



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**KARAKTEISTIK RHIZOBAKTERIA PEROMBAK GLIFOSAT
BERKEMAMPUAN MENGHASILKAN FITOHORMON IAA DARI
RHIZOSFER TITONIA (TITHONIA DIVERSIFOLIA) YANG
TUMBUH DI ULTISOL**

SKRIPSI



**CHAIRIN NISA
0910212162**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**KARAKTERISASI RHIZOBAKTERIA PEROMBAK GLIFOSAT
BERKEMAMPUAN MENGHASILKAN FITOHORMON IAA DARI RHIZOSFER
TITONIA (*Tithonia diversifolia*) YANG TUMBUH DI ULTISOL**

Oleh:

CHAIRIN NISA

0910212162

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

KARAKTERISASI RHIZOBAKTERIA PEROMBAK GLIFOSAT
BERKEMAMPUAN MENGHASILKAN FITOHORMON IAA DARI
RHIZOSFER TITONIA (*Tithonia diversifolia*) YANG TUMBUH DI
ULTISOL

SKRIPSI

OLEH

CHAIRIN NISA
0910212162

MENYETUJUI :

Dosen Pembimbing 1



Dr. Ir. Agustian

NIP. 196108071986031006

Dosen Pembimbing 2



Ir. Lusi Maira, M. Agr. Sc.

NIP. 196405281990032001

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas



Prof. Dr. Ir. H. Ardi, MSc

NIP. 195312161980031004

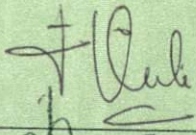
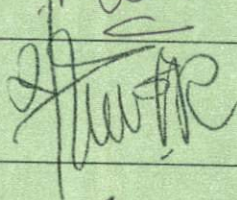
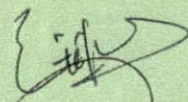

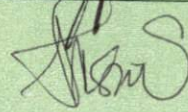
Ketua Program Studi Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas



Dr. Jumsu Trisno, SP, MSi.

NIP. 196911211995121001

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana
Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 31 Oktober 2014

No	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1	Ir. Oktanis Emalinda. MP		Ketua
2	Dr. Haliatur Rahma. SSi. MP		Sekretaris
3	Prof. Dr. Ir. Eti Farda Husin MS		Anggota
4	Dr. Ir. Agustian		Anggota
5	Ir. Lusi Maira M.Agr.Sc		Anggota



Persembahkan kecil untuk Ibuku Emi Yunara dan untuk Kakak, Kak Ona, dan Mayang dan Mimi terima kasih atas segalanya.

Serta orang-orang yang telah menyertai selama dikampus ini. Keluarga besar UKM Pandekar, terkhusus untuk angkatan P-19 (Fika, Widya, Yani, Upus, Ayu, Nina, Feska, Freastly, Gusti, Yunus, Ihsan, Didi, Defri dan Ulil) dan Keluarga Besar Wushu Tirai Bambu (Suheng Yosi, Kak Rizki serta suheng-suheng dan sute-sute lainnya) (Jia you!!!). Saudara seataap di kos Onang (Fifi, Eji dan Ade) Juga ibu Kos yang baik (Onang). Juga teman-teman se tim penelitian (Ega dan Parwanto), serta teman-teman BKI Ibi, Anjar, Bunga, Ipit, Ifdil, Annisa, Imar, Idel, Adek, Ratih, PU dan seluruhnya tanpa terkecuali.

BIODATA

Penulis dilahirkan di Bukittinggi, Sumatera Barat pada tanggal 21 Agustus 1990 sebagai anak ketiga dari lima bersaudara dari pasangan Namzif dan Emi Yunara. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD Negeri 07 Gobah, Nagari Koto Tengah, Kecamatan Tilatang Kamang, Kabupaten Agam (1996-2002). Sekolah Menengah Pertama (SMP) ditempuh di MTsN Bukareh Nagari Koto Tengah, Kecamatan Tilatang Kamang, Kabupaten Agam (2002-2005). Kemudian dilanjutkan dengan Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) di SMK Elektronika Indonesia, Kota Bukittinggi (2005-2008). Pada tahun 2009 penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada Program Studi Agroekoteknologi, Padang.

Padang, Februari, 2015

Chairin Nisa

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT, dengan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul **“Karakterisasi Rhizobakteria Perombak Glifosat Berkemampuan Menghasilkan Fitohormon IAA Dari Rhizosfer Titonia (*Tithonia diversifolia*) Yang Tumbuh Di Ultisol”**. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk diajukan sebagai salah satu prasyarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1) pada Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Dalam proses penulisan ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak.

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus 2013 sampai Agustus 2014 dibiayai dari dana penelitian Hibah Fundamental Dikti tahun 2013 yang diterima Dr. Ir. Agustian selaku pembimbing I. Melalui kesempatan ini penulis berterimakasih kepada beliau begitu juga dengan Ir. Lusi Maira, M.Agr.Sc selaku pembimbing II, yang telah memberikan arahan dan masukan serta nasehat baik dalam penelitian dan penulisan skripsi ini. Semua Dosen Agroekoteknologi yang telah memberi ilmu yang bermanfaat kepada penulis. Orang tua, keluarga serta teman-teman yang telah memberikan kasih sayang, doa dan dukungannya yang tiada henti. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan, terutama ilmu pertanian di Sumatera Barat, dan Indonesia umumnya.

Padang, Februari 2015

C.N

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
ABSTRAK	vi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Penggunaan glifosat di Indonesia dan beberapa negara di Dunia	4
B. Herbisida berbahan aktif glifosat	4
C. Penggunaan glifosat di tingkat petani	6
D. Dampak penggunaan glifosat terhadap biota tanah	8
E. Biodegradasi glifosat dalam tanah dan peranan mikroorganisme tanah	9
BAB III. METODA PENELITIAN	12
A. Waktu dan Tempat	12
B. Bahan dan Alat	12
C. Pelaksanaan Penelitian	12
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
A. Hasil analisis kimia tanah rhizosfir <i>Tithonia diversifolia</i>	15
B. Isolasi bakteri resisten glifosat.....	16
C. Pengujian kemampuan isolat bakteri berkemampuan menghasilkan fitohormon IAA.....	18
D. Hasil pengujian kemampuan bakteri dalam degradasi glifosat dan menghasilkan fitohormon IAA	19
E. Uji karakterisasi isolat pada beberapa kondisi media.....	22
BAB V. PENUTUP.....	29
A. Kesimpulan	29
B. Saran.....	29
RINGKASAN.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Jumlah dan dosis glifosat yang digunakan serta jenis gulma yang dikendalikan.....	7
2	Sifat dan ciri kimia sampel tanah rhizosfir <i>Tithonia diversifolia</i>	15
3	Perbandingan laju pertumbuhan isolat bakteri pada variasi suhu yang berbeda setelah 3 hari kultur.....	25
4	Perbandingan laju produksi IAA 2 Isolat bakteri pada variasi suhu yang berbeda setelah 7 hari kultur.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Ikatan struktur kimia glifosat.....	5
2	Mekanisme penghambatan enzim EPSPS oleh glifosat.....	6
3	Mekanisme degradasi glifosat.....	10
4	Grafik pertumbuhan Rhizobakteria pada konsentrasi isolat berbeda setelah 7 hari kultur.....	17
5	Perubahan warna media kultur setelah ditambahkan pereaksi Salkowsky.....	18
6	Grafik produksi fitohormon IAA setelah 3 hari kultur.....	19
7	Jumlah populasi bakteri setelah 6 hari kultur pada media yang berbeda dalam pengujian kemampuan bakteri mendegradasi glifosat.....	20
8	Perbandingan produksi IAA setelah 6 hari kultur pada berbagai media berbeda dalam pengujian kemampuan bakteri mendegradasi glifosat.....	21
9	Grafik pertumbuhan isolat dengan pengujian pH pada 3 hari kultur.....	23
10	Grafik produksi IAA pada media dengan rentang pH berbeda setelah 4 hari kultur.....	24
11	Grafik pertumbuhan bakteri pada sumber karbon berbeda setelah 3 hari kultur.....	27
12	Grafik produksi IAA pada media dengan sumber karbon berbeda setelah 5 hari kultur.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Jadwal Kegiatan Penelitian.....	37
2	Alat dan Bahan.....	38
3	Media Penumbuh Bakteri.....	40
4	Penentuan dan pengukuran fitohormon IAA dengan metoda kolorimetrik Bric <i>et al</i> , 1990 dimodifikasi oleh Maira (2000).....	42
5	Kurva Standar Pengukuran Produksi IAA.....	43
6	Perhitungan Jumlah Konsentrasi Glifosat.....	44
7	Analisis Statistik.....	46

KARAKTERISASI RHIZOBAKTERIA PEROMBAK GLIFOSAT BERKEMAMPUAN MENGHASILKAN FITOHORMON IAA DARI RHIZOSFER TITONIA (*Tithonia diversifolia*) YANG TUMBUH DI ULTISOL

ABSTRAK

Penggunaan herbisida glifosat yang tidak terkontrol dalam budidaya tanaman pertanian dapat menimbulkan dampak yang serius terhadap kualitas lingkungan hidup. Dalam tanah glifosat mempengaruhi kehidupan mikroorganisme karena menghambat kerja enzim EPSPS (*5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase*) yang berperan dalam sintesis asam amino. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi rhizobakteri yang mempunyai kemampuan dalam menghasilkan fitohormon dan mengkaji kemampuannya dalam mendegradasi glifosat.

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Agustus 2013 sampai Agustus 2014 di Laboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Rhizobakteri yang diisolasi berasal dari perakaran *Tithonia diversifolia*. Pengamatan untuk laju pertumbuhan bakteri dan degradasi glifosat diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm dan produksi IAA diukur dengan menggunakan panjang gelombang 535 nm. Dari 6 isolat yang diisolasi didapatkan 2 isolat (1 dan 12) yang diketahui mampu mendegradasi glifosat dan menghasilkan fitohormon IAA. Karakterisasi bakteri yang diisolasi dalam degradasi glifosat menggunakan media King B cair yang mengandung glifosat dengan konsentrasi 14,4 mg/ml. Kemampuan isolat dalam degradasi glifosat dikarakterisasi berdasarkan variasi pH media, temperatur dan sumber karbon yang digunakan. Pada pengujian pH media ditemukan pH optimum pertumbuhan bakteri adalah pada pH 7 (OD 0,867) dan produksi IAA paling baik juga pada pH 7 (28,76 ppm). Suhu optimal pada pertumbuhan isolat pada suhu 35°C (OD 0,756) dan produksi IAA pada 20°C. Isolat bakteri yang diuji (isolat 1 dan 12) cenderung merombak ikatan C-P yang menghasilkan glisin dan P dibanding ikatan C-N yang menghasilkan AMPA. Sumber karbon yang disukai untuk pertumbuhan bakteri adalah galaktosa dan sumber karbon untuk induksi produksi IAA adalah berupa glukosa.

Kata kunci : Rhizobakteri, degradasi, glifosat, IAA

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pestisida mempunyai peranan penting dalam usaha meningkatkan produksi pertanian. Penggunaan pestisida disatu sisi akan memberikan hal positif dan di sisi lainnya akan memberikan dampak negatif karena adanya jumlah residu pestisida yang tertinggal pada tanaman, biji-bijian, tanah maupun perairan. Residu pestisida menurut Jumbriah (2010), tidak hanya berbahaya bagi lingkungan, tetapi juga bagi manusia, binatang dan organisme lainnya, serta dampak lainnya berupa pencemaran lingkungan yang mencakup kontaminasi tanah, air permukaan, air tanah dan udara

Kebanyakan petani Indonesia sangat bergantung kepada pestisida dalam mengendalikan hama dan penyakit tanaman. Pemakaian pestisida memang sulit dihentikan dan sudah menjadi kebiasaan karena penggunaannya yang praktis dan harganya yang murah mengingat pada umumnya kondisi ekonomi petani yang menengah ke bawah. Pasar pestisida yang paling besar masih disumbangkan dari kelompok herbisida (42,5%), insektisida (37,5%), fungisida (18%) dan lainnya sebesar 2%. Herbisida masih disumbang oleh besarnya pemakaian glifosat dan paraquat yang mencapai 120 ribu liter, insektisida didominasi berbahan aktif karbofuran (40.000 kg), dan fungisida didominasi dari bahan aktif mankozeb dan propineb (Supriadi, 2012).

Herbisida merupakan substansi kimia untuk mengendalikan gulma yang mengganggu tanaman yang dibudidayakan. Herbisida glifosat (*N-fosfonometilglisina*) dengan nama dagang Roundup (Monsato, USA) mempunyai spektrum yang luas yang secara efektif mampu mengendalikan gulma baik yang bersifat musiman maupun tahunan (Thompson, 1979). Glifosat mudah diaplikasikan karena dibentuk menggunakan garam isopropilamin yang mudah larut dalam air (USDA, 1997).

Penggunaan glifosat adalah dengan mengaplikasikan ke tanaman melalui penyemprotan pada daun. Mekanisme kerja glifosat dalam mengendalikan gulma adalah dengan menghambat aktifitas enzim EPSPS (*5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase*) yang berfungsi dalam pembentukan asam amino aromatik,

tirosin, triptophan dan phenilalanin sehingga menghambat pembentukan protein yang akhirnya menghambat metabolisme tanaman (Tu *et al*, 2001)

Waktu belah (lamanya degradasi) glifosat dalam tanah berbeda-beda, mulai dari mingguan sampai bulanan (Duke *et al*, 2007). Proses hilangnya glifosat dalam tanah dipengaruhi oleh sifat-sifat tanah, cara pengaplikasian glifosat dan kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban (Farenhorst *et al*, 2008). Beberapa hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan waktu belah glifosat setelah pengaplikasiannya. Degradasi pada tanah hutan berlangsung selama 10–12 hari (Thompson, 2000), degradasi pada tanah liat berlangsung selama 110–151 hari (Bergstorm *et al*, 2011) sedangkan Moneke *et al*, menyatakan degradasi glifosat pada studi laboratorium terjadi selama < 25 hari dan pada percobaan lapangan selama 47 hari.

Adapun dampak lingkungan yang dapat ditimbulkan dari pemakaian glifosat adalah dapat mengurangi mikroorganisme tanah setelah pemakaian berulang-ulang (Springett *et al*, 1992) dan mengurangi ketersediaan Zn, Fe dan Mg (Huber, 2011). Namun terdapat juga mikroorganisme tanah yang mempunyai kemampuan untuk mendegradasi glifosat dan menjadikannya sebagai alternatif dari nutrisi yang diperlukan.

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi penumpukan herbisida dalam tanah adalah dengan bantuan mikroorganisme seperti bakteri yang hidup didaerah perakaran atau rhizobakteria (Yateem *et al*, 2007). Pada lahan budidaya tanaman tithonia dapat dijadikan sebagai pembatas atau pagar lorong (Hakim, 2005) Bakteri yang hidup pada perakaran tithonia inilah yang diharapkan mampu merombak herbisida yang telah menumpuk ditanah.

Glifosat didegradasi terutama oleh mikroba (Duke *et al*, 2007). Bakteri mendegradasi glifosat melalui dua cara: pertama, yaitu melalui produksi atau asam *aminometilfosfonat* (AMPA) (Araujo, 2003). Cara kedua yaitu dengan mengubah glifosat menjadi fosfat inorganik dan sakrosin. Beberapa bakteri dapat menggunakan glifosat sebagai sumber karbon dan fosfat (Duke *et al* 2007). Beberapa kelompok bakteri yang mampu mendegradasi glifosat dengan cara diatas adalah bakteri dari kelompok *Pseudomonas sp*, *Arthrobacter sp*, *Flavobacterium sp* dan lainnya.

Kelompok bakteri diatas juga diketahui dapat memproduksi fitohormon IAA (Nyoman, 2010). Fitohormon merupakan senyawa yang berada dalam jumlah sedikit tetapi dapat berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman. Fungsi IAA adalah untuk mendorong pemanjangan sel serta menambah kemampuan sel dalam menyerap air, sehingga dapat meningkatkan potensial air jaringan akibatnya sel akan mengalami pemanjangan. Kemampuan IAA dalam proses pengembangan sel terkait dengan kehadiran zat lain, dimana interaksi antara IAA dan sitokinin yang terbentuk secara alami dapat mendorong pembelahan sel (Salisbury dan Ross, 1985 *cit* Agustian, 2010). Fitohormon ini mampu diproduksi oleh mikroorganisme tertentu dan juga dapat dihasilkan oleh tanaman yang dapat mempengaruhi proses fisiologis tumbuhan (Weaver, 1972; Hanafiah, Anas, Napoleon dan Ghoffar, 2005 *cit* Agustian, 2010). Berdasarkan latar belakang diatas penulis telah melaksanakan penilitan yang berjudul “KARAKTERISASI RHIZOBAKTERIA PEROMBAK GLIFOSAT BERKEMAMPUAN MENGHASILKAN FITOHORMON IAA DARI RHIZOSFER TITONIA (*Tithonia diversifolia*) YANG TUMBUH DI ULTISOL”.

B. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui dan mendapatkan isolat rhizobakteria yang dapat mendegradasi glifosat dan juga dapat menghasilkan fitohormon IAA
2. Memperoleh kondisi yang terbaik untuk aktifitas rhizobakteria dalam mendekomposisi atau mendegradasi glifosat

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penggunaan glifosat di Indonesia dan beberapa negara di Dunia

Di negara maju, herbisida merupakan sarana utama dalam pengelolaan gulma karena efektifitasnya secara keseluruhan lebih tinggi dibandingkan dengan cara pengendalian yang lain. Disamping itu, petani lebih mudah memilih waktu dan cara terbaik untuk pengendalian gulma pada situasi tertentu dan penggunaannya lebih ekonomis (Zoschke dan Quadranti, 2002). Dewasa ini lebih dari 8000 produk pestisida dan 1200 bahan aktif pestisida dijual di pasaran (Irianto dan Johanmis, 2009) dan penggunaan herbisida semakin meningkat setiap tahun sejalan dengan peningkatan produksi pertanian.

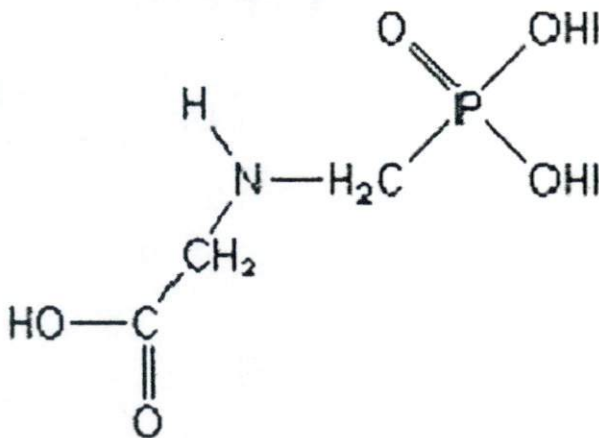
Dari penelitian ditemukan bahwa, penggunaan herbisida mencapai 49,6% dari volume penjualan pestisida dunia (Merrington *et al*, 2002 *cit* Supriadi 2012). Permintaan pestisida dunia diproyeksikan meningkat dari \$ 26 milyar tahun 2004 menjadi \$ 28.4 milyar di tahun 2009 dengan laju pertumbuhan 1.7% per tahun (World Pesticide, 2005 *cit* Irianto dan Johanmis, 2009). Menurut Direktorat Sarana Produksi Pertanian (*cit* Supriadi, 2012) jumlah herbisida terdaftar di Indonesia tahun 2006 sebanyak 40 golongan, terdiri atas 80 bahan aktif, dan 374 formulasi. Penggunaan herbisida yang meningkat secara signifikan dewasa ini tidak lepas dari usaha memenuhi permintaan dunia akan pangan, pakan dan energi (*food, feed* dan *fuel*) secara berkelanjutan. Tiga bahan aktif herbisida paling banyak digunakan adalah glifosat (*N-phosphonomethyl glycine*), paraquat (*paraquat dichloride*), dan 2,4-D (*2, 4 dichloro phenoxy acetic acid*)

B. Herbisida berbahan aktif glifosat

Herbisida secara umum dapat dikelompokkan atau diklasifikasikan kedalam beberapa jenis. Berdasarkan waktu penggunaannya dibedakan menjadi pra-tumbuh dan pasca tumbuh (Wardoyo, 2001). Berdasarkan reaksinya, herbisida dibedakan atas herbisida kontak dan sistemik, berdasarkan jalur aplikasinya dibedakan melalui tajuk atau melalui tanah serta berdasarkan sifat selektif dibedakan atas selektif atau tidak selektif terhadap gulma target (Riadi, 2011).

Herbisida sistemik merupakan suatu herbisida bersifat akan dialirkan atau ditranslokasikan dari tempat terjadinya kontak pertama dengan herbisida ke bagian lainnya, biasanya akan menuju titik tumbuh karena pada bagian tumbuhan tersebut metabolisme paling aktif berlangsung. Herbisida ini dapat diaplikasikan melalui tajuk/pasca tumbuh ataupun melalui tanah/pratumbuh. Herbisida sistemik yang diaplikasikan melalui tajuk adalah seperti herbisida glifosat, sulfonat, dan 2,4-D ester. Translokasi herbisida dalam tanaman dapat berlangsung secara simplastik (melalui jaringan hidup dengan pembuluh utama floem) bersamaan dengan translokasi hasil fotosintesis (fotosintat) (Riadi, 2011).

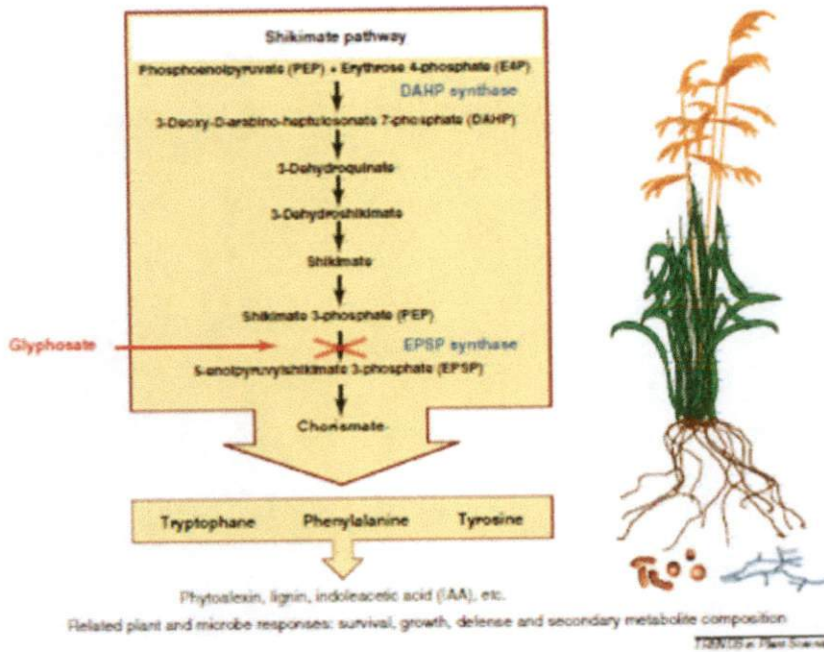
Glifosat dengan nama kimia *phosphonomethyl aminoacetic acid* merupakan herbisida *organofosfat* seperti terlihat pada Gambar 1, dengan rumus molekul $C_3H_8NO_5P$. Glifosat merupakan herbisida non selektif berspektrum luas yang dapat mengendalikan gulma semusim maupun tahunan di daerah tropika dan dapat digunakan sebagai herbisida pra tumbuh dan pasca tumbuh. Glifosat diserap oleh daun atau bagian-bagian tanaman lainnya yang berkontak, kemudian terangkut melalui floem ke jaringan lainnya. (Monsanto, 2005)



Gambar 1. Ikatan struktur kimia glifosat

Cara kerja glifosat adalah dengan menghambat kerja enzim *enolpiruvyl-shikimate-3-phosphate-sintase* (EPSPS), dalam pembentukan asam amino aromatik seperti triptofan, tirosin dan fenil alanin, dimana asam amino tersebut berfungsi dalam metabolisme tumbuhan. Dengan dihambatnya kerja enzim tersebut maka pertumbuhan tumbuhan/gulma juga terganggu hingga menyebabkan kematian pada gulma tersebut. Umumnya EPSPS hanya ditemukan pada tumbuhan yang mengandung khloroplast (Tu *et al*, 2001). Belakangan

diketahui bahwa glifosat juga dapat membunuh bakteri, karena sebagian besar bakteri mempunyai enzim EPSPS (Wiersema, Burns dan Hershberger, 1999 *cit* Wardoyo, 2001).



Gambar 2. Mekanisme penghambatan enzim EPSPS oleh glifosat

C. Penggunaan glifosat di tingkat petani

Glifosat efektif dalam membunuh berbagai tanaman, termasuk rumput seperti *Imperata cylindrica*, *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, dan *Chloromolaena odorata*, gulma berdaun lebar, dan tanaman berkayu seperti *Melastoma malabathricum*. Herbisida ini adalah salah satu herbisida yang paling banyak digunakan. Glifosat umumnya digunakan untuk pertanian, hortikultura dan pemeliharaan taman (termasuk penggunaan di rumah). Menurut penelitian Girsang (2005) pengaplikasian herbisida isopropilamina glifosat tidak efektif untuk mengendalikan gulma jenis pakisan (*Nephrolepis biserrata*), tetapi lebih efektif dalam mengendalikan gulma golongan gramineae yakni *Cyrtococcum acrescens* dan *Imperata cylindrica*. Dan dosis minimal penggunaan glifosat adalah 1,5 lt/ha dan dosis maksimal adalah 3 lt/ha.

Tabel berikut ini menampilkan berbagai rekomendasi penggunaan glifosat yang biasa dipakai untuk pengendalian gulma pada tanaman perkebunan.

Tabel 1. Jumlah dan dosis glifosat yang digunakan serta jenis gulma yang dikendalikan

Tanaman dan Gulma	Dosis	Waktu Penyemprotan
Karet Gulma berdaun lebar : <i>Melastoma malabathricum</i> , <i>Borreria alata</i> , <i>Chromolaena odorata</i> Gulma berdaun sempit : <i>Paspalum conjugatum</i>	1.5 – 3 l/ha dan volume air 200 – 500 l/ha	Pada saat gulma tumbuh subur
Kakao Gulma berdaun lebar : <i>Euphorbia hirta</i> , <i>Centrosema pubescens</i> <i>Borreria alata</i> , <i>Chromolaena odorata</i> <i>Calopogonium mucunoides</i> Gulma berdaun sempit : <i>Paspalum conjugatum</i>	1 - 2 l/ha dan volume air 200 – 500 l/ha	Pada saat gulma tumbuh subur
Kelapa Sawit Gulma berdaun lebar : <i>Chromolaena odorata</i> , <i>Calopogonium muconoides</i> , <i>Ageratum conyzoides</i> , <i>Borreria alata</i> Gulma berdaun sempit : <i>Digitaria ciliaris</i>	1.5-3 l/ha dan volume air 200 – 500 l/ha	Pada saat gulma tumbuh subur

Sumber : Nufarm (2013)

D. Dampak penggunaan glifosat terhadap biota tanah

Banyak petani sudah terbiasa menggunakan herbisida untuk memberantas gulma. Masalahnya sebagian senyawa kimiawi tersisa di dalam tanah, makin lama makin banyak. Beberapa wilayah di Indonesia yang curah hujannya sangat tinggi, residu herbisida dapat merembes ke sungai yang airnya digunakan untuk kebutuhan rumah tangga, termasuk minum, bagi penduduk di sekitar perkebunan.

Adi (2003) dari penelitiannya tentang Degradasi Tanah Pertanian di Indonesia melaporkan :

- a. Di Jawa Barat, residu parakuat (0,0016 – 0,0025 ppm), oksadiazon (0,0011 – 0,0023 ppm) dan 2,4-D (0,0014 – 0,0025 ppm) ditemukan pada tanah sawah di seluruh propinsi. Residu glifosat (0,0009 – 0,0012 ppm) terdapat di Kab. Ciamis, Majalengka, dan Serang.
- b. Di Jawa Tengah: ditemukan residu herbisida pada tanah sawah di Rembang, Klaten, Bantul, Cilacap, Kebumen, Banyumas, Brebes, dan Pemalang, berupa: MCPA (0,0005 – 0,0285 ppm), 2,4-D (0,0016 – 0,0095 ppm), 8nerg metsulfuron (0,0010 – 0,0046 ppm), parakuat (0,0128 – 0,0216 ppm), dan glifosat (0,0004 – 0,0125 ppm). Saat ini konsentrasinya masih di bawah batas maksimum residu (BMR), tetapi akan terus meningkat bila penggunaan herbisida tidak terkendali.
- c. Di Jawa Timur ditemukan parakuat, glifosat, oksadiazon, DMA, 8nerg metsulfuron. Residu parakuat ditemukan dalam beras (0,0024 – 0,0045 ppm) dan tanah sawah (0,0031-0,0074 ppm) di Ngawi, Magetan, Madiun, Nganjuk, Malang, dan Pasuruan.

Terdapat banyak pendapat tentang pengaruh glifosat terhadap biota tanah, karena glifosat diaplikasikan pada tumbuhan pengaruh kepada tanah maupun biotanya tidak terlalu besar dampaknya. Glifosat dapat meracun pada cacing tanah dengan jumlah 158-500 mg glifosat/kg tanah (Taylor 1999 *cit* NPTN 2000) dan menurunkan populasi cacing tanah (Springett *et al*, 1992). Jumlah populasi bakteri heterotropik dalam tanah berkurang setelah pemakaian glifosat serta terjadi penurunan pada populasi fungi dalam tanah (Busse *et al*, 2001)

Pada tumbuhan, glifosat juga dapat menyebabkan kelainan rambut akar pada tanaman legum (Martensson, 1992). Perubahan bentuk rambut akar terjadi pada saat sebelum pembentukan bintil akar, akibatnya menyebabkan sedikitnya bintil akar yang terbentuk.

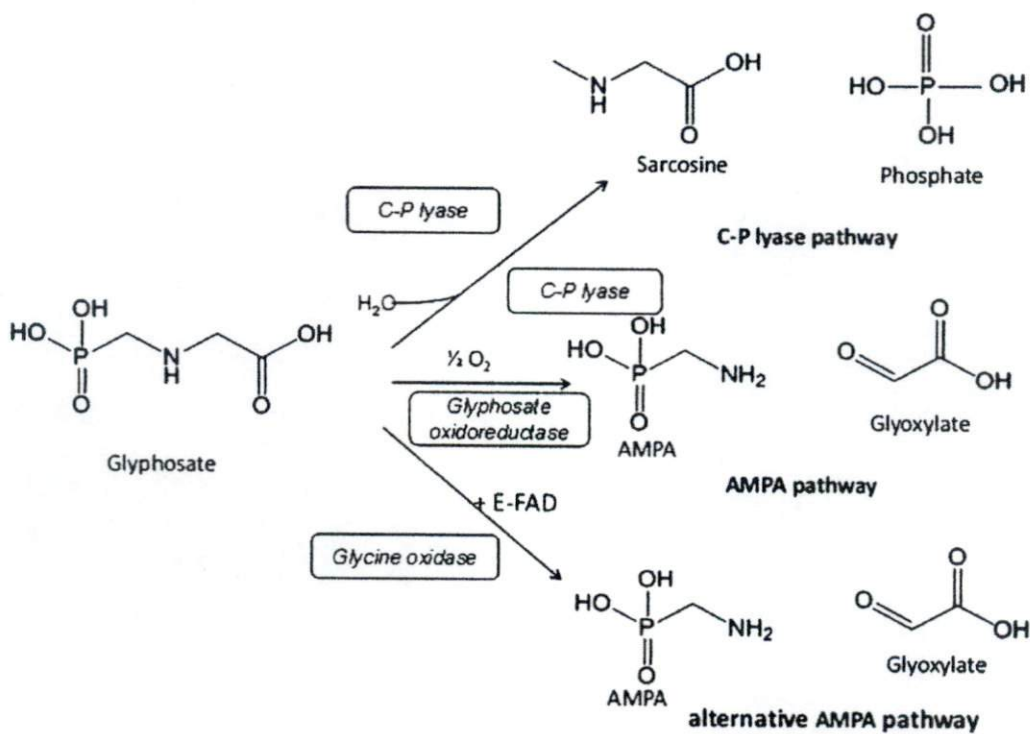
Pada beberapa penelitian juga melaporkan pengaruh glifosat terhadap PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Diantaranya bakteri penghasil fitohormon dan pelarut fosfat bakteri kelompok *Pseudomonas* dan *Azospirillum*. Dari hasil penelitian Moneke (2010) menunjukkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* dapat menggunakan glifosat sebagai sumber karbon. Dari penelitian Fan *et al* (2012) melaporkan bahwa *Bacillus cereus* dan *Arthrobacter* juga dapat mendegradasi glifosat dan menggunakan sebagai sumber karbon

E. Biodegradasi glifosat dalam tanah dan peranan mikroorganisme tanah

Jumlah dan penyebaran mikroorganisme dalam tanah sangat penting untuk proses metabolik yang terjadi dalam tanah karena mereka berperan dalam proses pelapukan dan menjaga kesuburan tanah (Bromilow *et al*, 1996). Walaupun glifosat tidak untuk diaplikasikan langsung kepermukaan tanah, namun jaringan tanaman yang mati dan mengandung glifosat merupakan sumber Glifosat dalam tanah. Glifosat didegradasi terutama oleh mikroorganisme. Glifosat yang terdegradasi dengan cepat menunjukkan bahwa terjadi pemutusan molekul glifosat dalam tanah, sedangkan yang lambat terdegradasi menunjukkan bahwa terjadi pengikatan antara molekul glifosat dengan partikel tanah (Rueppel *et al*, 1977). Degradasi glifosat akan lambat terjadi pada tanah dengan kapasitas adsorpsi yang tinggi. Kecepatan degradasi juga tergantung dengan jumlah mikroorganisme oleh setiap jenis tanah (Carlisle and Trevor, 1988).

Dekomposisi Glifosat dalam tanah terbesar terjadi secara biologi oleh mikroorganisme dengan menghasilkan asam aminometilfosfonat (AMPA) sebagai metabolit utama (Ruppel *et al*, 1977). Glifosat akan diuraikan kedalam bentuk senyawa yang tidak berbahaya seperti karbondioksida, air, nitrat dan fosfat (Thompson, 1979). Pola degradasinya terjadi melalui proses metabolisme (Sprankle *et al*, 1975) sehingga herbisida bukan merupakan sumber makanan utama melainkan sebagai sumber alternatif.

Bakteri mendegradasi glifosat melalui dua cara, yaitu melalui produksi glisina atau aminometilfosfonat (AMPA) (Jacob *et al*, 1988). *Pseudomonas sp*, galur sp PG2982 (Jacob *et al*, 1987) dan *Arthrobacter sp* (Pipke *et al*, 1987) merupakan mikroorganisme yang dapat mendegradasi glifosat dengan menghasilkan glisina. Mula-mula bakteri memutuskan ikatan C – P dari glifosat menghasilkan fosfonat dan sarkosin (Kishore dan Jacob, 1987), kemudian fosfonat digunakan bakteri sebagai sumber fosfor bagi kehidupannya. Sedangkan sarkosin dapat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon dengan menghasilkan produk glisina.



Gambar 3. Mekanisme degradasi glifosat (Duke, 2012)

Kemampuan bakteri dalam mendegradasi glifosat berpotensi dalam bioteknologi industri, seperti penghilangan glifosat dalam proses air limbah atau sebagai dasar dalam pengembangan tanaman resisten glifosat (Jacob *et al*, 1988). Selain itu bakteri dapat berfungsi sebagai agen hayati dalam mengatasi pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh glifosat.

Molekul glifosat yang mampu mencapai tanah secara cepat akan diadsorpsi dan diikat oleh partikel tanah melalui sisi asam fosfonatnya sehingga

menyebabkan proses inaktivasi awal glifosat (Sprankle *et al*, 1975). Glifosat yang berikatan atau terbebas akan mengalami penguraian dan ini merupakan proses inaktivasi berikutnya (Sprankle *et al*, 1975). Dekomposisi herbisida ini terjadi melalui proses fotokimia, kimia dan biologi (Torstenson *et al*, 1985). Sinar ultraviolet merupakan komponen aktif dalam dekomposisi fotokimia.

Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa kelompok bakteri mampu menghasilkan fitohormon yang dapat mempercepat pertumbuhan tanaman. Sebagai contoh bakteri *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Azospirillum*, dan *Pseudomonas* (Nyoman, 2010). Dari beberapa kelompok bakteri tersebut juga diketahui mampu mendegradasi glifosat dengan cara menggunakan glifosat sebagai sumber karbon dan fosfat. Dari penelitian Liawati (2000) melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas psuedoflava* diketahui paling banyak tumbuh pada media yang mengandung tanah tercemar glifosat dengan konsentrasi 3,557 mg/ml. Pada penelitian Widawati dan Muharam (2012) dilaporkan bahwa *Azospirillum* selain mampu melarutkan fosfat juga mampu menghasilkan fitohormon IAA.

BAB III. METODA PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Agustus 2013 sampai Agustus 2014 bertempat dilaboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Jadwal pelaksanaan tertera pada lampiran 1.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah; sampel tanah rhizosfir titonia, aquadest, media NA, media King's B padat, media King's cair, media Nutrient Broth dan Glifosat dengan nama dagang Roundup.

Sedangkan alat yang digunakan yaitu erlenmeyer, petri dish, vortex, pipet tetes, gelas ukur, pH meter, inkubator, jarum ose, kertas label, mikroskop dan plastik wrap. Selengkapnya tertera pada lampiran 2

C. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap yaitu tahap yang pertama isolasi dan tahap kedua yaitu karakterisasi.

Pembuatan kultur induk

Dalam tahap isolasi, yang pertama dilakukan adalah pengambilan sampel tanah pada rhizosfir kedalaman 0-15 cm berpedoman pada metoda yang dikemukakan Moneke *et al*, (2010). Sampel dibawa ke laboratorium dan dijaga suhunya 4 °C dan dikering anginkan kemudian disaring dengan ayakan 500 mikron. Tanah seberat 0,1 g dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi Nutrient Broth sebanyak 5 ml, kemudian dikulturkan dengan pengocokan 150 rpm selama 2x24 jam. Pertumbuhan populasi bakteri diamati setiap 1x24 jam dengan mikroskop dengan menggunakan *haemocytometer*. Untuk memudahkan penghitungan populasi maka dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁶. Kultur setelah 2x24 jam merupakan kultur induk dan selanjutnya digunakan untuk isolasi rhizobakteria pendegradasi glifosat.

Isolasi rhizobakteria pendegradasi Glifosat

Selanjutnya 200 µl kultur media dengan kerapatan populasi yang diketahui dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 2 ml Kings'B broth dan 8

ml glifosat dengan konsentrasi bervariasi (14,4 mg/ml, 11,52 mg/ml, 7,2 mg/ml, 4,5 mg/ml, dan 2,812 mg/ml). Sebagai kontrol digunakan konsentrasi Glifosat (14,4 mg/ml) tanpa inokulasi bakteri. Perkembangbiakan bakteri diamati selama 5 – 7 hari. Bakteri yang dapat bertahan hidup dan berkembang pada konsentrasi glifosat yang tinggi diisolasi pada media NA. Sebanyak 100 µl kultur Glifosat dimasukkan ke dalam petridish steril dan kemudian media NA dituangkan sampai menutupi permukaan petridish tersebar merata dalam petridish dengan bantuan *spreader*. Media kultur diinkubasikan dalam inkubator pada temperatur 30⁰C dan diamati pertumbuhan bakterinya. Koloni yang tumbuh merupakan rhizobakteri yang tahan terhadap kandungan glifosat tinggi dan mempunyai kemampuan dalam degradasi glifosat.

Isolasi terhadap isolat yang tahan dan pendegrasi Glifosat dilakukan dengan mengkultur ulang isolat yang diperoleh ke dalam petridish berisi media kultur NA. Karakterisasi selanjutnya dapat dilakukan terhadap isolat yang diperoleh.

Karakterisasi Isolat penghasil IAA

Isolat yang diperoleh dikarakterisasi lebih lanjut berdasarkan bentuk koloni, warna dan ciri koloni lainnya. Isolat yang mempunyai kemampuan menghasilkan IAA selanjutnya dikarakterisasi lebih lanjut terhadap temperatur, pH dan sumber karbon yang dapat digunakan. Karakterisasi isolat dalam menghasilkan IAA serta pengaruh pH dan temperatur bagi pertumbuhan dan produksi IAA dilakukan dalam media Kings B.

Uji karakterisasi pertama yaitu uji temperatur. Bakteri yang di uji ditumbuhkan pada media Kings B yang mengandung glifosat 14,4 mg/ml dan diinkubasikan pada temperatur yang berbeda-beda yaitu pada rentang suhu 20⁰C, 25⁰C, 30⁰C, 35⁰C, 40⁰C. Lalu media diinkubasikan selama seminggu dalam inkubator dan diamati pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri setiap hari. Pertumbuhan bakteri diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Produksi IAA diukur dengan penambahan pereaksi Salkowski dan perubahan warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm.

Untuk uji karakterisasi yang kedua yaitu uji pH. Pada tahap ini dipersiapkan media Kings B yang mengandung glifosat 14,4 mg/ml dengan tingkatan pH yang berbeda dengan cara menambahkan larutan KOH untuk media bersifat basa dan HCl untuk asam. pH yang diujikan adalah pada tingkatan 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, dan 7.0. Masing-masing bakteri dipindahkan ke media-media yang telah dipersiapkan. Lalu diinkubasikan selama seminggu dan diamati perkembangbiakan bakteri setiap harinya. Pertumbuhan bakteri diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Produksi IAA diukur dengan penambahan pereaksi Salkowsky dan perubahan warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm

Untuk uji karakterisasi ketiga adalah uji penggantian sumber karbon. Media yang digunakan yaitu media Kings B mengandung glifosat 14,4 mg/ml ditambah dengan glukosa, sukrosa, galaktosa, maltosa dan dekstrosa. Dipindahkan bakteri tersebut ke media, lalu diinkubasikan selama seminggu. Pertumbuhan bakteri diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Produksi IAA diukur dengan penambahan pereaksi Salkowsky dan perubahan warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm.

D. Rancangan Percobaan

Dalam tahapan karakterisasi isolat terhadap faktor pertumbuhan yang diteliti rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Data dianalisis dengan uji F, jika F hitung lebih besar dari F table maka dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%. Adapun parameter pertumbuhan yang diamati adalah pengaruh suhu, (pH), sumber karbon dan glukosa. Pengaruh temperatur yang dicobakan adalah : 20, 25, 30, 35, 40°C. Pengaruh pH media tumbuh yang dicobakan adalah rentang pH : 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0. . Sedangkan sumber karbon yang dicobakan adalah : glukosa, sukrosa, galaktosa, maltosa dan dekstrosa.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil analisis kimia tanah rhizosfir *Tithonia diversifolia*

Analisis kimia telah dilakukan pada sampel tanah dan hasilnya ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Sifat dan ciri kimia sampel tanah rhizosfir *Tithonia diversifolia*

Ciri kimia tanah	Nilai	Kriteria*
pH H ₂ O (1:1)	5,7	Agak masam
pH KCl(1:1)	4,75	Masam
C-org (%)	3,23	Tinggi
N-total (%)	0,15	Rendah
P tersedia (ppm)	17,09	Sedang
KTK (me/100 g)	37,2	Tinggi
K (me/100 g)	0,10	Rendah
Na (me/100 g)	0,82	Tinggi
Ca (me/100 g)	0,20	Sangat Rendah
Mg (me/100 g)	0,86	Rendah
Al-dd (me/100 g)	0,41	-
Kej. Al (%)	17,15	Rendah
Kej. KB (%)	5,32	Sangat rendah

*Sumber kriteria: Pusat Penelitian Tanah *cit* Hardjowigeno (1987)

Hasil analisis menunjukkan bahwa tanah tersebut mempunyai ciri dasar tanah Ultisol yang ditunjukkan dengan pH H₂O tergolong agak masam dan pH KCl tergolong masam. Tanah Ultisol pada umumnya yang memiliki pH tanah (H₂O) tergolong masam dan kandungan C-organik yang rendah sampai sangat rendah, dengan kejenuhan aluminium yang tinggi. Namun dari hasil analisis didapatkan pH H₂O agak masam dan kandungan C organik tinggi. Hal ini bisa diakibatkan karena tanah yang dianalisis berada pada rhizosfir yang merupakan daerah yang dipengaruhi langsung oleh akar tanaman. Daerah ini dipengaruhi oleh eksudat akar dan populasi dan aktifitas mikroorganisme lebih tinggi dibandingkan zona di luar rhizosfir.

Kejenuhan basa (KB) tanah tersebut tergolong rendah. Tanah dengan pH masam cenderung mempunyai kejenuhan basa yang rendah. Hal ini disebabkan karena tanah telah banyak mengalami pencucian serta kompleks jerapan didominasi oleh kation-kation asam (Hardjowigeno, 1987). Untuk KTK

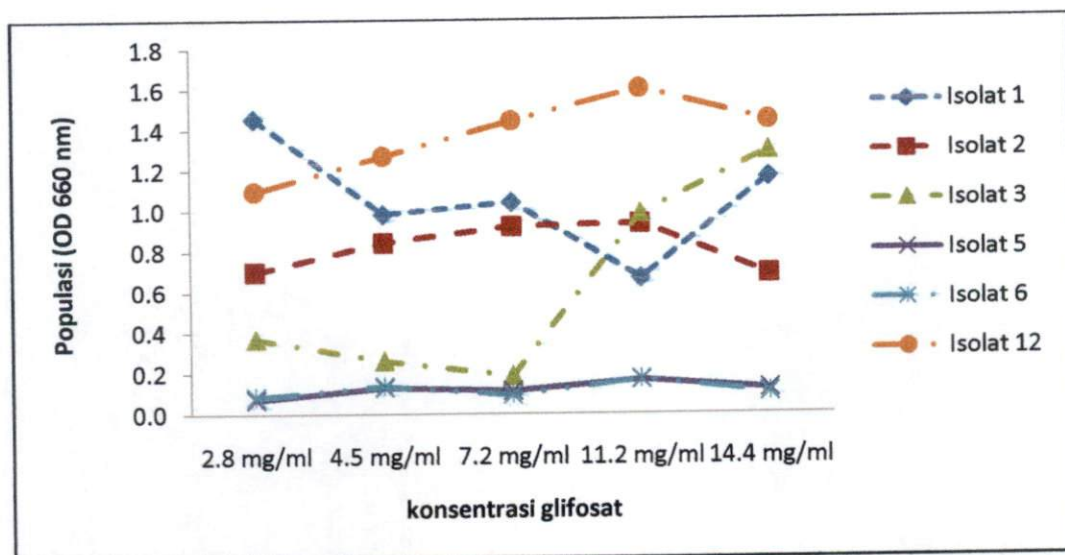
didapatkan hasil yang tinggi menurut Hardjowigeno (1987) tanah dengan kandungan bahan organik tinggi KTK lebih tinggi dibandingkan dengan tanah dengan bahan organik rendah, serta jenis mineral liat juga menentukan besar kecilnya KTK tanah. Tanah dengan mineral liat montmorilonit mempunyai KTK lebih besar daripada mineral liat kaolinit.

Rhizosfir merupakan area dimana terjadi aktifitas mikroba yang sangat intense. Pada rhizosfir terdapat populasi mikroba yang lebih tinggi 19 – 32 kali dibandingkan dengan tanah tanpa perakaran (Bodelier *et al*, 1997). Menurut Soomers (2004) eksudat akar mengandung karbon dan beberapa sumber nutrisi yang berguna bagi pertumbuhan mikroba.

Rhizosfir merupakan daerah yang ideal bagi tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme tanah. Keadaan ini didukung oleh fungsinya, yaitu sebagai penyedia nutrisi dan juga sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme. Beberapa macam nutrisi disekresikan di dalam rizosfer, yang sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan di dalam tanah. Beberapa bakteri penyedia hara yang terdapat pada rizosfer akar disebut sebagai rizobakteri pemacu tanaman atau dikenal sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Bashan and Holguin, 1998 *cit* Tarigan, 2010). PGPR memiliki peranan penting bagi tumbuhan, misalnya sebagai pengendali biologi melalui kompetisi, produksi antibiotik, induksi resistensi tanaman, produksi fitohormon, dan peningkatan ketersediaan hara melalui fiksasi nitrogen (Aryantha, 2004 *cit* Tarigan, 2011)

B. Isolasi bakteri resisten glifosat

Isolasi bakteri resisten glifosat dilakukan dengan pembiakan bakteri pada media NB (Nutrient Broth) yang ditambahkan glifosat dengan berbagai konsentrasi, yaitu 2,8 – 14,4 mg/ml. Dari analisis yang telah dilakukan didapatkan 6 isolat yang mampu tumbuh pada media tersebut. Hasil pengujian dapat dilihat pada Grafik berikut.



Gambar 4. Grafik pertumbuhan Rhizobakteria pada konsentrasi isolat berbeda setelah 7 hari kultur

Dari Grafik yang didapatkan dapat dilihat bahwa pada umumnya seluruh isolat mampu bertahan pada setiap konsentrasi glifosat yang diberikan. Isolat 1 dan 12 menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik. Isolat 1 tumbuh cukup tinggi pada konsentrasi 2,8 mg/ml dan mengalami penurunan pada konsentrasi 4,5-11,2 mg/ml namun pertumbuhan mengalami kenaikan pada konsentrasi 14,4 mg/ml. Selanjutnya pada isolat 12 yang pertumbuhannya terus menaik dari konsentrasi 2,8-11,2 mg/ml namun mengalami sedikit penurunan pada konsentrasi 14,4 mg/ml. Isolat 2 juga mengalami sedikit perubahan pertumbuhan pada konsentrasi yang berbeda dari konsentrasi 2,8-11,2 mengalami kenaikan dan sedikit penurunan pada konsentrasi 14,4.

Isolat 3 termasuk isolat yang mempunyai kurva pertumbuhan yang cukup baik bahkan pada konsentrasi glifosat yang tinggi 14,4 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa isolat 3 resisten terhadap glifosat dan diduga isolat 3 mempunyai kemampuan dalam mendegradasi glifosat dan menjadikannya sebagai sumber karbon. Isolat 5 dan 6 sama-sama mengalami pertumbuhan yang rendah dan cenderung stabil pada berbagai konsentrasi glifosat. Hal ini menunjukkan ketidakmampuan isolat tersebut dalam merombak glifosat dan memanfaatkannya sebagai sumber N dan C bagi pertumbuhannya sehingga glifosat bersifat toksik terhadap bakteri tersebut.

Terjadinya variasi pertumbuhan menunjukkan terdapatnya pengaruh glifosat terhadap pertumbuhan masing-masing isolat. Beberapa bakteri tidak mampu tumbuh pada konsentrasi glifosat yang tinggi karena glifosat mempunyai sifat toksik pada mikroorganisme. Namun terdapat juga bakteri yang mampu tumbuh pada konsentrasi yang tinggi, menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi glifosat dan menjadikannya sebagai sumber karbon.

Pengujian dan karakterisasi selanjutnya dilakukan pada isolat yang mempunyai pertumbuhan yang tinggi pada konsentrasi glifosat tinggi, karena isolat tersebut dianggap mempunyai kemampuan dalam mendegradasi glifosat.

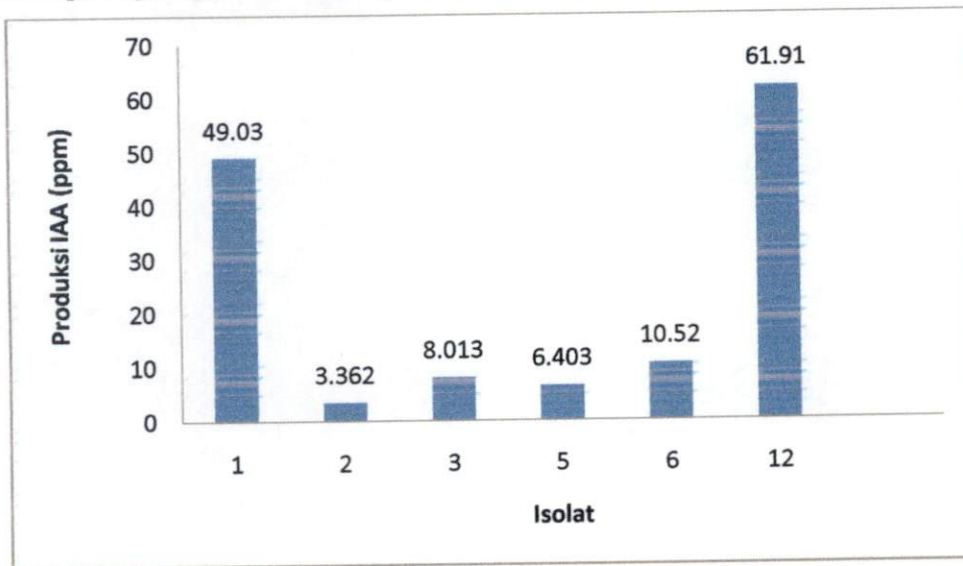
C. Pengujian kemampuan isolat bakteri berkemampuan menghasilkan fitohormon IAA

Pada pengujian ini bakteri dibiakkan pada media Kings B cair. Media kultur masing-masing isolat dipipet ke dalam tabung reaksi kemudian disentrifuse dan ditambahkan dengan pereaksi Salkowsky. Jika media kultur berubah warna menjadi merah muda menunjukkan bahwa bakteri tersebut berkemampuan menghasilkan fitohormon IAA. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 5. Perubahan warna media kultur setelah ditambahkan pereaksi Salkowsky

Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa pada seluruh isolat terjadi perubahan warna yang awalnya kuning menjadi merah muda. Hal ini menandakan bahwa seluruh bakteri yang didapatkan berkemampuan menghasilkan fitohormon IAA. Untuk mengetahui konsentrasi IAA yang dihasilkan dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 535 nm. Produksi IAA paling tinggi ditemukan pada isolat 1 dan 12.



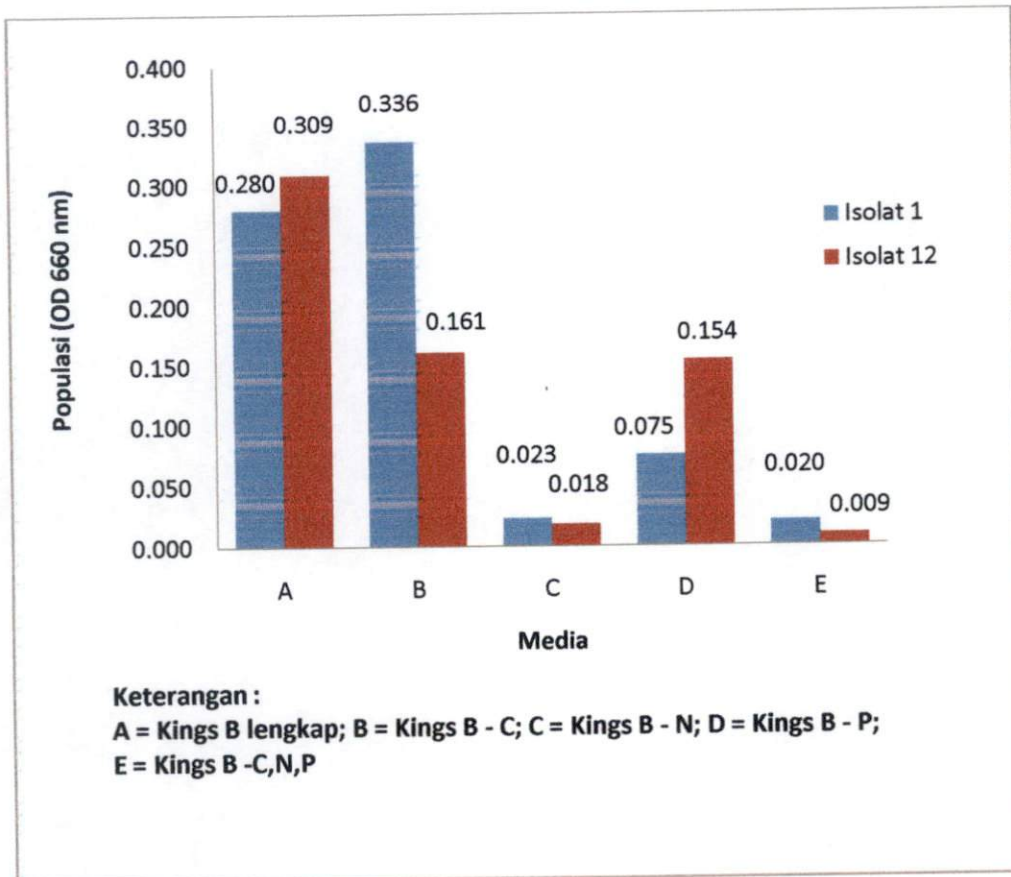
Gambar 6. Grafik produksi fitohormon IAA setelah 3 hari kultur

Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa produksi fitohormon IAA tertinggi terdapat pada isolat 12 yaitu 61,91 ppm selanjutnya pada isolat satu dengan 49,03 ppm. Namun isolat 3 yang tumbuh cukup baik pada pengujian resisten glifosat tidak mampu menghasilkan fitohormon IAA dalam jumlah tinggi sehingga untuk pengujian selanjutnya isolat ini tidak digunakan lagi . Bakteri menghasilkan IAA dengan cara mengkonversi asam amino sebagai prekursornya (Khairani, 2009). Produksi IAA isolat 3 yang cukup rendah terjadi karena ketidakmampuan bakteri tersebut dalam mengkonversi asam amino tersebut.

D. Hasil pengujian kemampuan bakteri dalam degradasi glifosat dan menghasilkan fitohormon IAA

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi glifosat. Dilakukan modifikasi pada media Kings B yaitu dengan menghilangkan sumber nutrisi yang terdapat didalamnya. Terdapat lima macam media yang dimodifikasi yaitu media A (Kings B lengkap), B (Kings B – C), C (Kings B – N), D (Kings B – P) dan E (Kings B – C, N, P). Pertumbuhan isolat

pada masing-masing media yang dimodifikasi menunjukkan terjadinya proses degradasi glifosat karena isolat menggunakan sumber nutrisi yang terdapat pada glifosat.



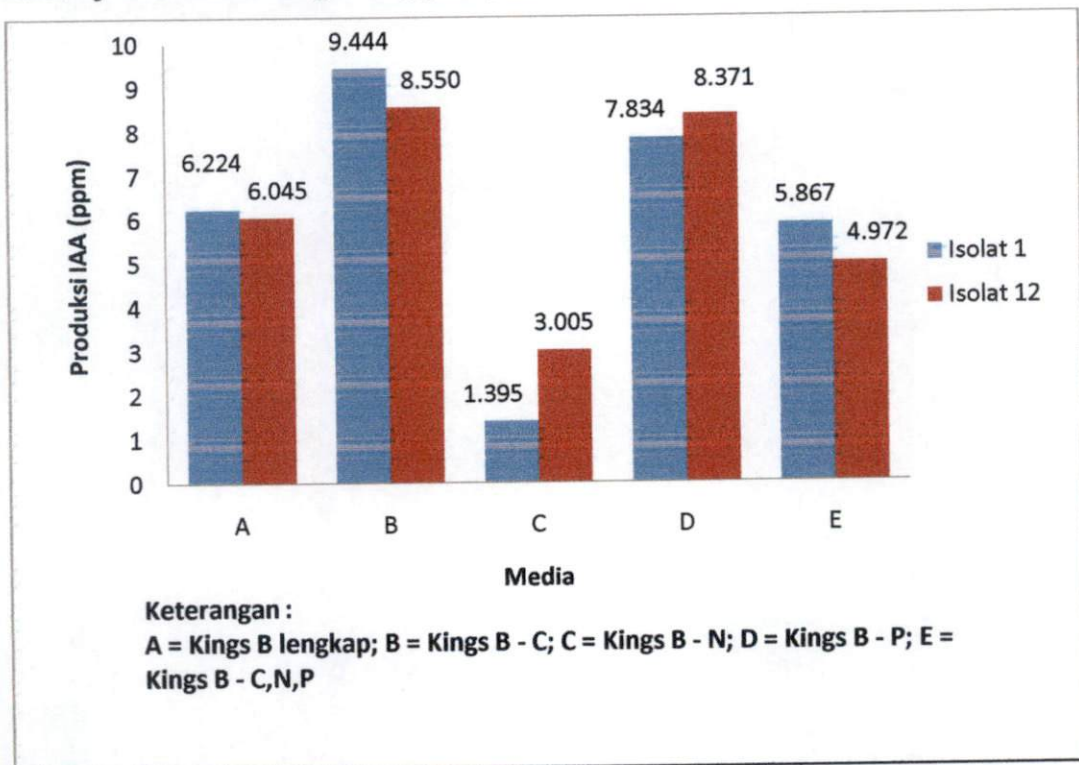
Gambar 7. Jumlah populasi bakteri setelah 6 hari kultur pada media yang berbeda dalam pengujian kemampuan bakteri mendegradasi glifosat

Dari Grafik diatas dapat dilihat bahwa isolat 1 dan 12 mampu tumbuh pada semua jenis media, hal ini menunjukkan bahwa terdapat kemampuan dalam medegradasi glifosat dengan menggunakannya sebagai sumber nutrisi. Pada isolat 1 pertumbuhan tertinggi ditemukan pada media B (Kings B – C) (OD 0,336). C merupakan salah satu sumber utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pada media B dilakukan penghilangan sumber C (gliserol) namun isolat masih dapat tumbuh dengan baik dengan menggunakan sumber C yang terdapat pada glifosat. Sedangkan pada isolat 12 pertumbuhan tertinggi ditemukan pada media A (Kings B lengkap) (OD 0,280), hal ini disebabkan karena media A merupakan media dengan sumber nutrisi yang lengkap sehingga dapat dimanfaatkan dengan optimal oleh bakteri. Ditambah dengan penambahan

glifosat yang juga mengandung sumber nutrisi yang diduga juga dapat dimanfaatkan oleh bakteri.

Pertumbuhan isolat paling rendah ditemukan pada media E (- C, - N, -P) isolat 1 (OD 0,020), isolat 12 (0,009), hal ini disebabkan karena tidak adanya ketersediaan nutrisi dari media sehingga bakteri hanya memanfaatkan nutrisi yang terdapat pada glifosat. Walaupun isolat masih dapat tumbuh glifosat bukan merupakan sumber nutrisi utama bagi bakteri melainkan hanya sebagai sumber alternatif.

Jacob (1988) menyatakan glifosat didegradasi oleh bakteri dengan memutus ikatan C- P sehingga menghasilkan glisina dan memutus ikatan karbon dan nitrogen dan menghasilkan AMPA. AMPA yang dihasilkan mengalami metabolisme dan menghadirkan fosfor yang dapat digunakan untuk pertumbuhan namun jumlah fosfor tergantung pada jenis bakterinya.



Gambar 8. Perbandingan produksi IAA setelah 6 hari kultur pada berbagai media berbeda dalam pengujian kemampuan bakteri mendegradasi glifosat

Pengukuran produksi IAA juga dilakukan pada pengujian degradasi ini dan didapatkan hasil bahwa isolat mampu menghasilkan IAA dalam jumlah yang cukup tinggi pada beberapa media. Pada gambar 8 terlihat bahwa pada isolat 1

produksi IAA yang paling tinggi ditemukan pada media B (-C) dengan hasil (9,444) dan pada isolat 12 produksi IAA yang paling tinggi ditemukan pada media D (-P) dengan produksi IAA (8,371). Pada proses degradasi glifosat bakteri memutus ikatan C – N dan menghasilkan AMPA jika memutus rantai C – P akan menghasilkan glisin. Biasanya bakteri menghasilkan fitohormon IAA dengan triptofan sebagai prekursor (Khairani, 2009). Namun pada media D (Kings B – P) terdapat glisin yang termasuk kedalam asam amino sebagai hasil degradasi glifosat yang dapat digunakan bakteri sebagai prekursor dalam produksi fitohormon IAA

E. Uji karakterisasi isolat pada beberapa kondisi media

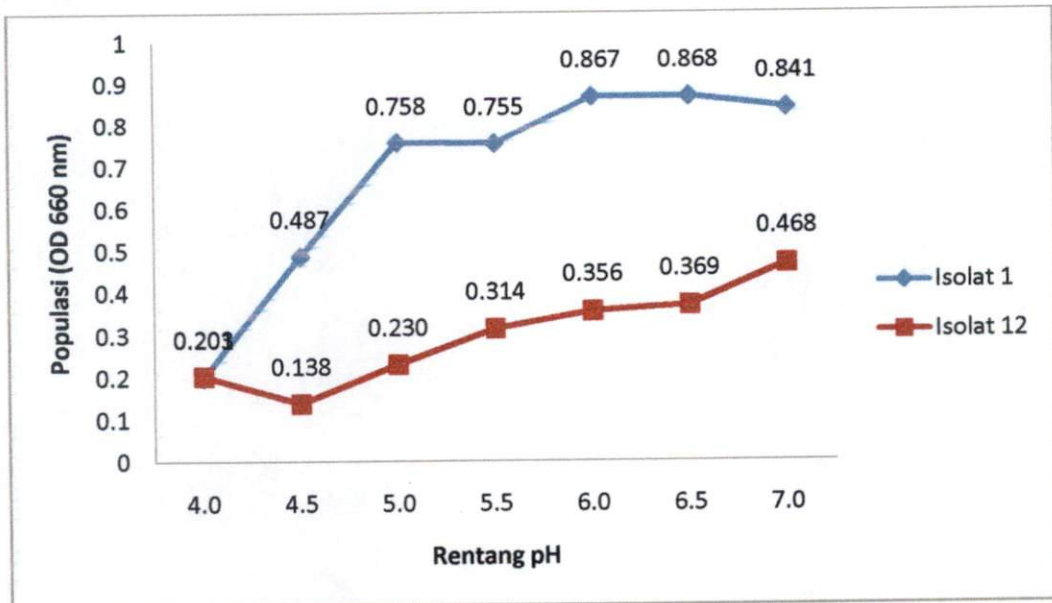
Bakteri memerlukan kondisi lingkungan yang spesifik dan nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya. Kebutuhan bakteri tersebut berbeda-beda tergantung kemampuannya untuk memetabolisme karbohidrat, dan kemampuannya dalam mentolerir derajat kemasaman (pH) dan tingkatan temperatur.

Pada tahap ini pengujian dilakukan pada isolat 1 dan 12 dimana isolat ini mempunyai pertumbuhan paling baik diantara seluruh isolat pada uji resisten glifosat dan produksi fitohormon IAA. Pengujian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi pertumbuhan paling baik bagi isolat. Adapun uji yang dilakukan yaitu uji pH (4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 dan 7,0). Selanjutnya uji temperatur (20, 25, 30, 35, 40) °C dan uji penggantian sumber karbon (glukosa, maltosa, dekstrosa, galaktosa dan laktosa). Untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm untuk pengukuran OD (Optical Density) untuk mengukur kerapatan populasi dan panjang gelombang 535 nm untuk pengukuran produksi fitohormon IAA.

1. Pengaruh variasi pH media King B cair yang mengandung glifosat 14.4 mg/ml

pH merupakan salah satu faktor penentu bagi suatu organisme untuk berkembang biak. Pada umumnya bakteri dapat berkembang dengan baik dengan kisaran pH 5– 8. Namun terdapat juga beberapa bakteri yang mampu berkembang

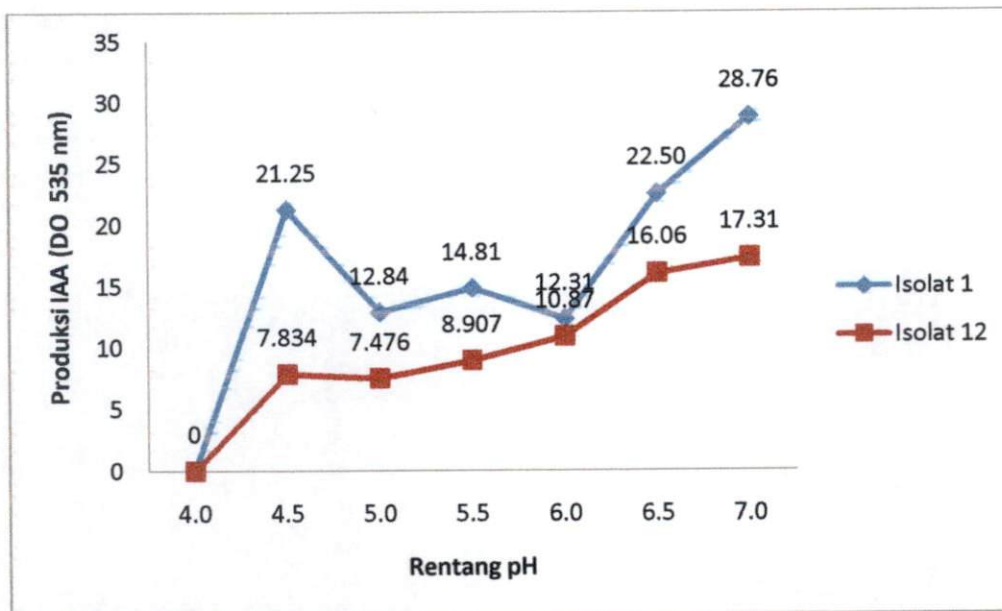
pada pH masam atau basa. Pada pengujian ini ditemukan bahwa pada umumnya isolat mampu berkembang pada setiap tingkatan pH yang diujikan. Namun perbedaan pertumbuhan tetap terjadi seiring dengan berubahnya tingkatan pH.



Gambar 9. Grafik pertumbuhan isolat dengan pengujian pH pada 3 hari kultur

Dari grafik diatas didapatkan hasil pada isolat 1 pertumbuhan isolat paling baik terdapat pada pH 6 (OD 0,867). Pada pH 6 diperoleh nilai OD paling tinggi diantara semua rentang pH, pada pH 6,5 dan 7 nilai OD mengalami sedikit penurunan. Nilai OD paling rendah ditemukan pada pH 4,5 (0,203) pH ini merupakan pH yang tergolong masam sehingga kurang mendukung untuk pertumbuhan bakteri. Pada isolat 12 nilai OD menaik seiring dengan meningkatnya pH. Nilai paling rendah ditemukan pada pH 4.5 (OD 0,138) dan paling tinggi pada pH 7. Hal tersebut diatas juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Fan (2012) yang menemukan bahwa pH terbaik untuk pertumbuhan bakteri dalam mendegradasi glifosat ditemukan pada pH 6 dan 7 dimana pada rentang tersebut pH tergolong netral.

Produksi fitohormon IAA juga ditentukan oleh pH. Nilai pH yang optimum akan mendukung pertumbuhan bakteri sehingga akan berpengaruh pada produksi IAA yang dihasilkan. Pada penelitian didapatkan produksi IAA maksimum terjadi pada pH 7 (Gambar 10).



Gambar 10. Grafik produksi IAA pada media dengan rentang pH berbeda setelah 4 hari kultur

Pada isolat 1 dapat dilihat bahwa produksi IAA tertinggi terdapat pada pH 7 (28,76 ppm) selanjutnya pada pH 6,5 (22,50 ppm). Sedangkan untuk pH 4 belum terjadi produksi IAA. Namun produksi IAA cukup tinggi terjadi pada pH 4,5 (21,25 ppm). Hal yang sama juga terjadi pada isolat 12, dimana terjadi peningkatan produksi IAA seiring meningkatnya pH. Nilai paling tinggi ditemukan pada pH 7 (17,31 ppm).

pH yang netral akan mendukung perkembangbiakan bakteri dengan baik sehingga bakteri dapat dengan optimal memproduksi fitohormon IAA. Namun dari tabel diatas juga dapat dilihat, produksi IAA yang tinggi pada media dengan pH 4.5 yang tergolong masam. Sebagian bakteri memang diketahui dapat hidup pada pH yang cukup rendah (Rogers, 2011). Penelitian Basu (2000), melaporkan bahwa pertumbuhan bakteri dan produksi IAA paling tinggi ditemukan pada pH 6,9. Nitrogen yang terdapat pada media dapat dimanfaatkan oleh bakteri dan membantu meningkatkan produksi IAA (Jordan, 1984 *cit* Basu, 2000)

2. Pertumbuhan populasi bakteri pada media Kings B cair mengandung glifosat 14.4 mg/ml dengan beberapa suhu berbeda.

Bakteri mempunyai kemampuan tumbuh pada kondisi suhu yang sangat luas. Bakteri mesofilik umumnya dapat tumbuh optimal dari pada suhu 20-45 °C dan terkadang dapat tumbuh dibawah atau lebih dari suhu tersebut (Rogers, 2011)

Pada pengujian ini dilakukan perlakuan 5 tingkatan suhu pada pertumbuhan bakteri. Umumnya seluruh isolat mampu tumbuh pada suhu yang diujikan seperti terlihat pada Tabel 3, namun demikian setiap isolat memberikan respon pertumbuhan yang berbeda terhadap perubahan suhu yang dicobakan.

Tabel 3. Perbandingan laju pertumbuhan isolat bakteri pada variasi suhu yang berbeda setelah 3 hari kultur

Temperatur	OD populasi	
	Isolat 1	Isolat 12
20 °C	0,488 c	0,720 b
25 °C	0,604 d	0,654 b
30 °C	0,278 b	0,015 a
35 °C	0,381 bc	0,756 b
40 °C	0,075 a	0,025 a
KK (%)	24,50%	18,90%

Angka-angka pada lajur di atas yang diikuti oleh huruf kecil yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut DMRT pada taraf 5%.

Dari Tabel 3, diatas dapat dilihat bahwa terjadi perubahan pertumbuhan bakteri pada setiap temperatur yang diujikan. Pada isolat 1, OD yang paling tinggi ditemukan pada suhu 25°C (0,604) dan yang paling rendah pada 40°C. Sedangkan pada isolat 12 pertumbuhan paling tinggi ditemukan pada suhu 35°C dan yang paling rendah ditemukan pada 30°C (0,015). Fan *et al*, (2012) melalui penelitiannya melaporkan bahwa suhu 35°C merupakan optimal untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dalam mendegradasi glifosat.

Temperatur dapat memberi pengaruh pada pertumbuhan bakteri baik langsung atau tidak langsung, aktifitas enzim, perubahan komposisi sel dan kebutuhan nutrisi. Pengaruh secara tidak langsung yaitu kelarutan molekul terlarut, tekanan osmosis pada membran, difusi sel dan penyebaran nutrisi (Herbert 1986 *cit* Mishra *et al* 2010). Zhang (1996 *cit* Santos *et al* 2010) telah melakukan percobaan suhu terhadap pertumbuhan beberapa bakteri dan hasilnya menunjukkan pertumbuhan paling optimal ditemukan pada suhu 25°C.

Pada pengujian produksi IAA tingkatan suhu juga memberikan pengaruh berbeda nyata (Tabel 4). Kemampuan bakteri memproduksi IAA berubah-ubah

tergantungan suhu yang diberikan. Secara umum bakteri mampu memproduksi IAA pada seluruh tingkatan suhu seperti yang terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan laju produksi IAA 2 Isolat bakteri pada variasi suhu yang berbeda setelah 7 hari kultur.

Temperatur	Produksi IAA	
	Isolat 1	Isolat 12
20 °C	29,00 c	21,90 b
25 °C	18,38 bc	20,32 b
30 °C	10,81 b	2,17 a
35 °C	10,81 b	2,17 a
40 °C	1,21 a	1,75 a
KK (%)	0,72	18,39

Angka-angka pada lajur di atas yang diikuti oleh huruf kecil yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut DMRT pada taraf 5%.

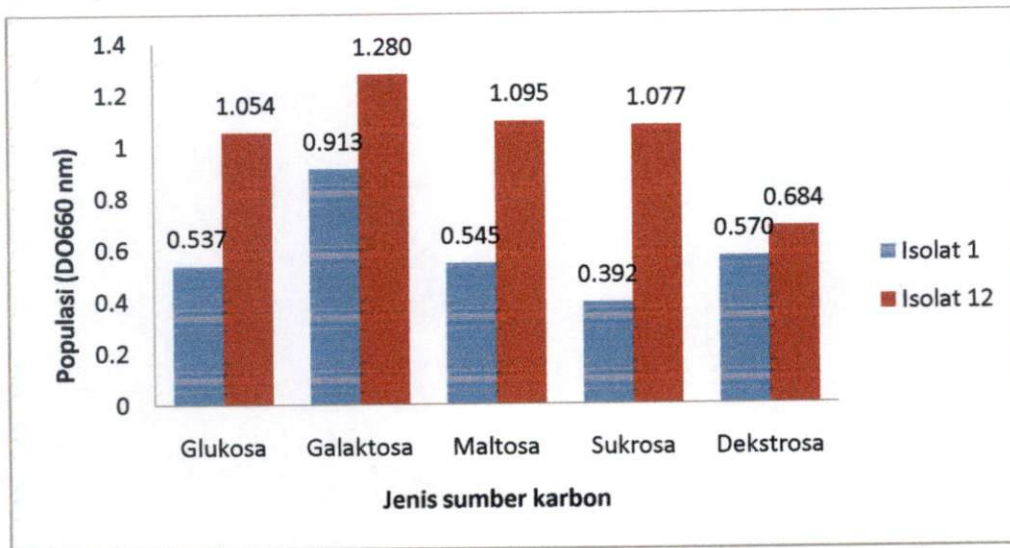
Pada isolat 1 produksi IAA paling tinggi ditemukan pada suhu 20 °C (29,00 ppm) berbeda tidak nyata dengan suhu 25 °C (18,38ppm). Pada suhu 30 °C dan 35 °C produksi IAA mempunyai hasil yang sama (10,81 ppm) dan produksi IAA yang paling rendah terdapat pada suhu 40 °C . Pada isolat 12 menunjukkan hasil yang hampir sama dengan isolat 1. Produksi paling tinggi ditemui pada isolat 20 °C (20,90 ppm) selanjutnya pada suhu 25 °C. Sedangkan pada suhu 30 °C, 35 °C, dan 40 °C ditemukan produksi IAA yang rendah dan tidak berbeda nyata.

Hasil yang didapat diatas berbeda dengan penelitian yang dilakukan Basu (2000) yang menggunakan suhu 30 °C untuk mengetahui produksi IAA yang optimal. Tarigan (2012) dalam penelitiannya menggunakan suhu 28 °C untuk menginkubasi isolat dalam memproduksi IAA yang optimal. Perbedaan hasil yang didapatkan diduga karena IAA yang dihasilkan oleh bakteri digunakan kembali untuk metabolisme bakteri tersebut.

3. Pertumbuhan populasi bakteri pada media Kings B cair mengandung glifosat 14.4 mg/ml dengan sumber karbon berbeda

Bakteri memerlukan beberapa kondisi tertentu untuk pertumbuhan yang optimal. Pada kebutuhan nutrisi bakteri sangat membutuhkan sumber karbon, nitrogen, fosfat, sulfur dan beberapa senyawa inorganik lainnya. Karbon

merupakan unsur utama yang paling banyak dibutuhkan untuk pertumbuhan dan metabolisme bakteri (Rogers, 2011). Perbedaan jenis sumber karbon juga memberikan pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan bakteri seperti yang dapat dilihat pada Gambar 11 berikut.

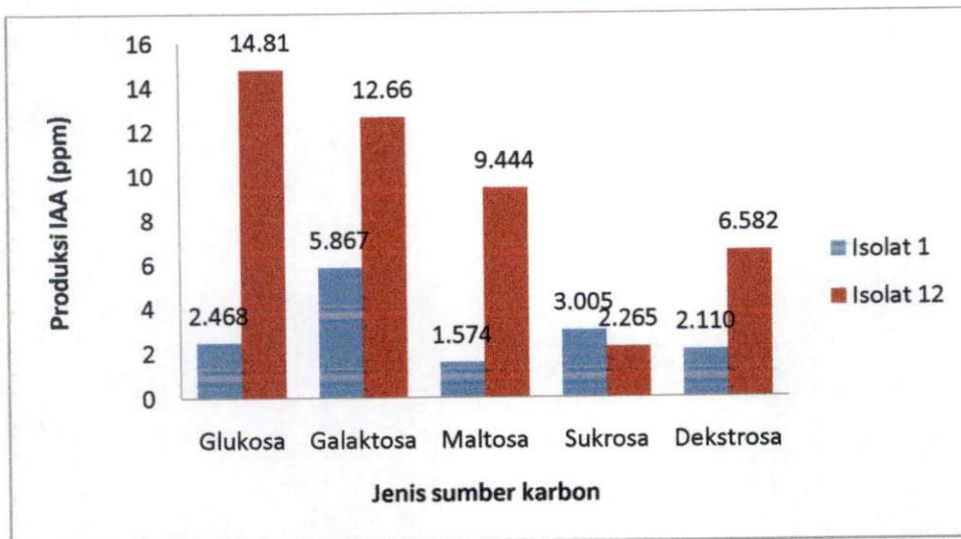


Gambar 11. Grafik pertumbuhan bakteri pada sumber karbon berbeda setelah 3 hari kultur

Pada pengujian kali ini gliserol yang merupakan sumber C pada media Kings B digantikan dengan beberapa sumber C lain. Dari hasil dapat dilihat bahwa pada isolat 1 nilai OD tertinggi ditemukan pada galaktosa (0,913) dan OD terendah ditemukan pada sukrosa (0,392). Sedangkan pada isolat 12 OD tertinggi terdapat pada galaktosa (1,280) dan nilai terendah ditemukan pada dekstrosa (0,684).

Bakteri menggunakan sumber karbon dalam bentuk gula sederhana, galaktosa dan glukosa tergolong kepada monosakarida sehingga lebih mudah digunakan oleh bakteri. Sedangkan sukrosa dan maltosa tergolong kedalam disakarida merupakan senyawa yang terdiri dari dua monosakarida (Wilbraham dan Matta, 1984), sehingga untuk menggunakannya bakteri harus mendegradasinya menjadi gula lebih sederhana (Rogers, 2011)

Pada pengujian produksi IAA hasil yang didapatkan juga berbeda-beda sesuai dengan jenis sumber karbon. Pada isolat 1 produksi IAA tertinggi ditemukan pada galaktosa (5,876 ppm) dan isolat 12 pada glukosa (14,81 ppm) (Gambar 12)



Gambar 12. Grafik produksi IAA pada media dengan sumber karbon berbeda setelah 5 hari kultur

Basu (2000) melaporkan, dengan penambahan glukosa dapat meningkatkan produksi IAA. Hal ini sejalan dengan pengujian yang dilakukan pada isolat 12 dimana produksi IAA paling tinggi juga ditemukan pada glukosa. Namun pada isolat 1 produksi IAA paling tinggi ditemukan pada galaktosa. Galaktosa dan glukosa merupakan gula yang tergolong kedalam monosakarida yang lebih mudah digunakan oleh bakteri sehingga bakteri mudah berkembang dan lebih optimal dalam menghasilkan fitohormon IAA.

Pertumbuhan dan produksi IAA cenderung fluktuatif dari waktu ke waktu. Hal ini terjadi karena fase pertumbuhan bakteri yang cenderung cepat dari fase awal, fase laju hingga fase kematian. Waktu juga mempengaruhi kurva grafik IAA pada hari ke 4 atau ke 5 dalam pengamatan produksi IAA cenderung menurun karena IAA yang diproduksi digunakan kembali oleh bakteri untuk metabolismenya.

BAB V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Dari 6 isolat rhizobakteria yang tahan hidup dalam konsentrasi Glifosat tinggi (14,4 mg/ ml) terdapat 2 isolat (isolat 1 dan 12) yang mampu menghasilkan fitohormon IAA dalam jumlah yang tinggi.
2. Sumber karbon terbaik dalam media King B untuk aktifitas perombakan glifosat baik pada isolat 1 dan 12 ditemukan pada media menggunakan sumber karbon galaktosa. Untuk produksi IAA untuk isolat 1, produksi paling tinggi ditemukan pada sumber karbon galaktosa sedangkan pada isolat 12 menggunakan sumber karbon glukosa
3. Kedua isolat (isolat 1 dan 12) mempunyai kemampuan merombak glifosat pada baik pada ikatan C-N maupun pada ikatan C-P. Namun demikian dari pertumbuhan dan aktivitas produksi IAA terlihat bahwa ketiadaan N dalam media King B menentukan aktivitas perombakan glifosat. Atau dengan kata lain kedua isolat lebih cenderung merombak ikatan C-P dibanding ikatan C-N dari glifosat.
4. pH optimal untuk aktifitas perombakan glifosat pada isolat 1 adalah pH 6,5 sedangkan isolat 12 pada pH 7.0. Sedangkan untuk produksi IAA pH optimal bagi kedua isolat yaitu pH 7.0
5. Suhu optimal untuk aktifitas perombakan glifosat pada isolat 1 yaitu 25°C dan pada isolat 12 ditemukan pada temperatur 35°. Suhu optimal untuk produksi IAA pada isolat 1 yaitu 30° C dan isolat 12 pada suhu 35° C

B. Saran

Pada penelitian telah dilakukan karakterisasi untuk pertumbuhan bakteri. Pada pengujian bakteri resisten glifosat didapatkan isolat 3 dengan pertumbuhan yang cukup baik namun tidak begitu baik pada produksi fitohormon. Untuk penelitian selanjutnya disarankan agar dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap isolat 3. Karakterisasi dengan cakupan yang lebih luas dari sebelumnya dan identifikasi terhadap seluruh bakteri yang telah diisolasi

RINGKASAN

Kebanyakan petani Indonesia sangat bergantung kepada pestisida dalam mengendalikan hama dan penyakit tanaman. Pemakaian pestisida memang sulit dihentikan dan sudah menjadi kebiasaan karena penggunaannya yang praktis dan harganya yang murah mengingat pada umumnya kondisi ekonomi petani yang menengah ke bawah. Residu pestisida menurut Jumbriah (2010), tidak hanya berbahaya bagi lingkungan, tetapi juga bagi manusia, binatang dan organisme lainnya, serta dampak lainnya berupa pencemaran lingkungan yang mencakup kontaminasi tanah, air permukaan, air tanah dan udara

Adapun dampak lingkungan yang dapat ditimbulkan dari pemakaian glifosat adalah dapat mengurangi mikroorganisme tanah setelah pemakaian berulang-ulang (Springett *et al*, 1992) dan mengurangi ketersediaan Zn, Fe dan Mg (Huber, 2011). Namun terdapat juga mikroorganisme tanah yang mempunyai kemampuan untuk mendegradasi glifosat dan menjadikannya sebagai alternatif dari nutrisi yang diperlukan.

Bakteri mendegradasi glifosat melalui dua cara, yaitu melalui produksi glisina atau aminometilfosfonat (AMPA) (Jacob *et al*, 1988). *Pseudomonas sp*, galur sp PG2982 (Jacob *et al*, 1987) dan *Arthrobacter sp* (Pipke *et al*, 1987) merupakan mikroorganisme yang dapat mendegradasi glifosat dengan menghasilkan glisina. Mula-mula bakteri memutuskan ikatan C – P dari glifosat menghasilkan fosfonat dan sarkosin (Kishore dan Jacob, 1987), kemudian fosfonat digunakan bakteri sebagai sumber fosfor bagi kehidupannya. Sedangkan sarkosin dapat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon dengan menghasilkan produk glisina.

Pada penelitian telah dilakukan isolasi rhizobakteri tithonia. Bakteri dibiakkan pada media yang mengandung glifosat pada beberapa konsentrasi. Karakterisasi dilakukan pada bakteri yang mampu tumbuh pada konsentrasi glifosat yang tinggi karena bakteri tersebut dianggap mempunyai kemampuan tumbuh terbaik. Karakterisasi yang dilakukan adalah pengujian rentang pH (4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 dan 7.0). Selanjutnya uji temperatur (20, 25, 30, 35, 40) °C dan uji penggantian sumber karbon (glukosa, maltosa, dekstrosa, galaktosa dan laktosa).

Dari penelitian didapatkan 6 isolat rhizobakteria (1, 2, 3, 5, 6, 12) yang tahan hidup dalam konsentrasi glifosat tinggi (14,4 mg/ ml) dan hanya 2 isolat (isolat 1 dan 12) yang mampu menghasilkan fitohormon IAA dalam jumlah yang tinggi. Pada pengujian degradasi glifosat diketahui bahwa kedua isolat lebih cenderung merombak ikatan C-P yang menghasilkan glisin dari pada merombak ikatan C-N yang menghasilkan AMPA.

Pengujian pH optimal bagi pertumbuhan isolat 1 adalah pada pH 6,0 (OD 0,867) sedangkan pada isolat pada pH 7,0 (OD 0,468). Pada isolat 1 produksi IAA tertinggi terdapat pada pH 7,0 (28,76 ppm) selanjutnya pada pH 6,5 (22,50 ppm). Sedangkan untuk pH 4 belum terjadi produksi IAA. Namun demikian produksi IAA isolat 1 juga ditemukan meningkat pada pH 4,5 (21,25 ppm). Isolat 12 juga mempunyai kecenderungan peningkatan produksi IAA pada pH netral. Produksi IAA tertinggi ditemukan pada pH 7,0 (17,31 ppm).

. Suhu 25°C merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan isolat 1 (OD 0,604) dan yang terendah tingkat pertumbuhan pada suhu 40°C. Sedangkan pada isolat 12 pertumbuhan paling tinggi ditemukan pada suhu 35° C dan yang paling rendah ditemukan pada 30° C (OD 0,015). Produksi IAA paling tinggi bagi isolat 1 ditemukan pada suhu 20°C (29,00 ppm) dan terendah pada suhu 40°C. Untuk isolat 12 produksi IAA tertinggi ditemui pada suhu 20°C (20,90 ppm) dan menurun seiring peningkatan suhu sampai 40°C.

Sumber karbon yang mudah dimetabolisir untuk pertumbuhan pada isolat 1 adalah galaktosa dengan nilai OD (0,913) terendah ditemukan pada sukrosa (0,392). Sedangkan pada isolat 12 sumber karbon terbaik juga pada galaktosa (OD 1,280) dan nilai terendah ditemukan pada dekstroza (0,684). Pada pengujian produksi IAA hasil yang didapatkan juga berbeda-beda sesuai dengan jenis sumber karbon. Pada isolat 1 produksi IAA tertinggi ditemukan pada galaktosa (5,876 ppm) dan isolat 12 pada glukosa (14,81 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, Abdurrahman. 2003. *Degradasi Tanah Pertanian di Indonesia* Kapuslitbangtanak. Tabloid Sinar Tani. 3 Hal
- Agustian, Nuriyani, Lusi. M., Oktanis., E. 2010 *Rhizobacteria Penghasil Fitohormon IAA pada Rhizosfer Tunbuhan Semak Karamunting, Tithonia dan Tanaman Pangan*. Universitas Andalas Padang. Jurnal Solum (7:1), 49-60
- Alberta Pulse Grower. 2013. *Nitrogen fixation – A strategy for enhancement*. Strategic Vision Consulting Ltd.
- Araújo, A S F., Monteiro, R T R., Abarkeli, R B. 2003. *Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils*. Chemosphere 799-804
- Basu, P. S. 2000. *Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub, Cajanus cajan*. Microbiol. Res. 155:123-127
- Bergstrom, L., Borjesson, E., Stenstrom, J. 2011. *Laboratory and lysimeter studies of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a sand and a clay soil*. J. Environ. Qual. 40: 98–108.
- Bodelier PLE, Wijnhuizen AG, Blom CWPM, Laanbroek HJ, 1997 *Effects of photoperiod on growth of and denitrification by Pseudomonas chlororaphis in the root zone of Glyceria maxima, studied in a gnotobiotic microcosm*. Plant Soil 190:91–103
- Bric, J.M., Bostock, R.M., Silverstone S.E. 1990. *Rapid in situ assay for Indoleacetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane*. Appl. Env. Microbiol.: 57(2): 535-538
- Bromilow R., Evans A., Nicholls P. 1996. *The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years*. Pesticide science 48:64-72
- Busse M.D., Ratcliff A.W., Shestak C.J., Powers R.F. 2001. *Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities*. J Soil Biol Biochem 33:1777-89.
- Carlisle, S. M., and J. T. Trevors. 1988. *Glyphosate in the environment*. Water Air Soil Pollut. 39:409-420

- Cycon. M., and Seget. Z. P. 2007. *Effect of selected Pesticides on Soil Miroflora Involved in Organic matter and Nitrogen Transformations: Pot Experiment* Polish J. Ecol. 2, 207-220
- Duke S.O., Cerdeira. A. L. 2010. *Effects of glyphosate-resistant crop cultivation on soil and water quality*. GM Crops 1:1, 16-24
- Duke S.O., Lydon. J., Koskinen, W.C., Moorman, T.B., Chaney, R.L., Hammerschmidt, R. 2012. *Glyphosate Effects on Plant Mineral Nutrition, Crop Rhizosphere Microbiota, and Plant Disease in Glyphosate-Resistant Crops*J. Agric. Food Chem. 60, 10375–10397
- Duke SO, Wedge DE, Cerdeira AL, Matallo MB. 2007. *Interactions of synthetic herbicides with plant disease and microbial herbicides*. In: J. Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. Dordrecht
- Fan. J., Yang. G., Zhao. H., Shi. G., Geng. Y., Hou. T., Tao. K. 2012. *Isolation, identification and characterization of a glyphosate degrading bacterium, Bacillus cereus CB4, from soil*. J. Gen. Appl. Microbiol., 58 : 263–271
- Farenhorst. A, Papiernik. S.K., Saiyed I., Messing. P., Stephens. K.D., Schumacher.J.A., Lobb .D.A., Li S, Lindstrom, M.J., Schumacher T.E. 2008. *Herbicide Sorption Coefficients in Relation to Soil Properties and Terrain Attributes on a Cultivated Prairie*. J. Environ. Qual. 37:1201–1208
- Girsang, W. 2005. *Pengaruh Tingkat Dosis Herbisida Isopropilamina Glifosat dan Selang Waktu Terjadinya Pencucian Setelah Aplikasi Terhadap Efektifitas Pengendalian Gulma pada Perkebunan Karet* . Universitas Sumatrea Utara. Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian, 3. 31-36
- Hakim, N dan Agustian. 2005. *Budidaya Titonia dan Pemanfaatannya Dalam Usaha Tani Tanaman Hortikultura dan Tanaman Pangan Secara Berkelanjutan Pada Ultisol*. Laporan Penelitian Tahun III Hibah Bersaing XI/III. Proyek Peningkatan Penelitian Perguruan Tinggi DP3M Ditjen Dikti. Lembaga Penelitian Unand. Padang
- Hardjowigeno. S. 1987. *Ilmu Tanah*. Medyatama Sarana Perkasa. Jakarta. 231 Hal
- Huber. D. 2011. *GMO's Glyphosate and Tomorrow*. Acres USA. Vol 41. Nexus Magazine. 6 Hal.

- Irianto, M. Y. dan M. Johanmis. 2009. *Peranan herbisida dalam sistem olah tanah konservasi untuk menunjang ketahanan pangan*. Himpunan Ilmu Gulma Indonesia (HIGI) 184 -197
- Jacob. GS., Garbow. JR., Schaeffer. J., Kishore GM. 1987. *Solid State of NMR Studies of regulation of N (Phosponomethyl)glycine dan glycine Metabolism in Pesudomonas sp.Strain PG2982*. J Biol Chem 262 1662-1557
- Jacob, GS., Garbow, JR., Hallas, LE., Kimak, NM., Kishore, GM., Schaeffer, J. 1988. *Metabolism of Glyphosate in Pseudomonas sp. Strain LBr*. Appl. Environ. Microbiol. 54: 2953-2958
- Jumbriah, 2010. *Bioremediasi Tanah Tercemar Diazinon Secara Ex Situ dengan Menggunakan Kompos Limbah Media Jamur (Spent Mushroom Compost)*. Institut Pertanian Bogor
- Khairani. G. 2009. *Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) Dari Akar Tanaman Jagung*. Universitas Sumatera Utara [Skripsi]
- Kishore, GM., Jacob, GS., 1987 *Degradation of Glyphosate by Pseudomonas sp. PG2982 via a Sarcosine Intermediate*. J. Biol. Chem. 262: 12164-12168
- Kools S.A.E., Roover. M., Gestel, C.A.M., Starleen. N.M. .2004. *Glyphosate degradation as a soil health indicator for heavy metal polluted soils*. Elsevier Ltd. Soil Biol. Biochem. 37:1303–1307
- Liawati, L .2001. *Seleksi Bakteri Resisten Glifosat*. (Skripsi) Institut Pertanian Bogor. Bogor 31 Hal
- Maira, L. 2000. *Indole 3 Acetic Acid Producing Rhizobacteria and its Potential to Enhance Growth of Sweet Potato (Ipomea batatas L) .* Universiti Putra Malaysia [Thesis]
- Martensson A.M. 1992. *Effects of agrochemicals and heavy metals on fast growing Rhizobia and their symbiosis with small seeded legumes*. Soil Biology and biochemistry
- Massachusset Department of Agricultural Recources. 2003. *Glyphosate*. Boston. 5 Hal
- Mishra P. K , Joshi P, Bisht S. C, Bisht J.K. 2010. *Cold-Tolerant Agriculturally Important Microorganisms*. Microbiology Monograph 18 : 273 - 296

- Moneke A.N., Okpala G.N., Anyanwu, C.U., 2010 *Biodegradation of Glyphosate Herbicide in vitro using Bacterial Isolates from Four Rice Field*. African Journal of Biotechnology 26 :4067-4074
- Monsanto .2005. *Summary of Ecotoxicological Risk Assesment for Roundup Herbicide*. Monsanto Company. 4 Hal.
- National Pesticide Communication Network. 2001. *Glyphosate Technical Fact Sheet*. US EPA. United States. 6 Hal.
- Nufarm. 2013. *Material Safety and Data Sheet*. 3 Hal
- Nyoman, I. P. 2010. *Mikrobia Penghasil Fitohormon [Bahan ajar]* Departemen Biologi FMIPA ITB. 6 Hal.
- Pipke. R., Schulz. A., Amrhein. N. 1987. *Uptake of Glyphosate by an Arthrobacter sp*. Appl Environ Microbiol p 974-978.
- Riadi. M. 2011. *Herbisida dan Aplikasinya [Bahan Ajar]*, Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. Makassar. 140 Hal
- Rogers. K. 2011. *Bacteria and Virusses*. Brittanica Educational Publishing. New York. 238 Hal.
- Rueppel. M.L., Brightwell. B.B., Schaeffer J., Marvel JT., 1977. *Metabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water*. J Agric Food Chem 25: 517-528.
- Santos J.B., Ferreira. E.A., Fialho, C.M.T., Santos, E.A., Galon. L., Conceco,. Asiazu, I., Silva, A.A. *Biodegradation of Glyphosate in Rhizospheric Soil Cultivated with Glycine max, Canavalia ensiformis E Stizolobium aterritimum*. Planta Daninha, Viçosa-MG (27:4) p. 781-787
- Sommers E, Vanderleyden J, Srinivasan M. 2004 *Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet*. Crit Rev Microbiol 30:205–240
- Supriadi. 2012. *Pengembangan Formulasi Herbisida Berbasis Asam Asetat untuk Mengendalikan Gulma Pada Tanaman Kelapa Sawit* , Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Bogor. Bogor. 31 Hal.
- Sprankle P., Meggit W.F., Penner D. 1975 *Rapid Inactivation Glyphosate in the Soil*. Weed Sci 23 : 224 – 228
- Springett JA, Gray AJ and Reid JB. 1992. *Effect of introducing earthworms into*

horticultural land previously denuded of earthworms. Soil Biol. Biochem. 24: 1615-1622

- Tarigan R.S, Jamilah I, Elimasni. 2010 *Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil Fitohormon IAA dari Rhizosfer Tanah Perkebunan Kedelai (Skripsi) Universitas Sumatra Utara. Medan.* 7 Hal.
- Thompson, D. G., Pitt, D. G., Buscarini, T. M., Staznik, B., Thomas, D. R. 2000. *Comparative fate of glyphosate and triclopyr herbicides in the forest floor and mineral soil of an Acadian forest regeneration site. J. Forest Res.* 30: 1808–1816
- Thompson R.P., 1979 *There Has Never Been Herbicide like This Before. Roundup Herbicide Symposium III.* 32 Hal.
- Torstensson, L., 1985. *Behaviour of glyphosate in soils and its degradation in: Grossbard, E., Atkinson, D. (Eds.), The Herbicide Glyphosate. Butterworths, London, pp. 137–150.*
- Tu .2001. *Weed Control Methods Handbook, The Nature Conservancy.* 10 Hal.
- United States Department of Agriculture (USDA). 1997. *Glyphosate Herbicide Information Profile. Pacific Northwest Region.* 16 Hal.
- Wardoyo.S.S., Haridjaja. O., Widiatmaka. 2001. *Distribusi Glifosat didalam Tanah dan Pengaruhnya Terhadap Ciri Tanah Serta Pertumbuhan Kedelai . Bogor. Jurnal Pertanian Indonesia (10:2).* 6 Hal.
- Widawati S., Muharam A. 2012. *Uji Laboratorium Azospirillum sp. Yang Diisolasi dari beberapa Ekosistem. J Hort* 3 : 258-267
- Wilbraham A. C, Matta M. S. 1984. *Introduction to Organic and Biological Chemistry.* The Benjamin/Cumming Publishing Company. Edwardsville 483 Hal.
- Yateem, A, T., Al-Sharrah, A. Bin-Haji 2007. *Investigation of microbes in the rhizosphere of selected grasses for rhizoremediation of hydrocarbon-contaminated soils. Soil and Sedimentation Contamination* 16: 269–280
- Zoschke, A. and M. Quadranti. 2002. *Integrated leed management. Leed Biol. Management.* 2: 1-10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Penelitian

Jadwal Kegiatan Penelitian dari Bulan Agustus 2013 – Agustus 2014

No	Kegiatan	Bulan															
		Agt	September				Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agt
		4	1	2	3	4											
1	Pembuatan Proposal																
2	Sterilisasi Alat																
3	Pengambilan Sampel																
4	Isolasi Bakteri Resisten Glifosat																
5	Isolasi Bakteri Penghasil Fitohormon IAA																
6	Uji Kemampuan Bakteri Mendegradasi Glifosat dan Menghasilkan Fitohormon IAA																
7	Karakterisasi Bakteri																
8	Pengolahan Data																
9	Penyusunan Skripsi																

Lampiran 2. Alat dan Bahan

Alat

No	Nama Alat	Jumlah
1	Kantung plastik	5
2	Test tube	150
3	Standar test tube	10
4	Pipet tetes	3
5	Pipet takar	1
6	Gelas piala 500 ml	2
7	Erlenmeyer 100 ml	2
8	Gelas ukur 50 ml	2
9	Petri dish	45
10	Autoclaf	1
11	Jarum ose	3
12	Bunsen	1
13	Plastik Wrap Pluminium	1
14	Foil	1
15	Vortex	1
16	Timbangan digital	1
17	Laminar air flow	1
18	Inkubator	1
19	pH meter	1
20	Cutter	1
21	Botol Schott	4

Bahan

No	Nama Bahan	Jumlah
1	Glifosat	500 ml
2	NA	50 g
3	Aquadest	5 lt
4	KOH	50 g
5	HCl	20 ml
6	Sukrosa	10 g
7	Glukosa	10 g
8	Galaktosa	10 g
9	Maltosa	10 g
10	Dekstrosa	10 g
11	Kings B padat	50 g
12	Kings B cair	200 ml
13	Nutrient Broth	200 ml
14	FeCL ₃ 0,5 N	5 ml
15	Perchloric aid 35 %	1000 ml

Lampiran 3. Media Penumbuh Bakteri

a. Media Nutrient Agar (NA)

Bahan	Jumlah
NA instant	10 gr
Aquadest	500 ml

Ditimbang NA instan sebanyak 10 gr menggunakan timbangan analitik, dan dimasukkan kedalam botol Schott kemubian ditambahkan aquadest sebanyak 500 ml. Dilarutkan NA dengan cara mengaduknya hingga homogen. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf.

b. Media Nutrient Broth NB

Bahan	Jumlah
NB instant	5 gr
Aquadest	500 ml

Ditimbang NB instan sebanyak 5 gr menggunakan timbangan analitik, dan dimasukkan kedalam botol Schott kemubian ditambahkan aquadest sebanyak 500 ml. Dilarutkan NB dengan cara mengaduknya hingga homogen. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf.

c. Media King's Padat/Agar

Bahan	Jumlah
Protease Pepton	10 gr
Gliserol	5 ml
KH ₂ PO ₄	0,6 gr
MgSO ₄	0,75
Bacto Agar	10 gr
Aquadest	500 ml

Seluruh bahan ditimbang menggunakan timbangan analitik dan dimasukkan kedalam botol Schott, ditambahkan aquadest dan dilarutkan sampai homogen. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf.

d. Media King's B Cair

Bahan	Jumlah
Protease Pepton	10 gr
Gliserol	5 ml
KH ₂ PO ₄	0,6 gr
MgSO ₄	0,75
Aquadest	500 ml

Seluruh bahan ditimbang menggunakan timbangan analitik dan dimasukkan kedalam botol Schott, ditambangkan aquadest dan dilarutkan sampai homogen. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf.

Lampiran 4. Penentuan dan pengukuran fitohormon IAA dengan metoda kolorimetrik Bric *et al*, 1990 dimodifikasi oleh Maira (2000)

1. Bahan dan alat

a. Persiapan kurva standar IAA

Kurva standar digunakan untuk menghubungkan optical density (OD) tersedia dengan konsentrasi IAA. Secara berurutan konsentrasi IAA murni adalah 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ppm yang diencerkan kedalam 50 ml aquadest steril. Masing2 pengenceran dimasukkan kedalam test tube dan ditambahkan pereaksi Salkowsky dibiarkan selama 25 menit. Warna larutan akan berubah menjadi merah. Absorban dari perubahan warna diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 535 nm, sehingga diperoleh nilai Odyang dianalisis dengan persamaan garis lurus

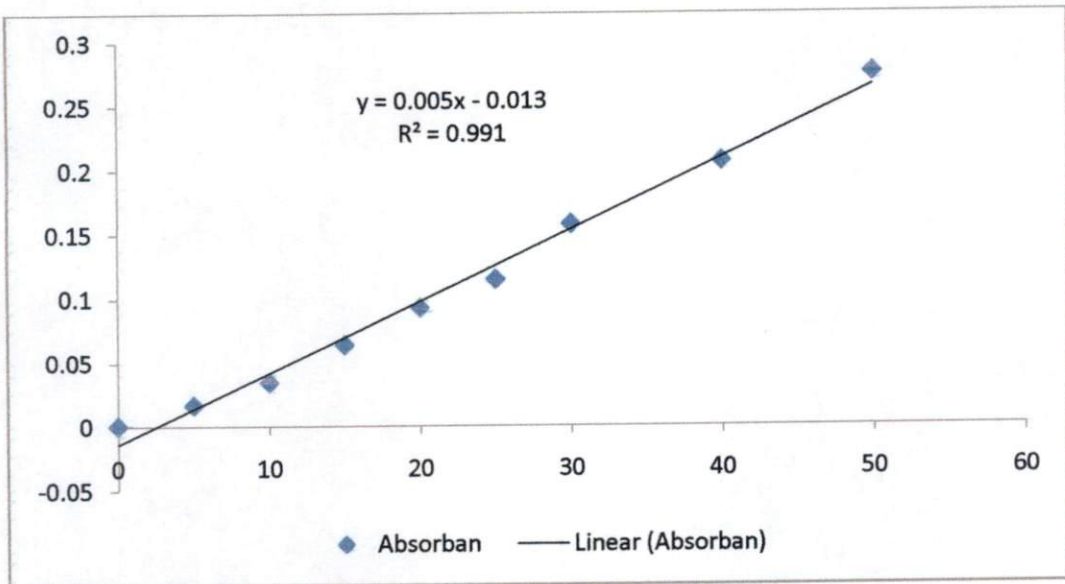
b. Pereaksi Salkowsky (2 ml FeCl_3 + 98 ml Perchloric acid 35%)

2. Cara kerja

Isolat bakteri yang diperoleh diperbanyak dengan media Kings B dikocok selama 24 jam dengan rotary shaker pada 200 rpm. Setelah itu disentrifus selama 7 menit pada 7000 rpm. Kemudian 1 ml supernatan dipipet kemudian dimasukkan kedalam testtube dan ditambah 2 ml pereaksi salkowsky. Setelah itu dibiarkan selama 30 menit untuk melihat perubahan warnanya, kemudian diukur kadar fitohormon auksin dengan menggunakan spetrofotometer UV dengan panjang gelombang 535 nm. Untuk pengamatan visual jika terbentuk rona warna merah, diduga isolat tersebut ada memproduksi IAA

Lampiran 5. Kurva standar pengukuran produksi IAA

Ppm	Absorban
0	0,001
5	0,017
10	0,035
15	0,064
20	0,093
25	0,115
30	0,158
40	0,207
50	0,276



Lampiran 6. Perhitungan Jumlah Konsentrasi Glifosat

Roundup berbahan aktif Isopropilamina glifosat 486 g/l setara dengan 360 g/l glifosat. Dosis penggunaan dilapangan 3-6 l/ha. BM Glifosat = 168 g artinya dalam 1 liter Roundup konsentrasi glifosat adalah $360/169 \text{ M} = 2,130 \text{ M} = 2130 \text{ mM}$. Roundup 360 g/l = dalam 1 ml terdapat glifosat 0,36 g glifosat = 360 mg glifosat/ml. Untuk mendapat deretan konsentrasi final dalam media kultur (vol 5 ml) padat dan cair: 2,8; 4,5; 7,2; 11, 52; 14,4 mg/ml media kultur padat dan cair maka diperlukan pengenceran bertingkat dengan cara berikut :

- a. Konsentrasi final 14,4 mg/ml (persiapan 1 isolat dan 10 test tube)

Dipipet sebanyak 2 ml larutan glifosat 360 mg/ml dan kemudian ditambahkan 3 ml H₂O sehingga pengenceran sebanyak 2,5 kali dengan konsentrasi menjadi 144 mg/ml. Selanjutnya dipipet 0,5 ml glifosat konsentrasi 144 mg/ml kemudian ditambahkan 4,5 ml media kultur sehingga diperoleh pengenceran 10 kali dengan konsentrasi final 14,4 mg.

- b. Konsentrasi final 11,2 mg/ml (persiapan untuk 1 isolat dan 10 test tube)

Dipipet sebanyak 2 ml larutan glifosat 360 mg/ml dan kemudian ditambahkan 4,44 ml H₂O sehingga pengenceran sebanyak 3,21 kali dengan konsentrasi menjadi 112 mg/ml. Selanjutnya dipipet 0,5 ml glifosat konsentrasi 112 mg/ml kemudian ditambahkan 4,5 ml media kultur sehingga diperoleh pengenceran 10 kali dengan konsentrasi final 11,2 mg.

- c. Konsentrasi 7,2 mg/ml (persiapan untuk 1 isolat dan 10 test tube)

Dipipet sebanyak 1 ml larutan glifosat 360 mg/ml dan kemudian ditambahkan 4 ml H₂O sehingga pengenceran sebanyak 5 kali dengan konsentrasi menjadi 72 mg/ml. Selanjutnya dipipet 0,5 ml glifosat konsentrasi 72 mg/ml kemudian ditambahkan 4,5 ml media kultur sehingga diperoleh pengenceran 10 kali dengan konsentrasi final 7,2 mg.

- d. Konsentrasi 4,5 mg/ml (persiapan untuk 1 isolat dan 10 test tube)

Dipipet sebanyak 1 ml larutan glifosat 360 mg/ml dan kemudian ditambahkan 7 ml H₂O sehingga pengenceran sebanyak 8 kali dengan konsentrasi menjadi 45 mg/ml. Selanjutnya dipipet 0,5 ml glifosat konsentrasi 45 mg/ml kemudian ditambahkan 4,5 ml media kultur sehingga diperoleh pengenceran 10 kali dengan konsentrasi final 4,5 mg.

e. Konsentrasi 2,8 mg/ml (persiapan untuk 1 isolat 10 test tube)

Dipipet sebanyak 1 ml larutan glifosat 360 mg/ml dan kemudian ditambahkan 11,8 ml H₂O sehingga pengenceran sebanyak 12,8 kali dengan konsentrasi menjadi 2,8 mg/ml. Selanjutnya dipipet 0,5 ml glifosat konsentrasi 28 mg/ml kemudian ditambahkan 4,5 ml media kultur sehingga diperoleh pengenceran 10 kali dengan konsentrasi final 2,8 mg

Lampiran 7. Analisis statistik

1. Tabel sidik ragam DO 660 isolat 1

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel 5 %
Perlakuan	4	0.476	0.119	14.3*	3.48
Galat	10	0.083	0.008		
Total	14	0.559			

KK = 24,50 %

2. Tabel sidik ragam DO 660 isolat 12

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel 5%
Perlakuan	4	1.728	0.432	64.1*	3.48
Galat	10	0.067	0.006		
Total	14	1.795			

KK = 18,90%

3. Tabel sidik ragam produksi IAA isolat 1

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel 5 %
Perlakuan	4	1283.72	320.93	17.2*	3.48
Galat	10	186.25	18.62		
Total	14	1469.97			

KK = 30,72%

4. Tabel sidik ragam produksi IAA isolat 12

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel 5 %
Perlakuan	4	1315.00	328.74	104*	3.48
Galat	10	31.58	3.15		
Total	14	1346.58			

KK = 18,39 %