

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Isolasi bakteri dari tanah pertanian diperoleh isolat *Pseudomonas* sp. yang dapat memanfaatkan senyawa glifosat sebagai sumber fosfor. Uji pertumbuhan isolat *Pseudomonas* sp. pada medium diperkaya glifosat, menunjukkan bahwa senyawa glifosat mempengaruhi pertumbuhan isolat *Pseudomonas* sp., yaitu pola pertumbuhan isolat *Pseudomonas* sp. pada medium mengandung glifosat lebih tinggi dari pada kontrol (tanpa glifosat). Isolat *Pseudomonas* sp. mempunyai batas optimum dalam memanfaatkan senyawa glifosat sebagai sumber fosfor. Waktu generasi isolat *Pseudomonas* sp. pada konsentrasi glifosat 0,8 mM lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi glifosat 0,4 mM dan 1,2 mM. Isolat *Pseudomonas* sp. mampu mendegradasi glifosat 1,2 mM tetapi optimal pada konsentrasi 0,8 mM. Uji degradasi senyawa glifosat (0,8 mM) oleh isolat *Pseudomonas* sp. menghasilkan senyawa metabolit berupa glisin (Rx 0,97 cm), fosfor (0,1482 mg/l) dan CO<sub>2</sub> (35 ppm).

#### B. Saran

Untuk penelitian lebih lanjut mengenai biodegradasi senyawa glifosat, disarankan untuk melakukan pengamatan terhadap faktor lingkungan (suhu dan pH) selama terjadinya proses degradasi. Selain itu juga perlu mengembangkan teknik/model untuk meningkatkan laju degradasi senyawa glifosat yang optimal.

#### IV. DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. **Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan**. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Alexander, M., 1977. **Introduction to Soil Microbiology**. Second Edition, Cornell University, New York.
- , 1994. **Biodegradation and Bioremediation**. Academic Press, Inc., San Diego
- Atlas, R. M. and Bartha, R., 1992. **Microbial Ecology, Fundamental and Application**. Third edition, The Benjamin Cummings Publishing Company Inc, California.
- Bangun, A., 1989. **Isolasi dan Identifikasi**. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- , 1993. **Teknik Khusus Penanaman Mikroorganisme**. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Balthazor, T. M. and Hallas, L. E., 1985. Glyphosate-Degradation Microorganisms from Industrial Activated Sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, 51 (2).
- Best, D. J., Jones, J. and Stanford, D., 1985. **Biotechnology**, Principles and Application, Oxford, London.
- Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R., 1957. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, USA.
- Cassaret and Dowll's., 1986. **Toxicology, the Basic Science of Poisons**. Third edition, Macmillan Publishing Company, New York.
- Chen, P. S., Toribara, T. Y. and Warner, H., 1956. Microdetermination of Phosphorus. **Analytical Chemistry**, 28 (11).

- Cook, A. M., Daughton, C. G. and Alexander, M., 1977. Phosphonate Utilization by Bacteria. **Journal of Bacteriology**, 133 (1).
- Cowan, S. T., 1974. **Manual for the Identification of Medical Bacteria**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Devine, M., Duke, S. O. and Fedte, C., 1993. **Physiology of Herbicide Action**. PTR Prentice Hall Englewood Cliffs, New Jersey.
- Gandjar, I. G., 1990. **Pencemaran Senyawa Hidrokarbon**. PAU Gadjah Mada University, Yogyakarta.
- Hadioetomo, R. S., 1988. **Metode-Metode Untuk Bakteriologi**. PAU Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hassall, K. A., 1990. **The Biochemistry and Uses of Pesticide**. Second edition, Macmillan Press Ltd, London.
- Kishore, G. M. and Jacob, S. G., 1987. Degradasi of Glyphosate by *Pseudomonas* PG 2982 via Sarcosine Intermediate. **The Journal of Biological Chemistry**, 262 (25).
- Lay, B. W., 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium**. PT RajaGrafindo Persada, Jakarta.
- Lanauze, J. M., Rosenberg, H. and Shaw, D. C., 1970. The Enzymic Cleavage of the Carbon-Phosphorus Bond : Purification and Properties of Phosphonate. **Biochim. Biophys. Acta**, 212.
- Marx, J. L., 1991. **Revolusi Bioteknologi**. Penerbit Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Moore, J. K., Braymer, H. D. and Larson, A. D., 1983. Isolation of *Pseudomonas* sp. Which Utilizes the Phosphonate Herbicide Glyphosate. **Applied and Environmental Microbiology**, 46 (2).
- Mulyadi, 1990. **Analisis Makromolekul**. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Munnecke, D. M. and Hsieh, D. H., 1975. Pathways of Microbial Metabolism of Parathion. **Applied and Environmental Microbiology** 31., (1).
- Pipke, R. and Amrhein, N., 1988. Degradation of the Phosphonate Herbicide Glyphosate by *Arthrobacter atrocyaeus* ATTC 13752. **Applied and Environmental Microbiology**, 54 (5).

- Ramanathan, M. P. and Lalithakumari, D., 1996. Methylparthion Degradation by *Pseudomonas* sp A3 Immobilized in Sodium Alginat Beads. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.**, (12).
- Rao, N. S. S., 1994. **Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman.** Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Reed, G. and Rahm, H. J., 1987. **Biotechnology (7a).**, VCH publisher, USA.
- Ruppel, M. L., Brightwell, J. S. and Marvel, J. T., 1997. Methabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water. **Journal Agricultural and Food Chemistry.**, (25).
- Sastroutomo, S. S., 1992. **Pestisida Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya.** Perbit PT, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Soetarto, E. S., 1997. Uji Kemampuan Isolat Bakteri Tanah Vulkanik Untuk Mendegradasi Hidrokarbon Terhalogenasi. **Berkala Ilmiah Biologi.**, 2 (3).
- Sudarmo, S., 1991. **Pestisida.** Perbit Kanisius, Yogyakarta.

# LAMPIRAN



Lampiran 1. **Bahan dan Cara Kerja Pengecatan Gram** (Hadioetomo, 1993 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Kultur *Pseudomonas* sp. (hasil isolasi) umur 18 – 24 jam, aquades, alkohol 70 %, seperangkat pewarna gram, terdiri dari larutan kristal violet (zat warna I), larutan Lugol (larutan Mordan), larutan aseton alkohol (larutan pemucat) dan larutan safranin.

**B. Cara Kerja :**

1. Kaca objek dibersihkan dengan alkohol 70 %, kemudian dipanaskan di atas nyala lampu spiritus.
2. Dibuat preparat ulas dari biakan bakteri yang akan di cat (diambil satu ose suspensi bakteri secara aseptis dan diletakkan diatas kaca objek) kemudian difiksasi di atas lampu spiritus.
3. Dibubuhkan larutan kristal violet 2 – 3 tetes pada permukaan preparat ulas dan didiamkan selama 1 menit.
4. Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
5. Dibubuhkan larutan lugol dan dibiarkan selama satu menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
6. Dibubuhkan larutan pemucat (aseton alkohol) selama 10 – 20 detik kemudian langsung dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
7. Dibubuhkan larutan safranin dan dibiarkan selama 15 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan anginkan (dikeringkan dengan kertas saring).
8. Diamati dengan mikroskop perbesaran 100 sampai 1000 $\times$ .

## Lampiran 2. Bahan dan Cara kerja Uji Fermentasi Karbohidrat

(Hadioetomo, 1993 dan Lay, 1994).

### A. Bahan :

Indikator phenol red, kaldu karbohidrat terdiri dari 1000 ml  
Nutrient broth, 5 gr karbohidrat.

### B. Cara Kerja :

Kultur bakteri yang diuji (*Pseudomonas* sp.) diinokulasikan ke dalam kaldu karbohidrat. Inokulasi dilakukan secara hati-hati, sehingga tidak menimbulkan gelembung gas dalam tabung durham. Selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam pada temperatur 36°C.

Kultur dalam tabung reaksi yang berisi kaldu karbohidrat tersebut diamati, jika indikator phenol red pada medium warnanya berubah menjadi kuning berarti terjadi fermentasi karbohidrat (terbentuk asam). Bila pada tabung durham yang diletakkan dalam tabung medium terdapat gas, berarti pada fermentasi tersebut terbentuk gas.

### Keterangan :

Uji fermentasi karbohidrat bersifat negatif, jika setelah inkubasi 24 jam indikator phenol red yang terdapat pada medium tidak mengalami perubahan warna (tetap berwarna merah).

Lampiran 3. **Bahan dan Cara Kerja Uji Katalase** (Bangun, 1989 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Reagen uji katalase : 3 % larutan  $H_2O_2$

**B. Cara Kerja :**

Diambil 3 % hidrogen peroksida beberapa tetes ( $\pm 2$  tetes) dan diletakkan pada kaca objek yang telah dibersihkan. Kemudian secara aseptik diambil biakkan yang akan diuji (dengan menggunakan lup inokulasi) dan dipindahkan pada kaca objek tersebut (dicampurkan).

Hasil uji bersifat positif, jika terbentuk gelembung-gelembung gas  $O_2$  setelah reagen dan biakkan bakteri dicampur. Uji bersifat negatif jika tidak timbul gelembung gas  $O_2$ .

Lampiran 4. **Bahan dan Cara Kerja Uji Oksidase** (Cowan, 1974 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Reagen uji oksidase : 1 % tetramethyl-*p*-phenylenediamine, dilarutkan pada aquades.



**B. Cara Kerja :**

Reagen diteteskan pada kertas saring yang bersih. Kemudian secara aseptis diambil kultur bakteri yang akan diuji dan diulaskan pada kertas saring yang telah basah dengan reagen tersebut. Dibiarkan selama  $\pm$  30 detik kemudian diamati. Hasil uji bersifat positif, jika terbentuk warna ungu kehitaman atau merah lembayung dan bersifat negatif jika warna tidak berubah.

**Lampiran 5. Bahan dan Cara Kerja Uji Oksidasi Fermentasi (O-F)**

(Cowan, 1974 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Medium uji O-F, terdiri dari 2 gr pepton; 5 gr NaCl; 0,3 gr  $K_2HPO_4$ ; 3 gr agar; 1000 ml aquades; 15 ml Bromthymol blue (0,2 % dilarutkan dengan aquades); 1 % karbohidrat (glukosa). Karbohidrat disterilkan secara terpisah (mempergunakan filter penyaring bakteri), pH medium 7,1.

Dipergunakan dua tabung reaksi, satu tabung medium ditutup dengan parafin cair.

**B. Cara Kerja :**

Kedua tabung medium diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Satu tabung ditambahkan parafin cair steril, kemudian kedua medium diinkubasi selama 48 jam. Pengamatan pada uji ini dilakukan mulai dari jam ke 48 inkubasi sampai 14 hari.

Hasil uji bersifat oksidasi jika pada tabung terbuka medium berwarna kuning dan pada tabung tertutup parafin medium berwarna hijau. Hasil uji bersifat fermentasi jika pada tabung terbuka maupun tabung tertutup parafin, medium berwarna kuning. Hasil uji menunjukkan karbohidrat tidak diurai, yaitu apabila pada tabung terbuka maupun tabung tertutup parafin, medium berwarna hijau.

Lampiran 6. Bahan dan Cara Kerja Uji Indol (Cowan, 1974 dan Lay 1994).

**A. Bahan :**

Medium tryptone water terdiri dari 1 gr tryptone; 0,5 gr natrium klorid, 100 ml aquades, pH medium 7,5.

Reagen Kovacs, terdiri dari 1gr p-dimethylaminobenzaldehyde; 75 ml amyl alkohol; 25 ml HCl.

**B. Cara Kerja :**

Medium tryptone water diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 48 jam. Setelah diinkubasi ditambahkan 5 ml reagen Kovacs kemudian tabung reaksi yang berisi medium tersebut, dikocok bolak-balik dan diamkan  $\pm$  1 menit.

Hasil uji bersifat positif jika segera terbentuk lapisan berwarna merah dan menyerupai cincin, pada bagian atas medium tersebut. Hasil uji bersifat negatif jika tidak terbentuk lapisan berwarna merah (cincin indol).

**Lampiran 7. Bahan dan Cara Kerja Uji Sitrat (Cowan, 1974).**

**A. Bahan :**

Medium sitrat Koser's, terdiri dari 0,5 gr NaCl; 0,02 gr  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,1 gr  $NH_4H_2PO_4$ ; 0,1 gr  $K_2HPO_4$ ; 0,2 gr asam sitrat; 100 ml aquades, pH medium 6,8.

**B. Cara Kerja :**

Medium sitrat Koser's diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji kemudian diinkubasi pada suhu  $36^\circ C$  selama 7 hari. Pengamatan pada uji ini dilakukan mulai dari jam 48 inkubasi sampai 7 hari.

Hasil uji bersifat positif jika pada medium tersebut nampak keruh (menunjukkan adanya pertumbuhan). Hasil uji bersifat negatif jika pada medium tersebut nampak jernih (menunjukkan tidak ada pertumbuhan).

**Lampiran 8. Bahan dan Cara Kerja Uji Urease** (Cowan, 1974 dan Bangun, 1989).

**A. Bahan :**

Medium uji urea adalah urea medium SSR (Stuart, van Stratum & Rustigan, 1945) terdiri dari 0,91 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,95 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 0,01 gr yeast ekstrak; 2 gr urea; 5ml phenol red (0,2 % dilarutkan dalam aquades); 100 ml aquades. Urea disterilkan secara terpisah (sterilisasi dengan filtrasi), pH medium 6,8.

**C. Cara Kerja :**

Medium urea SSR diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji kemudian diinkubasikan selama 7 hari. Hasil uji bersifat positif jika medium berwarna merah, bersifat negatif jika medium tidak berwarna (tidak terjadi perubahan warna).

**Lampiran 9. Bahan dan Cara Kerja Uji Reduksi Nitrat** (Cowan, 1974 dan Bangun, 1989).

**A. Bahan :**

Medium Nitrat Broth, terdiri dari 0,1 gr  $\text{KNO}_3$ ; 100 ml nutrien broth. pH medium 7,2.

Reagen reduksi nitrat terdiri dari larutan A : 0,8 % asam sulphanilic dalam 5 N asam acetic dan larutan B : 0,5 %  $\alpha$ -naphthylamine dalam 5 N asam acetic.

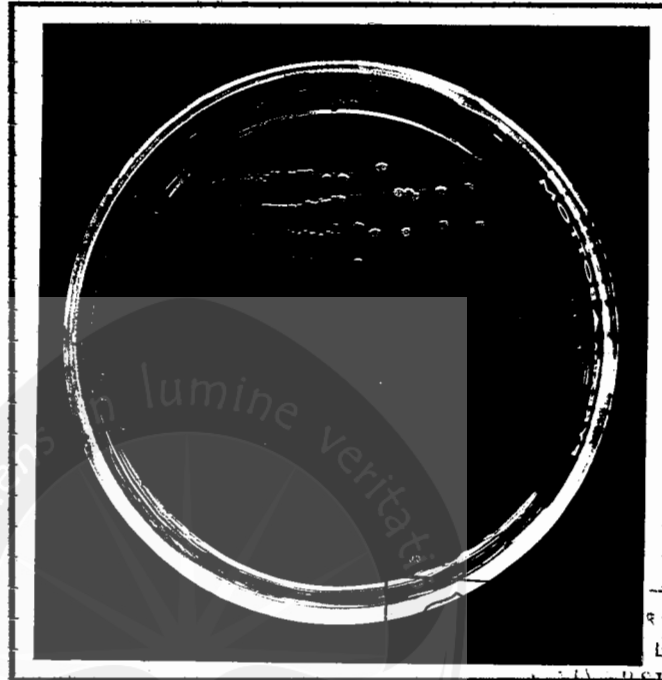
#### **B. Cara Kerja :**

Media nitrat broth diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji kemudian diinkubasikan selama 5 hari. Setelah diinkubasikan selama 5 hari, ditambahkan 1 ml reagen A dan 1 ml reagen B. Hasil uji bersifat positif jika terbentuk warna merah setelah penambahan reagen tersebut dan bersifat negatif jika medium tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan reagen. Hasil uji negatif harus dipertegas dengan penambahan unsur Zn dalam medium, bila terbentuk warna merah setelah penambahan unsur tersebut menunjukkan uji bersifat negatif. Sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan unsur Zn, menunjukkan uji bersifat positif.

#### **Lampiran 10. Komposisi Medium Kelman**

Komposisi medium kelman (gr/l) terdiri dari 10 gr pepton; 10 gr glukosa; 0,05 gr 2,3,5-Triphenyltetra zolium clorid; 1l aquades; pH medium 7,0.

Lampiran 11. Pemurnian Isolat *Pseudomonas* sp. Dengan Metode  
Penggoresan (Restreaking)



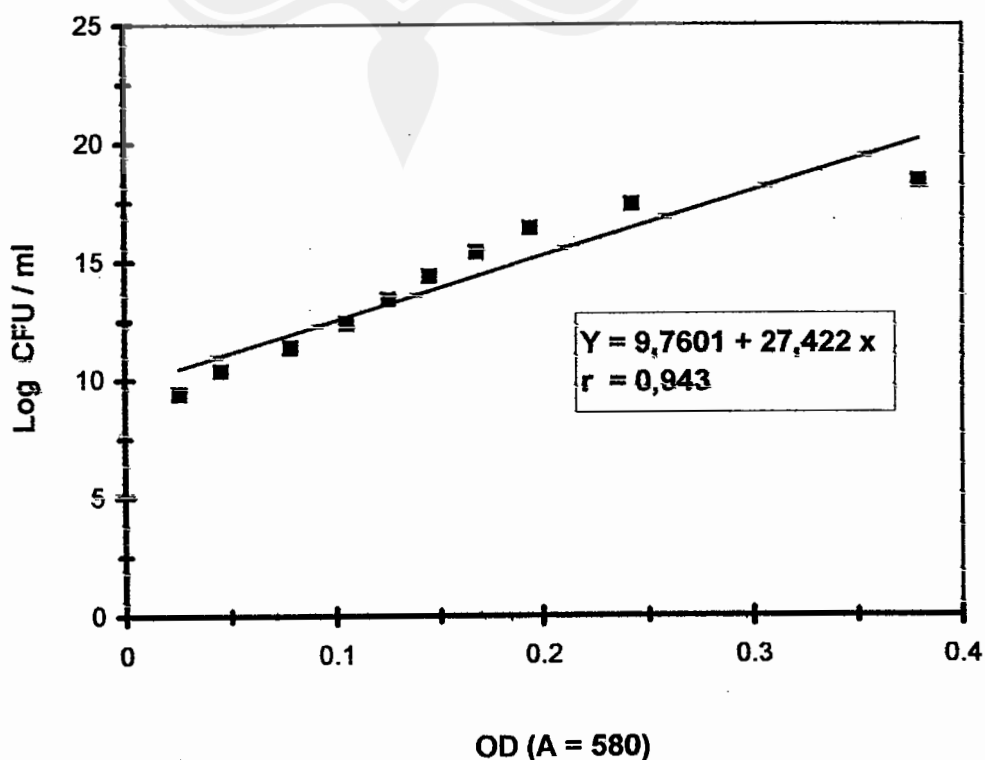
PUSTAKAAN  
STAS BIOLOGI  
STAS ATMA JAYA  
YOGYAKARTA

## Lampiran 12. Nilai OD VS Plating Kurva Standar

PENGECERAN	OD	Σ KOLONI	CFU/ml	Log CFU/ml
$10^{-1}$	0,3794		$2,31 \times 10^{18}$	18,4
$10^{-2}$	0,2422		$2,31 \times 10^{17}$	17,4
$10^{-3}$	0,1942		$2,31 \times 10^{16}$	16,4
$10^{-4}$	0,1682		$2,31 \times 10^{15}$	15,4
$10^{-5}$	0,1452		$2,31 \times 10^{14}$	14,4
$10^{-6}$	0,1253	803	$2,31 \times 10^{13}$	13,4
$10^{-7}$	0,1052	365	$2,31 \times 10^{12}$	12,4
$10^{-8}$	0,0787	231	$2,31 \times 10^{11}$	11,4
$10^{-9}$	0,0455	63	$2,31 \times 10^{10}$	10,4
$10^{-10}$	0,0258	2	$2,31 \times 10^9$	9,4

Keterangan : sampel yang diinokulasikan 0,1 ml jadi nilai CFU/ml = nilai CFU/0,1 ml  $\times 10$

## Lampiran 13. Grafik Kurva Standar Log CFU/ml VS OD



Lampiran 14. Nilai OD Isolat *Pseudomonas* sp. dengan  $\lambda$  580 Nm.

JAM	ULANGAN	KONST. 0,4 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,2 mM	KONTROL
0	1	0,1577	0,1294	0,1596	0,1737
	2	0,1754	0,1376	0,1354	0,1751
	3	0,1682	0,1380	0,1421	0,1705
	RATA-RATA	0,1671	0,1350	0,1454	0,1731
12	1	1,3558	1,5496	1,3908	1,2242
	2	1,3536	1,4496	1,4102	1,2204
	3	1,3544	1,3436	1,4005	1,2466
	RATA-RATA	1,3546	1,4467	1,4005	1,2304
24	1	1,5972	1,8631	1,6664	1,5061
	2	1,5721	1,7611	1,7020	1,4885
	3	1,5833	1,6567	1,6992	1,5183
	RATA-RATA	1,5842	1,7603	1,6892	1,5043
36	1	1,6825	1,9980	1,7822	1,4662
	2	1,6142	1,9972	1,8014	1,4528
	3	1,6635	1,9724	1,8005	1,4805
	RATA-RATA	1,6534	1,9892	1,7947	1,4665
48	1	1,5667	1,9862	1,6686	1,3054
	2	1,5163	1,9783	1,7173	1,2991
	3	1,5382	1,9767	1,7123	1,3321
	RATA-RATA	1,5404	1,9892	1,6994	1,3122
60	1	1,5601	1,8922	1,5002	1,2272
	2	1,3445	1,8561	1,6136	1,1508
	3	1,4334	1,7993	1,5791	1,2742
	RATA-RATA	1,4660	1,8492	1,5643	1,2174
72	1	1,4722	1,7822	1,3228	1,1104
	2	1,2642	1,7565	1,5667	1,0388
	3	1,3715	1,6732	1,4629	1,2009
	RATA-RATA	1,3693	1,7373	1,4508	1,1167
84	1	1,2694	1,5072	1,2185	0,9123
	2	1,1137	1,5008	1,3630	0,9017
	3	1,1164	1,4845	1,2561	0,9502
	RATA-RATA	1,1665	1,4979	1,2792	0,9214
96	1	1,0250	1,3116	0,8985	0,7662
	2	0,8164	1,3038	1,1013	0,7584
	3	0,9402	1,2987	0,9984	0,7890
	RATA-RATA	0,9272	1,3047	0,9994	0,7712



Lampiran 15. Log Jumlah Isolat *Pseudomonas* sp. ( $Y = 27,422X + 9,7601$ )

JAM	ULANGAN	KONST. 0,4 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,2 mM	KONTROL
0	1	14,0846	13,3085	14,1367	14,5233
	2	14,5699	13,5334	13,4730	14,5617
	3	14,3725	13,5443	13,6321	14,4356
	RATA-RATA	14,2423	13,4621	13,7473	14,5069
12	1	46,9389	52,2532	47,8987	43,3301
	2	46,7885	49,4370	48,4306	43,2259
	3	46,9005	46,6043	48,1648	43,9444
	RATA-RATA	46,9059	49,4315	48,1648	43,5001
24	1	53,5585	60,8500	55,4561	51,0604
	2	52,8702	58,0530	56,4323	50,5778
	3	53,1774	55,1901	56,3556	51,3949
	RATA-RATA	53,2020	58,0311	56,0813	51,0110
36	1	55,8976	64,5493	58,6316	49,9262
	2	54,0247	64,5373	59,1581	49,5988
	3	55,3766	63,8473	59,1334	50,3584
	RATA-RATA	55,0996	64,3079	58,9744	49,9745
48	1	52,7222	64,2257	55,5165	45,5568
	2	51,3401	64,0090	56,8519	45,3840
	3	51,9406	63,9652	56,7148	46,2890
	RATA-RATA	52,0010	64,0666	56,3611	45,7433
60	1	52,5412	61,6480	50,8986	43,4124
	2	46,6290	60,6581	54,0082	41,3173
	3	49,0668	59,1005	53,0622	44,7012
	RATA-RATA	49,4123	60,4689	52,6563	43,1436
72	1	50,1308	58,6316	46,0339	40,2095
	2	44,4270	57,9268	52,7222	38,2461
	3	47,3694	55,6426	49,8757	42,6912
	RATA-RATA	47,3091	57,4003	49,5439	40,3823
84	1	44,5696	51,0905	43,1738	34,7772
	2	40,2300	50,9150	47,1363	34,4865
	3	40,3740	50,4681	44,2049	35,8165
	RATA-RATA	41,7479	50,8246	44,8383	35,0267
96	1	37,8677	45,7268	34,3988	30,7708
	2	32,1474	45,5129	39,9600	30,5570
	3	35,5423	45,3731	37,1382	31,3961
	RATA-RATA	35,1858	45,5376	37,1657	30,9080

Lampiran 16. Jumlah Isolat *Pseudomonas* sp. ( $\times 10^8$ )

JAM	ULANGAN	KONST. 0,4 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,2 mM	KONTROL
0	1	2,6451	2,5884	2,6488	2,6758
	2	2,6790	2,6052	2,6007	2,6784
	3	2,6653	2,6060	2,6124	2,6697
	RATA-RATA	2,6632	2,5999	2,6208	2,6746
12	1	3,8489	3,9561	3,8991	3,7689
	2	3,8476	3,9007	3,8801	3,7664
	3	3,8480	3,8417	3,8746	3,7829
	RATA-RATA	3,8481	3,9006	3,8746	3,7728
24	1	3,9808	4,1084	4,0156	3,9330
	2	3,9678	4,0614	4,0330	3,9235
	3	3,9736	4,0108	4,0317	3,9395
	RATA-RATA	3,9741	4,0610	4,0268	3,9320
36	1	4,0235	4,1674	4,0713	3,9114
	2	3,9894	4,1671	4,0802	3,9040
	3	4,0142	4,1565	4,0798	3,9192
	RATA-RATA	4,0091	4,1637	4,0771	3,9115
48	1	3,9650	4,1624	4,0167	3,8190
	2	3,9385	4,1590	4,0405	3,8152
	3	3,9501	4,1583	4,0380	3,8349
	RATA-RATA	3,9513	4,1599	4,0318	3,8230
60	1	3,9616	4,1214	3,9298	3,7708
	2	3,8422	4,1053	3,9891	3,7218
	3	3,8932	4,0792	3,9715	3,8000
	RATA-RATA	3,9002	4,1021	3,9636	3,7645
72	1	3,9146	4,7013	3,8294	3,6941
	2	3,7939	4,0592	3,9650	3,6440
	3	3,8580	4,0190	3,9095	3,7540
	RATA-RATA	3,8567	4,0501	3,9029	3,6984
84	1	3,7971	3,9336	3,7652	3,5490
	2	3,6964	3,9302	3,8530	3,5406
	3	3,6982	3,9213	3,7888	3,5784
	RATA-RATA	3,7317	3,9284	3,8031	3,5561
96	1	3,6341	3,8227	3,5380	3,4266
	2	3,4703	3,8180	3,6879	3,4196
	3	3,5707	3,8149	3,6147	3,4467
	RATA-RATA	3,5606	3,8185	3,6154	3,4310

### Lampiran 17. Rumus Perhitungan Waktu Generasi

$$G = \frac{t}{n}$$

$$n = \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{\text{Log } 2}$$

$$= \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{0,3010}$$

Keterangan :

G = waktu generasi (jam)

t = waktu akhir eksponensial

n = jumlah generasi

N = jumlah bakteri pada akhir eksponensial

No = jumlah bakteri pada jam ke nol

Lampiran 18. Uji Statistik Waktu Generasi Isolat *Pseudomonas* sp. pada Medium Mengandung Glifosat (0,4 mM; 0,8 mM; 1,2 mM) dan Kontrol

ULANGAN	KONSENTRASI GLIFOSAT				TOTAL
	0,4 mM	0,8 mM	1,2 mM	KONTROL	
1	7,44	6,55	7,26	8,22	
2	7,83	6,64	6,93	8,28	
3	7,62	6,68	6,70	8,12	
<b>Jumlah</b>	22,89	19,87	20,89	24,62	88,27
<b>Rata-rata</b>	7,63	6,62	6,96	8,21	

$$FK = \frac{(88,27)^2}{(4)(3)} = \frac{7791,5929}{12} = 649,2994083$$

$$JKT = (7,44)^2 + (7,83)^2 + (7,62)^2 + (6,55)^2 + (6,64)^2 + (6,68)^2 + (7,26)^2 + (6,93)^2 + (6,70)^2 + (8,22)^2 + (8,28)^2 + (8,12)^2 - (649,2994083)$$

$$= 654,0251 - 649,2994083$$

$$= 4,7256917$$

$$JKP = \frac{(22,89)^2 + (19,87)^2 + (20,89)^2 + (24,62)^2}{3} - 649,2994083$$

$$= 653,7685 - 649,2994083 = 4,4690917$$

$$JKG = 4,7256917 - 4,4690917 = 0,2566$$

$$\text{DB perlakuan} = 4 - 1 = 3$$

$$\text{DB galat} = 11 - 3 = 8$$

$$\text{KTP} = \frac{4,4690917}{3} = 1,489697233$$

$$\text{KTG} = \frac{0,2566}{8} = 0,032075$$

$$\text{F hitung} = \frac{1,489697233}{0,032075} = 46,4$$

**Tabel ANAVA Waktu Generasi Isolat *Pseudomonas* sp.**

SUMBER VARIASI	DB	JK	KT	F hitung	F tabel	
					5 %	1 %
<b>Pertakuan</b>	3	4,4690917	1,48969723			
<b>Galat</b>	8	0,2566	0,032075	46,4	4,07	7,59
<b>Total</b>	11	4,7256917				

F hitung > F tabel = Sangat signifikan

#### **Uji DMRT (Duncan Multiple Range Test)**

$$S^2 = \text{KTG}$$

$$R_p = r_p \cdot \sqrt{S^2 / n}$$

$$\sqrt{S^2 / n} = \sqrt{\frac{0,032075}{3}} = 0,103400515$$

<b>p</b>	<b>rp (0,05)</b>	<b>Rp</b>
2	3,261	(3,261) (0,103400515) : 0,337189079
3	3,399	(3,399) (0,103400515) : 0,35145835
4	3,475	(3,475) (0,103400515) : 0,359316789

	<b>Kontrol</b>	<b>0,4 mM</b>	<b>1,2 mM</b>	<b>0,8 mM</b>
	<b>8,21</b>	<b>7,63</b>	<b>6,96</b>	<b>6,62</b>
<b>0,8 mM</b>				
<b>6,62</b>	1,59*	1,01*	0,34*	0
<b>1,2 mM</b>				
<b>6,96</b>	1,25*	0,67*	0	
<b>0,4 mM</b>				
<b>7,63</b>	0,58*	0		
<b>Kontrol</b>				
<b>8,21</b>	0			

Keterangan : \* = ada beda nyata

### Lampiran 19. Perhitungan Nilai Rx (Rf Relatif)

Rumus perhitungan nilai Rx dan Rf (Mulyadi, 1990)

$$Rx = \frac{Rf \text{ zat yang diuji}}{Rf \text{ zat baku}}$$

$$Rf = \frac{\text{Lintasan zat yang dipisahkan (noda)}}{\text{Lintasan pelarut (eluen)}}$$

$$Rx = \frac{0,622}{0,640} = 0,970 \text{ cm}$$

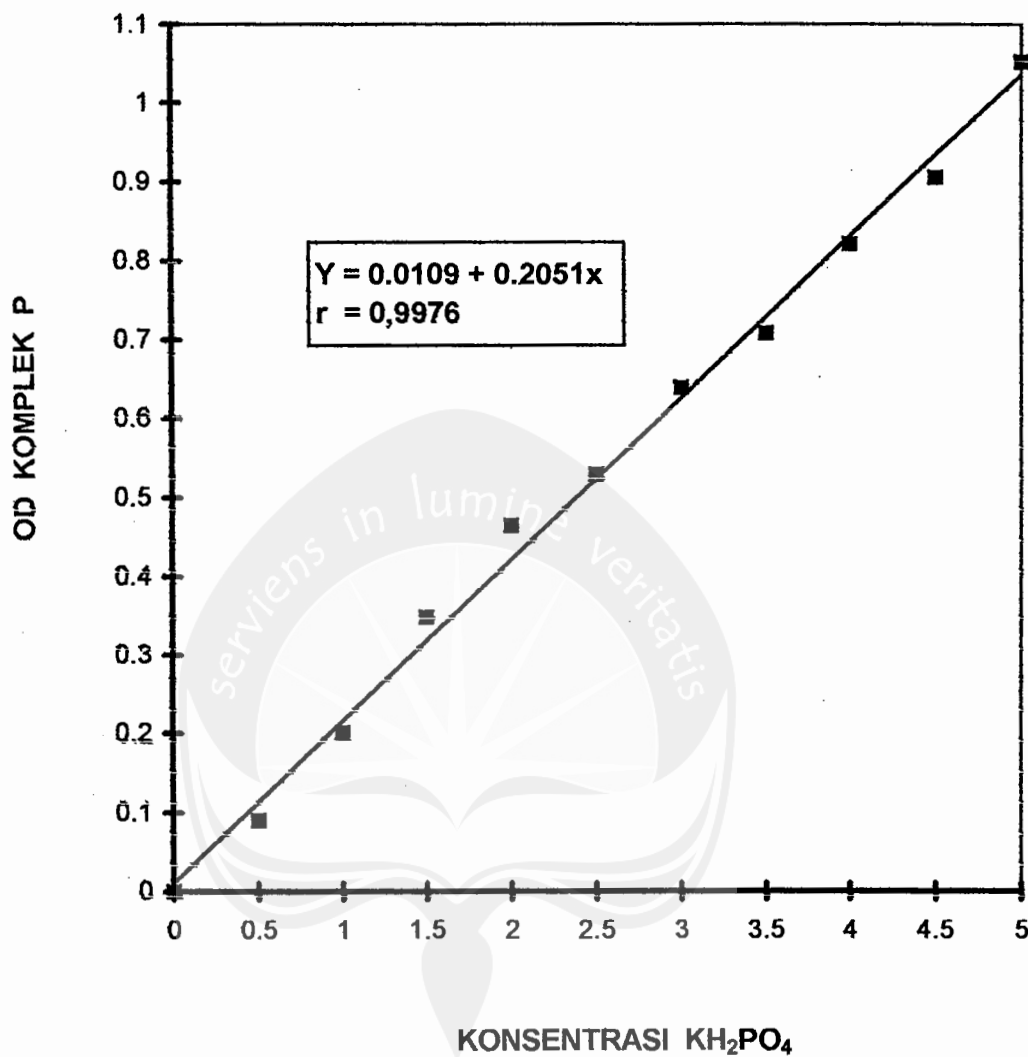
### Lampiran 20. Perhitungan Analisa CO<sup>2</sup> Bebas

$$\text{Kadar CO}^2 \text{ bebas} = \text{ml NaOH (volume titran)} \times 0,5 \text{ (mikrobiuret 100 skala)}$$

$$\text{Kadar CO}^2 \text{ sampel} = 70 \text{ ml} \times 0,5$$

$$= 35 \text{ ppm}$$

## Lampiran 21. Grafik Kurva Standar Kadar P (fosfor)



Perhitungan kadar P (fosfor) pada sampel :

Nilai absorbansi sampel = 0,0413

Persamaan kurva standar,  $Y = 0,2051X + 0,0109$

$r = 0,998$

Kadar P (fosfor) = 0,1482 mg/l