

## Potensi fungi pelapuk putih asal lingkungan tropik untuk bioremediasi herbisida

*The potential white-rot fungi native of tropical environment for herbicides bioremediation*

Laksmi Prima SANTI<sup>1)</sup>, Lisdar Idwan SUDIRMAN<sup>2)</sup>,  
& Didiek Hadjar GOENADI<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor 16151, Indonesia

<sup>2)</sup>Fakultas MIPA, Jurusan Biologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

### Summary

*Fungal treatment by using white-rot fungi to reduce a wide variety of herbicide compounds is a specialized bioremediation process. A laboratory experiment was conducted to determine the ability of Phanerochaete chrysosporium, Ceriporiopsis subvermispora, and Pleurocybella porrigens and seven white-rot fungi isolated from a native of tropical environment to grow on yeast malt extract glucose (YMG) agar containing high concentration of (I) 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, (R) glyphosate, and (G) paraquat. The data indicated that P. chrysosporium could grow on YMG media containing 5000 ppm of (I) 2,4-D, whereas BPBPI 02/04 isolate on YMG 250 ppm of (R) glyphosate or (G) paraquat. Relative values of growth inhibition of these fungi are 81.1; 27.8; and 50.0% respectively. Biodegradation capability of herbicides by candidate inoculants in soil-sand media was also determined in greenhouse experiment by using peanut, sorghum, corn, and Borreria alata as bio-indicators. Peanut and B. alata were found to be the best responsive seedlings as bio-indicator on the presence of (I) 2,4-D herbicide in soil-sand media.*

**Keywords:** Herbicide, white-rot fungi, bioremediation]

### Ringkasan

Teknologi bioremediasi dengan fungi pelapuk putih (FPP) digunakan untuk mereduksi sejumlah senyawa herbisida. Kegiatan penelitian yang dilakukan di laboratorium bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporiopsis subvermispora*, dan *Pleurocybella porrigens* serta tujuh isolat FPP yang diperoleh dari lingkungan tropik secara *in vitro* pada medium agar *yeast malt extract glucose* (YMG) yang mengandung (I) 2,4-diklorofenoksi asam asetat, (R) glifosat, dan (G) parakuat konsentrasi tinggi. Dari data yang diperoleh, diketahui bahwa *Ph. chrysosporium* memiliki kemampuan tumbuh dalam medium padat YMG yang mengandung 5000 ppm (I) 2,4-D dan isolat BPBPI 02/04 pada 250 ppm (R) glifosat dan (G) parakuat dengan nilai hambatan pertumbuhan relatif terhadap kontrol (HPR) masing-masing 81,1; 27,8; dan 50,0%. Pengujian isolat terpilih terhadap kemampuan mendegradasi herbisida di dalam medium tanah dan pasir juga dilakukan di rumah kaca dengan menggunakan kacang tanah, sorgum, jagung, dan *Boreria alata* sebagai bioindikator. Kacang tanah dan *B. alata* memberikan respon terbaik terhadap keberadaan herbisida (I) 2,4-D di dalam medium tanah dan pasir.

[

## Pendahuluan

Fungi pelapuk putih (FPP) dapat digunakan sebagai agen hayati bioremediasi dalam berbagai tingkat kontaminasi. FPP dapat mendekontaminasi polutan tunggal maupun campuran karena menghasilkan enzim ekstraselular oksidatif, seperti lakase dan peroksidase yang dapat menginisiasi penyerangan senyawa polimer aromatik kompleks.

Sebagian besar penelitian bioremediasi difokuskan pada spesies fungi tertentu yaitu *Phanerochaete chrysosporium*, *Ph.sordida*, *Pleurotus ostreatus*, *Phellinus weirii* dan *Polyporus versicolor*. Fungi-fungi tersebut dapat menguraikan sejumlah senyawa xenobiotik seperti hidrokarbon aromatik (benzo  $\alpha$ -piren, penatren, piren), organik klor (insektisida alkil halida, kloroanilin, DDT, pentaklorofenol, triklorofenol, poliklorinasi bifenil, asam asetat triklorofenol), nitrogen aromatik [2,4-dinitrotoluena, 2,4,6-trinitrotoluena (TNT)] dan beberapa senyawa pewarna (Kullman & Matsumura, 1996; Lestan & Lamar, 1996; Duran *et al.*, 2002). Namun demikian, informasi mengenai kemampuan FPP dalam mendegradasi senyawa herbisida berbahan aktif 2,4-D, glifosat, dan parakuat yang banyak digunakan di lahan pertanian dan perkebunan di Indonesia masih sangat terbatas (Michel *et al.*, 1995; Castillo, 2000; Vadali, 2001; Haney *et al.*, 2002).

Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan isolat FPP yang diisolasi dari lingkungan tropik dalam mendegradasi senyawa herbisida berbahan aktif 2,4-D, glifosat, dan parakuat dalam medium agar yang kemudian dilanjutkan dengan pengujian di rumah kaca dengan menggunakan medium tanah-pasir dan tanaman indikator (bioindikator). Keefektifan FPP

sebagai agen hayati bioremediasi tanah yang tercemar dapat diketahui bila bioindikator dapat tumbuh normal dalam medium tanam yang mengandung herbisida.

## Bahan dan Metode

### *Mikroorganisme*

FPP yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian ini yaitu *Ph. chrysosporium* (ATCC34541), *C. subvermispora* (CBS 34763), dan *P. porrigens*. FPP acuan dipelihara dalam agar miring *Yeast Malt extract Glucose* (YMG) dengan komposisi 4 g ekstrak khamir, 10 g malt ekstrak, 4 g glukosa, dan 2% agar bakteriologi dan satu liter akuades. Ketiga FPP tersebut merupakan koleksi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor.

### *Bahan herbisida dan tanaman indikator*

Herbisida yang digunakan untuk kegiatan penelitian meliputi: (i) 2,4-D (Indamin 720 HC, Indagro, Inc.), (ii) glifosat (Roundup, Monagro Kimia), dan (iii) parakuat (Gramoxone, Zeneca). Selanjutnya masing-masing ditulis (I) 2,4-D; (R) glifosat, dan (G) parakuat. Tanaman indikator yang digunakan terdiri dari kacang tanah, sorgum, jagung dan *Boreria alata*. Kriteria pemilihan tanaman ini didasarkan kelompok tanaman target yang sesuai dengan yang tercantum pada label kemasan tiap produk herbisida uji serta tanaman tersebut mudah dalam pemeliharaan di rumah kaca. Benih kacang tanah var. Turangga dan sorgum (UpCa.S1) diperoleh dari Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik

Pertanian, Cimanggu, Bogor. Sedangkan benih jagung manis diperoleh dari toko Mitra Tani, Bogor, dan *B. alata* dari KP Ciomas.

#### *Pengambilan spesimen fungi pelapuk kayu*

Pengambilan spesimen dilakukan di Kebun Teh Malabar (Jawa Barat), Kebun Percobaan Ciomas, dan Lapangan Golf Gunung Geulis, Bogor. Teknik isolasi berdasarkan pada metode yang dikemukakan oleh Ainsworth (1995). Isolat murni yang diperoleh selanjutnya dipelihara dalam medium agar miring YMG untuk dilakukan pengujian lebih lanjut berupa uji Bavendamm (*Bavendamm Test*). Untuk keperluan pengujian ini digunakan medium PDA yang ditambah dengan 0,1% asam galat (Nishida *et al.*, 1988). Uji Bavendamm dilakukan untuk mengetahui kemampuan FPP yang diperoleh dalam menghasilkan enzim ekstraselular oksidase. Kemampuan tersebut digunakan untuk membedakan antara FPP dengan fungi pelapuk cokelat. Bila terbentuk warna cokelat pada permukaan agar maka mengindikasikan adanya aktivitas fenol oksidase yang berarti aktivitas dari FPP (Rayner & Boddy, 1988).

#### *Pengaruh herbisida terhadap pertumbuhan FPP*

Pengujian pengaruh herbisida terhadap pertumbuhan FPP dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat FPP hasil isolasi dan tiga isolat acuan ke dalam medium padat YMG yang ditambah dengan masing-masing herbisida uji dengan konsentrasi sebagai berikut: (i) (I) 2,4-D: 100, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 3000, 3500, 4000

4500, dan 5000 ppm, (ii) (R) glifosat: 25, 50, 100, 150, dan 250 ppm, dan (iii) (G) parakuat: 10, 15, 25, 50, 75, 150, dan 250 ppm. Pengaruh herbisida uji terhadap pertumbuhan FPP dinyatakan dalam nilai (%) hambatan pertumbuhan relatif (HPR) terhadap kontrol (tanpa herbisida) yang dihitung dengan rumus:

$$\text{HPR} = \frac{\text{diameter koloni kontrol} - \text{diameter koloni perlakuan}}{\text{diameter koloni kontrol}} \times 100\%$$

Dalam uji ini, peubah yang diamati meliputi diameter koloni dan ambang batas konsentrasi penghambatan herbisida uji terhadap pertumbuhan FPP pada suhu ruang. Masa inkubasi ditetapkan berdasarkan pertumbuhan miselium sampai memenuhi cawan Petri pada perlakuan kontrol.

#### *Penetapan tanaman indikator (bio-indikator)*

Untuk keperluan uji keefektifan biodegradasi herbisida, sebanyak 2 kg tanah dan pasir dicampur dengan perbandingan 1:1 dan ditempatkan dalam ember volume 3 L. Medium ini selanjutnya diberi herbisida uji 1,0% (v/b) dengan konsentrasi dosis lapang atau kelipatannya masing-masing (I) 2,4-D dengan konsentrasi 144, 1440 (dosis lapang), atau 2880 ppm, (R) glifosat 250, 3.600 (dosis lapang), atau 7200 ppm, dan (G) parakuat 10, 40, 200 (dosis lapang), atau 1000 ppm (dosis lapang). Medium campuran tanah-pasir serta herbisida diinkubasi selama tujuh hari dan selanjutnya dilakukan penanaman benih tanaman uji yang telah terlebih dahulu dikecambahkan selama 2-3 hari. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali dengan satu ember medium berisi 10 kecambah. Sebagai pembanding diguna-

kan medium campuran tanah-pasir tanpa penambahan herbisida. Pengamatan pertumbuhan bibit meliputi tinggi (cm) dan daya tumbuh atau kemampuan tumbuh menjadi bibit yang bertunas atau tanaman hidup yang dinyatakan dalam persen (%) yang diukur pada hari ke-10 setelah tanam dengan rumus :

$$\text{Daya Tumbuh} = \frac{\text{Jumlah kecambah yang tumbuh}}{\text{Jumlah kecambah awal}} \times 100\%$$

Bibit yang memberikan respons terbaik terhadap perlakuan beberapa tingkat konsentrasi herbisida tersebut digunakan sebagai tanaman indikator untuk pengujian lebih lanjut.

#### *Uji keefektifan biodegradasi herbisida di dalam medium campuran tanah dan pasir*

Uji keefektifan biodegradasi herbisida dilakukan dengan memodifikasi metode yang dilakukan oleh Milosevic & Govedarica (2002). Kegiatan uji keefektifan ini dilakukan dengan menggunakan dua isolat potensial terseleksi secara bersama-sama. Penggunaan isolat secara bersama-sama untuk mendegradasi senyawa xenobiotik lebih efisien apabila dibandingkan dengan penggunaan isolat tunggal (Nakamura *et al.*, 2000; Bennet *et al.*, 2002; dan Murialdo *et al.*, 2003). Berdasarkan uji pendahuluan diketahui bahwa pertumbuhan dua isolat potensial yang ditumbuhkan secara bersama-sama dalam medium yang mengandung (I) 2,4-D akan menghasilkan berat kering miselium lebih besar apabila dibandingkan dengan isolat tunggal (data tidak dipublikasi).

Sebanyak enam cuplikan isolat berdiameter 8 mm dari dua isolat FPP terseleksi ditumbuhkan secara terpisah di

dalam 200 mL medium cair YMG selama tujuh hari di atas mesin pengocok dengan kecepatan 100 rpm pada temperatur ruang. Setelah akhir inkubasi, sebanyak 50 mL inokulum dari dua isolat FPP tersebut masing-masing diinokulasikan ke dalam 1000 g tandan kosong kelapa sawit (TKKS) yang telah disterilkan. Inkubasi terhadap FPP terseleksi yang ditumbuhkan pada TKKS sebagai bahan pembawa ini dilakukan selama 21 hari pada suhu ruang.

Untuk keperluan medium uji, disiapkan sebanyak 2 kg campuran tanah dan pasir (1:1) dalam ember volume tiga liter yang masing-masing diberi 1,0% (v/b) herbisida 1440 dan 2880 ppm (I) 2,4-D, kemudian dicampur secara merata dengan 2,5% (b/b) TKKS yang mengandung inokulum dua isolat FPP terseleksi. Selanjutnya medium campuran tanah, pasir, herbisida dan inokulum masing-masing diinkubasi selama 7, 14, dan 21 hari. Pada akhir inkubasi, benih tanaman terpilih yang telah berkecambah berumur 2-3 hari, ditanam dalam medium tersebut. Sebagai pembandingan digunakan medium campuran tanah dan pasir (kontrol) dan medium campuran tanah, pasir dan 1440 atau 2880 ppm (I) 2,4-D tetapi tanpa inokulum FPP. Peubah yang diamati meliputi tinggi dan daya tumbuh (%) pada hari ke-14 setelah tanam.

## **Hasil dan Pembahasan**

### *Pengambilan spesimen fungi pelapuk kayu*

Fungi pelapuk kayu yang diperoleh dalam penelitian ini berjumlah 15 spesimen (Tabel 1). Tujuh isolat di antaranya berhasil dimurnikan dan berdasarkan uji Bavendamm termasuk dalam kelompok FPP. Sebagian besar spesimen yang diperoleh memiliki tubuh buah yang keras dan diduga merupakan genus *Ganoderma*

Potensi fungi pelapuk putih asal lingkungan tropik ...

Tabel 1. Determinasi spesimen fungi pelapuk kayu yang diperoleh dari lingkungan tropik.  
 Table 1. Determination of wood decay fungus specimen from native tropical environment.

No.	Nomor akses <i>Accession number</i>	Nama spesimen/ciri tubuh buah <i>Name of specimen/ Characteristic of fruiting body</i>	Warna tubuh buah <i>Fruiting body color</i>	Tipe pelekatan pada substrat kayu <i>Attachment type on wood substrate</i>	Uji Bavendamm <i>Bavendamm test</i>
1	BPBPI 01/04	<i>Coprinus</i> sp	Putih-hitam <i>White-black</i>	<i>Eccentrically stipitate</i>	-
2	BPBPI 02/04	Lunak (Agaricales)	Putih-coklat <i>White- brown</i>	<i>Eccentrically stipitate</i>	+
3	BPBPI 03/04	<i>Mycena</i> sp	Putih <i>White</i>	<i>Eccentrically stipitate</i>	+
4	BPBPI 04/04	Lunak (Agaricales)	Putih <i>White</i>	<i>Eccentrically stipitate</i>	-
5	BPBPI 05/04	Keras (Polyporales)	Hijau-putih <i>Green-white</i>	<i>Dimidiate</i>	-
6	BPBPI 06/04	<i>Trametes versicolor</i>	Hijau <i>Green</i>	<i>Dimidiate</i>	+ <sup>*)</sup>
7	BPBPI 07/04	<i>Ganoderma</i> sp	Putih <i>White</i>	<i>Dimidiate</i>	+ <sup>*)</sup>
8	BPBPI 08/04	Keras (Polyporales)	Cokelat <i>Brown</i>	<i>Dimidiate</i>	+
9	BPBPI 09/04	Lunak (Agaricales)	Putih <i>White</i>	<i>Resupinate</i>	-
10	BPBPI 10/04	Keras (Polyporales)	Kuning <i>Yellow</i>	<i>Dimidiate</i>	-
11	BPBPI 11/04	<i>Phanerochaete</i> sp	Putih <i>White</i>	<i>Resupinate</i>	+
12	BPBPI 12/04	<i>Pycnoporus</i> sp	Orange <i>Orange</i>	<i>Fan-shape</i>	+
13	BPBPI 13/04	<i>Ganoderma</i> sp	Putih <i>White</i>	<i>Broadly attached</i>	+
14	BPBPI 14/04	<i>Ganoderma</i> sp	Cokelat <i>Brown</i>	<i>Fan-shape</i>	+ <sup>*)</sup>
15	BPBPI 15/04	Lunak (Agaricales)	Putih <i>White</i>	<i>Eccentrically stipitate</i>	+

<sup>\*)</sup> isolat belum berhasil dimurnikan (*The isolates have not yet been identified*)

(BPBPI 07/04, 13/04, dan 14/04), *Trametes versicolor* (BPBPI 06/04), dan *Pycnoporus* sp (BPBPI 12/04). Tiga spesimen yang memiliki tubuh buah keras lainnya (BPBPI 05/04, 08/04, dan

10/04) belum dapat diidentifikasi. Spesimen BPBPI 11/04 yang dimurnikan dalam medium PDA memiliki penampakan morfologi seperti *Ph. chryso-sporium*. Di lain pihak, dua spesimen

yang memiliki tubuh buah lunak diidentifikasi sebagai *Coprinus* sp (BPBPI 01/04) dan *Mycena* (BPBPI 03/04). Sedangkan empat spesimen bertubuh buah lunak lainnya (BPBPI 02/04, 04/04, 09/04, dan 15/04) belum dapat diidentifikasi

#### *Pengaruh herbisida terhadap pertumbuhan FPP*

Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa pertumbuhan miselium *Ph. chryso- sporium* lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan miselium dua isolat acuan lainnya maupun tujuh isolat uji yang diisolasi dari lingkungan tropik. Diameter koloni miselium *Ph. chryso- sporium* dapat mencapai 9 cm setelah inkubasi tiga hari pada suhu ruang. Sedangkan untuk mencapai diameter yang sama (9 cm), sembilan isolat uji lainnya memerlukan waktu inkubasi tujuh hari. *Ph. Chryso- sporium* baru mengalami hambatan pertumbuhan pada medium padat YMG yang mengandung 2000– 5000 ppm (I) 2,4-D dengan nilai HPR 46,7 sampai 81,1% (Gambar 1a). Di lain pihak, pertumbuhan *C. subvermispota* dan *P. porrigens* sudah terhambat penuh pada konsentrasi 2000 ppm (I) 2,4-D.

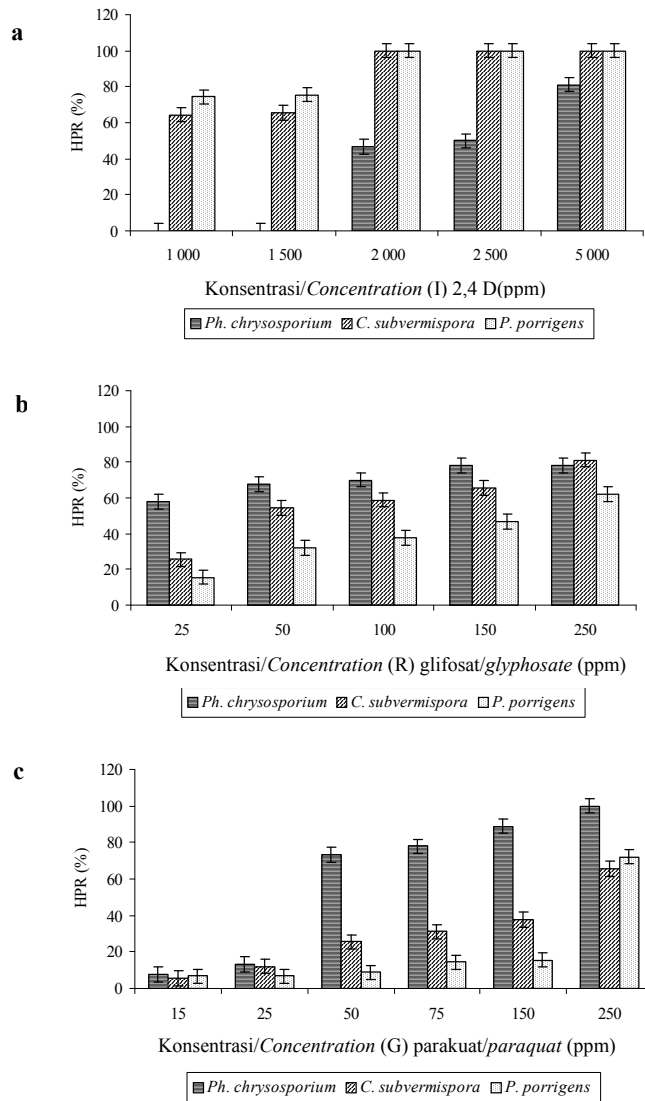
Pertumbuhan *Ph. chryso- sporium* dalam medium padat YMG yang mengandung 25 sampai 250 ppm (R) glifosat mengalami hambatan dengan nilai HPR berkisar antara 57,8 sampai 81,1%, sedangkan kedua isolat acuan lainnya memiliki nilai HPR 15,6 sampai 78,3% (Gambar 1b). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa apabila dibandingkan dengan *Ph. chryso- sporium* dan *C. subver- mispora*, maka *P. porrigens* memiliki kemampuan tumbuh terbaik dalam medium padat YMG yang mengandung

25 sampai 250 ppm (R) glifosat dengan nilai HPR 15,6 – 62,2%. Nilai HPR untuk pengujian pertumbuhan dalam medium YMG yang mengandung parakuat ditampilkan pada Gambar 1c. Pada konsentrasi 250 ppm (G) parakuat, nilai HPR dari masing-masing isolat acuan yaitu 65,6% (*C. subvermispota*), 100% (*Ph. chryso- sporium*), dan 72,2% (*P. porrigens*).

Di lain pihak, tujuh isolat FPP yang diperoleh dari tiga lokasi pengambilan spesimen memiliki kemampuan tumbuh yang cukup bervariasi di dalam medium padat YMG yang mengandung 2.500 ppm (I) 2,4-D, 250 ppm (R) glifosat, dan 250 ppm (G) parakuat dengan kisaran HPR masing-masing adalah 41,1 sampai 100% [(I) 2,4-D], 27,8 sampai 77,8% [(R) glifosat], dan 50,0 sampai 85,6% [(G) parakuat]. Ketiga konsentrasi herbisida tersebut di atas merupakan ambang batas konsentrasi maksimum yang masih memungkinkan untuk pertumbuhan tujuh spesimen FPP yang diperoleh dari lapang.

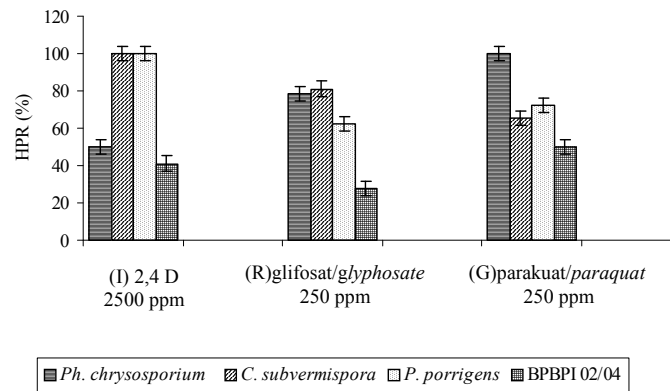
Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa isolat BPBPI 02/04 mampu tumbuh dalam medium padat YMG yang mengandung (R) glifosat dan (G) parakuat sampai tingkat konsentrasi 250 ppm dengan nilai HPR masing-masing sebesar 27,8 dan 50,0% (Gambar 2). Kemampuan tumbuh tersebut lebih baik apabila dibandingkan dengan kemampuan tumbuh tiga isolat acuan pada perlakuan yang sama. Pada medium padat YMG, isolat BPBPI 02/04 baru mengalami hambatan pada konsentrasi 100 ppm (R) glifosat dan 150 ppm (G) parakuat dengan nilai HPR masing-masing 5,8 dan 14,4%. Isolat BPBPI 02/04 dapat pula tumbuh di dalam medium YMG padat yang mengandung (I) 2,4-D sampai tingkat konsentrasi 2.500 ppm dengan nilai HPR 41,1%. Namun demikian pada

Potensi fungi pelapuk putih asal lingkungan tropik ...



Gambar 1. Nilai HPR *Ph. chrysosporium*, *C. subvermispora*, dan *P. porrigens* dalam medium padat YMG yang mengandung (I) 2,4-D (a), (R) glifosat (b), dan (G) paraquat (c).

Figure 1. Relative value of growth inhibition of *Ph. chrysosporium*, *C. subvermispora*, and *P. porrigens* in solid YMG media containing (I) 2,4-D (a), (R) glyphosate (b), and (G) paraquat (c).



Gambar 2. Nilai HPR *Ph. chrysosporium*, *C. subvermispota*, *P. porrigens* dan BPBPI 02/04 di dalam medium padat YMG yang mengandung 2500 ppm (I) 2,4-D, 250 ppm (R) glifosat, dan (G) parakuat setelah tujuh hari inkubasi.

Figure 2. Relative value of growth inhibition of *Ph.chrysosporium*, *C. subvermispota*, *P. porrigens* and BPBPI 02/04 in solid YMG media containing 2500 ppm of (I)2,4-D, and 250 ppm of (R) glyphosate and (G) paraquat after seven days incubation.

konsentrasi uji yang lebih tinggi dari 2.500 ppm, pertumbuhan isolat BPBPI 02/04 mengalami hambatan dengan nilai HPR mencapai 100%. Berdasarkan hasil pengujian yang telah diuraikan, maka isolat *Ph. chrysosporium* dan BPBPI 02/04 digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

#### Penetapan tanaman indikator (bio-indikator)

Bibit tanaman yang baru berkecambah umumnya memiliki sifat yang lebih peka terhadap perlakuan herbisida di dalam media tanam (Devlin *et al.*, 1992). Kegiatan penetapan bioindikator dilakukan pada bibit tanaman yang baru mengalami perkecambahan 2-3 hari. Pengaruh

pemberian herbisida (I) 2,4-D dengan beberapa tingkat konsentrasi (144, 1.440, dan 2880 ppm) terhadap pertumbuhan bibit tanaman uji telah tampak pada hari ke-5 setelah tanam. Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap pertumbuhan bibit kacang tanah dan jagung menunjukkan bahwa dengan semakin tinggi konsentrasi herbisida yang diberikan, terutama herbisida (I) 2,4-D, pertumbuhan kedua bibit tersebut semakin terhambat dan bibit tumbuh secara abnormal (daun keriting, beberapa diantaranya mengering atau membusuk). Bahkan pada konsentrasi 144 sampai 2880 ppm (I) 2,4-D daya tumbuh bibit sorgum dan *B. alata* 0%. Pemberian herbisida (R) glifosat dan (G) parakuat dosis rendah sampai tinggi dalam medium tanam tidak memberikan per-



Potensi fungi pelapuk putih asal lingkungan tropik ...

Tabel 2. Pertumbuhan bibit tanaman dalam medium campuran tanah, pasir, dan mengandung herbisida (I) 2,4-D; (R ) glifosat; atau (G) parakuat 10 hari setelah tanam.

Table 2. Seedling growth of various plants in mixed soil-sand containing herbicide (I) 2,4-D; (R ) glyphosate; or (G) paraquat media, 10 days after planting.

Jenis herbisida/ konsentrasi <i>Type of herbicide/ concentration (ppm)</i>	Rata-rata tinggi dan daya tumbuh bibit <i>Height and growth viability rates of seed</i>								Pertumbuhan fisik <i>Physical growth</i>
	Kacang tanah <i>Peanut</i>		Sorgum <i>Sorghum</i>		Jagung <i>Maize</i>		<i>B. alata</i>		
	Tinggi <i>Height</i> (cm)	Daya tumbuh <i>Growth viability</i> (%)	Tinggi <i>Height</i> (cm)	Daya tumbuh <i>Growth viability</i> (%)	Tinggi <i>Height</i> (cm)	Daya tumbuh <i>Growth viability</i> (%)	Tinggi <i>Height</i> (cm)	Daya tumbuh <i>Growth viability</i> (%)	
Kontrol ( <i>Control</i> ) /0	15,0	100	17,0	80	35,8	100	11,6	100	Normal
(I) 2,4-D/144	7,0	100	mati/dead	0	23,6	100	mati/dead	0	Abnormal
(I) 2,4-D/1 440	4,0	40	mati/dead	0	8,1	100	mati/dead	0	Abnormal
(I) 2,4-D/2 880	mati/dead	0	mati/dead	0	8,0	100	mati/dead	0	Abnormal
(R) glifosat ( <i>glyphosate</i> ) / 250	15,0	100	15,0	60	31,3	100	10,8	100	Normal
(R) glifosat( <i>glyphosate</i> ) /3 600	13,0	100	17,3	80	29,9	100	8,9	100	Normal
(R) glifosat( <i>glyphosate</i> ) /7 200	13,0	100	22,3	80	32,6	100	8,5	100	Normal
(G) parakuat ( <i>paraquat</i> )/10	15,7	100	26,0	100	27,3	100	12,3	100	Normal
(G) parakuat( <i>paraquat</i> )/40	tp <sup>*)</sup>	tp	20,8	90	32,1	100	10,5	100	Normal
(G) parakuat( <i>paraquat</i> )/200	15,0	100	16,2	90	35,4	100	7,8	100	Normal
(G) parakuat( <i>paraquat</i> )/1000	12,7	90	tp	tp	tp	tp	5,8	90	Normal

<sup>\*)</sup>tp = tidak ada perlakuan/ *untreated*

bedaan hambatan pertumbuhan jagung dan sorgum serta tidak memberikan respons abnormalitas terhadap keempat bibit tanaman uji.

Di antara empat bibit yang digunakan sebagai bioindikator, bibit kacang tanah dan *B. alata* memberikan respon pertumbuhan yang berbeda terhadap pemberian beberapa tingkat konsentrasi herbisida dalam medium persemaian yang ditandai dengan semakin tinggi konsentrasi (I) 2,4-D, (R) glifosat, atau (G) parakuat yang diberikan, maka pertumbuhan kedua bibit tanaman ini semakin terhambat (Tabel 2). Hambatan pertumbuhan pada perlakuan (R) glifosat atau (G) parakuat terlihat nyata terutama pada *B. alata*. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari perlakuan pendahuluan tersebut di atas, maka uji keefektifan biodegradasi herbisida oleh FPP di dalam tanah terutama ditujukan untuk herbisida (I) 2,4-D dengan menggunakan bibit kacang tanah dan *B. alata* sebagai bio-indikator.

#### *Uji keefektifan biodegradasi herbisida di dalam medium campuran tanah dan pasir*

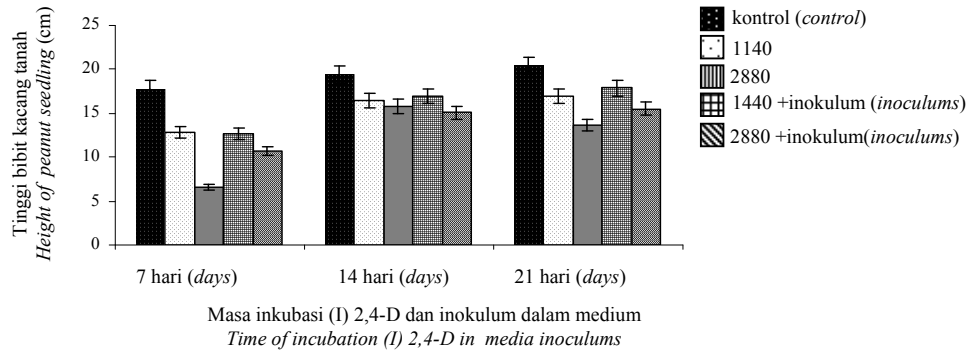
Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata tinggi dan daya tumbuh bibit kacang tanah dalam medium campuran tanah dan pasir, (I) 2,4-D dan inokulum FPP lebih baik apabila dibandingkan dengan pertumbuhan dalam medium yang sama tetapi tanpa penambahan inokulum. Indikasi tersebut terutama pada perlakuan 2.880 ppm (I) 2,4-D dengan masa inkubasi tujuh hari.

Indikasi awal adanya proses degradasi (I) 2,4-D oleh FPP adalah tinggi dan daya tumbuh bibit kacang tanah dalam medium campuran tanah, pasir, 2880 ppm (I) 2,4-D dan inokulum FPP masing-masing 10,7 cm dan 100% nyata lebih baik

apabila dibandingkan dengan perlakuan yang sama tetapi tanpa inokulum FPP (6,6 cm dan 83,3%). Semakin lama inkubasi (I) 2,4-D di dalam media campuran tanah-pasir, maka faktor lingkungan terutama panas sinar matahari yang mengakibatkan penguapan (*volatilization*) dan fotodekomposisi cukup berpengaruh terhadap laju degradasi (I) 2,4-D di dalam media campuran tersebut. Oleh karena itu, daya tumbuh bibit kacang tanah dalam medium campuran tanah dan pasir dengan perlakuan 1440 dan 2880 ppm (I) 2,4-D selama 14 dan 21 hari tidak memberikan perbedaan yang cukup signifikan (Gambar 3 dan 4) baik tanpa inokulum maupun dengan inokulum. Penelitian ini memperkuat hasil yang dilaporkan oleh Milosevic & Govedarica (2002).

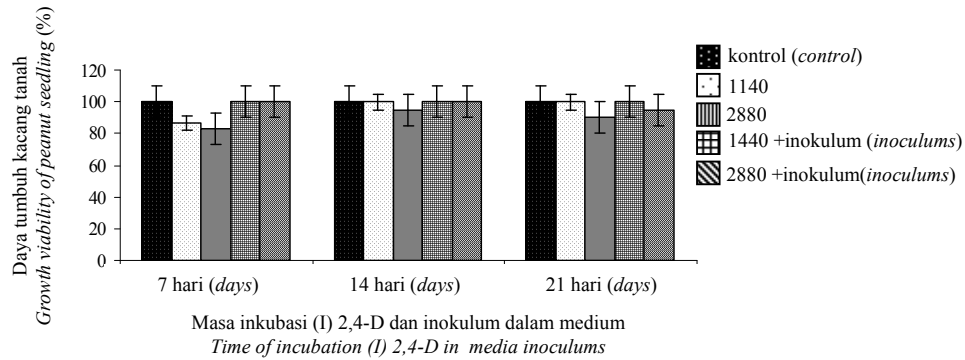
Adapun faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi keberadaan dan tingkat konsentrasi herbisida di dalam tanah antara lain dekomposisi secara kimia, penguapan, fotodekomposisi, penyerapan oleh tanaman, pencucian, dan hilang mengikuti aliran permukaan (Devlin *et al.*, 1992). Senyawa 2,4-D tidak bertahan lama di dalam tanah (non-persisten) sebab akan cepat didegradasi. Aktivitas residu 2,4-D di dalam tanah dapat berlangsung selama satu sampai enam minggu. Biodegradasi 2,4-D berhubungan dengan mekanisme biotransformasi senyawa halogen dan berlangsung dalam kondisi aerobik. Di dalam tanah, 2,4-D didegradasi melalui beberapa tahap oleh mikroorganisme antara lain menjadi 2,4-diklorofenol dan 4-klorofenol, dan pada tahap akhir degradasi akan diperoleh molekul-molekul dalam bentuk yang tidak berbahaya. Mekanisme utama degradasi 2,4-D oleh mikroorganisme tanah meliputi pemutusan rantai asam asetat sehingga membentuk 2,4-diklorofenol (2,4-DCP)

Potensi fungi pelapuk putih asal lingkungan tropik ...



Gambar 3. Rata-rata tinggi bibit kacang tanah pada medium campuran tanah, pasir dan 1440 atau 2880 ppm (I) 2,4-D tanpa dan dengan campuran inokulum *Ph. chrysosporium* dan BPBPI 02/04. Kontrol : medium campuran tanah dan pasir tanpa (I) 2,4-D.

Figure 3. Rates of peanut seedling height in mixed soil-sand and 1440 or 2880 ppm (I) 2,4-D media with and without *Ph. chrysosporium* and BPBPI 02/04 inoculums. Control: mixed soil-sand media without (I) 2,4-D.



Gambar 4. Rata-rata daya tumbuh bibit kacang tanah pada medium campuran tanah, pasir dan 1440 atau 2880 ppm (I) 2,4-D tanpa dan dengan campuran inokulum *Ph. chrysosporium* dan BPBPI 02/04. Kontrol : medium campuran tanah dan pasir tanpa (I) 2,4-D.

Figure 4. Rates of peanut seedling growth viability in mixed soil-sand and 1440 or 2880 ppm (I) 2,4-D media with and without *Ph. chrysosporium* and BPBPI 02/04 inoculums. Control: mixed soil-sand media without (I) 2,4-D.

yang diikuti pula oleh pemecahan dan degradasi cincin aromatik menghasilkan asam-asam alifatik seperti asam suksinat. Menurut Valli & Gold (1991), proses biodegradasi 2,4-D oleh *Ph. chryso-sporium* didahului oleh pelepasan kedua atom klorin, kemudian berlanjut pada pemecahan cincin aromatik.

*B. alata* memberikan respons yang lebih sensitif terhadap pemberian (I) 2,4-D di dalam tanah apabila dibandingkan bibit kacang tanah. Perlakuan masa inkubasi 1440 atau 2880 ppm (I) 2,4-D selama tujuh dan 14 hari di dalam medium campuran tanah dan pasir, tanpa inokulum maupun dengan inokulum memberikan tinggi bibit 0 cm dan daya tumbuh 0%. Namun demikian, pada medium campuran tanah, pasir, dan 1440 ppm (I) 2,4-D masa inkubasi 21 hari dengan penambahan *Ph. chryso-sporium* dan BPBPI 02/04, *B. alata* menunjukkan daya tumbuh sebesar 30% dengan tinggi rata-rata mencapai 5,7 cm. Daya tumbuh dan tinggi *B. alata* ini lebih rendah apabila dibandingkan dengan pertumbuhan di dalam medium yang sama tetapi tanpa pemberian (I) 2,4-D (kontrol) yang dapat mencapai 100% dengan tinggi rata-rata 15,1 cm. Di lain pihak, *B. alata* tidak memiliki daya tumbuh (0%) pada media campuran tanah, pasir dan 1440 atau 2880 ppm (I) 2,4-D tanpa inokulum dengan masa inkubasi 21 hari.

### Kesimpulan

Dalam penelitian ini diperoleh 15 spesimen fungi pelapuk kayu. Tujuh spesimen di antaranya FPP. *Ph. chryso-sporium* memiliki kemampuan tumbuh di dalam medium YMG yang mengandung 5.000 ppm (I) 2,4-D. Sedangkan isolat

BPBPI 02/04 yang merupakan isolat *indigenous* lingkungan tropik memiliki kemampuan tumbuh yang baik dalam medium YMG yang mengandung (R) glifosat dan (G) parakuat sampai tingkat konsentrasi 250 ppm. Diperolehnya isolat unggul BPBPI 02/04 memberikan peluang untuk penelitian lebih lanjut. Bibit kacang tanah dan *B. alata* memberikan respons sebagai bio-indikator yang baik terhadap perlakuan beberapa tingkat konsentrasi herbisida uji, terutama terhadap pemberian herbisida (I) 2,4-D dalam medium campuran tanah dan pasir. Tinggi dan kemampuan tumbuh bibit kacang tanah dalam medium campuran tanah, pasir dan 1.440 atau 2.880 ppm (I) 2,4-D dengan inokulum campuran *Ph. chryso-sporium* dan BPBPI 02/04 lebih baik apabila dibandingkan dengan perlakuan yang sama tetapi tanpa penambahan inokulum.

### Daftar Pustaka

- Ainsworth, A M. (1995). Isolation techniques for basidiomycetes. *World J Microbiol Biotechnol.*, **11**, 364-366.
- Bennet, J.W, K.G Wunch & B.D Faison (2002). Use of fungi biodegradation. In: Hurst CCJ, editor. *Manual of Environmental Microbiology*. Ed ke-2. Washington, D.C. ASM Press
- Castillo, M. P. (2000). *Microorganism in Bioremediation*. Department of Forest Mycology and Pathology. <http://www.mykopat.slu.se>. [26 Sep 2003]
- Devlin, D. L., D. E. Peterson & D. L. Regehr (1992). *Residual, Herbicides, Degradation, and Recropping Intervals*. Kansas State University Agricultural Experiment.

- Station and Cooperative Extension Service. p 2-12.
- Duran, R., C. Deschler, S. Precigou & P. Goulas (2002). Degradation of chlorophenols by *Phanerochaete chrysosporium* effect of 3,4-dichlorophenol on extra-cellular peroxidase activities. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, **59**, 284-288.
- Haney, R. I., S. A. Senseman, F. M. Hons (2002). Effect of Roundup Ultra on microbial activity and biomass from selected soils. *J. Environ. Qual.*, **31**, 730-735.
- Kullman, S. W. & F. Matsumura (1996). Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 593-600.
- Lestan, D. & R. T. Lamar (1996). Development of fungal inocula for bioaugmentation of contaminated soils. *App. Environ. Microbiol.*, **62**, 2045-2052.
- Michel, F. C., C. A. Reddy, L. J. Forney (1995). Microbial degradation and humification of the law care pesticide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid during the composting of yard trimmings. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2566-2571.
- Milosevic, N. A. & M. M. Govedarica (2002). Effect of herbicides on microbiological properties of soil. In : *Proceedings for Natural Sciences*, Matica Srpska Novi Sad. **102**, 5-21.
- Murialdo, S.E, R. Fenoglio, P.M Haure, J.F Gonzalez (2003). Degradation of phenol and chlorophenols by mixed and pure cultures. *Water SA.*, **29**(4), 457-464.
- Nakamura, Y, F. Kobayashi, A. Kurosumi. (2000). *Production of Lignin-Degrading Enzyme and Degradation of Agricultural Chemicals by White-rot Fungus*. Department of Chemistry & Chemical Engineering. Faculty of Engineering, Kanazawa University Kodatsuno 2-40-20, Kanazawa, Ishikawa 920-8667, Japan.
- Nishida, T., Y. Kashino, A. Mimura & Y. Takahara (1988). Lignin biodegradation by wood-rotting fungi I. Screening of lignin-degrading fungi. *Makuzai Gakkaishi*, **34**, 530-536.
- Rayner, A. D. M. & L. Boddy (1988). *Fungal Decomposition of Wood. Its Biology and Ecology*. New York, John Wiley and Sons.
- Vadali, M. (2001). Bioremediation : An overview. *Pure Appl. Chem.*, **73**, 1163-1172.
- Valli, K. & M.H. Gold (1991). Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *J. Bacteriol.*, **173**, 345-352.