

ISOLASI BAKTERI LOKAL LAHAN MARGINAL DAN KARAKTERISASI BERDASARKAN LAJU PERTUMBUHAN PADA MEDIA MENGANDUNG BUPROFEZIN

Isolation of Marginal Land Bacteria and It's Characterization Based on the Growth Rate on Medium Containing Buprofezin

Sapto Nugroho Hadi*, Ida Widiyawati, dan Prita Sari Dewi
Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Soeparno No. 61 Purwokerto 53123, Telp. (0281)638791

*Alamat Korespondensi: snhadi@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri lokal dari tanah marginal dari Kabupaten Banyumas dan untuk melihat tingkat pertumbuhannya pada media yang mengandung buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm dan 15 ppm. Bakteri diisolasi dari empat sampel tanah dari tanah marginal Desa Srowot, Desa Karangrao, Desa Tangerang, dan Desa Pagaralang di Kabupaten Banyumas. Populasi bakteri dan koloni makromorfologi diamati untuk menentukan koloni bakteri dominan. Bakteri dominan ditanam pada media NB selama 26 jam untuk melihat kurva pertumbuhan. Bakteri dengan kurva pertumbuhan terbaik kemudian diinkubasi pada media NB yang mengandung buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm untuk melihat laju pertumbuhan selanjutnya. Variabel yang diamati adalah populasi bakteri tanah, karakter makromorfologi bakteri, laju pertumbuhan bakteri pada media tanpa pestisida, dan laju pertumbuhan bakteri pada media mengandung buprofezin. Dalam penelitian ini, empat koloni bakteri dominan, yaitu, SR2, KR1, TG4, dan PA11 diisolasi dari 26 koloni yang tumbuh pada media NA yang mengandung buprofezin 2 ppm. Pengamatan laju pertumbuhan pada media NB tanpa pestisida menunjukkan koloni SR2 memiliki laju pertumbuhan terbaik. Koloni SR2 yang ditumbuhkan pada media NB yang mengandung buprofezin menunjukkan bahwa koloni dapat beradaptasi dan tumbuh pada konsentrasi buprofezin 5 ppm.

Kata kunci: bakteri lahan marginal, Banyumas, buprofezin

ABSTRACT

The aim of this study is to isolate local bacteria of marginal land from Banyumas regency and to see it's growth rate on media containing buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm and 15 ppm. Bacteria were isolated from four soil samples from marginal land of Srowot Village, Karangrao Village, Tangerang Village, and Pagaralang Village of Banyumas Regency. Bacterial populations and macromorphologic colonies were observed for determination of dominant bacterial colonies. The dominant bacteria were grown on NB media for 26 hours to see the growth curve. Bacteria with the best growth curve then incubated on NB media containing buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, and 15 ppm to see further growth rate. The variables observed were the population of soil bacteria, the character of the macromorphology of the bacteria, the rate of bacterial growth in the media without pesticides, and the rate of bacterial growth in the media containing buprofezin. In this study, four dominant bacterial colonies, namely, SR2, KR1, TG4, and PA11 were isolated from 26 colonies grown on NA media containing buprofezin 2 ppm. Observation of growth rate on NB media without pesticide showed colony of SR2 has the best growth rate. Colony SR2 was growth on NB media containing buprofezin showed the colony can adapt and grow at 5 ppm buprofezin concentration.

Keyword: Marginal Land Bacteria, Banyumas, Buprofezin

PENDAHULUAN

Kelompok bakteri tanah diketahui dapat beradaptasi pada lingkungan mengandung pestisida kimia sintetik. Bahkan mampu mampu mengurangi residu pestisida dalam tanah dengan cara

mendegradasi bahan aktif pestisida tersebut dan memanfaatkannya sebagai sumber nutrisi tambahan bagi kehidupannya. Contoh bakteri yang memiliki kemampuan tersebut di antaranya *Arthrobacter sp.*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*,

B. amyloliquefaciens, *B. pseudomycooides*, *B. licheniformis*, *Clostridium pasteurianum*, *Klebsiella pneumoneae*, *Micrococcus sp.*, *Xanthomonas sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Flavimonas oryzihabitans*, *Morganella morganii*, *F. oryzihabitans.*, *Staphylococcus sciuri*, dan *Rhodococcus sp.* (Singh et al., 1999; Jilani and Altaf, 2004; Barragan-Huerta et al., 2007; Thabit and Medhat, 2013).

Secara khusus untuk pestisida berbahan aktif buprofezin, penelitian Chen et al. (2011) menunjukkan bakteri dari galur *Pseudomonas sp.* mampu mendegradasi lebih dari 70% senyawa buprofezin 50 mg dalam tiga hari. Penelitian lain menunjukkan bakteri dari galur *Rhodococcus sp.* yang diisolasi dari tanah sawah (pertanaman padi) dapat mendegradasi buprofezin hingga 92,4% dalam waktu 48 jam di dalam media kultur cair (Li et al. 2012).

Di Indonesia, penelitian yang melihat kemampuan bakteri lokal tanah untuk dapat beradaptasi dalam lingkungan mengandung pestisida kimia sintetik khususnya berbahan aktif buprofezin masih sangat terbatas. Apalagi bakteri tersebut bersumber dari lahan-lahan marginal. Padahal buprofezin menjadi salah satu bahan aktif pestisida kimia sintetik yang digunakan dalam pengendalian hama wereng yang umum menyerang pertanaman padi di Indonesia

(Litbangdeptan, 2014). Sementara lahan marginal memiliki luasan yang cukup tinggi di Indonesia (Tufaila et al., 2014) yang memiliki potensi besar untuk dieksplorasi kandungan mikroorganismenya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri lokal lahan marginal asal Kabupaten Banyumas dan melihat laju pertumbuhannya pada media mengandung buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm.

METODE

Pengambilan sampel tanah marginal dilakukan dari beberapa tempat di Kabupaten Banyumas: Desa Srowot, Desa Karangrao, Desa Tanggeran, dan Desa Pagaralang. Isolasi dan pengamatan laju pertumbuhan bakteri pada media mengandung beragam konsentrasi buprofezin dilakukan di Laboratorium Agroekologi, Laboratorium Agronomi dan Hortikultura, dan Laboratorium Perlindungan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman.

Bahan dalam penelitian adalah tanah marginal ordo ultisol, media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NA) (Merck), pestisida berbahan aktif buprofezin (Applaud), dan bahan penunjang lainnya. Peralatan dalam penelitian *laminar air flow* (LAF) (Baissaire), spektrofotometer UV-Vis tipe UVD-3200, pipet mikro, vortex (Hedolph), *shaker*, inkubator, analytical

balance SI 6002 (Denver), dan peralatan gelas lainnya.

Pengambilan Sampel Tanah

Untuk setiap lokasi, 20 gram sampel tanah diambil dari lima titik secara acak pada kedalaman ± 20 cm dari permukaan tanah. Tanah dipisahkan dari material batu atau tumbuhan, lalu dimasukkan ke dalam plastik untuk dihomogenkan. Sampel tanah ini dimasukkan ke dalam kotak berisi es (Husen, 2007).

Isolasi Bakteri Tanah

Prosedur isolasi bakteri tanah dimulai dengan menempatkan 10 g tanah ke dalam erlenmeyer 500 ml yang mengandung 90 ml NaCl 0,85%. Sampel diinkubasi pada suhu ruang dengan penggoyangan 30 menit. Sampel suspensi lalu didiamkan beberapa saat tanpa penggoyangan. Sampel kemudian mengalami serangkaian pengenceran hingga 10^{-8} . Sebanyak 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-8} diinkubasi 24 jam pada suhu ruang dalam media NA yang mengandung pestisida berbahan aktif buprofezin 2 ppm. Koloni yang tumbuh dihitung jumlah populasinya (dalam satuan *colony forming unit* cfu/gram), dikelompokkan berdasarkan karakter makromorfologi, dan dimurnikan dalam media NA.

Laju Pertumbuhan Bakteri pada Media Tanpa Pestisida

Koloni bakteridominan yang telah dimurnikan ditumbuhkan dalam media NB

pada suhu ruang dengan penggojokan 150 rpm. Setiap 2 jam dalam rentang waktu 26 jam, sampel bakteri diambil untuk diukur nilai *optical density* (OD)-nya pada 600 nm dengan alat spektrofotometer UV-VIS. Nilai absorbansi setiap waktu pengambilan dibuat grafik untuk mengetahui laju pertumbuhannya.

Laju Pertumbuhan Bakteri pada Media Mengandung Buprofezin

Koloni bakteri terpilih berdasarkan laju pertumbuhan pada media tanpa pestisida ditumbuhkan dalam media NB yang mengandung buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm. Koloni ditumbuhkan 72 jam pada suhu ruang dengan penggojokan 150 rpm. Setiap rentang 12 jam, sampel bakteri dilakukan pengecekan nilai OD pada 600 nm. Nilai absorbansi setiap waktu pengambilan sampel dibuat grafik untuk mengetahui laju pertumbuhannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Bakteri Tanah

Populasi bakteri yang tumbuh dalam media NA mengandung buprofezin 2 ppm dihitung dalam satuan cfu/g (Tabel 1). Meskipun digolongkan ke dalam lahan marginal, pada sampel tanah dari empat lokasi ternyata mengandung koloni bakteri dengan jumlah populasi berkisar $2,65 \times 10^7$ sampai $10,66 \times 10^7$ cfu/gram. Jumlah populasi bakteri terbanyak terdapat pada

sampel yang diambil dari Desa Srowot dan paling sedikit pada sampel dari Desa Tanggeran.

Karakter Makromorfologi Bakteri

Koloni bakteri diamati bentuk, warna batas tepian, dan ukurannya disajikan pada Tabel 2. Tabel 2. menunjukkan 26 isolat berhasil diidentifikasi secara makromorfologi. Secara umum koloni yang

tumbuh berbentuk bulat, berwarna putih, dengan batas tepi beragam, dan ukuran medium. Data hasil makromorfologi digunakan untuk penentuan populasi bakteri yang tampak dominan. Dari 26 koloni yang diamati karakter makromorfologinya, empat koloni dominan berhasil ditentukan. Koloni tersebut adalah SR2, KR1, TG4, dan PA11.

Tabel 1. Jumlah populasi bakteri dari beberapa lokasi pengambilan sampel

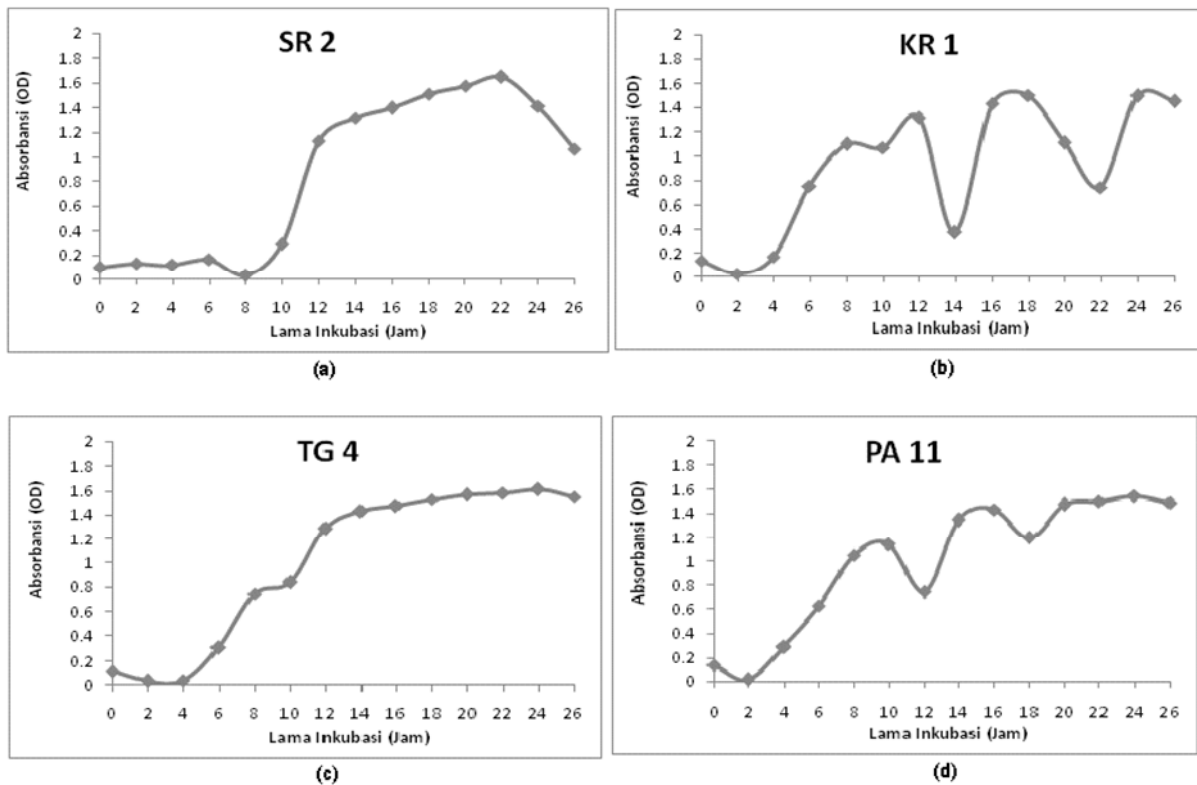
| Lokasi pengambilan sampel tanah | Jumlah populasi (cfu/g) |
|---------------------------------|-------------------------|
| Desa Srowot | 10,66 x 10 ⁷ |
| Desa Karangrao | 4,07 x 10 ⁷ |
| Desa Tanggeran | 2,65 x 10 ⁷ |
| Desa Pagalarang | 6,87 x 10 ⁷ |

Keterangan: cfu = *colony forming unit*

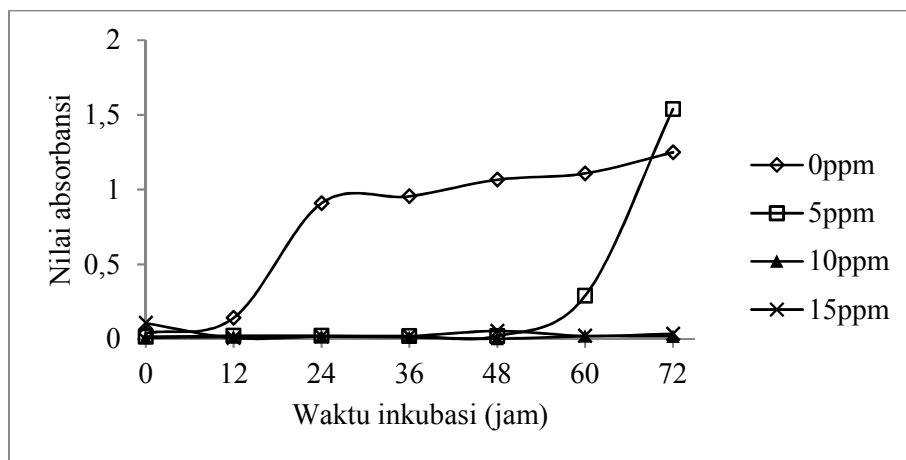
Tabel 2. Hasil Pengamatan Makromorfologi Bakteri

| No | Isolat | Konfigurasi | Warna | Batas Tepi | Ukuran |
|----|--------|-------------------------|-------|--------------------------------|---------------|
| 1 | SR1 | <i>Round</i> | Putih | <i>Lobate</i> | <i>Small</i> |
| 2 | SR2 | <i>Round</i> | Putih | <i>Smooth</i> | <i>Medium</i> |
| 3 | SR3 | <i>Filamentous</i> | Putih | <i>Flat</i> | <i>Medium</i> |
| 4 | SR4 | <i>Round</i> | Putih | <i>Undulate</i> | <i>Medium</i> |
| 7 | KR1 | <i>Circular</i> | Putih | <i>Smooth Raised Center</i> | <i>Small</i> |
| 8 | KR2 | <i>Complex</i> | Putih | <i>Branding</i> | <i>Medium</i> |
| 9 | KR3 | <i>Round</i> | Putih | <i>Undulate</i> | <i>Medium</i> |
| 10 | KR4 | <i>Round</i> | Putih | <i>Flat</i> | <i>Medium</i> |
| 11 | KR5 | <i>Filamentous</i> | Putih | <i>Raised</i> | <i>Big</i> |
| 12 | KR6 | <i>Complex</i> | Putih | <i>Undulate</i> | <i>Medium</i> |
| 13 | TG1 | <i>Circular</i> | Putih | <i>Entire</i> | <i>Medium</i> |
| 14 | TG2 | <i>Irregular</i> | Putih | <i>Lobate</i> | <i>Big</i> |
| 15 | TG3 | <i>Round w raised</i> | Putih | <i>Entire</i> | <i>Medium</i> |
| 16 | TG4 | <i>Round</i> | Putih | <i>Smooth</i> | <i>Small</i> |
| 17 | TG5 | <i>Filamentous</i> | Putih | <i>Lobate and filament</i> | <i>Big</i> |
| 18 | TG6 | <i>Filamentous</i> | Putih | <i>Umbunate</i> | <i>Medium</i> |
| 19 | PA1 | <i>Concentric</i> | Putih | <i>Curled</i> | <i>Small</i> |
| 20 | PA2 | <i>Round</i> | Putih | <i>Smooth</i> | <i>Medium</i> |
| 21 | PA3 | <i>Round w radating</i> | Putih | <i>Semi Transparent Margin</i> | <i>Medium</i> |
| 22 | PA4 | <i>Concentric</i> | Putih | <i>Undulate</i> | <i>Medium</i> |
| 23 | PA5 | <i>Circular</i> | Putih | <i>Smooth</i> | <i>Medium</i> |
| 24 | PA6 | <i>Filamentous</i> | Putih | <i>Lobate</i> | <i>Medium</i> |
| 25 | PA7 | <i>Rhizoid</i> | Putih | <i>Flat</i> | <i>Medium</i> |
| 26 | PA8 | <i>Round w scoloped</i> | Putih | <i>Undulate</i> | <i>Medium</i> |

Keterangan: SR: Srowot, KR (Karangrao), TG (Tanggeran), PA (Pagalarang)



Gambar 1. Laju pertumbuhan empat koloni bakteri dominan dalam media NB tanpa pestisida. a. sampel SR2, b. sampel KR1, c. sampel TG4, d. sampel PA1.



Gambar 2. Laju pertumbuhan bakteri SR2 pada media NB dengan beragam konsentrasi buprofezin.

Laju Pertumbuhan Bakteri Pada Media Tanpa Pestisida

Berdasarkan laju pertumbuhan yang disajikan pada Gambar 1, koloni bakteri dominan asal Desa Srowot (SR2) dan Tangerang (TG4) menunjukkan grafik terbaik di antara keempat koloni yang

diamati. Hal tersebut dapat dilihat dari adanya fase-fase laju pertumbuhan yang umum dimiliki bakteri seperti fase lag, logaritmik, stasioner, dan kematian. Koloni bakteri dominan dengan laju pertumbuhan terbaik dilakukan uji lanjutan pada media

yang mengandung pestisida berbahan aktif buprofezin.

Laju Pertumbuhan Bakteri Pada Media Mengandung Buprofezin

Hasil pengujian koloni bakteri terpilih, yaitu SR2 pada media NB mengandung buprofezin 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm disajikan pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, pertumbuhan bakteri mengalami tekanan ketika di dalam media mengandung pestisida berbahan aktif buprofezin. Bahkan pada konsentrasi buprofezin 10 dan 15 ppm, koloni bakteri diduga mengalami kematian. Buprofezin pada kadar tersebut bersifat racun bagi bakteri. Sementara itu, koloni bakteri yang ditumbuhkan pada buprofezin 5 ppm mampu tumbuh dengan pesat setelah mengalami fase adaptasi yang cukup lama sekitar 50 jam jika dibandingkan dengan koloni yang ditumbuhkan pada media tanpa buprofezin (0 ppm). Fase log koloni yang ditumbuhkan pada media dengan buprofezin 5 ppm menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan koloni yang ditumbuhkan pada media tanpa buprofezin (0 ppm). Hal ini diduga, koloni tersebut dapat menggunakan pestisida berbahan aktif buprofezin sebagai nutrisi tambahan bagi pertumbuhannya. Mudziwapasi et al. (2016) mengungkapkan bahwa bakteri dapat menggunakan pestisida sebagai sumber karbon.

KESIMPULAN

Empat koloni bakteri dominan, yaitu SR2, KR1, TG4, dan PA11 berhasil diisolasi dari 26 koloni yang tumbuh pada media NA mengandung buprofezin 2 ppm. Pengamatan laju pertumbuhan pada media NB tanpa pestisida menunjukkan koloni SR2 memiliki grafik pertumbuhan terbaik. Hasil pengujian koloni SR2 pada media NB mengandung pestisida berbahan aktif buprofezin menunjukkan koloni ini dapat beradaptasi dan tumbuh pada konsentrasi buprofezin 5 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada LPPM Universitas Jenderal Soedirman yang telah mendukung dengan dana sehingga penelitian ini dapat berjalan.

DAFTAR PUSTAKA

- Barragan-Huerta, B.E., C. Costa-Perez, J. Peralta-Cruz, J. Barrera-Corte, F. Esparza-Garcia and R. Rodriguez-Vazquez. 2007. Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(3): 239 – 244.
- Chen, K., L. Xiao-Mei, L. Rong, Y. Liu, H. Hu, S. Li, and J. Jiang. 2011. Isolation of a buprofezin co-metabolizing strain of *Pseudomonas* sp. DFS35-4 and identification of the buprofezin transformation pathway. *Biodegradation*, 22(6): 1135 – 1142.
- Husen, E. 2007. Pengambilan Contoh Tanah Untuk Analisis Mikroba. pp.

- 5–12. In: Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor.
- Jilani, S. and K.M. Altaf. 2004. Isolation, Characterization dan Growth Response of Pesticides Degrading Bacteria. *Journal of Biological Sciences*, 4(1): 15 – 20.
- Li, C., J. Zhang, Z.G. Wu, L. Cao, X. Yan and S.P. Li. 2012. Biodegradation of buprofezin by *Rhodococcus* sp. strain YL-1 isolated from rice field soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10): 2531 – 2537.
- Mudziwapasi, R., S.S. Mlambo, N.L. Chigu, P.K. Kuipa, and W.T. Sanyika. 2016. Isolation and molecular characterization of bacteria from the gut of *Eisenia fetida* for biodegradation of 4,4 DDT. *J App Biol Biotech.*, 4 (5): 41 – 47.
- Singh, B.K., R. C. Kuhad, A. Singh, R Lal and K.K. Tripathi. 1999. Biochemical and Molecular Basis of Pesticide Degradation by Microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 19(3): 197 – 225.
- Thabit, T. M. A. and M. A. H. EL-Naggar. 2013. Malathion degradation by soil isolated bacteria and detection of degradation products by GC-MS. *International Journal of Environmental Sciences*, 3(5): 1467 – 1476.
- Tufaila, M., S. Alam, dan S. Leomo. 2014. Strategi pengelolaan lahan marginal. ikhtiar mewujudkan pertanian yang berkelanjutan. Unhalu Press, Kendari.

