

## RINGKASAN

Permasalahan pencemaran pestisida terhadap lingkungan terutama pada perairan danau Rawa Pening menjadi prioritas utama dan perlu mendapatkan perhatian yang seksama terutama oleh Stakeholder atau pihak yang berkepentingan, mengingat kekhawatiran sifat pestisida yang presisten dan dapat menyebabkan terjadinya bioakumulasi akibat paparan pestisida yang berlangsung dalam jangka waktu yang lama pada makhluk hidup dan biomagnifikasi pada rantai makanan pada suatu sistem ekologi, sehingga perlu dilakukan suatu penelitian terhadap kandungan residu pestisida *organophosphat* pada perairan danau rawa pening dan cara mengatasinya.

Teknologi Bioremediasi dengan memanfaatkan bakteri indigenous merupakan cara yang paling efisien, murah dan efektif dalam mengatasi permasalahan pencemaran pestisida *Malathion* dan *Profenofos* di danau Rawa Pening. Landasan Hukum Bioremediasi, berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia No.128 Tahun 2003, Mengenai Tata Cara Dan Persyaratan Teknis Dan Pengelolaan Limbah Secara Biologis (Bioremediasi) Dilakukan Dengan Menggunakan *Mikroorganisme Indigenous*. Oleh Karena itu perlu dilakukan eksplorasi terhadap bakteri yang indigenous yang memiliki kemampuan degradasi terhadap pestisida.

Berdasarkan hasil pra penelitian mengenai residu pestisida yang terkandung dalam air dan sedimen Rawa Pening maka diperoleh hasil yaitu residu pestisida tertinggi adalah residu pestisida *Organophosphat* golongan *Malathion*

dan *Profenofos*. Analisis residu pestisida dengan menggunakan metoda Gas Kromatografi dengan menggunakan sampel uji yang diambil dari air dan sedimen perairan Rawa Pening. Keberadaan residu pestisida di perairan Rawa Pening dimungkinkan akibat pemakaian pestisida yang tidak terkontrol yang berlangsung lama. Survei langsung di tempat kerja terhadap petani sekitar Rawa Pening mengenai pestisida yang dominan digunakan oleh petani sekitar Rawa Pening diperoleh hasil adalah pestisida dari *Profenofos* dengan merek dagang *Curacron* (Pra Penelitian, 2014).

Hal ini menjadikan dasar penelitian (base line) *Bioremediasi Pestisida Golongan Organophosphat (Malathion Dan Profenofos) Oleh Bakteri Indigen Terseleksi Darai Perairan Rawa Pening Kabupaten Semarang*.

Penelitian terbagai menjadi 2 tahap yaitu tahap pra penelitian dan penelitian utama, sebagai berikut :

1. Tahap pra penelitian.

Tujuan Pra Penelitian dimaksudkan untuk mengetahui gambaran umum kondisi awal Danau Rawa Pening, dan menjadi *baseline* penelitian utama. Pra penelitian dimulai dengan mengadakan survei sederhana dengan metode wawancara sederhana langsung terhadap petani penggarap ditempat saat petani bekerja di sawah dilanjutkan dengan pengambilan sampel air dan sedimen danau Rawa Pening secara acak dan dianalisa di laboratorium Terpadu Balai Penelitian Lingkungan Pertanian Pati Jawa tengah dengan metode *Gas Chromatography*

## 2. Tahap penelitian utama

- a. Penelitian meliputi tahap eksplorasi terhadap bakteri yang paling unggul dalam mendegradasi *Malathion* dan *Profenofos* dan uji kemampuan degradasi terhadap *Malathion* dan *Profenofos* secara kualitatif dan kuantitatif.
- b. Bakteri yang terseleksi kemudian diidentifikasi secara morfologi, biokimia dan biologi molekular. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang dan Bio Science Laboratories Jakarta

## Hasil Penelitian

### A. Pra Penelitian Sebagai Base line Penelitian Bioremediasi

#### 1. Hasil Survei Sederhana Petani Di Tempat Kerja

Hasil survey menunjukkan bahwa jenis pestisida *Organophosphat Profenofos* dengan merek dagang Curacron paling banyak dimanfaatkan oleh petani sekitar Rawa Pening (50 %), kemudian Karbamat (16%), Deltamethrin (8%), Iamdacloprid (6%), Fentoat (5%), Karbosulfan (5%), Carbofuran (5%) dan Lamda Sihalotrin (4%).

#### 2. Hasil Analisa Kandungan Residu Pestisida Pada Air dan Sedimen Rawa Pening

Berdasarkan hasil analisis terhadap air dan sedimen danau Rawa Pening sebagai berikut:

- a. Konsentrasi *Profenofos* pada air Rawa Pening berkisar antara  $0,0260 \text{ ppm}$  (titik sampling Sungai Galeh) –  $0,08 \text{ ppm}$  (pertemuan Sungai Tungtang dan Sungai Tambak Rejo)
- b. Konsentrasi *Profenofos* pada sedimen Rawa Pening berkisar antara  $0,12 \text{ ppm}$  (titik sampling pertemuan Sungai Tungtang dan Sungai Tambak rejo) –  $0,286 \text{ ppm}$  (titik sampling Sungai. Galeh)
- c. Konsentrasi *Malathion* pada air berkisar antara  $0,0366 \text{ ppm}$  (titik sampling pertemuan Sungai. Panjang dan Tarung) –  $0,0521 \text{ ppm}$  (titik sampling pertemuan Sungai Tungtang Dan Sungai Tambak Rejo)
- d. Konsentrasi *Malathion* pada sedimen berkisar  $0,0567 \text{ ppm}$  (titik sampling pertemuan Sungai. Tarung, Sungai Rengas dan Sungai Panjang) –  $0,12 \text{ ppm}$ . (titik sampling Sungai Galeh)

Menurut Permenkes RI No. 416/Menkes/Per/IX/1990 dan PP. No. 20 Tahun 1990, Standar ambang batas residu pestisida di perairan adalah  $0.1 \text{ mg/L}$ .

Kondisi tersebut menunjukan bahwa terjadi proses degradasi *Malathion* dan *Profenofos* yang berlangsung cukup lama dan menunjukan bahwa kondisi air dan sedimen Rawa Pening sudah tercemar pestisida golongan *Organophosphat* jenis *Malathion* dan *Profenofos*.

#### B. Penelitian Utama Bioremediasi Pestisida

Penelitian utama bertujuan mendapatkan bakteri pendegradasi pestisida *Malathion* dan *Profenofos* terbaik dan analisis terhadap kemampuan bakteri terbaik dalam mendegradasi pestisida *Malathion* dan *Profenofos* secara kualitatif dan kuantitatif.

1. Uji Kualitatif Bakteri Indigenus Terseleksi Pendegradasi *Malathion* dan *Profenofos*

Pada uji kualitatif tahap awal diperoleh 117 bakteri yang dapat tumbuh pada media padat zobell yang kemudian diseleksi kembali dengan menumbuhkan bakteri pada media zobell padat yang telah di modifikasi dengan menghilangkan kandungan yeast ekstrak dan glukosa sebagai sumber energi bakteri dengan *Malathion* dan *Profenofos* pengganti sumber energi. Media yang telah di modifikasi ditambahkan bromtymol blue sebagai indikator untuk mengetahui terjadinya degradasi *Malathion* dan *Profenofos* . Hasil isolasi dilanjutkan dengan menumbuhkan bakteri pada media padat zobell. Bakteri yang memiliki kemampuan degradasi ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada media padat zobell. Warna kuning baru nampak setelah inkubasi selama 7 sampai 14 hari.

Tahap Uji degradasi dilanjutkan dengan menumbuhkan bakteri terseleksi pada media cair zobel dengan masa inkubasi 3 hari dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm 75 ppm dan 100 ppm. Hasil seleksi diperoleh 8 bakteri mampu mendegradasi *Malathion* sampai konsentrasi 75 ppm yaitu dengan kode bakteri TRA-7, TRA-5, TRA-6, RPL-1, RPL2, RPL-3, RPL-5 dan RPL-6 sedangkan pada *Profenofos* adalah bakteri dengan kode TBRA-6, GLL-1, TRA-5, TRA-6, RPL-1, RPL-3, RPL-5 dan RPA-1

2. Uji Kuantitatif Bakteri *Indigenus* Terseleksi Pendegradasi *Malathion* dan *Profenofos*

Bakteri terbaik hasil uji kualitatif selanjutnya di uji secara kuantitatif dengan membandingkan kemampuan degradasi antara bakteri yang terseleksi menggunakan metode *spectrofotometry* berdasarkan nilai absorbansi bakteri uji dengan panjang gelombang tertentu. Hasil scanning terhadap *Malathion* adalah  $\lambda = 400$  nm dan *Profenofos*  $\lambda = 730$  nm. Menurut Venugopal *et al* (2011) bahwa panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer untuk *Malathion* adalah 760 nm sedangkan menurut Ramika *et al* (2012) menyatakan bahwa panjang gelombang yang digunakan untuk uji degradasi senyawa *Profenofos* (Curacron 500 EC) adalah 365 nm.

Uji kuantitatif dimulai dengan pembuatan kurva standar yang berfungsi untuk mengetahui konversi absorban terhadap konsentrasi larutan *Malathion* dan *Profenofos*. Kurva standar untuk *Profenofos* dengan persamaan linier  $Y = 0.0042 X + 0.021$   $R^2$  (koefisien relatif) = 0.994 dan kurva standar untuk *Malathion* dengan persamaan linier  $Y = 0.002 X + 0.008$  Dengan  $R^2$  (koefisien relatif) = 0.992. Persamaan tersebut akan digunakan pada perhitungan selama uji kualitatif

- a. Berdasarkan kemampuan degradasi bakteri uji pada substrat *Profenofos* maka diperoleh hasil 3 bakteri terbaik dengan kode TRA-5 (kemampuan degradasi 58.13%), RPL-1 (kemampuan degradasi 43%) dan RPL-5 (kemampuan degradasi 38.44%)

- b. Berdasarkan kemampuan degradasi bakteri uji pada substrat *Profenofos* maka diperoleh hasil 3 bakteri terbaik adalah bakteri dengan kode RPL-5 dengan kemampuan degradasi 40.99%, TRA-5 dengan kemampuan degradasi 40,37% dan RPL-1 dengan kemampuan degradasi 20,50%

Uji selanjutnya adalah uji siregisme antara bakteri terseleksi untuk mendapatkan bakteri konsorsium terbaik

### 3. Uji Sinergisme bakteri terseleksi dan Penentuan *Inokulum* Terbaik Sebagai *Starter* Awal

Uji sinergisme bertujuan untuk mendapatkan bakteri konsorsium, yang selajutnnya akan diuji secara kuantitatif untuk mendapatkan bakteri konsorsium yang paling unggul dalam medegradasi *Malathion* dan *Profenofos*. Bakteri konsorsium yang terbaik akan dibandingkan dengan bakteri tunggal sehingga dapat diketahui kemampuan degradasi bakteri yang paling unggul.

Hasil uji sinergisme/antagonisme antar bakteri terseleksi dapat diketahui dengan mengamati zona hambat antara bakteri uji,jika terjadi zona hambat maka bakteri tersebut dapat dilakukan konsorsium. Hasil uji sinergisme diakukan pada media padat zobell adalah sebagai berikut :

- a. Uji sinergisme bakteri RPL-5 dan RPL-1 menunjukkan tidak terdapat zona hambat
- b. Uji sinergisme bakteri RPL-5 dan TRA-5 menunjukkan tidak terdapat zona hambat

- c. Uji sinergisme bakteri RPL-1 dan TRA-5 menunjukkan tidak terdapat zona hambat
- d. Uji sinergisme RPL-1, RPL-5 dan TRA-5 menunjukkan tidak terdapat zona hambat

Dari hasil uji terhadap tiga isolate bakteri terseleksi yaitu RPL-5, TRA-5 dan RPL-1 tidak terlihat zona hambat oleh karena itu bakteri uji dapat dilakukan uji konsorsium bakteri (Retnaningdyah, 2009)

Konsentrasi optimum *inokulum* bakteri pada starter awal proses biodegradasi pestisida (*Malathion* dan *Profenofos*) sangat menentukan biodegradasi optimum bakteri uji karena itu diperlukan pengujian berapa jumlah konsentrasi optimum sebagai *starter culture* yang akan diinokulasikan pada awal proses bioremediasi. Pengujian untuk mendapatkan starter awal terbaik dilakukan pada konsentrasi bakteri uji 1 %, 2%, 3%, 4% dan 5%. Hasil uji menunjukkan bahwa starter awal yang paling optimum adalah 3%. Penelitian selanjutnya menggunakan *inokulum starter* awal 3 %.

#### 4. Uji Kuantitatif Perbandingan Efektivitas Bakteri Terbaik (Isolat Tunggal)

Dengan Bakteri Dalam Konsorsium Pendegradasi *Malathion* Dan *Profenofos*

Untuk mengetahui kemampuan degradasi bakteri konsorsium maka dilakukan uji secara kuantitatif, antara bakteri baik bakteri pada isolat tunggal maupun bakteri konsorsium, yang bertujuan untuk seleksi bakteri terbaik. Hasil uji menunjukkan bahwa:

- a. Bakteri konsorsium RPL-1 dan RPL-5 memiliki efektifitas terbaik dengan kemampuan degradasi sebesar 83,23% pada substrat *Malathion*



- b. Bakteri konsorsium RPL-5 dan TRA-5 memiliki efektifitas terbaik dengan kemampuan degradasi sebesar 68.75 % pada substrat *Profenofos*

### C. Tahap Aplikasi Laboratorium

Tahap aplikasi dilakukan di laboratorium secara non steril sehingga diharapkan mendekati kondisi Danau Rawa Pening. Penelitian dilakukan dengan metode *spectrofotometry* dan *Gas Chromatography Mass Spectrofotometry*, hal ini untuk komparasi dan validitas mengenai kemampuan bakteri terbaik dalam mendegradasi *Malathion* dan *Profenofos* secara aplikasi (non steril)

Penelitian menunjukkan bahwa bakteri konsorsium RPL-1 dan RPL-5 memiliki kemampuan degradasi terbaik pada *Malathion* dengan metode *spektrofotometry* maupun metode GC MS, demikian pula dengan bakteri konsorsium RPL-5 dan TRA-5 memiliki kemampuan degradasi terbaik pada *Profenofos* baik dengan menggunakan metode *spektrofotometry* maupun metode GC MS

### D. Identifikasi Bakteri Terseleksi

#### 1. Uji Morfologi dan Biokimia

Identifikasi bakteri uji dilakukan secara morfologi dan biokimia untuk mengetahui *skrining* awal dan sifat morfologi dan biokimia bakteri uji.

Gambar dibawah ini menunjukkan uji morfologi dan uji biokimia

#### 2. Uji Biologi Molekuler

- a. Tingkat similaritas identitas maksimum 87% RPL-1 adalah *Oceanobacillus iheyensis* dan berdasarkan analisis pohon filogenetik,

bakteri isolat RPL-1 memiliki hubungan kekerabatan terdekat dengan *Oceanobacillus iheyensis*

- b. Tingkat similaritas identitas maksimum bakteri uji dengan kode RPL-5 adalah 99% bakteri *Exiguobacterium profundum* dan berdasarkan analisis pohon filogenetik, bakteri isolat RPL-5 memiliki hubungan kekerabatan terdekat dengan bakteri *Exiguobacterium profundum*
- c. Tingkat identitas maksimum 98 % TRA-5 adalah *Bacillus firmus*, berdasarkan analisis pohon filogenetik, bakteri isolat TRA-5 memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Bacillus firmus*

Bakteri yang teridentifikasi sudah teregister pada :*DNA Data Bank of Japan. DDBJ Center. National Institute of Genetics. Research Organization of Information and Systems, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan Dengan accession number : Entry Name Accession Number RP-L-1 LC019790, RP-L-5 LC019791 dan TR-A-5 LC019792*

Berdasarkan hasil penelitian maka telah ditemukan strain bakteri baru dan konsorsiumnya yang terbukti memiliki kemampuan degradasi terbaik pada Pestisida *Malathion* dan Pestisida *Profenofos*. Bakteri tersebut terdapat di danau Rawa Pening, sehingga merupakan kekayaan hayati bagi Indonesia. Keberhasilan bakteri *Oceanobacillus iheyensis*, *Exiguobacterium profundum* dan *Bacillus firmus* dalam proses bioremediasi diharapkan dapat diterapkan pada bioremediasi pestisida *Malathion* dan *Profenofos* pada tempat, khusus yang lain dan dapat membantu mengatasi permasalahan pencemaran akibat pestisida (*Malathion* dan *Profenofos*)

## **SARAN**

Pada penelitian bioremediasi pestisida golongan *Organophosphat* (*Malathion* dan *Prefenofos*) oleh bakteri indigeneous dari perairan Rawa Pening diperlakukan kerja sama secara komprehensif yang melibatkan *stakeholder* terkait yaitu Badan Lingkungan Hidup, Kementerian Lingkungan Hidup, Pemerintahan Daerah Salatiga, Pemerintahan Daerah Kabupaten Semarang, Pemerintahan Daerah Provinsi Jawa Tengah dan Universitas Diponegoro dalam **hal uji coba aplikasi strain bakteri *Oceanobacillus iheyensis*, *Exiguabacterium profundus* dan *Bacillus formis* sebagai agen bioremediasi di Rawa Pening.**