

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN HERBISIDA GLIFOSAT DAN PARAQUAT DARI RIZOSFER TANAMAN PADI

*(Isolation and Identification of Resistant Bacteria to Glyphosate and Paraquat  
Herbicide from Rhizosphere of Rice Plants)*

**Tiwit Widowati<sup>1</sup>, Rohani Cinta Badia Ginting<sup>2</sup>, Utut Widyastuti<sup>3</sup>, Asep  
Nugraha<sup>4</sup> dan Ardiwinata<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor KM 46, Cibinong, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanah, Jl. Tentara Pelajar No. 12, Bogor, Indonesia

<sup>3</sup>Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor, Indonesia

<sup>4</sup>Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Jl. Raya Laladon No. 240, Bogor, Indonesia

e-mail: tiwitwidowati@yahoo.com

Naskah diterima 30 Januari 2017, revisi akhir 18 Mei 2017 dan disetujui untuk diterbitkan 24 Mei 2017

**ABSTRAK.** *Glifosat dan paraquat adalah herbisida berspektrum luas yang biasanya digunakan untuk mengendalikan gulma. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari rizosfer padi sawah yang resisten terhadap herbisida glifosat dan paraquat. Tiga puluh isolat bakteri telah diisolasi dari rizosfer padi sawah dan diseleksi resistensinya terhadap herbisida glifosat dan paraquat. Terdapat satu isolat yang resisten terhadap 4.000 ppm glifosat dan 1.600 ppm paraquat. Berdasarkan sistem identifikasi Biolog omniLog, isolat 4,2 merupakan Ensifer meliloti.*

**Kata kunci:** bakteri, herbisida, resisten, rizosfer

**ABSTRACT.** *Glyphosate and paraquat are broad-spectrum herbicides that commonly used in rice fields to control weeds. This study aims to isolate and identify bacteria from rhizosphere of rice plants which resistant to glyphosate and paraquat herbicides. Thirty bacterial isolates were isolated from rhizosphere of rice plants and screened for their resistance of glyphosate and paraquat herbicides. One isolate was resistant to 4,000 ppm of glyphosate and 1,600 ppm of paraquat. Based on Biolog omniLog identification system, isolate 4.2 was identified as Ensifer meliloti.*

**Keywords:** bacteria, herbicide, resistant, rhizosphere

## 1. PENDAHULUAN

Herbisida merupakan bahan kimia yang digunakan untuk membasmi gulma termasuk rumput liar atau menghambat tanaman liar yang mengganggu tanaman budidaya. Penggunaan herbisida secara intensif dapat menyebabkan terakumulasinya residu bahan kimia dalam tanah yang dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan dan membahayakan bagi organisme lainnya serta proses biologi dalam tanah.

Glifosat (N-phosphonomethylglycine) adalah herbisida berspektrum luas, bersifat non selektif, biasanya digunakan

untuk mengendalikan rumput, gulma dan semak-semak. Herbisida ini juga dapat digunakan untuk persiapan lahan sebelum tanam pada saat perkembangan tanaman dan setelah panen. Glifosat menghambat enzim 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) yang dibutuhkan untuk sintesis asam amino aromatik yang penting bagi kelangsungan hidup tanaman (Arango, *et al.*, 2014).

Paraquat (1,1-dimetil, 4,4-bipiridilium) merupakan salah satu herbisida yang berspektrum luas, bersifat non selektif dan bekerja secara kontak. Molekul paraquat dapat merubah transpor

elektron fotosintesis ke oksigen sehingga menghasilkan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid dan merusak membran sel (Yu, *et al.*, 2007). Tanaman yang terkena herbisida ini ditandai dengan daun yang cepat kering dan hancur (Silaban, 2008).

Aplikasi herbisida yang berlebihan dapat menyebabkan dampak yang negatif terhadap lingkungan, organisme non target, keragaman hayati dan resistensi gulma terhadap herbisida. Bioremediasi yang murah dan ramah lingkungan dengan menggunakan bakteri pendegradasi herbisida merupakan metode yang menjanjikan untuk membersihkan dan memulihkan tanah yang terkontaminasi herbisida. Di alam, bakteri memiliki mekanisme untuk toleran atau resisten terhadap senyawa beracun dengan cara menghilangkan toksik atau memproduksi enzim yang dapat mendegradasi senyawa beracun tersebut (McGuinness & Dowling, 2009). Introduksi mikroba pendegradasi ke dalam tanah yang tercemar, mampu meningkatkan laju dekomposisi herbisida (Ermakova, *et al.*, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri yang resisten terhadap herbisida glifosat dan paraquat sebagai agen bioremediasi ramah lingkungan pada lahan sawah tercemar residu herbisida.

## 2. METODE PENELITIAN

### Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari bawah perakaran tanaman padi yang berada di beberapa lokasi pertanian padi di daerah Karawang, Jawa Barat. Kabupaten Karawang dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel karena daerah tersebut merupakan salah satu sentra padi di Jawa Barat. Desa pengambilan sampel tanah adalah Mulyajaya dan Kutalanggeng (Kec. Tegalwaru), Medan Karya dan Sabajaya (Kec. Tirtajaya), Mulyasejati dan Sukamulya (Kec. Ciampel), Kartaharja dan Payungsari (Kec. Pedes), Purwajaya dan Jayanegara (Kec. Pedes). Sampel tanah selanjutnya akan dianalisis untuk mengetahui kandungan residu herbisida.

Analisis residu herbisida dilakukan menurut metode Balingtan (2007). Sampel tanah dikeringanginkan selama satu hari kemudian diambil sebanyak 50 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Diklorometan dan aseton ditambahkan ke dalam labu dengan perbandingan 1:1 sebanyak 100 mL kemudian dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 30 menit dan didiamkan semalam. Ekstrak tanah disaring ke dalam labu rotavapor dan dievaporasi pada suhu 40°C selama 2 menit. Hasil ekstrak tanah yang telah dievaporasi kemudian ditambahkan 50 ml metanol dan disaring dengan kertas saring Whatman 41 yang telah ditambahkan Florisil dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat kemudian ditampung dalam labu rotavapor. Sampel hasil pemurnian selanjutnya diuapkan kembali dengan rotavapor sampai menghasilkan sisa larutan sebanyak ±1 ml. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan metanol 60% sampai mencapai volume 10 ml dan disaring dengan filter membran Sartorius PTFE 0,45 µm kemudian diinjeksikan ke HPLC. Konsentrasi residu herbisida ditentukan berdasarkan hasil rekaman yang tercatat dalam kertas kromatografi.

### Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri pendegradasi herbisida menggunakan Media Garam Mineral (Mineral Salt, MS) dengan komposisi gram per liter: 0,2 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 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>, 0,001 FeSO<sub>4</sub> dan 0,5 NaNO<sub>3</sub> (Fan, *et al.*, 2012). Herbisida yang digunakan adalah isopropyl amina glifosat dengan bahan aktif 480 g/L dan paraquat diklorida dengan bahan aktif 276 g/L. Sampel tanah sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 90 ml media garam mineral yang sudah ditambahkan herbisida Glifosat 1 ppm dan Paraquat 0,4 ppm. Penambahan herbisida glifosat dan paraquat pada media sebanyak 2x dosis pemakaian herbisida tersebut di lapangan. Sampel diinkubasi goyang pada kecepatan 120 rpm selama 7 hari. Sampel diambil sebanyak 10 ml kemudian dimasukkan ke dalam 90 ml media garam mineral yang ditambahkan glifosat 1 ppm dan paraquat

0,4 ppm. Perlakuan tersebut diulang setiap minggu selama 5 minggu. Setelah minggu ke-5, sampel diisolasi dengan cara disebar pada media garam mineral padat tanpa herbisida (Fan, *et al.*, 2012). Isolat yang tumbuh selanjutnya dimurnikan dan ditanam pada media NA miring untuk diseleksi lebih lanjut.

### Seleksi Bakteri Resisten Residu Herbisida

Isolat yang diperoleh ditumbuhkan pada media agar-agar yang mengandung glifosat dan paraquat (Liawati, 2001). Sebanyak 30 isolat ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi goyang selama 24 jam pada suhu ruang. Sebanyak 20  $\mu$ l isolat disubkulturkan pada media NA yang ditambah herbisida glifosat dan paraquat. Konsentrasi glifosat dan paraquat dimulai dari 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Apabila isolat bakteri masih tumbuh, konsentrasi glifosat dan paraquat ditingkatkan hingga seluruh isolat tidak dapat tumbuh. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam dan dibuat 2 ulangan. Isolat bakteri yang tumbuh pada media dengan penambahan herbisida dengan konsentrasi tertinggi dipilih sebagai kandidat agen bioremediasi residu herbisida.

### Identifikasi Bakteri Resisten Residu Herbisida

Isolat yang resisten terhadap glifosat dan paraquat tertinggi, selanjutnya

diidentifikasi secara kimia menggunakan sistem *Biolog microstation* model ELX808BLG serial 1306184 (Biolog Hayward, CA, USA) dengan Buffer IF-A protokol A untuk mengetahui pemanfaatan sumber karbon. Isolat murni ditumbuhkan dalam media NA cawan petri selama 24 jam. Selanjutnya koloni tunggal dari isolat tersebut dimasukkan ke dalam media suspensi dan diukur kepadatannya. Suspensi bakteri sebanyak 150  $\mu$ l dimasukkan ke dalam setiap sumur *microplate* dan diinkubasi selama 24 jam dalam mesin inkubator Biolog (Tshikhudo, *et al.*, 2013).

Pembacaan hasil pada *microplate* dilakukan dengan menggunakan mesin *semi-automated Omnilog microplate reader*. Perubahan warna dari bening menjadi ungu pada sumur *microplate* terjadi jika mikroba tersebut tumbuh dan mampu menggunakan substrat yang ada di dalam sumur untuk proses metabolisme. Perubahan warna tersebut selanjutnya dibaca oleh mesin sehingga menghasilkan data yang dapat dicocokkan dengan basis data sistem.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Residu Herbisida

Hasil analisis kandungan residu herbisida pada sampel tanah sawah dari Kabupaten Karawang berkisar 0 (tidak terdeteksi)-0,559 ppm untuk glifosat dan paraquat berkisar 0-0,199 ppm (Tabel 1).

Tabel 1. Analisis residu herbisida glifosat dan paraquat pada contoh tanah asal Kabupaten Karawang

No.	Desa	Kecamatan	Glifosat (ppm)	Paraquat (ppm)
1	Mulyajaya	Tegalwaru	0,202	0,114
2	Kutalanggeng	Tegalwaru	0,098	0,024
3	Medankarya	Tirtajaya	0,213	0,103
4	Sabajaya	Tirtajaya	0,559	0,022
5	Mulyasejati	Ciampel	tidak terdeteksi	0,026
6	Sukamulya	Ciampel	0,212	tidak terdeteksi
7	Kartaharja	Pedes	0,186	0,121
8	Payungsari	Pedes	0,103	0,199
9	Purwajaya	Tempuran	tidak terdeteksi	0,116
10	Jayanegara	Tempuran	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi

Sampel tanah sawah dari Desa Sabajaya dan Medankarya di kecamatan Tirtajaya mempunyai residu glifosat tertinggi yaitu 0,559 dan 0,213 ppm, sedangkan Desa Payungsari dan Kartaharja di kecamatan Pedes memiliki residu paraquat tertinggi sebesar 0,199 dan 0,121 ppm.

Hasil analisis tersebut menunjukkan tingginya residu herbisida glifosat dan paraquat di lahan persawahan daerah Karawang. Adi (2003) melaporkan kondisi residu herbisida lahan sawah pada beberapa daerah di Jawa Barat dimana residu glifosat sebesar 0,0009-0,0012 ppm sedangkan paraquat sebanyak 0,0016-0,0025. Hal ini berarti terjadi peningkatan kandungan residu glifosat sebesar 99,79%, sedangkan residu paraquat naik sebanyak 98,74%. Hasil analisa residu glifosat tanah sawah di Karawang masih lebih tinggi daripada daerah Ciampea, Bogor sekitar 0,001-0,048 ppm (Kesuma, *et al.*, 2015), sedangkan hasil analisa residu paraquat lebih rendah dibandingkan dari daerah

Tanah Laut yaitu 0,080-0,356 ppm (Jaya, *et al.*, 2012).

Tingginya residu herbisida yang diserap dan terakumulasi dalam tanah dan tanaman padi sawah dapat menyebabkan keracunan terhadap manusia, resistensi tanaman dan mikroba serta pada tanaman yang dipanen (beras) dan lingkungan sekitar. Besarnya residu herbisida yang tertinggal di dalam tanah dan tanaman tergantung pada dosis, frekuensi dan interval aplikasi, jenis bahan aktif, formulasi dan persistensi dari herbisida tersebut serta saat aplikasi terakhir sebelum hasil tanaman dipanen (Kesuma, *et al.*, 2015).

### Seleksi Bakteri Resisten Residu Herbisida

Hasil seleksi bakteri resisten herbisida glifosat dan paraquat menunjukkan kemampuan yang bervariasi (Tabel 2).

Tabel 2. Seleksi isolat pendegradasi residu pada herbisida glifosat dan paraquat

No	Kode isolat	Konsentrasi glifosat + paraquat (ppm)											Asal sampel (Desa)
		0	500+ 200	1000 +400	1250 +500	1500+ 600	1750 +700	2000 +800	2500+ 1000	3000+ 1200	3500+ 1400	4000+ 1600	
1	1,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Mulyajaya
2	1,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Mulyajaya
3	1,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Mulyajaya
4	1,5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Mulyajaya
5	2,1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kutalanggeng
6	2,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kutalanggeng
7	2,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kutalanggeng
8	3,1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Medan Karya
9	3,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Medan Karya
10	3,5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Medan Karya
11	4,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Sabajaya
12	4,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Sabajaya
13	4,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Sabajaya
14	5,1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Mulyasejati
15	5,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Mulyasejati
16	6,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Sukamulya
17	6,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Sukamulya
18	6,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Sukamulya
19	7,1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Kartaharja
20	7,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kartaharja
21	7,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kartaharja
22	7,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Kartaharja
23	8,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Payungsari
24	8,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Payungsari
25	9,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Purwajaya
26	9,4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Purwajaya
27	9,5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Purwajaya
28	10,1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Jayanegara
29	10,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Jayanegara
30	10,3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Jayanegara

Keterangan: “+” = resisten herbisida, “-” = tidak resisten herbisida

Seluruh isolat mampu bertahan pada media NA yang ditambah glifosat 1.000 ppm dan paraquat 400 ppm, sedangkan pada konsentrasi 2.500 ppm (glifosat) dan 1.000 ppm (paraquat) terdapat 5 isolat yang mampu bertahan yaitu isolat 1,2; 4,2; 6,1; 7,1 dan 9,5. Selanjutnya hanya isolat 4,2 yang dapat bertahan pada konsentrasi tertinggi 4.000 ppm (glifosat) dan 1.600 ppm (paraquat), sedangkan isolat 1,2 dan 6,1 hanya mampu bertahan sampai konsentrasi 3.500 (glifosat) dan 1.400 (paraquat).

Hasil seleksi tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi herbisida yang diberikan pada media maka semakin kecil isolat yang mampu tumbuh dalam media tersebut karena glifosat dan paraquat dengan konsentrasi tinggi akan lebih bersifat toksik dan menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Moneke, *et al.*, (2010) yang menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri atau jamur yang tumbuh pada media padat yang ditambahkan herbisida glifosat.

Bakteri mendegradasi glifosat melalui 2 cara yaitu melalui jalur sarkosin atau asam aminometilfosfonat (AMPA) (Fan, *et al.*, 2012). Bakteri memutuskan

ikatan C-P dari glifosat menghasilkan fosfonat dan sarkosin. Selanjutnya fosfonat digunakan oleh bakteri sebagai sumber fosfor untuk kehidupannya sedangkan sarkosin digunakan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan glisin. Selain itu, bakteri memutuskan ikatan C-N pada struktur glifosat dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dengan menghasilkan AMPA.

Paraquat diketahui menginduksi stress oksidatif dengan memproduksi anion superoksida dan menyebabkan toksisitas terhadap sel. Beberapa bakteri toleran terhadap paraquat karena kemampuannya mensintesis enzim seperti superoksida dismutase dan katalase yang mampu menetralkan kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif (Abrashiev, *et al.*, 2011).

**Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida**

Berdasarkan uji biokimia menggunakan sistem Biolog model ELX808BLG serial 1306184 dengan Buffer IF-A protokol A, bakteri potensial 4,2 dapat menggunakan berbagai sumber gula, heksosa fosfat dan asam amino serta dapat mereduksi Tetrazolium violet dan Tetrazolium blue (Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas metabolit bakteri 4,2 menggunakan sistem Biolog

Substrat		Substrat		Substrat	
α-D-glucose	+	D-glucose-6-phosphate	+/-	D-sorbitol	+
Dextrin	+	D-fructose-6-phosphate	+/-	Myo-inosytol	+/-
D-fructose	+	Glycl-L-proline	+	Tetrazolium violet	+
D-fucose	+	L-arginine	+	Tetrazolium blue	+
L-fucose	+	L-aspartic acid	+	Lyncomycin	+
Maltose	+	L-glutamic acid	+	Guanidine hydrochloride	-
D-trehalose	+	L-Histidine	+	Niaproof 4	+/-
Gentiobiose	+	L-alanine	+/-	D-galacturonic acid	+/-
Sucrose	+	L-serine	+/-	L-galactonic acid-g-lactone	+/-
D-turanose	+	Gelatin	-	Glucuronamide	+/-
D-raffinose,	+	L-Pyroglutamic acid	-	D-glucuronic acid	+/-
N-acetyl-D-Glucosamine	+	D-Lactic acid methyl ester	-	Acetic acid	+/-
D-mannose	+	a-ketoglutaric acid	-	Formic acid	+/-
L-rhamnose	+	D-mannitol	+	D-gluconic acid	-
D-galactose	+	L-arabitol	+	Mucic acid	-
N-acetyl-D-Mannosamine	+	Glycerol	+	Citric acid	-
a-D-Laktose	+/-	Quinic acid	+/-	Pectin	+
D-salicin	+/-	D-malic acid	+/-	L-Lactic acid	+
N-acetyl-D-Galactosamine	+/-	Acetoacetic acid	+/-	L-malic acid	+
3-methyl-D-Glukoside	+/-	Tween 40	-	Bromosuccinic acid	+
D-melibiose	+/-	D-aspartic acid	-	Potassium tellurite	+
D-cellobiose	+	Propionic acid	-	Sodium lactate 1%	+/-
3-methyl- Glucose	-	g-amino-N-butyric acid	+/-		

Reaksi positif (+) atau negatif (-) mengindikasikan kemampuan atau ketidakmampuan bakteri dalam menggunakan substrat untuk proses metabolisme. Hasil identifikasi isolat 4,2 menggunakan sistem Biolog diperoleh hasil sebagai bakteri *Ensifer meliloti* dengan probabilitas sebesar 0,992.

Identifikasi menggunakan sistem Biolog sangat mudah dan cepat dilakukan serta dapat langsung mengidentifikasi isolat yang diuji. Identifikasi ini didasarkan pada penggunaan sumber karbon oleh mikroba. Setiap mikroba menggunakan sumber karbon yang berbeda tergantung pada kebutuhan nutrisinya. Berdasarkan reaksi positif dan negatif yang ditandai dengan perubahan warna ungu pada sumur *microtiter* maka ciri-ciri spesifik suatu spesies dapat ditentukan (Lama, *et al.*, 2013). Metode ini memiliki kekurangan berupa terbatasnya mikroorganisme pada basis data sistem. Hasil identifikasi menjadi kurang akurat apabila isolat yang diuji belum tercatat dalam basis data sehingga perlu dikonfirmasi dengan hasil identifikasi molekuler.

*Ensifer (Sinorhizobium) meliloti* merupakan bakteri gram negatif dari keluarga Rhizobia yang mampu memfiksasi nitrogen. Bakteri tanah ini dapat hidup bebas atau bersimbiosis dengan tanaman legum (McIntosh, *et al.*, 2009). *E. meliloti* biasanya bersimbiosis dengan tanaman *Melilotus*, *Medicago* dan *Trigonella* tetapi dapat juga ditemukan pada inang tanaman lain (Mnasrei, *et al.*, 2009).

De la Pena, *et al.*, (2013) melaporkan adanya bakteri *E. meliloti* yang resisten terhadap hidrogen peroksida, paraquat dan antrazin yang ditambahkan pada media padat. Cherni, *et al.*, (2015) juga menyebutkan beberapa jenis Rhizobia mampu mendegradasi residu glifosat dalam tanah, diantaranya *Sinorhizobium meliloti*. Penelitian lain juga menyebutkan adanya genus *Sinorhizobium* yang toleran terhadap glifosat dan paraquat (Drouin, *et al.*, 2010).

Meluasnya penggunaan pestisida dan herbisida di lahan pertanian dapat memberikan efek toksik pada

mikroorganisme tanah. Penggunaan herbisida paraquat dapat menginduksi stress oksidatif pada bakteri yang terdapat dalam tanah (Donati, *et al.*, 2011). Penggunaan bakteri pemfiksasi nitrogen atau pemacu pertumbuhan tanaman yang toleran pada tanah yang terkontaminasi herbisida merupakan aplikasi potensial dalam bioremediasi tanah.

#### 4. KESIMPULAN

Sebanyak 30 isolat bakteri telah diseleksi resistensinya terhadap herbisida glifosat dan paraquat. Selanjutnya diperoleh 1 isolat yang resisten terhadap herbisida dengan konsentrasi 4.000 ppm glifosat dan 1.600 ppm paraquat. Hasil identifikasi berdasarkan sistem Biolog omniLog menunjukkan isolat 4,2 merupakan *Ensifer meliloti*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian-Kementerian Pertanian atas dana penelitian yang telah diberikan melalui kegiatan Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) tahun 2015-2016.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abrashev, R., Krumova, E., Dishlika, V., Eneva, R., Engibarov, S., Abrashev, I. & Angelova, M. (2011). Differential effect of paraquat and hydrogen peroxide on the oxidative stress response in *Vibrio cholerae* Non O1 26/06. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(1), 72-78. doi: 10.5504/BBEQ.2011.0118.
- Adi, A. (2003). Degradasi tanah pertanian Indonesia tanggung jawab siapa. Sinar Tani. From <http://new.litbang.pertanian.go.id/artikel/19/pdf/Degradasi%20Tanah%20Pertanian%20Indonesia.pdf>. Retrieved Agustus 20, 2016.
- Arango, L., Buddrus-Schiemann, K., Opelt K., Lueders. T., Haesler, F., Schmid, M., Ernst, D. & Hartmann A. (2014). Effects of glyphosate on the bacterial community associated with roots of transgenic Roundup Ready® soybean.

- European Journal of Soil Biology*. 63, 41-48.
- Balai Penelitian Lingkungan Pertanian. (2007). *Petunjuk Teknis Analisis Residu Herbisida*. Pati. Balai Penelitian Lingkungan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Cherni, A.E., Trabelsi, D., Chebil, S., Barhoumi, F., Rodríguez-Llorente, I.D. & Zribi, K. (2015). Effect of glyphosate on enzymatic activities, Rhizobiaceae and total bacterial communities in an agricultural Tunisian Soil. *Water Air Soil Pollution*. 226, 145-155. doi: 10.1007/s11270-014-2263-8.
- de la Pena, T.C., Redondo, F.J., Fillat, M.F., Lucas, M.M. & Pueyo, J.J. (2013). Flavodoxin overexpression confers tolerance to oxidative stress in beneficial soil bacteria and improves survival in the presence of the herbicides paraquat and atrazine. *Journal of Applied Microbiology*. 115, 236-246.
- Donati, A.J., Jeon, J.M., Sangurdekar, D., So, J.S. & Chang, W.S. (2011). Genome-wide transcriptional and physiological responses of *Bradyrhizobium japonicum* to paraquat-induced oxidative stress. *Journal of Applied Environment and Microbiology*. 77, 3633-3643.
- Drouin, P., Sellami, M., Prevost, D., Fortin, D. & Antoun, H. (2010). Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of *Rhizobiaceae*. *Journal of Environmental Science and Health*, 45:780-788. doi: 10.1080/03601234.2010.515168.
- Ermakova, I.T., Kiseleva, N.I., Shushkova, T., Zharikov, M., Zharikov, G.A. & Leontievsky, A.A. (2010). Bioremediation of glyphosate-contaminated soils. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 88, 585-94.
- 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 Genetic and Applied Microbiology*, 58, 263-271.
- Jaya, J.D., Sandri, D. & Fatimah. (2012). Paraquat residue in maize lands: case in Tanah Laut regency, Indonesia. *Scientific Reports*, 1(11), 1-4.
- Kesuma, S.D., Hariyadi & Anwar, S. (2015). Dampak aplikasi herbisida IPA glifosat dalam sistem Tanpa Olah Tanah (TOT) terhadap tanah dan tanaman padi sawah. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(1), 61-70.
- Lama, A., Bates, M.P., Covington, A.D., Allen, S.C.H. & Antunes, A.P.M. (2013). Methods of isolation and identification of pathogenic and potential pathogenic bacteria from skins and tannery effluents. *Journal of the American Leather Chemists Association*. 108(2), 48-62.
- McGuinness, M. & Dowling, D. (2009). Plant-associated bacterial degradation of toxic organic compounds in soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6, 2226-2247. doi:10.3390/ijerph6082226.
- McIntosh, M., Meyer, S., & Becker, A. (2009). Novel *Sinorhizobium meliloti* quorum sensing positive and negative regulatory feedback mechanisms respond to phosphate availability. *Molecular Microbiology*. 74, 1238-1256.
- Mnasri, B., Badri, Y., Saidi, S., de Lajudie, P., & Mhamdi R. (2009). Symbiotic diversity of *Ensifer meliloti* strains recovered from various legume species in Tunisia. *Systematic & Applied Microbiology*, 32, 583-592.
- Moneke, A.N., Okpala, G.N., & Anyanwu, C.U. (2010). Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. *African Journal of Biotechnology*, 9(26), 4067-4074.
- Liawati, L. (2001). *Seleksi bakteri resisten herbisida glifosat*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Silaban, S.A. (2008). *Pengendalian Syngonium podophyllum dengan paraquat, triasulfon, amonium glufosinat dan fluroksipir secara tunggal dan campuran pada tanaman kelapa sawit (Elaeis guineensis Jacq)*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara.

- Tshikhudo, P., Nnzeru, R., Ntushelo, K., & Mudau, F. (2013). Review: Bacterial species identification getting easier. *African Journal of Biotechnology*. 12(41), 5975-5982. doi: 10.5897/AJB2013.12057.
- Yu, Q., Cairns, A., & Powles, S. (2007). Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta*. 225, 499-513. doi: 10.1007/s00425-006-0364-3.