

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA PENDEGRADASI SENYAWA PERSISTEN ORGANIC POLLUTANS PADA TANAH ANDOSOL MAGELANG

### *Isolation and Identification of Degradation Microbial Persistent Organic Pollutan on Soil Andosol Magelang*

Indratin<sup>1</sup>, S. Wahyuni<sup>1</sup>, dan I. M. Sudiana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Peneliti Badan Litbang Pertanian di Balai Penelitian Lingkungan Pertanian. Pati.

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi LIPI Cibinong

E-mail:[indratin@litbang.deptan.go.id](mailto:indratin@litbang.deptan.go.id), [indratin.99@gmail.com](mailto:indratin.99@gmail.com)

**Abstract**-The development of the agricultural sector has resulted in the increase of the environmental pollution by chemicals, such as; persistent organochlorine contaminants, can undergo bioaccumulation in nature. Ramadhani and Oginawati (2009) stated that organochlorine compounds classified as *Persistent Organic Pollutants* (POPs) are chemical compounds that are persistent in the environment, can undergo bioaccumulation in the food chain, and has the risk of being the cause of many negative impacts on human health and the environment. In the agricultural area, there are microorganisms in the soil that act as decomposers of organic materials or use organic materials as food. This research was conducted at the Microbiology Laboratory of the Research Center for Biology LIPI Cibinong February 2012 to August 2012. Isolation and characterization of microbes degrading *Persistent Organic Pollutants* (POPs) performed at the Laboratory of Microbiology Research Center for Biology LIPI Cibinong by using three stages, (1) Isolation and identification of POPs degrading microbes, (2) test the growth characteristics of the isolates in the different types of POPs. The purpose of the study is to select the bacteria in the soil that could potentially degrade the insecticide residues that have the characteristics of POPs ( dieldrin , DDT , aldrin , heptaklor ) . The results of bacterial isolation study shows that there are five (5) types of bacteria which are able to degrade POPs ( dieldrin , DDT , aldrin , heptachlor ). Those bacteria are *Achoromobacter* sp, *Catenococcus thiocycli*, *Heliothrix oregonensis*, *Bacillus cereus* ,*Bacillus subtilis*.

**Keywords:** soil, isolation, POPs, degrading bacteria

#### PENDAHULUAN

Pestisida secara umum diartikan sebagai bahan kimia beracun yang digunakan untuk mengendalikan jasad hidup pengganggu tanaman. Penggunaan pestisida yang tidak terkontrol berakibat agroekologi pertanian dan kesehatan manusia sebagai konsumen menjadi terabaikan. Pengendalian hama sebelum tahun 1997 (program pengendalian hama terpadu, PHT) lebih banyak mengandalkan pestisida jenis organoklorin yang memiliki toksisitas tinggi dan persistensi lama dalam tanah sehingga berpotensi mencemari lingkungan. Pestisida yang digunakan untuk memberantas hama maupun herbisida yang digunakan untuk membersihkan gulma, sekarang sudah mengakibatkan banyak pencemaran. Hal ini disebabkan sifat pestisida yang sangat tahan terhadap peruraian secara alami (persisten). Contoh pestisida yang

persistensinya sangat lama adalah Dieldrin, Aldrin, DDT, heptaklor dan lain-lain. Walaupun sekarang telah banyak dikembangkan pestisida yang mudah terurai (*biodegradable*), tetapi kenyataannya masih banyak residu pestisida yang bersifat rekalsitran.

Perkembangan sektor pertanian telah mengakibatkan peningkatan pencemaran lingkungan oleh bahan kimia antara lain; cemaran organoklorin yang bersifat persisten, dapat terbioakumulasi di alam. Ramadhani dan Oginawati (2009) menyatakan organoklorin tergolong sebagai senyawa *Persistent Organic Pollutants* (POPs) yaitu senyawa kimia yang persisten di lingkungan, dapat mengalami bioakumulasi di rantai makanan, dan memiliki risiko menjadi penyebab banyak dampak negatif terhadap kesehatan manusia dan lingkungan. Di lingkungan pertanian terdapat



mikroorganisme dalam tanah yang berperan sebagai perombak bahan organik ataupun menggunakan bahan organik sebagai makanannya. Peran mikroba dalam mendegradasi cemaran senyawa POPs sangat penting, sehingga pestisida yang berada dalam tanah dapat menurun. Langkah lain untuk mengurangi pencemaran pestisida yaitu dengan pemberian pestisida seefektif mungkin. Namun demikian, pestisida dalam dosis rendah pun dapat menyebabkan terjadinya biomagnifikasi sehingga kandungan pestisida di lingkungan yang sangat rendah akan dapat terakumulasi melalui rantai makanan, sehingga dapat membahayakan kehidupan makhluk hidup termasuk manusia. Untuk mengatasi pencemaran tersebut, sekarang banyak dipelajari biodegradasi pestisida yaitu dengan menggunakan mikroba.

Tujuan penelitian adalah menyeleksi bakteri dalam tanah yang berpotensi mendegradasi residu insektisida yang bersifat POPs (dieldrin, aldrin, DDT dan heptaklor).

#### **METODE PENELITIAN**

Isolasi dan karakterisasi mikroba pendegradasi POPs dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong dengan tiga tahapan, yaitu (1) Isolasi dan identifikasi mikroba pendegradasi POPs, (2) Uji karakteristik pertumbuhan isolat pada berbagai jenis POPs, dan (3) Penetapan residu insektisida POPs hasil kultur. Sebelum dilakukan isolasi mikroba, tanah sumber mikroba potensial pendegradasi POPs di tumbuhkan pada berbagai jenis media cair yaitu:

1. Media mineral + glukosa ( 1000:1; v/v) tanpa POPs
2. Media mineral + glukosa ( 1000:1; v/v) dengan 5 ppm POPs (aldrin, dieldrin, DDT dan heptaklor)

3. Media mineral + glukosa ( 1000:1; v/v) dengan 10 ppm POP

4. Media mineral tanpa POPs

5. Media mineral dengan 5 ppm POPs

6. Media mineral dengan 10 ppm POPs

#### **Isolasi dan Identifikasi Mikroba Pendegradasi POPs**

Contoh tanah sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril, kemudian dihomogenisasi dengan vortex  $\pm$  10 menit. Sampel diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung inkubasi berisi 5 ml medium mineral yang mengandung: 10 g NaNO<sub>3</sub>, 2,5 g NH<sub>4</sub>Cl, 2,6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7,4 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2 g CaCl<sub>2</sub>, 0,01 g CuSO<sub>4</sub>, 0,05 g Fe sitrat, 0,1 g EDTA, 10 ml larutan *trace element*. Selain itu juga dilakukan pula pada media enrichment *soil extract* yang mengandung: 10 g NaNO<sub>3</sub>, 2,5 g NH<sub>4</sub>Cl, 2,6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7,4 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2 g CaCl<sub>2</sub>, 0,01 g CuSO<sub>4</sub>, 0,05 g Fe sitrat, 0,1 g EDTA, 10 ml larutan *trace element* dan ekstrak tanah sebanyak 10 ml. Semua larutan disterilkan. Konsentrasi insektisida campuran dibuat sebagai berikut: 0, 5, dan 10 ppm insektisida POPs. Contoh diinkubasi di bioshaker dengan suhu ruang ( $\pm$  25<sup>0</sup> C) selama beberapa hari. Pertumbuhan mikroba diamati dengan menggunakan metode turbidimetri yang diukur pada panjang gelombang 600 nm. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan kekeruhan pada media. Percobaan isolasi pengkayaan pertama dilakukan dengan 3 perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali.

#### **Uji Karakteristik Pertumbuhan Isolat**

Kultur yang tumbuh pada pengkayaan tingkat pertama selanjutnya dipindahkan ke media yang mengandung 5-10 ppm pestisida POPs (aldrin, dieldrin, DDT dan heptaklor). Reaksi positif menunjukkan dengan perubahan kekeruhan pada media. Pengukuran aktivitas enzim hidrolisis dilakukan pada medium mineral + soil



extract (0,5,10 ppm) dan medium mineral + pestisida dengan konsentrasi 0, 5, 10, 20 ppm. Sebanyak 2 ml kultur dari masing-masing perlakuan ditambah dengan 15 ml 60 mM potassium phosphate buffer pH 7.6 dalam 50 ml konikal flask. Kemudian ditambah dengan 0,2 ml 1000 ppm FDA dan blanko yang digunakan adalah akuades. Konikal flask selanjutnya ditutup dan diinkubasi dalam Orbital Incubator, 100 rpm pada suhu 30°C selama 20 menit. Setelah 20 menit reaksi dihentikan dengan penambahan 15 ml kloroform/methanol (2:1 v/v), flask dikocok, dan larutan dipindahkan kedalam 50 ml tabung

sentrifus. Larutan tersebut disentrifus pada kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Supernatan larutan difilter dengan whatman paper No. 2, dan filtrat diukur pada panjang gelombang 490 nm. Konsentrasi fluorecein yang dilepaskan selama 20 menit, dihitung dengan kurva kalibrasi (0-5 ppm).

Kultur yang tumbuh pada pengayaan tingkat pertama selanjutnya ditransfer ke media yang mengandung 20 ppm pestisida POPs. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan kekeruhan pada media. Media yang dipakai untuk isolasi dan karakteristik biakan disajikan pada tabel 1.

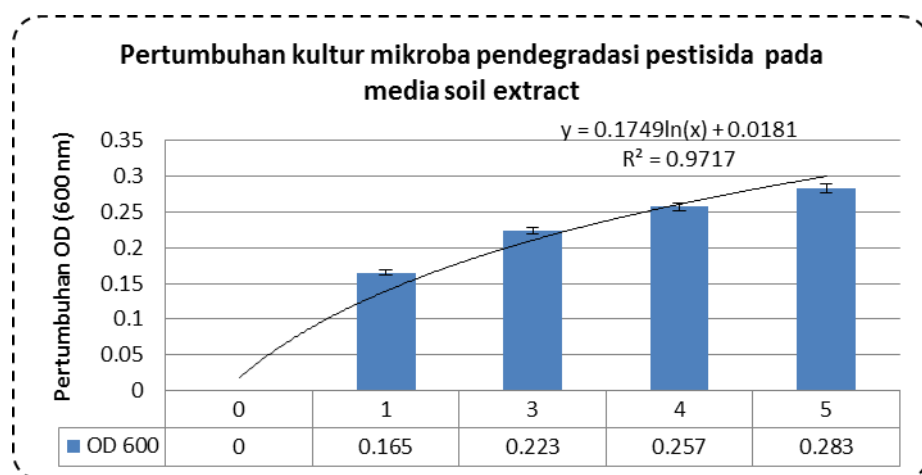
Tabel 1. Daftar media yang digunakan untuk isolasi dan karakterisasi biak

Media yang digunakan	Isolat yang diuji	Organoklorin yang diuji
NMS	Str 1, Str2, Str3, Str4, Str5	DDT, Dieldrin, Aldrin, Heptaklor
Soil extract + NMS	Mikrobial konsortia	DDT, Dieldrin, Aldrin, Heptaklor
NMS + 0.1 % glukosa + 0.05% yeast ekstrak	Str1	DDT, Dieldrin, Aldrin, Heptaklor
NMS + 0.05 % yeast extract	Str1	DDT, Dieldrin, Aldrin, Heptaklor

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri pendegradasi pestisida yang berasal dari lahan sayuran Magelang yang tercemar insektisida POPs diisolasi dengan menggunakan medium *minimal*.

Pertumbuhan kultur mikroba pendegradasi pestisida pada media soil extract disajikan dalam Gambar 1. Gambar ini menunjukkan pertumbuhan mikroba yang linier dari hari pertama hingga hari ke-5.

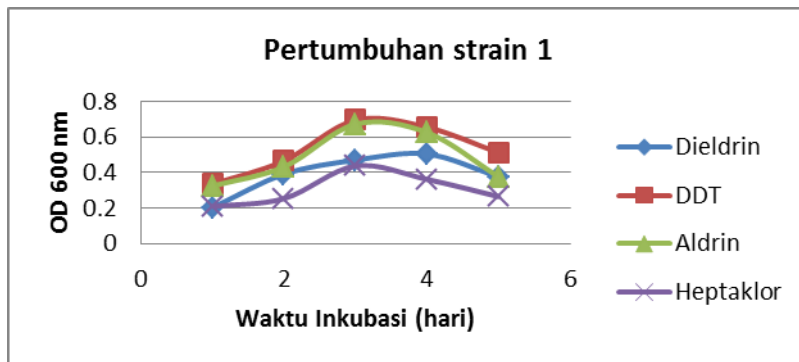


Gambar 1. Pertumbuhan mikroba konsortia pada media yang mengandung organoklorin dieldrin, DDT, aldrin dan heptachlor dengan konsentrasi 20 ppm.

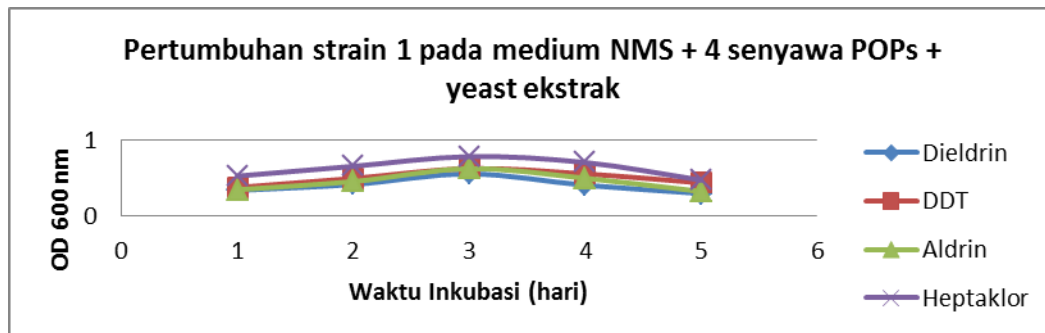
### Pertumbuhan Strain 1

Gambar 2 menunjukkan strain yang potensial mendegradasi POPs. Strain ini mampu menggunakan 4 senyawa POPs (dieldrin, DDT, aldrin, dan heptaklor) sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Kecepatan pertumbuhan

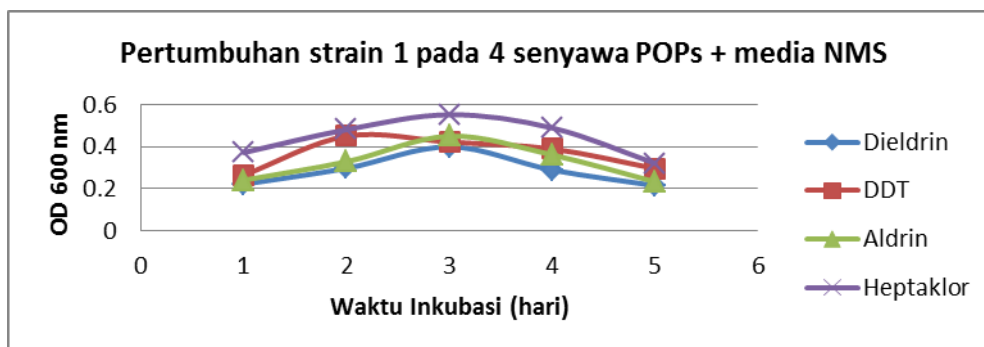
optimum tercapai dalam jangka waktu 3 hari (72 jam) yaitu mampu mendegradasi DDT, dan aldrin. Strain ini juga mampu mendegradasi heptaklor dan dieldrin tetapi laju degradasinya lebih lambat dibandingkan dengan DDT dan aldrin. Pertumbuhan strain 1 dapat dilihat pada gambar 2.



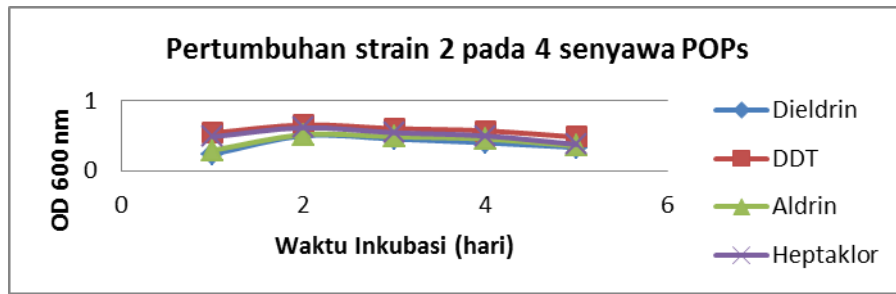
Gambar 2. Pertumbuhan strain 1 pada media yang mengandung senyawa POPs dieldrin, DDT, aldrin, dan heptaklor dengan konsentrasi 20 ppm



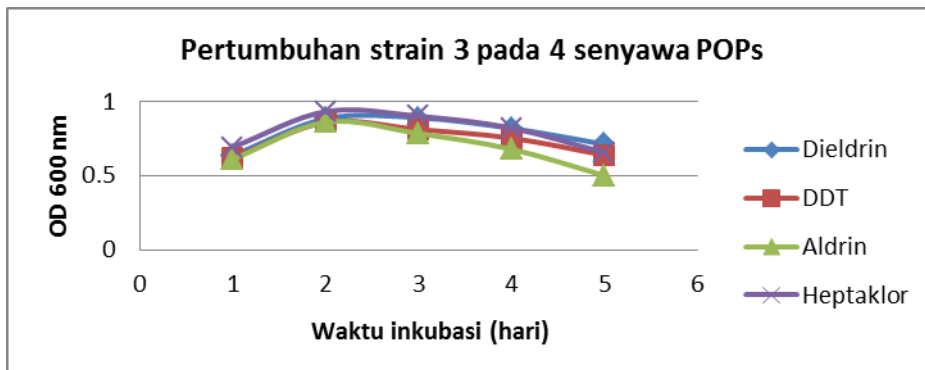
Gambar 3. Pertumbuhan strain 1 pada media NMS + yeast ekstrak yang mengandung organoklorin dieldrin, aldrin, DDT, heptachlor dengan total konsentrasi 20 ppm



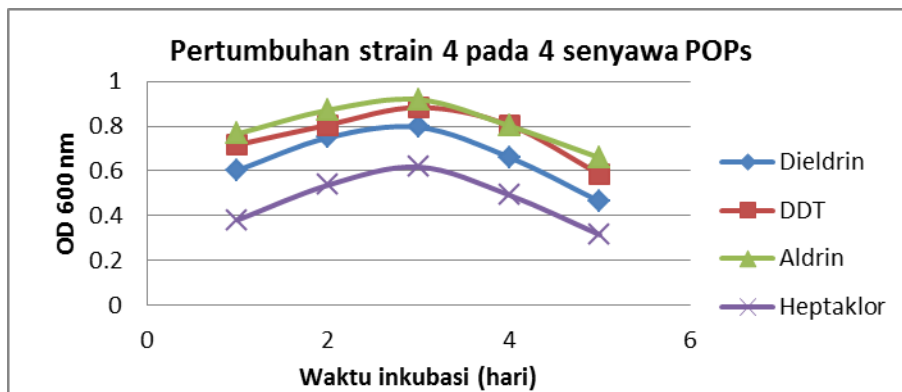
Gambar 4. Pertumbuhan strain 1 pada media NMS yang mengandung organoklorin dieldrin, aldrin, DDT, dan heptachlor dengan konsentrasi 20 ppm



Gambar 5. Pertumbuhan strain 2 pada media yang mengandung organoklorin dieldrin, DDT, aldrin dan heptachlor dengan total konsentrasi 20 ppm



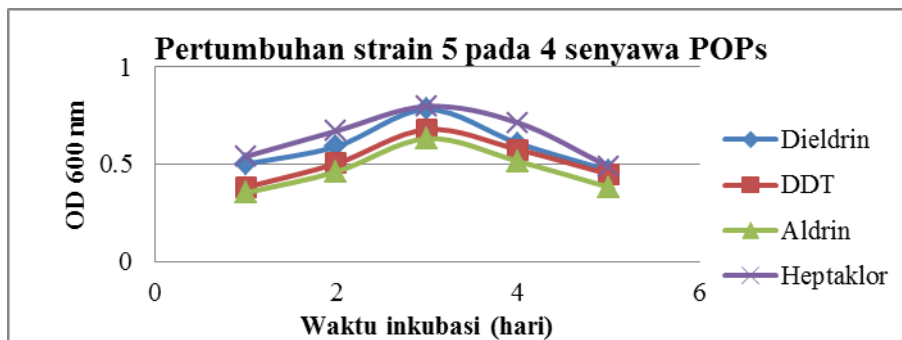
Gambar 6. Pertumbuhan strain 3 pada media yang mengandung organoklorin dieldrin, eldrin, DDT, heptachlor dan deltametrin dengan total konsentrasi 20 ppm



Gambar 7. Pertumbuhan strain 4 pada media yang mengandung organoklorin dieldrin, aldrin, DDT, dan heptaklor dengan konsentrasi 20 ppm

Gambar 8 menunjukkan strain 5 mampu tumbuh dengan cepat dan mampu menggunakan heptaklor, dieldrin, DDT, dan aldrin untuk pertumbuhannya. Strain 5 ini paling cepat mendegradasi heptaklor dan dieldrin. Heptaklor digunakan cepat setelah 48 jam inkubasi, sedangkan Lindan

digunakan setelah 72 jam inkubasi. Dapat menggunakan dieldrin akan tetapi DDT toksik terhadap strain ini. Tidak seperti halnya strain Bob1 dan Bob 2, strain mampu tumbuh cepat pada glukosa, akan tetapi Heptaklor dapat digunakan setelah 7 hari waktuinkubasi.



Gambar 8. Pertumbuhan strain 5 pada media yang mengandung organoklorin dieldrin, aldrin, DDT, heptaklor dan dengan konsentrasi 20 ppm

### Jenis mikroba yang terdeteksi di tanah untuk media sayuran

St1 <i>Catenococcus thiocyli</i>	St2 <i>Heliobacterium oregonensis</i>	St3 <i>Bacillus subtilis</i>	St4 <i>Achromobacter</i> sp	St5 <i>Bacillus cereus</i>

Gambar 9. Morfologi dari Strain1, Strain2, Strain3, Strain4 dan Strain5 Mikroba Pendegradasi 4 senyawa POPs. Sumber: S.Wahyuni, 2012.

### KESIMPULAN

Hasil penelitian isolasi bakteri tanah andosol asal Magelang, terdapat 5 (lima) jenis bakteri yang mampu mendegradasi senyawa POPs (dieldrin, DDT, aldrin, heptaklor) yaitu *Achromobacter* sp, *Catenococcus thiocyli*, *Heliobacterium oregonensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Selamat Rianto, Sarwoto, Aji M. Tohir, Cahyadi yang telah membantu pelaksanaan penelitian hingga selesai, teman-teman analis di laboratorium Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong dan teman peneliti yang telah

bekerjasama dalam melaksanakan penelitian hingga terselesainya tulisan ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ogawa, M, 1994, Symbiosis of people and nature in the tropics: Tropical agriculture using charcoal, *Farming Japan*, 28(5) : 21-30.
- Ohsawa, K, S, Hartati, S, Nugrahati, H, Sastrohamidjoyo, K, Untung, N, Arya, K, Sumiartha dan S, Kuwatsuka, 1985, Residue analysis of organochlorin and organophosphorus pesticides in soil, water and vegetables from central Java and Bali, *ecol./impact of IPM in Indoensia*, P, 59-70.
- PPI Deptan, 2006, Pestisida Terdaftar (Pertanian dan Kehutanan), Pusat Perijinan dan Investasi, Departemen Pertanian.
- Soerjani, M. 1990. Trend of Pesticide Use in Indonesia and Asia Countries with



Negative Impact to the Sustainable Agriculture and Enviromental Safe Agricon. pp 719-745.

- S. Wahyuni, A.N. Ardiwinata, E.S. Harsanti, S.Y. Jatmiko, Poniman, Indratin, E.Sulaeman, A.Kurnia. 2012. Laporan akhir tahun Teknologi Arang Aktif yang diperkaya dengan Mikroba Pendegradasi Senyawa POPs di Lahan Padi dan Sayuran.

