

SELEKSI KEMAMPUAN BAKTERI PELARUT FOSFAT ASAL BUKIT BATU-RIAU DALAM MENGHASILKAN ASAM SIANIDA

Pristiana Aprillia¹, Delita Zul², Bernadeta Leni Fibriarti²

¹Mahasiswa Program Studi S1 Biologi FMIPA-UR

²Dosen Jurusan Biologi FMIPA-UR

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Bina Widya Pekanbaru 28293, Indonesia

e-mail: pristianaaprillia@yahoo.co.id

ABSTRACT

Phosphate solubilizing bacteria (PSB) is beneficial bacteria which are not only capable in solubilizing organic phosphate into inorganic phosphate, but also producing cyanide acid (HCN). HCN plays a role in controlling weed growth. The objective of this research was to screen the potency of indigenous PSB isolated from peat soil in producing HCN. The collections of PSB were subcultured in King's B broth. The ability of 152 isolates on HCN production were tested qualitatively using filter paper soaked with picric acid and Na₂CO₃. The result indicated that as many as 26 isolates (17.1%) were able to release various levels of HCN production based on the appearing of brown, dark brown, or reddish brown colour on the filter paper.

Key words: Cyanide acid, Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB), weed

ABSTRAK

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan bakteri yang tidak hanya mampu mengubah P organik menjadi P anorganik tapi juga mampu menghasilkan HCN. HCN mampu dalam mengendalikan gulma. Tujuan penelitian ini untuk skrining potensi isolat BPF indigenous asal tanah gambut dalam menghasilkan HCN. Koleksi isolat BPF dikulturkan pada medium King's B cair. Kemampuan dari 152 isolat menghasilkan HCN diuji secara kualitatif dengan menggunakan metode kertas saring yang dibasahi dengan asam pikrat dan Na₂CO₃. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 26 isolat (17,1%) mampu memproduksi HCN dengan tingkat kemampuan yang bervariasi berdasarkan perubahan warna kertas saring menjadi coklat, coklat tua atau coklat kemerahan.

Kata kunci : Asam Sianida (HCN), Bakteri Pelarut Fosfat, Gulma

PENDAHULUAN

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan bakteri tanah yang bersifat non patogen dan termasuk dalam kategori bakteri pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri pelarut fosfat juga mampu menghasilkan vitamin dan fitohormon (Glick, 1995) seperti auksin (IAA), sitokinin dan giberalin yang sangat berperan bagi peningkatan pertumbuhan tanaman. Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) diantaranya adalah Pseudomonas dan Bacillus

(Sarma *et al.*, 2009). Menurut Kremer dan Souissi (2001), strain dari *Pseudomonas* juga mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa asam sianida (HCN) yang dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan akar gulma.

Gulma merupakan salah satu kendala dibidang pertanian, karena gulma menyerap hara dan air lebih cepat dibandingkan tanaman utama (Soerjandono, 2005). Menurut Pane *et al.*, (1999) dalam Soerjandono (2005) gulma banyak menyebabkan kerugian, sehingga petani menggunakan herbisida dalam menanggulangi gulma. Penggunaan herbisida pada jangka waktu yang lama dapat membahayakan lingkungan sehingga pengendalian gulma secara biologis dikenal sebagai cara alternatif dalam pengendalian gulma.

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi kemampuan bakteri pelarut fosfat asal Bukit Batu-Riau dalam menghasilkan asam sianida. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kemampuan koleksi isolat BPF dalam menghasilkan asam sianida (HCN).

METODE PENELITIAN

Isolat BPF yang digunakan merupakan koleksi isolat Laboratorium Mikrobiologi yang diisolasi dari tanah gambut Bukit Batu Riau. Isolat BPF diuji kemampuannya dalam menghasilkan asam sinida (HCN). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan BiologiFakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Peremajaan Koleksi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat

Pada penelitian ini digunakan sebanyak 152 koleksi isolat bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Riau. Untuk perlakuan setiap uji, isolat-isolat dikulturkan kembali dalam medium Pikovskaya miring. Kultur isolat digoreskan pada permukaan medium, kemudian diinkubasi pada suhu ruang sampai terjadi pertumbuhan.

Pembuatan Inokulum Bakteri Pelarut Fosfat

Sebanyak satu ose isolat bakteri dimasukkan ke dalam 9 ml medium King's B cair. Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

Uji Potensi Isolat BPF dalam Menghasilkan HCN

Inokulum bakteri pelarut fosfat sebanyak 2 ml (20%) dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 8 ml medium King's B cair. Di bagian pinggir tabung reaksi diletakkan kertas saring yang telah dipotong berbentuk persegi panjang dengan ukuran 3x1cm dan dijenuhkan dengan asam pikrat 1% dan Na₂CO₃ 10%(Lorck, 1948). Kemudian diinkubasi selama 48 jam dan diamati perubahan warna yang terjadi pada kertas saring dengan rentang waktu pengamatan 4, 8 dan 48 jam. indikator pengamatan yang digunakan adalah perubahan warna kertas saring Indikator perubahan warna yang digunakan adalah berubahnya warna kertas saring dari kuning menjadi coklat muda atau

kuning kecoklatan, coklat tua dan coklat kemerahan sebagai indikasi tingkat kemampuan bakteri dalam menghasilkan HCN (Kremer dan Souissi, 2001).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis data secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk tabel dan gambar (Hadioetomo 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 26 isolat (17,1%) dari 152 koleksi isolat BPF yang diisolasi dari Bukit Batu Riau mampu menghasilkan HCN dengan tingkat kemampuan yang bervariasi. Dari 26 isolat tersebut sebanyak 2 isolat (7,7%) mampu menghasilkan HCN dengan tingkat kuat, 2 isolat (7,7%) dengan tingkat kemampuannya sedang dan 22 isolat (84,61%) lainnya mempunyai tingkat kemampuan yang lemah dalam menghasilkan HCN. Rincian data disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Isolat yang mampu dalam menghasilkan HCN

No	Kode Isolat	Perubahan Warna	Produksi HCN*
1	BB_BK4	Coklat muda	+
2	BB_BK6	Coklat muda	+
3	BB_BK11	Coklat muda	+
4	BB_BK12	Coklat muda	+
5	BB_HP13	Coklat muda	+
6	BB_HP16	Coklat muda	+
7	BB_HP25	Coklat muda	+
8	BB_HP29	Coklat muda	+
9	BB_HP31	Coklat muda	+
10	BB_K14	Coklat muda	+
11	BB_HS11	Coklat muda	+
12	BB_S15	Coklat muda	+
13	BB_S18	Coklat muda	+
14	BB_UB6	Coklat muda	+
15	BB_UB15	Coklat muda	+
16	BB_UB24	Coklat muda	+
17	BB_UB32	Coklat muda	+
18	BB_UB34	Coklat muda	+
19	BB_UB39	Coklat muda	+
20	BB_UB40	Coklat muda	+
21	BB_UB42	Coklat muda	+
22	BB_K1	Coklat muda	+
23	BB_UB35	Coklat tua	++
24	BB_HP15	Coklat tua	++
25	BB_S10	Coklat kemerahan	+++
26	BB_K9	Coklat kemerahan	+++

*+ (lemah), ++ (sedang) dan +++ (kuat) dalam menghasilkan HCN.

Persentase perolehan isolat yang mampu menghasilkan HCN pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian lain yang menggunakan metode yang sama. Pada penelitian Kremer dan Souissi (2001) diperoleh sebanyak 640 isolat yang diisolasi

dari rizosfer *Euphorbia* spp. dari beberapa tempat di Eropa dan Amerika utara, hanya 0,47% (3) isolat yang mampu menghasilkan HCN. Isolat tersebut adalah *Pseudomonas* sp. yang mempunyai kemampuan tinggi dalam menghasilkan HCN, serta *P. fluorescens* 672 dan *P. syringae* yang mempunyai tingkat kemampuan rendah dalam menghasilkan HCN. isolat diuji kemampuannya dalam menghasilkan HCN pada medium King's B padat dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28°C.

Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Backer dan Schippers (1987). Dari 98 isolat yang diisolasi dari rizosfer tanaman gandum dan kentang, hanya 4 isolat (4,1%) yang mampu menghasilkan HCN dengan metode yang sama. Sebanyak 20 isolat yang diisolasi dari rizosfer kacang polong di daerah Aligarh dari utara Pradesh, India, sebanyak 3 isolat (15%) isolat mempunyai tingkat yang tinggi dalam menghasilkan HCN, 10 isolat (50%) mempunyai tingkat yang sedang dalam menghasilkan HCN dan 7 isolat (35%) isolat mempunyai tingkat yang rendah dalam menghasilkan HCN (Siddiqui dan Shakeel, 2009).

Pada penelitian Soltani *et al.*, (2010), sebanyak 45 isolat yang diisolasi dari rizosfer gandum mampu menghasilkan HCN dengan tingkat yang rendah. Uji tersebut menggunakan medium TSA yang ditambah dengan glikol dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 28°C. Penelitian Sutariati *et al.*, (2006) didapatkan sebanyak 4 isolat (*P. fluorescens*, P604, P607 dan P601) yang diisolasi dari rizosfer tanaman cabai sehat yang tumbuh diantara tanaman cabai yang terserang *Colletotricum capsici* di perkebunan cabai rakyat Sukabumi, Jawa Barat juga mampu menghasilkan HCN.

Perubahan warna kertas saring terjadi akibat adanya reaksi antara asam pikrat/ Na_2CO_3 dan sianida yang dihasilkan oleh bakteri menjadi bentuk natrium sianida (NaCN). NaCN terbentuk melalui penyerapan gas sianida oleh larutan NaOH atau Na_2CO_3 melalui reaksi antara natrium dan amonia yang pada awalnya akan terbentuk NaNH_2 yang akan bereaksi dengan karbon dan akan menghasilkan natrium sianamida (Na_2NCN) dan akhirnya akan terbentuk NaCN yang merupakan salah satu jenis dari sianida (Knowles, 1976).

Hidrogen sianida adalah senyawa anorganik. HCN tersebar luas di perairan dan berada dalam bentuk ion sianida (CN^-), hidrogen sianida (HCN) dan metalosianida (Purba, 2009). Sianida sangat bersifat reaktif, sehingga biasanya sianida ditemui berikatan dengan senyawa lain diantaranya adalah hidrogen sianida, sodium sianida dan potasium sianida. Kelompok organisme yang dapat menghasilkan sianida meliputi bakteri, jamur, tanaman dan ganggang (Castric *et al.*, 1983).

Pada umumnya sianida banyak diproduksi oleh jamur, namun bakteri juga mampu menghasilkan sianida. *Pseudomonas* dan *Chromobacterium violaceum* adalah contoh bakteri yang mampu menghasilkan HCN (Knowles, 1976). Hasil penelitian Kremer dan Souissi (2001), menunjukkan beberapa strain dari *Pseudomonas* juga dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa HCN yang dapat mempengaruhi metabolisme akar dan pertumbuhan akar dari gulma. Strain dari *Pseudomonas* yang mampu menghasilkan sianida adalah *P. chlorophis*, *P. aureofaciens*, *P. Aeruginosa* (Knowles, 1976), *P. fluorescens* (Jayaprakashvel, 2010). Hasil penelitian Ahemad dan Khan (2011) menjelaskan bahwa isolat *Pseudomonas putida* strain PS9 mampu menghasilkan HCN.

Metode yang dilakukan pada penelitian ini sesuai dengan metode yang digunakan oleh Lorck (1948) yaitu menggunakan metode kertas saring yang diberi asam pikrat dan Na₂CO₃, sedangkan pada studi terbaru metode yang digunakan untuk mengukur jumlah sianida yang terbentuk adalah tes kolorimetrik. Dengan menggunakan metode ini mampu mendeteksi produksi sianida sampai tingkat yang paling rendah. Produksi sianida juga dipengaruhi oleh adanya prekursor yaitu glysin (Knowles, 1976). Dengan penambahan glysin pada medium mampu meningkatkan produksi sianida oleh *P. aeruginosa*, namun penambahan glysin pada medium cair pada isolat *B. cenocipacea* tidak terdeteksi adanya sianida. Selain penambahan glysin, penambahan methionin juga mampu meningkatkan produksi sianida (Ryall *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini tidak ditambahkan glysin pada medium sebagai prekursor, namun tetap terbentuk sianida. Medium yang digunakan pada penelitian ini mengandung pepton yang juga dapat meningkatkan produksi sianida selain penambahan glysin, alanin, guanin dan metionin (Michaels dan Corpe, 1965). Oksigen juga berpengaruh terhadap pembentukan sianida. Pada *P. aeruginosa* sianida terbentuk pada kadar oksigen rendah, namun isolat *B. cenocipacea* tidak mampu menghasilkan sianida dengan keadaan oksigen yang rendah. Pada penelitian ini isolat bakteri yang digunakan berumur 24 jam untuk produksi sianida yang optimal dan kondisi inkubasi dalam keadaan aerob dan pada suhu ruang. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Knowles (1976), Michaels dan Corpe (1965), yang menunjukkan bahwa produksi sianida yang optimal pada bakteri terjadi pada awal fase stationer, namun ada beberapa spesies yang mampu menghasilkan sianida pada keadaan aerob. sianida tidak dapat terbentuk pada suhu diatas 30°C (Ryall *et al.*, 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian mengenai uji potensi BPF dalam menghasilkan Asam sianida dapat diambil kesimpulan sebagai berikut, diperoleh sebanyak 26 isolat yang mampu menghasilkan Asam sinida dengan kemampuan yang bervariasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sri Astuti, Wilson Nainggolan, dan Izzatun Nafsiah yang telah mengisolasi BPF dari tanah gambut GSK-BB Riau. Rasa terima kasih juga disampaikan kepada Kepala dan Laboran Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau atas pemberian izin penggunaan fasilitas laboratorium selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakker AW, Schippers B. 1987. Microbial Cyanide Relation to Potato Yield Reduction and *Pseudomonas* spp-Mediated Plant Growth-Stimulation. 19(4):451-457.
- Castric KF, Castric PA. 1983. Method for Rapid Detection of Cyanogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 45(2):701-702.

- Glick BR. 1995. The Enhancement of Plant Growth by Free Living Bacteria. *Canadian Journal Microbiology* 41: 109-117.
- Hadioetomo RS. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. PT Gramedia. Jakarta.
- Jayaprakashvel M, Muthezhilan R, Srinivasa R, Hussain AJ, Gobalakrishnan S, Bhagat J, Kaarthikeyan C, Muthulakshmi R. 2010. Hydrogen Cyanide Mediated Biocontrol Potential of *Pseudomonas* sp. AMET1055 Isolate From The Rhizosphere of Coastal Sand Dune Vegetation. *Research Article*. 9:30-42.
- Knowles CJ. 1976. Micoorganisms and Cyanide. *Microorganisms Reviews*. 40(3):652-680.
- Kremer RJ, Thouraya S. 2001. Cyanide Production by Rhizobacteria and Potential for Suppression of Weed Seedling Growth. *Current Microbiology* 43:182-186.
- Lorck H. 1948. Production of Hydrocyanic Acid by Bacteria. *Physiology Plant* 1:142-146.
- Pane H, Bangun P, Jatmiko SY. 1999 Pengelolaan Gulma pada Pertanaman Padi Gogorancah dan Walik Jerami di Lahan Sawah Tadah Hujan. *Dalam: Soetjipto P, J. Soejitno dan Hermanto (eds). Risalah Seminar Hasil Penelitian Emisi Gas Rumah Kaca dan Peningkatan Produktivitas Padi di Lahan Sawah. Pusat Penelitian Tanaman Pangan Bogor.* hlm 321-334.
- Purba MEK. 2009. Analisa Kadar Total Suspended Solid (TSS), Amoniak (NH₃), Sianida (CN⁻) dan Sulfida (S²⁻) pada Limbah Cair BAPEDALSU. [Karya Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Ryall B, Lee X, Zlosnik JEA, S Hoshino, HD Williams. 2008. Bacteria of *Burkholderia cepacia* Complex are Cyanogenic Under Biofilm and Colonial Growth Condition. *Biomed Central Microbiology*. 8:108.
- Sarma MV, RK Saharan, K Prakash, A Dapatria, V Sahai. 2009. Application of Fluorescent Pseudomonads Inoculant Formulations on *Vigna mungo* Through Field Trial. *International Journal of Biological and Life Sciences* 5:25-29.
- Siddiqui ZA, Shakeel U. 2009. Biocontrol of Wilt Disease Complex of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L) Mill BP) by Isolates of *Pseudomonas* spp. *African Journal of Plant Sciences*. 3(1):001-012.
- Soerjandono NB. 2005. Teknik Pengendalian Gulma Dengan Herbisida Persistensi Rendah pada Tanaman Padi. *Buletin Teknik Pertanian*. 10(1).
- Soltani AA, Khavazi K, Rahmani HA, Alikhani HA, Omidvari A, Dahaji PA. 2012. Evaluation of Biological Control Traits in Some Isolate of *Flourescent pseudomonas* and *Flavobacterium*. *Journal of Agricultural Since*. 4(1).
- Sutariati GK, widodo, Ilyas S. 2006. Karakter Fisiologis dan Keefektifan Isolat Rhizobakteri Sebagai Agen Antagonis *Colletotrichum capsii* dan Rhizobakteria Pemacu Pertumbuhan Tanaman Cabai. *Jurnal Ilmiah Pertanian Kultura*. 41(1).