

KARAKTERISASI DAN RESISTENSI
***Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* DARI TANAH**
DI KAWASAN PT GREAT GIANT PINEAPPLE TERHADAP
HERBISIDA AMETRIN

(Skripsi)

Oleh

Siti Nurlela Wati
NPM. 2017061020



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN RESISTENSI *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* DARI TANAH DI KAWASAN PT GREAT GIANT PINEAPPLE TERHADAP HERBISIDA AMETRIN

Oleh

SITI NURLELA WATI

Herbisida adalah bahan kimia sintetis yang banyak digunakan untuk mengendalikan gulma, salah satunya adalah herbisida ametrin. Ametrin digunakan untuk secara selektif mengendalikan gulma berdaun lebar. Penggunaan herbisida yang berlebihan berdampak negatif bagi lingkungan, mikroorganisme non target, dan menyebabkan resistensi pada tanaman target. Bioremediasi adalah salah satu upaya perbaikan lahan yang tercemar herbisida, yaitu dengan memanfaatkan agen hayati antara lain mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya resistensi bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari tanah di kawasan PT GGP terhadap herbisida ametrin. Penelitian dilakukan melalui observasi dan eksperimen. Rancangan acak kelompok (RAK) dua faktor. faktor digunakan untuk penelitian eksperimen. Faktor pertama adalah jenis isolat bakteri yaitu *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dan faktor kedua konsentrasi herbisida ametrin terdiri atas 4 taraf yaitu 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm, dan kontrol. Masing masing unit perlakuan diulang 3 kali dengan kelompok sebagai ulangan. Data hasil uji resistensi dianalisis *Two Way Anova* menggunakan aplikasi SPSS versi 26, 2022 dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf α 5%. Hasil karakterisasi isolate bakteri dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap herbisida ametrin dan masih mampu tumbuh tumbuh pada konsentrasi herbisida ametrin 100 ppm. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki jumlah rata-rata sel tertinggi, $5,25 \times 10^7$ sel/ml.

Kata kunci : Herbisida ametrin, *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, Resistensi.

ABSTRACT

CHARACTER AND RESISTANCE OF *Bacillus* sp. AND *Pseudomonas aeruginosa* FROM SOIL IN THE PT GREAT GIANT PINEAPPLE AREA TO THE HERBICIDE AMETRIN

BY

SITI NURLELA WATI

Herbicides are synthetic chemicals widely used to control weeds, with ametrin being one such herbicide that selectively targets broadleaf weeds. However, excessive use of herbicides negatively impacts the environment, non-target microorganisms, and leads to resistance in target plants. Bioremediation, which involves the use of biological agents, including microorganisms, is one approach to mitigating herbicide-contaminated land. This study aimed to assess the resistance of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from soil in the PT GGP area, to the herbicide ametrin. The study was conducted through observation and experimentation. A two-factor randomized block design (CRD) factors were used for experimental research. The first factor was the type of bacterial isolate *Bacillus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa*—while the second factor was the concentration of ametrin, consisting of four levels: 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, and a control. Each treatment was repeated three times, with the group as a replication. The resistance test data were analyzed using Two-Way ANOVA via SPSS version 26, followed by Tukey's test with an α level of 5%. The characterization of bacterial isolates was analyzed descriptively. The results indicated that both *Bacillus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* isolates were resistant to the ametrin herbicide and were capable of growth even at higher concentrations of ametrin (100 ppm).

Keywords : Ametrin Herbicide, *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, Resistance.

KARAKTERISASI DAN RESISTENSI
Bacillus sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* DARI TANAH
DI KAWASAN PT GREAT GIANT PINEAPPLE TERHADAP
HERBISIDA AMETRIN

Oleh

Siti Nurlela Wati

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2024

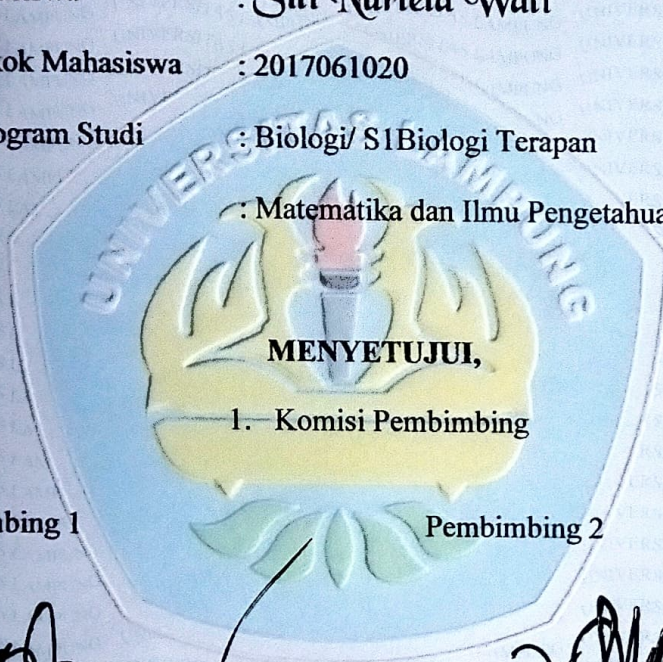
Judul Skripsi : **KARAKTERISASI DAN RESISTENSI
Bacillus sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*
DARI TANAH DI KAWASAN
PT GREAT GIANT PINEAPPLE
TERHADAP HERBISIDA AMETRIN**

Nama Mahasiswa : **Siti Nursela Wati**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2017061020**

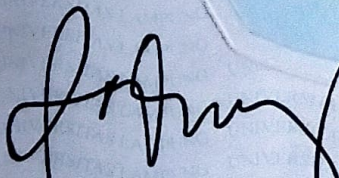
Jurusan/Program Studi : **Biologi/ S1 Biologi Terapan**


Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Pembimbing 1

Pembimbing 2


Rochmah Agustrina, Ph.D.
NIP. 196108031989032002


Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP. 197912302008121001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung


Dr. Jani Master, M.Si.
NIP. 198301312008121001

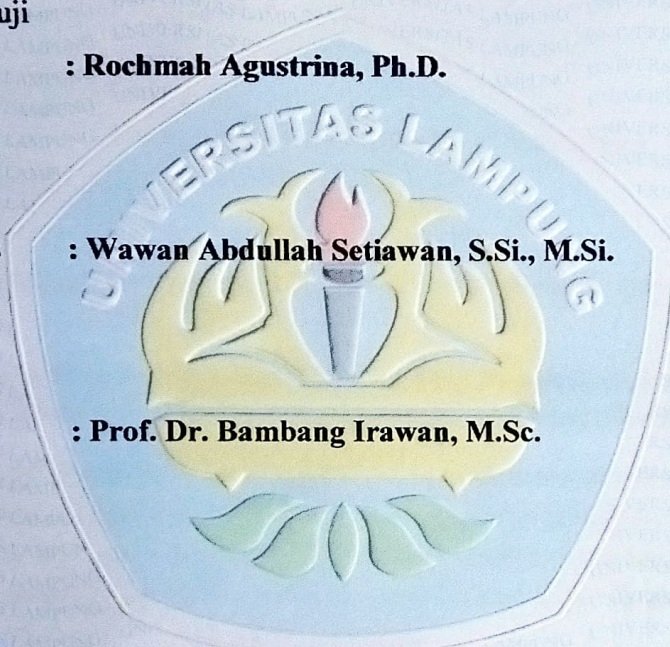
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Rochmah Agustrina, Ph.D.

Sekretaris : Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.

Anggota : Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Agustus 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Siti Nurlela Wati
NPM : 2017061020
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Karakterisasi Dan Resistensi *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* Dari Tanah Di Kawasan Pt Great Giant Pineapple Terhadap Herbisida Ametrin”

Baik data, gagasan, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Skripsi ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa karya ini tidak berisi material yang telah dipublikasi sebelumnya atau plagiat dari karya orang lain.

Dengan demikian ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkan.

Bandarlampung, 13 Agustus 2024

Yang menyatakan,



Siti Nurlela Wati
NPM. 2017061020

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Siti Nurlela Wati, dilahirkan di Pringsewu pada tanggal 21 Juni 2001. Anak ke empat dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Tumiran (Alm) dan Ibu Siti Zubaidah. Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-Kanak Aisyah Bustanul Athfal Sridadi diselesaikan tahun 2007. Pada tahun 2007-2014, penulis melanjutkan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Poncowarno. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Kalirejo, Lampung Tengah pada tahun 2014-2017 dan Sekolah Menengah Menengah Atas di SMAN 1 Kalirejo, Lampung Tengah pada tahun 2017-2020, dan diterima di jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung di tahun 2020 melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota biro Dana dan Usaha (Danus) pada tahun 2020-2022 dan Rohani Islam sebagai anggota KRT pada tahun 2020-2022 dan Organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA sebagai anggota bidang Sosial dan Pemberdayaan Masyarakat pada tahun 2021-2022. Pada tahun 2022, menjadi Asisten Mikrobiologi Umum, Mikrobiologi Bahan Pangan, dan Biosistematik di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di PT Great Giant Pineapple selama 40 hari dari bulan januari sampai bulai februari dengan judul **Isolasi Bakteri Patogen Pada Pisang Cavendish Penyebab Penyakit Moko Dari Kulit Buah Di PT Great Giant Pineapple** dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata

(KKN) di Desa Bina Karya Utama, Kecamatan Putra Rumbia Lampung Tengah selama 40 hari tahun 2023 dan penulis menyelesaikan skripsi ini tahun 2024 dengan judul “**Karakterisasi Dan Resistensi *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* Dari Tanah Di Kawasan Pt Great Giant Pineapple Terhadap Herbisida Ametrin**”.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah Ala Kulli Hal
Kupersembahkan karya kecilku ini untuk orang-orang yang
Kusayangi:

Abah dan Umik tercinta,
Terima kasih atas semua pengorbanan dalam mendidik, membimbing,
mendoakan, menanamkan rasa cinta kasih sayang yang selalu turerahkan,
motivasi, sehingga bisa tumbuh dan berkembang menjadi pribadi yang lebih baik.
Semoga kelak menjadi kebanggaan dan penolong dunia dan akhirat

Mas dan Mbaku yang tersayang,
Terima kasih telah memotivasi diri ini, doa dan dukungan yang selalu
turerahkan;

Bapak dan Ibu dosen yang telah menjadi orang tua kedua dikampus tak bosan
mendidik, memberikan ilmu, dan nasihat-nasihat selama perkuliahan, dan selalu
mengharapkan yang terbaik untuk semua mahasiswanya;

Sahabat dan rekan-rekan seperjuangan yang selalu memberikan semangat dan
dukungan dari awal hingga akhir perkuliahan;

Almamater tercinta
Universitas Lampung

MOTTO

“La Tahzan Innallaha Ma'ana”

fa inna ma'al-'usri yusrâ

“Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”.

(QS. Al Insyirah :5)

Sesungguhnya keadaan-Nya apabila Dia menghendaki sesuatu hanyalah berkata kepadanya: "Jadilah!" maka terjadilah ia.

(QS. Yasiin: 82)

“Ketika kamu ikhlas menerima semua kekecewaan, maka Allah akan membayar tuntas semua kecewamu dengan beribu-ribu kebaikan”

“Belajarlah untuk mengerti bahwa segala sesuatu yang baik untukmu tidak akan Allah izinkan pergi kecuali akan digantikan dengan yang lebih baik”.

(Sayyidina Ali Bin Abi Thalib)

“Tidak ada yang bisa menerima redupnya cahaya hidup. Hanya Allah yang mampu menerimamu dengan penuh. Allahlah yang akan menyalakan sinarmu”

(Ning Shema Baha)

“It is not the strongest of the species that survives, not the most intelligent that survives. It is the one that is the most adaptable to change.”

(Charles Darwin)

“いつも何度でも 夢を描こう

Itsumo nando demo yumewo egakou

(Teruslah melukis mimpi-mimpimu, jangan pernah biarkan mimpi-mimpi itu memudar)” – *(Kimura Yumi)*

“Jangan pernah memandang indah langit, sesekali pandanglah pesakitnya bumi yang berpijak. Janganlah melihat kesuksesan dan kebahagiaan orang lain, tanpa merasakan perjuangan, kegagalan, dan tangisan di setiap prosesnya.”

“Hidup itu untuk belajar, bukan belajar untuk hidup”

– *(SNW)*

SANWACANA

Bismillahirrahmannirrahim Alhamdullillahirabbil'Alamiin

Puji syukur saya hanturkan kehadiran Allah SWT atas limpahan berkah, rahmat, dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa kita hanturkan pada junjungan kita Nabi Agung Muhammd *Shalallahu'Alahi Wassalam* dengan mengharap syafaatnya di yaumul akhir kelak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Karakterisasi Dan Resistensi *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* Dari Tanah Di Kawasan PT GREAT GIANT PINEAPPLE Terhadap Herbisida Ametrin”** salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak terkait terlaksananya:

1. Kedua orang tuaku tercinta Bapak Tumiran (Alm) dan Ibu Siti Zubaidah terima kasih atas segala cinta dan kasih sayang yang selalu tureruhkan dengan tulus, yang tak pernah lelah mendoakan, mendidik, membimbing dan menuntun dalam segala hal kebaikan.
2. Teruntuk kakak-kakaku tersayang Sofyan Effendi, Mei Noviana Sari (Almh), dan Indah Ratna Hidayah yang selalu memotivasi, selalu mendoakan, dukungan serta kesabarannya dalam membimbing penulis sehingga dapat terselesaikan skripsi ini.
3. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D. selaku dosen pembimbing 1 yang sangat baik hati dan sabar dalam membimbing, memberikan arahan, nasihat, motivasi serta banyak ilmu kepada penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan banyak ilmu, arahan, bimbingan, serta motivasi

selama proses skripsi.

5. Bapak Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku dosen pembahas yang telah banyak memberikan banyak ilmu yang penulis dapatkan dan penulis ucapkan terimakasih, saran dan masukan demi kebaikan dan memperbaiki penulisan skripsi menjadi yang lebih baik.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Bapak Achmad Arifiyanto, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, dukungan, motivasi selama kegiatan perkuliahan dan konsultasi akademik dari semester 1 sampai semester 6.
10. Ibu Primasari Pertiwi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, dukungan, motivasi selama kegiatan perkuliahan dan konsultasi akademik dari semester 7 sampai semester 8.
11. Ibu Oni Mastuti, S.Si. selaku Laboran Lab. Mikrobiologi yang telah memberikan arahan, motivasi, bantuan dan rasa nyaman sehingga penulis merasa tenang dan senang dalam mengerjakan penelitian sehingga hari-hari lebih terasa berwarna.
12. Seluruh peneliti Micro Fam'20 yang selalu membantu, berbagi ilmu pengetahuan dan dukungan selama mengerjakan penelitian.
13. Partner penelitian "Herbicide" Aina Tusa'diah yang selalu sabar, teman bertukar ide dan gagasan, suka duka, membersamai dari hitam hingga putih, dari Maba hingga berakhirnya perkuliahan, dan seluruh rangkaian cerita masa perkuliahan sehingga semakin kisah ini dapat dikemas semakin menarik nan apik.
14. Teman sejawat sehidup semati Lina Kurniatun dan Maya Aprilia Saputri yang selalu memberikan semangat, motivasi, dukungan, saran,

mendengarkan keluh kesah, tangisan penulis, menjadi tempat terhangat ketika kembali dan menuangkan segalanya selama ini sehingga terselesaikan skripsi ini.

15. Anggota Grub Bismillah Aina dan Khusnul yang telah kebersamai sedari awal hingga akhir perkuliahan, saling mendoakan dan mendukung satu sama lain sehingga penantian ini terselesaikan.
16. Teman-teman satu kost Safiira dan Peppy yang selalu mendokan dan mendengarkan keluh kesah selama penulisan skripsi ini.
17. Anggota grub Goes To Palembang (GTP) Aina, Alvina, Aliya, Khatarina, Handyta, Lutfiah, Nofa, dan Rifaldi yang selalu memberikan semangat dan dukungan hingga terselsaikan skripisi ini.
18. Semua teman-teman angkatan 2020 Biologi Terapan dan Biologi atas kebersamaannya selama perkuliahan.
19. Syarifah Ustz. Halimah Alayidrus, Ustz. Oki Setiana Dewi, Ning Jazilah Annahdliyah dan Gus M. Abdurrahman Al-Kautsar, Gus Baha yang memotivasi penulis melalui kajian dan ceramah-ceramahnya.
20. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah ikut serta membantu mendoakan baik dalam terselesaikannya skripsi ini.
21. Yang terkhir kepada diriku, ku ucapkan terima kasih telah bertahan dan berjuang sejauh ini, janjimu telah terpenuhi namun semua belum usai, lembaran kosong masih banyak belum terwarnai, teruslah berjuang karena dunia memang tempatnya berjuang dan pesakitan. Teruslah semangat dan semoga kelak sukses dunia akhirat aamiin!.

Penulis menyadari dalam menulis skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan terdapat banyak kekurangan serta kesalahan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun sehingga laporan ini dapat berguna bagi pembaca.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2024
Penulis,

Siti Nurlela Wati

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	xi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	.1
1.2. Tujuan	3
1.3. Kerangka Pikir	3
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Herbisida dan Penggolongannya.....	6
2.2. Herbisida Ametrin.....	8
2.3. Tanah.....	10
2.3.1. Mikroorganisme Tanah	11
2.4. Mikroba Resisten Residu Herbisida.....	12
2.5. Bakteri Tanah.....	13
2.5.1. <i>Bacillus</i> sp.	14
2.5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
III. METODE PENELITIAN.....	19
3.1. Waktu dan Tempat.....	19

3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Rancangan Penelitian.....	20
3.4. Diagram Alir Penelitian	21
3.5. Prosedur Kerja	23
3.5.1. Persiapan dan Sterilisasi Alat.....	23
3.5.2. Peremajaan dan Subkultur Isolat Bakteri.....	23
3.5.3. Uji Karakter Isolat Bakteri.....	24
3.5.3.1. Karakteristik Makroskopis	24
3.5.3.2. Karakteristik Mikroskopis	25
3.5.4. Uji Biokimia.....	26
3.5.4.1. Uji Amilase	26
3.5.4.2. Uji Katalase.....	27
3.5.4.3. Uji Lipase.....	28
3.5.4.4. Uji Protease.....	28
3.5.5. Uji Daya Resistensi Bakteri Terhadap Herbisida Ametrin	29
3.5.5.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Terhadap Herbisida.....	31
3.6. Analisis Data.....	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1. Karakterisasi Isolat Bakteri.....	33
4.1.1. Koloni Bakteri.....	33
4.1.2. Morfologi Sel Bakteri Secara Mikroskopik	34
4.2. Uji Biokimia.....	38
4.2.1. Uji Amilase	38
4.2.2. Uji Katalase.....	40
4.2.3. Uji Lipase.....	41
4.2.4. Uji Protease.....	43
4.3. Uji Daya Resistensi Bakteri Terhadap Herbisida	44
4.4. Kurva Pertumbuhan Bakteri	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1. Kesimpulan	50

5.2. Saran 50

DAFTAR PUSTAKA 52

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Satuan Percobaan	21
2. Hasil pengamatan Morfologi Isolat Bakteri	33
3. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Isolat Bakteri	35
4. Hasil Pengamatan Uji KOH isolat Bakteri	37
5. Hasil Uji Biokimia	38
6. Hasil Pengamatan Uji Amilase <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
7. Hasil Pengamatan Uji Katalase <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
8. Hasil Pengamatan Uji Lipase <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
9. Hasil Pengamatan Uji Protease <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
10. Hasil Uji Statistik Anova antara isolat bakteri dan Herbisida	44
11. Hasil Pengujian dan rata-rata bakteri	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus Struktur Ametrin (Basappa & Manu, 2020)	8
2. Struktur kimia ametrin 3D	9
3. Hasil Pengecatan Gram bakteri <i>Bacillus</i> sp. perbesaran mikroskop 400x (Gram positif) (Dokumentasi pribadi)	15
4. Bentuk mikroskopik <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Soedarto, 2015).....	17
5. Peta alur penelitian.....	22
6. Prosedur pewarnaan Gram (James <i>et al.</i> , 2002)	25
7. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri (Microbiology note, 2022).....	25
8. Hasil positif uji amilase (Triza <i>et al.</i> , 2021)	26
9. Hasil positif uji katalase (Pulungan & Tumangger, 2018).....	27
10. Hasil positif uji lipase (Royanti <i>et al.</i> , 2023).....	28
11. Hasil positif uji protease (Amanina <i>et al.</i> , 2022)	29
12. Kurva pertumbuhan	48

LAMPIRAN

Lampiran

1. Perhitungan Sel Bakteri
2. Hasil Perhitungan Sel Bakteri Uji Resistensi Terhadap Herbisida
3. Hasil Uji *Two Way Anova*
4. Dokumentasi proses subkultur bakteri
5. Dokumentasi proses uji Biokimia
6. Dokumentasi proses uji daya resistensi terhadap Herbisida ametrin

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Gulma merupakan tumbuhan pengganggu yang dapat menghambat dan merugikan tanaman budidaya sehingga perlu dilakukan pengendalian. Pengendalian gulma dilakukan menggunakan herbisida (Imaniasita *et al.*, 2020), dengan bahan aktif kimia yang banyak digunakan untuk mengendalikan gulma di kawasan industri pertanian, dan perkotaan dalam skala besar (Widowati *et al.*, 2017), salah satunya adalah herbisida ametrin. Ametrin sering digunakan untuk mengendalikan gulma berdaun lebar di perkebunan nanas Lampung Tengah sejak 20-30 tahun terakhir (Sari, 2019). Pengendalian gulma menggunakan herbisida sintesis dinilai lebih menguntungkan dan praktis, karena pelaksanaan lebih singkat dan hemat tenaga (Panjaitan *et al.*, 2015).

Penggunaan herbisida yang berlebihan dapat berdampak negatif bagi lingkungan, keragaman hayati, mikroorganisme non target, dan menyebabkan resistensi pada tanaman target (Widowati *et al.*, 2017b). Penumpukan residu herbisida di lingkungan selain bermasalah bagi ekosistem juga dapat mengancam produksi tanaman yang dibudidayakan (Yu *et al.*, 2021). Herbisida yang terakumulasi dalam tanah tercemar bila terserap oleh tanaman budidaya yang kemudian dikonsumsi manusia akan berdampak negatif terhadap

kesehatan seperti keracunan, asma, kerusakan hati, gagal ginjal, Alzheimer Parkinson, hingga kanker (Negatu *et al.*, 2018). Dampak yang ditimbulkan oleh tanah tercemar herbisida tidak hanya pada tanaman dan manusia namun, juga mematikan mikroba sehingga tanah menjadi gersang serta kekurangan unsur hara (Kesuma *et al.*, 2015).

Bioremediasi adalah salah satu cara perbaikan lahan yang tercemar dengan memanfaatkan agen hayati seperti penggunaan mikroorganisme. Bioremediasi menggunakan mikroorganisme untuk menurunkan senyawa toksik dinilai lebih murah dan ramah lingkungan. Bakteri diketahui mampu menghasilkan enzim, yang dapat mendegradasi senyawa beracun. Bakteri juga memiliki mekanisme untuk toleran dan resisten terhadap herbisida dengan menghilangkan sifat toksiknya (Widowati *et al.*, 2017). Introduksi mikroba pendegradasi di dalam tanah yang tercemar dapat meningkatkan laju dekomposisi herbisida (Ermakova *et al.*, 2010). Degradasi herbisida menggunakan mikroorganisme menjadi zat yang tidak beracun dan digunakan sebagai sumber energi (Ghazi *et al.*, 2023).

Beberapa bakteri yang diketahui mampu mendegradasi senyawa herbisida antara lain: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Agrobacterium*, dan *Alcaligenes* (Haryanto, 2006). Hasil penelitian Hadi *et al.* (2023) membuktikan bahwa bakteri tanah dari genus *Bacillus* berpotensi sebagai agen biodegradator pestisida sintesis. Sementara Pratiwi *et al.*, (2012) membuktikan bahwa isolat bakteri dari golongan genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Phenylobacterium* memiliki kemampuan dalam mendegradasi pestisida dicofol. Golongan bakteri *Pseudomonas* dinilai paling efektif dalam menurunkan akumulasi pestisida sebesar 84,45%. Firdous *et al.*, (2020) berhasil mengisolasi strain bakteri baru *C. odontotermes* dari tanah lapangan yang terkontaminasi herbisida glifosat di Australia dengan tingkat herbisida 0,54 gL⁻¹ mendegradasi sebesar 90% dalam kurun waktu 104 jam

Singh *et al.* (2019) menemukan 3 strain bakteri yang mampu mendegradasi herbisida glifosat dari tanah pertanian yaitu bakteri *Streptomyces* sp., *Bacillus subtilis*, dan *Rhizobium leguminosarum* percobaan selama 30 hari dengan glifosat 85-90% dengan waktu paruh berkisar 8- 9 hari.

PT Giant Pineapple memiliki banyak isolat bakteri diantaranya dua isolat bakteri yaitu *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* diisolasi dari tanah di kawasan PT GGP. Kedua isolat tersebut belum diketahui kemampuannya dalam resistensi terhadap herbisida ametrin. Dalam penelitian di lakukan kajian tentang uji karakterisasi dan resistensi isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dari tanah di kawasan PT GGP terhadap hebisida ametrin.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengetahui daya resistensi bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap herbisida ametrin dari tanah di kawasan PT Great Giant Pineapple dan;
2. mengetahui isolat bakteri tanah dari kawasan PT Great Giant Pineapple yang memiliki kemampuan resisten terhadap konsentrasi herbisida ametrin paling tinggi.

1.3 Kerangka Pikir

Gulma yang tumbuh liar di sekitar area tanam menjadi salah satu faktor penyebab penurunan dan kualitas produksi tanaman. Herbisida adalah bahan kimia sintetis yang digunakan untuk mengendalikan gulma. Salah satu

herbisida yang digunakan yaitu herbisida ametrin yang digunakan untuk mengendalikan gulma berdaun lebar. Namun, pemberian herbisida secara terus menerus akan menyebabkan pencemaran lingkungan akibat akumulasi residu herbisida. Akumulasi residu herbisida yang terserap oleh tanaman budidaya akan berdampak buruk bila dikonsumsi oleh manusia. Dampak yang ditimbulkan seperti gejala mual, diare, sakit perut, nyeri, bahkan asma, kerusakan hati, gagal ginjal, Alzheimer dan Parkinson, hingga kanker. Tidak hanya itu dampak yang ditimbulkan juga dapat mematikan mikroba sehingga tanah menjadi gersang.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menguraikan senyawa toksik tersebut adalah dengan bioremediasi. Bioremediasi adalah proses perbaikan tanah tercemar dengan memanfaatkan agen hayati lain dengan mikroorganisme karena mikroorganisme memiliki kemampuan membuktikan menguraikan residu herbisida. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa bakteri *Bacillus* memiliki potensi sebagai agen biodegradasi pestisida sintesis. Isolat bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Phenylobacterium* memiliki kemampuan mendegradasi pestisida dicofol. *Pseudomonas* dinilai paling efektif menurunkan akumulasi pestisida sebesar 84,45%. Sementara bakteri *C.adontotermis* dari tanah lapangan di Australia yang terkontaminasi herbisida glifosat juga mampu mendegradasi herbisida sebesar 90% selama 104 jam dan bakteri *Streptomyces* sp., *Bacillus subtilis*., dan *Rhizobium leguminosarum* yang mampu mendegradasi herbisida glifosat dari tanah pertanian dengan mendegradasi herbisida sebesar 85-90% selama 8-9 hari.

PT Giant Pineapple memiliki banyak isolat bakteri diantaranya dua isolat bakteri yaitu *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* diisolasi dari tanah di kawasan PT GGP. Kedua isolat tersebut belum diketahui kemampuannya dalam resistensi terhadap herbisida ametrin. Dalam penelitian ini dilakukan uji

karakterisasi dan resistensi isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dari PT GGP terhadap herbisida ametrin.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dari kawasan PT Great Giant Pineapple memiliki kemampuan resisten terhadap herbisida ametrin dan
2. didapatkan satu isolat bakteri *Bacillus* sp. atau *Pseudomonas aeruginosa* dari kawasan PT Great Giant Pineapple dalam resistensi terhadap konsentrasi herbisida ametrin paling tinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Herbisida dan Peggolongannya

Herbisida adalah bahan kimia yang digunakan untuk memberantas gulma yang menghambat pertumbuhan tanaman budidaya (Widowati *et al.*, 2017a).

Herbisida menghambat proses fisiologis dan biokimia gulma dan mematikannya. Target molekul herbisida dalam proses metabolisme gulma melibatkan kerja enzim (Dayan *et al.*, 2015). Menurut Riadi (2015) Senyawa aktif herbisida mempengaruhi beberapa proses fisiologi seperti pembelahan sel, pematangan klorofil, fotosintesis, perkembangan jaringan, respirasi, metabolisme nitrogen, dan aktivitas enzim yang sangat diperlukan gulma untuk kelangsungan dan ketahanan hidupnya.

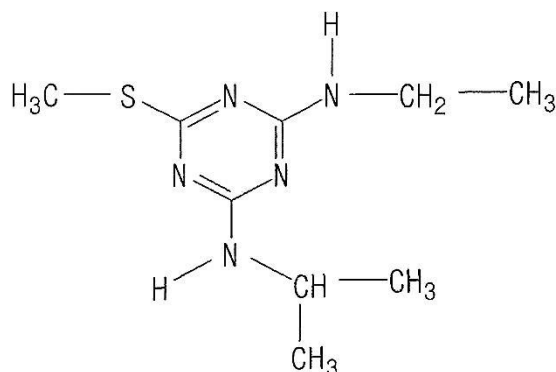
Penggunaan herbisida secara berlebihan dan terus menerus akan berdampak negatif bagi lingkungan akibat akumulasi residu herbisida. Residu herbisida yang tertinggal sebagian dapat diurai oleh mikroba tanah, dan sisanya akan bergerak di dalam tanah secara horizontal melalui aliran permukaan tanah atau secara vertikal terbawa oleh lapisan tanah ke lapisan yang lebih dalam. Semakin intensif dan tinggi herbisida yang diaplikasikan maka akan semakin banyak residu yang tertinggal di dalam tanah. Banyaknya, residu yang dapat mencemari tanah dan berbahaya bagi lingkungan, serta

keragaman hayati (Sembodo, 2010). Akibatnya timbul permasalahan penumpukan residu herbisida di ekosistem yang mengancam produksi tanaman (Yu *et al.*, 2021). Bila herbisida dalam tanah tercemar dan terserap oleh tanaman budidaya yang kemudian dikonsumsi manusia maka akan berdampak terhadap kesehatan seperti keracunan, asma, kerusakan hati, gagal ginjal, Alzheimer dan Parkinson, hingga kanker (Negatu *et al.*, 2018). Dampak yang ditimbulkan oleh tanah tercemar herbisida tidak hanya pada tanaman, hewan, dan manusia yang mengkonsumsinya namun juga dapat mematikan mikroba tanah sehingga tanah menjadi gersang serta kekurangan unsur hara (Kesuma *et al.*, 2015). Besarnya dampak negatif yang ditimbulkan bergantung pada jenis dan golongan herbisida yang digunakan dalam mengendalikan gulma (Sriyani *et al.*, 2008).

Penggolongan herbisida dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah mengidentifikasi jenis herbisida, dan sifat racunnya. Menurut Sukma, (2002) herbisida terbagi menjadi dua tipe berdasarkan waktu pemakaiannya yaitu herbisida pratumbuh (*pre emergence herbicide*) dan herbisida pascatumbuh (*post emergence herbicide*). Herbisida pratumbuh disebarkan pada lahan setelah tanah diolah sebelum benih ditebar. Herbisida jenis ini biasanya bersifat nonselektif atau membunuh semua tumbuhan yang ada. Sedangkan herbisida pasca tumbuh diberikan setelah benih tumbuh dan muncul daun sejati. Herbisida pasca tumbuh bersifat selektif sehingga tidak membunuh tumbuhan non target. Herbisida selektif cepat hilang aktivitasnya setelah bersentuhan dengan tanah. Herbisida yang disemprotkan secara langsung ke daun dapat bersifat kontak ataupun selektif. Herbisida secara kontak hanya mempengaruhi bagian yang terkena semprotan saat diaplikasikan dan mempengaruhi daun, tunas, atau pucuk. Pengaruh herbisida kontak dapat dilihat secara langsung dalam waktu yang singkat, sedangkan herbisida sistemik memerlukan waktu lebih lama untuk melihat pengaruhnya (Haryanto, 2006).

2.2 Herbisida Ametrin

Ametrin memiliki nama kimia (*2-ethylamino-4-isopropylamino-6-methyl-thio-s-triazine*). Ametrin termasuk herbisida golongan methiltio –s-triazine anggota kelompok herbisida triazine. Senyawa kimia triazin termasuk dalam kelompok azin, dicirikan oleh struktur cincin heterosiklik yang mengandung tiga atom nitrogen tak jenuh. Herbisida ametrin dengan ikatan 1,3,5-triazin yang biasa disebut s-triazin (Elbashir *et al.*, 2015). Ametrin bersifat persisten dan mudah terakumulasi di lingkungan, serta memiliki dampak yang signifikan terhadap ekosistem (Navaratna *et al.*, 2012). S-triazin dapat terdegradasi secara perlahan melalui fotolisis, hidrolisis, atau reaksi reduksi oksidasi (Szewczyk *et al.*, 2018).



Gambar.1 Rumus Struktur Ametrin (Basappa & Manu, 2020).

Molekul ametrin mengandung 32 ikatan. Ametrin memiliki 15 ikatan non-H, 6 ikatan rangkap, 6 ikatan aromatik, 1 cincin beranggota enam, 2 amina sekunder(aromatik), dan 1 sulfida. Pada penelitian Szewczyk *et al.*, (2018) menyatakan ametrin terhidroksilasi (1-((4-(methylsulfanyl)-6-[(propan-2-yl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl)amino)ethan-1-ol), S-demethylated ametryn (4-(ethylamino)-6-[(propan-2-yl)amino]-1,3,5-triazine-2- thiol) dan deethylametryn (6-(methylsulfanyl)-N 2 -(propan-2-yl)- 1,3,5-triazine-2,4-diamine).



Gambar 2. Struktur kimia ametryn 3D (Chemical Compound Deep Data Source, 2022).

Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat (EPA) telah mengklasifikasi bahwa herbisida ametryn sebagai herbisida kelas III (Liu *et al.*, 2022), yang bersifat sedikit beracun karena kelarutannya yang relatif lebih tinggi di dalam air, kapasitas adsorpsi yang lemah, resisten terhadap tanaman, dan mobilitasnya yang tinggi di lingkungan (Roland *et al.*, 2023). Pencemaran lingkungan karena penggunaan herbisida ametryn mudah dideteksi melalui permukaan air (Wang *et al.*, 2019) dan tanah (Cavalcante *et al.*, 2021). Selain itu pencemaran ametryn pada air berakibat serius karena membahayakan kesehatan manusia dan ekosistem seperti hewan, biota akuatik, dan sumber air. Dampak yang ditimbulkan akibat keracunan ametryn dapat menyebabkan mual, diare, kelemahan otot, dermatitis, serta iritasi mata dan gangguan pernapasan (Mahesh *et al.*, 2019). Dalam jangka panjang paparan herbisida ametryn dapat menyebabkan kanker karena herbisida ametryn berfungsi sebagai senyawa endokrin (Ali *et al.*, 2016).

Herbisida ametryn yang digunakan untuk mengendalikan gulma berdaun lebar dan rumput liar yang dapat diaplikasikan sebelum dan sesudah muncul gulma di area pertanian seperti nanas, jagung, dan tebu (Gao *et al.*, 2009). Herbisida ametryn bersifat selektif dan sistemik mengendalikan gulma (Susanto *et al.*,

2020). Struktur senyawa kimia ametrin adalah $C_9H_{17}N_5S$ dengan rumus bangun seperti pada Gambar 1. dan berat molekul sebesar 222,33 g/mol. Herbisida ametrin menghambat tumbuhan melalui proses fotosintesis, terutama pada jalur fotosistem II pada saat pecahnya air dan mematikan tumbuhan dengan menimbulkan reaksi lainnya. Gejala yang ditimbulkan akibat aplikasi herbisida ametrin adalah klorosis dan nekrosis pada daun dan menurunkannya fiksasi CO_2 . (Tjitrosoedirdjo *et al.*, 1984, Pratiwi, 2017). Herbisida diserap melalui akar dan akan ditranslokasikan ke jaringan tubuh gulma secara acropetal melalui xilem dan terakumulasi dalam meristem pucuk (Ningrum *et al.*, 2014). Di dalam tubuh tumbuhan ametrin mengalami degradasi yang begitu intensif sehingga tanaman resisten terhadap herbisida (Tjitrosoedirdjo *et al.*, 1984).

2.3 Tanah

Tanah adalah salah satu komponen utama dalam proses pertumbuhan tanaman dan produksi tanaman karena tanah berfungsi sebagai tempat atau media tumbuh, menahan tanaman dan menyediakan unsur hara yang diperlukan tanaman. Secara fisik, tanah berfungsi sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya tanaman dan penopang perakaran agar tetap tegak dengan menyuplai kebutuhan air dan udara. Secara kimiawi tanah berfungsi sebagai tempat penyedia unsur hara makro maupun mikro serta nutrisi secara organik dan anorganik. Unsur-unsur esensial seperti N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Zn, Fe, Mn, B, dan Cl. Sedangkan secara biologi berfungsi tanah sebagai habitat mikroorganisme yang berperan dalam penyediaan unsur hara dan penghasil hormon ZPT bagi tumbuhan (Mautuka *et al.*, 2022).

Tanah merupakan ekosistem yang mengandung berbagai macam mikroorganisme. Tanah yang melimpah di alam merupakan media yang sangat baik bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Tanah mengandung C-organik dalam jumlah besar. Tanah bertanggung jawab untuk mendukung semua bentuk kehidupan di dalamnya. Keberadaan

mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti suhu, kelembaban, tekanan osmotik, pH, kebutuhan oksigen, dan sumber energi (Batubara, 2015).

2.3.1. Mikroorganisme Tanah

Tanah merupakan habitat bagi mikroorganisme. Mikroorganisme tanah merupakan salah satu faktor yang penting dalam kesuburan tanah dan sangat sensitif terhadap pemberian pupuk, penggunaan pestisida, pengelolaan tanah, hingga proses panen. Aktivitas mikroorganisme dalam tanah tergantung pada kondisi tanah, sedangkan kondisi tanah tergantung pada pengaruh alami dan non alami. Pengaruh alami adalah iklim sedangkan pengaruh non alami adalah pengaruh yang disebabkan oleh manusia, misalnya penggunaan pestisida (Noor, 2004).

Menurut Saraswati *et al.* (2008) fungsi mikroorganisme dalam tanah digolongkan menjadi empat yaitu, sebagai penyedia unsur hara dalam tanah, perombak bahan organik dan mineral organik, sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, dan sebagai agen hayati pengendalian hama dan penyakit tanaman. Saraswati *et al.* (2006) juga menjelaskan bahwa aktivitas dan jumlah populasi di dalam tanah menjadi indikasi kesuburan tanah karena menunjukkan adanya bahan organik yang cukup, suhu yang tepat, ketersediaan unsur hara yang cukup, dan kondisi ekologi yang mendukung kondisi tanah.

Mikroorganisme tanah meliputi bakteri, fungi, protozoa, dan actinomycetes yang melimpah jumlahnya dalam tanah. Dalam setiap gram terdapat 60.000 spesies yang berbeda dan jumlahnya mencapai milyaran sel bakteri (Reid *et al.*, 2005). Bakteri tanah banyak yang

berbentuk bulat, batang, spiral. Ada empat fungsi bakteri dalam tanah yaitu sebagai dekomposer, bersimbiosis mutualisme dengan tanaman untuk fiksasi nitrogen, bakteri litotrof, dan kemoautotrof dalam daur nitrogen dan degradasi polutan, namun bakteri juga bertindak sebagai patogen pada tanaman (Horman, 2011).

Dalam ekosistem alami, sebagian besar unsur hara seperti N, P, dan S terikat pada molekul organik dan hanya sedikit tersedia secara hayati bagi tanaman. Untuk mengakses nutrisi ini, tanaman bergantung pada pertumbuhan mikroorganisme tanah seperti bakteri dan jamur. Mikroorganisme tanah ini memiliki metabolisme untuk mendepolimerisasi dan memineralisasi bentuk organik N, P, dan S. Kandungan sel mikroba tersebut dilepaskan melalui lisis atau melalui predasi protozoa (Richardson *et al.*, 2009) dan mengandung bentuk anorganik N, P, termasuk zat ionik, dan S yang dilepaskan ke dalam tanah. Bahan kimia seperti amonium, nitrat, fosfat, dan sulfat merupakan bentuk nutrisi yang disukai tanaman (Heijden *et al.*, 2008).

2.4 Resistensi Mikroba Terhadap Herbisida

Resistensi mikroba terhadap herbisida adalah kemampuan bakteri tumbuh dan bertahan dari cekaman herbisida. Mikroba yang resisten terhadap herbisida, baik kelompok bakteri maupun fungi, dapat diisolasi dari tanah sekitar rhizosfer dan area endofit bagian tanaman yang tumbuh di lingkungan ekstrim terutama yang terkena residu pestisida, herbisida ataupun insektisida. Namun, penggunaan herbisida yang berlebihan dapat meninggalkan residu. Residu di dalam tanah tidak dapat terakumulasi dengan baik. Maka perlu dilakukan upaya dengan memanfaatkan agen hayati seperti mikroorganisme. Degradasi herbisida dengan mikroba memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan

menggunakan metode degradasi lainnya. Beberapa diantaranya penggunaan mikroba sebagai agen pendegradasi hayati dianggap lebih ramah lingkungan dan lebih aman sehingga baik digunakan untuk bioremediasi karena tidak menimbulkan polutan. Strain bakteri dan jamur dilaporkan dapat mendegradasi polutan dari lingkungan (Palmer-Brown *et al.*, 2019, Bhatt *et al.*, 2021).

Menurut Prayudyaningsih *et al* (2015) bakteri berperan penting dalam mengubah dan menguraikan residu herbisida yang sebelumnya sangat beracun menjadi zat yang tidak beracun bagi lingkungan. Herbisida yang paling persisten sekalipun dapat dimetabolisme sampai batas tertentu oleh kultur mikroba. Senyawa yang terdapat dalam herbisida digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi dan nutrisi, atau sebagai *co-metabolit* dengan substrat lain yang mendukung pertumbuhan mikroba.

Proses degradasi herbisida di dalam tanah juga dipengaruhi oleh faktor kelarutan dan ikatan kimia pada herbisida. Selain itu, faktor-faktor pada tanah seperti temperatur, kelembaban, dan sisa zat organik yang tertinggal juga berpengaruh pada proses penguraian herbisida (Haryanto, 2006). Penguraian senyawa kimia dalam tanah oleh bakteri terjadi melalui serangkaian reaksi kimia yang cukup kompleks, merupakan proses yang sangat penting untuk menurunkan kadar zat beracun. Selama penguraian, bakteri memanfaatkan senyawa kimia tersebut untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Apriliya *et al.*, 2020).

2.5 Bakteri Tanah

Bakteri merupakan organisme yang memiliki ukuran sangat kecil, dan tak kasat mata sehingga diperlukan alat bantu mikroskop untuk melihatnya. Bakteri merupakan mikroba prokariotik uniseluler dan berkembang secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler,

panjang berkisar mikrometer dan juga memiliki morfologi berupa bentuk basil, kokus sampai bentuk spiral. Bakteri merupakan organisme yang paling besar jumlahnya di dalam tanah, dalam satu gram tanah dapat ditemukan kurang lebih 10^9 bakteri. Bakteri dapat melakukan pertumbuhan yang sangat cepat (Yulipriyanto, 2010).

Tanah merupakan habitat yang kompleks untuk hidup bakteri. Bakteri salah satu mikroorganisme yang hidup di dalam tanah dan berperan penting dalam proses ekologis. Mikroba juga berperan dalam pengambilan nutrisi dan unsur hara serta melindungi dari kondisi ekstrim (Putra *et al.*, 2020). Beberapa mikroorganisme seperti bakteri tanah berperan pada siklus unsur hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman, aktivitas mikroorganisme lainnya, serta digunakan sebagai agen pengendali hayati (Prayudyaningsih *et al.*, 2015).

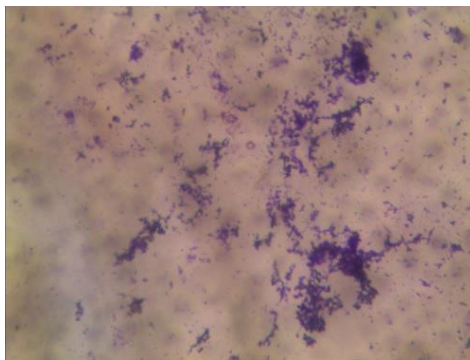
Beberapa bakteri tanah diantaranya *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*.

2.5.1 *Bacillus* sp.

Bacillus sp. merupakan bakteri gram positif berbentuk basil (batang) yang dapat membentuk endospora. *Bacillus* sp. memiliki ukuran panjang berkisar 0,5- 2,5 μm dan lebar 1,2-10 μm . Pada media agar, bakteri *Bacillus* sp. memiliki bentuk koloni bulat sedang, tepi tidak teratur, dan berwarna kecoklatan. *Bacillus* sp. mampu hidup dalam kondisi ada maupun tidak ada oksigen sehingga disebut mikroorganisme anaerobik fakultatif (Napitupulu *et al.*, 2019).

Menurut Shu & Yang, (2017) *Bacillus* sp. adalah *genus* bakteri dari *family* Bacillaceae, termasuk kedalam *division* Firmucutes, memiliki lebih dari 200 spesies yang teridentifikasi. Genus *Bacillus* sp. memiliki potensi

yang dapat dijadikan sebagai pupuk hayati. Pupuk yang berfungsi sebagai pemfiksasi N, pelarut P, selulolitik mikroorganisme (dekomposer), penghasil hormon ZPT yang dapat digunakan pada benih, sebagai pemercepat proses pengkomposan untuk meningkatkan ketersediaan hara yang dapat diserap tanaman, serta berpotensi untuk menghasilkan enzim fosfatase yang dapat mengubah P organik menjadi P anorganik bagi tanaman (Simarmata, 2013). Menurut Sullivan, (2004) genus *Bacillus* sp. juga berpotensi sebagai biodekomposer, membantu menguraikan bahan organik dan proses mineralisasi di dalam tanah. Bahan organik sebagai sumber energi bagi bakteri serta akan melepaskan mineral NO_3^- , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ke dalam tanah. Hasil uji pewarnaan Gram menunjukkan *Bacillus* sp. adalah bakteri Gram positif berwarna ungu karena dinding sel bakteri *Bacillus* sp. mampu mempertahankan zat utama yaitu kristal violet (Aini *et al.*, 2013).



Gambar 3. Hasil pengecatan Gram bakteri *Bacillus* sp. perbesaran mikroskop 400x (Gram positif) (Dokumentasi pribadi).

Menurut Whitman *et al.* (2019) dan Sumardi *et al.*, (2018) bakteri *Bacillus* sp. dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus* sp.

2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,5-0,8 μ dan panjang 1,5- 3,0 μ , bergerak aktif dengan satu flagel kutub (*single* polar flagellum), tidak dapat membentuk spora, dan dapat tumbuh pada suhu berkisar 37-42°C (Wahyudi *et al.*, 2019). Hasil uji pewarnaan Gram menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif berwarna merah karena dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* tidak mampu mempertahankan zat utama yaitu Kristal violet dan luruh ketika terkena alkohol sehingga mengikat pewarna kedua yaitu safranin (Aini *et al.*, 2013). Bakteri ini Bersifat invasif dan toksik menyebabkan infeksi pada manusia dengan yang menyebabkan penurunan imunitas tubuh. *P.aeruginosa* mampu bertahan pada daerah bersuhu ekstrim (Riedel *et al.*,2019).

Pseudomonas memproduksi beberapa enzim seperti protease, amilase, dan lipase. Selain itu bakteri *Pseudomonas* juga dapat menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO₂, gas amoniak, dan senyawa-senyawa sederhana lainnya (Suyono dan Farid, 2011).

Secara fisiologis bakteri ini memiliki kemampuan menghidrolisis protein (Kamal *et al.*, 2021). *Pseudomonas* juga diketahui sangat aktif dalam melakukan metabolisme pestisida. Banyak bahan kimia yang mengkontaminasi tanah diketahui telah didegradasi oleh bakteri dan digunakan sebagai sumber karbon. Ifediegwu *et al.* (2015) mengisolasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kemudian digunakan sebagai agen bioremediasi di tanah yang terkontaminasi klorpirifos.

Menurut Riedel *et al.* (2019) bakteri dari genus *Pseudomonas* secara klinis dan kemampuannya dalam menghasilkan pigmen fluoresens terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok fluoresens meliputi *Pseudomonas aeruginosa*, *p.fluorescens*, *P.putida*, *P.monteili*, *P.veronii*, dan *P.mosselii*. Kelompok non-fluoresens meliputi *P.stutzeri*, *P.mendocina*, *P.alcaligenes*, *P.pseudoalcaligenes*, *P.luteola*, dan *P.oryzihabitan*.



Gambar 4. Bentuk mikroskopik *Pseudomonas aeruginosa* (Soedarto, 2015).

Menurut Soedarto, (2015) bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. dapat diklasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma proteobacteria
Order : Pseudomonadales
Family : Pseudomonadaceae
Genus : Pseudomonas
Species : *Pseudomonas aeruginosa*.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2024 – Mei 2024. Peremajaan dan subkultur isolat bakteri, uji karakter isolat bakteri, uji biokimia, uji resisten bakteri terhadap herbisida, kurva pertumbuhan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, Erlenmeyer (Pyrex) 50,100, 250ml, gelas ukur (Pyrex), tabung reaksi dan rak, *beaker glass*, *hot plate*, *Magnetic stirrer*, *Autoclave (ALT KT -30LDP)*, *BSC (Biological Safety Cabinet)*, *shaker incubator*, *micropipet*, *microtips*, *drigalski*, *aluminium foil*, plastik *wrap*, syringe membrane filter 0,2 μm , kertas saring Whatman, *cotton swab*, inkubator, oven, jarum ose, Bunsen, *hemocytometer*, kapas, kain kasa, spatula, timbangan analitik, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *tissue*, plastik *wrap*, *aluminium foil*, plastik tahan panas ukuran 5kg, kamera HP.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sediaan isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari Laboratorium mikrobiologi *Research and Development* PT. Great Giant Pineapple (PT. GGP) Terbanggi Besar, Lampung Tengah, MSM (*Mineral Salt Medium*) pH 7, medium NA (*Nutrient Agar*), Medium NB (*Nutrient Broth*), Strach digunakan untuk uji amilase, standar 0,5 *McFarland* sebagai uji kekeruhan bakteri, pepton 10 g, NaCl 5 g, CaCl₂·2H₂O 0,1 g, Tween-80 2,5 %, metil red 0.01% minyak zaitun steril 5 % untuk uji lipase, medium selektif SMA (*Skim Milk Agar*) digunakan untuk uji protease, akuades, herbisida Ametrin 1,5 gr/L, NaCl fisiologis 0,85%, larutan gram A(kristal violet), larutan cat gram B (lugol iodine), larutan cat gram C(alkohol 96%), larutan cat gram D (safranin) untuk uji pewarnaan gram, alkohol 70%, larutan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% untuk uji katalase dan KOH 3%.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua bagian yaitu penelitian observasi dan eksperimen. Penelitian observasi dilakukan untuk mengetahui karakter isolat bakteri tanah secara makroskopis dan mikroskopis serta uji biokimia. Penelitian eksperimen dilakukan untuk uji resistensi terhadap herbisida ametrin menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor. Faktor pertama adalah jenis isolat bakteri yaitu *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dan kedua adalah konsentrasi herbisida ametrin terdiri atas 4 taraf konsentrasi yaitu 0 sebagai kontrol, 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm. Masing-masing unit perlakuan diulang 3 kali dan kelompok sebagai ulangan. Total unit percobaan adalah 24 unit percobaan. Adapun tata letak satuan percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tata Letak Satuan Percobaan

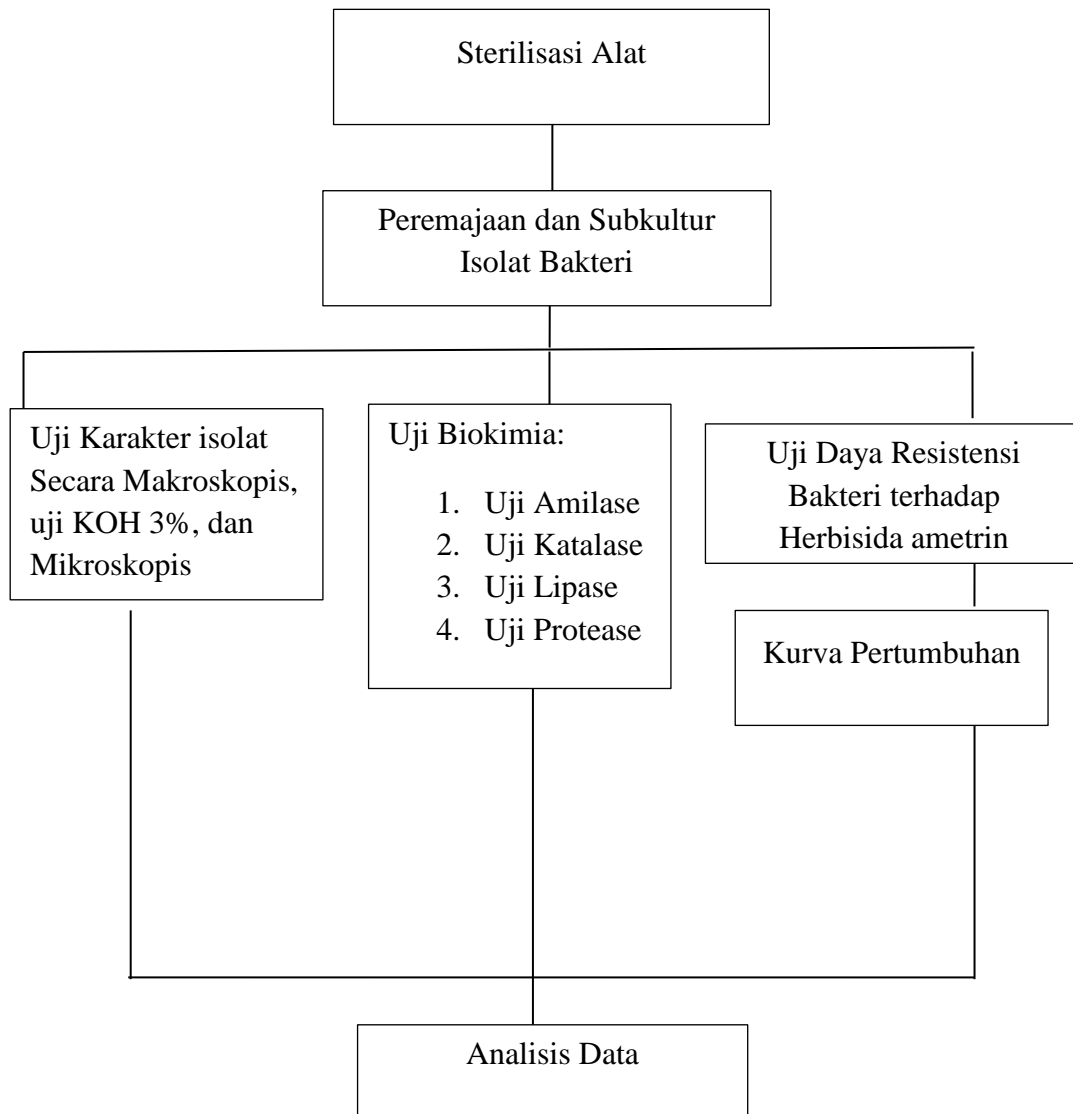
KELOMPOK		
I	II	III
YA1	CA3	YA2
CA1	YA1	YA4
CA3	YA2	CA1
CA2	YA3	CA2
CA4	YA4	CA3
YA3	CA2	CA4
YA4	CA4	YA1
YA2	CA1	YA3

Keterangan :

- CA1 = Kontrol positif (Medium MSM+isolat bakteri *Bacillus* sp.)
 CA2 = Isolat *Bacillus* sp. + herbisida ametrin 10 ppm
 CA3 = Isolat *Bacillus* sp. + herbisida ametrin 50 ppm
 CA4 = Isolat *Bacillus* sp. + herbisida ametrin 100 ppm
 YA1 = Kontrol positif (Medium MSM+isolat bakteri *P.aeruginosa*)
 YA2 = Isolat *P.aeruginosa* +herbisida ametrin 10 ppm
 YA3 = Isolat *P.aeruginosa* +herbisida ametrin 50 ppm
 YA4 = Isolat *P.aeruginosa* +herbisida ametrin 100 ppm

3.4. Diagram Alir Penelitian

Tahapan penelitian Uji karakterisasi dan resistensi bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap herbisida ametrin dari tanah kawasan PT GGP dapat dilihat pada gambar . Prosedur yang akan dilakukan sebagai berikut:



Gambar 5. Peta Alur Penelitian

3.5. Prosedur Kerja

3.5.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu. Alat yang terbuat dari gelas atau kaca disterilkan dengan menggunakan sterilisasi uap panas bertekanan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit kemudian dimasukkan di oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam seperti jarum ose disemprotkan alkohol 70% kemudian dipijarkan di atas api bunsen sampai membara. Sterilisasi medium menggunakan pemanas basah bertekanan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15-20 menit.

3.5.2. Subkultur Isolat Bakteri

Peremajaan mikroba dilakukan untuk memperoleh biakan mikroba yang akan digunakan untuk uji karakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis, uji biokimia, uji resistensi bakteri terhadap herbisida, kurva pertumbuhan bakteri, dan uji daya hambat herbisida terhadap bakteri.

Peremajaan isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Medium Nutrient Agar (NA) digunakan sebagai medium untuk peremajaan isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*. Medium NA dibuat dengan melarutkan 20 gram NA dalam *beaker glass* 1000 ml *aquadest*. Larutan NA dipanaskan di atas *hot plate* hingga homogen. Selanjutnya media NA disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm. Media NA yang sudah steril dituang ke dalam cawan Petri masing-masing sebanyak 20 mL dan dibiarkan hingga memadat (Lestari *et al.*, 2017).

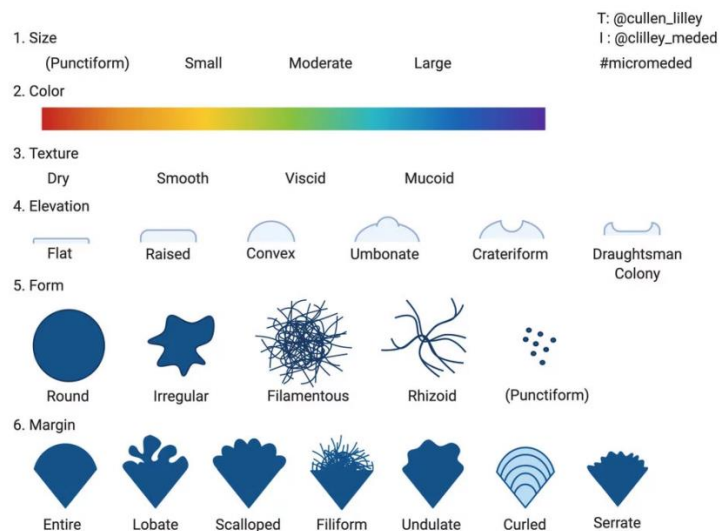
Peremajaan dan perbanyakan isolat stok bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose masing-masing isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media NA dalam cawan Petri secara steril dalam BSC. Perbanyakan stok bakteri pada media NA dalam cawan Petri dilakukan dengan teknik cawan gores (*streak plate*), kemudian diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator. Setelah 24 jam bakteri dimasukan ke dalam kulkas untuk menghambat pertumbuhan bakteri sementara sampai bakteri digunakan untuk pengujian.

3.5.3. Uji Karakter Isolat Bakteri

Pengamatan morfologi dilakukan secara karakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis. Karakterisasi secara makroskopis meliputi morfologi koloni dan morfologi sel bakteri, dan uji KOH 3% .

3.5.3.1. Karakteristik Makroskopis

Uji karakter secara makroskopis diamati karakteristik visual yang meliputi bentuk (*form*), elevasi (*elevation*), tepian (*margin*) dan warna (*colour*) ukuran (*size*) (Riadi *et al.*, 2017).

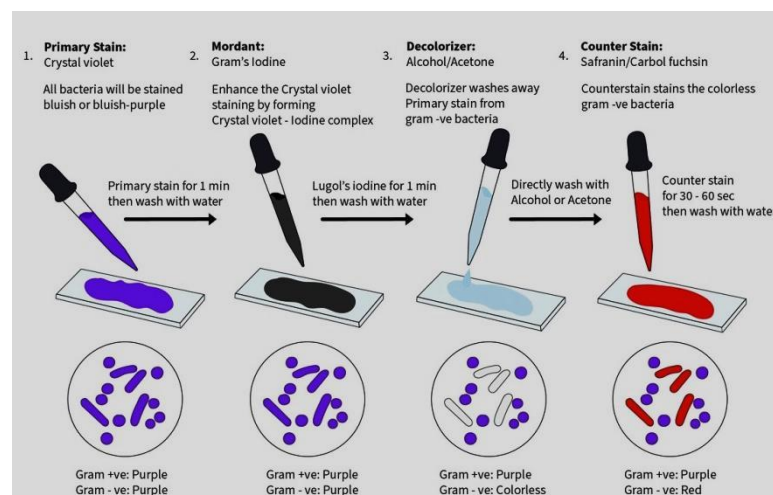


Gambar 7. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri (Microbiology note, 2022).

3.5.3.2. Karakterisasi secara Mikroskopis

a. Pewarnaan Gram

Isolat yang telah tumbuh pada medium NA selanjutnya dilakukan pengecatan gram bakteri. Diteteskan akuadest pada *object glass* kemudian ditambahkan 1 ose isolat, dan dilakukan fiksasi diatas api Bunsen. Tetesi pewarna cat gram A (*crystal violet*) ditunggu selama 1 menit, bilas dengan akuades mengalir, kemudian ditetesi dengan cat gram B (*Lugol Iodine*) ditunggu selama 1 menit dan dibilas dengan akuades mengalir. Selanjutnya ditetesi dengan cat gram C (alkohol 96%) dan ditunggu selama 30 detik dilanjutkan dibilas dengan akuades, dan tahap terakhir ditetesi dengan pewarna cat gram D (Safranin) ditunggu hingga 1 menit dan dibilas dengan akuades mengalir. Tahap selanjutnya keringkan perlahan dengan menggunakan *tissue* dan diamati dibawah mikroskop dari perbesaran paling kecil 40 x10 hingga perbesar paling besar ditambahkan dengan minyak emersi. Jika hasil pewarnaan bakteri diperoleh berwarna merah maka bakteri tersebut adalah gram negatif, sedangkan jika hasil bakteri berwarna ungu maka hasil positif (Nopianti *et al.*, 2022).



Gambar 6. Prosedur pewarnaan Gram (James *et al.*, 2008).

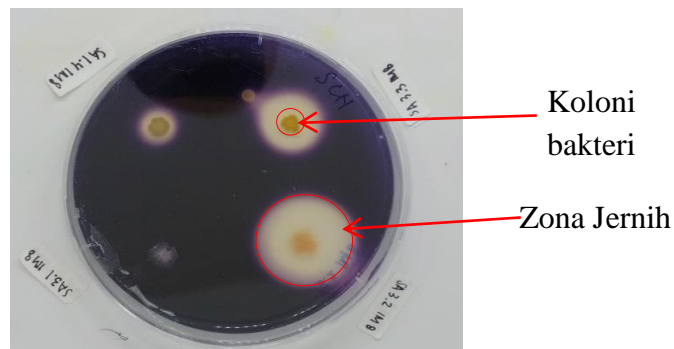
b. Uji KOH 3%

Uji KOH 3% bertujuan untuk mempermudah dalam membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif yang ditandai dengan terbentuknya lendir (Gustiana *et al.*, 2021). Uji KOH 3% dilakukan dengan menambahkan 1 tetes KOH 3% pada 1 ose isolat bakteri di atas *object glass* kemudian diratakan sebelum diamati. Bila campuran tersebut menghasilkan lendir maka bakteri yang diuji termasuk ke dalam bakteri Gram negatif, namun sebaliknya bila tidak menghasilkan lendir maka uji tersebut termasuk ke dalam bakteri Gram positif (Kurnia *et al.*, 2016).

3.5.4. Uji Biokimia

3.5.4.1. Uji Amilase

Uji amilase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis amilum. Isolat bakteri yang telah diinokulasi pada medium Agar *Starch* dengan menimbang NA 2 gram dan *Starch* 1 gram kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi media ditetesi lugol. Media akan berwarna hitam karena mengandung amilum. Jika koloni terlihat zona bening, menandakan bahwa bakteri uji memiliki enzim amilase yang mampu menghidrolisis amilum (Ulfa *et al.*, 2016).



Gambar 8. Hasil positif uji amilase (Triza *et al.*, 2021).

3.5.4.2. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri uji. Katalase adalah enzim yang mampu memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . H_2O_2 merupakan Hidrogen Peroksida yang bersifat toksik terhadap sel karena dapat menginaktifkan enzim di dalam sel. H_2O_2 dapat terbentuk ketika metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang bersifat aerob mampu menguraikan H_2O_2 (Dewi *et al.*, 2013). Uji katalase ditandai positif jika terbentuknya gelembung gas. Uji katalase dilakukan karena sangat penting untuk mengetahui sifat dari suatu bakteri terhadap kebutuhan oksigen (Yulvizar, 2013).

Metode uji katalase berdasarkan Rahmi *et al.*, (2015) dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri dan menggoreskan pada *object glass* yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diteteskan 1-3 tetes larutan H_2O_2 3% dan ditunggu selama 5 menit. Jika terbentuk gelembung-gelembung kecil udara uji katalase bersifat positif, sedangkan tidak terdapat gelembung maka uji bersifat negatif.

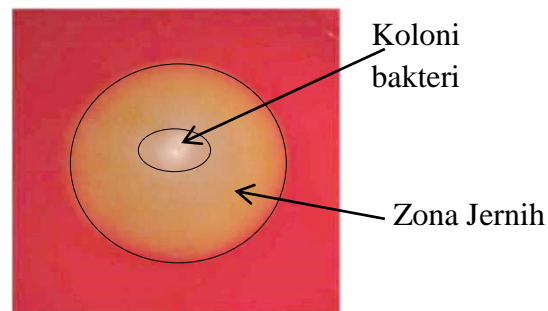


Gelembung gas reaksi antara isolat bakteri dan larutan H_2O_2

Gambar 9. Hasil Positif uji katalase (Pulungan & Tumangger, 2018).

3.5.4.3. Uji Lipase

Untuk mengetahui aktivitas lipolitik pada isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan medium selektif lipase dengan komposisi (perliter) pepton 10 g, NaCl 5 g, CaCl 2H₂O 0,1 g, NA 20 g, Tween-80 2,5 %, dan minyak zaitun steril 5% dan media ditambahkan dengan metil merah 0,01% dan diautoklaf dengan suhu 121⁰C tekanan 2 atm selama 15 menit. Isolat bakteri hasil peremajaan diambil 1 ose dimasukkan 25 ml media NB dan diinkubasi goyang menggunakan shaker selama 24 jam. Kertas cakram berdiameter 5 mm direndam ke media cair selama 10-15 menit kemudian diletakkan pada media selektif lipase (Bestari & Suharjono, 2015). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Diamati zona bening yang terdapat pada sekitar isolat bakteri yang tumbuh (Royanti *et al.*, 2023). Diamati hasil inkubasi dengan zona jernih sekitar koloni bakteri.



Gambar 10. Hasil Positif uji lipase (Royanti *et al.*, 2023).

3.5.4.4. Uji Protease

Uji protease menurut Tennalli *et al.*, (2012) dilakukan dengan menggunakan medium selektif pertumbuhan *Skim Milk Agar* (SMA). Pembuatan medium dengan melarutkan 5 gram media SMA dilarutkan dengan 50ml akuades. Disterilkan di autoclave pada suhu 121°C

selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Selanjutnya dituang ke dalam cawan petri sebanyak 20ml. Kertas cakram berdiameter 5 mm direndam ke dalam suspensi isolat bakteri selama 24 jam kemudian diletakkan pada medium *Skim Milk Agar* padat. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Indikasi hasil positif yang dihasilkan enzim protease ditandai dengan pembentukan zona bening (*halo zone*) disekitar daerah pertumbuhan bakteri (Ibrahim *et al.*, 2015).



Gambar 11. hasil positif uji protease (Amanina *et al.*, 2022).

3.5.5. Uji Daya Resistensi Bakteri Terhadap Herbisida

Pembuatan *Mineral Salt Medium* (MSM)

Pembuatan MSM dilakukan dengan menimbang bahan sebagai berikut: 0,2 MgSO₄ · 7H₂O, 1,0 KH₂PO₄, 1,0 K₂HPO₄, 0,5 (NH₄)₂SO₄, 0,01 CaCl₂, 0,0001 FeSO₄ · 7H₂O, 0,5 NaNO₃, (Fan *et al.*, 2012). Ditambahkan dengan akuades 1000 ml dan dihomogenkan menggunakan batang pengaduk kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer sebanyak 22,5 mL dan diautoklaf dengan suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

Membuat suspensi Isolat bakteri

Isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diremajakan selama 24 jam dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl fisiologis menggunakan jarum ose, kemudian di *vortex* hingga homogen. Standar *McFarland* 0,5 digunakan sebagai pembanding kekeruhan suspensi bakteri. Standar kekeruhan *McFarland* 0,5 dijadikan sebagai standar yang umum digunakan dalam skala laboratorium dengan perkiraan setara dengan suspensi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL pengganti perhitungan mikroba satu persatu (Nurhayati *et al.*, 2020).

Sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL standar 0,5 *McFarland* sebagai uji standarisasi kekeruhan suspensi bakteri. Jika kekeruhan belum sama, maka suspensi bakteri ditambahkan NaCl fisiologi hingga diperoleh tingkat kekeruhan bakteri sama dengan standar *McFarland* $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Nurhayati *et al.*, 2020).

Uji Resistensi Bakteri Terhadap Herbisida

Isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diremajakan pada medium NA di uji daya resistensinya terhadap herbisida ametrin. Di siapkan erlenmeyer berisi 22,5 mL medium MSM yang telah ditambahkan dengan beberapa taraf konsentrasi herbisida (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan kontrol) yang disusun sesuai perlakuan (Tabel 1.) yang sebelumnya telah disterilisasi menggunakan syringe membrane filter 0,2 μ m (Carranza *et al.*, 2017) kemudian ditambahkan 2,5 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan sesuai standar *McFarland* 0,5 pada masing-masing erlenmeyer. Erlenmeyer digoyang dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 37°C selama 24 jam (Pratiwi *et al.*, 2012). Hasil inkubasi diamati menggunakan *hemocytometer* dengan bantuan mikroskop pada perbesaran 1000x dan dibuat kurva resistensi bakteri. Uji ini dimaksudkan untuk memilih mikroba potensial yang mempunyai toleran tertinggi terhadap

berbagai herbisida sebagai kandidat agen bioremediasi residu herbisida (Widowati *et al.*, 2017a).

Kepadatan sel dihitung dengan menggunakan rumus Gabriel & Riyatno (1989) sebagai berikut:

$$C = \frac{t}{(n \times 0,25)} \times 10^6$$

Keterangan :

C : Kepadatan Sel

t : Jumlah total sel bakteri dalam kotak sampel yang diamati

n : Jumlah kotak sampel yang digunakan

0,25 : Faktor koreksi kotak sampel skala kecil pada haemocytometer

3.5.5.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Terhadap Herbisida

Isolat terpilih hasil uji resistensi bakteri terhadap herbisida dilanjutkan dengan kurva pertumbuhan untuk mengetahui kurva pertumbuhan isolat bakteri yang paling tinggi daya resistensinya terhadap herbisida. Medium MSM yang telah disiapkan ditambahkan dengan 2,5 mL suspensi isolat bakteri dan diinokulasikan pada 22,5 mL medium MSM yang telah ditambahkan herbisida ametrin hasil uji resistensi yang paling baik.

Erlenmeyer diinkubasi goyang dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil inkubasi diamati setiap tiga jam sekali (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24 jam) dilakukan perhitungan kepadatan sel bakteri dengan menggunakan alat *haemocytometer* di bawah mikroskop (Pratiwi *et al.*, 2012).

3.6. Analisis Data

Data hasil uji resistensi dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 26, 2022 melalui Uji *Two Way Anova* untuk mengetahui pengaruh perlakuan kemudian bila hasil berbeda nyata maka dilakukan uji Tukey dengan taraf α 5% sedangkan karakterisasi isolat bakteri dan uji biokimia dianalisis secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

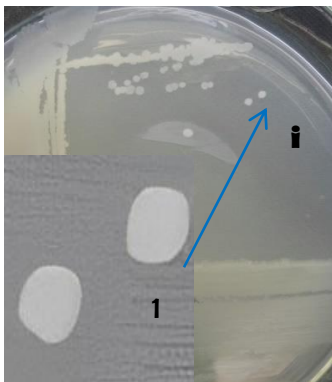
4.1. Karakterisasi Isolat Bakteri

4.1.1. Morfologi Koloni

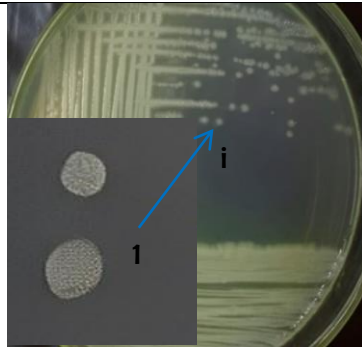
Karakter makroskopis isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* diamati karakteristik secara visual yang meliputi bentuk (*form*), elevasi (*elevation*), tepian (*margin*) dan warna (*colour*) ukuran (*size*) (Riadi *et al.*, 2017) dapat diamati pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Karakter Morfologi Isolat Bakteri

Bakteri	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Ukuran
	Circular	Putih keruh	Undulate	Raised	Sedang



***Bacillus* sp.**



Circular Putih Entire Raised Sedang
 kekuning
 an

Pseudomonas aeruginosa

Keterangan : Hasil pengamatan karakter makroskopis isolat bakteri setelah inkubasi 24 jam. i. Koloni bakteri sebenarnya, 1. Koloni bakteri diperbesar dengan ukuran 3 cm x 2.5 cm.

Pengamatan makroskopis bertujuan untuk memudahkan mengidentifikasi genus bakteri dan spesies bakteri (Sousa *et al.*, 2013). Berdasarkan Tabel 2 koloni isolat bakteri *Bacillus* sp. memiliki bentuk koloni circular, tepian undulate, elevasi raised, ukuran sedang, dan berwarna putih keruh. Sedangkan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki bentuk koloni circular, tepi entire, elevasi raised, ukuran sedang, dan berwarna putih kekuningan. Pada umumnya, bakteri memiliki warna putih, abu-abu, kuning, atau hampir transparan. Warna yang dimiliki bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang meliputi suhu, pH, dan oksigen. Selain itu bentuk bakteri juga berbeda-beda yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti faktor (biotik dan abiotik), komposisi media, dan suhu (Agustina, 2022).

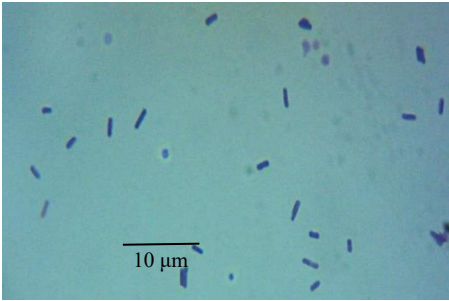
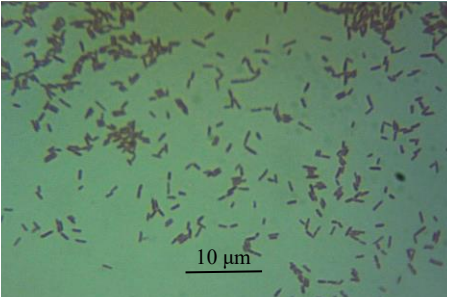
4.1.2. Morfologi Sel Bakteri Secara Mikroskopik

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bakteri bertujuan untuk mengetahui perbedaan dinding sel bakteri antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram

negatif. Perbedaan struktur, komposisi dinding sel bakteri dan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri yang diuji dalam penelitian ini menyebabkan perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil pengamatan morfologi sel bakteri secara mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Isolat Bakteri

Isolat	Morfologi Sel		Referensi
	Gambar	Bentuk Sel	
<i>Bacillus</i> sp.	 <p style="text-align: center;">Perbesaran 1000x</p>	Basil (Batang)	Bakteri gram positif, bentuk batang, diameter 1,2-1,5 & panjang 2,0x2,4 μm (Risnawati, 2013).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	 <p style="text-align: center;">Perbesaran 1000x</p>	Basil (Batang)	Gram negatif, bentuk batang, berukuran 0,5-0,8 μm x 1,5-3,0 μm (Soedarto, 2015).

Berdasarkan Tabel 3 hasil pewarnaan Gram sel bakteri yang telah dilakukan, terbukti bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. termasuk ke dalam bakteri Gram positif dan sel bakteri berbentuk batang sementara isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bakteri Gram

negatif karena memiliki dinding sel berwarna merah dan sel bakteri berbentuk batang. Pewarnaan Gram berdasarkan kemampuan bakteri dalam mempertahankan pewarna utama (*crystal violet*) atau kehilangan pewarna utama dan mengikat pewarna safranin. Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan untuk bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah (Anuar *et al.*, 2014).

Menurut Sofyan *et al.* (2009) bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif dengan sel bakteri berbentuk batang. Menurut Pelczar dan Chan (2009) dinding sel bakteri Gram positif umumnya mempunyai struktur dinding sel yang tebal sekitar 15–80 nm dan sedikit berlemak (1–4%). Dinding sel bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan yang dapat mempertahankan warna ungu, sehingga terlihat berwarna ungu di bawah mikroskop. Ketebalan peptidoglikan sekitar 90% dari total komposisi dinding sel bakteri. Ketika alkohol ditambahkan ke bakteri Gram positif, pori-pori peptidoglikan akan menyusut sehingga pewarna kristal violet semakin terikat pada peptidoglikan.


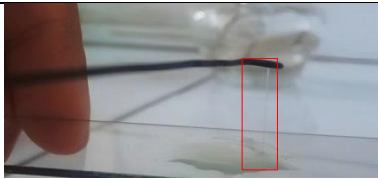
Sementara pada isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram negatif berwarna merah. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi dibandingkan bakteri Gram positif. Ketebalan dinding sel bakteri Gram negatif sekitar 10-15 nm dan kandungan lemak yang lebih tinggi (11-24%) dari bakteri Gram positif dikarenakan bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit (Jannah *et al.*, 2017). Pada bakteri Gram negatif lapisan lipopolisakarida (lipid) akan luntur bila dibilas alkohol, sehingga lapisan peptidoglikan akan mengikat pewarna safranin. Hal ini yang mengakibatkan bakteri Gram negatif berwarna merah. Fungsi safranin

adalah hanya sebagai pembeda terhadap zat warna crystal violet (Shaloma *et al.*,2023).

b. Uji KOH 3%

Uji KOH 3% bertujuan untuk mempermudah membedakan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yang ditandai dengan terbentuknya lendir (Gustiana *et al.*,2021) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji KOH isolat Bakteri

Isolat	Morfologi Sel		Keterangan
	Gambar	Bakteri gram	
<i>Bacillus</i> sp.		Bakteri Gram Positif	Tidak terbentuk lendir
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Bakteri Gram Negatif	Terbentuk lendir

Berdasarkan hasil uji KOH 3% menunjukkan isolat *Bacillus* sp. tidak terbentuk lendir sedangkan isolat *Pseudomonas aeruginosa* terbentuk lendir yang menunjukkan reaksi positif. Terbentuknya lendir ini disebabkan rusaknya dinding sel bakteri oleh larutan KOH 3%. Gram negatif akan membentuk lendir bila uji menggunakan KOH 3% karena dinding sel bakteri pecah ketika diberi larutan alkali tinggi (KOH 3%). Sedangkan bakteri Gram positif tidak membentuk lendir karena dinding sel bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang

tebal sehingga tidak rusak oleh larutan KOH 3% (Kurnia *et al.*, 2015). Pengujian KOH 3% pada bakteri mengindikasikan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan lipid yang tipis sedangkan gram negatif lapisan lipid yang tebal dan berdinding sel tipis (Edwin, 2011).

4.2. Uji Aktivitas Biokimia

Pada uji aktivitas biokimia isolat bakteri *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diamati adalah aktivitas enzim amilase, katalase, lipase, dan protease berikut. Hasil uji aktivitas biokimia yang telah dilakukan dapat disajikan pada Tabel 5. sebagai berikut.

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia



Uji	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Uji Amilase	+	+
Uji Katalase	+	-
Uji Lipase	+	+
Uji Protease	+	+

Keterangan : (+) = hasil positif; (-) = hasil negatif

4.2.1. Amilase

Uji amilase dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis amilum. Amilase pada isolat bakteri *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang menandakan bahwa bakteri memiliki enzim amilase yang mampu menghidrolisis amilum (Ulfa *et al.*, 2016) seperti dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji amilase positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

Isolat	Gambar	Enzim amilase	Keterangan
<i>Bacillus</i> sp.		(+)	Terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		(+)	Terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri


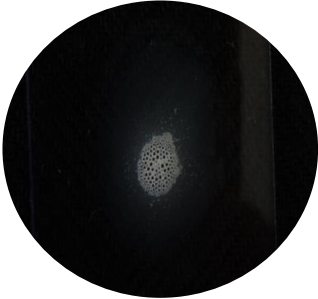
Hasil Tabel 6 menunjukkan isolat bakteri mampu menghasilkan enzim amilase yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Hasil ini didukung oleh pernyataan Carrim *et al.* (2006) bahwa *Bacillus* dan *Pseudomonas* yang diisolasi dari jaringan tanaman memproduksi enzim amilase. Bakteri *Bacillus* sp. endofit akan memproduksi enzim amilase yang keluar dari selnya untuk menghidrolisis pati glukosa. Zona bening yang muncul disekitar koloni bakteri disebabkan oleh adanya enzim amilase yang mencerna atau menghidrolisis amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti maltose dan glukosa (Adnan *et al.*, 2017). Enzim amilase mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis pati dan glikogen menjadi maltose, maltotriosa, isomaltosa, dan glukosa (Iswendi, 2010).

Ketika enzim amilase bereaksi dengan substrat maka amilum akan dipecah menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana sehingga terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri. Dengan demikian media yang tadinya berwarna ungu atau biru akan berubah menjadi bening atau tidak berwarna karena amilum telah terurai. Kemudian penambahan lugol iodin berfungsi sebagai indikator dalam uji amilase dengan terbentuknya zona bening yang menunjukkan adanya aktivitas enzim amilase (Marzuki *et al.*, 2014).

4.2.2. Katalase

Pada uji katalase isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* terbentuk gelembung-gelembung gas yang menandakan positif menunjukkan hasil katalase seperti pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Uji Katalase *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat	Gambar	Enzim katalase	Keterangan
<i>Bacillus</i> sp.		(+)	Terbentuk Gelembung gas reaksi antara isolat <i>Bacillus</i> sp. + H ₂ O ₂
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		(+)	Terbentuk Gelembung gas reaksi antara isolat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + H ₂ O ₂

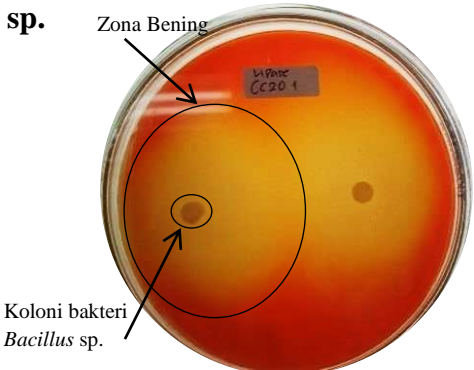
Enzim katalase atau peroksidase dari isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*, dapat memutuskan hidrogen peroksidase (H_2O_2) sehingga terbentuk gelembung-gelembung gas. Hal ini sejalan dengan penelitian Puspita *et al.*, (2017) bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri endofit yang menghasilkan enzim katalase. *Bacillus* sp. adalah salah satu genus bakteri yang bersifat aerob obligat atau aerob fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase dan termasuk bakteri yang bersifat aerob.

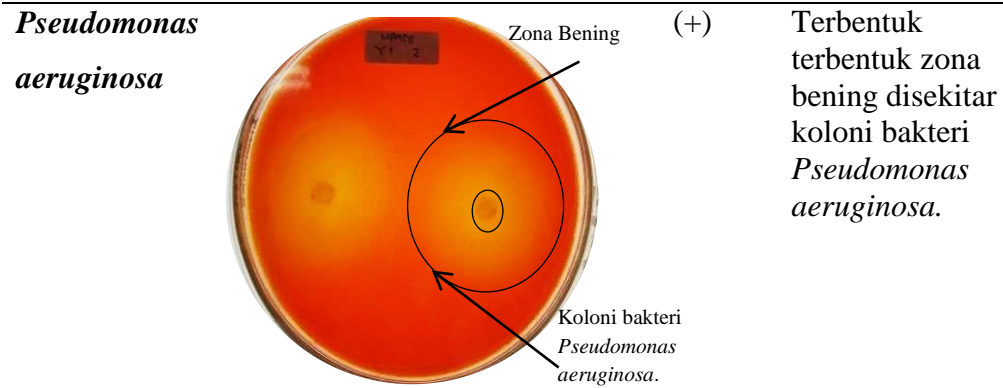
Hidrogen peroksidase (H_2O_2) bersifat toksik, dapat merusak komponen sel bakteri. Keberadaan enzim katalase berfungsi sebagai katalis penguraian H_2O_2 menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) yang bersifat tidak toksik dan berbahaya bagi sel bakteri (Ulfa *et al.*, 2016).

4.2.3. Lipase

Hasil uji lipase menunjukkan isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* positif karena terdapat zona bening disekitar area koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pengamatan Uji Lipase *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat	Gambar	Enzim lipase	Keterangan
<i>Bacillus</i> sp.		(+)	Terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri <i>Bacillus</i> sp.



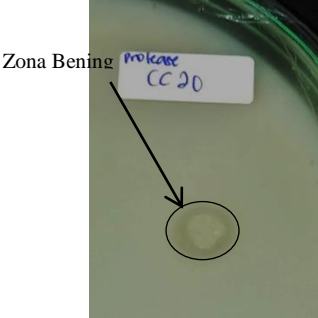
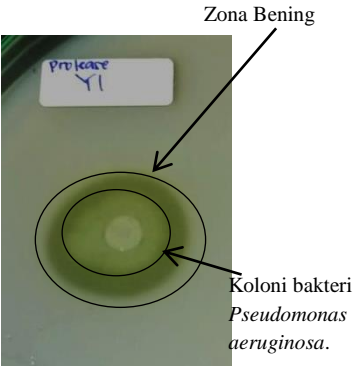
Uji lipase bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim lipase. Adanya aktivitas lipase ditunjukkan dengan zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri. Menurut Chairunnisa, (2019) enzim lipase memiliki peran dalam proses degradasi karena enzim lipase mengubah substrat berupa lemak menjadi gliserol dan tiga asam lemak yang berantai panjang.

Menurut Erviana *et al.*, (2020) Isolat *Bacillus* mampu mendegradasi media selektif lipase yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Tween 80 digunakan untuk mendeteksi keberadaan enzim lipase karena mengandung asam oleat. *Bacillus* akan menghidrolisis tween 80 menjadi asam mono-oleat. Asam mono-oleat akan berikatan dengan kalsium dari $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sehingga terbentuk kekeruhan warna di sekitar koloni. Pada penelitian ini digunakan metil red sebagai pH indikator. Enzim lipase yang dieksresikan bakteri menyebabkan penurunan pH media dari 7 menuju pH yang lebih asam dan merubah warna dari merah menjadi orange kekuningan di sekitar koloni. Peningkatan keasaman dikarenakan adanya pelepasan asam lemak hasil degradasi lipid (Ramnath *et al.*, 2017).

4.2.4. Protease

Hasil uji protease pada isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil positif seperti terlihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji protease *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat	Gambar	Enzim protease	Keterangan
<i>Bacillus</i> sp.		(+)	Terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri <i>Bacillus</i> sp.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		(+)	Terbentuk terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .

Reaksi positif uji protease bakteri ditunjukkan dengan mengeksresikan enzim protease ke media sehingga terbentuknya zona jernih (*clear zone*) pada media selektif *Skim Milk Agar* di sekitar koloni bakteri (Anggrowati *et al.*, 2019). Zona jernih yang terbentuk dihasilkan karena substrat media SMA terhidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh isolat bakteri. Pepton dan susu skim yang terkandung didalam media SMA berperan sebagai sumber karbon utama bagi bakteri (Yuniati *et al.*, 2015). Susu digunakan dalam uji protease karena susu mengandung kasein. Kasein inilah yang menjadi substrat enzim protease (Zahidah *et al.*, 2013).

Ada dua faktor yang dapat mempengaruhi kinerja bakteri dalam menghasilkan enzim protease, yang pertama kandungan media sebagai sumber nutrisi misalnya media SMA yang mengandung kasein, kalsium, kalium, magnesium, fosfor. Kedua adalah suhu yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim dalam menghidrolisis protein. Menurut Perwedha *et al.*, (2020) bakteri mampu tumbuh pada suhu berkisar 30-50⁰C dan menghasilkan zona bening. Zona bening inilah yang mengindikasikan bahwa strain bakteri mampu mensekresikan enzim protease ke dalam medium dan mendegradasi susu skim yang digunakan sebagai karbon.

4.3. Uji Resistensi Bakteri Terhadap Herbisida Ametrin

Secara kuantitatif data hasil daya resistensi bakteri terhadap herbisida ametrin dianalisis menggunakan Uji *Two Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* pada taraf 5% disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji Statistik Anova Antara Isolat Bakteri Dengan Konsentrasi Herbisida Ametrin.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah Sel/ml

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	56813.120 ^a	7	8116.160	181.922	.000
Intercept	50636.907	1	50636.907	1135.017	.000
isolat	33450.667	1	33450.667	749.791	.000
KH	13452.480	3	4484.160	100.512	.000
isolat * KH	9909.973	3	3303.324	74.043	.000
Error	713.813	16	44.613		
Total	108163.840	24			
Corrected Total	57526.933	23			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .982)

Hasil analisis menunjukkan interaksi positif antara jenis isolat bakteri dengan konsentrasi herbisida ametrin. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjut Tukey seperti yang tertera pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Pengujian dan Rata-rata sel bakteri terhadap herbisida ametrin

Konsentrasi herbisida/isolat bakteri	Rata-rata sel bakteri ($\times 10^7$) \pm St.Deviasi	
	<i>Bacillus</i> sp	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Kontrol +	0,53 \pm 0,46 ^a	3,06 \pm 4,54 ^b
10 ppm	1,38 \pm 1,22 ^{ab}	14,16 \pm 10,49 ^e
50 ppm	0,96 \pm 4,23 ^a	10,82 \pm 12,03 ^d
100 ppm	0,56 \pm 1,60 ^a	5,25 \pm 7,68 ^c

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda a, b, c, d, dan e menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Hasil analisis pada Tabel 11 menunjukkan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan dalam mendegradasi herbisida ametrin. Rata-rata jumlah sel bakteri tertinggi diperoleh dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi herbisida ametrin 10 ppm yaitu sebesar 14.16×10^7 sel/ml, sementara hasil terendah diperoleh dari perlakuan kontrol positif bakteri *Bacillus* sp. sebesar $0,53 \times 10^7$ hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol tidak ditambahkan dengan herbisida, dimana bakteri memanfaatkan herbisida sebagai sumber karbon (Apriliya *et al.*, 2020). Hal ini juga diduga karena isolat *Pseudomonas aeruginosa* lebih toleran terhadap cekaman herbisida ametrin. Menurut Karami *et al.* (2016) Genus *Pseudomonas* lebih unggul pada media mengandung ametrin karena toleransinya terhadap cekaman kimia sehingga metabolisme dan fisiologisnya lebih fleksibel. *Pseudomonas* juga berpotensi sebagai agen bioremediasi karena bakteri mampu mentoleransi berbagai jenis herbisida. Hal ini dibuktikan bahwa laju pertumbuhan isolat bakteri *Pseudomonas*

secara signifikan lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Bacillus* sp. Genus *Bacillus* juga banyak dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi. Menurut Mampallil *et al.*, (2017) genus *Bacillus* diketahui banyak digunakan sebagai agen pengendali hayati. Selain itu, *Bacillus* juga dimanfaatkan sebagai agen biokontrol terhadap bakteri patogen, sehingga dapat mengurangi biaya produksi pertanian dan menekan kebutuhan pestisida serta pupuk.

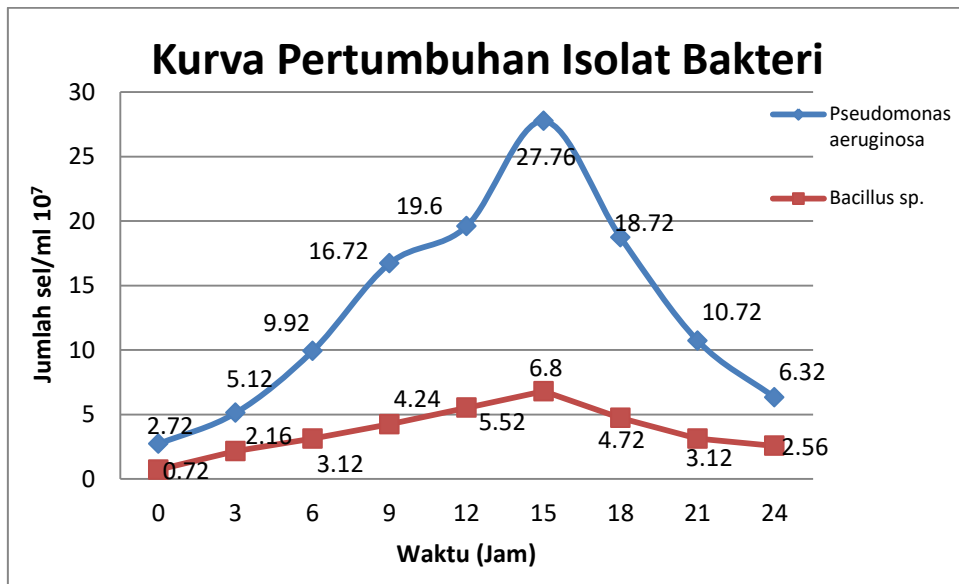
Mikroba diketahui memiliki potensi dalam mendegradasi herbisida baik mampu tumbuh pada media dengan kandungan konsentrasi herbisida tertinggi. Semakin tinggi konsentrasi herbisida didalam media yang dapat ditoleransi maka semakin tinggi juga kemampuannya dalam beradaptasi (Panjaitan *et al.*, 2015). Isolat bakteri terbaik yang diambil yaitu isolat yang masih mampu tumbuh dan berkembang pada konsentrasi herbisida tertinggi yaitu 100 ppm. Berdasarkan Tabel 11 dapat disimpulkan bahwa kedua isolat bakteri masih mampu tumbuh pada konsentrasi herbisida ametrin tertinggi 100 ppm. Isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki jumlah sel lebih banyak daripada *Bacillus* sp. Jumlah rata-rata sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media dengan konsentrasi ametrin 100 ppm sebesar 5.25×10^7 sel/ml, sedangkan isolat bakteri *Bacillus* sp. $0,56 \times 10^7$ sel/ml. hal ini menandakan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan tumbuh lebih baik dari pada bakteri *Bacillus* sp. Hal ini terjadi bila bakteri memiliki kemampuan beradaptasi dan menguraikan herbisida dengan konsentrasi tinggi, maka menunjukkan semakin tinggi juga kemampuannya untuk beradaptasi dan menguraikan zat pada herbisida. Hasil ini sejalan dengan penelitian Pratiwi *et al.*, (2012) *Pseudomonas* dinilai paling efektif menurunkan akumulasi pestisida dicofol sebesar 84,45% dengan konsentrasi pestisida 90 ppm. Menurut Khrishna dan Philip (2011) jenis bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat mendegradasi insektisida methyl parathion dan *Bacillus* sp. mendegradasi insektisida lindane. Bakteri *Bacillus* dan

Pseudomonas aeruginosa memiliki kemampuan bioremediasi serta dapat memacu pertumbuhan sistem perakaran (Andriani, 2021).

Mineral Salt Medium (MSM) adalah salah satu jenis media yang minim sumber karbon, minimnya sumber karbon menyebabkan bakteri harus mencari sumber karbon lain untuk pertumbuhannya. Hal ini membuat isolat bakteri memanfaatkan herbisida ametrin sebagai sumber karbon agar tetap tumbuh (Nikmah *et al.*, 2024). Apriliya *et al.*, (2020) bahwa sumber karbon yang tinggi dapat meningkatkan populasi dan aktivitas mikroba karena karbon digunakan oleh bakteri sebagai bahan pembangun tubuhnya dan sebagai sumber energi. Begitu pula sebaliknya, jika ketersediaan karbon rendah maka jumlah dan aktivitas bakteri juga akan rendah.

4.3.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Tujuan dari kurva pertumbuhan bakteri adalah untuk menentukan waktu optimum bakteri dalam melakukan pembelahan sel. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi empat fase: fase adaptasi, fase logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian (Brooks *et al.*, 2013). Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan menggunakan *Haemocytometer* setiap 3 jam sekali (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, dan 24 jam) masa inkubasi. Kurva pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas aeruginosa* disajikan pada Gambar 15.



Gambar 12. Grafik Pertumbuhan isolat bakteri inkubasi selama 24 jam

Berdasarkan Gambar 12 kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggambarkan beberapa fase. Pada fase awal sebagai fase adaptasi bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap media pertumbuhan yang telah ditambahkan konsentrasi herbisida ametrin 100 ppm. Pada awal pertumbuhan, bakteri mengalami fase adaptasi atau fase lag. Fase ini penting bagi siklus pertumbuhan bakteri karena menentukan respon bakteri terhadap media (Sharah *et al.*, 2015). Lama atau tidaknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel bakteri yang diinokulasikan ke dalam media.

Fase eksponensial atau fase logaritmik terjadi ke-3 sampai ke-15 jam waktu inkubasi yang dicirikan dengan meningkatnya jumlah sel bakteri yang signifikan hal ini sejalan dengan pendapat Reiny (2012) menyatakan bahwa fase logaritmik adalah fase yang menggambarkan sel membelah diri dengan laju yang konstan karena kondisi lingkungan yang optimal mendukung pertumbuhan bakteri. Menurut Haque *et al.*, (2017) tahap ini ditandai dengan

peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolisme, serta faktor kimia dan fisik.

Fase stasioner adalah tahap sel tumbuh dan memasuki fase penurunan sel (Brooks *et al.*, 2013). Fase stationer terjadi ke-15 jam setelah inkubasi dimana bakteri mulai kehilangan nutrient pada media dan jumlah sel semakin menurun. Kemudian akan memasuki fase kematian dimana jumlah sel mati lebih banyak daripada jumlah sel hidup, dan seiring dengan berkurangnya nutrisi dalam medium (Mahjani & Putri, 2020). Bakteri mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium mulai habis sehingga bakteri mati. Namun, kematian sel bakteri juga dapat disebabkan oleh lingkungan dan jenis mikroba. Fase kematian terjadi pada jam jam ke-15 sampai jam ke-24 namun, bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas aeruginosa* belum sepenuhnya mengalami fase kematian. Dapat disimpulkan bahwa bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki fase optimum dalam pertumbuhan sel bakteri sekitar jam ke-15 setelah masa inkubasi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan resisten terhadap herbisida ametrin. Kedua isolat bakteri masih mampu tumbuh pada konsentrasi herbisida ametrin tertinggi 100 ppm,
2. bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan resistensi terhadap herbisida ametrin pada konsentrasi tertinggi 100ppm dengan jumlah sel bakteri $5,25 \times 10^7$ sel/ml dan bakteri *Bacillus* sp yaitu $0,56 \times 10^7$ sel/ml.

5.2.Saran

Adapun saran dari penelitian ini sebagai berikut:

1. perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut pada isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* secara molekuler untuk melihat tingkat kekerabatannya dengan membentuk pohon filogenetik,
2. penelitian selanjutnya disarankan dapat meningkatkan kembali konsentrasi herbisida ametrin yang digunakan,
3. perlu dilakukan analisis menggunakan HPLC untuk membandingkan tingkat degradasi residu herbisida ametrin sebelum dan sesudah dilakukan proses degradasi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, F. N., Sukamto, S., Wahyuni, D., Suhesti, G. R., & Ayunin, Q. (2013). Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Pelita Perkebunan*, 29(1) 2013, 44–52.
- Adnan WS & Khaeruni AR, 2017. Pengujian Sifat Amilolitik dan Proteolitik dari isolat bakteri asam laktat (BAL) hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar wakawondu. *Jurnal Sains Dan Teknologi Pangan*, 2(5), 759–769.
- Agustina, N., Asih, E. N. N., & Kartika, A. G. D. (2022). Jenis gram dan morfologi koloni bakteri air baku garam. *Jurnal Ilmu Kelautan Lesser Sunda*, 2(1), 1-8.
- Ali I, Al-Othman ZA, Alwarthan A. (2016). Green synthesis of functionalized iron nano particles and molecular liquid phase adsorption of ametryn from water. *J Mol Liquid*. 221:1168–74.
- Amanina, F. T., Muskananfolo, M. R., & Ayuningrum, D. (2022). Isolasi Dan Penapisan Aktinomisetes Yang Berpotensi Menghasilkan Enzim Protease Dari Tambak Ikan Bandeng (*Chanos Chanos*) Di Kecamatan Tugu, Semarang. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 18(4).
- Amelia, R., & Aditiawati, P. (2016). Keanekaragaman Bakteri Rizosfer Pemacu Pertumbuhan Tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*/PGPR) Selama Pertumbuhan Ubi Jalar Cilembu (*Ipomoea batatas* L var. Rancing). *Prosiding Snips*, 1(1), 899–906. APVMA, 2011. Diuron. *Australian Pesticide and Veterinary Medicines Authority*. Australia.
- Andriani, L. T. (2021). Potensi Bakteri *Enterobacter cloacae* sebagai Biodegradator Herbisida Glifosat pada Media Tanah. *Jurnal AgroSainTa: Widyaiswara Mandiri Membangun Bangsa*, 5(1), 25-30.
- Anggorowati, D. A., Munandar, H., & Indriana, L. F. (2019). Isolasi dan Penapisan Bakteri Penghasil Enzim Protease, Selulase, dan Amilase dari Sedimen dan Saluran Pencernaan Teripang Hitam *Holothuria atra*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 11(2), 377-386.

- Apriliya, I., Prasetyo, D., & Selvany, R. (2020). Isolasi Bakteri Rhizosfer Resisten Pestisida dan Herbisida pada Berbagai Jenis Tutupan Lahan. *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian*, 5(1), 64-71.
- Ariani, Nurul. (2018). *Kelimpahan Bakteri Rhizosfer Pada Pertanaman Polikultur Kopi dan Pinus Dengan Penggunaan Herbisida dan Tanpa Herbisida di Hutan Pendidikan UB Forest*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Atmanto, Y., Asri, L., & Kadir, N. (2022). Media Pertumbuhan Kuman. *Jurnal Medika Hutama*, 4(1), 3072–3073. <http://jurnalmedikahutama.com>
- Bacterial Colony Morphology Characteristics. (2022). diakses pada 2 Desember 2023. <https://images.squarespacecdn.com/content/v1/5e835102ce5ae323e8b4094d/159>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Basappa, M. G., & Manu, B. (2020). Enhancement of ametryn biodegradation efficiency using anthraquinone-2,6-disulphonate in anaerobic-aerobic treatment. *Environmental Engineering and Management Journal*, 19(7), 1225–1236. <https://doi.org/10.30638/eemj.2020.115>
- Bestari, N. C., & Suharjo. (2015). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*, 3(3), 2–6.
- Batubara, Umni Mardhiyah. Susilawati, Ika Oksi, dan Riany, Hesty. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenus Tanah di Kawasan Kampus universitas Jambi. Universitas Tanjungpura Pontianak. Hal.243-244.
- Bhatt, P., Bhandari, G., Bhatt, K., Maithani, D., Mishra, S., Gangola, S., ... & Chen, S. (2021). Plasmid-mediated catabolism for the removal of xenobiotics from the environment. *Journal of Hazardous Materials*, 420, 126618.
- Carranza, C. S., Barberis, C. L., Chiacchiera, S. M., & Magnoli, C. E. (2017). Assessment of growth of *Aspergillus* spp. from agricultural soils in the presence of glyphosate. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 384-393.
- Cavalcante RP, de Oliveira DM, da Silva LM, Giménez J, Esplugas S, de Oliveira SC, Dantes RF, Sans C, Machulek A. (2021). Evaluation of the main active species involved in the TiO₂ photocatalytic degradation of ametryn herbicides and its by-products. *J Environ Chem Eng*. 9(2):1–13.

- Chemical Compound Deep Data Source. diakses pada 22 Februari 2024.
<https://www.molinstincts.com/structure/Ametryn-cstr-CT1000412082>
- Dayan, F. E., Owens, D. K., Corniani, N., Silva, F. M. L., Watson, S. B., Howell, J., & Shaner, D. L. (2015). Biochemical Markers and Enzyme Assays for Herbicide Mode of Action and Resistance Studies. *Weed Science*, 63(SP1), 23–63.
<https://doi.org/10.1614/ws-d-13-00063.1>
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 138-150.
- Ermakova, I. T., Kiseleva, N. I., Shushkova, T., Zharikov, M., Zharikov, G. A., & Leontievsky, A. A. (2010). Bioremediation of glyphosate-contaminated soils. *Applied microbiology and biotechnology*, 88, 585-594.
- Edwin. 2011. Materi Kuliah Mikrobiologi. Banjarbaru (ID): Universitas Lambung Mangkurat.
- 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. *Journal of General and Applied Microbiology*, 58(4), 263–271. <https://doi.org/10.2323/jgam.58.263>
- Firdous S, Iqbal S, Anwar S. (2020). Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. *Pedosphere*. 30(5):618–627. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60381-3
- Fitria, A. N., & Zulaika, E. (2019). Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada Medium MSM Modifikasi. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 3–5.
<https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36788>
- Fuhrmann, J. J., & Zuberer, D. (2005). *Principles and Applications of Soil Microbiology Edited by Bradyrhizobium diversity View project. January.*
<https://www.researchgate.net/publication/265885976>
- Gao, N. yun, Deng, Y., & Zhao, D. (2009). Ametryn degradation in the ultraviolet (UV) irradiation/hydrogen peroxide (H₂O₂) treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2–3), 640–645. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.038>.
- Gabriel, B., & Riyanto, P. (1989). *Metarhizium Anisopliae (Metch) Sor: Taksonomi, Patologi, Produksi Dan Aplikasinya*. Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian. Jakarta.

- Ghazi, R., Nik Yusoff, N. R., Abdul Halim, N. S., Wahab, I. R. A., Ab Latif, N., Hasmoni, S. H., ... & Zakaria, Z. A. (2023). Health effects of herbicides and its current removal strategies. *Bioengineered*, 14(1), 2259526.
- Hadi S.N, Widiyawati I, Fauzi A, Dewi PS, dan Ahadiyat YR, 2023. Identification of Potential Biofertilizer and Bioremediator Bacteria from Upland Soil Based on 16s rDNA Sequence Analysis. *Planta Tropika*; 11(2): 133-140.
- Haryanto, Afriyani. (2006). *Isolasi Bakteri dari Tanah dan Uji Degradasinya Terhadap Herbisida Imazapyr*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Singh, V., Haque, S., Niwas, R., Srivastava, A., Pasupuleti, M., & Tripathi, C. K. M. (2016). Strategies for fermentation medium optimization: an in-depth review. *Front Microbiol* 7: 2087.
- Heijden, M. G. A. Van Der, Bardgett, R. D., and Straalen, N. M. Van. (2008). The Unseen Majority: Soil Microbes as Drivers of Plant Diversity and Productivity in Terrestrial Ecosystems. *Ecology Letters*. 11: 296–310.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>.
- Ifediegwu, M.C., Agu, K.C., Awah, N.S., Mbachu, A.E., Okeke, C.B., Anaukwu, C.G., Uba, P.O., Ngenegbo, U.C., Nwankwo, C.M., (2015). Isolation, Growth and Identification of Chlorpyrifos Degrading Bacteria from Agricultural Soil in Anambra State, Nigeria, *Universal Journal of Microbiology Research* 3(4).
- Imaniasita, V., Liana, T., & Pamungkas, D. S. (2020). Identifikasi Keragaman dan Dominansi Gulma pada Lahan Pertanaman Kedelai. *Agrotechnology Research Journal*, 4(1), 11-16.
- Irianto, K. (2012). *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme Jilid I*. Bandung : Yrama Widya.
- James, J., Baker, C., & Swain, H. (2008). *Prinsip-prinsip sains untuk keperawatan*. Jakarta: Erlangga.
- M., Simpson, D. J., Wang, Z., Gänzle, M., & Römling, U. (2021). Horizontal transmission of stress resistance genes shape the ecology of beta-and gamma Proteobacteria. *Frontiers in microbiology*, 12.
- Marzuki, I., Noor, A., Nafie, N. L., & Djide, M. N. (2014). Isolasi dan identifikasi bakteri shymbion spons penghasil enzim amilase asal pantai melawai balikpapan. *Jurnal Ilmiah "dr. Aloe Saboe*, 1(2), 11-18.
- Karami, A., Romano, N., Galloway, T., & Hamzah, H. (2016). Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker

- responses in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental research*, 151, 58-70.
- Kesuma, S. ., Hariyadi, & Anwar, S. (2015). Dampak Aplikasi Herbisida IPA Glifosat pada Pertanaman Padi Sawah Sistem TOT terhadap Tanah dan Tanaman Padi. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 5(1), 61–70.
- Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., & Sudewi, S. (2015). Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi dari Tunikata Polycarpa Aurata. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), 32–44.
- Liu, S.; Yan, R.; Humayun, M.; Zhang, H.; Qu, Y.; Jin, Y. (2022). Pyropheophorbide-a/(001) TiO₂ Nanocomposites with Enhanced Charge Separation and O₂ Adsorption for High-Efficiency Visible-Light Degradation of Ametryn. *Molecules*. 27 (5576). <https://doi.org/10.3390/molecules271175576>
- Lestari, P., Prihatiningsih, N., & Djatmiko, H. A. (2017). Partial biochemical characterization of crude extract extracellular chitinase enzyme from *Bacillus subtilis* B 298. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 172 (1). IOP Publishing.
- Mahesh GB, Manu B.(2019). Removal of ametryn and organic matter from wastewater using sequential anaerobic–aerobic batch reactor: a performance evaluation study. *J Environ Manag.* 249:1–9.
- Mahjani, M., & Putri, D. H. (2020). Growth Curve Of Endophyte Bacteria Andalas Plant (*Morus macroura* Miq.) BJT A-6 ISOLATE. *Serambi Biologi*, 5(1).
- Mendes, R., Garbeva, P., and Raaijmakers, J. M. (2013). The Rhizosphere Microbiome: Significance of Plant Beneficial, Plant Pathogenic, and Human Pathogenic Microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*. 37(5): 634–663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Napitupulu, H. G., Rumengan, I. F., Wullur, S., Ginting, E. L., Rimper, J. R. T. S. L., & Toloh, B. H. (2019). *Bacillus* sp. sebagai Agensia Pengurai dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(1), 158-169. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>
- Navaratna, D., Elliman, J., Cooper, A., Shu, L., Baskaran, K., & Jegatheesan, V. (2012). Impact of herbicide Ametryn on microbial communities in mixed liquor of a membrane bioreactor (MBR). *Bioresour Technol*, 113, 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.018>
- Nikmah, A. L., & Lisdiana, L. (2024). Penapisan Bakteri Rizosfer Pendegradasi

- Herbisida Glifosat dari Tanah Pertanian Cabai Rawit (*Capsicum frutescent* L.). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 24-31.
- Ningrum, A. V., Sembodo, D. R., & Evizal, R. (2014). Efikasi Herbisida Ametrin Untuk Mengendalikan Gulma Pada Pertanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) Lahan Kering. *Jurnal Agrotek Tropika*, 2(2).
- Negatu, B., Vermeulen, R., Mekonnen, Y., & Kromhout, H. (2018). Neurobehavioural symptoms and acute pesticide poisoning: a cross-sectional study among male pesticide applicators selected from three commercial farming systems in Ethiopia. *Occupational and Environmental Medicine*, 75(4), 283–289. doi:10.1136/oemed-2017-104538
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Panjaitan, F. J., Adirianto, B., & Bachtiar, T. (2015). Isolasi Bakteri Pendegradasi Herbisida dari Rhizosfer Tanaman Padi Sawah dan Tanaman Hutan. *Biology*, 2050, 307–316.
- Pratiwi, A. A., Supriyadi, A., Raharjo, B., Wahyudi, P., & Parmiyatni, S. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Pestisida Dicofol Dari Tanah Sawah Di Kabupaten Karawang. *Jurnal Biologi*, 1(1), 23–32.
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 71–80. <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1665>
- Putra, G. W., Ramona, Y., & Proborini, M. W. (2020). Eksplorasi Dan Identifikasi Mikroba Pada Rhizosfer Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) Di Kawasan Pancasari Bedugul. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 7(2), 62. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i02.p09>
- Pelczar, Michael J. dan Chan, E. C. S. (2008). *Dasar – Dasar Mikroorganisme. Jakarta: UI Press. Penelitian. Vol.2.No.1.Hal.11.*
- Perwendha, R., Oetari, A., & Sjamsuridzal, W. (2020, June). Skimmed milk-degrading ability of *Rhizopus azygosporus* UICC 539 at various temperatures. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2242, No. 1). AIP Publishing.
- Prayudyaningsih, R., & Nursyamsi & Sari, R. (2015). Mikroorganisme tanah bermanfaat pada rhizosfer tanaman umbi di bawah tegakan hutan rakyat Sulawesi Selatan. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(4), 954-959.
- Rahmi Y, Darmawi, Mahdi A, Faisal J, Fakhurrazi, Yudha F. (2015). Identification

- of *Staphylococcus aureus* in preputium and vagina of horses (*Equus caballus*). *J. Medika Veterinaria*. 9(2): 15-158.
- Riadi S, Situmeang SM, dan Musthari M, 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*; 3(3): 144-152.
- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., and Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of Phosphorus and Nitrogen in the Rhizosphere and Plant Growth Promotion by Microorganisms. *Plant and Soil*. 321(1–2): 305–339. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>
- Richana, N. (2000). Prospek Dan Produksi Enzim α -Amilase Dari Mikroorganisme. *Agro Bio*. Vol. 3(2):15-58.
- Reiny, S, S. 2012. Potensi *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *Jurnal IJAS*, II(2): 604-613.
- Roland, R. M., Bhawani, S. A., & Ibrahim, M. N. M. (2023). Synthesis of molecularly imprinted polymer by precipitation polymerization for the removal of ametryn. *BMC chemistry*, 17(1), 165.
- Royanti, V., Handayani, K., Ekowati, C. N., & Sumardi, S. (2023). Isolasi Dan Karakterisasi Bacillus Lipolitik Dari Tanah Kebun Raya Liwa. *In Gunung Djati Conference Series* (Vol. 18, pp. 40-45).
- Saraswati, R., E. Santosa, dan E. Yuniarti. (2006). *Organisme Perombakan Bahan Organik. Mikroorganisme Pelarut Fosfat. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 230 hal.
- Sari, Resti P. K. (2019). *Identifikasi Resistensi Beberapa Gulma Di Perkebunan Nanas Lampung Tengah Dan Kelapa Sawit Lampung Selatan Terhadap Herbisida Diuron Dan Glifosat*. [Tesis]. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Sharah, A., Karnila, R., & Desmelati, D. (2015). *The Manufacture of Lactic Acid Bacteria Growth Curve in the Isolation of Kembang (Rastrelliger SP) Pada* [Doctoral dissertation]. Riau University.
- Sembodo, D. R. (2010). *Gulma dan pengelolaannya*. Graha Ilmu. Yogyakarta, 166.
- Simarmata, T. (2013). Tropical bioresources to support biofertilizer industry and sustainable agriculture in Indonesia. *In International Seminar on Tropical Bio-resources for Sustainable Bioindustry* (pp. 30-31).
- Singh S, Kumar V, Singh J. (2019). Kinetic study of the biodegradation of glyphosate

- by indigenous soil bacterial isolates in presence of humic acid, Fe(III) and Cu(II) ions. *J Environ Chem Eng.* 7(3):103098. doi: 10. 1016/j.jece.2019.103098
- Shu, L. J., & Yang, Y. L. (2017). Bacillus Classification Based on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry - Effects of Culture Conditions. *Scientific Reports*, 7(1), 6–15.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-15808-5>
- Soedarto. (2015). Mikrobiologi Kedokteran . jakarta: CV. Sagung Seto.
- Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. O. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of microbiological methods*, 95(3), 327-335.
- Sullivan, B. P. (2004). S Ust Ustainable Ainable S Oil. *Attrra, soil syste.*
- Sumardi, S., Agustrina, R., Irawan, B., & Pratiwi, A. (2018). The Effect Of Magnetic Field Exposure On Medium To Protease Production BY Bacillus sp. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal*, 4(2), 28–32.
- Sukma, Y. (2002). *Gulma dan Teknik Pengendaliannya*. Raja Grafi ndo Persada.Jakarta. <https://doi.org/10.24233/biov.4.2.2018.105>
- Supriyatna, A., Jauhari, A. A., & Holydaziah, D. (2015). Aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease dari larva *Hermetia illucens* yang diberi pakan jerami padi. *Jurnal Istek*, 9(2).
- Susanto, H., Evizal, R., Sugiatno, dan, Agroteknologi, J., Pertanian, F., Lampung Jalan Sumantri Brojonegoro No, U., & Lampung, B. (2020). Kajian Efikasi Herbisida Ametrin Dan Kombinasi Ametrin + (2,4-D Atau Metil Metsulfuron) Terhadap Pertumbuhan Gulma Pada Budidaya Tanaman Tebu Lahan Kering. *Jurnal Agrotropika*, 19(1), 57–62.
- Sriyani, N. (2015). *Mekanisme Kerja Herbisida*. Bahan Mata Kuliah Herbisida dan Lingkungan. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. 27 hal.
- Szewczyk, R., Kusmierska, A., & Bernat, P. (2018). Ametryn removal by *Metarhizium brunneum*: Biodegradation pathway proposal and metabolic background revealed. *Chemosphere*, 190, 174-183.
- Tennalli, G., B. Udupudi dan P. Naik. (2012). Isolation of Proteolytic Bacteria and Characterization of Their Proteolytic Activity. *International Journal of Advances in Engineering, Science and Technology (IAEST)*, 2(3).
- Tjitrosoedirdjo, S., I. H. Utomo dan J. Wiroatmodjo (Eds). (1984). *Pengelolaan Gulma di Perkebunan*. Kerjasama Biotrop Bogor – PT. Gramedia. Jakarta. 225 hal.

- Triza, D., Wahyu, P., Eko, O., & Ayuningrum, D. (2021). Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase Dari Sedimen Tambak Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2).
<https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2021.005.02.15>
- Verbon, E. H., and Liberman, L. M. (2016). Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development. In *Trends in Plant Science*. 21(9): 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.013>
- Wang X, Jia R, Song Y, Wang M, Zhao Q, Sun S. (2019). Determination of pesticides and their degradation products in water samples by solid-phase extraction coupled with liquid chromatography–mass spectrometry. *Microchem J*.149: 104013.
- Wahyudi D, Aman AT, Handayani NSN, Soetarto ES. (2019). Differences among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in their capability of forming biofilms and their susceptibility to antibiotics. *Biodiversitas* 20(5): 1450-1456.DOI: 10.13057/biodiv/d200538
- Widowati, T., Rohani, C.B.G., Utut, W., Asepnugraha, dan Ardiwinata. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida Glifosat Dan Paraquat Dari Rizosfer Tanaman Padi. IPB. Bogor.
- Widowati, T., Cinta, R., Ginting, B., Widyastuti, U., & Ardiwinata, N. (2017a). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida Glifosat Dan Paraquat Dari Rizosfer. *Biopropal Industri*, 8(2), 63–70.
- Widowati, T., Cinta, R., Ginting, B., Widyastuti, U., & Ardiwinata, N. (2017b). Manajemen Dan Budidaya tanaman karet. *Pertanian*, 8(2), 63–70.
- Whitman, W., Vos, P., Garrity, G., Jones D, Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., & Schleifer, K. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 3. Springer-Verlag.
- Yu, Q. Q., Lu, F. F., Yang, H., & Song, N. H. (2021). *Residues of Reduced Herbicides Terbutylazine, Ametryn, and Atrazine and Toxicology to Maize and the Environment through Salicylic Acid*.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.1c04315>
- Yulipriyanto, Hieronymus. (2010). *Biologi Tanah dan Strategi Pengolaannya*. Yogyakarta:Grahailmu.
- Yuniati, R., Nugroho, T. T., & Puspita, F. (2015). Uji aktivitas enzim protease dari isolat bacillus sp. galur lokal riau (*Doctoral dissertation, Riau University*).
- Zahidah, D., & Shovitri, M. (2013). Isolasi, karakterisasi dan potensi bakteri aerob sebagai pendegradasi limbah organik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), E12-E15.