

**IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
GLYPHOSATE DARI AREA RIZOSFER TANAMAN
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) DAN
KEDELAI (*Glycine max* L.)**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Disusun oleh
Aslikh Lana Dina
13640038

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2018**



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-UINSK-BM-05-07/R0

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/105/2018

Skrripsi/Tugas Akhir dengan judul : Identifikasi Bakteri Pendegradasi *Glyphosate* dari Area
Rizosfer Tanaman Kangkung Darat (*Portulaca oleracea* L.)
dan Kedelai (*Glycine max* L.)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Asliah Lena Dina
NIM : 13640038
Telah dimunaqasyahkan pada : 16 Mei 2018
Nilai Munaqasyah : A
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech
NIP.19760624 200501 2 007

Penguji I

Dr. Arifah Khushumayanti, S.Si., M.Si
NIP.19750515 200003 2 001

Penguji II

Muhamad Wisnu, M.Biotech

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 21 Mei 2018

UIN Sunan Kalijaga

Fakultas Sains dan Teknologi

Dekan



Dr. Marzono, M.Si

NIP.19891212 200003 1 001



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal :

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu 'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

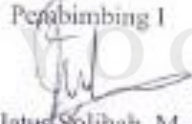
Nama : Asliih Lana Dina
NIM : 13640038
Judul Skripsi : Identifikasi Bakteri Pendegradasi *Glyphosate* dari Area Rizosfer Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dan Kedelai (*Glycine max* L.)

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu 'alaikum wr. wb.

Pembimbing I


Jumailatus Solihah, M. Biotek
NIP.19760624 200501 2 007

Yogyakarta, 2 Mei 2018

Pembimbing II


Dr. Arifah Khushnuryani, M. Si
NIP.19750515 200003 2 001

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Aslikh Lana Dina

NIM : 13640038

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "Identifikasi Bakteri Pendegradasi *Glyphosate* dari Area Rizosfer Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dan Kedelai (*Glycine max* L.)" merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepengetahuan saya, tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 2 Mei 2018

Yang menyatakan,



Aslikh Lana Dina

NIM: 13640038

HALAMAN PERSEMBAHAN

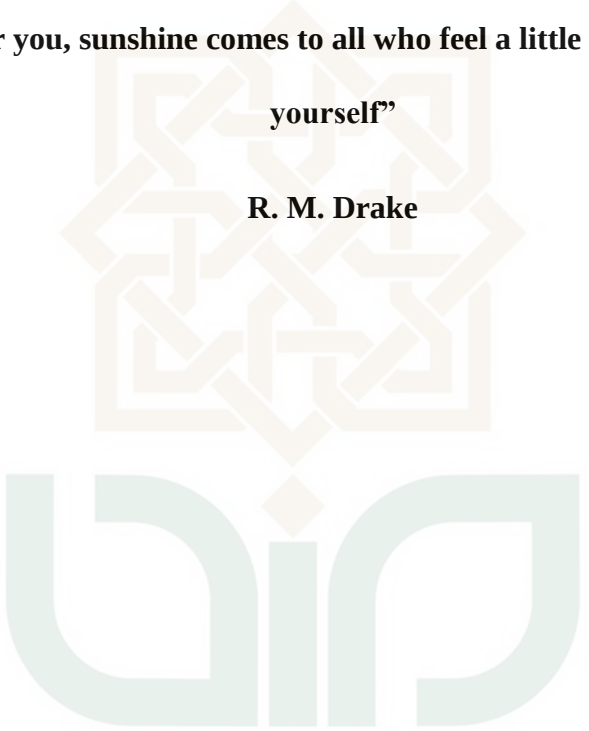
Lembaran-lembaran ini hanya sebagian kecil yang mampu kupersembahkan untuk dunia pertamaku yakni orang tuaku, kakak, dan adikku, serta untuk dunia keduaku yakni teman-teman dan semua orang yang sedang berusaha untuk mencapai mimpinya.



MOTTO

“Do not lose hope. Please believe that there are a thousand beautiful things waiting for you, sunshine comes to all who feel a little rain. Please love yourself”

R. M. Drake



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, serta para sahabat yang telah membimbing umatnya menuju jalan yang diridhai Allah.

Alhamdulillah atas berkat rahmat Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Bakteri Pendegradasi *Glyphosate* dari Area Rizosfer Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dan Kedelai (*Glycine max* L.)” dengan baik. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena keterbatasan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis mengharap saran dan kritik serta penelitian lebih lanjut terkait efek *glyphosate* terhadap lingkungan.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini, diantaranya kepada :

1. Dr. Murtono, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Erny Qurotul Ainy, M. Si selaku Kaprodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Jumailatus Solihah, S. Si., M. Biotech selaku dosen pembimbing I yang selalu bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan serta saran kepada penulis.
4. Dr. Arifah Khusnuryani, M. Si selaku dosen pembimbing II yang juga selalu bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan serta saran kepada penulis.
5. Muhamad Wisnu, M. Biotech selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan kritikan kepada penulis.

6. Anif Yuni Muallifah, S. Pd.I dan Ethik Susiawati, S. Si selaku pembimbing laboratoium yang selalu bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis.
7. Orang tuaku yang selalu menyemangati anak-anaknya.
8. Kakak dan adikku yang ikut selalu memberikan dukungan.
9. Teman-teman kos Allamanda, Yani, Apri, Ode, Tiska, Fifi, dan teman-teman Biologi 2013.

Terimakasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini, serta pihak-pihak yang tidak mampu penulis ucapkan satu-persatu. Semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua. Amiin.

Yogyakarta

Penulis

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Glyphosate</i>	5
B. Degradasi <i>Glyphosate</i> dari Area Rizosfer Tanaman	7
C. Ekologi dan Biologi Tanaman Kangkung dan Tanaman Kedelai	9
 BAB III METODE	
A. Alat dan Bahan	12
B. Metode Penelitian	12
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	18
B. Pembahasan	25
 BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	33
B. Saran	33
 DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Data pH Tanah.....	18
Tabel 2. Hasil Isolasi Bakteri Toleran <i>Glyphosate</i> dari Area Rizosfer Tanaman Kangkung dan Kedelai	19
Tabel 3. Seleksi Isolat Bakteri terhadap <i>Glyphosate</i> 10 mM dalam Media NA ...	20
Tabel 4. Data Karakteristik Isolat Bakteri Toleran <i>Glyphosate</i> 10 mM	22
Tabel 5. Uji Resistensi Isolat terhadap <i>Glyphosate</i>	23



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Molekul <i>Glyphosate</i>	5
Gambar 2. Jalur Degradasi <i>Glyphosate</i>	8
Gambar 3. Morfologi isolat Bakteri Toleran <i>Glyphosate</i> (Kd2) dari Area Rizosfer Tanaman Kedelai.....	21
Gambar 4. Morfologi Koloni di Media <i>Nutrient Broth</i>	21
Gambar 5. Grafik Pertumbuhan Isolat Kd4 dan K4 dalam MSM.....	23
Gambar 6. Hasil PCR gen 16S rRNA Isolat Bakteri K4 dan Kd4.....	24
Gambar 7. <i>Phylogram</i> Isolat K4 dan Kd4.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi MSM (<i>Mineral Salt Media</i>)	39
Lampiran 2. Bahan untuk Isolasi DNA Genom Bakteri	39
Lampiran 3. Daftar Isolat dalam Analisis Filogenetik	40
Lampiran 4. Data Hasil Sekuensing	41



IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI *GLYPHOSATE* DARI AREA RIZOSFER TANAMAN KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) DAN KEDELAI (*Glycine max* L.)

Aslikh Lana Dina
13640038

Abstrak

Penggunaan pestisida organofosfat telah mengakibatkan kerusakan yang luas. Salah satu pestisida organofosfat yaitu *glyphosate*. *Glyphosate* diserap di humus dan dapat membuat kompleks dengan metal kation (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , dan Ni^{2+}). Berbagai metode dapat digunakan untuk detoksifikasi pestisida organofosfat diantaranya yaitu metode kimiawi, *incineration*, dan *landfill*. Beberapa metode tersebut memiliki sejumlah kelemahan, yaitu produksi sejumlah senyawa asam dan basa yang harus diolah secara kimiawi, *leaching* pestisida di sekitar area tanah dan air tanah, serta emisi toksik ke lingkungan. Oleh karena itu, metode remediasi menggunakan mikroba mulai dipertimbangkan karena dianggap lebih murah dan ramah lingkungan. Salah satu jenis mikroba yang digunakan adalah bakteri. Bakteri tertentu mampu menghasilkan enzim untuk mendegradasi *glyphosate* dan menggunakannya sebagai nutrisi. Bakteri dengan kemampuan tersebut dapat diisolasi dari area yang tercemar kontaminan *glyphosate*. Tanaman kangkung (*Ipomoea reptans*) dan kedelai (*Glycine max*) dipilih karena kedua tanaman tersebut umum dijumpai di area persawahan yang merupakan area yang sering terkena paparan pestisida. Interaksi antara bakteri rizosfer dengan tanaman berkaitan erat dengan kemampuan dan komposisi bakteri yang ada. Tanaman kangkung dan kedelai terlebih dahulu diberi perlakuan *glyphosate* dengan konsentrasi 377 mM (3 L/ha). Bakteri diisolasi pada hari ketujuh setelah pemberian *glyphosate* di media NA yang mengandung *glyphosate* 5 mM dan 10 mM. Bakteri yang mampu tumbuh kemudian diseleksi dan dipilih berdasarkan kemampuan pertumbuhannya di media NA + *glyphosate* 10 mM. Isolat bakteri yang terpilih (Kd4 dan K4) kemudian dilakukan uji degradasi *glyphosate* di MSM (*Mineral Salt Media*) yang mengandung *glyphosate* 5 mM dan glukosa 50 mg/L. Kedua isolat (Kd4 dan K4) diidentifikasi berdasarkan gen 16S rRNA (parsial) dan kedua isolat tersebut diduga sebagai *Bacillus* spp.

Kata kunci : pestisida organofosfat, *glyphosate*, bakteri rizosfer, *Ipomoea reptans*, *Glycine max*, *Bacillus* spp.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Senyawa organofosfat sintetik digunakan secara luas dalam pertanian, salah satunya dalam bentuk herbisida. Herbisida bersifat toksik sehingga penggunaannya sangat direkomendasikan agar sesuai prosedur standar untuk meminimalisir residu xenobiotik dan efek berbahaya pada lingkungan (Aktar *et al.*, 2009). Penggunaan pestisida jenis herbisida telah menyebabkan kerusakan lingkungan yang luas. Namun kenyataannya, salah satu jenis herbisida yang digunakan secara luas yakni *glyphosate*. *Glyphosate* diserap di humus dan dapat membentuk kompleks dengan metal kation (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , dan Ni^{2+}) (Veiga *et al.*, 2001).

Penggunaan *glyphosate* dapat menimbulkan beberapa masalah lingkungan, seperti kontaminasi udara, air, maupun ekosistem terestrial, berbahaya bagi biota dan mengganggu siklus biogeokimia (Kumari *et al.*, 2012). Gangguan kesehatan yang ditimbulkan karena efek negatif *glyphosate* yakni gangguan sistem saraf, gangguan sistem pernafasan, penyakit kardiovaskuler, penyakit gastrointestinal, penyakit hati dan ginjal, bahkan Alzheimer (Hayden *et al.*, 2010).

Berbagai efek negatif *glyphosate* dapat merugikan manusia dan lingkungan. Manusia sebagai makhluk ciptaan Allah dikaruniai akal untuk berfikir dan mengubah alam dengan kemampuannya guna kesejahteraan dirinya dan makhluk hidup lain. Islam selalu mengajarkan manusia untuk memelihara alam sekitar guna kelangsungan hidup manusia itu sendiri juga sebagai bentuk rahmat

dan anugerah dari Allah. Ayat Al-Qur'an yang memerintahkan kita untuk menjaga alam salah satunya adalah QS. Ar-Rum ayat 41 yang berbunyi :

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي
عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya :“ Telah nampak kerusakan di darat dan di laut akibat perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian perbuatan mereka, agar mereka kembali ke jalan yang benar”

Oleh karena itu, beberapa metode digunakan untuk detoksifikasi pestisida organofosfat, di antaranya yaitu metode kimiawi, *incineration*, dan *landfill*. Metode-metode tersebut memiliki sejumlah kelemahan, yaitu produksi sejumlah senyawa asam dan basa yang harus diolah secara kimiawi, *leaching* pestisida di sekitar area tanah dan air tanah (pada proses *landfill*), dan emisi toksik ke lingkungan (pada proses *incineration*). Mempertimbangkan beberapa hal tersebut, maka metode remediasi menggunakan mikroba mulai dipertimbangkan karena dianggap lebih murah dan ramah lingkungan (Liu *et al.*, 2009).

Mikroba menggunakan pestisida sebagai nutrisi untuk pertumbuhan. Kultur murni mikroba mampu mendetoksifikasi pestisida menjadi metabolit yang berbeda seperti *p-nitrophenol*, *diethyltriphosphoric acid*, *p-aminophenol*, *dimethyl phosphate*, *orthophosphate*, dan lain-lain (Kanekar *et al.*, 2004). Kebanyakan proses degradasi pestisida oleh mikroba terjadi di tanah. Kondisi tanah seperti kelembaban, suhu, aerasi, pH, dan jumlah materi organik mempengaruhi laju degradasi yang dilakukan oleh mikroba karena kondisi

lingkungan berpengaruh langsung pada pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Oleh karena itu, dalam menggunakan mikroba untuk bioremediasi perlu pemahaman terkait fisiologi, mikrobiologi, ekologi, biokimia, dan aspek molekuler yang terlibat dalam transformasi polutan tersebut (Iranzo *et al.*, 2001).

Salah satu mikroba yang digunakan dalam bioremediasi yaitu bakteri. Bakteri pendegradasi organofosfat dapat diisolasi dengan proses *soil-enrichment* dengan kontaminan organofosfat (Kumari *et al.*, 2012). Bakteri di tanah selain memiliki kemampuan mendegradasi senyawa xenobiotik juga mendukung kelangsungan hidup tanaman. Salah satunya, *rhizobacteria* yang membantu tanaman dalam fiksasi nitrogen, produksi fitohormon, pelarutan fosfat, meningkatkan keberadaan air dan mineral dalam tanaman. Beberapa strain bakteri yang mampu menggunakan organofosfat jenis *glyphosate* sebagai sumber P selama metabolisme atau *co-metabolisme* telah diisolasi dan dikarakterisasi. Akan tetapi, hanya sedikit laporan tentang keanekaragaman bakteri pendegradasi *glyphosate* (Kryuchkova *et al.*, 2014).

Glyphosate sering digunakan sebagai pembasmi gulma di area penanaman padi. Oleh karena itu, di area tersebut diduga terdapat bakteri yang mampu mendegradasi *glyphosate*. Tanaman lainnya seperti kangkung dan kedelai juga sering ditemukan di area persawahan. Penelitian tentang pengaruh *glyphosate* pada populasi mikroba di area rizosfer tanaman kedelai telah dilakukan oleh Kryuchkova *et al.* (2014) dan Kumari *et al.* (2014), namun informasinya masih terbatas pada total jumlah mikroba dan pertumbuhan mikroba. Sejauh ini juga belum terdapat penelitian tentang bakteri pendegradasi *glyphosate* di area rizosfer

tanaman kangkung. Pertumbuhan tanaman juga tidak lepas dari bakteri yang terdapat di area rizosfer karena di area tersebut terdapat bakteri yang mendukung pertumbuhan tanaman dengan bersimbiosis maupun asimbiosis dengan akar tanaman. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui dan mengidentifikasi secara molekuler bakteri pendegradasi organofosfat, dalam hal ini *glyphosate* pada area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ditemukan bakteri pendegradasi organofosfat (*glyphosate*) pada area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai?
2. Apa saja jenis bakteri pendegradasi organofosfat (*glyphosate*) yang ditemukan di area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai?

C. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui keberadaan bakteri pendegradasi organofosfat (*glyphosate*) pada area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai.
2. Mengidentifikasi isolat bakteri pendegradasi organofosfat (*glyphosate*) yang ada di area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai.

D. Manfaat

Berdasarkan penelitian ini dapat diperoleh manfaat yaitu mengetahui keberadaan bakteri pendegradasi organofosfat yang ada di area rizosfer tanaman kangkung dan kedelai. Hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai salah satu referensi terkait pemilihan bakteri sebagai salah satu agen bioremediasi dan pelaksanaan bioaugmentasi secara *in situ*.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Diperoleh dua isolat yang mampu mendegradasi *glyphosate*, yaitu isolat K4 dari rea rizosfer tanaman kangkung dan isolat Kd4 dari area rizosfer tanaman kedelai.
2. Isolat Kd4 dan K4 diduga sebagai *Bacillus* spp.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan tanaman kangkung dan kedelai dapat dipilih untuk dijadikan sebagai agen bioremediasi untuk membantu mengatasi efek *glyphosate* di lingkungan. Kultur murni isolat bakteri yang diperoleh diharapkan dapat digunakan untuk aplikasi secara langsung dalam proses bioremediasi *glyphosate* atau dilanjutkan penelitian guna bioremediasi jenis pestisida lain.

Kultur campuran (*consortium*) juga dapat digunakan untuk mendegradasi *glyphosate* hingga menjadi produk yang tidak berbahaya bagi lingkungan. Penggunaan enzim yang diisolasi dari bakteri yang mampu mendegradasi *glyphosate* dan AMPA juga patut dipertimbangkan. Identifikasi isolat bakteri yang diperoleh dapat dilanjutkan dengan metode identifikasi lain yang lebih spesifik. Tanaman yang telah digunakan untuk uji degradasi diproses selanjutnya dengan *composting*.