

UJI AKTIVITAS PESTISIDA NABATI SECARA *IN VITRO*

(Activity Test of Bio-pesticide by In Vitro)

Mokhammad Irfan

Laboratorium Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau
Kampus Raja Ali Haji Jl. H.R. Soebrantas Km 16 Pekanbaru
Telp. (0761)7077837, Fax (0761) 21129
mokhamadirfan@yahoo.com

ABSTRACT

Biopesticide materials extracted from union, mimba leaves, peper betle leaves, lemon grass, and comercial bactericide as control. Bacteria soruces by isolation from rotten cabbage and pineapple. Medium composition of nutrien agar are vitabro 1 g/L, vitamineral 4 g/L, sucrose 7 g/L, skim milk 2 g/L, and agar 11 g/L, whereas broth composition is not added agar. Pure microbial was made by strep method. Inhibition zone of antimicrobe was measured by πr^2 formula in mm^2 . Isolation result from rotten cabbage are four coccus bacteria and one bacil bacteria with four positives and one negative gram bacteria. Isolate bacteria from pineapple were one negative and one positive gram. Union extraction had antimicrobe activitiy highest (average 1200 mm^2) than others biopesticide. Union extraction had inhibits of growth to all bacteria, bacil, coccus, positive and negative gram. Meanushile peper betle leaves only had antimicrobe activity for coccus negative gram. Boiling on biopesticide sources at 100°C for 45 second could decreasing of antimicrobe activity but fermentation process increased of antimicrobeial activity. Fermentation was increasing of inhibition zone peper betle leaves at 8.6 mm^2 on bacil positive gram bacteria, 8.6 mm^2 on bacil positive gram, and 30.6 mm^2 on coccus negative gram bacteria. Decrease of union activity was estimated by dilution at fermentation.
Keywords: activity, biopesticide, microbe, in vitro

PENDAHULUAN

Kardiman (2000) menyatakan bahwa kehilangan produktivitas tanaman akan mencapai sebesar 30 - 35% dan sekitar 10 - 20% pasca panen bila tidak menggunakan pestisida. Dampak penggunaan pestisida kimia sintetik akan lebih mengarah pada pengrusakan sumber daya alam, timbulnya pencemaran air, tanah, udara dan tanaman, bahaya keracunan, munculnya biotipe-biotipe hama baru dan kebal serta matinya beberapa jenis serangga.

Efek residu dari penggunaan pestisida dapat mencemari tanah disertai dengan matinya beberapa mikroorganisme perombak tanah, mematikan serangga dan binatang lain yang bermanfaat, sehingga terputus mata rantai makanan bagi hewan pemakan serangga. Efek negatif yang berkepanjangan pada suatu areal pertanian, akan menurunkan produktivitas lahan. Residu yang tertinggal pada tanaman, akan meracuni manusia bila dikonsumsi, yang akhirnya akan menimbulkan gejala berbagai macam penyakit. Tujuan yang semula untuk meningkatkan produktivitas, justru akan menjadi bumerang bagi kehidupan manusia (Kardiman, 2000).

Pestisida nabati disebut juga pestisida hayati atau bio-pestisida. Pestisida nabati adalah pestisida yang dibuat dari bagian tanaman dengan tujuan untuk mengendalikan organisme

pengganggu tanaman (OPT). Beberapa kelebihan pestisida nabati menurut Harjono (1999), daya kerjanya selektif, residu cepat terurai dan tidak beracun, tidak menimbulkan pencemaran air, tanah, udara dan tanaman, serangga-serangga berguna/predator tidak ikut musnah, tidak menimbulkan kekebalan serangga, murah dan mudah di dapat

Oleh sebab itu, penggunaan pestisida nabati adalah solusi untuk tujuan tersebut di atas. Dalam sistem pertanian organik, penggunaan pestisida nabati merupakan salah satu langkah bijak yang harus ditumbuhkembangkan terutama keyakinan petani dalam menggantikan pestisida kimia sintetik.

Untuk memenuhi keinginan produktifitas tanaman yang tinggi seiring dengan laju pertumbuhan penduduk yang semakin bertambah, maka pengembangan potensi tumbuhan sebagai sumber pestisida nabati perlu dikembangkan. Dengan kekayaan keragaman hayati tumbuhan yang dimiliki Indonesia melimpah, sebelum dicobakan ke tanaman perlu adanya pembuktian ilmiah di laboratorium. Beberapa bagian tanaman yang telah banyak diketahui sebagai bahan anti mikroba antara lain biji dan daun mimba, bawang putih, batang serai, daun sirih dan lain-lain. Untuk itu, penelitian ini akan mengawali pengembangan pestisida nabati. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui

potensi tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber pestisida nabati dalam menanggulangi serangan penyakit tanaman yang disebabkan oleh bakteri.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat. Penelitian ini dilaksanakan selama 1 bulan pada bulan Agustus 2008 di Laboratorium Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi UIN SUSKA RIAU.

Alat dan bahan yang digunakan. Presto 9 L, erlenmeyer, cawan petridish, bunsen, jarum ose, inkubator, tabung reaksi, timbangan, skatmate, pipet volume, lempeng tetes, pipet tetes, beaker glass dan oven, sedangkan bahan yang digunakan : sampel bakteri diisolasi dari bagian kubis busuk dan bagian pucuk yang busuk. Sampel tanaman sebagai bahan pestisida nabati adalah bawang putih, daun mimba, batang serai, daun sirih diperoleh dari tanaman lokal. Sebagai pembanding digunakan bakterisida komersial dengan bahan aktif antibiotik eritromisin.

Media kultur mikroba. Komposisi Medium Nutrient Agar terdiri atas vitabro 1 g/l, vitamineral 4 g/l, sukrosa 7 g/l, susu skim 2 g/l dan agar-agar 11 g/l sedangkan komposisi Nutrien Broth sama dengan komposisi Nutrien Agar tetapi tidak mengandung agar-agar. Semua bahan yang digunakan dibeli dari toko tempatan.

Sumber mikroba. Sumber mikroba diperoleh dari isolasi bakteri pembusuk pada empulur kubis dan pucuk nenas.

Prosedur Kerja

Isolasi bakteri. Secara aseptik dipindahkan 1 lupe ose dari bahan tanaman yang busuk ke nutrient broth steril, kemudian dihomogenkan. Seterusnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu $31\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Mikroba dari nutrient broth disebarkan dalam medium nutrient agar selama 24 jam dengan suhu inkubasi $31\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Setiap bentuk koloni yang berbeda dianggap sebagai satu strain bakteri. Bakteri asal kol diberi simbol K dan bakteri asal nenas diberi simbol N.

Pembuatan Koloni Tunggal Koloni tunggal dibuat dengan membuat coretan zig-zag pada medium nutrient agar baru dari campuran mikroba yang dilakukan secara aseptik. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu $31\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Koloni tunggal akan terbentuk sebagai sebuah titik yang terpisah dari garis zig zag yang telah dibuat.

Pewarnaan Gram. Mengikuti prosedur standar dari Cristian Gram (Humphries, 1988).

Perlakuan Bahan Tanaman. Sample tanaman yang digunakan adalah daun sirih, daun mimba,

serai dan umbi bawang putih. Proses penyediaan sampel bahan tanaman dilakukan dengan 3 cara yaitu : 1). Semua bahan dibersihkan dari kotoran dengan jalan mencuci dengan air hangat ($\pm 45\text{ }^{\circ}\text{C}$). Selanjutnya ditiriskan lalu ditumbuhkan dalam lumpang porselin sampai halus. Sampel yang telah halus, ditimbang sebanyak 1 g kemudian diletakkan dalam lempeng tetes sambil ditambahkan air panas ($\pm 100\text{ }^{\circ}\text{C}$) 2 tetes. Sampel bahan ini dianggap sebagai ekstrak kasar. 2). Sampel bahan tanaman yang telah dihaluskan ditimbang 2 g lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 6 ml akuades, seterusnya dididihkan selama 45 menit dalam penangas air. 3). Sampel bahan tanaman yang telah dihaluskan ditimbang 2 g lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 4 ml akuades, seterusnya diinkubasi selama 24 jam.

Pengkulturan Mikroba Penyebab Penyakit

Timbang 12 g medium kaldu, larutkan dengan akuades kemudian sterilkan pada suhu $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 20 menit menggunakan presto. Kultur stok mikroba ditumbuhkan dalam medium kaldu selama 24 jam pada suhu $31\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ sebagai kultur mikroba uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri

Pengamatan hasil pengkulturan bakteri dari bagian kol busuk didapat 7 strain bakteri yang berbeda sedangkan dari bagian nenas busuk diperoleh 2 strain yang berbeda, namun setelah dilakukan pemisahan melalui teknik pembuatan koloni tunggal secara zig zag yang dilanjutkan dengan teknik pewarnaan gram diperoleh isolat kol 5 koloni dan nenas 2 koloni seperti pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri dari bagian kol dan nenas busuk yang telah dilakukan pewarnaan gram

Asal Tanaman	Bentuk Morfologi	Hasil Pewarnaan Gram
Kol	1. Kokus	Negatif
	2. Kokus	Negatif
	3. Kokus	Negatif
	4. Basil	Negatif
	5. Kokus	Positif
Nenas	1. Basil	Positif
	2. Basil	Negatif



Sampel Bagian Kol Busuk

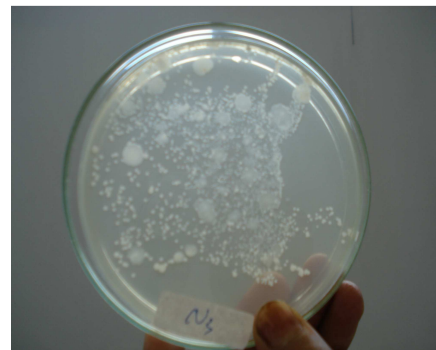


Sampel Bagian Nenas Busuk

Gambar 1. Sampel tanaman yang digunakan sebagai sumber mikroorganismenya.



Isolat bakteri dari kol busuk



Isolat bakteri dari nenas busuk

Gambar 2. Bakteri Hasil Isolasi dari Kol Busuk dan Nenas Busuk.



Gambar 3 : Pembuatan Kultur Tunggal Bakteri Hasil Isolasi.

Selanjutnya untuk pengujian secara *in vitro* digunakan 4 strain mikroba dengan bentuk morfologi dan struktur dinding sel yang berbeda, yaitu 2 strain bakteri kokus dari gram negatif dan positif serta 2 strain bakteri basil dari jenis bakteri gram positif dan gram negatif (Pelczar & Chan, 1988).

Pengujian dengan *In Vitro* Pada Ekstrak Kasar

Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa bawang putih lebih aktif sebagai anti bakteri berbanding dengan kontrol maupun pestisida nabati lainnya. Bawang putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif

dan gram negatif dari jenis kokus maupun basil (Gambar 5). Daerah penghambatan tertinggi umbi bawang putih didapat pada bakteri gram positif berbentuk basil dengan luas penghambatan 1641,4 mm², diikuti oleh bakteri gram negatif berbentuk basil dengan luas penghambatan 1236,4 mm², bakteri gram positif berbentuk kokus sebesar 1150,0 mm² dan bakteri gram negatif berbentuk kokus sebesar 814,6 mm², sedangkan ekstrak kasar daun sirih hanya mampu menghambat bakteri kokus gram negatif dengan daerah penghambatan sebesar 326,6 mm².

Diduga *allisin*, *diallil* dan *disulfide* sebagai bahan aktif dari bawang putih mampu membunuh bakteri gram positif dan gram negatif baik yang berbentuk basil maupun kokus. Hal ini sejalan dengan pendapat Hassan (1997) yang mengatakan bahwa ekstrak bawang putih dapat digunakan untuk membunuh bakteri *Clostridium botulinum*, *Mycobacterium tuberculosis* bahkan jamur maupun yis yang tidak terbatas pada umbinya saja melainkan juga minyak dan daunnya.

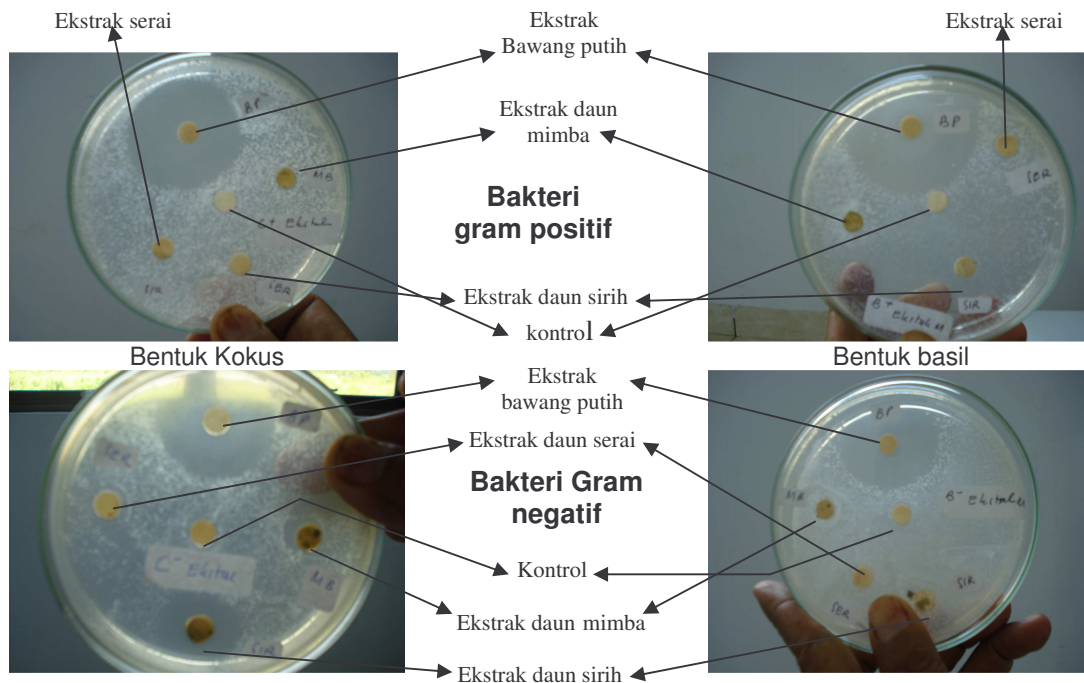
Sedangkan ekstrak daun sirih hanya mampu membunuh bakteri gram negatif berbentuk kokus, sedangkan batang serai, daun mimba dan bakterisida komersial tidak mampu menunjukkan daerah penghambatan. Faktor lain

yang turut menentukan kualitas tumbuhan yang dihasilkan adalah umur tanaman, bagian yang digunakan serta lingkungan tumbuh berpengaruh terhadap mutu dan kuantitas bahan aktif yang dihasilkan (Anonymous, 1985). Sedangkan Kardiman (2000) mengatakan bahwa pembakuan pestisida nabati memang agak sulit dilakukan berbanding pestisida sintetik karena tiga faktor tersebut di atas. Kemampuan antimikroba dari daun mimba tidak terlihat dalam penelitian ini sebagaimana yang dikatakan Kardiman (2000). Diduga daun yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah masih relatif muda, sehingga akumulasi bahan aktif belum memadai sebagai bahan antimikroba.

Tabel 2. Luas Daerah Penghambatan Ekstrak Kasar pada Bakteri Gram Positif dan Negatif bentuk Basil dan Kokus

Perlakuan	Luas Daerah Penghambatan (mm ²)			
	B+	B ⁻	C+	C ⁻
Bakterisida komersial	0	0	0	0
Daun Sirih	0	0	0	326,6
Batang Serai	0	0	0	0
Umbi Bawang Putih	1641,4	1236,4	1150,0	814,6
Daun Mimba	0	0	0	0

Keterangan : B+ = Bakteri Gram Positif Basil B⁻ = Bakteri Gram Negatif Basil
 C+ = Bakteri Gram Positif Kokus C⁻ = Bakteri Gram Negatif Kokus
 Angka 0 (nol) menunjukkan tidak ada zona penghambatan



Gambar 4. Zona Penghambatan Ekstrak Kasar Bawang Putih, Serai, Daun Mimba dan Daun Sirih terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif dari bentuk kokus dan basil.

Pengujian dengan *In Vitro* Pada Pendidihan Bahan Baku selama 45 menit

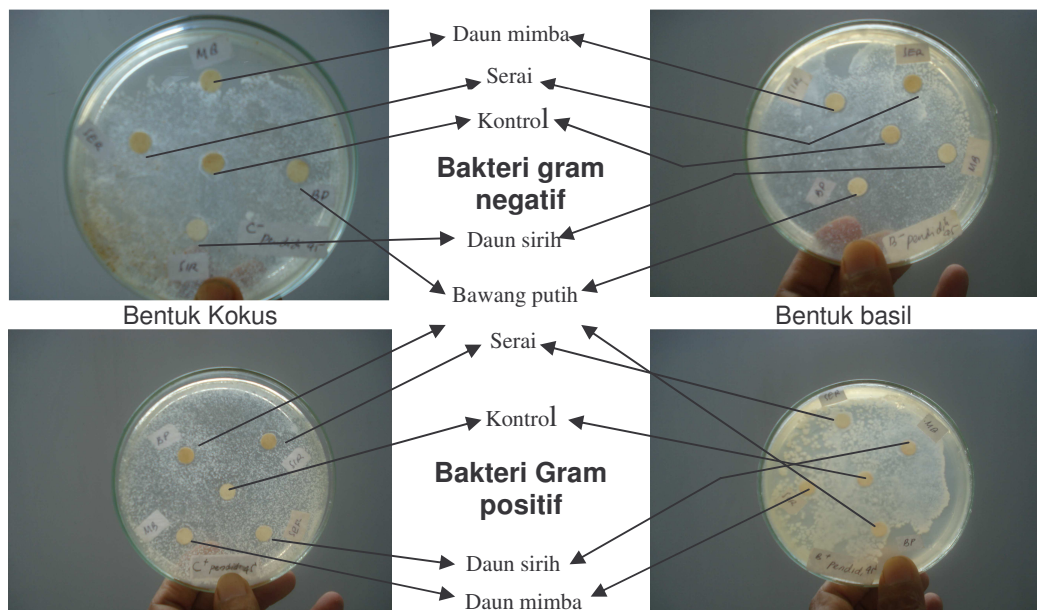
Adanya proses pendidihan selama 45 menit atau dengan mengurangi volume pengenceran menjadi setengahnya, diharapkan mampu mengekstrak bahan aktif yang terkandung dalam bahan tanaman. Namun perlakuan ini justru menonaktifkan senyawa-senyawa kimia antibakteri yang dikandungnya.

Ketidakmampuan bakterisida komersial terhadap berbagai jenis bakteri baik gram positif, gram negatif, bentuk basil maupun kokus diduga bahannya telah kadaluwarsa. Padahal bakterisida komersial dengan bahan aktif antibiotik eritromisin, seharusnya mampu membunuh sebagian besar bakteri gram positif dan sebagian bakteri gram negatif (Pelczar & Chan, 1988).

Tabel 3. Luas Daerah Penghambatan dari Bahan Tanaman yang Dididihkan Selama 45 menit pada Bakteri Gram Positif dan Negatif Bentuk Basil dan Kokus

Perlakuan	Luas Daerah Penghamtan (mm ²)			
	B+	B ⁻	C+	C ⁻
Bakterisida Komersial	0	0	0	0
Daun Sirih	0	0	0	0
Batang Serai	0	0	0	0
Umbi Bawang Putih	0	0	0	0
Daun Mimba	0	0	0	0

Keterangan : B+ = Bakteri Gram Positif Basil B⁻ = Bakteri Gram Negatif Basil
 C+ = Bakteri Gram Positif Kokus C⁻ = Bakteri Gram Negatif Kokus



Gambar 5. Zona Penghambatan dari Ekstrak Bawang Putih, Serai, Daun Mimba dan Daun Sirih yang dididihkan selama 45 menit terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif baik Bentuk Basil maupun Kokus.

Pengujian Secara *In Vitro* dari Penyediaan Bahan Baku yang Difermentasi Selama 24 jam

Proses penyediaan pestisida nabati dengan cara fermentasi mampu meningkatkan keaktifan kandungan bahan antibakterinya. Hal ini terlihat adanya Daerah penghambatan antibakteri yang ditunjukkan oleh batang serai terhadap bakteri gram positif berbentuk basil (8,6 mm²) dan bakteri gram negatif berbentuk kokus (30,6 mm²). Adapun daun sirih menunjukkan

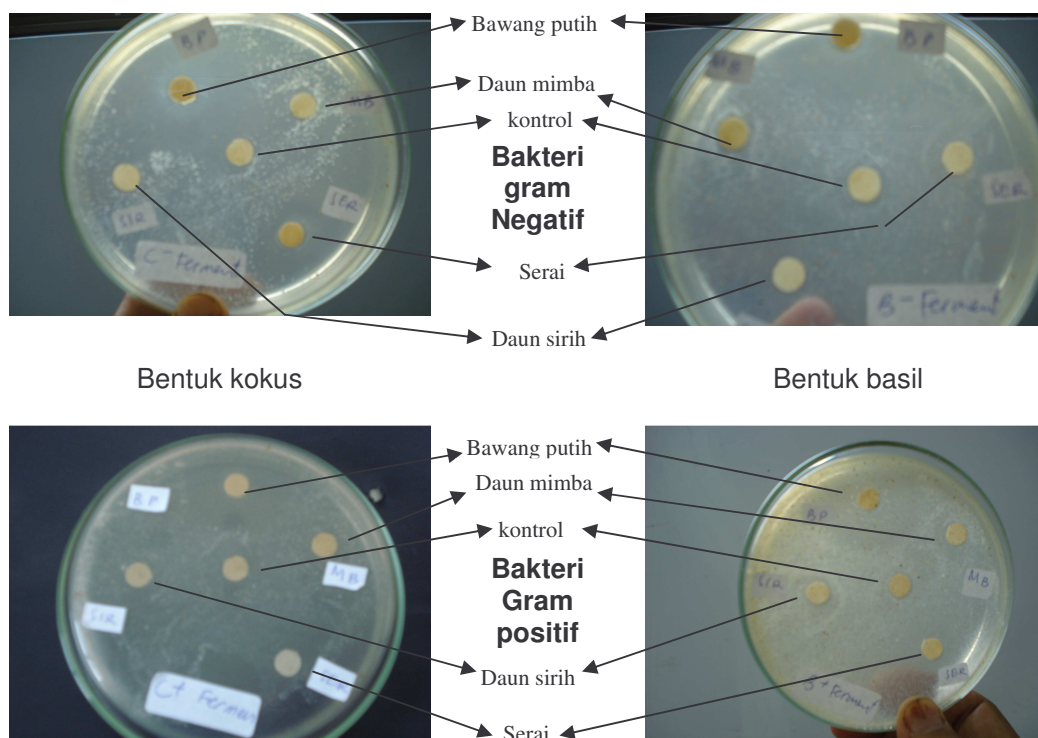
antibakteri yang sama dengan batang serai terhadap bakteri gram positif berbentuk basil dengan Daerah penghambatan sebesar 8,6 mm².

Menurunnya aktivitas antibakteri bawang putih pada perlakuan fermentasi berbanding ekstrak kasar adalah akibat dari pengenceran yang dilakukan untuk proses fermentasi yaitu 1 : 2. Aplikasi penyediaan pestisida nabati yang telah dilakukan oleh Kardiman (2000) adalah juga dengan proses fermentasi.

Tabel 4. Luas Daerah Penghambatan dari Bahan Tanaman yang Difermentasi Selama 24 Jam Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif Bentuk Basil dan Kokus

Perlakuan	Luas Daerah Penghambatan (mm ²)			
	B+	B ⁻	C+	C ⁻
Bakterisida komersial	0	0	0	0
Daun Sirih	8,6	0	0	0
Batang Serai	8,6	0	0	30,6
Umbi Bawang Putih	686,9	511,0	294,4	784,2
Daun Mimba	0	0	0	0

Keterangan : B+ = Bakteri Gram Positif Basil B⁻ = Bakteri Gram Negatif Basil
 C+ = Bakteri Gram Positif Kokus C⁻ = Bakteri Gram Negatif Kokus



Gambar 6. Zona Penghambatan dari Bawang Putih, Serai, Daun Mimba dan Daun Sirih yang difermentasi selama 24 jam terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif baik Bentuk Basil maupun Kokus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak kasar bawang putih berpotensi sebagai pestisida nabati yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri berbentuk basil dan kokus baik dari gram negatif maupun gram positif, adapun daun sirih hanya dapat digunakan untuk bakteri kokus gram negatif. Pendidihan dapat menginaktifkan kerja pestisida nabati. Sedangkan proses fermentasi dapat mengaktifkan potensi daun sirih, serai dan bawang putih sebagai pestisida nabati.

Saran

Perlu penelitian lanjutan untuk pengembangan pestisida nabati baik terhadap tanaman yang memiliki potensi anti mikroba maupun penelitian terhadap campuran formulasi.

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Depkes RI. Jakarta
 Anonymous. 2000. *Tanaman Obat 2. Materi Pelatihan Profesional Tanaman Obat*. (Kelas Profesional). Karyasari, Jakarta.

- Depkes RI. 1992. *Pedoman Rasionalisasi Komposisi Obat Tradisional*. Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan. Depkes R.I.
- Duke, J. A. 1985. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida
- Hassan, H. 1997. *Keajaiban Bawang Putih*. Agromedia. Jilid I, Desember 1997.
- Harjono, I. 1999. *Sistem Pertanian Organic*. Penerbit Aneka Solo.
- Humphries, J. 1988. *Bakteriologi*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kualalumpur Malaysia.
- Kardiman, A. 2000. *Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Kardiman, A. dan A. Ruhyat. 2005. *Mimba Budidaya dan Pemanfaatan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pelczar J. M. dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid 2*. Penterjemah : Hadioetomo *et.al.* UI Press, Jakarta.
- Rukmana, R. & U.U. Sugandi. 1998. *Hama Tanaman dan Teknik Pengendalian*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Sastroamidjojo, S. 1997. *Obat Asli Indonesia*. Dian Rakyat, Jakarta.
- Sutanto, R. 2006. *Penerapan Pertanian Organik, Pemasarakatan dan Pengembangannya*. Penerbit, Kanisius Yogyakarta.
- Wudianto, R. 2007. *Petunjuk Penggunaan Pestisida*. Edisi XVI. Penebar Swadaya, Jakarta.