



# Eksplorasi dan identifikasi bakteri simbios wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) sebagai pendegradasi insektisida imidakloprid

Muhamad Sony Sanjaya, Yuyun Fitriana, Puji Lestari, & Radix Suharjo\*  
Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

**Abstract:** Rice is an important food crop and a staple food source in Indonesia. The challenges in increasing rice production are not only caused by weather factors (drought, flooding) but also by pest and plant disease attacks. One of the rice pests that causes significant losses is the brown planthopper (BPH). Insecticides with the active ingredient imidacloprid have been known to effectively control brown planthoppers. However, in recent times, resistance to this insecticide has developed in brown planthoppers. This study aims to investigate the possible presence of symbiotic bacteria in brown planthoppers that can degrade imidacloprid insecticide as their carbon source. The steps taken include biochemical tests and testing the growth ability on media containing imidacloprid. The results of the tests showed that the bacterial isolates tested were unable to degrade the imidacloprid insecticide.

**Keywords:** brown planthopper, carbon source, insecticide, imidacloprid, symbiont

## Pendahuluan

Wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) (Homoptera: Delphacidae) merupakan hama utama tanaman padi yang mempunyai sifat berkembang biak dengan cepat dan mampu dengan mudah mematahkan kemanjuran insektisida, sehingga menjadi resisten terhadap insektisida (Baehaki, 2012). Resistensi juga diakibatkan oleh penggunaan insektisida secara berlebihan (Djojsumarto, 2008; Hasibuan, 2015).

Hardiani *et al.* (2011) menyatakan mikroorganisme jenis fungi, bakteri dan alga dilaporkan mampu memanfaatkan bahan pencemar (bahan kimia berbahaya), termasuk pestisida sebagai sumber nutrisinya. Sulaeman *et al.* (2016) melaporkan bahwa tiga dari enam isolat bakteri yang ditemukan pada sampel tanah di Kecamatan Cisarua, Pacet dan Lembang Jawa Barat memiliki efektivitas yang tinggi dalam mendegradasi insektisida klorpirifos. Berdasarkan identifikasi menggunakan analisis sekuen 16SrDNA menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut adalah *Pseudomonas montellii*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas* sp..

Resistensi WBC diduga juga disebabkan oleh adanya mikroorganisme simbios pada WBC sehingga dapat mendegradasi insektisida yang diaplikasikan. Sulaeman *et al.* (2016) melaporkan bahwa kemampuan isolat dalam mendegradasi insektisida dapat disebabkan karena isolat tersebut mampu beradaptasi di media yang tercemar oleh insektisida dan memanfaatkan insektisida tersebut sebagai sumber karbon untuk

Sitasi: Sanjaya MS, Fitriana Y, Lestari P, & Suharjo R. 2024. Eksplorasi dan identifikasi bakteri simbios wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) sebagai pendegradasi insektisida imidakloprid. JPA 1(1): 20–27.

Artikel masuk: 18 Januari 2024  
Revisi diterima: 24 Februari 2024  
Publikasi online: 9 Mei 2024

\*Penulis korespondensi:  
Radix Suharjo  
([radix.suharjo@fp.unila.ac.id](mailto:radix.suharjo@fp.unila.ac.id))

pertumbuhannya. Menurut Prawitasari *et al.* (2018), kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi insektisida dipengaruhi beberapa faktor diantaranya karakteristik mikroorganisme.

#### Metode penelitian

Waktu dan tempat. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan mulai Juni 2020 sampai April 2021.

Pengambilan hama wereng batang coklat. Hama wereng batang coklat diambil dari dua lokasi lahan padi yang berbeda di Provinsi Lampung yaitu Kecamatan Jati Agung, Lampung Selatan dan Kecamatan Rajabasa, Bandar Lampung. Pengambilan hama dilakukan menggunakan alat aspirator. Hama wereng yang sudah terkumpul di aspirator dimasukkan ke dalam plastik dan dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk dilakukan pengujian lebih lanjut.

Pembuatan media *Yeast Peptone Agar* (YPA) + insektisida berbahan aktif imidakloprid. Media *Yeast Peptone Agar* (YPA) yang ditambah dengan insektisida bahan aktif Imidakloprid digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 10 g peptone, 5 g yeast, 20 g agar batang, 1000 mL akuades. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan aluminium foil kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah di sterilkan kemudian diambil sebanyak 100 ml dan diletakkan pada botol UC dan ditambahkan insektisida imidakloprid sesuai dosis rekomendasi yaitu 25 µL dan 50 µL.

Pembuatan media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Media *Potato Peptone Glucose Agar* digunakan untuk peremajaan isolat bakteri. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 200 g kentang, 5 g peptone, 3 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 3 g NaCl, 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 g *glucose*, 20 g agar dan, 1000 ml akuades. Seluruh bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan aluminium foil kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

Pembuatan media **Ayer's** mengandung imidakloprid. Media dibuat dengan mencampurkan 1 g NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,2 g KCl, 0,2 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 18 ml 0,2% *Bromothymol Blue* (BTB), 0,1% imidakloprid dan 20 g agar ke dalam 1000 mL akuades dan dihomogenkan. Setelah itu suspensi di panaskan ke dalam microwave hingga agar terlarut dengan sempurna. Setelah agar terlarut sempurna, media diatur pH nya pada kisaran 7,2 yang ditunjukkan dengan warna media yang menjadi hijau daun.

Isolasi bakteri wereng batang coklat. Bakteri wereng batang coklat diisolasi dengan cara membuat dalam suspensi dan dilakukan dengan metode pengenceran. Suspensi dibuat dengan cara satu ekor WBC yang sudah direndam ke dalam larutan klorok 0,1 % selama 15 detik, dimasukkan ke dalam tube yang berisi *Phosphate Buffer Salin* (PBS) sebanyak 20 µL. WBC kemudian digerus hingga hancur. Sebanyak 20 µL suspensi diambil menggunakan mikropipet dan diteteskan ke media YPA+imidakloprid. Suspensi diratakan menggunakan *drigalski* kemudian diinkubasi di suhu ruang selama dua hari.

Pemurnian bakteri. Sebelum dilakukan pemurnian, bakteri yang tumbuh pada media YPA+imidakloprid hasil isolasi diamati dengan cara melihat warna dan bentuk koloni dari setiap bakteri serta dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Setiap koloni bakteri yang didapat dari media YPA+imidakloprid dimurnikan di media YPA+imidakloprid dengan cara membagi cawan menjadi 8 bagian sisi menggunakan

spidol, kemudian koloni bakteri yang tumbuh diambil menggunakan tusuk gigi kemudian satu koloni bakteri diambil dan digores pada media YPA+imidakloprid pada setiap sisi dan diulangi sebanyak 8 kali dengan koloni bakteri yang berbeda. Setelah itu, bakteri yang telah tumbuh dilakukan pemurnian kembali dengan cara mengambil koloni bakteri yang tumbuh pada media pemurnian kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi media YP cair + imidakloprid. Setelah itu, tabung dihomogenkan menggunakan shaker selama 48 jam. Kemudian, bakteri yang ingin diuji, diremajakan terlebih dahulu di media miring atau media PPGA (*Potato Peptone Glucose Agar*).

Pengamatan makroskopis isolat bakteri yang didapatkan. Bakteri yang didapatkan dari isolasi diidentifikasi bentuk dan warna koloni bakteri.

#### Uji biokimia

*Uji gram menggunakan KOH 3%*. Uji dilakukan dengan cara mengambil 1-2 ose bakteri dan meletakkannya di atas kaca preparat kemudian ditetesi KOH 3% sebanyak 1-2 tetes dan dicampur hingga rata. Setelah itu, tusuk gigi steril ditempelkan pada campuran tersebut dan diangkat secara perlahan. Apabila terbentuk benang lendir yang tidak terputus sepanjang kurang lebih 1 cm, maka bakteri yang dibiakkan merupakan kelompok bakteri gram negatif, namun apabila tidak terbentuk, maka bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri gram positif (Anggraini *et al.*, 2016).

*Uji oksidatif fermentatif (O/F)*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat aerob dan anaerob dari bakteri. Sebelum pengujian, disiapkan terlebih dahulu bahan-bahan media OF seperti, OF Basal Medium 9,38 g, Glukosa 10 g dan akuades 1000 mL yang diletakan dalam Erlenmeyer 1000 mL, kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* hingga larut. Setelah itu dimasukan kedalam tabung reaksi sebanyak 4 mL lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah media siap, masing-masing isolat bakteri diinokulasikan pada media Oksidatif-Fermentatif dalam 2 tabung reaksi untuk setiap isolat. Satu ose bakteri ditusukkan pada 2 media tersebut, kemudian pada tabung 1 ditambahkan minyak parafin sebanyak 1 ml, sedangkan pada tabung 2 tidak ditambahkan minyak parafin. Semua tabung diinkubasikan selama 1-7 hari dan diamati ada tidaknya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning pada masing-masing tabung. Apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning pada kedua media baik yang ditambahkan dan tidak ditambahkan minyak parafin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya jika terjadi perubahan warna menjadi kuning hanya pada tabung yang tidak diberi minyak parafin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif (Tito, 2014).

#### Konfirmasi kemampuan isolat bakteri untuk mendegradasi imidakloprid

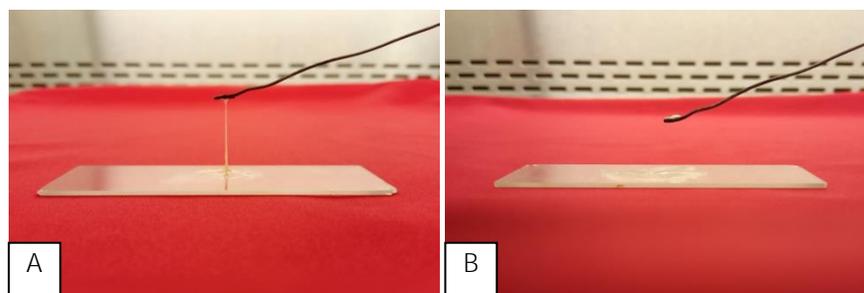
*Uji kemampuan tumbuh pada media air steril yang mengandung imidakloprid*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan air steril yang ditambahkan dengan insektisida imdakloprid dengan 1x dosis (25 µL/100 mL air) dan 2x dosis (50 µL/100 mL). Suspensi insektisida tersebut kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL. Sebanyak 1 ose isolat bakteri yang dibiakkan pada media PPGA berumur 24 jam disuspensikan ke dalam 0,5 mL air steril dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Satu ose suspensi bakteri kemudian diinokulasikan kedalam tabung reaksi berisi air steril + imidakloprid dan diinkubasikan (dishaker dengan kecepatan 145 rpm) selama 72 jam pada suhu 25 °C. Pengamatan dilakukan pada 2, 4 dan 7 hari setelah inokulasi.

*Uji kemampuan mendegradasi imidakloprid menggunakan media Ayer's.* Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri dalam media PPGA dan disuspensikan dengan 0,5 mL air steril dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Inokulasi pada media ayer's dengan cara mencelupkan jarum preparat pada suspensi bakteri kemudian ditusukkan pada media sampai dasar tabung serta digoreskan pada permukaan media secara melintang dan diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari setelah inokulasi terhadap perubahan warna media serta tumbuh tidaknya bakteri (Suharjo, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Biokimia

*Uji Gram.* Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji terdapat 12 isolat bakteri yang bersifat negatif dan 1 isolat bakteri bersifat positif (Tabel 1). Bakteri bersifat gram negatif ditunjukkan dengan terbentuknya lendir, serta terbentuknya benang yang tidak terputus ketika jarum ose diangkat (Gambar 1A), sedangkan bakteri gram positif tidak terbentuknya benang (Gambar 1B).



Gambar 1. Reaksi uji Gram. A. Gram negatif; B. Gram positif.

Tabel 1. Hasil uji Gram 13 isolat bakteri

| Kode Isolat | Hasil uji Gram |
|-------------|----------------|
| LS50 a      | -              |
| LS50 b      | -              |
| LS50 c      | -              |
| LS50 d      | -              |
| LS50 e      | -              |
| LS25 a      | -              |
| LS25 b      | -              |
| LS25 c      | -              |
| B50 a       | -              |
| B50 b       | -              |
| B25 a       | -              |
| B25 b       | +              |
| B25 c       | -              |

+ = Gram positif; - = Gram negatif

*Uji oksidatif fermentatif.* Hasil pengujian O/F menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji terdapat 10 isolat bakteri bersifat fermentatif dan 3 isolat bakteri tidak bereaksi (Tabel 2). Isolat bakteri dikatakan

fermentatif apabila ada perubahan warna media O/F dari hijau menjadi kuning pada tabung yang diberikan minyak parafin dan tabung yang tidak diberikan minyak parafin (Gambar 2).

Tabel 2. Hasil Uji Oksidatif/Fermentatif

| Kode Isolat | Hasil Uji      |
|-------------|----------------|
| LS50 a      | Fermentatif    |
| LS50 b      | Fermentatif    |
| LS50 c      | Tidak bereaksi |
| LS50 d      | Fermentatif    |
| LS50 e      | Fermentatif    |
| LS25 a      | Fermentatif    |
| LS25 b      | Fermentatif    |
| LS25 c      | Fermentatif    |
| B50 a       | Fermentatif    |
| B50 b       | Fermentatif    |
| B25 a       | Fermentatif    |
| B25 b       | Tidak bereaksi |
| B25 c       | Tidak bereaksi |



Gambar 2. Hasil uji O/F bakteri hasil isolasi

Uji kemampuan tumbuh pada media air steril dan air steril mengandung imidakloprid. hasil pengujian kemampuan tumbuh pada media air steril dan air steril yang mengandung imidakloprid menunjukkan bahwa 13 isolat yang diuji tidak menunjukkan pertumbuhan. Isolat bakteri dikatakan tumbuh apabila media baik air steril saja dan air steril yang mengandung imidakloprid menjadi keruh keputihan (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Uji kemampuan tumbuh pada air steril + imidakloprid

Uji kemampuan mendegradasi imidakloprid menggunakan media **Ayer's**. Hasil pengujian mendegradasi imidakloprid menggunakan **ayer's** media menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji, tidak ada media yang mengalami perubahan warna, apabila dalam pengujian media mengalami perubahan warna maka isolat bakteri yang diuji dapat mendegradasi insektisida imidakloprid.



Gambar 3. Hasil uji kemampuan isolat mendegradasi imidakloprid

Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji gram, uji O/F, uji kemampuan tumbuh pada media air steril + imidakloprid dan uji kemampuan isolat mendegradasi imidakloprid. Menurut Rahayu & Gumilar (2017), uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya.

Hasil Uji gram menggunakan KOH 3% menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji terdapat 12 isolat bakteri yang bersifat negatif dan 1 isolat bakteri bersifat positif. Metode gram dengan pengujian KOH 3% merupakan metode identifikasi bakteri yang baik dalam menentukan jenis dominan bakteri yang aktif yang ditandai dengan adanya lendir. Pengujian KOH 3% pada bakteri mengindikasikan bakteri gram (+) memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis sedangkan gram (-) berlemak tebal dan berdinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH akan menyerang lemak (*bilayer lipid*) dan membuat sel gram (-) pecah. Sel yang pecah akan melepaskan materi genetik (DNA) yang merupakan substansi melimpah di dalam sel bakteri. Molekul DNA sangat panjang bersifat *sticky strings* (menyerupai lendir, getah atau dapat berarti lengket) yang memberikan hasil seperti lendir saat diangkat dengan jarum inokulum (Edwin, 2011).

Hasil pengujian O/F menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji terdapat 10 isolat bakteri bersifat fermentatif dan 3 isolat bakteri tidak bereaksi. Uji OF (Oksidatif/Fermentatif) adalah uji untuk mengetahui suatu bakteri dalam kemampuannya mengurai karbohidrat (glukosa) menjadi oksidasi dan fermentatif. Fermentatif, jika medium yang ditutup parafin cair steril berubah warna dari hijau menjadi kuning; Oksidatif, jika medium yang tidak ditutup parafin cair steril saja yang berubah dari hijau tua menjadi kuning. Sedangkan negatif, jika terjadi pertumbuhan bakteri, tapi tidak ada perubahan warna media OF (Arwin *et al.*, 2016).

Pada pengujian kemampuan tumbuh bakteri pada media air steril dan media air steril yang sudah diberi insektisida imidakloprid dengan konsentrasi 25  $\mu\text{L}$  dan 50  $\mu\text{L}$ , 13 isolat yang diuji tidak menunjukkan tanda pertumbuhan dikarenakan media yang digunakan tetap berwarna bening. Bakteri tidak tumbuh dapat diakibatkan beberapa faktor seperti pH media, kelembaban dan lain-lain. Menurut Zimbardo *et al.* (2009), faktor-faktor yang penting bagi proses pembiakan mikroorganisme yaitu nutrisi, oksigen dan gas lain, kelembaban, pH media, suhu, serta kontaminan. Media yang baik untuk pembiakan mikroorganisme harus mengandung unsur-unsur seperti karbon, nitrogen, fosfat inorganik, sulfur, logam, air, dan mineral.

Upaya pembiakan mikroorganisme memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai agar bakteri dapat berkembang dengan baik. Dalam pertumbuhannya, mikroorganisme memerlukan bahan-bahan organik dan ion-ion pendukung sebagai sumber energi dan katalis.

Pada pengujian isolat bakteri untuk mendegradasi insektisida imidakloprid menggunakan ayer's media menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri yang diuji, tidak ada media yang mengalami perubahan warna atau tidak ada indikasi isolat bakteri yang mampu mendegradasi insektisida.

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diisolasi dari wilayah Lampung Selatan (LS) diperoleh 8 isolat bakteri dengan 8 isolat bakteri bersifat gram negatif dan 7 isolat bakteri bersifat fermentatif, sedangkan bakteri yang diisolasi dari wilayah Bataranila (B) diperoleh 5 isolat bakteri dengan 4 isolat bakteri bersifat gram negatif dan fermentatif. Isolat bakteri yang diuji tidak mampu mendegradasi insektisida jenis imidakloprid.

### Referensi

- Anggraini, R., Aliza, D., & Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi pada ikan lele (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1 (2): 271-286.
- Arwin, M., Ijong, F. G. & Tumbol, R. 2016. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* yang di isolasi dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science & Management*. 4 (2) : 52-55.
- Baehaki, S.E. 2012. Perkembangan biotipe hama wereng coklat pada tanaman padi. *IPTEK Tanaman Pangan*. 7(1): 8-17.
- Djojoseparto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Edwin. 2011. *Materi Kuliah Mikrobiologi*. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Hardiani, H., Kardiansyah, T., & Sugesty, S. 2011. Bioremediasi logam timbal (Pb) dalam tanah terkontaminasi limbah sludge industri kertas proses deinking. *Jurnal Selulosa*. 1 (1): 31-41.
- Hasibuan, R. 2015. *Insektisida Organik Sintetik dan Biorasional*. Plantaxia. Yogyakarta.
- Prawitasari, S., Jannah S.N., & Akhdiya, A. 2018. Seleksi dan identifikasi secara molekuler bakteri pendegradasi insektisida piretroid dari tanah. *Indonesian Journal of Halal*. 1(1) : 8-14.
- Rahayu, S. A. dan Gumilar, M. M. H. 2017. Uji cemaran air minum masyarakat sekitar Margahayu Raya Bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 4(2): 50–57.
- Suharjo, R. 2013. Studies on the Taxonomy and Identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan. *Dissertation*. Shizuoka University. Jepang.
- Sulaeman, E., Ardiwinata, A.N., & Yani, M. 2016. Eksplorasi bakteri pendegradasi insektisida klorpirifos di tanah sayuran kubis di Jawa Barat. *Jurnal Tanah dan Iklim*. 40(2) : 103-112.
- Tito, I. M. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Zimbro, M. J., David, A. P., Sharon, M. M., George, E. W., & Julie, A. J. 2009. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media*. Second Edition. Becton, Dickinson and Company. Maryland.