

**ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI PENDEGRADASI PARAQUAT DARI TANAH
PERTANIAN DI KAMPAR RIAU**

Bernadeta Leni Fibriarti, Tetty Marta Linda, Elsa Windi Nefira

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru

ABSTRAK

Paraquat is an active material for many kind of herbicide. Paraquat is toxic to every organism, because it can release free radical which react with oxygen to form toxic superoxide. Paraquat's adsorption in soil will increase its persistence as the formation of stabil structure is increase and degradable. A study on isolation and selection paraquat degrader bacteria from agricultural soil kampar Riau. Bacteria were isolated by using N-free media that was enriched with paraquat (10 ppm), then characterized by macroscopic and microscopic method. Growth test was carry out in N-free with paraquat concentration was 20 ppm and 40 ppm which purpose to perceived bacteria growth base on time to generate and growth curve. Result of this study obtained 14 isolated which able to growth on N-free medium with 10 ppm paraquat concentration. One isolate is coccus, Gram positive and 13 isolate rod-shaped, Gram-negative. J311, K212 and K411 was isolate that tested of growth cause have OD value that include on high criteria based on median test. The fastest time to generate with 20 ppm and 40 ppm concentration was belong to isolate K.212 that was 12,99 h and 19,76 h. The longest time to generate for all concentration findable on K411 that was 14,48 h and 24,39 h. The highest growth for all concentration belong to K212 that was $0,53 \text{ h}^{-1}$ and $0,035 \text{ h}^{-1}$ and the lowest findable on K411 that was $0,048 \text{ h}^{-1}$ and $0,03 \text{ h}^{-1}$.

Keywords : paraquat, biodegradation, bacteria

PENDAHULUAN

Paraquat (N,N¹-dimethyl bipyridylum dichloride) adalah bahan aktif berbagai herbisida. Paraquat bersifat toksik terhadap berbagai macam organisme, karena pembentukan radikal bebas yang akan bereaksi dengan oksigen membentuk superoksida toksik yang mempengaruhi membran sel (Anonim, 2003). Diantara banyak jenis herbisida, paraquat memiliki

sifat teradsorpsi oleh tanah sehingga dapat meningkatkan persistensinya karena akan terbentuk struktur yang stabil, dan sukar terdegradasi. Degradasi paraquat secara biologis dengan menggunakan mikrobia merupakan alternatif dalam mengatasi masalah persistensi paraquat di lingkungan yang membawa dampak negatif bagi produktivitas tanah dan menurunkan kualitas lingkungan. Penelitian ini dilakukan

untuk memperoleh isolat bakteri yang mampu mendegradasi paraquat. (Bollag, J.M. & Liu, S.Y. 1990).

Kabupaten Kampar merupakan salah satu kabupaten yang berpotensi dalam bidang pertanian seperti padi, jagung dan sayur-sayuran dan berperan aktif dalam usaha budi daya pertanian (Dinas Tanaman Pangan Propinsi Riau 2004). Berdasarkan hasil survey lapangan yang dilakukan, diketahui bahwa beberapa lahan pertanian di Kabupaten Kampar selalu menggunakan herbisida paraquat untuk mengendalikan gulma. Diduga hal ini menyebabkan terakumulasinya paraquat pada tanah pertanian tersebut. Isolasi Isolat bakteri yang mampu mendegradasi paraquat merupakan langkah awal untuk memperoleh bakteri-bakteri yang mampu mendegradasi herbisida paraquat, sehingga dapat memperbaiki kualitas tanah dan meningkatkan produksi pertanian.

BAHAN DAN METODE

Media isolasi adalah medium *N-free* yang dimodifikasi dengan komposisi menurut Anderson dan Drew, 1972 dan ditambah substrat paraquat 10 ppm. Dilakukan pengukuran pH apabila terlalu asam dititrasi dengan NaOH 0,1 N dan jika

terlalu basa dititrasi dengan larutan H₂SO₄ 0,1 N sampai pH netral.

Isolasi bakteri pendegradasi paraquat. Isolasi bakteri dari sampel tanah yang diambil secara acak pada 3 lokasi tanah pertanian (kebun sawi, kacang ,dan jagung) di Kampar. Sebanyak 1 gr tanah dimasukkan dalam medium *N-free* yang sudah ditambah substrat paraquat, kemudian dilakukan pengenceran dan ditumbuhkan pada media *N-free* agar dengan cara taburan (*pour plate*). Inkubasi dilakukan pada suhu 28⁰C selama 24 jam, koloni tunggal yang tumbuh dipindahkan ke media *N-free* agar secara *streak plate*, demikian seterusnya sampai diperoleh kultur murni. Isolat bakteri murni dinyatakan sebagai isolat bakteri terpilih.

Purifikasi dengan plating koloni sel tunggal. Purifikasi dilakukan dengan teknik plating koloni sel tunggal. Beberapa isolat yang diperoleh ditumbuhkan pada medium *N-free* agar dengan cara goresan dan diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh terpisah dipindahkan pada medium *N-free* agar miring yang ditambah substrat paraquat (10 ppm).

Uji kemampuan tumbuh bakteri pada medium cair yang mengandung paraquat Isolat bakteri murni hasil isolasi

ditumbuhkan pada 100 ml medium *N-free* yang ditambah paraquat sebanyak 20 ppm. Kultur diinkubasi secara aerob pada suhu kamar selama 3 hari. Setelah hari ketiga masing-masing isolat diukur OD (*Optical Density*) pada panjang gelombang 600 nm. Isolat dengan nilai OD yang termasuk dalam kriteria tinggi berdasarkan median merupakan isolat yang diuji pertumbuhannya (Yanti, N.A, 2000). Medium yang digunakan untuk uji kemampuan tumbuh adalah medium *N-free* yang mengandung paraquat dengan konsentrasi 20 dan 40 ppm. Dilakukan pengukuran pH (pH 7), apabila terlalu asam dititrasi dengan NaOH. Ditambahkan inokulum secara aseptis ke medium *N-free*

cair yang mengandung paraquat 20 dan 40 ppm, digojog diatas shaker pada suhu kamar dengan kecepatan 150 rpm. Pertumbuhan bakteri dimonitor setiap 6 jam berdasarkan kerapatan optik pada panjang gelombang 600 nm. Data tersebut digunakan untuk menentukan waktu generasi serta kecepatan tumbuh spesifiknya (μ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri tanah pada 3 lokasi tanah pertanian di Kampar menggunakan medium *N-free* yang ditambah substrat paraquat 10 ppm berhasil diperoleh 14 isolat bakteri. Karakteristik isolat-isolat bakteri tersebut seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Isolat Hasil Isolasi

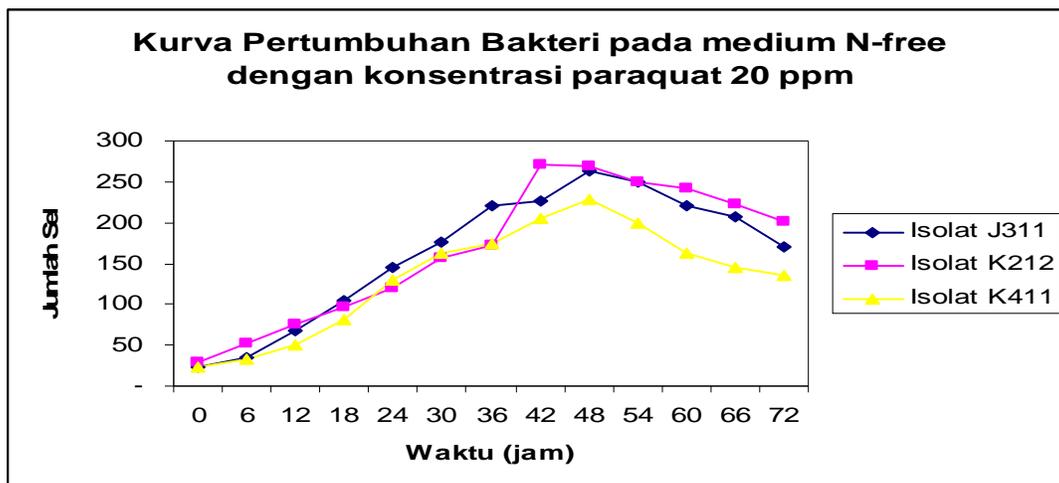
Kode Isolat	Karakteristik Koloni					Reaksi Gram	Bentuk Sel
	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	Diameter (mm)		
J311	Merah muda	Bulat	Rata	Cembung	4	Negatif	Bulat
K411	Merah	Bulat	Rata	Cembung	3	Negatif	Bulat
K212	Krem	Bulat	Rata	Cembung	3	Negatif	Batang pendek
S212	Putih susu	Bulat	Rata	Cembung	2	Negatif	Batang
J111a	Putih susu	Bulat	Rata	Cembung	4	Negatif	Bulat
S211	Putih keabuan	Bulat	Rata	Cembung	2	Negatif	koma
J111b	Putih keabuan	Bulat	Rata	Rata	5	Negatif	Batang
S111	Putih	Bulat	Rata	Rata	3	Negatif	Batang
J312	Orange	Bulat	Rata	Cembung	2	Negatif	Batang
K111	Putih	Tidak beraturan	Berlekuk	Rata	5	Negatif	Bulat
J421	Putih	Bulat	Rata	Cembung	4	Negatif	Bulat
J411	Krem	Bulat	Rata	Cembung	2	Negatif	Bulat
S411	Keabu-abuan	Bulat	Rata	Cembung	2	Negatif	Batang pendek
J212	Krem	Bulat	Rata	Cembung	3	Negatif	Batang

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi kemudian ditumbuhkan pada medium N-free yang ditambah 20 ppm paraquat. Dilakukan pengukuran pertumbuhan secara spektrofotometrik, untuk menentukan 3 isolat yang mempunyai kemampuan tumbuh paling bagus untuk digunakan dalam percobaan selanjutnya. Isolat-isolat bakteri yang mempunyai pertumbuhan paling bagus adalah J311, K212 dan K411.

Uji Pertumbuhan. Uji pertumbuhan isolat bakteri J311, K212 dan K411 menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut mampu tumbuh dengan baik pada medium N-free yang ditambah paraquat dengan konsentrasi 20 ppm dan 40 ppm. Hal ini ditunjukkan pada kurva pertumbuhan Gambar 1 dan Gambar 2.

Pada Gambar 1. merupakan pertumbuhan isolat bakteri pada konsentrasi

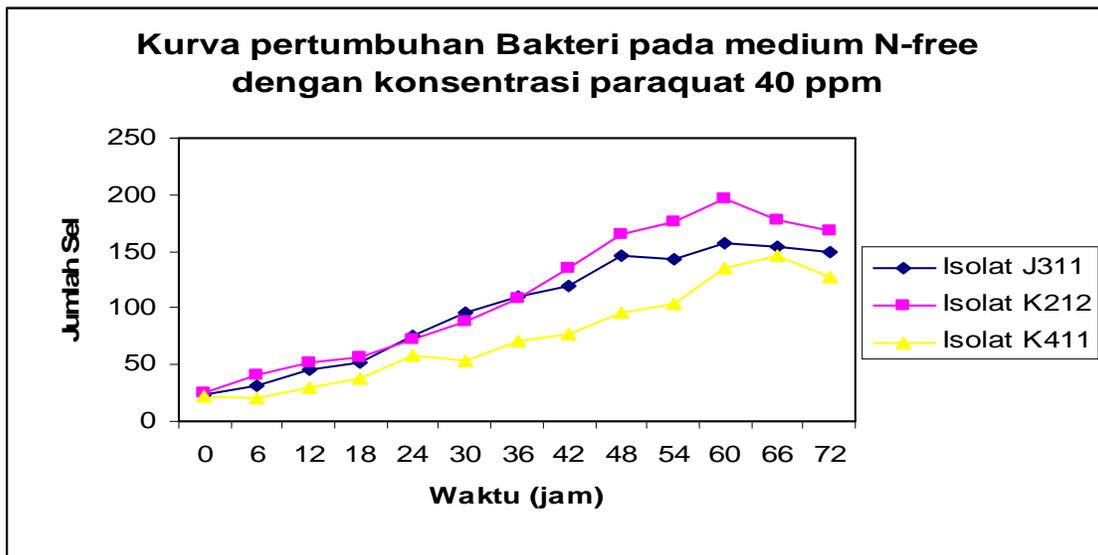
paraquat 20 ppm. Jumlah sel terus mengalami kenaikan sampai waktu 54 jam menunjukkan ketiga isolat mampu tumbuh dengan baik, hampir tidak ada fase lag dan jumlah sel terus mengalami kenaikan sampai waktu 54 jam, setelah itu jumlah sel mengalami penurunan untuk ketiga isolat. Kurva pertumbuhan menunjukkan jumlah sel paling banyak pada konsentrasi paraquat 20 ppm berturut-turut adalah K411, K212 dan J311. Pertumbuhan pada konsentrasi paraquat 40 ppm (Gambar 2) juga menunjukkan kemampuan tumbuh yang baik dari ketiga isolat tersebut, meskipun jumlah sel lebih sedikit jika dibandingkan pertumbuhan ketiga isolat tersebut pada konsentrasi paraquat 20 ppm. Fase lag terjadi pada 12 jam pertama, setelah itu ketiga isolat mengalami kenaikan jumlah sel (fase log) sampai pada waktu 60 jam.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 20 ppm paraquat

Setelah 60 jam ketiganya mengalami penurunan jumlah sel. Pertumbuhan yang paling baik pada konsentrasi paraquat 40 ppm adalah isolat K411, kemudian isolat J311 dan K212 meskipun demikian kedua isolat terakhir menunjukkan pertumbuhan yang hampir sama. Hasil uji kemampuan tumbuh menunjukkan bahwa isolat-isolat bakteri menggunakan paraquat untuk pertumbuhannya dan diduga senyawa

tersebut digunakan sebagai sumber N, karena paraquat merupakan sumber N satu-satunya dalam medium *N-free*. Dugaan ini didasari penelitian Carr,RJG.,Bilton,RF and Atkinson, T.(1985) yang melaporkan bahwa khamir tanah *Lypomyces starkeyi* mampu mendegradasi paraquat sebagai sumber Nitrogen. Hasil penghitungan waktu generasi dan kecepatan tumbuh (Tabel 2).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 40 ppm paraquat

Tabel 2. Waktu generasi dan kecepatan tumbuh/jam 3 isolat pada konsentrasi paraquat 20 dan 40 ppm

Kode Isolat	Waktu Generasi (Jam)		Kecepatan tumbuh /jam	
	20 ppm	40 ppm	20 ppm	40 ppm
J311	13,85	22,17	0,050	0,031
K212	14,48	19,76	0,053	0,035
K411	12,99	24,39	0,048	0,030

Pada Konsentrasi 20 ppm paraquat waktu generasi isolat J311 adalah 13,85 jam, K212 sebesar 12,99 jam dan waktu generasi K411 adalah 14,48 jam. Kecepatan tumbuh tertinggi dimiliki oleh isolat K212 yakni 0,053/jam, kemudian isolat J311 sebesar 0,050/jam dan yang terendah dimiliki isolat K411 yakni 0,048/jam.

Konsentrasi 40 ppm paraquat kecepatan tumbuh tertinggi juga dimiliki isolat K212 yakni 0,035/jam, waktu generasi sebesar 19,75 jam, sedangkan isolat J311 memiliki waktu generasi 22,17 jam kecepatan tumbuh sebesar 0,031/jam. Waktu generasi dan kecepatan tumbuh isolat K411 yakni 24,39 jam dan 0,030/jam.

Uraian di atas menggambarkan bahwa masing-masing isolat mampu lebih cepat memanfaatkan paraquat sebagai sumber nitrogen pada konsentrasi 20 ppm jika dibandingkan dengan konsentrasi 40 ppm. Konsentrasi paraquat yang tinggi (40 ppm) menyebabkan bakteri tersebut tumbuh dengan lambat. Menurut Jilani dan Khan (2004), saat sel bakteri ditumbuhkan pada médium dengan peningkatan konsentrasi yang tinggi dari paraquat bakteri tersebut akan stres dan pertumbuhannya akan lambat. Brock *et al* (1989) mengatakan bahwa, waktu generasi dari setiap mikroba berbeda, kemampuan dalam memanfaatkan sumber nutrisi tidak sama. Kebanyakan bakteri mempunyai waktu generasi antara 1-3 jam, sedangkan bakteri tanah umumnya memiliki waktu generasi sekitar 6-150 menit. Pada penelitian ini, waktu generasi yang dimiliki setiap isolat uji cukup besar yaitu berkisar antara

12,99-14,48 jam untuk konsentrasi 20 ppm dan 19,76 jam-24,39 jam untuk konsentrasi 40 ppm. Hal ini terjadi karena bakteri berada pada lingkungan dengan konsentrasi paraquat yang tinggi, sehingga bakteri tersebut harus mampu memanfaatkan paraquat sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Jilani dan Khan (2004) yang mengatakan bahwa pertumbuhan suatu mikroba sangat dipengaruhi oleh médium kultur.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini berhasil diisolasi 14 bakteri yang mampu mendegradasi paraquat. Tiga isolat yang pertumbuhannya paling baik adalah isolat J311, K212 dan K411. Uji kemampuan tumbuh menunjukkan ketiga isolat tersebut mampu tumbuh dengan baik pada konsentrasi paraquat 20 ppm dan 40 ppm. Isolat yang paling baik pertumbuhannya pada konsentrasi paraquat 40 ppm adalah isolat J311 dengan kecepatan tumbuh 0,031/jam dan waktu generasi 22,17 jam. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai mekanisme biodegradasi paraquat dan identifikasi lanjut dari bakteri yang mempunyai potensi dalam biodegradasi paraquat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.R. & Drew, E.A. 1972. Growth Characteristics of A Species of *Lypomyces* And Its Degradation of paraquat. *Journal Gen. Microbiol.* 70: 43 – 58.
- Anonim. 2003. Fact About Paraquat. <http://www.Pan-uk.org/pestnews/actives/paraquat.htm>. Diakses pada 29 Maret 2004 .
- Bollag, J.M. & Liu. S.Y. 1990. Biological Transformation Processess of Pesticides. *Soil Science of America.Inc. USA.*
- Brock, T.D., Brock, K.M. & Ward, D.M. 1989. Asas Mikrobiologi dan Penggunaannya, Dewan Bahasa dan Kementrian Pendidikan alaysia. Kuala Lumpur.
- Carr, R.J.G., Bilton, R.F. & Atkinson, T. 1985. Mechanism of Biodegradation of Paraquat by *Lypomyces starkeyi*. *Applied Environmetal Microbiology.* 49 :1290-1294.
- Dinas Tanaman Pangan Propinsi Riau. 2004. Laporan Tahunan Dinas Tanaman Pangan Propinsi Riau Tahun 24. Pekanbaru.
- Jilani, B.W. & Khan, M.A. 2004. Isolation, Characterization and Growth Response of Pesticides Degrading Bacteria. *Journal of Biological Science.* 4 (1):15-20.
- Yanti, N.A. 2000. Isolasi, Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Paraquat dari Tanah Gambut Kalimantan. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.