

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI
DIAZINON DARI KARANG *Porites* sp. DAN *Galaxea* sp.
SEBAGAI UPAYA BIOREMEDIASI DI PERAIRAN TELUK
AWUR JEPARA**

SKRIPSI

Oleh :
BRIGASSA DHAMMANIKA
260 201 151 301 48



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi
Diazinon dari Karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp.
Sebagai Upaya Bioremediasi di Perairan Teluk
Awur, Jepara.

Nama Mahasiswa : Brigassa Dhammanika

Nomor Induk Mahasiswa : 26020115130148

Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan

Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Mengesahkan :

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc.
NIP. 19580615 198503 1 001

Pembimbing Anggota



Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil
NIP. 19640605 199103 1 004

Dekan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro



Prof. Ir. H. Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D
NIP. 19650821 199001 2 001

Ketua
Departemen Ilmu Kelautan



Dr. Ir. Diah Permata Wijayanti, M.Sc.
NIP. 19690116 199303 2 001

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi
Diazinon dari Karang *Porites* sp. dan *Galaxea*
sp. Sebagai Upaya Bioremediasi di Perairan
Teluk Awur, Jepara.
Nama Mahasiswa : Brigassa Dhammanika
Nomor Induk Mahasiswa : 26020115130148
Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan
Tanggal Ujian : 14 Agustus 2019

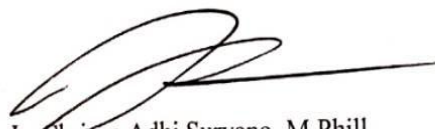
Mengesahkan,

Ketua Penguji



Prof. Dr. Ir. Agus Sabono, M.Sc
NIP. 19580615 198503 1 001

Sekretaris Penguji



Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil
NIP. 19640605 199103 1 004

Anggota Penguji



Dr. Ir. Agus Trianto, S.T., M.Sc
NIP. 19690323 199512 1 001

Anggota Penguji



Ir. Sri Redjeki, M.Si
NIP. 19591214 199103 2 001

Ketua Program Studi



Dr. Ir. Agus Trianto, S.T., M.Sc.
NIP. 19690323 199512 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya, Brigassa Dhammanika (26020115130148), menyatakan bahwa karya ilmiah atau skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata atau strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah atau skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah atau skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, 16 Agustus 2019

Penulis,


Brigassa Dhammanika
26020115130148

RINGKASAN

Brigassa Dhammanika. 26020115130148. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Diazinon dari Karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp. Sebagai Upaya Bioremediasi di Perairan Teluk Awur, Jepara. (Agus Sabdono dan Chrisna Adhi Suryono)

Terumbu karang merupakan ekosistem perairan yang khas di perairan tropis dan memiliki produktivitas serta keanekaragaman biota yang tinggi. Ekosistem terumbu karang memiliki peranan penting bagi kehidupan ekologi perairan terutama sebagai penyedia nutrisi bagi habitat yang berada di sekitarnya. Kerusakan terumbu karang merupakan permasalahan yang serius di dunia laut saat ini. Kerusakan terumbu karang disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya penggunaan pestisida di bidang pertanian. Salah satu jenis pestisida yang sering digunakan para petani yaitu pestisida diazinon. Penggunaan pestisida diazinon di sektor akan meninggalkan residu dan terbawa ke perairan melalui sungai dan saluran air. Residu pestisida diazinon dapat menyebabkan kerusakan ekosistem terumbu karang. Tujuan dari penelitian yaitu untuk mengetahui potensi degradasi pestisida diazinon dari bakteri yang diisolasi dari karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp. dari Perairan Teluk Awur, Jepara. Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 9 Desember 2018 di Perairan Teluk Awur, Jepara dengan menyelam menggunakan SCUBA di kedalaman perairan sekitar 2-4 m. Sampel karang yang diperoleh kemudian dihaluskan dan dilakukan pengenceran secara bertahap, kemudian diinokulasi di media agar laut Zobell 2216E menggunakan teknik sebaran. Skrining resistensi bakteri dilakukan dengan membuat kurva absorbansi pestisida, uji kualitatif bakteri pendegradasi pestisida dan diakhiri dengan uji kuantitatif bakteri pendegradasi pestisida. Tahapan penelitian kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan gram, uji biokimia dan studi molekuler yang meliputi (ekstraksi DNA, elektroforesis, PCR menggunakan gen 16S rDNA dengan primer 27F dan 1492R, dan analisis filogenetik untuk bakteri). Hasil penelitian yaitu didapatkan sebanyak 14 isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp. Isolat bakteri yang dapat mendegradasi pestisida diazinon terbaik yaitu isolat PTA 5 dengan persentase degradasi sebesar 54,18%. Isolat PTA 5 termasuk dalam bakteri gram negatif dan hasil uji biokimia menunjukkan isolat PTA memiliki kemiripan karakter dengan genus *Vibrio* sp. Metode sekuensing dari identifikasi molekuler menunjukkan isolat bakteri PTA 5 memiliki hubungan genetik paling dekat dengan *Vibrio alginolyticus* yang menunjukkan homologi hingga 99%. Hasil ini menunjukkan terdapat bakteri yang berasosiasi dengan karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp. yang dapat mendegradasi pestisida diazinon.

Kata Kunci : Pestisida, Bioremediasi, Terumbu Karang, Bakteri, Teluk Awur.

SUMMARY

Brigassa Dhammanika. 26020115120010. Isolation and Characterization of Diazinon Degradation Bacteria from *Porites* sp. and *Galaxea* sp. As a Bioremediation Effort in Teluk Awur Waters, Jepara. (Agus Sabdono and Chrisna Adhi Suryono)

Coral reefs are aquatic ecosystems that are typical in tropical waters and have high productivity and diversity of biota. Coral reef ecosystems have an important role in aquatic ecological life, especially as a provider of nutrients for habitat around it. Damage to coral reefs is a serious problem in the marine world today. Damage to coral reefs is caused by several factors, one of which is the use of pesticides in agriculture. One type of pesticide that is often used by farmers is diazinon pesticides. The use of diazinon pesticides in the sector will leave residues and be carried into the waters through rivers and waterways. Diazinon pesticide residues can cause damage to coral reef ecosystems. The purpose of this study is to determine the potential degradation of diazinon pesticides from bacteria isolated from *Porites* sp. and *Galaxea* sp. from the waters of Teluk Awur, Jepara. The sampling activity was carried out on December 9, 2018, in Teluk Awur waters, Jepara by diving using SCUBA in the depth of waters around 2-4 meters. Coral samples obtained were mashed and diluted gradually, then inoculated in the media so that the sea Zobell 2216E used the distribution technique. Bacterial resistance screening is done by making pesticide absorbance curves, qualitative tests for pesticide degradation and ending with quantitative tests of pesticide degradation. The stages of the study were then continued with gram staining, biochemical tests and molecular studies which included (DNA extraction, electrophoresis, PCR using the 16S rDNA gene with 27F and 1492R primers, and phylogenetic analysis for bacteria). The results of the study were obtained as many as 14 bacterial isolates associated with *Porites* sp. and *Galaxea* sp. The bacterial isolates that can degrade the best diazinon pesticides are PTA 5 isolates with a degradation percentage of 54.18%. PTA 5 isolates including gram-negative bacteria and biochemical test results showed that PTA isolates had similar characters with the genus *Vibrio* sp. Sequencing method of molecular identification showed that PTA 5 bacterial isolates had the closest genetic relationship with *Vibrio alginolyticus* which showed homology up to 99%. These results indicate that there are bacteria associated with *Porites* sp. and *Galaxea* sp. which can degrade diazinon pesticides.

Keywords: Pesticides, Bioremediation, Coral Reefs, Bacteria, Teluk Awur

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT., yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Diazinon dari Karang *Porites* sp. dan *Galaxea* sp. Sebagai Upaya Bioremediasi di Perairan Teluk Awur, Jepara.” ini dapat terselesaikan.

Dalam Kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Agus Sabdono, M,Sc. selaku dosen pembimbing utama dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, selaku dosen yang membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi di Departement Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro;
2. Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phill selaku dosen pembimbing anggota dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini;
3. Mas Prastyo Abi dan Dio Dirgantara selaku senior pembimbing di laboratorium dan pembimbing penyusunan laporan.
4. Keluarga Tercinta (Aenun Mardhiyah, Haryo Atmoko dan Yaka Garda Satria) yang selalu memberikan support dalam menempuh perkuliahan.
5. Keluarga Besar Prof. Agus Sabdono, M,Sc. selaku keluarga kedua yang selalu memberikan support dalam menempuh perkuliahan di Semarang.
6. Rekan-rekan Barbaros 2015 yang berperan langsung sehingga laporan akhir ini dapat diselesaikan dan seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu;

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna, karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Semarang, 16 Agustus 2019

Penulis

Brigassa Dhammanika
26020115130148

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii,iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan dan Pendekatan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.5. Waktu dan Lokasi.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Pestisida.....	6
2.2. Pestisida Golongan Organofosfat	8
2.3. Pestisida Diazinon	12
2.4. Ekosistem Terumbu Karang	14
2.5. Biologi Terumbu Karang.....	16
2.5.1 Sistem Reproduksi dan Cara Makan Karang	19
2.5.2 Pertumbuhan dan Bentuk Koloni Karang	21
2.6. Jenis-jenis Terumbu Karang.....	22
2.6.1 Karang <i>Porites</i> sp.	23
2.6.2 Karang <i>Galaxea</i> sp.	25
2.7. Bakteri Asosiasi Terumbu Karang	27
2.8. Bioremediasi.....	29
2.9. Degradasi Resdu Pestisida Diazinon.....	31

III. MATERI DAN METODE	33
3.1. Materi Penelitian	33
3.2. Alat dan Bahan	33
3.3. Metode Penelitian.....	35
3.4. Alur Penelitian.....	36
3.5. Prosedur Penelitian.....	37
3.5.1. Penentuan Titik Sampling	37
3.5.2. Pengambilan Sampel.....	37
3.5.3. Studi Mikrobiologi	39
3.5.3.1. Isolasi dan Purifikasi Bakteri.....	39
3.5.3.2. Pewarnaan Gram	40
3.5.3.3. Uji Biokimia	41
3.5.4. Skrining Uji Resistensi Pestisida.....	41
3.5.4.1. Kurva Absorbansi Diazinon	41
3.5.4.2. Uji Kualitatif Isolat Bakteri	41
3.5.4.3. Uji Kuantitatif Isolat Bakteri	42
3.5.5. Uji Molekuler	42
3.5.5.1. Ekstraksi DNA.....	42
3.5.5.2. Amplifikasi dan Visualisasi DNA	43
3.5.5.3. Sekuensing DNA	44
3.5.5.4. Analisa Filogenetik.....	45
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
4.1. Hasil.....	46
4.1.1. Isolasi dan Purifikasi Bakteri	46
4.1.2. Uji Resistensi Bakteri Terhadap Pestisida	47
4.1.2.1. Nilai Absorbansi Pestisida Diazinon	47
4.1.2.2. Uji Kualitatif Bakteri Pendegradasi Diazinon.....	48
4.1.2.3. Uji Kuantitatif Bakteri Pendegradasi Diazinon.....	49
4.1.3. Studi Mikrobiologi	50
4.1.3.1. Pewarnaan Gram	50
4.1.3.2. Uji Biokimia	50
4.1.4. Studi Molekuler.....	52
4.1.4.1. PCR dan Amplifikasi DNA	52
4.1.4.2. Sekuensing DNA	53
4.1.4.3. Analisa Filogenetik.....	54
4.2. Pembahasan	54
4.2.1. Isolasi dan Purifikasi Bakteri	54
4.2.2. Uji Resistensi Isolat Bakteri	56
4.2.2.1. Kemampuan Absorbansi Pestisida Diazinon.....	56
4.2.2.2. Uji Kualitatif Bakteri Pendegradasi Diazinon.....	57
4.2.2.3. Uji Kuantitatif Bakteri Pendegradasi Diazinon.....	59
4.2.3. Studi Mikrobiologi	61
4.2.3.1. Pewarnaan Gram	61
4.2.3.2. Uji Biokimia	62

4.2.4. Studi Molekuler.....	63
4.2.4.1. PCR dan Amplifikasi DNA.....	63
4.2.4.2. Sekuen DNA Menggunakan 16S rDNA.....	64
4.2.4.3. Pohon Filogenetik.....	65
V. KESIMPULAN.....	67
5.1. Kesimpulan.....	67
5.2. Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	75
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	86

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Alat yang digunakan dalam Sampling Lapangan	33
Tabel 2. Alat yang digunakan dalam Studi Mikrobiologi.....	34
Tabel 3. Alat yang digunakan dalam Studi Molekuler	34
Tabel 4. Bahan yang digunakan dalam Penelitian Lapangan dan Laboratorium.....	34
Tabel 5. Karakter Morfologi Bakteri Asosiasi pada Karang <i>Porites</i> sp. dan <i>Galaxea</i> sp.....	46
Tabel 6. Tingkat Absorbansi Pestisida Diazinon	47
Tabel 7. Hasil Skrining Resistensi Bakteri terhadap Pestisida Diazinon.....	48
Tabel 8. Persen Degradasi Isolat Bakteri terhadap Pestisida Diazinon	49
Tabel 9. Laju Degradasi Isolat Bakteri terhadap Pestisida Diazinon 50 ppm.....	49
Tabel 10. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri PTA 5	51
Tabel 11. Hasil Sekuensing 16S rRNA Isolat PTA 5	53
Tabel 12. Hasil <i>BLAST</i> Isolat Bakteri PTA 5 pada <i>Gen Bank</i>	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumus Bangun Pestisida Diazinon	13
Gambar 2. Siklus Polip dan Kerangka Kapur Karang	18
Gambar 3. Siklus Reproduksi Seksual Karang	21
Gambar 4. Diagram Alir Penelitian	36
Gambar 5. Peta Lokasi Pengambilan Sampel Karang	38
Gambar 6. Kurva Absorbansi Pestisida Diazinon.....	47
Gambar 7. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri PTA 5.....	50
Gambar 8. Hasil amplifikasi PCR 16S rRNA, <i>single band</i> hasil pengamatan menggunakan <i>gel documentation</i>	52
Gambar 9. Hasil Analisa Pohon Filogenetik Isolat Bakteri PTA 5.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sterilisasi Alat.....	76
Lampiran 2. Komposisi Media <i>Zobell</i> 2216 E.....	76
Lampiran 3. Cara Pembuatan Media <i>Zobell</i> 2216 E.....	76
Lampiran 4. Pembuatan Volume Reaksi Amplifikasi DNA 50 µl	77
Lampiran 5. Pembuatan Gel Agarose 1 %	77
Lampiran 6. Langkah-langkah Penelusuran BLAST	78
Lampiran 7. Pembuatan Pohon Filogenetik dengan Program MEGA 6.....	78
Lampiran 8. Dokumentasi Resistensi Bakteri	79
Lampiran 9. Data Parameter Lingkungan	82
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian.....	82
Lampiran 11. Perhitungan Persen Degradasi Diazinon	84