

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ketahanan PGPR terhadap aplikasi herbisida pada uji *in vitro* 1

Pada uji *in vitro* 1 diperoleh hasil rerata kerapatan PGPR terhadap aplikasi herbisida yang ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Rerata kerapatan PGPR setelah aplikasi herbisida pada uji *in vitro* 1

Perlakuan	Waktu Ke (cfu/ml)				
	0 Menit	10 Menit	24 Jam	48 Jam	72 Jam
BS (<i>B. subtilis</i>)+ paraquat 1	10 ⁹	5,64x10 ⁷	4,42 x10 ⁷	4,32 x10 ⁷	4,15 x10 ⁷
BS + glifosat 1	10 ⁹	6,24x10 ⁷	5,59 x10 ⁷	5,84 x10 ⁷	4,98 x10 ⁷
BS + paraquat 2	10 ⁹	4,95x10 ⁷	4,16 x10 ⁷	3,44 x10 ⁷	3,69 x10 ⁷
BS+ glifosat 2	10 ⁹	5,59 x10 ⁷	3,49 x10 ⁷	3,43 x10 ⁷	3,68 x10 ⁷
PF (<i>P. fluorescens</i>) + paraquat 1	10 ⁹	4,87 x10 ⁷	4,78 x10 ⁷	3,16 x10 ⁷	3,06 x10 ⁷
PF+ glifosat 1	10 ⁹	3,84 x10 ⁷	3,84 x10 ⁷	3,43 x10 ⁷	5,37 x10 ⁷
PF+ paraquat 2	10 ⁹	4,81 x10 ⁷	2,85 x10 ⁷	2,68 x10 ⁷	2,94 x10 ⁷
PF+ glifosat 2	10 ⁹	5,11 x10 ⁷	4,05 x10 ⁷	3,89 x10 ⁷	3,92 x10 ⁷
AZ (<i>Azotobacter</i> sp.)+ paraquat 1	10 ⁹	5,26 x10 ⁷	2,42 x10 ⁷	2,61 x10 ⁷	1,89 x10 ⁷
AZ+ glifosat 1	10 ⁹	5,18 x10 ⁷	4,71 x10 ⁷	5,44 x10 ⁷	4,24 x10 ⁷
AZ+ paraquat 2	10 ⁹	4,48 x10 ⁷	1,8 x10 ⁷	1,79 x10 ⁷	2,04 x10 ⁷
AZ+ glifosat 2	10 ⁹	4,6 x10 ⁷	2,26 x10 ⁷	1,66 x10 ⁷	1,58 x10 ⁷
AS (<i>Azospirillum</i> sp.)+ paraquat 1	10 ⁹	5,3 x10 ⁷	3,43 x10 ⁷	3,21 x10 ⁷	2,85 x10 ⁷
AS+ glifosat 1	10 ⁹	4,67 x10 ⁷	6,03 x10 ⁷	7,19 x10 ⁷	7,2 x10 ⁷
AS+ paraquat 2	10 ⁹	4,64 x10 ⁷	3,02 x10 ⁷	3,05 x10 ⁷	3,46 x10 ⁷
AS+ glifosat 2	10 ⁹	4,34 x10 ⁷	3,16 x10 ⁷	3,83 x10 ⁷	4,1 x10 ⁷

Data pada tabel 1 tersebut selanjutnya digunakan untuk menyeleksi satu PGPR yang paling tahan terhadap herbisida dan dua herbisida yang berdampak negatif terhadap kerapatan bakteri. Seleksi PGPR yang paling tahan terhadap herbisida dapat dilakukan dengan membuat rerata kerapatan masing-masing PGPR terhadap aplikasi herbisida. Pada tabel 3 ditampilkan data nilai ketahanan masing-masing PGPR terhadap aplikasi herbisida.

Tabel 3. Rerata kerapatan masing-masing PGPR pada aplikasi keempat herbisida

Bakteri	Waktu Ke- (cfu/ml)				
	0 Menit	10 Menit	24 Jam	48 Jam	72 Jam
BS	10^9	$5,61 \times 10^7$	$4,42 \times 10^7$	$4,26 \times 10^7$	$4,13 \times 10^7$
PF	10^9	$4,66 \times 10^7$	$3,88 \times 10^7$	$3,29 \times 10^7$	$3,82 \times 10^7$
AZ	10^9	$4,88 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$2,88 \times 10^7$	$2,44 \times 10^7$
AS	10^9	$4,74 \times 10^7$	$3,91 \times 10^7$	$4,32 \times 10^7$	$4,4 \times 10^7$

Keterangan: BS (*B. subtilis*), PF (*P. fluorescens*), AZ (*Azotobacter* sp.), dan AS (*Azospirillum* sp.)

Berdasarkan pada tabel 3 menunjukkan bahwa kerapatan masing-masing bakteri mengalami peningkatan dan penurunan pada waktu 10 menit, 24, 48, atau 72 jam. Berdasarkan laju kerapatan masing-masing PGPR dapat diketahui bahwa bakteri yang paling tahan terhadap aplikasi keempat herbisida adalah bakteri *Azospirillum* sp (AS). Hal tersebut dapat dilihat dari waktu 0 menuju 24 jam kerapatan bakteri mengalami penurunan, namun dari waktu 24 jam sampai 72 jam mengalami peningkatan kerapatan. Kerapatan bakteri *B. subtilis* pada waktu 0 menuju 10 menit nampak sangat tinggi dibandingkan dengan bakteri yang lain, akan tetapi bakteri tersebut mengalami penurunan kerapatan dari 10 menit sampai 72 jam. Pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* juga mengalami penurunan dari 0 sampai 48 jam, namun pada waktu 72 jam kerapatan bakteri tersebut meningkat, akan tetapi peningkatan kerapatan bakteri tersebut lebih rendah dari bakteri *Azospirillum* sp. Sedangkan pertumbuhan bakteri *Azotobacter* sp. pada waktu 0 menuju 10 menit lebih tinggi dibandingkan bakteri *Azospirillum* sp. dan *P. fluorescens*, namun pertumbuhan bakteri tersebut dari waktu 0 menit mengalami penurunan sampai waktu 24 jam, dan meningkat pada waktu 48 jam serta mengalami penurunan kembali dari waktu 48 jam menuju 72 jam. Laju pertumbuhan bakteri *Azotobacter* sp. tersebut mengalami fluktuasi, dan tingkat pertumbuhan bakteri tersebut lebih rendah dibandingkan bakteri yang lain. Oleh karena itu, tingkat ketahanan PGPR berdasarkan tabel 3 dari tertinggi sampai terendah adalah *Azospirillum* sp., *P. fluorescens*, *B. subtilis*, dan *Azotobacter* sp.

Penurunan kerapatan PGPR terhadap aplikasi herbisida sangat berdampak negatif. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai kerapatan bakteri sebelum aplikasi sebesar 10^9 cfu/ml menjadi 10^7 pada waktu 10 menit sampai 72 jam.

Oleh karena itu aplikasi herbisida dapat menurunkan kerapatan PGPR sebanyak 100 kali lipat dari konsentrasi PGPR sebelum aplikasi.

Ketahanan bakteri *Azospirillum* sp. terhadap aplikasi herbisida adalah suatu kelebihan dari bakteri ini. Hal tersebut dapat diduga ketahanan bakteri *Azospirillum* sp. terhadap aplikasi herbisida disebabkan oleh tingkat toleransi yang tinggi. Toleransi atau resistensi dalam mikroorganisme terhadap pestisida adalah proses kompleks yang diatur oleh mikroorganisme tersebut, baik pada tingkat fisiologis atau genetik mikroorganisme. Oleh karena itu, mikroorganisme yang memiliki resistensi terhadap pestisida seringkali dapat melakukan biodegradasi (Kumar *et al.*, 1996; Ortiz-Hernandez dan Sanchez-Salinas, 2010). Toleransi terhadap pestisida pada umumnya disebabkan oleh perubahan fisiologis yang mendorong metabolisme mikroba untuk pembentukan jalur metabolik baru sehingga melewati reaksi biokimia yang dihambat oleh pestisida tertentu (Bellinaso *et al.*, 2003). Di sisi lain, resistensi permanen, bergantung pada modifikasi genetik, yang diwarisi oleh generasi berikutnya dari mikroba (Johnsen *et al.*, 2001; Herman *et al.*, 2005). Bakteri yang dapat bertahan hidup pada perlakuan media yang mengandung pestisida merupakan kelompok bakteri yang memang tidak terpengaruh kehidupannya oleh keberadaan pestisida tersebut (Sing dan Walker, 2006).

Kendati demikian, *Azospirillum* adalah genus bakteri yang memiliki sifat microaero-filateli, heterotrofik, dan diazotrofik. Bakteri tersebut secara aktif terlibat dalam fiksasi heterotrofik nitrogen pada beberapa asosiasi bakteri padi (Charyulu dan Rao 1978). Terjadinya fiksasi nitrogen oleh *Azospirillum* sp. di akar padi dan tanah juga telah dilaporkan (Nayak dan Rao, 1982). Menurut Aplikasi *Azospirillum* spp. di padang rumput memiliki efek positif pada proses degradasi PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) di tanah yang baru tercemar campuran PAHs dan solar (Gałazka *et al.*, 2011). Kemampuan *Azospirillum* spp. yang menempati daerah akar dan bagian dalam akar rumput bermanfaat dalam memfiksasi nitrogen dan menggunakan hidrokarbon aromatik sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi untuk bioremediasi tanah yang tercemar dengan PAH pada suhu yang terbatas (Gałazka *et al.*, 2011).

Pada uji *in vitro* 1 bakteri *Azospirillum* sp. merupakan bakteri yang memiliki ketahanan yang paling tinggi di antara bakteri yang lain. Namun, ketiga bakteri yang lain juga memiliki potensi ketahanan terhadap aplikasi herbisida. Seperti yang telah dilaporkan oleh Kurhade *et al.* (2016) bahwa *P. fluorescens*

memiliki toleransi terhadap hebisida imazethapyr, 2, 4-D dan pendimethalin, namun maksimal cfu (20.41×10^8 cfu/ml). Hung *et al.* (2009) melaporkan bahwa *P. fluorescens* strain IM-4 mampu mendegradasi imazethapyr. Strain ini bisa menggunakan imazethapyr sebagai karbon dan sumber energi. Wasi *et al.* (2008) menyatakan bahwa *P. fluorescens* strain SMF1 juga ditemukan resisten terhadap 2,4-D. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu efisiensi *P. fluorescens* untuk memanfaatkan herbisida sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri tersebut.

Selain untuk memperoleh bakteri yang tahan terhadap aplikasi herbisida, pada uji *in vitro* ini juga menseleksi dua herbisida yang sangat berdampak negatif terhadap kerapatan PGPR. Rerata kerapatan semua PGPR terhadap masing-masing herbisida dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rerata kerapatan semua PGPR pada masing-masing herbisida

Herbisida	Waktu Ke- (cfu/ml)				
	0 Menit	10 menit	24 Jam	48 Jam	72 Jam
Paraquat 1	10^9	$5,27 \times 10^7$	$3,76 \times 10^7$	$3,32 \times 10^7$	$2,99 \times 10^7$
Glifosat 1	10^9	$4,98 \times 10^7$	$5,04 \times 10^7$	$5,47 \times 10^7$	$5,45 \times 10^7$
Paraquat 2	10^9	$4,72 \times 10^7$	$2,96 \times 10^7$	$2,74 \times 10^7$	$3,03 \times 10^7$
Glifosat 2	10^9	$4,91 \times 10^7$	$3,24 \times 10^7$	$3,20 \times 10^7$	$3,32 \times 10^7$

Kerapatan semua PGPR dari waktu ke 10 menit sampai 72 jam pada masing-masing herbisida diperoleh hasil yang berbeda-beda. Sehingga dapat diketahui perbedaan jenis herbisida tersebut mempengaruhi tingkat pertumbuhan PGPR. Berdasarkan tabel 4, pada waktu 10 menit sampai 72 jam kerapatan PGPR lebih rendah pada media yang mengandung herbisida paraquat 2 dan glifosat 2 dibandingkan nilai kerapatan PGPR pada media yang mengandung herbisida paraquat 1 dan glifosat 1. Hal tersebut dapat diduga bahan aktif dan konsentrasi yang terkandung pada herbisida sangat mempengaruhi nilai kerapatan PGPR. Namun demikian, hal tersebut dipengaruhi oleh tingkat toleransi dari suatu mikroorganisme. Toleransi atau resistensi dalam mikroorganisme terhadap pestisida adalah proses kompleks yang diatur oleh mikroorganisme tersebut, baik pada tingkat fisiologis atau genetik mikroorganisme. Oleh karena itu, mikroorganisme yang memiliki resistensi terhadap pestisida seringkali dapat melakukan biodegradasi (Kumar *et al.*,1996; Ortiz-Hernandez dan Sanchez-Salinas, 2010). Toleransi terhadap pestisida pada umumnya disebabkan oleh perubahan fisiologis yang mendorong metabolisme

mikroba untuk pembentukan jalur metabolik baru sehingga melewati reaksi biokimia yang dihambat oleh pestisida tertentu (Bellinaso *et al.*, 2003).

4.2 Ketahanan PGPR terhadap Aplikasi Herbisida pada Uji *In Vitro* 2

Uji ketahanan yang dilakukan pada uji *in vitro* 2 ini adalah dengan menguji bakteri *Azospirillum* sp. terhadap aplikasi dua herbisida yaitu herbisida paraquat 2 dan glifosat 2. Seperti pada uji *in vitro* 1, ketahanan bakteri terhadap aplikasi herbisida dapat dilihat dari kerapatan bakteri pada waktu 10 menit, 24, 48, dan 72 jam. Pengamatan yang dilakukan pada waktu 10 menit, 24, 48, dan 72 jam memiliki hasil yang berbeda-beda yang ditampilkan pada tabel 5

Tabel 5. Kerapatan bakteri pada uji *in vitro* 2

Per-lakuan	Waktu Ke- (cfu/ml)				
	0 Menit	10 menit	24 jam	48 jam	72 jam
A+ P2 _{K1}	10 ⁹	2,46 x 10 ⁷ c	0,88 x 10 ⁷ a	0,48 x 10 ⁷ a	0,27 x 10 ⁷ a
A+ P2 _{K2}	10 ⁹	2,12 x 10 ⁷ a	0,87 x 10 ⁷ a	0,49 x 10 ⁷ a	0,12 x 10 ⁷ a
A+ P2 _{K3}	10 ⁹	2,32 x 10 ⁷ bc	0,86 x 10 ⁷ a	0,55 x 10 ⁷ a	0,73 x 10 ⁷ a
A+ P2 _{K4}	10 ⁹	2,25 x 10 ⁷ ab	1,05 x 10 ⁷ b	0,65 x 10 ⁷ a	0,57 x 10 ⁷ a
A+ G2 _{K1}	10 ⁹	3,47 x 10 ⁷ de	3,25 x 10 ⁷ c	3,83 x 10 ⁷ c	4,85 x 10 ⁷ c
A+ G2 _{K2}	10 ⁹	4,48 x 10 ⁷ e	3,19 x 10 ⁷ c	2,64 x 10 ⁷ b	3,57 x 10 ⁷ bc
A+ G2 _{K3}	10 ⁹	4,3 x 10 ⁷ de	3,58 x 10 ⁷ d	2,19 x 10 ⁷ b	3,41 x 10 ⁷ b
A+ G2 _{K4}	10 ⁹	4,5 x 10 ⁷ e	3,27 x 10 ⁷ c	2,08 x 10 ⁷ b	3,03 x 10 ⁷ b

Keterangan: A adalah bakteri *Azospirillum* sp., P2 adalah herbisida paraquat 2 berbahan aktif paraquat diklorida 310 g/l, dan G2 adalah herbisida glifosat 2 berbahan aktif isopropil amina glifosat 531 g/l, K1, K2, K3, dan K4 adalah perbedaan konsentrasi yaitu konsentrasi satu sampai empat, bilangan yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama berpengaruh berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Berdasarkan data analisis ragam (anova) pada lampiran 2 menunjukkan bahwa perlakuan pada waktu 10 menit menghasilkan perlakuan berpengaruh nyata terhadap kerapatan bakteri. Pada waktu 10 menit kerapatan bakteri lebih tinggi adalah pada perlakuan A+G2_{K1}, A+G2_{K2}, A+G2_{K3}, dan A+G2_{K4}. Kerapatan lebih tinggi dari keempat perlakuan adalah perlakuan A+G2_{K4} memiliki nilai kerapatan bakteri paling besar diantara semua perlakuan sebesar 4,5 x 10⁷.

Pada waktu 24 Jam, perlakuan berpengaruh nyata terhadap kerapatan bakteri berdasarkan tabel anova pada lampiran 2. Kerapatan bakteri yang paling adalah pada perlakuan A+G2_{K1}, A+G2_{K2}, A+G2_{K3}, dan A+G2_{K4}. Nilai pada perlakuan tersebut berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Nilai yang ditunjukkan pada waktu 24 jam ini menurun dibandingkan pada waktu

0 menit. Nilai yang paling besar diantara keempat perlakuan adalah pada perlakuan A+G2_{K3} yaitu $3,58 \times 10^7$.

Pada waktu 48 jam menghasilkan perlakuan berpengaruh nyata terhadap kerapatan bakteri. Kerapatan bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan A+H4_{K1} dengan nilai $3,83 \times 10^7$. Nilai pada perlakuan tersebut mengalami peningkatan dari waktu 24 jam. Sedangkan perlakuan yang lain mengalami nilai kerapatan bakteri yang menurun dari waktu 24 jam.

Pada waktu 72 jam perlakuan juga berpengaruh nyata terhadap kerapatan bakteri. Kerapatan bakteri tertinggi diantara perlakuan lain adalah pada perlakuan A+G2_{K1} dan A+G2_{K2}. Nilai kerapatan pada perlakuan A+G2_{K1} sebesar $4,85 \times 10^7$ dan A+G2_{K2} sebesar $3,57 \times 10^7$. Nilai kerapatan bakteri yang ditunjukkan perlakuan tersebut pada waktu 72 jam tersebut meningkat dari waktu 48 jam.

Berdasarkan hasil pengamatan di atas, diketahui bahwa perlakuan yang memberi pengaruh nyata adalah perlakuan dengan aplikasi herbisida glifosat 2. Perlakuan dengan dosis yang meningkat menyebabkan penurunan kerapatan bakteri. Hal tersebut diduga kerapatan bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh media yang mengandung herbisida dengan konsentrasi yang ditingkatkan, tetapi juga dapat dipengaruhi oleh faktor yang lain. Faktor lain tersebut seperti faktor fisiologis, genetik dan faktor eksternal. Toleransi terhadap pestisida pada umumnya disebabkan oleh perubahan fisiologis yang mendorong metabolisme mikroba untuk pembentukan jalur metabolik baru sehingga melewati reaksi biokimia yang dihambat oleh pestisida tertentu (Bellinaso *et al.*, 2003).

Herbisida yang mengandung bahan aktif paraquat merupakan herbisida pasca tumbuh, tidak aktif apabila diaplikasikan melalui tanah dan bersifat tidak selektif. Herbisida paraquat diklorida memiliki efek toksisitas terhadap organisme eukariotik (Suntres, 2002). Sedangkan herbisida yang berbahan aktif glifosat merupakan herbisida yang sering dikelompokkan kedalam glycine derivative ini merupakan herbisida non-selektif, diaplikasikan sebagai herbisida pascatumuh, bersifat sistemik, dan diserap oleh daun tumbuhan, tapi segera tidak aktif jika masuk kedalam tanah. Glifosat merupakan penghambat 5-*enolpyruvylshikimate-3-phosphonate syntese*, EPSPS, yaitu enzim yang mempengaruhi biosintesis asam aromatik. Dengan adanya glifosat, sintesis asam amino yang penting untuk pembentukan protein akan terhambat (Tomlin, 2009).

Namun demikian, ketahanan bakteri *Azospirillum* sp. terhadap aplikasi herbisida pada uji *in vitro* 2 ini merupakan keunggulan dari bakteri tersebut. Peningkatan konsentrasi herbisida menjadi empat kali tingkatan tidak mempengaruhi penurunan kerapatan secara signifikan dari masing-masing konsentrasi tersebut. Penurunan kerapatan dari waktu 10 menit sampai 72 jam adalah pada tingkat 10^7 . Telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya bahwa bakteri *Azospirillum* sp. memiliki kelebihan yang luar biasa. *Azospirillum* adalah genus bakteri yang memiliki sifat microaero-filateli, heterotrofik, dan diazotrofik. Bakteri tersebut secara aktif terlibat dalam fiksasi heterotrofik nitrogen pada beberapa asosiasi bakteri padi (Charyulu dan Rao 1978). Terjadinya fiksasi nitrogen oleh *Azospirillum* sp. di akar padi dan tanah juga telah dilaporkan (Nayak dan Rao, 1982). Telah dilaporkan juga oleh Gałazka *et al.* (2011) aplikasi *Azospirillum* spp. di padang rumput memiliki efek positif pada proses degradasi PAHs (*polycyclic aromatic hydrocarbons*) di tanah yang baru tercemar campuran PAHs dan solar. Kemampuan *Azospirillum* spp. yang menempati daerah akar dan bagian dalam akar rumput bermanfaat dalam memfiksasi nitrogen dan menggunakan hidrokarbon aromatik sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi untuk bioremediasi tanah yang tercemar dengan PAH pada suhu yang terbatas (Gałazka *et al.*, 2011).

4.3 Ketahanan PGPR terhadap aplikasi Herbisida Pada Uji *In Vivo*

Pengamatan uji *in vivo* dilakukan pada waktu 10 menit, 24, dan 48 jam dengan mengambil sampel tanah dan mengukur kerapatan bakteri (OD) pada waktu tersebut. Sampel tanah yang diambil pada waktu 10 menit, 24, dan 48 jam di uji dengan metode *dilution plate* bertingkat dengan tingkat pengenceran sampai 10^{-8} . Kerapatan yang diperoleh pada uji *in vivo* ini merupakan kerapatan mikroba, karena kondisi tanah untuk pengujian tidak steril, maka akan tumbuh berbagai macam mikroba dalam tanah. Namun demikian, peran bakteri *Azospirillum* sp. juga sangat berpengaruh terhadap nilai kerapatan tersebut. Oleh karena itu, pada uji *in vivo* ini diperoleh kerapatan mikroba pada waktu 10 menit, 24, dan 48 jam yang ditampilkan pada tabel 6.

Tabel 6. Kerapatan mikroba pada uji *in vivo*

Perlakuan	Waktu Ke- (cfu/ml)			
	0 Menit	10 Menit	24 jam	48 jam
Kontrol	10 ⁹	3,23 x 10 ⁶ a	1,83 x 10 ⁶ a	2,73 x 10 ⁶ a
Herbisida P2	10 ⁹	2,43 x 10 ⁶ a	2,26 x 10 ⁶ a	1,3 x 10 ⁶ a
Herbisida G2	10 ⁹	3,76 x 10 ⁶ a	3,8 x 10 ⁶ b	5,83 x 10 ⁶ a

Keterangan: Perlakuan kontrol dengan aquades, Herbisida P2 adalah perlakuan dengan aplikasi herbisida paraquat (berbahan aktif paraquat diklorida 310 g/l, Herbisida G2 adalah perlakuan dengan aplikasi glifosat (berbahan aktif isopropil amina glifosat 531 g/l), bilangan yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama berpengaruh tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Berdasarkan pada tabel 6, dapat diketahui kerapatan mikroba mengalami fluktuasi dari waktu 10 menit, 24 jam, dan 48 jam. Aplikasi bakteri *Azospirillum* sp. pada uji *in vivo* memengaruhi kerapatan mikroba pada masing-masing perlakuan. Menurut analisis ragam (anova) pada lampiran 3, perlakuan memberi pengaruh nyata terhadap kerapatan mikroba pada waktu 24 jam. Sedangkan pada waktu 0 dan 48 jam, perlakuan tidak memberi pengaruh nyata terhadap kerapatan mikroba. Namun, kerapatan mikroba pada perlakuan dengan aplikasi herbisida glifosat 2 mengalami peningkatan dari waktu 10 menit sampai 48 jam, dan memiliki kerapatan lebih tinggi dari perlakuan yang kontrol dan aplikasi herbisida paraquat 2. Hal tersebut diduga tingkat toleransi dan resistensi bakteri *Azospirillum* sp. sangat tinggi pada perlakuan aplikasi herbisida glifosat 2. Menurut literatur, beberapa kelompok mikroba tertentu memiliki respon positif terhadap kehadiran pestisida karena dapat memanfaatkannya sebagai sumber karbon, namun sementara kelompok lainnya menjadi tidak dapat berkembang dan bahkan mungkin dalam kurun waktu yang lama akan tertekan oleh keberadaan pestisida yang akhirnya menjadi punah dari lingkungannya (Taiwo dan Oso, 1997; Das *et al.*, 2005). Kelompok mikroba yang dapat bertahan hidup pada tanah yang tercemar pestisida merupakan suatu hasil penyaringan secara alamiah (Newton *et al.*, 2009).

Telah dilaporkan juga bahwa penggunaan glifosat dalam waktu yang lama pada tanah juga dapat meningkatkan populasi bakteri heterotrofik secara signifikan (Partoazar, 2011). Selain itu aplikasi bakteri pada tanah yang mengandung glifosat juga meningkatkan sumber P adalah daripada sumber-sumber N dan C (Partoazar, 2011).