

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Morfologi *Rhizobium* sp dan *Azotobacter* sp

Isolat *Rhizobium* yang berhasil diisolasi dari nodul akar kedele mempunyai ciri-ciri berbentuk batang dan Gram negatif. Koloni semi transparan, konvek dan agak berlendir. Menurut Holt et al. (1994) *Rhizobium* berbentuk batang, Gram negatif dengan ukuran  $0,5-0,9 \times 1,2 - 3,0 \mu\text{m}$  dan motil. Koloni berbentuk sirkular, konvek atau cembung dan semi translusen.

Isolat *Azotobacter* sp. yang berhasil diisolasi dari tanah kebun, berbentuk batang yang lebih besar dari *Rhizobium*. Ovoid, Gram negatif, ada yang tunggal dan ada berpasangan. Menurut Holt et al (1994) dan Brock et al. (1984), sel *Azotobacter* berukuran besar hampir sebesar ragi dengan diameter  $1,5 - 2,0 \mu\text{m}$ . Bersifat Pleomorfik antara batang - kokkus dan Gram -. Tunggal, berpasangan, kadang-kadang berkelompok tidak teratur dan kadang-kadang berantai. Tidak membentuk endospora tetapi membentuk kista dan bersifat motil.

### 5.2. Isolasi *Rhizobium* sp dan *Azotobacter* spp. pendegradasi 2,4-D

Hasil isolasi bakteri *Rhizobium* sp. yang mampu menguraikan 2,4-D didapatkan sebanyak 10 isolat setelah diinkubasi selama 3 minggu pada medium AMS mengandung 20 mg/L 2,4-D (Lampiran 1). Bakteri *Azotobacter* spp. yang berhasil diisolasi adalah sebanyak 8 isolat dalam waktu 3 minggu. Hasil penelitian ini lebih cepat dari penelitian yang dilakukan oleh Donnelly et al. (1993) terhadap jamur dan mikroba saprofit yang melaporkan bahwa pada konsentrasi 4mM tidak ada mikoriza yang mampu tumbuh setelah masa inkubasi 8 minggu. Namun setelah konsentrasi

dikurangi menjadi 1 mM *Phanerochaete chrysosporium* 1767 ternyata mampu memineralsasi senyawa tersebut.

Isolat ini mampu memetabolisme senyawa 2,4-D sebagai substratnya yang dimanfaatkan sebagai sumber C melalui serangkaian reaksi biokimia yang dikatalis oleh enzim. Pemecahan senyawa 2,4-D ini berkaitan dengan aktivitas enzim dehalogenase yang dimiliki oleh isolat dalam memecahkan ikatan karbon-halogen. Menurut Tsay et al. (1988), enzim dehalogenase mengkatalis reaksi pemecahan substrat organik terhalogenasi dengan melepaskan senyawa antara yang dapat dimetabolisme lanjut melalui jalur metabolisme primer.

*Azotobacter* spp. dan *Rhizobium* sp. lain yang tidak mampu tumbuh pada medium AMS-2,4-D ini walaupun diberi dosis herbisida yang lebih rendah mungkin diakibatkan oleh ketidakmampuan mikroba tersebut untuk memproduksi enzim dehalogenase atau mikroba tersebut tidak mampu menggunakan komponen-komponen organik 2,4-D sebagai sumber karbon. Hal ini juga dapat disebabkan oleh tidak tersedianya nutrisi yang cukup seperti sumber N, P, mineral dan lain-lain, sehingga mikroba tidak aktif melakukan metabolisme. Menurut Foster dan Wase (1989) ketidaktersedianya faktor nutrisi bagi mikroba menyebabkan proses degradasi senobiotika berlangsung sangat lambat atau bahkan tidak terjadi sama sekali.

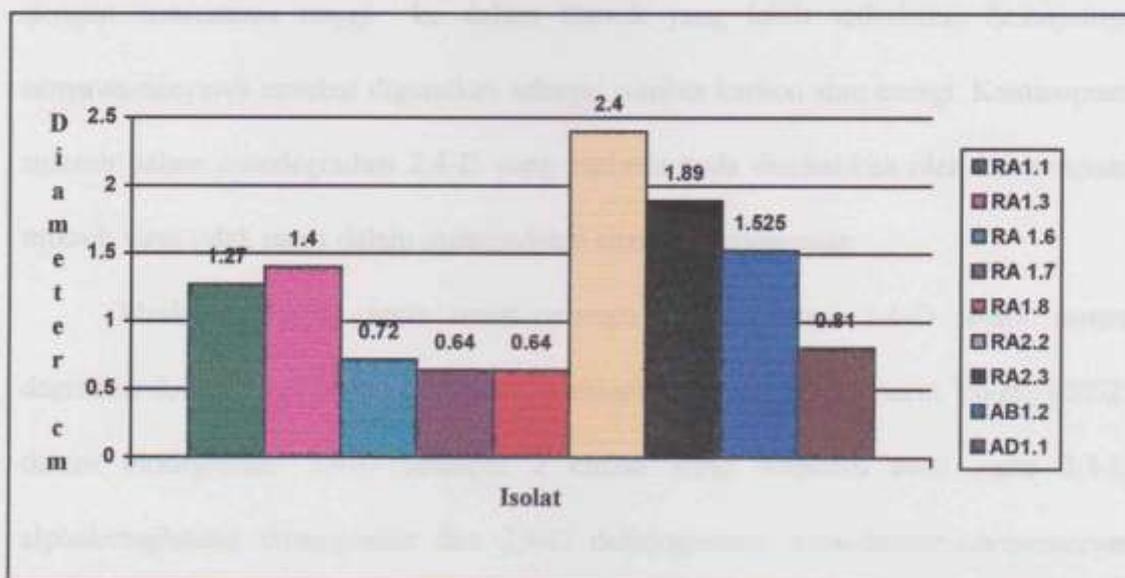
Penggunaan medium yang diperkaya juga turut membuat bakteri mampu berkompetitif pada kondisi yang digunakan. Menurut penelitian Dunbar *et al. cit.* Topp et al. (2001) bakteri pendegradasi 2,4-D yang diisolasi dari kultur diperkaya tumbuh dengan baik daripada populasi yang diisolasi langsung dari tanah.

### 5.3. Seleksi isolat pendegradasi 2,4-D

Bakteri *Rhizobium* sp dan *Azotobacter* sp. pendegradasi 2,4-D yang berhasil tumbuh pada medium AMS-2,4-D yang mengandung 2,4-D 50 ml/l adalah sebanyak 7 isolat sedangkan *Azotobacter* sp hanya terdapat 2 isolat (Gambar 1.)

Pada *Rhizobium* strain A2.2 dan A2.3 merupakan isolat yang mempunyai kemampuan degradasi tinggi dengan diameter zona perubahan warna 2,40 cm dan 1,89 cm. Isolat yang mempunyai kemampuan biodegradasi sedang ada 2 isolat dan isolat dengan daya degradasi rendah sebanyak 3 isolat yaitu A1.6 (0,72 cm), A1.7 dan A1.8 masing-masing dengan diameter 0,64 cm.

Dari 8 isolat *Azotobacter* yang didapat dari isolasi awal, hanya 2 isolat saja yang mampu tumbuh pada medium mengandung 50 mg/l 2,4-D.



Gambar 1. Diameter koloni isolat *Rhizobium* sp dan *Azotobacter* spp pada medium AMS-2,4-D setelah inkubasi 14 hari (cm)

Ket : RA = *Rhizobium*  
AB dan AD = *Azotobacter*

Isolat *Azotobacter* B1.2 mempunyai daya degradasi yang tinggi yaitu sebesar 1,525 cm sedangkan isolat *Azotobacter* D1.1 termasuk kategori sedang dengan diameter 0,81 cm.

Isolat yang tumbuh pada medium AMS-2,4-D 50 mg/l jauh lebih sedikit dari AMS dengan konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah atau 20 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut tidak mampu menggunakan 2,4-D dengan konsentrasi lebih tinggi untuk keperluan metabolismenya karena daya tahan suatu mikrob terhadap suatu senyawa bervariasi. Konsentrasi 2,4-D yang terlalu tinggi bersifat toksik bagi isolat-isolat tersebut. Donnelly et al. (1993) melaporkan bahwa pada konsentrasi 2,4-D 4 mM setelah waktu inkubasi 8 minggu tidak ada kultur jamur mikoriza yang mampu tumbuh, kecuali setelah konsentrasi 2,4-D diturunkan menjadi 1 mM.

Sembilan isolat memperlihatkan kemampuannya menguraikan herbisida 2,4-D dengan konsentrasi tinggi ke dalam bentuk yang lebih sederhana. Selanjutnya senyawa-senyawa tersebut digunakan sebagai sumber karbon atau energi. Kemampuan mikrob dalam mendegradasi 2,4-D yang berbeda-beda disebabkan oleh kemampuan mikrob yang tidak sama dalam menginduksi enzim dehalogenase.

Meskipun kedua jenis isolat mampu mendegradasi 2,4-D tetapi proses degradasi 2,4-D yang dilalui oleh mikrob belum tentu serupa. Menurut Young (2002) dalam biodegradasi 2,4-D terdapat 2 enzim yang berperan awal yaitu 2,4-D alphaketoglutarat dioxygenase dan 2,4-D dehalogenase. *Azotobacter chroococcum* mendegradasi 2,4-D melalui enzim 2,4-D alphaketoglutarat dioksigenase menjadi glioksilat suatu metabolisme intermediet.