

**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  $\alpha$  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  $\alpha$  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

  
Rochmah Agustrina, Ph.D.  
NIP. 196108031989032002

Pembimbing 2

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

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

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

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

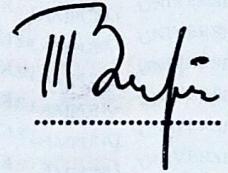
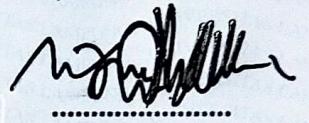
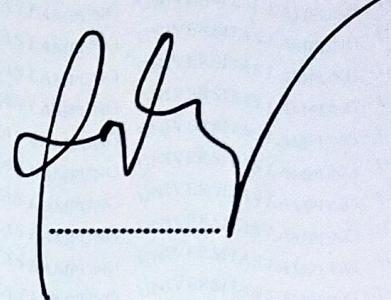
Ketua : **Rochmah Agustrina, Ph.D.**

Sekertaris

: **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 Pengtahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejurnya, 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 pembahasan nya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Skripsi ini saya sususn 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 Ekskutif 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 Biosistemik 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 bulan 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 mengucap 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 tercurahkan,  
motivasi, sehingga bisa tumbuh dan berkembang menjadi pribadi yang lebih baik.  
Semoga kelak menjadi kebanggan dan penolong dunia dan akhirat

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

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. Yasün: 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 kebahagian 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 hantarkan kehadirat Allah SWT atas limpahan berkah, rahmat, dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa kita hanjurkan pada junjungan kita Nabi Agung Muhammd *Shalallahu 'Alahi Wassalam* dengan mengharap syafaatnya di yaumil 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 tercurahkan dengan tulus, yang tak pernah lelah mendoakan, mendidik, membimbing dan menuntun dalam segala hal kebaikan.
2. Teruntuk kakak-kakakku 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 terselesaiannya 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 memberbaiki 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, bersama-sama 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 membersamai 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 terakhir 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

<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan .....	3
1.3. Kerangka Pikir .....	3
1.4. Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
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
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
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
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
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
<b>V.. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
5.1. Kesimpulan .....	50

5.2. Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## **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 Amertrin (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 posistif 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 menguntungan 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 sintetis. 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  $0,54 \text{ gL}^{-1}$  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.adontotermitis* 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 konsentrasasi herbisida ametrin paling tinggi.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Herbisida dan Penggolongannya**

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 metabolism gulma melibatkan kerja enzim (Dayan *et al.*, 2015). Menurut Riadi (2015) Senyawa aktif herbisida mempengaruhi beberapa proses fisiologi seperti pembelahan sel, pembentukan klorofil, fotosintesis, perkembangan jaringan, respirasi, metabolisme nitrogen, dan aktivitas enzim yang sangat diperlukan gulma untuk kelangsungan dan ketahanan hidupnya.

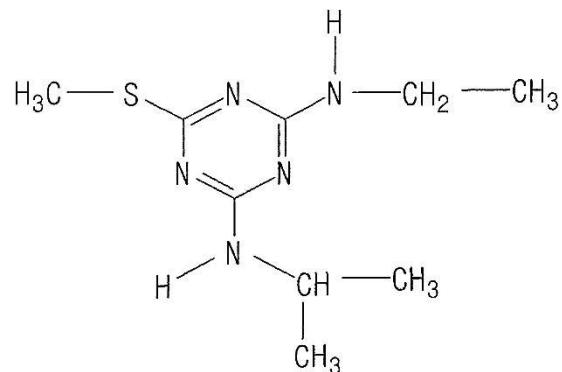
Penggunaan herbisida secara berlebihan dan terus menerus akan berdampak negatif bagi lingkungan akibat akumulasi residu herbisida. Residu herbisida yang tertinggal sebagian dapat diurai oleh mikroba tanah, dan sisanya akan bergerak di dalam tanah secara horizontal melalui aliran permukaan tanah atau 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 racunya. Menurut Sukma, (2002) herbisida terbagi menjadi dua tipe berdasarkan waktu pemakaiannya yaitu herbisida pratumbuhan (*pre emergence herbicide*) dan herbisida pascatumbuh (*post emergence herbicide*). Herbisida pratumbuh disebarluaskan 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 ametrin 3D (Chemical Compound Deep Data Source, 2022).

Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat (EPA) telah mengklasifikasi bahwa herbisida ametrin 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 ametrin mudah dideteksi melalui permukaan air (Wang *et al.*, 2019) dan tanah (Cavalcante *et al.*, 2021). Selain itu pencemaran ametrin pada air berakibat serius karena membahayakan kesehatan manusia dan ekosistem seperti hewan, biota akuatik, dan sumber air. Dampak yang ditimbulkan akibat keracunan ametrin dapat menyebabkan mual, diare, kelemahan otot, dermatitis, serta iritasi mata dan gangguan pernapasan (Mahesh *et al.*, 2019). Dalam jangka panjang paparan herbisida ametrin dapat menyebabkan kanker karena herbisida ametrin berfungsi sebagai senyawa endokrin (Ali *et al.*, 2016).

Herbisida ametrin 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 ametrin bersifat selektif dan sistemik mengendalikan gulma (Susanto *et al.*,

2020). Struktur senyawa kimia ametrin adalah C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>S 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<sub>2</sub>. (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, ketersedian 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 litorof, dan kemoautotrof dalam daur nitrogen dan degradasi polutan, namun bakteri juga bertindak sebagai pathogen 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).

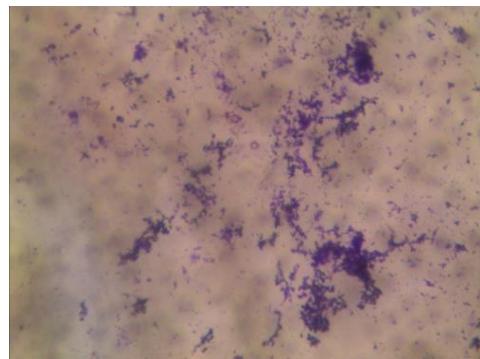
Beberapa bakteri tanah diantaranya *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### **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  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,2-10  $\mu\text{m}$ . 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* Firmicutes, 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, selulotik 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  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  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.

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Phylum</i>	: Firmicutes
<i>Class</i>	: Bacilli
<i>Order</i>	: Bacillales
<i>Family</i>	: Bacillaceae
<i>Genus</i>	: <i>Bacillus</i>
<i>Species</i>	: <i>Bacillus</i> sp.

### **2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, , berukuran 0,5-0,8  $\mu$  dan panjang 1,5- 3,0  $\mu$ , 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 menunjukan *Pseudomonas aerugenosa* 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 CO<sub>2</sub>, 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.oryzihabitans*.



**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, alumunium 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, alumunium 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, CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O 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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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

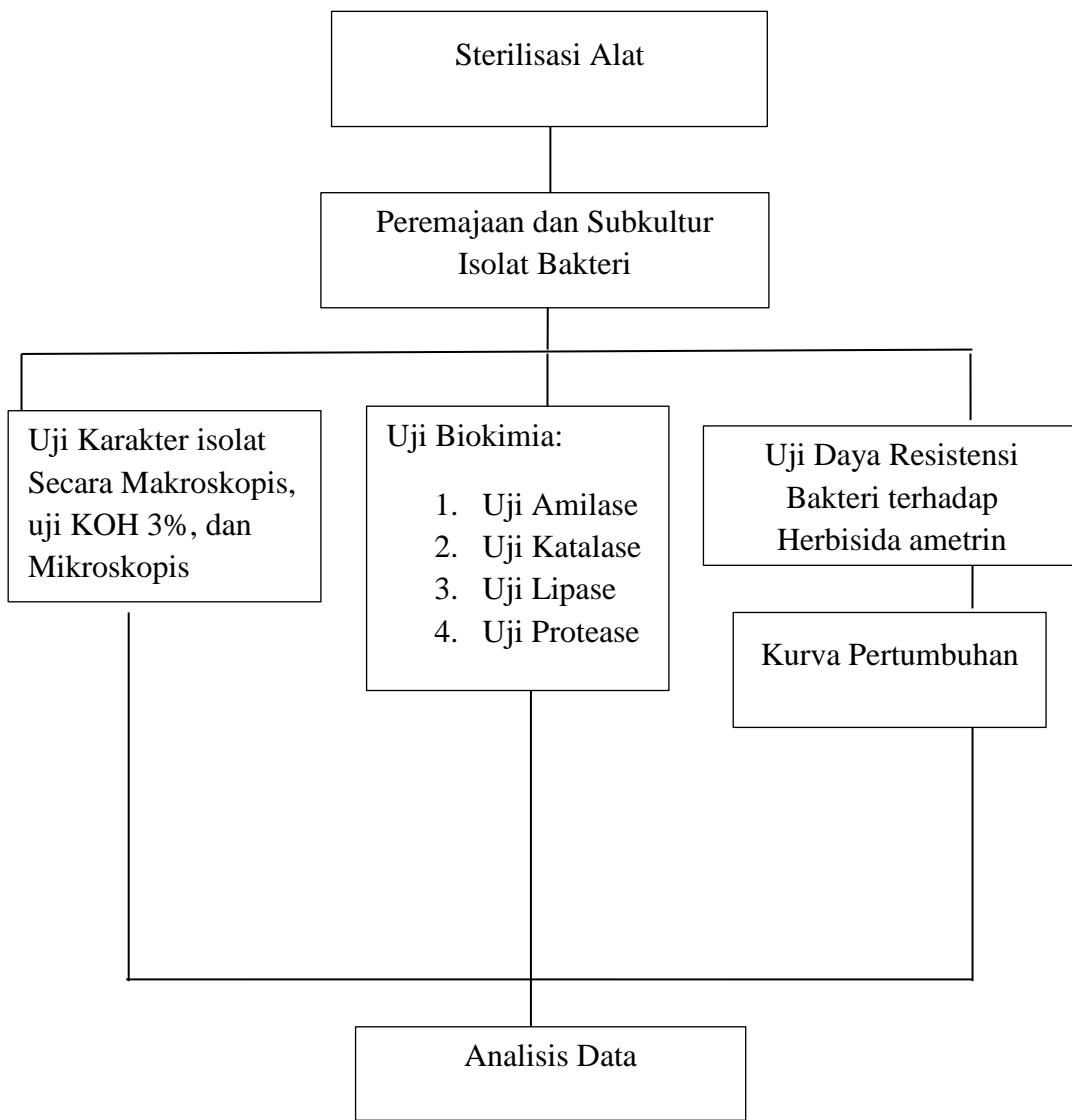
KELOMPOK		
I	II	III
YA1	CA3	YA2
CA1	YA1	YA4
CA3	YA2	CA1
CA2	YA3	CA2
CA4	YA4	CA3
YA3	CA2	CA4
YA4	CA4	YA1
YA2	CA1	YA3

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  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 2 atm selama 15 menit kemudian dimasukkan di oven dengan suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam seperti jarum ose disemprotkan alkohol 70% kemudian dipijarkan di atas api bunsen sampai membawa. Sterilisasi medium menggunakan pemanas basah bertekanan dengan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  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  $121^{\circ}\text{C}$  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).

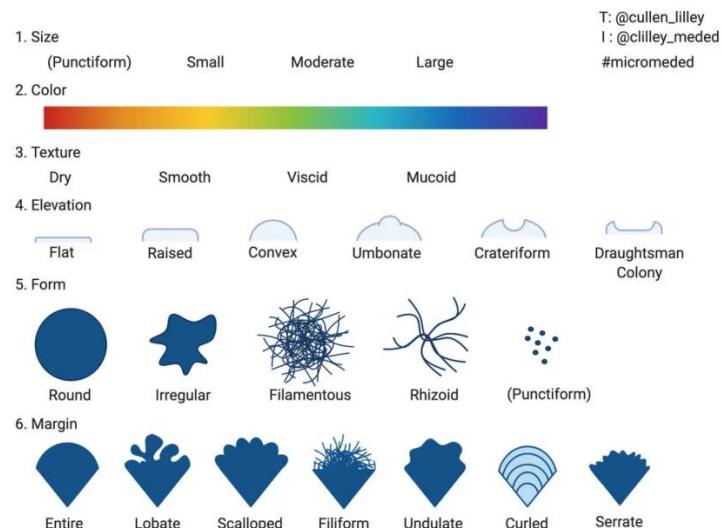
Peremajaan dan perbanyakkan isolat stok bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose masing-masing isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media NA dalam cawan Petri secara steril dalam BSC. Perbanyakkan stok bakteri pada media NA dalam cawan Petri dilakukan dengan teknik 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).

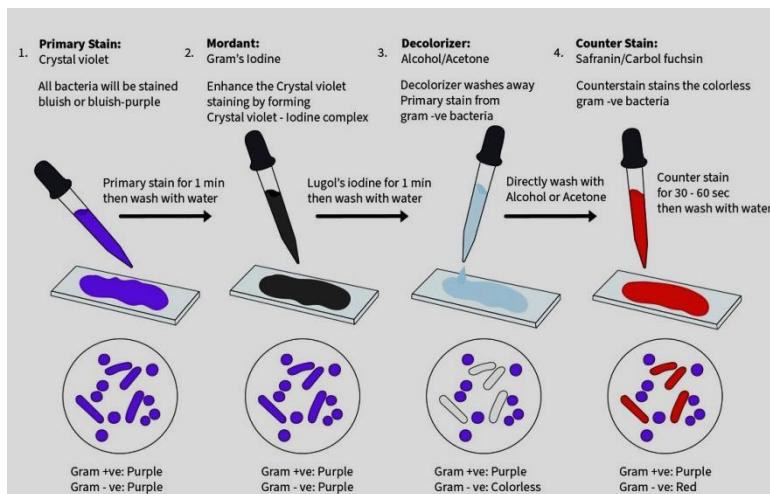


**Gambar 7.** Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri ( Microbiology note, 2022).

### 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 ditambahakan 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).

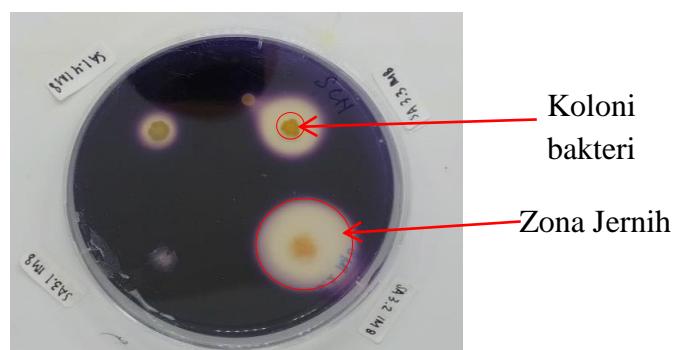
### b. Uji KOH 3%

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).

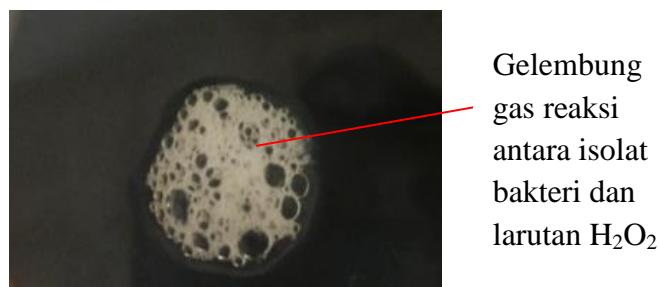


**Gambar 8.** Hasil positif uji amilase (Triza *et al.*, 2021).

### 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 menginaktivkan enzim di dalam sel.  $H_2O_2$  dapat terbentuk ketika metabolism 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).

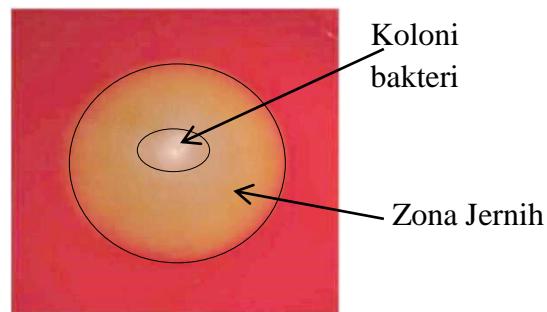
Metode uji katalase berdasarkan Rahmi *et al.*,(2015) dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri dan menggoreskan pada *object glass* yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diteteskan 1-3 tetes larutan  $H_2O_2$  3% dan ditunggu selama 5 menit. Jika terbentuk gelembung-gelembung kecil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



**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 2H<sub>2</sub>O 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 121°C 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.

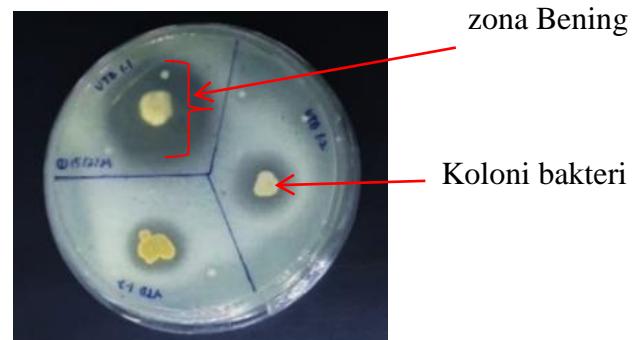


**Gambar 10.** Hasil Positif uji lipase (Royanti *et al.*, 2023).

### 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 MgSO<sub>4</sub>; 7H<sub>2</sub>O, 1,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,0 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,01 CaCl<sub>2</sub>, 0,0001 FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5 NaNO<sub>3</sub>, (Fan *et al.*, 2012). Ditambahkan dengan akuades 1000 ml dan dihomogenkan menggunakan batang pengaduk kemudian dimasukkan kedalam 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 dimasukan 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  $\mu\text{m}$  (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  $\alpha$  5% sedangkan karakterisasi isolat bakteri dan uji biokimia dianalisis secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

## **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 aircucian 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., Muskananfola, 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: Widyaaiswara 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., & Ibnsouda, 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., & Suharjono. (2015). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*, 3(3), 2–6.
- Batubara, Ummi Mardhiyah. Susilawati, Ika Oksi, dan Riany, Hesty. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Tanah di Kawasan Kampus universitas Jambi.Universtas 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 TiO<sub>2</sub> 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 etawa (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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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 Menguak 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 shimbiont spons penghasil enzim amilase asal pantai melawai balikpapan. *Jurnal Ilmiah "dr. Aloei 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) TiO<sub>2</sub> Nanocomposites with Enhanced Charge Separation and O<sub>2</sub> Adsorption for High-Efficiency Visible-Light Degradation of Ametryn. *Molecules*. 27 (5576). <https://doi.org/10.3390/molecules27175576>
- 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 Agensi 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). *Bioresource Technology*, 113, 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.018>
- Nikmah, A. L., & Lisdiana, L. (2024). Penapisan Bakteri Rizosfer Pendegradas

- Herbisida Glifosat dari Tanah Pertanian Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* 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*.) 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., Suprihadi, 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 Buasbas (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, Fakhrurrazi, 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., Bareja, 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 Lipopolitik Dari Tanah Kebun Raya Liwa. In *Gunung Djati Conference Series* (Vol. 18, pp. 40-45).
- Saraswati, R., E. Santosa, dan E. Yuniar. (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 Kembung (Rastrelliger SP) Peda* [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 Ainalble S Oil. *Attra, 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. Udapudi dan P. Naik. (2012). Isolation of Proteolytic Bacteria and Characterization of Their Proteolytic Activity. *International Journal of Advances in Engineering, Science and Technology* (IJAEST), 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.