

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isopropilamina Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang

Isolation and Characterization of Indigenous Potential Bacteria Degrading Isopropylamine Glyphosate from Red Onion Cultivation Fields in Enrekang Regency

Hilda Karim¹⁾, Sahribulan^{1)*}, Muhammad Junda¹⁾, Norna¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi, Prodi Biologi, Universitas Negeri Makassar

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat pada tanah yang terpapar pestisida berbahan aktif Isopropilamina Glifosat dengan melakukan karakterisasi bakteri secara morfologi, dan fisiologi. Sampel tanah diambil dari perkebunan bawang merah di Kecamatan Baraka Kabupaten Enrekang. Metode pada penelitian ini yaitu dengan mengisolasi sampel tanah pada kedalaman 10 cm dan 20 cm, isolat bakteri yang ditemukan kemudian dikelompokkan berdasarkan karakter morfologi dan fisiologi isolat yang ditemukan. Pada tahap isolasi diberi perlakuan pestisida dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm dan 30 ppm. Hasil penelitian pada tanah kedalaman 10 cm ditemukan bakteri dari genus *Pantoea* dan *Clostridium*. Pada konsentrasi 10 ppm diperoleh 2 isolat, konsentrasi 20 ppm diperoleh 2 isolat dan konsentrasi 30 ppm ditemukan 1 isolat. Sedangkan pada kedalaman 20 cm ditemukan bakteri dari genus *Pantoea*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, dan *Erwinia*. Pada konsentrasi 10 ppm ditemukan 4 isolat, konsentrasi 20 ppm 2 isolat dan konsentrasi 30 ppm ditemukan 1 isolat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa genus *Pantoea*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, dan *Erwinia*, mampu bertahan hidup pada tanah yang terpapar pestisida.

Kata kunci: Bakteri indigenous, Degradasi, Isolasi, Isopropilamina Glifosat.

ABSTRACT

*This study aims to determine the types of bacteria found in soil exposed to pesticides with the active ingredient Isopropylamine Glyphosate by characterizing the bacteria morphologically and physiologically. Soil samples were taken from shallot plantations in Baraka District, Enrekang Regency. The method in this study was to isolate soil samples at a depth of 10 cm and 20 cm, the bacterial isolates found were then grouped based on the morphological and physiological characters of the isolates found. At the isolation stage, pesticides were treated with concentrations of 10 ppm, 20 ppm and 30 ppm. The results of the study on a 10 cm depth soil found bacteria from the genus *Pantoea* and *Clostridium*. At a concentration of 10 ppm, 2 isolates were obtained, at a concentration of 20 ppm, 2 isolates*

* Korespondensi:
email: sahribulan@unm.ac.id

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isopropilamina Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang

were obtained, and at a concentration of 30 ppm, 1 isolate was found. Meanwhile, at a depth of 20 cm, bacteria from the genera *Pantoea*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, and *Erwinia* were found. At a concentration of 10 ppm found 4 isolates, a concentration of 20 ppm 2 isolates and a concentration of 30 ppm found 1 isolate. The results showed that the genera *Pantoea*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, and *Erwinia*, were able to survive in soil exposed to pesticides.

Keywords: Degradation, Indigenous bacteria, Isolation, Isopropylamine Glyphosate.

PENDAHULUAN

Bawang merah merupakan tanaman hortikultura unggulan dan telah diusahakan oleh petani secara intensif. Komoditi hortikultura ini termasuk kedalam kelompok rempah tidak bisa disubstitusi dan berfungsi sebagai bumbu penyedap makanan serta bahan obat tradisional. Berdasarkan Badan Pusat Statistik produksi bawang merah di Sulawesi Selatan yaitu 101.762 sedangkan produksi bawang merah di Kabupaten Enrekang yaitu 58,357.4 (Latanro, 2017). Salah satu kecamatan penghasil bawang merah di Kabupaten Enrekang yaitu Kecamatan Baraka. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik pada tahun 2012 dalam Idrus (2013), produksi bawang merah di Kecamatan Baraka tahun 2009 mencapai 3.533,7 dan pada tahun 2010 produksi bawang merah mencapai 4.332. Hal tersebut menunjukkan bahwa produksi bawang merah di Kecamatan Baraka belum mampu bersaing dengan produksi bawang merah yang ada diseluruh Indonesia. Kendala yang sering dialami dalam meningkatkan produksi bawang merah di Kecamatan Baraka yaitu terjadinya serangan hama, penyakit serta gulma yang dapat menyebabkan hasil panen berkurang. Tindakan petani untuk mengatasi gulma tidak lain menggunakan herbisida dengan merk Supremo yang berbahan aktif Isopropilamina Glifosat dengan rumus kimia $C_6H_{17}N_2O_5P$.

Herbisida merupakan senyawa toksik yang digunakan sebagai pengontrol gulma. Glifosat (N-phosphonomethylglycine) adalah herbisida berspektrum luas, bersifat non selektif, digunakan untuk mengendalikan rumput, semak-semak dan gulma. Glifosat menghambat enzim 5-enolpyruvylshikimate-3- phosphate synthase (EPSPS) yang dibutuhkan untuk sintesis asam amino aromatik yang penting bagi kelangsungan hidup tanaman (Widowati dkk, 2017). Penerapan Isopropilamina Glifosat efektif dalam pengendalian gulma aksonopus compressus, hal ini karena adanya glifosat herbisida dapat bertahan lama di dalam tanah dan tetap aktif sehingga dapat menekan pertumbuhan gulma lebih lama.

Penggunaan herbisida pada lahan budidaya bawang merah di Kecamatan Baraka dilakukan hampir setiap hari. Petani melakukan penyemprotan saat mulai tanam hingga proses panen. Kebiasaan petani dalam menggunakan herbisida terkadang menyalahi aturan pemakaian. Dalam pemberian herbisida yang benar serta teknik pemberiaan herbisida yang benar harus sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP). Namun, para petani di Kecamatan Baraka melakukan penyemprotan herbisida tidak sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP). Jenis pestisida yang digunakan adalah golongan organofosfat diantaranya: diazinon, klorpirifos, dan metidathion. Hal ini dilakukan para petani untuk

meningkatkan produksi bawang merah namun para petani tidak mengetahui bagaimana dampak yang ditimbulkan akibat penggunaan herbisida secara berlebihan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Suradi dkk. (2022) menyatakan bahwa perilaku petani dalam menggunakan herbisida dan pestisida kimia di Kabupaten Enrekang menunjukkan indikator mengenai dosis pestisida (7,71), dan aplikasi penyemprotan (17,45) masuk kategori tidak sesuai dan indikator interval penyemprotan kategori sangat tidak sesuai (3,1).

Dampak dari penggunaan pestisida yaitu dapat mencemari lingkungan, terbunuhnya organisme non-target karena terpapar secara langsung, menumpuknya pestisida dalam jaringan tubuh organisme melalui rantai makanan dan dampak bagi lingkungan pertanian seperti Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) menjadi lebih kebal terhadap pestisida, terbunuhnya musuh alami hama dan meracuni tanaman (fitotoksik). Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian dari Widowati dkk (2017), bahwa penggunaan pestisida secara berlebihan dapat menyebabkan dampak yang negatif bagi lingkungan, serta dapat menyebabkan terakumulasinya residu bahan kimia yang ada dalam tanah sehingga dapat membahayakan bagi mikroorganisme serta proses biologi dalam tanah.

Berdasarkan hasil penelitian Adawiah (2021) yang menyatakan bahwa pada tanah yang terpapar herbisida di Kecamatan Baraka hanya terdapat 2 jenis cendawan yang ditemukan yaitu jenis cendawan *Aspergillus*. Sedangkan pada tanah yang tidak terpapar herbisida, jumlah cendawan yang ditemukan lebih banyak yaitu 17 jenis cendawan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi bakteri indigenous dari lahan budidaya bawang merah yang berpotensi sebagai pendegradasi isoprofilamina glifosat.

METODE

Isolasi Bakteri

Sampel tanah diambil dari lahan budidaya bawang merah di Kecamatan Baraka Kabupaten Enrekang. Sampel tanah diambil pada kedalaman 10 cm dan 20 cm karena merupakan bagian *top soil* dimana pada kedalaman ini merupakan tempat aktivitas bakteri.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel (Sumber: Peta udara)

a. Pembuatan Medium Pertumbuhan

1) Medium Isolasi Bakteri

Medium yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah medium *nutrient agar* (NA). Medium *nutrient agar* (NA) digunakan untuk melakukan pengujian aktifitas antibakteri. Pembuatan medium NA adalah sebagai berikut bahan ditimbang sebanyak 10 gram medium *nutrient agar* sintetik kemudian dilarutkan dengan 500 ml aquades hingga rata. Setelah itu, larutan dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga larutan homogen. Selanjutnya medium disterilisasi di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2) Medium Karakterisasi Bakteri

1.1 Karakterisasi Morfologi

Medium yang digunakan untuk karakterisasi morfologi bakteri adalah medium *nutrient agar* (NA).

1.2 Karakterisasi Fisiologi

1.2.1 Medium Hugh and Leifson

Bahan ditimbang sebanyak 5 gram pepton, 5 gram NaCl, 0,3 gram K₂HPO₄, 1% brom timol blue, 3 gram agar. Semua bahan di homogenkan dalam 1000 ml aquades. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

1.2.2 Medium King'S B

Bahan ditimbang sebanyak 20 gram protease pepton, 10 ml gliserol, 1,5 gram K₂HPO₄, 1,5 gram MgSO₄, 15 gram agar. Semua bahan dihomogenkan dalam 1000 ml aquades. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

1.2.3 Medium Yeast Dextrose Carbonat (YDC)

Bahan ditimbang sebanyak 10 Gram Yeast Extract, 20 gram Dextrose, 20 gram Calsium Carbonat, 15 gram agar. Semua bahan di homogenkan dalam 1000 ml aquades. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

1. Tahap Pelaksanaan

a. Isolasi Bakteri

1) Tahap pertama

Tahap isolasi diawali dengan menimbang sampel tanah sebanyak 1 gram dan di gerus menggunakan mortar dan pistillum dengan menambahkan aquades steril sebanyak 10 mL. Setelah itu mensuspensikan sebanyak 1 ml ke dalam botol pengencer yang berisikan 9 ml aquades steril sampai 3 kali pengenceran lalu homogenkan dengan menggunakan vortex. Kemudian menuang medium NA (*Nutrient Agar*) + Nystatin ke dalam masing-masing cawan petri kemudian diberi pestisida Supremo sebanyak 10 ppm, 20 ppm, dan 30 ppm. Fungsi diberikannya Nystatin yaitu untuk mencegah pertumbuhan fungi. Masing-masing pengenceran diambil dengan menggunakan spoit steril sebanyak 0.1 ml dan diinokulasikan dengan menggunakan metode sebar (*pour plate*). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C sampai isolat tumbuh.

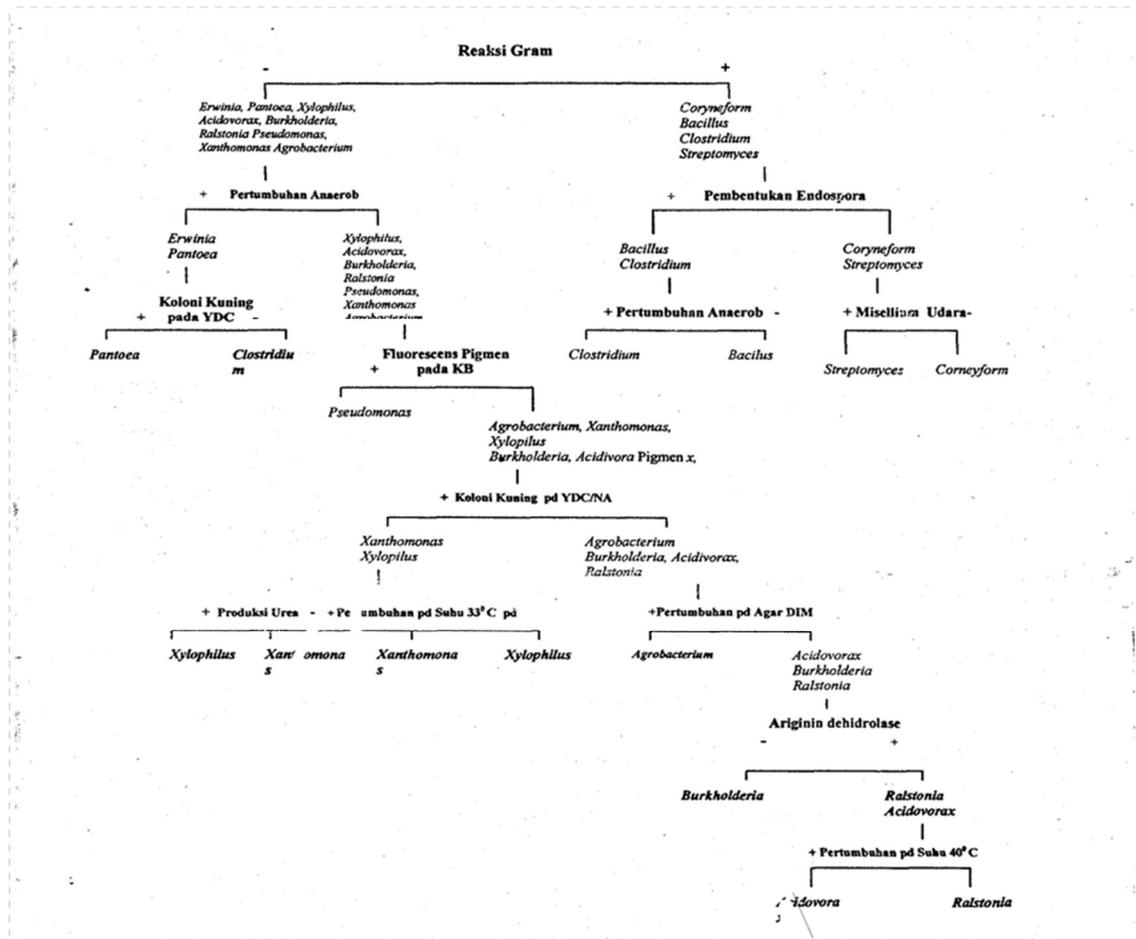
2) Tahap kedua

Koloni hasil isolasi menunjukkan adanya bakteri selanjutnya akan dilakukan purifikasi pada medium NA (*Nutrient Agar*) dengan menggunakan metode gores langsung.

Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari. Isolat yang tumbuh diinokulasi kembali pada medium yang sama sampai diperoleh isolat murni. Setelah diperoleh isolat murni selanjutnya dipindahkan ke agar miring untuk digunakan sebagai kultur stok pada penelitian selanjutnya.

b. Tahapan Karakterisasi Bakteri

Tahap karakterisasi bakteri dilakukan dengan mengikuti langkah-langkah dari kunci identifikasi. Dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 2. Tahap Karakterisasi Bakteri

1) Karakteristik Morfologi

Karakteristik morfologi penentuannya didasarkan pada bentuk, warna, dan tepi koloni bakteri pada medium NA (Nutrient Agar), kemudian dilakukan pengamatan.

2) Karakteristik Fisiologi

a) Pengecatan Gram

Uji ini dilakukan dengan mengambil suspensi bakteri dan meratakannya di atas gelas objek dan membiarkannya mengering di udara melalui fiksasi di atas api bunsen. Kemudian memberikan larutan Gram A sebanyak 2-3 tetes dan membiarkannya selama 2 menit lalu dicuci dengan air mengalir setelah itu dikeringkan dengan menggunakan tisu secara hati-hati. Setelah itu memberikan larutan Gram B dan membiarkannya selama 1-2 menit, dicuci menggunakan air mengalir, dikeringkan menggunakan tisu. Kemudian diberikan larutan Gram C, membiarkannya selama 30 detik, dicuci menggunakan air mengalir dan

*Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isopropilamina
Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang*

membiarkanannya mengering. Selanjutnya diberikan larutan Gram D 2-3 tetes, membiarkanannya selama 1 menit, dicuci menggunakan air mengalir dan membiarkanannya mengering. Setelah itu, dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Pembentukan warna merah muda menunjukkan gram negative, sedangkan pembentukan warna biru atau ungu menunjukkan gram positif.

b) Pewarnaan Endospora

Koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose dan dioleskan pada gelas objek, kemudian ditetesi reagen malachite green kemudian di diamkan selama kurang lebih 5 menit, dibilas menggunakan aquades steril lalu dibersihkan menggunakan tisu, kemudian ditetesi safranin dan didiamkan selama 1 menit, setelah itu dilakukan pengamatan di bawah mikroskop (Harley, 2005).

c) Pertumbuhan Anaerob

Media yang digunakan adalah media Hugh dan Leifson. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml lalu disterilisasi. Setelah dingin ditambahkan glukosa 10% yang sudah disterilkan. Setelah itu bakteri diinokulasikan ke dalam media kemudian ditutup dengan agar cair 3% yang steril untuk uji fermentatif, sedangkan uji oksidatif tidak ditutup dengan agar cair. Ketika terjadi perubahan warna menjadi kuning dan keruh pada uji fermentative maka reaksinya positif (Karim dkk, 2016).

d) Pigmen Fluorescent

Koloni bakteri ditumbuhkan pada media King's B selama 24 – 48 jam pada suhu 27 °C setelah itu dilakukan pengamatan. Aktivitas fluoresensi dapat dilihat dengan meletakkan cawan petri yang telah ditumbuhi bakteri di bawah cahaya UV. Jika terbentuk pigmen fluorescent yang ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi hijau hal tersebut menunjukkan reaksi yang positif (Eliza dkk, 2007).

e) Koloni Kuning pada Media YDC (*Yeast Dextrose Carbonat*)

Koloni bakteri ditumbuhkan pada media YDC, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam. Jika terbentuk koloni yang berwarna kuning maka menunjukkan reaksi positif (Karim dkk, 2016).

Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengkarakterisasi jenis bakteri pada kedalaman tanah 10 cm, dan 20 cm yang dapat bertahan hidup pada media yang mengandung herbisida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a) Isolasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri pada tanah kedalaman 10 cm pada perkebunan bawang merah (*Allium ascalonicum* L) dengan konsentrasi 10 ppm diperoleh 2 isolat dengan kode isolat I₁₍₁₀₎ dan I₅₍₁₀₎. Pada konsentrasi 20 ppm diperoleh 2 isolat dengan kode isolat I₁₁₍₁₀₎ dan I₁₄₍₁₀₎. Pada konsentrasi 30 ppm ditemukan 1 isolat dengan kode isolat I₁₇. Sedangkan pada kedalaman 20 cm dengan konsentrasi 10 ppm diperoleh 4 isolat yaitu isolat I₁₍₂₀₎, I₄₍₂₀₎, I₉₍₂₀₎, dan I₁₂₍₂₀₎. Pada konsentrasi 20 ppm diperoleh 2 isolat yaitu I₁₃₍₂₀₎ dan I₁₈₍₂₀₎. Pada konsentrasi 30 ppm diperoleh 1 isolat yaitu I₂₂₍₂₀₎.

b) Karakterisasi Morfologi Bakteri

Parameter pengamatan yang dilakukan dalam menentukan karakteristik dari morfologi isolat bakteri meliputi karakterisasi warna koloni, bentuk koloni, tepi koloni, elevasi, dan tekstur koloni. Hasil pengamatan ciri morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri pada Kedalaman 10 cm dan 20 cm.

No.	Kedalaman	Konsentrasi	Kode Isolat	Warna koloni	Bentuk koloni	Karakter		
						Tepi koloni	Elevasi	Tekstur
1.	10 cm	10 ppm	I ₁₍₁₀₎	Putih susu	Bulat	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
			I ₅₍₁₀₎	Putih tulang	Bulat	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
		20 ppm	I ₁₁₍₁₀₎	Putih susu	Bulat	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
			I ₁₄₍₁₀₎	Putih tulang	Bulat	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
			I ₁₇₍₁₀₎	Putih susu	Bulat	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
2.	20 cm	10 ppm	I ₁₍₂₀₎	Putih susu	Bulat <i>Round with raised margin</i>	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
			I ₄₍₂₀₎	Putih tulang	<i>Round with raised margin</i>	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir
		20 ppm	I ₉₍₂₀₎	Putih tulang	<i>Round with raised margin</i>	Rata	<i>Convex</i>	Berlendir
			I ₁₂₍₂₀₎	Putih susu	Bulat	Rata	<i>Convex</i>	Berlendir
			I ₁₃₍₂₀₎	Putih tulang	<i>Round with raised margin</i>	Rata	<i>Lowconvex</i>	Berlendir

Berdasarkan hasil penelitian semua bentuk koloni bakteri yang ditemukan pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm dan 30 ppm memiliki kemiripan dalam segi morfologinya. Pada konsentrasi 10 ppm bakteri dengan kode isolat I₁ memiliki morfologi dengan warna koloni putih susu, bentuk bulat, tepi rata, elevasi *Lowconvex* dan tekstur berlendir. Isolat I₅ memiliki morfologi dengan warna putih tulang, bentuk koloni bulat, tepi rata, elevasi

*Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isoprofilamina
Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang*

Lowconvex dan tekstur berlendir. Pada konsentrasi 20 ppm dengan kode isolat I₁₁ memiliki morfologi dengan warna koloni putih susu, bentuk bulat, tepi rata, elevasi *Lowconvex* dan tekstur berlendir. Kode isolat I₁₄ memiliki morfologi dengan warna koloni putih tulang, bentuk bulat, tepi rata, elevasi *Lowconvex* dan tekstur berlendir. Sedangkan pada konsentrasi 30 ppm dengan kode isolat I₁₇ memiliki morfologi dengan warna koloni putih susu, bentuk bulat, tepi rata, elevasi *Lowconvex* dan tekstur berlendir.

Karakterisasi dari morfologi bakteri dapat digambarkan berdasarkan warna, elevasi, margin, bentuk dan tekstur koloni (Napitupulu dkk, 2019). Menurut Susanti dkk (2017), sifat umum yang dimiliki koloni bakteri pada umumnya memiliki tepi rata dan tidak rata, bentuk dari koloni yang bulat, memanjang, warna koloni yang berwarnaputih, kekuning-kuningan, jingga, merah, coklat, hijau dan biru.

Tabel 2. Karakterisasi Fisiologi Isolat Bakteri pada Kedalaman 10 cm dan 20 cm.

No	Kedalaman	Konsentrasi	Kode isolat	Uji fisiologi				
				Pengecatan gram	Endospora	Anaerob	Pigmen Fluorescen	Koloni kuning pada media YDC
1.	10 cm	10 ppm	I ₁	-	0	+	0	+
			I ₅	+	+	+	0	0
		20 ppm	I ₁₁	+	+	+	0	0
			I ₁₄	-	0	+	0	+
			I ₁₇	+	+	+	0	0
2.	20 cm	10 ppm	I ₁₍₂₀₎	+	+	+	0	0
			I ₄₍₂₀₎	-	0	+	0	+
			I ₉₍₂₀₎	-	0	-	+	0
			I ₁₂₍₂₀₎	-	0	+	0	-
		20 ppm	I ₁₃₍₂₀₎	-	0	+	0	+
			I ₁₈₍₂₀₎	+	+	+	0	0
			I ₂₂₍₂₀₎	+	+	+	0	0

Berdasarkan karakteristik morfologi dan uji fisiologi yang telah dilakukan pada kedalaman tanah 10 cm isolat I₁ dan I₁₄ menunjukkan ciri dari kelompok *Pantoea* sedangkan isolat I₅, I₁₁, dan I₁₇ menunjukkan ciri dari kelompok *Clostridium*. Pada kedalaman 20 cm isolat I₁₍₂₀₎, I₁₈₍₂₀₎ dan I₂₂₍₂₀₎ menunjukkan ciri dari kelompok *Clostridium*. Isolat I₄₍₂₀₎ dan I₁₃₍₂₀₎ menunjukkan ciri dari kelompok *Pantoea*. Pada isolat I₉₍₂₀₎ menunjukkan ciri dari kelompok *Pseudomonas* sedangkan isolat I₁₂₍₂₀₎ menunjukkan ciri dari kelompok *Erwinia*. Hal ini didukung oleh hasil penelitian dari Khulillah dkk (2019) yang menyatakan bahwa pada tanah yang diberi perlakuan herbisida dapat ditemukan bakteri yaitu jenis *Pantoea*, *Clostridium*, *Coryneform*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, dan *Lactobacillus*. Berikut merupakan morfologi makroskopis dan mikroskopis isolat yang ditemukan.

c) Pewarnaan Endospora

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan pada pewarnaan endospora diperoleh pada kedalaman 10 cm dengan konsentrasi 10 ppm dengan kode isolat I₅ menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan sel vegetatif berwarna merah dan endospora berwarna hijau. Pada konsentrasi 20 ppm dengan kode isolat I₁₁ menunjukkan hasil yang positif. Pada konsentrasi 30 ppm dengan kode isolat I₁₇ menunjukkan hasil yang positif. Sedangkan pada kedalaman 20 cm dengan konsentrasi 10 ppm kode isolat I₁₍₂₀₎, menunjukkan hasil yang positif. Pada konsentrasi 20 ppm dengan kode isolat I₁₈₍₂₀₎ menunjukkan hasil positif dan pada konsentrasi 30 ppm dengan kode isolat I₂₂₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif. Pewarnaan endospora tidak dapat dilakukan dengan menggunakan pengecatan gram maupun pengecatan sederhana. Pada pewarnaan endospora menggunakan dua reagen pewarna yang khusus, yaitu *Malachite Green* dan Safranin. Menurut Fitrah dkk (2013), pada pewarnaan endospora diperlukan pemanasan agar zat warna dapat meresap ke dalam spora. *Malachite Green* merupakan zat warna pertama yang akan memberikan warna hijau pada endospora bakteri. Zat kedua yaitu safranin sebagai zat warna yang akan mewarnai sel vegetatif menjadi merah. Zat warna safranin tidak berikatan erat dengan dinding sel dan sitoplasma sehingga sangat mudah terlepas pada saat pencucian dengan air. Dan sebaliknya, air tidak mampu menembus dinding endospora sehingga spora tetap berwarna hijau pada saat pencucian dengan air.

Endospora merupakan struktur yang tahan pada keadaan yang ekstrim seperti kering, keadaan asam maupun panas. Bakteri penghasil endospora akan mengikat kuatsenyawa pewarna *Malachite green* (Pratita dan Putra, 2012). Menurut Hatmanti (2000), *Clostridium* sp. merupakan salah satu jenis bakteri penghasil endospora. Fitrah dkk (2013) menyatakan bahwa, spora terbentuk dalam sel sehingga sering disebut dengan endospora. Dalam sel bakteri hanya terdapat satu spora saja. Endospora tidak mudah ditembus dengan zat warna sehingga tidak dapat diwarnai dengan cara yang lazim.

d) Pengujian Pertumbuhan Anaerob

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pertumbuhan anaerob menunjukkan bahwa pada kedalaman 10 cm semua isolat pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm dan 30 ppm pada media Hugh and Leifson mampu tumbuh dengan baik dalam keadaan tidak terdapat oksigen yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari hijau tua menjadi kuning keruh pada media pertumbuhan. Sedangkan pada kedalaman 20 cm pada konsentrasi 10 ppm kode isolat I₁₍₂₀₎, I₄₍₂₀₎, dan I₁₂₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif. Sedangkan kode isolat I₉₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang negatif pada pertumbuhan anaerob yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna dari hijau tua menjadi kuning keruh. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak dapat mampu tumbuh dalam keadaan tanpa oksigen. Pada konsentrasi 20 ppm dengan kode isolat I₁₃₍₂₀₎ dan I₁₈₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif. Pada konsentrasi 30 ppm isolat I₂₂₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif pula.

Bakteri yang mempunyai endospora pada setiap perlakuan merupakan bakteri yang bersifat anaerob. Bakteri anaerob merupakan bakteri yang tumbuh dalam suasana tidak terdapat oksigen atau minim oksigen (O₂), dimana isolat tersebut kemungkinan masuk ke dalam kelompok *Clostridium*, dimana ciri-ciri dari bakteri ini bersifat gram positif,

*Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isopropilamina
Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang*

membentuk spora, bersifat anaerob, biasanya motil dan bersifat patogenisitas apabila menghasilkan satu atau lebih eksotoksin (Toelle dan Rumlaklak, 2019).

e) Pigmen Fluorescent

Berdasarkan hasil yang diperoleh, pada kedalaman 20 cm dengan konsentrasi 10 ppm terdapat satu isolat dengan kode I₉₍₂₀₎ yang mengeluarkan pigmen fluorezen di bawah sinar ultraviolet (UV) yang ditandai dengan perubahan warna pada mediapertumbuhan menjadi warna hijau. Menurut Eliza ddk (2007), pada aktivitas fluorezen dapat dilihat dengan meletakkan cawan petri yang telah ditumbuhi bakteri di bawah cahaya UV. Bakteri yang dapat tumbuh pada medium King's B agar dan dapat memantulkan warna hijau ketika dipaparkan pada cahaya UV menunjukkan reaksi yang positif. Berdasarkan uji tersebut pada isolat I₉₍₂₀₎ diketahui bahwa kemungkinan isolat tersebut merupakan bakteri dari genus *Pseudomonas*.

Pada uji ini digunakan media King's B merupakan medium yang mengandung unsur Fe yang rendah (Nurcahyanti dkk, 2013), sehingga bakteri yang masuk golongan *Pseudomonas* akan membentuk siderofor yang berfungsi menarik ion Fe (Marten dkk, 2018).

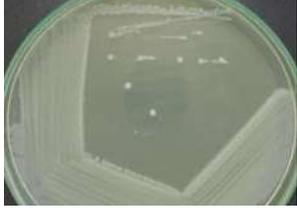
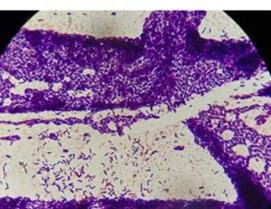
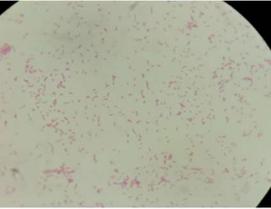
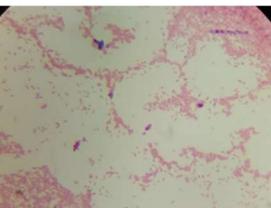
f) Pengujian Koloni Kuning

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan hasil yang diperoleh pada kedalaman 10 cm dengan konsentrasi 10 ppm dengan kode isolat I₁ dinyatakan berhasil yang ditandai dengan tumbuhnya koloni kuning tua dan melekat pada media YDC (*Yeast Dextrose Carbonat*). Pada konsentrasi 20 ppm dengan kode isolat I₁₄ menunjukkan reaksi yang positif. Sedangkan pada kedalaman 20 cm dengan konsentrasi 10 ppm kode isolat I₄₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif. Sedangkan pada isolat I₁₂₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang negatif ditandai dengan bakteri tidak mampu tumbuh pada media YDC. Pada konsentrasi 20 ppm kode isolat I₁₃₍₂₀₎ menunjukkan hasil yang positif.

Pengujian ini menggunakan medium selektif yaitu Medium *Yeast Dextrose Agar* (YDC). Medium YDC bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi pigmen karatenoid, yang ditandai dengan koloni bakteri berwarna kuning pada medium YDC setelah diinkubasi pada suhu 37°C.

Tabel 3. morfologi makroskopis dan mikroskopis isolat terpilih.

Kode Isolat Bakteri	Morfologi Makroskopis	Morfologi Mikroskopis
I ₁₍₁₀₎		

Kode Isolat Bakteri	Morfologi Makroskopis	Morfologi Mikroskopis
I14(10)		
I17(10)		
I9(20)		
I12(20)		

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa bakteri dari genus *Clostridium*, *Pantoe*, *Pseudomonas*, dan *Erwinia* mampu bertahan hidup pada tanah yang terpapar herbisida. Hal ini membuktikan bahwa kelompok dari bakteri tersebut mampu bertahan hidup dengan kehadiran bahan aktif herbisida isopropil anmina glifosat dalam media pertumbuhan selama waktu isolasi. Oleh karena itu, keempat bakteri tersebut dapat menjadi kandidat dalam mendegradasi bahan aktif dari herbisida yaitu Isopropilamina Glifosat. Menurut Widowati dkk (2017), bakteri dapat mendegradasi Glifosat melalui 2 cara yaitu melalui jalur sarkosin atau asam aminometilfosfonat (AMPA). Bakteri memutuskan ikatan C-P dari glifosat kemudian menghasilkan fosfonat dan sarkosin. Selanjutnya fosfonat akan digunakan oleh bakteri sebagai sumber fosfor untuk kehidupannya sedangkan sarkosin digunakan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan glisin. Selain itu, bakteri akan memutuskan ikatan C-N pada struktur glifosat dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dengan menghasilkan AMPA.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh pada kedalaman 10 cm jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan kedalaman 20 cm. Hal ini disebabkan akibat terpapar oleh herbisida. Selain itu, salah satu faktor lainnya yaitu akibat cahaya matahari dimana kedalaman 10 cm dekat dengan paparan sinar matahari langsung

*Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isoprofilamina
Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang*

dibandingkan pada kedalaman 20 cm. Hal ini didukung hasil penelitian dari Risky dkk (2021), yaitu radiasi sinar matahari (UV) dengan panjang gelombang 250- 260 nm dapat mematikan sebagian besar mikroorganisme yang ada dalam tanah karena dapat merusak DNA pada mikroorganisme tersebut baik jamur maupun bakteri.

Pada konsentrasi 10 ppm 20 ppm dan 30 ppm jumlah isolat yang ditemukan berbeda. Pada konsentrasi 30 ppm jumlah isolat yang ditemukan lebih sedikit pada setiap kedalaman dimana hanya isolat dari genus *Clostridium* yang dapat tumbuh pada konsentrasi tersebut. Hal ini disebabkan Genus *Clostridium* mampu menghasilkan enzim fosfatase dan esterase sebagai enzim hidrolisa yang dapat memutus susunan kimia herbisida yang memiliki susunan rantai labil seperti Carbamate, Pyrethroids, Diazinon, Dicamba, Dichloropicolinic Acid, Dimethoate, Phenylalkanoic Ester, Phenylalkanoic Pyrazon, Atrazine, Linuron, Propanil, Chlorpyrifos, dan 2,4-D (Rahmansyah dan Sulistinah, 2009). Sehingga semakin besarnya konsentrasi herbisida yang diberikan, maka dapat berpengaruh pada jumlah bakteri yang tumbuh. Menurut hasil penelitian dari Widowati dkk (2017), semakin tinggi konsentrasi herbisida yang diberikan pada media, maka semakin kecil isolat yang mampu tumbuh dalam media tersebut karena glifosat dengan konsentrasi tinggi akan lebih bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Pseudomonas sp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik, enzim litik (selulase, glukonase, dan protease), dan siderofor yang memiliki peran dalam aktivitas antagonis terhadap patogen tanaman (Wulansari dkk, 2015). Selain itu, *Pseudomonas* juga mampu melarutkan fosfat dan mampu mempengaruhi kelarutan kalium. Bakteri ini dikenal sebagai agen hayati dalam menurunkan serangan penyakit layu pada tanaman tomat (Sumarni dkk, 2015). Bakteri genus *Pantoe* memiliki kemampuan melarutkan fosfat anorganik (Djaenuddin dan Muis, 2018). Bakteri genus *Pantoe* merupakan penyakit yang memiliki gejala seperti layu pada tanaman, klorosis pada permukaan daun, dan kerdil pada fase vegetatif. Sedangkan pada tanaman yang dewasa memiliki gejala bercak hijau kekuningan memanjang di sepanjang permukaan pada daun yang disertai dengan matinya jaringan atau mengalami nekrosis (Rahma dkk, 2013).

Genus *Erwinia* mampu memproduksi banyak enzim ekstraselluler seperti pectic yang mendegradasi pektin, cellulase yang mendegradasi cellulose, hemicellulases, arabanases, cyanoses, dan protease. Hidup pada temperatur yang berkisar antara 27 – 30°C (Manullang dkk, 2017). Bakteri ini merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit busuk pada tanaman. Berdasarkan hasil penelitian dari Sinaga (2006) dalam Kartini dkk (2014), gejala yang ditimbulkan penyakit ini yaitu hancurnya jaringan pada tumbuhan yang disebabkan adanya aktivitas pektolitik dimana umbi menjadi lunak dan gejalanya cepat menyebar.

KESIMPULAN

Jenis bakteri yang tumbuh pada media yang mengandung pestisida 10 ppm pada kedalaman 10 cm masuk dalam kelompok genus *Pantoea*, *Clostridium*, pada konsentrasi 20 ppm juga terdapat *Pantoea*, *Clostridium*, sedangkan konsentrasi 30 ppm terdapat *Clostridium*. Pada kedalaman 20 cm dengan konsentrasi 10 ppm terdapat genus *Pantoea*, *Clostridium*, *Pseudomonas* dan *Erwinia*. Pada pestisida 20 ppm jenis bakteri yang dapat tumbuh yaitu genus *Pantoea* dan *Clostridium*. Sedangkan pada pestisida 30 ppm bakteri

yang dapat tumbuh yaitu *Clostridium*. Berdasarkan karakterisasi morfologi dan fisiologi pada kedalaman 10 cm menunjukkan ciri-ciri dari bakteri *Clostridium*, *Pantoea*. Sedangkan pada kedalaman 20 cm menunjukkan ciri dari bakteri *Clostridium*, *Pantoea*, *Pseudomonas* dan *Erwinia*. Kemampuan pertumbuhan dari kelompok genus yang ditemukan pada medium yang diperkaya herbisida supremo yang berbahan aktif Isopropilamina Glifosat menunjukkan bahwa kelompok bakteri ini memiliki potensi sebagai pendegradasi Isopropilamina Glifosat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, R. 2021. Isolasi Cendawan Dari Perkebunan Bawang Merah Yang Terpapar Pestisida. *Skripsi*. Makassar: Universitas Negeri Makassar.
- Djaenuddin, N., & Muis, A. 2018. Epidemiologi Dan Pengelolaan Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang Pertanian*, 37(2), 42.
- Eliza, A.M., Djatnika, I., & Widodo. 2007. Karakter Fisiologis Dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran *Graminae* Terhadap *Fusarium* Dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang. *Jurnal Hortikultura*, 17(2), 150-160.
- Fitrah, I.D., Darmawi., & Rasmaidar. 2013. Isolasi *Pasteurella multocida* Pada Kuda Dan Sensitivitasnya Terhadap Antibiotik. *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(2), 123.
- Harley, J.P. 2005. *Laboratory Exercises In Microbiology, Sixth Edition*. The McGraw-Hill Companies, Inc: New York.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* sp. *Jurnal Oseana*, 15(1), 32.
- Idrus, M. 2013. Analisis Pendapatan Usaha Tani Bawang Merah Di Kelurahan Mataran Kecamatan Anggeraja Kabupaten Enrekang. *Jurnal Economix*, 1(2), 96.
- Karim, H., Arifin, A.N., & Suryani, A.I. 2016. Seleksi Bakteri Antagonis Asal Rhizosfer Tanaman Cabai (*Capsicum* sp) Untuk Menekan Penyakit Layu *Fusarium* Secara In Vitro. *Jurnal Sainsmat*, 5(2), 152-156.
- Kartini, E., Abadi, A.L., & Aini, L.Q. 2014. Pengembangan Bio-Bakterisida Yang Memanfaatkan Bahan Aktif Bakteri Endofit Potensial Antagonis Untuk Mengendalikan *Erwinia* sp., Di Umbi Kentang. *Jurnal HPT*, 2(4), 65.
- Khulillah, I.N., Abadi, A.L., & Aini, L.Q. 2019. Pengaruh Fungisida Terhadap Keanekaragaman Bakteri Tanah Di Kota Batu. *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan*, 6(2), 1209.
- Latanro, C. 2017. *Potensi Sumber Daya Alam Kabupaten Enrekang*. Bagian Sda Setda Enrekang: Enrekang.
- Manullang, R.R., Rusmini dan Daryono. 2017. Kombinasi mikroorganisme lokal sebagai bioaktivator kompos. *Jurnal Hutan Tropis*. Vol 5 (3) : 259-266.
- Marten, T.W., Advinda, L., & Anhar, A. 2018. Pengaruh Sumber Mineral Dan Jenis Isolat Dari *Pseudomonas fluoresen* Terhadap Produksi Siderofor. *Jurnal BioSains*, 1(1), 68.

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Potensial Pendegradasi Isopropilamina Glifosat dari Lahan Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Enrekang

- Napitupulu, H.G., Rumengan, I.F.M., 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), 162.
- Nurcahyanti, S.D. Arwiyanto, T., Indradewa, D., & Widada, J. 2013. Isolasi Dan Seleksi *Pseudomonas fluorescens* Pada Risosfer Penyambungan Tomat. *Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1), 17.
- Pratita, M.Y.E., & Putra, S.R. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*, 1(1), 4.
- Rahma, H., Sinaga, M.T., Surahman, M., & Giyanto. 2013. Tingkat Keterjadian Penyakit Layu Stewart Pada Benih Dan Respon Beberapa Varietas Jagung Terhadap Infeksi *Pantoea stewartii* SUBSP. *Stewartii*. *Jurnal HPT Tropik*, 13(1), 2.
- Rahmansyah, M & Sulistinah, N. 2009. Performa Bakteri pada tanah Tercemar Pestisida. *Jurnal Berita Biologi* , 9(5), 663.
- Risky, D.P.V. A., Ratnawaty, I.G.A.A., Kawuri, R. 2021. Pengaruh Sinar Ultraviolet Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterotoxigenisc E.coli* (ETEC) Penyebab Penyakit Diare. *Jurnal Bioma Biologi Makassar*, 6(1), 71.
- Sumarni, A., Aiyen., & Panggeso, J. 2015. *Pseudomonas* sp. Strain DSMZ 13134 Dan Efektivitasnya Pada Pertumbuhan Tanaman Tomat. (*Lycopersicum*)
- Suradi A.D, Fatmawati R , Andi I.S.T. 2022. Analisis Perilaku Petani Dalam Penggunaan Pestisida Kimia Di Kabupaten Enrekang. *Jurnal Sains Agribisnis*, 2(1) 21-31
- Susanti, A., Periadnadi., & Nurmiati. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Alami Pencernaan Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Metamorfosa*, 4(2), 252.
- Toelle, N.N., & Rumlaklak, Y.Y. 2019. Karakteristik Bakteri Yang Di Isolasi Dari Rusa Timor (*Cervus timorensis*) Di Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(1), 73.
- Widowati, T., Ginting, R.C.B., Widyastuty, U., Nugraha, A., & Ardiwinata. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida Glifosat Dan Paraquat Dari Rizosfer Tanaman Padi. *Jurnal Biopropal Industri*, 8(2), 67.
- Wulansari, N.T., Ramona, Y., & Proborini, M.W. 2015. Identifikasi Antagonis Dari *Xanthomonas campestris* Yang Diisolasi Dari Rhizosphere Perkebunan Brokoli (*Brassica oleracea* Var. *Italica*) Di Desa Kembang Merta, Kabupaten Tabanan, Bali. *Jurnal Metamorfosa*, 2(1), 32.