegradasi sebesar 50% dalam waktu hingga 3-5 hari. Kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi dimetoat diperkirakan karena kandungan karbon dan fosfat dalam dimetoat yang digunakan oleh bakteri sebagai nutrisi utama dan sumber energi (Megeed, 2008).

Hasil analisa penurunan dimetoat menggunakan LC-MS ditunjukkan pada Gambar 1. Pada Gambar 1. terlihat pada hari pertama dimetoat mengalami penurunan sebesar 392,88 ppb, sedangkan pada hari kedua mengalami penurunan tingkat kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi dimetoat sebesar 78.44 ppb, dan pada hari ketiga sebesar 26.12 ppb.

Hasil ini menunjukkan pada hari pertama isolat bakteri mengalami fase eksponensial dimana pertumbuhan isolat bakteri meningkat, sedangkan pada hari kedua dan ketiga mengalami fase penurunan populasi atau fase kematian, dimana pada saat medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya, pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup (Kusnadi, 2003).



Gambar 1. Analisa penurunan dimetoat menggunakan LC-MS.

Pada hasil isolasi bakteri di dapatkan karakteristik isolat bakteri berupa gram positif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Megeed dkk (2008) di Mesir, yang juga merupakan bakteri gram positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa pengujian dimetoat menggunakan LC-MS terdapat bakteri yang mampu mendegradasi dimetoat ini ditunjukkan dengan adanya penurunan dimetoat.

Pada penelitian ini menggunakan LC-MS didapatkan bahwa isolat bakteri mampu mendegradasi dimetoat dari 1000 ppb hingga 502,56 ppb pada hari ketiga, mengalami penurunan dimetoat sebanyak 49.74%, ini menunjukkan bahwa kemampuan isolat bakteri dalam menurunkan

dimetotat disebabkan adanya sumber karbon dan fosfat pada dimetoat sebagai sumber makanan utama bagi isolat bakteri.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa turunan hasil biodegradasi dan melakukan uji toksik untuk mengetahui pengaruh dimetoat dan turunannya pada tanaman.

Dalam proses degradasi ini melibatkan media mineral salt sehingga perlu studi lanjut terhadap kandungan mineral salt yang mampu mempercepat proses degradasi oleh isolat bakteri. Perlu dikaji mengenai kondisi pH dan suhu optimal bagi biodegradasi dimetoat dengan menggunakan isolat bakteri ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, A.W.A. 1958. **Insecticides Resistance in Arthropods**. WHO, Geneva. 240 pp.
- Chairul, S.M. dan Achmad, N.K. 2006. **Penurunan Kandungan Residu Insektisida Dimetoat Dalam Cabal Merah (*Capsicum annum* L.) Akibat Iradiasi Gamma**. Hlm 105-110. Seminar Nasional Ii Sdm Teknologi Nuklir Yogyakarta, ISSN 1978-0176. Yogyakarta.
- Jumbriah. 2006. **Bioremediasi Tanah Tercemar Diazinon Secara Ex Situ Dengan Menggunakan Kompos Limbah Media Jamur (Spent Mushroom Compost)**. Thesis. Institut Pertanian Bogor. Program Pascasarjana. Bogor.
- Kusnadi. 2003. **Mikrobiologi**, Common Textbook, JICA. FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Li, M. Yi, P. Liu, Q. Pan, Y. dan Qian, G. 2013. **Biodegradation of benzoate by protoplast fusion between *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis***. hlm 1-6. International Biodeterioration & Biodegradation XXX.
- Megeed, A.A, dan El-Nakieb, F.A. 2008. **Bioremediation of Dimethoate by Effective Microorganisms in Water. Terrestrial and Aquatic Environmental Toxicology**. Global Science Books. Hlm, 1-4.
- Rao, N.S.B. 1994. **Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua**. Penerbit UI-Press. Jakarta.
- Regis-Rolle, S.D. dan Bauville G.M. 1993. **High performance liquid chromatographic method for the determination of carbendazim residues in crops, grain, and wines with fluorescent detection**. Pestic. Sci. 37: 273-282.
- Li, R. Zheng, J. Wang, R. Song, Y. Chen, Q. Yang, X. dan Jiang, J. 2010. **Biochemical degradation pathway of dimethoate by *Paracoccus* sp. Lgjj-3 isolated from treatment wastewater**. International Biodeterioration and Biodegradation, 64(1): 51-57.
- Walpole, R.E. 1995. **Pengantar Statistika Edisi ke-3**. PT Gramedia. Jakarta.