



LAPORAN KEGIATAN

**STUDI KINETIKA BIODEGRADASI SENYAWA HERBISIDA
S-TRIAZINE OLEH BAKTERI KARANG**

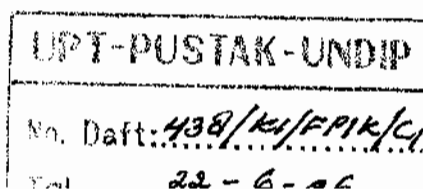
Oleh :

Dr. Ocky Karna Radjasa, M.Sc

Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc

Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005 tanggal 11 April 2005

**PUSAT STUDI PESISIR DAN LAUT TROPIS
UNIVERSITAS DIPONEGORO
DESEMBER 2005**



**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
HASIL PENELITIAN DASAR**

1. Judul :

Studi Kinetika Biodegradasi Senyawa Herbisida s-Triazine oleh Bakteri Karang

2. Ketua Peneliti:

a. Nama Lengkap dan Gelar	: Dr. Ocky Karna Radjasa, M.Sc.
b. Jenis Kelamin	: Laki-laki
c. Pangkat/Golongan/ N I P	: Penata Tk.I/III d/131 918 665
d. Jabatan Fungsional	: Lector Kepala
e. Fakultas/Jurusan	: PIK/Ilmu Kelautan
f. Perguruan Tinggi	: Universitas Diponegoro
g. Pusat Penelitian	: Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis

3. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang

4. Lokasi Penelitian : Pantai Teluk Awur, Jepara

5. Kerja Sama dengan Institusi Lain : -

6. Masa Penelitian : 10 bulan

7. Biaya yang diperlukan : Rp. 15.000.000,00
(Limabelas juta rupiah)

Mengetahui
Ka PSPLT

Dr. Tonny Bachtiar, M.Sc
NIP. 131 863 781

Peneliti Utama

Dr. Ocky Radjasa, M.Sc.
NIP. 131 918 665



RINGKASAN

STUDI KINETIKA BIODEGRADASI SENYAWA HERBISIDA S-TRIAZINE OLEH BAKTERI KARANG

Ocky Karna Radjasa dan Agus Sabdono

Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis, Lembaga Penelitian Universitas
Diponegoro, Tahun 2005, 45 halaman, Ditjend Dikti, Depdiknas, No.
Kontrak 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005 tanggal 11 April 2005

Terumbu karang Indonesia merupakan salah satu sumber daya hayati laut dangkal yang memiliki daya pesona karena kekayaan dan keanekaragaman yang paling lengkap di dunia. Namun meningkatnya penggunaan pestisida di bidang pertanian mengakibatkan terganggunya dan menurunnya kualitas lingkungan yang sangat merugikan bagi keseimbangan ekosistem terumbu karang.

Herbisida s-triazine adalah salah satu pestisida yang beredar di Indonesia yang keberadaannya dapat menyebabkan kerusakan terumbu karang melalui *run-off* residu limbah pertanian. Permasalahan ini perlu dilakukan alternatif penanganan dengan mengeksplorasi bakteri pada lapisan biofilm karang yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa s-triazine. S-triazine adalah herbisida yang biasa dipergunakan untuk mengendalikan pertumbuhan daun rumput-rumput liar/gulma, perdu di wilayah pertanian padi gogo dan jagung.

Target khusus yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah mendapatkan strain bakteri yang berasosiasi dengan karang yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa herbisida triazin dan mengetahui kinetika pertumbuhan dan degradasi bakteri karang pendegradasi senyawa triazine serta mengetahui distribusi dan keanekaragaman melalui pendekatan filogenetik molekuler. Adapun tujuan jangka panjang dari penelitian ini adalah memberikan model alternatif di dalam pelestarian karang dari pencemaran pestisida melalui bioremediasi dengan aplikasi bakteri *indigeneous* strain.

Metode yang dilakukan adalah metode eksploratif. Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Teluk Awur, Jepara terhadap empat life-form karang (massive, sub-massive, foliose dan branching). Tahap-tahap penelitian yang akan dilaksanakan dalam mencapai tujuan tersebut meliputi survei di lapangan dengan penyelaman scuba untuk mengetahui kondisi ekologis dan kondisi karang. Studi degradasi senyawa pestisida oleh bakteri yang berasosiasi dengan karang dilakukan dengan isolasi bakteri dari jaringan karang, purifikasi, uji degradasi, uji sensitivitas, dan kinetika pertumbuhan dan penggunaan senyawa pestisida. Studi filogenetik molekuler meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, gen sequencing 16S rRNA, dan analisis homologi dengan menggunakan program BLAST dan RDP database. Konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan metode neighbour-joining CLUSTAL W dan program PHYLIP.

Hasil penelitian menunjukkan dari 233 isolat yang diperoleh, 83 diantaranya menunjukkan kemampuan mendegradasi senyawa s-triazine. Isolat MT1.8 diseleksi berdasarkan daya degradasi tertinggi (74,85%) dan derajat sensitivitas rendah (8 mm). Uji kinetika isolat MT1.8 mempunyai laju pertumbuhan spesifik tertinggi ($0,7010 \text{ jam}^{-1}$) dan laju penggunaan substrat tertinggi ($0,0022 \text{ jam}^{-1}$) yang dicapai pada konsentrasi 150 ppm. Isolat MT1.8 didapatkan laju pertumbuhan maksimum (μ_{maks}) sebesar $0,349 \text{ jam}^{-1}$ dengan waktu generasi (tg) 1,98 jam dan nilai tetapan kejenuhan (K_s) sebesar 9,56 ppm.

Kata kunci : *s-triazine, degradasi, eksplorasi, life-form, kinetika*

SUMMARY

KINETIC STUDY OF S-TRIAZINE DEGRADATION BY CORAL BACTERIUM

Ocky Karna Radjasa dan Agus Sabdono

Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis, Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro, Tahun 2005, 45 halaman, Ditjend Dikti, Depdiknas, No. Kontrak 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005 tanggal 11 April 2005

Indonesian coral reefs is an ecosystem shallow waters with the most beauty in diversity of the world. The increasing of pesticide used in agriculture have introduced new organic pollutants which are recalcitrant to biodegradation, and their entry into the sea, might be, poses many challenges to the existing coral reefs and even to live in this vicinity in general.

Ametryne herbicide is one of the chemical compound of pesticide that is wide spread distributed in Indonesia. It can cause coral reef degradation in particular caused by ocean pollution from agriculture wastes run-off. This problem need to be handled alternatively by exploring bacteria on the surface of coral biofilm that capable to degrade ametryne herbicide compound. Ametryne is used as herbicides to control the turf on rice of gogo and corn of agriculture area.

The purposes of this research were to isolate and select coral bacteria that have ability to degrade s-triazine herbicide compound, to study the growth kinetics and substrate depletion and the bacterial diversity of s-triazine-degrading coral bacteria. The long-term target on this research is to provide an alternative model for coral conservation through the application of indigeneous bacteria on bioremediation of pesticide pollutants.

The research was conducted by using exploratif method. Sampling was carried out at Pulau Panjang, Jepara waters on four different coral life forms, namely massive, sub-massive, foliose and branching by scuba diving in geographic sample locations. Marine microbiology research was done by preparing Zobell's 2216E media and were used to isolate bacteria from coral tissues. The strain, then, were examined for their

ability to degrade s-triazine by using EMBA indicator medium. Selected bacteria were tested on their sensitivity and s-triazine degrading ability. Kinetic study on bacterial growth and substrate depletion was conducted. Phenotypic characteristics on morphological biochemistry were examined to support the result of molecular identification. The molecular phylogenetic approach based on variation in RFLP of 16S rDNA sequences amplified by polymerase chain reaction (PCR) was conducted for identifying triazine-degrading coral bacteria and for estimating genetic relationship among strains. A phylogenetic-tree was constructed from the distance matrix by using CLUSTAL W. neighbour-joining method and PHYLIP program.

The results showed that among 233 isolates obtained, 83 isolates were capable of degrading ametryne. MT1.8 isolate was selected based on the highest degrading ability (74,86%) and the lowest sensitivity characteristic (8 mm). Growth kinetics studies revealed that the highest specific growth rate ($0,7010 \text{ h}^{-1}$) and the highest specific substrat removal rate ($0,0022 \text{ h}^{-1}$) were achieved at 150 ppm. Growth kinetics of isolate MT1.8 particularly has rate ($\mu_{\max}$) was $0,349 \text{ h}^{-1}$ with generation time was 1,98 h and saturated concentration (K_s) was 9,56 ppm.

Key words: Ametryne, degradation, explore, life-form, kinetics

PRAKATA

Alhamdulillahirabbil 'aalamiin. Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT., hanya karena kasihNya maka penulisan hasil penelitian ini dapat diselesaikan. Penelitian "STUDI KINETIKA BIODEGRADASI SENYAWA HERBISIDA S-TRIAZINE OLEH BAKTERI KARANG" telah dilakukan di Laboratorium Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Teluk Awur Jepara.

Pada kesempatan ini Tim Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu selama penelitian. Untuk itu kami ucapkan terimakasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian tersebut dan kepada Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro atas segala bantuan dan koordinasinya, serta tidak lupa kepada segenap teknisi laboratorium Ilmu Kelautan Undip di Jepara atas segala bantuannya selama penelitian.

Tim peneliti menyadari laporan ini tentunya masih ada kekurangannya. Namun demikian kegiatan ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan bagi tim dalam pengembangan pengetahuan dalam bidang ekologi dan biologi laut.

Semarang, Desember 2005

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN.....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
IV. METODE PENELITIAN.....	12
V. HASIL DAN PEMBAHASAN.	18
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel :	Halaman
1. Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan life-form karang...	19
2. Hasil uji degradasi kualitatif bakteri pada media EMBA	19
3. Rerata degradasi bakteri isolasi dari berbagai lifeform karang...	21
4. Kinetika pertumbuhan dan penggunaan s-triazine isolat MT1.8..	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar :	Halaman
1. Biodegradasi s-triazine	9
2. Uji degradasi kualitatif pada media EMBA	20
3. Linearisasi Lineweaver-Burk terhadap persamaan Michaelis-Menten laju pertumbuhan spesifik isolat bakteri MT1.8	22
4. Pengaruh konsentrasi s-triazine terhadap fase lag isolat MT1.8	24
5. Sekuen lengkap gen 16S rRNA isolat MT1.8	25
6. Hasil analisis homologi sekuen isolat MT1.8 dengan FASTA	26
7. Pohon filogenetik bakteri pendegradasi s-triazine dan strain referensi yang didapat dari database 16S rDNA dengan outgroup organisme <i>Verucomicrobium spinosum</i>	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran :	Halaman
1. Uji Degradasi Bakteri Karang terhadap Senyawa Ametrin dengan Media MBA.....	32
2. Hasil uji Daya Degradasi dan Sensitivitas Bakteri Karang terhadap Senyawa Ametrin pada Media Cair	38
3. Biologi/Riwayat Hidup Peneliti	40

I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri atas 17.558 pulau dengan panjang garis pantai sekitar 81.791 km (Supriharyono, 2000). Letak geografis yang strategis di daerah khatulistiwa, diantara dua benua Asia dan Australia, serta diapit oleh dua samudera Pasifik dan Hindia, menjadikan perairan Indonesia memiliki potensi sumber daya hayati cukup tinggi yang umumnya terlokalisir di perairan laut dangkal. Salah satu sumber daya hayati laut dangkal yang memiliki nilai penting karena kekayaan dan keanekaragaman tumbuhan dan biota laut adalah terumbu karang, disamping ekosistem lamun dan mangrove (Sukarno, 1995). Ekosistem terumbu karang mempunyai nilai dan arti yang sangat penting baik dari segi ekologi, ekonomi, pendidikan dan pariwisata (Suharsono, 1996). Ekosistem terumbu karang dilihat dari segi ekologi memiliki fungsi sebagai sumber keanekaragaman hayati biota-biota laut, tempat tinggal sementara atau tetap, tempat mencari makan, berpijah, daerah asuhan dan tempat berlindung bagi hewan laut lainnya. Disamping itu, ekosistem terumbu karang juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya siklus biologi, kimiawi dan fisik, yaitu sebagai pelindung pantai dari hempasan ombak dan sumber utama bahan-bahan konstruksi. Jika dilihat dari segi ekonomi, ekosistem ini berperan penting dalam penyediaan sumberdaya alam, yaitu sebagai sumber bahan makanan baik secara langsung maupun tidak langsung dan sumber obat-obatan, disamping itu mempunyai nilai penting sebagai pendukung dan penyedia

bagi perikanan pantai termasuk didalamnya sebagai penyedia lahan dan tempat budidaya hasil laut.

Perairan Teluk Awur, Jepara terdapat ekosistem terumbu karang yang secara ekologi berinteraksi dengan aktivitas-aktivitas manusia dari daratan, terutama kegiatan pertanian. Kegiatan pertanian dalam pengelolaannya tidak lepas dari penggunaan pestisida yang mengandung bahan-bahan kimia didalam menjalankan usaha taninya, sehingga dapat meningkatkan pencemaran lingkungan laut akibat dari buangan limbah dan residu obat-obatan pertanian ke sungai yang akhirnya menuju ke laut. Polutan-polutan tersebut dapat menyebabkan tidak berfungsinya atau menurunnya kualitas lingkungan laut yang sangat merugikan bagi keseimbangan ekosistem organisme laut di perairan pantai tersebut. Salah satu bahan pencemar pestisida yang beredar di Indonesia yang sangat dikhawatirkan didalam usaha melestarikan keanekaragaman ekosistem terumbu karang adalah herbisida s-triazine (Anonim, 1999).

Di alam jarang sekali ditemukan kehadiran jasad hidup sebagai biakan murni, akan tetapi selalu berada dalam asosiasi dengan jasad-jasad lain. Terdapat bermacam-macam bentuk asosiasi yang diperankan oleh mikroorganisme dalam perairan. Sehingga tidak mengherankan apabila mikrobia terdapat sangat berlimpah di lingkungan laut, bahkan permukaan karang yang dilapisi oleh lendir/mukus seringkali dikolonisasi oleh bakteri ataupun mikroorganisme lain. (Paul *et al.*, 1986 ; Cofforth, 1990). Salah satu upaya dalam melestarikan ekosistem terumbu karang dari pencemaran senyawa herbisida s-triazine adalah dengan pendekatan antardisiplin ilmu, yang meliputi ilmu mikrobiologi, toksikologi, dan

bioteknologi yaitu dengan memanfaatkan potensi bakteri yang berasosiasi dengan karang untuk dapat digunakan sebagai pendegradasi bahan-bahan kimia pertanian (pestisida), khususnya senyawa herbisida s-triazine.

Pencemaran laut oleh *run-off* limbah pertanian yang berupa herbisida s-triazine berpotensi menyebabkan kerusakan ekosistem terumbu karang yang memiliki dampak sangat berbahaya. Dengan memanfaatkan potensi bakteri pada lapisan biofilm karang diharapkan dapat memberikan satu alternatif pemecahan masalah pencemaran oleh herbisida triazine dalam rangka menunjang usaha perlindungan dan konservasi terumbu karang.

Penelitian mengenai metabolisme dan genetika bakteri yang mampu mendegradasi senyawa pestisida telah banyak dilakukan di luar negeri. Namun informasi kinetika, identifikasi secara molekuler pada gen 16S rRNA dan studi filogenetik bakteri pendegradasi senyawa pestisida s-triazine yang berasal dari jaringan karang belum pernah dilakukan. Sebagian besar bakteri yang digunakan diperoleh melalui isolasi dari tanah, limbah perairan, sampah ataupun sungai. Hal tersebut menjadi sangat penting artinya karena luaran dari penelitian ini nantinya berorientasi pada keberhasilan pemanfaatan mikroorganisme untuk tujuan bioremediasi yang memerlukan seleksi strain bakteri yang secara efektif mampu mendegradasi pencemar lingkungan dalam skala konsentrasi yang luas dan ditekankan terutama pada penggunaan *indigenous strain*.