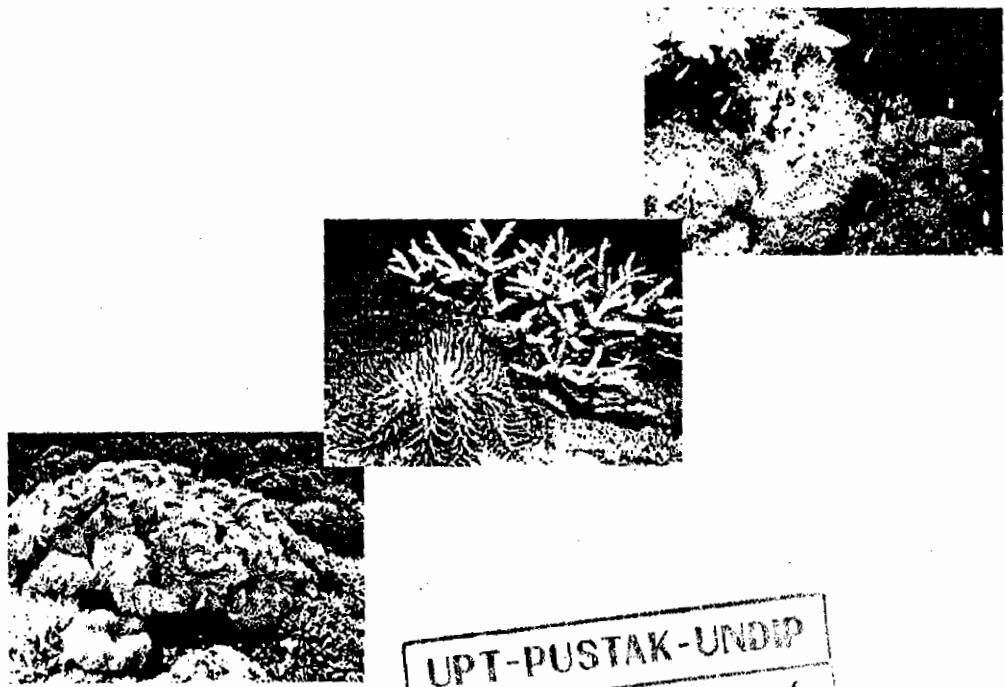


5936  
823  
↓  
a

# LAPORAN PELAKSANAAN

## LOKAKARYA PEMBELAJARAN KEGIATAN PENGELOLAAN TERUMBU KARANG

di  
Hotel Cempaka Jakarta  
23 - 25 Juni 2003

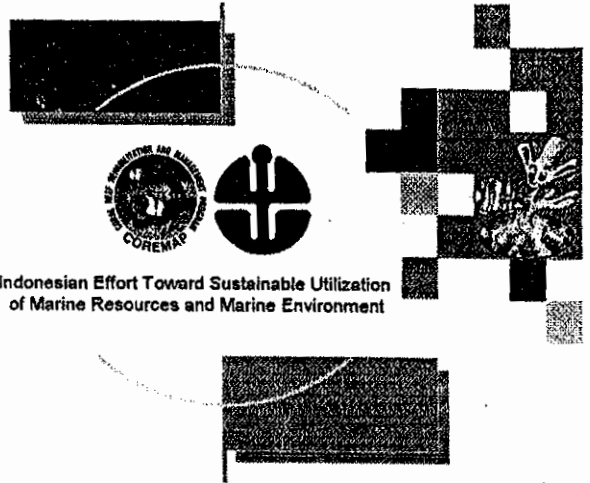


UPT-PUSTAK-UNDIP  
No. Daft: 2711K1 / PPK / e1  
Tgl. 31/06



**PROGRAM REHABILITASI DAN PENGELOLAAN TERUMBU KARANG  
(CORAL REEF REHABILITATION AND MANAGEMENT PROGRAM)  
LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**

# SERTIFIKAT



Diberikan Kepada :

**DR AGUS SABDONO**

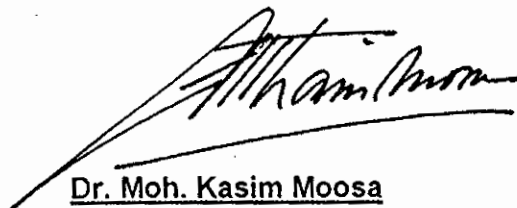
**PEMAKALAH**

**LOKAKARYA**

**Pembelajaran  
Pengelolaan Terumbu Karang Indonesia  
23-25 Juni 2003  
Hotel Cempaka— JAKARTA**

**Program Rehabilitasi dan Pengelolaan Terumbu Karang  
(Coral Reef Rehabilitation and Management Program)**

**LIPI**



**Dr. Moh. Kasim Moosa**  
Sekretaris

# **Biodiversitas Bakteri Karang Pendegradasi Senyawa Pestisida Dan Prospek Pemanfaatannya Di Dalam Perlindungan Ekosistem Terumbu Karang**

Agus Sabdono<sup>(1,2)</sup>

- 1) Pusat Kajian Pesisir dan Laut Tropis - Lemlit UNDIP
- 2) Jurusan Ilmu Kelautan- FPK UNDIP

## **Pendahuluan**

Pencemaran garam-garam dari berbagai senyawa halogen pada perairan pantai utara Jawa, yang disebabkan oleh limbah industri dan meningkatnya penggunaan bahan pestisida, herbisida, dan insektisida di dalam bidang pertanian, menyebabkan tidak berfungsinya dan menurunnya kualitas lingkungan yang sangat merugikan bagi keseimbangan ekosistem terumbu karang di perairan pantai Indonesia. Sebagai negara agraris, para petani Indonesia tidak dapat lepas dari penggunaan bahan kimia pertanian dalam menjalankan usaha taninya. Namun, suatu hal yang sangat mengkhawatirkan pada akhir-akhir ini adalah meningkatnya dan berkembangnya aktivitas kegiatan industri dan pertanian di sepanjang pantai utara Jawa. Banyak industri yang menggunakan bahan baku logam, bahan kimia, hasil pertanian, dan hasil hutan yang belum mengelola limbahnya berdasarkan persyaratan yang telah ditentukan. Sebagai dampaknya, pencemaran lingkungan laut semakin meningkat akibat buangan limbah industri dan residu obat-obatan pertanian ke laut.

Penelitian mengenai efek pestisida terhadap terumbu karang masih sangat sedikit dilakukan. Salah satu penelitian yang dilakukan oleh Glynn *et al.* (1984) menunjukkan bahwa herbisida 2,4-Diklorofenoksi asetat (2,4-D) dan 2,4,5-T mampu membunuh terumbu karang pada konsentrasi yang rendah (0,02 ppm) dalam waktu yang sangat singkat. Keadaan yang lebih mengkhawatirkan adalah 8 dari 12 jenis pestisida yang dikategorikan sangat toksik, baik bagi manusia maupun lingkungan banyak dipasarkan di

Indonesia (Djajanto, 1985). Jenis-jenis pestisida tersebut antara lain Paraquat, glifosat, diuron, ametryn, 2,4-D. jenis-jenis pestisida yang beredar di pasaran, 30 % di antaranya menggunakan bahan aktif 2,4-D, misalnya, Lindomin, DMA, Actril DS, Fernimine 720 AS, Hedonal 818 L, Indamin 720 HC, Tordon 101 dan lain-lainnya (Anonim, 1991).

Masih sedikit upaya yang telah dilakukan untuk melestarikan sumber hayati karang. Kemajuan teknologi dan sains yang semakin pesat telah berhasil mengembangkan suatu sistem katalis biologi dalam mengelola limbah berbahaya untuk mendegradasi, mendetoksikasi, atau mengakumulasi polutan tersebut. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa genus bakteri yang diisolasi dari tanah dan perairan sungai (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*) mampu mendegradasi 2,4-D (Sinton *et al.*, 1986; Chaudry and Huang, 1988). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, seleksi dan identifikasi secara molekuler bakteri karang pendegradasi pestisida.

## **METODE PENELITIAN**

### **Populasi dan Sampel**

Lokasi penelitian yang mewakili daerah industri, intensitas pertanian yang tinggi dan daerah pemukiman pantai, ditentukan dengan terlebih dahulu melakukan survei di kota-kota pantai utara Jawa. Selanjutnya lokasi pengambilan sampel ditentukan secara *stratified random sampling* berdasar hasil survei. Sampling karang dilakukan pada 2 stasiun yang ditentukan masing-masing pada kedalaman 3 dan 10 meter dengan penyelaman *Scuba*.

### **Isolasi Bakteri Karang**

Metode yang akan digunakan dalam mengisolasi bakteri dari karang adalah metode yang dilakukan oleh Chutiwan (1994).

### **Screening Bakteri Karang Pendegradasi Pestisida**

Isolat murni yang diperoleh diuji kemampuannya mendegradasi 2,4-D, Paraquat dan MCPA dengan indikator media EMBA (Loos, 1975).

## Studi Molekuler Bakteri Karang

Studi filogenetik molekuler dilaksanakan dengan melakukan ekstraksi dan amplifikasi 16S rDNA (PCR), DGGE, *sequencing* analisis sekuen DNA.

## HASIL PENELITIAN

### Isolasi dan Screening Bakteri Karang

Hasil isolasi bakteri dari berbagai lokasi dapat dijumpai pada Tabel 1. Tabel dan gambar tersebut menunjukkan jumlah isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari jaringan karang yang diperoleh dari berbagai lokasi. Wahbeh dan Mahasneh (1988) berhasil mengisolasi bakteri dari karang *Acropora sp* dan *Porites sp.* di Laut Merah.

Table 1. Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang dari berbagai lokasi sampling

Geografi asal	Jumlah isolat				Total
	<i>Massive</i>	<i>Submasive</i>	<i>Folious</i>	<i>Branching</i>	
Karimunjawa	22	17	25	27	91
Cilegon	23	24	13	14	74
Jepara	27	22	21	10	80
Situbondo	26	26	21	19	92
Total	98	89	80	70	337

Hasil uji degradasi bakteri karang terhadap senyawa organoklorin pada indikator media dapat dilihat pada Tabel 2. Bakteri karang yang mampu mendegradasi senyawa-senyawa tersebut ditunjukkan dengan adanya perubahan warna koloni menjadi merah pada media EMBA yang masing-masing mengandung 200 mg/l senyawa tersebut.

Warna merah dari koloni disebabkan oleh adanya produksi asam HCl selama proses degradasi (Loos, 1975). Penelitian dengan menggunakan EMBA untuk mendeteksi bakteri yang mampu mendegradasi senyawa organoklorin telah lama dilakukan untuk beberapa genus bakteri, seperti, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, dan *Arthrobacter* (Loos, 1975), dan *Pseudomonas* (Bhat et al., 1994).

Table 2. Hasil uji degradasi bakteri karang terhadap senyawa organoklorin dari berbagai lokasi sampling

Geografi asal	Jumlah isolat bakteri yang mampu mendegradasi		
	2,4-D	Paraquat	MCPA
Karimunjawa	16	14	27
Cilegon	16	10	23
Jepara	14	9	31
Situbondo	13	10	26
Total	59	43	107
Persentase (%)	17,50	12,75	31,75

Warna merah dari koloni disebabkan oleh adanya produksi asam HCl selama proses degradasi (Loos, 1975). Penelitian dengan menggunakan EMBA untuk mendeteksi bakteri yang mampu mendegradasi senyawa organoklorin telah lama dilakukan untuk beberapa genus bakteri, seperti, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, dan *Arthrobacter* (Loos, 1975), dan *Pseudomonas* (Bhat et al., 1994).

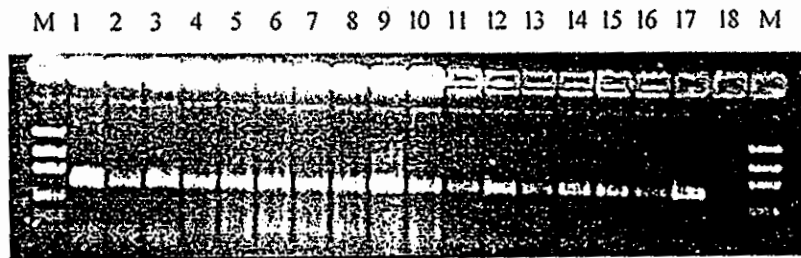
## Studi Molekuler Bakteri Pendegradasi Pestisida

### Amplifikasi gen 16S rDNA-PCR

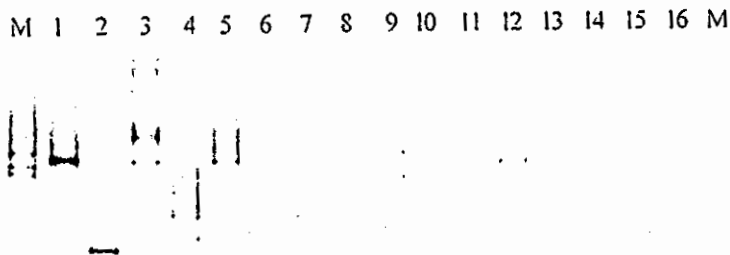
Amplifikasi DNA dari isolat bakteri karang pendegradasi senyawa herbisida paraquat dan MCPA yang diseleksi berdasarkan daya degradasi tertinggi dari ke empat jenis *lifeform* karang dari 4 *geographic origin sampling sites* dapat dilihat Gambar 1. Gambar tersebut menunjukkan bahwa semua isolat menghasilkan *single band* (pita tunggal) dengan ukuran sekitar 1500 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran gen-gen 16S rRNA bakteri yaitu sekitar 1500-1600 bp.

Hasil pola DGGE iasolat bakteri pendegradasi senyawa herbisida paraquat dan MCPA dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil denaturasi gradien dari pita-pita yang terbentuk menunjukkan adanya diversitas genetik

bakteri karang pendegradasi senyawa organoklorin. Hasil fragmen-fragmen DNA dengan posisi yang berbeda didasarkan pada teori tentang melelehnya struktur domain dan komposisi nukleotida (Teske *et al.*, 1996). Gambar 3 menunjukkan adanya 13 pola DGGE yang berbeda dari ekstraksi DNA pada komunitas bakteri karang pendegradasi pestisida. Selanjutnya dilakukan sekuensing pada setiap pola-pola tersebut. Berdasarkan hasil sekuen, identifikasi bakteri dilakukan dengan analisis sekuen dengan BLASTN2.2.4. Hasil identifikasi molekular bakteri karang dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 1. Hasil elektroforesis dari amplifikasi gen 16S rRNA bakteri karang pendegradasi senyawa herbisida paraquat (M: DNA marker;



Gambar 2. Hasil analisis DGGE amplifikasi gen 16S rRNA bakteri karang pendegradasi senyawa herbisida paraquat (M: DNA marker;

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri karang pendegradasi herbisida paraquat

No.	Isolat	Panjang basa	Kerabat terdekat	Nomor Akses	Homologi (%)
1.	SF2310	836	<i>Bacillus epidermidis</i>	X76565.1	92
2.	KS124	707	<i>Vibrio carchariae</i>	X74693.1	99
3.	KB290	737	<i>Bacillus firmus</i>	D16268	97
4.	CF1140	718	<i>Kocuria erythromyxa</i>	Y11330.1	97
5.	SM1260	775	<i>Kocuria palustris</i>	Y16263.1	99
6.	SS1280	873	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	AP004593.1	99
7.	KF251	863	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	AP004593.1	98
8.	CM2106	811	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	AP004595.1	99
9.	JB2242	737	<i>Bacillus firmus</i>	D16268	97
10.	C S1126	792	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	AP004600.1	99
11.	CB2164	742	<i>Salinicoccus roseus</i>	AF237976.1	95
12.	SB2332	840	<i>Salinicoccus roseus</i>	AF237976.1	99
13.	JS1198	810	<i>Bacillus iodinum</i>	X83813.1	98
14.	KM221	825	<i>Bacillus iodinum</i>	X83813.1	98
15.	JM1166	756	<i>Bacillus iodinum</i>	X76567.1	97
16.	JF1222	779	<i>Bacillus iodinum</i>	X83813.1	97

Gambar 2 dan Tabel 3 menunjukkan bahwa DGGE mampu menunjukkan atau mengungkap berbagai macam genotip bakteri. Teske *et al.* (1996<sup>a</sup>) mengatakan bahwa pola DGGE yang berasal dari amplifikasi gen ribosom menggambarkan kondisi keberadaan populasi bakteri. Amplifikasi PCR dari fragment 16S rDNA dari bakteri pendegradasi organoklorin dan dianalisis dengan DGGE menghasilkan berbagai jarak pita DNA, menunjukkan adanya komponen bakteri yang berbeda. Sekuen dari pita DNA-DNA yang sama dari band isolat garis 13, 14, 15, 16 dari bakteri pendegradasi paraquat menunjukkan species *Bacillus iodinum* yang sama. Demikian pula dengan isolat bakteri garis 6, 7, 8 dan 10 dari Gambar 2 menghasilkan strain *Oceanobacillus iheyensis*. Teske *et al.* (1996<sup>b</sup>) melaporkan bahwa migrasi pita DNA yang berbeda menunjukkan spesies yang berbeda dari strain *Desulfovibrio* dan *Acrobacter*. Jackson *et al.* (1998) menyatakan bahwa perubahan kondisi lingkungan akan mempengaruhi komposisi spesies bakteri.



## Kesimpulan

Hasil penelitian tersebut diatas menunjukkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan karang memiliki potensi sebagai strategi alternatif untuk konservasi ekosistem terumbu karang Indonesia. Penerapan pendekatan berbasis molekuler sangat bermanfaat di dalam meningkatkan efisiensi *screening indigeneous* bakteri karang pendegradasi senyawa pestisida.

## PUSTAKA ACUAN

- Anonim 1991. *Pestisida di Indonesia*. Komisi Pestisida. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Bhat, M.A., M. Tsuda, K. Horike, M. Nozaki, C.S. Vidyathan, and T. Nakazawa 1994. *Identification and characterization of a new plasmid carrying genes for degradation 2,4-Dichlorophenoxy acetate from Pseudomonas cepacia CSV90*. Appl. Environ. Microbiol. 60: 3107-3112.
- Chaudry, G.R. and G.H. Huang 1988. *Isolation and characterization of a new plasmid from a Flavobacterium sp. which carries the genes for degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetate*. J. Bacteriol. 170: 3897-3902.
- Chutiwan, D. 1994. *Inhibitory effect of marine bacteria on barnacle larvae*. Ph.D. thesis. Fisheries Science, University of Tokyo, Japan.
- Dapaah, S.Y. and G.A. Hill 1992. *Biodegradation of chlorophenol mixtures by Pseudomonas putida*. Biotechnol. Bioeng. 40: 1353-1358.
- Djajanto, W. 1985. *Chemicals are "No Problem" in Indonesia*. Jakarta Post.
- Glynn, P.W., L.S. Howard, E. Corcoran and A.D. Freay 1984. *Preliminary investigations into the occurrence and toxicity of commercial herbicide formulations in reef building corals*. Proc. The 4<sup>th</sup> Int.Coral Reef Symp, Manila, 473-485.
- Loos, M.A. 1975. *Indicator media for microorganisms degrading chlorinated pesticides*. Can. J. Microbiol. 21: 104-107.
- Sinton, G.L., L.T. Fan, L.E. Erickson, and S.M. Lee 1986. *Biodegradation of 2,4-D and related xenobiotic compounds*. Enzyme Micro. Technol. 8: 395-403.
- Wahbeh, M.I and A.M. Mahasneh 1988. *Composition and bacterial utilization of mucus of corals from Aqaba (Red Sea), Jordan*. Proc. 6<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp. : 53-58.