

**POTENSI BAKTERI SERASAH TANAMAN PINUS  
DI UB FOREST SEBAGAI BIODEGRADATOR  
FUNGISIDA MANCOZEB**

Oleh

**EKA ARIF WIBAWA HADI SAPUTRA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Penelitian : Potensi Bakteri Serasah Tanaman Pinus di UB Forest sebagai Biodegradator Fungisida Mancozeb

Nama Mahasiswa : Eka Arif Wibawa Hadi Saputra

NIM : 145040201111122

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

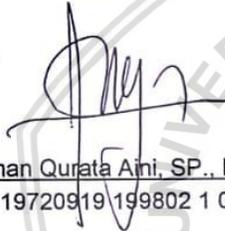
Program Studi : Agroekoteknologi

Laboratorium : Bakteriologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,



Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.  
NIP. 19720919 199802 1 001



Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.  
NIK. 201409880504 2 001

Diketahui  
Ketua Jurusan



Drs. H. Djij Pantja Astuti, MS.  
NIP. 1955 1018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan:

**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan  
**MAJELIS PENGUJI**

Penguji I



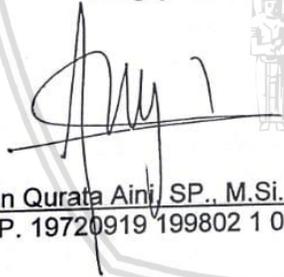
Antok Wahyu S., SP., MP.  
NIK. 201304841014 1 001

Penguji II



Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.  
NIK. 201409880504 2 001

Penguji III



Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.  
NIP. 19720919 199802 1 001

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS  
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 02 AUG 2018



## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di Perguruan Tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2018

Eka Arif Wibawa Hadi Saputra



## RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Eka Arif Wibawa Hadi Saputra dilahirkan di Kalipapan, Negeri Agung, Kabupaten Way Kanan, Lampung pada tanggal 26 September 1995 sebagai putra pertama dari dua bersaudara dari Bapak Suhadi dan Ibu Siti Mursinah. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Islam Terpadu Bustanul Ulum tahun 2002-2008, kemudian penulis melanjutkan ke SMP Islam Terpadu Bustanul Ulum pada tahun 2008 sampai dengan tahun 2011. Pada tahun 2011 sampai tahun 2014 penulis melanjutkan sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur SNMPTN.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif sebagai asisten praktikum mata kuliah Botani, Teknologi Pupuk dan Pemupukan, Hama dan Penyakit Penting Tanaman, Manajemen Hama dan Penyakit Terpadu, dan Pertanian Berlanjut. Penulis pernah mengikuti kepanitiaan *Indonesian Student Summit* 2015 dan Bina Desa Nasional 2016. Penulis juga pernah menjadi Staff Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FP UB tahun 2015 dan Ketua Umum Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (HIMAPTA) FP UB 2017. Kemudian, penulis pernah melaksanakan kegiatan Magang Kerja selama 3 bulan di PT. BASF Indonesia pada tahun 2017.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas segala bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak yang telah membantu penelitian ini, terutama kepada:

1. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
2. Luqman Qurata Aini, SP.,M.Si.,Ph.D. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP.,M.Sc atas segala kesabaran, nasehat, arahan, dan bimbingannya dalam penyelesaian skripsi.
3. Bapak, Ibu, keluarga, dan semua saudara yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.
4. Seluruh dosen Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas ilmu-ilmu dan arahan yang diberikan.
5. Tenaga kependidikan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan atas fasilitas, bimbingan dan bantuan yang diberikan.
6. Keluarga HIMAPTA 2017, Keluarga HPT 2016, Keluarga LQA squad, dan teman-teman Lab Bakteriologi 2018 yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.

## RINGKASAN

**Eka Arif Wibawa Hadi Saputra. 14504020111122. Potensi Bakteri Serasah Tanaman Pinus di UB Forest sebagai Biodegradator Fungisida Mancozeb. Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP.,M.Si.,Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc Sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.**

---

Salah satu bahan aktif yang banyak terkandung didalam fungisida adalah mancozeb. Fungisida berbahan aktif mancozeb merupakan fungisida yang bekerja secara kontak dan berspektrum luas. Penggunaan mancozeb dikhawatirkan dapat mengganggu kesehatan tanah dan kelangsungan hidup organisme tanah. Salah satu upaya untuk menurunkan atau menghilangkan residu pestisida di lingkungan yaitu dengan melakukan remediasi. Proses remediasi yang menggunakan mikroorganisme dikenal sebagai bioremediasi. Tujuan penelitian untuk mengetahui manfaat biodiversitas bakteri serasah tanaman pinus di UB Forest dan mengetahui jenis bakteri yang berpotensi sebagai biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb.

Penelitian dilaksanakan di UB Forest, kawasan lereng Gunung Arjuno, Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Karangploso, Kabupaten Malang dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang mulai bulan Februari 2018 sampai Juni 2018. Penelitian dilakukan dalam 5 tahap yaitu: (1) pengambilan sampel serasah (2) isolasi bakteri serasah (3) seleksi bakteri serasah (4) uji biodegradasi fungisida mancozeb secara *in vitro* (5) Identifikasi bakteri terpilih sampai tingkat genus.

Hasil isolasi dari serasah tanaman pinus di UB Forest diperoleh 35 isolat bakteri. Kemudian dilakukan seleksi kemampuan hidup bakteri pada media NA+mancozeb dan uji hipersensitif sehingga diperoleh 9 isolat bakteri. Pada uji biodegradasi fungisida mancozeb secara *in vitro* hasil rerata diameter *Trichoderma* sp. setelah hari ke-7 pengamatan menunjukkan bahwa kontrol A (NB) lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lain sebesar 8,27 cm dan berbeda nyata dengan kontrol B (NB+mancozeb). Pada perlakuan 9 isolat bakteri diketahui bahwa rerata diameter

*Trichoderma* sp. pada isolat P2, P11, P23, dan P26 tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Sedangkan pada isolat P27, P34, P37, P38, dan P43 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Berdasarkan hasil uji biodegradasi 9 isolat bakteri terdapat 4 isolat bakteri yang menunjukkan hasil rerata pertumbuhan *Trichoderma* sp. terbesar berturut-turut yaitu P26 sebesar 7,63 cm; P2 sebesar 7,53 cm; P11 sebesar 7,37 cm; dan P23 sebesar 5,27 cm. Hasil identifikasi 9 isolat bakteri yang berpotensi sebagai biodegradator merupakan genus *Erwinia* yaitu isolat P2 dan P34; genus *Xanthomonas* yaitu isolat P11, P26, dan P27; dan genus *Pseudomonas* yaitu P23, P37, P38, dan P43.



## SUMMARY

**Eka Arif Wibawa Hadi Saputra. 14504020111122. Potential Bacteria of Pine Litter in UB Forest as Mancozeb Fungicide Biodegradator. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP.M.Si.Ph.D. as main supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc as companion supervisor.**

---

One of the many active ingredients contained in the fungicide is mancozeb. Fungicide mancozeb is a fungicide that works in contact and broad spectrum. The use of mancozeb is feared to interfere with soil health and the survival of soil organisms. One attempt to reduce or eliminate pesticide residues in the environment is called remediation. The remediation process using microorganisms is known as bioremediation. This study aims to determine the benefits of biodiversity of pine plant litter in UB Forest and to know the type of bacteria potentially as biodegradator fungicide mancozeb.

The research was conducted at UB Forest, Arjuno Mountain Slopes, Sumpersari Village, Tawang Argo Village, Karangploso, Malang Regency and Plant Disease Laboratory, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang from February 2018 to June 2018. The study was conducted in 5 stages: (1) litter sampling (2) isolation of litter bacteria (3) litter bacterial selection (4) biodegradation test of mancozeb fungicide in vitro (5) Identification of selected bacteria to genus level.

The isolation result from pine tree litter in UB Forest obtained 35 bacterial isolates. Then performed the selection of bacterial survival on NA + mancozeb media and hypersensitive test to obtain 9 bacterial isolates. In mancozeb fungicide biodegradation test in vitro the mean diameter of *Trichoderma* sp. after the 7th day observation showed that control A (NB) was greater than the other treatment of 8.27 cm and was significantly different from control B (NB + mancozeb). In the treatment of 9 bacterial isolates it was known that the average diameter of *Trichoderma* sp. in isolates P2, P11, P23, and P26 were not significantly different from control treatments. While in isolates P27, P34, P37, P38, and P43 showed significantly different results

with control treatment. Based on the result of biodegradation test of 9 bacterial isolates there are 4 bacterial isolates showing the average growth rate of *Trichoderma* sp. the largest respectively, namely P26 of 7.63 cm; P2 of 7.53 cm; P11 of 7.37 cm; and P23 of 5.27 cm. The identification of 9 potential bacterial isolates as biodegradator were *Erwinia* genus, namely isolates P2 and P34; genus *Xanthomonas* ie isolates P11, P26, and P27; and *Pseudomonas* genus P23, P37, P38, and P43.



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Bakteri Serasah Tanaman Pinus di UB Forest sebagai Biodegradator Fungisida Mancozeb”. Penulis mengucapkan terimakasih atas segala bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak yang telah membantu penelitian ini, terutama kepada:

1. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
2. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc atas segala kesabaran, nasehat, arahan, dan bimbingannya dalam penyelesaian skripsi.
3. Bapak, Ibu, keluarga, dan semua saudara yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.
4. Seluruh dosen Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas ilmu-ilmu dan arahan yang diberikan.
5. Tenaga kependidikan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan atas fasilitas, bimbingan dan bantuan yang diberikan.
6. Keluarga HIMAPTA 2017, Keluarga HPT 2016, Keluarga LQA squad, dan teman-teman Lab Bakteriologi 2018 yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.

Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat untuk banyak pihak serta bisa memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang perlindungan tanaman.

Malang, Juli 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	i
<i>SUMMARY</i> .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Hipotesis .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Bioremediasi .....	4
2.2 Mancozeb .....	5
2.3 UB Forest .....	6
2.4 Serasah .....	7
2.5 Bakteri Bioremediator Pestisida .....	8
III. METODE PENELITIAN .....	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	11
3.2 Alat dan Bahan .....	11
3.3 Metode Pelaksanaan .....	11
3.4 Analisis Data .....	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	20
4.1 Isolasi Bakteri dari Serasah Tanaman Pinus .....	20
4.2 Seleksi Bakteri Serasah di UB Forest .....	21
4.3 Uji Hipersensitif .....	23
4.4 Uji Biodegradasi Fungisida Mancozeb secara <i>In Vitro</i> .....	24
4.5 Karakterisasi Bakteri Serasah Tanaman Pinus .....	26
4.5.1 Karakterisasi Morfologi .....	26

4.5.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia .....	28
4.5.3 Identifikasi Bakteri hasil eksplorasi.....	33
V. PENUTUP.....	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA .....	37
LAMPIRAN.....	40



**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	Nilai BMR Mancozeb pada berbagai komoditas pertanian .....	6
2.	Hasil seleksi bakteri yang mampu hidup pada media NA+mancozeb.....	21
3.	Rerata diameter <i>Trichoderma</i> sp. pada uji degradasi mancozeb.....	24
4.	Hasil identifikasi isolat bakteri .....	28

**LAMPIRAN**

1.	Hasil Analisis Ragam Uji Biodegradasi.....	40
----	--	----



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Mikroskopis bakteri genus <i>Pseudomonas</i> .....	9
2.	Mikroskopis bakteri genus <i>Acinetobacter</i> .....	9
3.	Mikroskopis bakteri genus <i>Bacillus</i> .....	10
4.	Kerangka operasional uji biodegradasi fungisida .....	14
5.	Modifikasi uji biakan ganda pada uji degradasi fungisida .....	15
6.	Bagan alir identifikasi bakteri .....	16
7.	Bagan alir identifikasi bakteri .....	17
8.	Hasil isolasi pada pengenceran $10^{-7}$ setelah 48 jam .....	20
9.	Hasil uji hipersensitif (a) kontrol, (b) Isolat P24 (c) Isolat P2 .....	23
10.	Bentuk koloni tunggal bakteri serasah. ....	27
11.	Hasil pengujian KOH 3% .....	30
12.	Hasil pengujian anaerob .....	31
13.	Hasil pengujian pada media King's B .....	31
14.	Hasil pengujian pada media YDC .....	32
15.	Hasil pengujian Isolat P11 pada media YDC dengan suhu 33°C .....	33

### LAMPIRAN

1.	Streak tunggal bakteri terpilih pada media NA .....	42
2.	Hasil seleksi bakteri pada media NA+mancozeb .....	43
3.	Uji Biodegradasi secara in vitro pada hari ke-7 .....	44
4.	Uji Hipersensitif setelah 72 jam .....	45
5.	Hasil uji Gram dengan pewarnaan .....	46
6.	Hasil uji KOH 3% .....	46
7.	Bentuk koloni isolat bakteri pendegradasi fungisida mancozeb .....	47
8.	Hasil uji pigmen fluorescent pada media King's B .....	47
9.	Hasil uji Oksidatif Fermentatif .....	48
10.	Hasil pengujian pada media YDC negatif (putih) .....	48
11.	Hasil pengujian pada media YDC positif (kuning) dengan suhu 33°C .....	48



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Meningkatnya penggunaan pestisida pada lahan pertanian dapat menimbulkan dampak negatif pada lingkungan. Penggunaan pestisida tidak sepenuhnya mengenai sasaran sehingga menimbulkan residu dan berdampak negatif bagi tanah, air, tanaman maupun manusia (Anshori dan Prasetyono, 2016). Sifat pestisida yang persisten dapat mengalami pengendapan yang lama pada tanah sehingga berpotensi menyebabkan pencemaran dan degradasi tanah. Bahaya yang ditimbulkan akibat penggunaan pestisida kimia terutama pada tanah jika tidak segera ditangani dapat mengancam lingkungan dan ekosistem lainnya. Menurut data kementerian pertanian tahun 2011 diketahui bahwa perkembangan pestisida di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun 2006 sampai 2010 sebesar 10%.

Fungisida merupakan jenis pestisida kimia yang sering digunakan petani dalam mengendalikan penyakit pada tanaman yang disebabkan oleh jamur. Jumlah pestisida terdaftar di Indonesia tahun 2010 sebanyak 389 jenis, mengalami kenaikan hampir 50% per 31 oktober 2016 menjadi 674 jenis (Ditjen Prasarana dan Sarana Pertanian, 2016). Salah satu bahan aktif yang banyak terkandung didalam fungisida adalah mancozeb. Mancozeb merupakan fungisida sintetik generasi baru yang mudah terdegradasi lingkungan. Nilai residu pada pengujian 30 hari setelah aplikasi (hsa) pada daun sebesar 0,049 mg/kg sampel dan di tanah hanya 0,011 mg/kg sampel dan jauh lebih rendah dibandingkan hasil analisis pada 15 hsa, yaitu di daun sebesar 0,156 mg/kg sampel dan di tanah sebesar 0,022 mg/kg sampel, sehingga waktu paruh mancozeb di tanah adalah 50%, dandi daun sebesar 58,97% (Tomlin, 2009). Namun, penggunaan mancozeb dikhawatirkan dapat mengganggu kesehatan tanah dan kelangsungan hidup organisme tanah. Menurut FAO, selain pada tanah residu mancozeb juga ditemukan pada buah, residu mancozeb ditemukan dalam bentuk dithiocarbamates sebanyak 62% pada pisang, 58% pada semangka, 60% pada kacang polong, dan 67% pada strawberry, serta residu dalam bentuk ETU ditemukan sebanyak 55-111% pada pisang dan 53-57% pada kacang polong. Senyawa ETU sendiri mempunyai dampak yang berbahaya bagi

manusia. Menurut Environmental Protection Agency (2006), ETU diklasifikasikan dalam grup B2 yang memungkinkan penyebab karsinogen pada manusia.

Salah satu upaya untuk menurunkan atau menghilangkan residu pestisida di lingkungan yaitu dengan melakukan remediasi. Proses remediasi yang menggunakan mikroorganisme dikenal sebagai bioremediasi. Bioremediasi adalah proses penguraian limbah organik atau anorganik dari sampah organik dengan menggunakan organisme (bakteri, fungi, tanaman atau enzimnya) dalam mengendalikan pencemaran pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya di bawah batas yang ditentukan oleh lembaga berwenang dengan tujuan mengontrol atau mereduksi bahan pencemar dari lingkungan (Munir, 2006; Vidali, 2011; dan Singh *et al.*, 2006). Teknologi bioremediasi pada lahan tercemar disebut Biodegradasi. Pestisida didegradasi oleh mikroorganisme yang menggunakan sumber karbon, mineral atau penerima elektron dalam rantai respirasi. Biodegradasi sebagai sebuah solusi yang efisien, ekonomis dan ramah lingkungan menjadi alternatif yang potensial jika dibandingkan teknik konvensional, sayangnya potensi biodegradasi pada berbagai macam pestisida belum sepenuhnya diteliti (Sun *et al.*, 2010).

Penggunaan mikroorganisme dalam proses pemulihan lingkungan tercemar merupakan alternatif pilihan yang ramah lingkungan. Salah satu sumber bahan alami yang kaya dengan mikroorganisme khususnya bakteri adalah serasah tanaman di hutan. Hutan memiliki keanekaragaman hayati (biodiversitas) yang sangat besar dan berpotensi sebagai penghasil serasah yang tinggi. Serasah memiliki peranan yang penting di lantai hutan karena sebagian besar pengembalian unsur hara ke lantai hutan berasal dari serasah. Salah satu hutan yang memiliki biodiversitas tinggi dan ekosistem alami yang masih stabil yaitu UB Forest. UB Forest merupakan hutan pendidikan seluas 554 Ha di kawasan lereng Gunung Arjuno, Kabupaten Malang. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi biodiversitas mikroorganisme khususnya bakteri serasah di hutan UB Forest.

Ketersediaan jumlah serasah yang berlimpah di hutan memiliki potensi jenis mikroorganisme yang tinggi. Menurut penelitian Yulma, *et al.*, (2017) mengisolasi bakteri serasah dari hutan mangrove yang paling dominan ditemukan pada semua jenis

serasah daun mangrove yang terdekomposisi seperti *Bacillus* ada pula bakteri yang hanya ditemukan pada satu jenis mangrove saja seperti *Nocardiae*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Actinobacilus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Plesiomonas* dan *Streptococcus*. Penelitian pada serasah daun *Avicennia alba* diperoleh 8 genus bakteri yaitu *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Corynebacterium*, *Aeromonas* dan *Vibrio*. Jenis bakteri pada genus *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* dan *Rhodococcus* mampu mendegradasi pestisida dari unsur rekalsitran (Rahmansyah dan Sulistinah, 2009). Proses untuk mengembalikan kondisi tanah yang tercemar akibat residu fungisida berbahan aktif mancozeb salah satunya yaitu dengan melakukan eksplorasi bakteri yang terdapat pada serasah tanaman pinus di UB Forest dan ditemukan isolat bakteri serasah tanaman pinus yang mampu mendegradasi fungisida berbahan aktif mancozeb.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang diajukan dari penelitian ini adalah bagaimana potensi bakteri serasah tanaman pinus di UB Forest sebagai biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri dari serasah tanaman pinus di UB Forest dan menyeleksi jenis bakteri dari serasah tanaman pinus yang berpotensi menjadi biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu ditemukan isolat bakteri serasah tanaman pinus yang mampu mendegradasi fungisida berbahan aktif mancozeb serta dapat dijadikan langkah yang strategis dan ramah lingkungan dalam upaya mengurangi residu penggunaan fungisida berbahan aktif mancozeb.

### **1.5 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini yaitu ditemukan jenis bakteri serasah tanaman pinus yang berpotensi sebagai biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bioremediasi

Remediasi merupakan proses dekontaminasi air dan tanah dari senyawa yang berbahaya, seperti hidrokarbon, poliaromatik hidrokarbon (PAH), polutan organik yang persisten (POP), logam berat, pestisida dan lain-lain. Proses remediasi yang menggunakan mikroorganisme dikenal sebagai bioremediasi. Bioremediasi adalah proses penguraian limbah organik atau anorganik polutan dari sampah organik dengan menggunakan organisme (bakteri, jamur, tanaman atau enzimnya) dalam mengendalikan pencemaran pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya di bawah batas yang ditentukan oleh lembaga berwenang dengan tujuan mengontrol atau mereduksi bahan pencemar dari lingkungan (Munir 2006, Vidali, 2011 dan Singh *et al.*, 2006). Kelebihan teknologi ini ditinjau dari aspek komersil adalah relatif lebih ramah lingkungan, biaya penanganan yang relatif lebih murah, dan bersifat fleksibel. Bioremediasi pada akhirnya menghasilkan air dan gas tidak berbahaya seperti CO<sub>2</sub>.

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses bioremediasi adalah mikroorganisme, nutrisi dan lingkungan. Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mendegradasi, mentransformasi dan menyerap senyawa pencemar. Mikroorganisme yang digunakan dapat berasal dari golongan fungi, bakteri, ataupun mikroalga. Jenis nutrisi yang dibutuhkan bagi mikroorganisme, diantaranya unsur karbon (C), Nitrogen (N), Posfor (P) dan lain-lain. Sedangkan faktor lingkungan yang berpengaruh antara lain oksigen, suhu, DO, dan pH.

Kecepatan biodegradasi di tanah tergantung pada empat variabel yaitu ketersediaan pestisida atau metabolit terhadap mikroorganisme, status fisiologis dari mikroorganisme, perkembangbiakan mikroorganisme pendegradasi pestisida pada lokasi terkontaminasi, dan keberlanjutan populasi mikroorganisme (Singh *et al.*, 2006).

Menurut Vidali (2011), bioremediasi ada 2 macam yaitu:

1. Bioremediasi *in situ*

Bioremediasi *in situ* adalah teknologi bioremediasi dimana kegiatan bioremediasi dilakukan pada area yang terkontaminasi oleh suatu zat tertentu tanpa

membuang material yang terkena kontaminasi. Bioremediasi *in situ* dibagi menjadi 2 menurut Environmental Protection Agency (EPA) (2006) yaitu: (a) Bioremediasi *in situ* intrinsik, teknologi terjadi secara alami dalam mendegradasi kontaminan tanpa mengubah kondisi sekarang atau menambahkan amandemen. (b) Bioremediasi *in situ* ditingkatkan, teknologi ini dapat diaplikasikan pada air bawah tanah, zona vadose tanah dengan memasukkan bahan tambahan seperti oksigen, nutrisi, atau menambahkan kelembaban untuk meningkatkan aktivitas populasi mikroorganisme secara natural.

## 2. Bioremediasi *ex situ*

Bioremediasi *ex situ* adalah teknologi bioremediasi yang dilakukan dengan cara membuang material yang terkontaminasi sehingga dapat dimanipulasi dengan teknologi lainnya. Menurut EPA (2006) Bioremediasi *ex situ* dibagi menjadi beberapa teknologi, yaitu: (a) *Land treatment*, yaitu teknik dimana tanah yang terkontaminasi digali dan dipindahkan pada lahan khusus yang secara periodik diamati sampai polutan terdegradasi. (b) *Composting*, yaitu dengan menggunakan proses biologi dengan menggunakan mikroorganisme pada kondisi yang termofilik (40-50°C). (c) *Biopiles*, yaitu mencampurkan tanah yang diambil dengan tanah tambahan, dan ditaruh pada tempat perlakuan yang biasanya terdapat sistem kedap air dan sistem aerasi.

Empat teknik yang dapat digunakan dalam bioremediasi yaitu (i) Melakukan stimulasi aktivitas mikroorganisme asli pada lokasi tercemar dengan penambahan nutrisi, pengaturan kondisi redoks, optimalisasi pH. (ii) Inokulasi mikroorganisme di lokasi tercemar (iii) Penerapan *immobilized enzyme* (iv) Penggunaan tanaman (*phytoremediasi*) (Puspitasari dan Khaeruddin, 2016).

## 2.2 Mancozeb

### Karakteristik

Mancozeb merupakan bahan aktif dari berbagai merk fungisida yang berspektrum luas, non sistemik bersifat protektif, fungisida yang berbahan aktif mancozeb berbentuk tepung yang dapat disuspensikan (*Wettable powder*) berwarna kuning yang diformulasikan untuk mengendalikan penyakit penting yang disebabkan oleh jamur pada pertanaman bawang merah, cabai, kakao, kentang, padi, tembakau, dan tomat.

### Batas Maksimal Residu

Tingkat bahaya residu pestisida pada suatu bahan digambarkan BMR yaitu konsentrasi maksimum residu pestisida yang secara hukum diizinkan atau diketahui sebagai konsentrasi yang dapat diterima pada hasil pertanian yang dinyatakan dalam miligram residu pestisida per kilogram hasil pertanian (Standar Nasional Indonesia, 2007). Berikut ini nilai BMR mancozeb pada berbagai komoditas pertanian buah dan sayur (Tabel 1), yaitu:

Tabel 1. Nilai BMR Mancozeb pada berbagai komoditas pertanian

Komoditas	BMR (Mg/Kg)
Anggur	0,5
Bayam	0,5
Brokoli	1
Kacang Polong (polong dan biji muda)	0,1
Kacang-kacangan (polong dan biji muda)	0,1
Jeruk	0,2
Ketimun	0,2
Kubis	1
Kubis Bunga	1
Melon	0,05
Strawberi	1
Tomat	0,2

### Toksisitas

Bahan aktif mancozeb ditemukan pada tahun 1961 dan dalam penggolongan *Fungicide Resistance Action Commite*(FRAC) termasuk golongan M3, yaitu ditiokarbamat. Golongan ditiokarbamat merupakan fungisida yang bereaksi dan menginaktivasi kelompok sulfhidril asam amino dan enzim sel jamur yang mengakibatkan gangguan metabolisme lipid dan respirasi. Kelas bahaya (WHO) termasuk dalam kelas III (cukup berbahaya) (Petrosida, 2015). Menurut PT Dupont (2011), bahan aktif mancozeb dapat menyebabkan resiko terhadap manusia yaitu menyebabkan kerusakan gen yang diturunkan, merusak kesuburan, membahayakan bayi belum lahir, dan mengakibatkan sensitilasi jika terkena kulit.

### 2.3 UB Forest

Hutan Pendidikan Universitas Brawijaya atau UB Forest Malang ditetapkan oleh Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan pada tanggal 19 September 2016, dengan luas 544,74 ha. UB Forest terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman pada hutan produksi didominasi oleh pinus. Tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat antara lain: kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuranlainnya. UB Forest, terletak di lereng Gunung Arjuno tepatnya di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo dan Karangploso, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, dengan ketinggian 1.200 meter di atas permukaan laut dan berada di lereng Gunung Arjuno yang memiliki ketinggian 3.339 meter (BUA UB, 2017).

Ditinjau dari fungsi ekologi, hutan berfungsi sebagai konservasi, pengatur suhu lingkungan, pengatur kelembapan, pengatur cadangan air, tempat berlindung dan berbiaknya berbagai satwa liar, penyedia oksigen, menghambat angin, mencegah erosi, penghasil buah dan kayu serta sebagai paru-paru bumi. UB Forest merupakan salah satu hutan yang masih cukup baik tegakannya, sehingga hutan ini berfungsi sebagai penyeimbang iklim, penjaga tata air, dan penyerap polusi di Malang (BUA UB, 2017).

### 2.4 Serasah

Serasah merupakan bagian tanaman yang telah mati berupa daun, cabang, ranting, bunga, dan buah yang gugur di permukaan tanah baik yang masih utuh maupun yang telah mengalami pelapukan sebagian. Serasah adalah bahan-bahan yang telah mati, terletak di atas permukaan tanah dan mengalami dekomposisi dan mineralisasi. Komponen-komponen yang termasuk serasah adalah daun, ranting, cabang kecil, kulit batang, bunga dan buah. Serasah memiliki peranan yang penting di lantai hutan karena sebagian besar pengembalian unsur hara ke lantai hutan berasal dari serasah. Serasah juga berguna bagi tanah apabila telah mengalami penguraian, sehingga senyawa organik kompleks pada serasah diubah menjadi senyawa anorganik dan menghasilkan hara mineral yang dimanfaatkan oleh tanaman. Serasah akan mengalami dekomposisi yakni proses penghancuran bahan organik mati secara gradual yang dilakukan oleh agens biologi maupun fisika. Proses dekomposisi sebagian besar adalah proses biologi yang dilakukan oleh organisme dan mikroorganisme sehingga kecepatan dekomposisi

sangat dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme dan organisme tersebut. Penelitian pada serasah daun *Avicennia alba* diperoleh 8 genus bakteri yakni *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Corynebacterium*, *Aeromonas* dan *Vibrio*. Pada penelitian lain, bakteri merupakan salah satu komponen penting yang berperan dalam penguraian serasah daun di ekosistem mangrove. Bakteri yang dihasilkan dari serasah daun mangrove memiliki keanekaragaman namun ada yang paling dominan ditemukan pada semua jenis serasah daun mangrove yang terdekomposisi seperti *Bacillus* ada pula bakteri yang hanya ditemukan pada satu jenis mangrove saja seperti *Nocardiae*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Actinobacillus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Plesiomonas* dan *Streptococcus* (Yulma, et al., 2017).

### 2.5 Bakteri Bioremediator Pestisida

Kelompok mikroorganisme yang memiliki fungsi penting di daerah rhizosfer adalah jamur, bakteri dan protozoa yang membantu pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme seperti peningkatan penyerapan nutrisi, sebagai kontrol biologi terhadap serangan patogen dan juga menghasilkan hormone pertumbuhan bagi tanaman. Beberapa bakteri rhizosfer seperti bakteri simbiotik dari genus *Rhizobium* dan *Barahyrhizobium* selain sebagai bakteri penambat nitrogen bebas juga memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa-senyawa toksik di sekitar perakaran. Bakteri dari genus *Pseudomonas*, diketahui sangat aktif dalam melakukan metabolisme pestisida, banyak organokimia yang mengkontaminasi tanah diketahui telah didegradasi dan digunakan sebagai sumber karbon, termasuk dasinon dan organofosfat lain seperti chlorpyrifos dan parathion (Singh *et al.*, 2006). Selain itu beberapa bakteri seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arthrobacter* sp., *Streptomyces viridans*, dan lain-lain menghasilkan senyawa biosurfaktan atau bioemulsi yang dapat menyerap berbagai jenis logam berat seperti Cd, Cr, Pb, Cu, dan Zn dari tanah yang terkontaminasi (Munir, 2006).

Berikut ini beberapa genus bakteri yang berpotensi sebagai agens bioremediasi:

#### **Bakteri *Pseudomonas* sp.**

Bakteri *Pseudomonas* termasuk dalam golongan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, berbentuk rod (batang), motil dengan satu atau lebih flagela pada

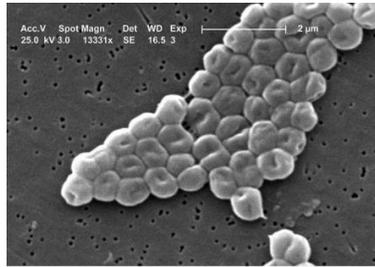
bagian tepi (Gambar 1). Jenis bakteri obligat aerob, tetapi beberapa spesies dapat tumbuh secara anaerob dalam kondisi lingkungan yang terdapat nitrat di dalamnya. Termasuk dalam bakteri katalase positif, yakni dengan memetabolisme gula secara oksidatif (Moore *et al.*, 2006). *Pseudomonas* secara umum tidak memiliki enzim hidrolitik yang penting dalam mendegradasi polimer menjadi monomer namun bakteri ini memiliki sistem *inducible operon* yang mampu menghasilkan enzim tertentu dalam proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa digunakan. Oleh karena itu bakteri ini memiliki peran yang sangat penting dalam proses biodegradasi berbagai macam polimer antara lain senyawa xenobiotic dan pestisida. Salah satu jenis enzim yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. yang berperan dalam biodegradasi adalah serine hidrolase, esterase dan lipase (Shimao, 2001).



Gambar 1. Mikroskopis bakteri genus *Pseudomonas* (Agrios, 2005)

#### **Bakteri *Acinetobacter* sp.**

Bakteri *Acinetobacter* sp. memiliki bentuk seperti batang dengan diameter 0,9 – 1,6  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5- 2,5  $\mu\text{m}$  (Gambar 2). Bakteri *Acinetobacter* sp berbentuk bulat panjang pada fase stasioner pertumbuhannya. Bakteri ini tidak dapat membentuk spora. Tipe selnya adalah gram negatif, tetapi sulit untuk diwarnai. Bakteri ini bersifat aerobik, sangat memerlukan oksigen sebagai terminal elektron pada metabolisme. Semua tipe bakteri ini tumbuh pada suhu 20-30°C, dan tumbuh optimum pada suhu 33-35°C. Bersifat oksidasi negatif dan katalase positif. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menggunakan rantai hidrokarbon sebagai sumber nutrisi, sehingga mampu meremidiasi tanah yang tercemar.

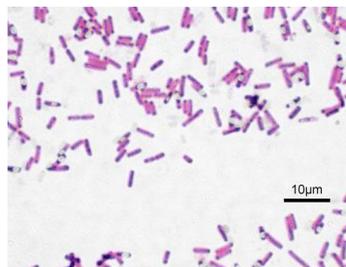


Gambar 2. Mikroskopis bakteri genus *Acinetobacter* (Holt *et al.*, 1994)

Bakteri *Acinetobacter* sp. bisa menggunakan amonium dan garam nitrit sebagai sumber nitrogen, akan tetapi tidak memiliki pengaruh yang signifikan. D-glukosa adalah satu-satunya golonganheksosa yang bisa digunakan oleh bakteri ini, sedangkan pentosa D-ribosa, D- silosa, dan L-arabinosa juga bisa digunakan sebagai sumber karbon oleh beberapa strain (Cookson, 1995).

#### **Bakteri *Bacillus* sp.**

Bakteri *Bacillus* sp. merupakan mikroorganisme sel tunggal, berbentuk batang pendek (biasanya rantai panjang). Mempunyai ukuran lebar 1,0-1,2 mm dan panjang 3-5 mm (Gambar 3). Merupakan bakteri gram positif dan bersifat aerob. Adapun suhu pertumbuhan maksimumnya yaitu 30-50°C dan minimumnya 5-20°C dengan pH pertumbuhan 4,3-9,3. Bakteri ini mempunyai kemampuan dalam mendegradasi minyak bumi, dimana bakteri ini menggunakan minyak bumi sebagai satu-satunya sumber karbon untuk menghasilkan energi dan pertumbuhannya. Pada konsentrasi yang rendah, bakteri ini dapat merombak hidrokarbon minyak bumi dengan cepat. Jenis *Bacillus* sp. yang umumnya digunakan seperti *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* (Cookson, 1995).



Gambar 3. Mikroskopis bakteri genus *Bacillus* (Holt *et al.*, 1994)

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2018 di UB Forest, kawasan lereng Gunung Arjuno, tepatnya di Dusun Sumpersari, Desa Tawang Argo, Karangploso, Kabupaten Malang dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cetok, baskom, kotak es, tabung reaksi, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) type: H.S. 079S, bunsen, autoclave type HL – 36 Ae Hirayama, microwave, jarum Ose, botol media, gelas ukur, labu Erlenmeyer, mikroskop kamera Olympus Sxz7 series, object glass, cover glass, sprayer, glass L, orbital shaker, spatula, cawan petri, korek api, kompor, panci, timbangan analitik, pengaduk, mikropipet Vitlab dig 100-1000  $\mu$ l, tip, jarum suntik, kompor listrik, corong, penggaris, spidol, lemari es, silet, dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel serasah pinus dari Kawasan UB Forest, isolat *Trichoderma* sp., fungisida berbahan aktif Mancozeb 80%, plastik tahan panas, kapas, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, kertas Wattman, agar, dextrose, kentang, tisu, aquades steril, alkohol 70% dan 96%, klorox 2%, KOH 3%, kristal violet, iodine, safranin, NaCl, larutan glukosa, gliserol, spiritus, media Oksidatif-Fermentatif, tanaman tembakau, Potato Dextrose Agar (PDA), Nutrient Broth (NB), dan Nutrient Agar (NA) instan.

#### 3.3 Metode Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan. Berikut ini merupakan tahapan-tahapan dalam melakukan penelitian, yaitu:

##### **Pengambilan sampel serasah**

Penelitian dilakukan dengan mengeksplorasi bakteri yang ada pada serasah tanaman pinus di UB forest dengan cara menentukan 5 plot pengambilan sampel secara acak kemudian masing-masing sampel dikompositkan. Metode pengambilan serasah mengacu pada (Akpor et al., 2006) dengan mengambil serasah dan sebagian tanah pada

plot dengan luas 50 x 50 m, sampel diambil secara acak pada plot tanah kemudian dicampur menjadi satu. Pengambilan sampel dilakukan secara bersamaan dalam satu hari. Pemilihan serasah yang digunakan adalah bagian daun, ranting, dan bagian tanaman yang telah jatuh ke tanah beserta tanah yang ada dibawahnya.

### **Isolasi bakteri serasah di UB Forest**

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat atau *dilution plate*. Sampel serasah yang digunakan ditimbang sebanyak 1 gram. Selanjutnya sampel digerus menggunakan mortar dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml aquadest steril. Setelah itu, suspensi diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades steril 9 ml. Proses pengenceran dilakukan dari tingkat  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-9}$ . Selanjutnya, pada pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ , dan  $10^{-9}$  suspensi diambil masing-masing 100  $\mu$ l menggunakan mikropipet dan diteteskan pada media Nutrient Agar (NA) dan diratakan menggunakan stick L steril lalu diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ . Setiap koloni bakteri yang tumbuh dilakukan purifikasi hingga didapatkan koloni tunggal bakteri.

### **Seleksi bakteri serasah di UB Forest**

Tahap seleksi dilakukan dengan cara uji kemampuan hidup bakteri pada media mengandung fungisida mancozeb. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri hasil eksplorasi pada 1000 ml medium nutrient agar (NA) yang mengandung mancozeb dengan dosis anjuran produk 0,96 g. Bakteri ditumbuhkan dengan metode streak 1 kuadran pada cawan petri yang berisi media NA+mancozeb. Untuk 1 cawan petri yang berisi media NA+mancozeb dibagi menjadi 4 garis kudran, kemudian setiap kuadran ditumbuhkan bakteri yang berbeda dari hasil purifikasi. Pengujian lanjut dilakukan pada bakteri terpilih yang mampu hidup pada media NA+mancozeb.

### **Uji Hipersensitif**

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri hasil seleksi termasuk bakteri patogen tanaman atau tidak. Seleksi dilakukan menggunakan tanaman tembakau yang telah berumur 3 bulan. Pengujian dilakukan dengan melukai

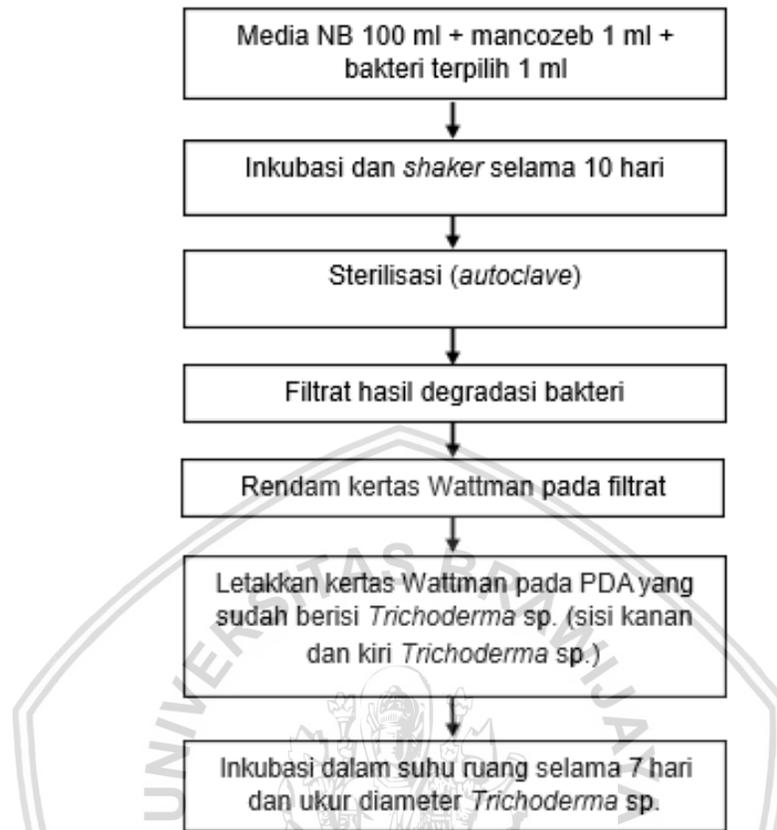
permukaan daun tembakau menggunakan jarum suntik dan memasukkan suspensi bakteri hasil seleksi ke daun tersebut. Kemudian, pengamatan reaksi hipersensitif dilakukan pada 24-72 jam setelah inokulasi dilakukan. Reaksi positif yang menunjukkan bakteri termasuk patogen jika pada bagian yang diinokulasi pada daun tembakau terjadi nekrosis. Sedangkan, bereaksi negatif jika tidak terjadi nekrosis pada daun tembakau yang telah diinokulasi suspensi bakteri. Selanjutnya, pengujian lanjut dilakukan pada bakteri terpilih yang bereaksi negatif.

### **Uji biodegradasi fungisida mancozeb**

Uji biodegradasi menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan berdasarkan jumlah jenis bakteri terpilih yang ditemukan hasil seleksi dan pengamatan dilakukan sebanyak 3 ulangan. Pada uji biodegradasi ini digunakan dua macam kontrol, yaitu kontrol positif dan negatif. Kontrol positif yaitu media ditambahkan pestisida sesuai dengan konsentrasi anjuran namun tanpa penambahan bakteri hasil seleksi. Sedangkan kontrol negatif yaitu media ditambahkan bakteri hasil seleksi dan tanpa pemberian fungisida.

Pengujian dilakukan dengan memodifikasi metode penelitian Sobirin (2017), dengan cara uji biodegradasi fungisida mancozeb pada medium padat. Sebelum dilakukan uji degradasi secara *in vitro* dengan jamur indikator, larutan NB sejumlah 100 ml ditambahkan fungisida mancozeb sejumlah 1 ml sesuai dengan dosis anjuran produk, kemudian ditambahkan sejumlah 1ml dari masing-masing suspensi hasil bakteri terpilih kemudian dikocok dan diinkubasi selama 10 hari. Pada hasil filtrasi dipisahkan sel bakteri dari suspensi dengan cara sterilisasi mikroorganisme menggunakan *autoclave type* HL – 36 Ae Hirayama. Hasilnya yaitu terpisahnya sel bakteri dan cairan filtrat sehingga yang tersisa hanya media NB dan mancozeb yang diduga sudah terdegradasi oleh bakteri terpilih hasil seleksi. Filtrat yang dihasilkan kemudian digunakan untuk media tumbuh indikator.

Berikut ini merupakan kerangka operasional pelaksanaan uji biodegradasi fungisida mancozeb (Gambar 4):

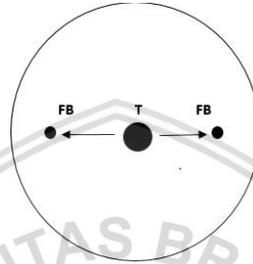


Gambar 1. Kerangka operasional uji biodegradasi fungisida

Indikator yang digunakan adalah *Trichoderma* sp., hal ini dilakukan untuk mengetahui dampak dari fungisida berbahan aktif mancozeb pada jamur antagonis bermanfaat yang ada didalam tanah. Karena mancozeb memiliki pengaruh yang berskala luas ketika diaplikasikan di lapang meskipun sasaran yang terkena merupakan organisme nontarget. Menurut Gusnawaty *et. al.*, (2014) jamur *Trichoderma* sp. merupakan mikroorganisme tanah bersifat saprofit yang secara alami menyerang jamur patogen dan bersifat menguntungkan bagi tanaman. *Trichoderma* sp. merupakan salah satu jenis jamur yang banyak dijumpai hampir pada semua jenis tanah dan pada berbagai habitat yang merupakan salah satu jenis cendawan yang dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati pengendali patogen tanah. Jamur ini dapat berkembang biak dengan cepat pada daerah perakaran tanaman.

Selanjutnya, kertas Wattman berdiameter 0,5 cm dicelupkan ke masing-masing media tersebut selama 1 menit. Pengujian degradasi fungisida oleh jamur

dilakukan dengan memodifikasi dari metode biakan ganda. Miselium dari *Trichoderma* sp. ditanam di tengah cawan petri berdiameter 9 cm. Kemudian kertas Wattman yang telah dicelupkan pada larutan NB+fungisida diletakkan pada sisi kanan dan kiri jamur indikator dengan jarak 3 cm (Gambar 5). Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruangan dan diamati selama 7 hari dengan cara mengukur diameter pertumbuhan *Trichoderma* sp.



Gambar 2. Modifikasi uji biakan ganda pada uji degradasi fungisida (FB adalah kertas Wattman dan T adalah miselium *Trichoderma* sp.)

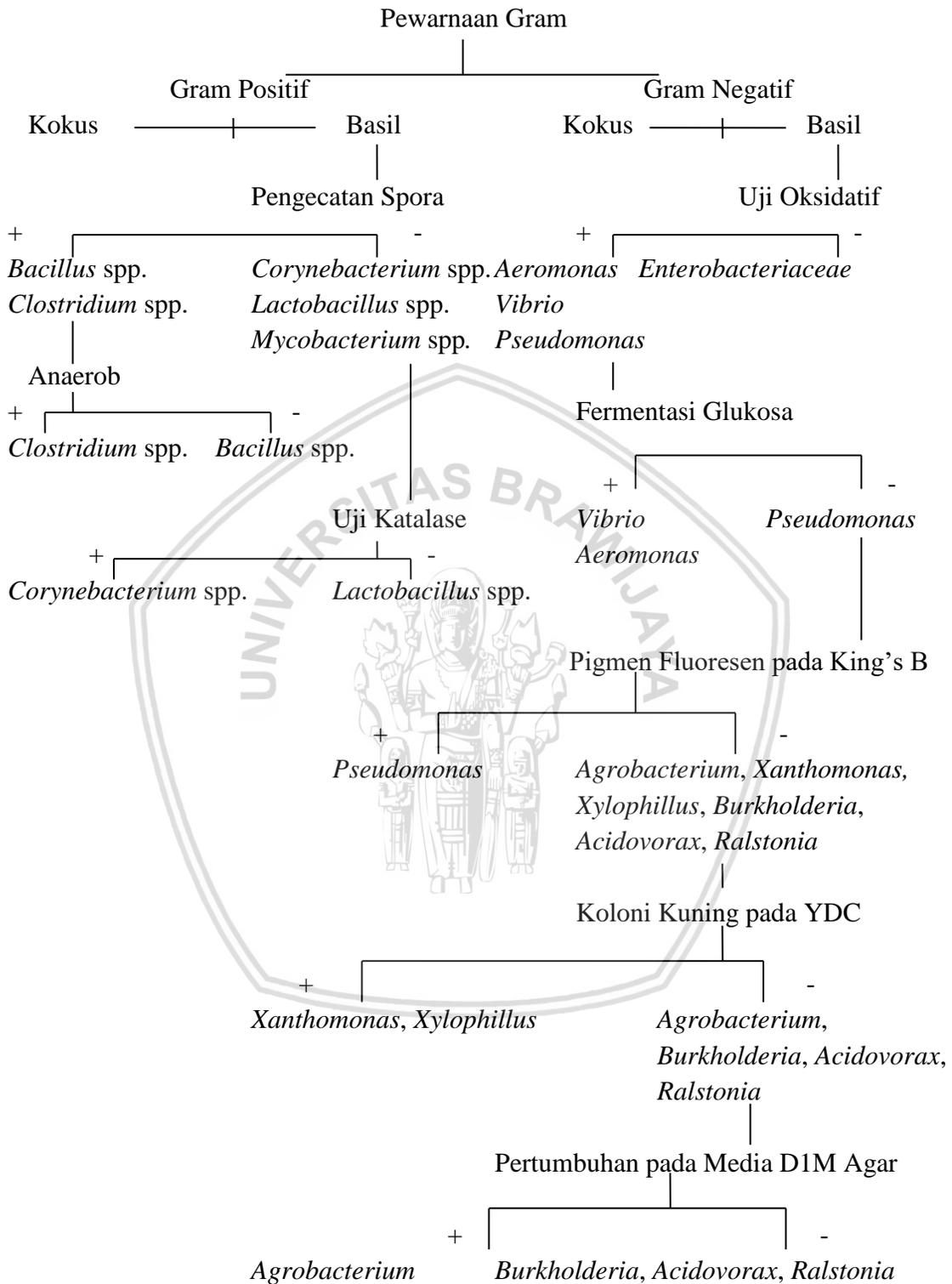
### Variabel Pengamatan

Parameter pengamatan untuk uji degradasi adalah diameter pertumbuhan *Trichoderma* sp. Pengukuran diameter dari pertumbuhan *Trichoderma* sp. di media buatan ini untuk melihat hasil degradasi dari molekul bahan aktif fungisida mancozeb yang ditandai dengan penurunan daya toksisitas mancozeb yaitu dengan melihat pertumbuhan diameter *Trichoderma* sp. Semakin besar penurunan toksisitas mancozeb akan berbanding lurus dengan pertumbuhan diameter dari *Trichoderma* sp..

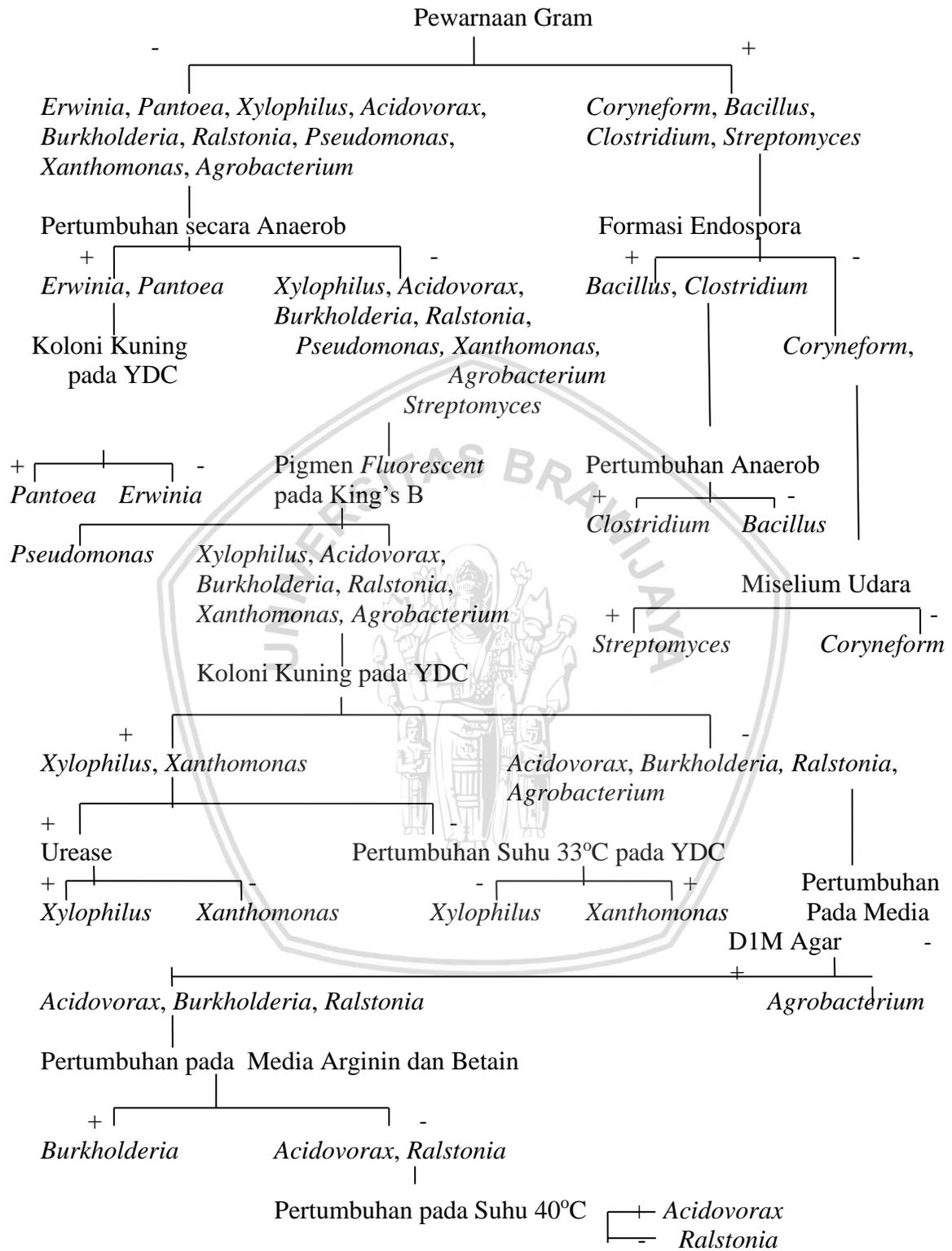
### Identifikasi bakteri terpilih

Setelah rangkaian pengujian bakteri maka diperoleh isolat terpilih dan kemudian akan diidentifikasi secara morfologi dan fisiologi. Proses identifikasi morfologi yaitu bentuk, tepi, warna, dan permukaan koloni. Kemudian hasil identifikasi disesuaikan dengan literature yang sudah ada sebelumnya.

Proses identifikasi secara fisiologis dilakukan dengan karakterisasi bakteri dengan cara membandingkan sifat-sifat fisiologi bakteri berdasarkan kunci identifikasi. Penentuan Genus bakteri terpilih berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Beberapa metode yang digunakan adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) (Holt et al., 1994)



Gambar 4. Bagan alir identifikasi bakteri patogen tumbuhan hingga tingkat genus (Schaad et al., 2001)

### 1. Uji Gram

Pengujian dilakukan dengan menggunakan bakteri murni yang telah dibiakkan berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril. Kemudian bakteri diambil sebanyak satu ose dan diletakkan di atas *object glass* yang sebelumnya telah disterilkan di atas api Bunsen hingga kering. Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan Kristal Violet sebanyak 1 tetes dan didiamkan 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan mengering anginkan kembali di atas api Bunsen. Kemudian, *object glass* diberi larutan Iodine sebanyak 1 tetes dan didiamkan 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan mengering anginkan kembali di atas api Bunsen. Selanjutnya, *object glass* diberi alcohol 70% dan didiamkan 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan mengering anginkan kembali di atas api Bunsen. Tahap berikutnya, pengecatan menggunakan safranin selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan. Pada proses pengamatan *object glass* dilakukan dibawah mikroskop dan ditetesi minyak immerge. Hasil yang diperoleh yaitu bakteri Gram positif akan menunjukkan warna biru-ungu dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah.

### 2. Uji Kelarutan KOH 3%

Pengujian dilakukan dengan menggunakan bakteri murni yang telah dibiakkan berumur 24 jam dan disuspensikan di atas *object glass* yang telah ditetesi KOH 3%. Kemudian, hasil suspensi tersebut ditarik-tarik ke atas menggunakan jarum ose. Hasil yang diperoleh yaitu, reaksi positif jika bakteri tidak membentuk benang lendir dan reaksi negatif jika suspensi bakteri membentuk benang lendir ketika ditarik ke atas.

### 3. Pewarnaan Spora

Metode pewarnaan spora dimaksudkan untuk mengetahui apakah bakteri membentuk spora. Langkah pewarnaan spora yaitu, membuat olesan tipis suspensi dari koloni murni bakteri pada gelas objek yang bersih, kemudian kering-anginkan. Setelah olesan bakteri mengering, genangi dengan larutan malachite green 5,0 % (w/v dalam H<sub>2</sub>O) selama 10 menit. Cuci gelas objek dengan air keran yang mengalir, kemudian kering anginkan. Menggenangi olesan bakteri dengan larutan safranin 0,5% (w/v dalam H<sub>2</sub>O) selama 15 detik Bilas gelas objek dengan air keran yang mengalir, kemudian kering anginkan. Selanjutnya mengamati sel-sel bakteridi bawah mikroskop kompon

dengan pembesaran 400x (Spora bakteri akan tampak berwarna hijau, sedangkan sel bakteri berwarna merah).

#### 4. Uji Oksidatif Fermentatif

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji pada media fermentasi glukosa dengan pH 7 dalam tabung reaksi. Komposisi media terdiri dari pepton 2 gram, NaCl 5 gram, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3gram, agar 3 gram, Bromothymoblue (1%) 3 ml. Kemudian bahan-bahan tersebut dicampur dan dilarutkan kedalam 1 liter aquades steril lalu disterilkan menggunakan autoclave. Setiap tabung ditambahkan 0,5 ml larutan glukosa 10% secara aseptis. Kemudian, biakan murni bakter berumur 24 jam ditusukkan pada 2 tabung reaksi yang telah berisi media padat Oksidatif Fermentatif. Lalu, salah satu tabung reaksi ditutup dengan paraffin dan diinkubasi selama 7- 14 hari. Hasil yang diperoleh yaitu, jika terjadi perubahan warna menjadi kuning pada media yang tidak ditutupi paraffin maka reaksi bersifat oksidatif. Jika perubahan warna terjadi pada kedua media dalam tabung reaksi, maka reaksi bersifat fermentatif.

#### 5. Uji Produksi Pigmen Flourescent

Bakteri ditumbuhkan pada media selektif King's B dengan metode streak plate dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian, hasil biakan bakteri yang tumbuh diamati di bawah sinar ultra violet (UV). Hasil yang diperoleh yaitu, reaksi bersifat positif jika bakteri memproduksi pigmen hijau kekuningan yang berpendar.

### 3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji adaptasi dan uji degradasi dianalisis menggunakan analisis ragam dan apabila terdapat perbedaan yang nyata, maka akan dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan (DMRT) pada taraf kesalahan 5%. Analisis data diolah menggunakan Microsoft Excel 2007 dan DSAASTAT.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Isolasi Bakteri dari Serasah Tanaman Pinus

Hasil isolasi bakteri yang diambil dari sampel serasah tanaman pinus di Kawasan UB Forest diperoleh 35 isolat bakteri. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Kemudian hasil pengenceran pada tingkat  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ , dan  $10^{-9}$  dimurnikan pada media NA (Gambar 8).



Gambar 1. Hasil isolasi pada pengenceran  $10^{-7}$  setelah 48 jam

Ekosistem UB Forest memiliki produktivitas yang sangat tinggi melalui sumbangan serasah. Serasah memiliki peran penting dalam menyediakan unsur hara dan bahan organik. Serasah tanaman yang jatuh seperti serasah pinus yang banyak tumbuh di UB Forest akan mengalami proses dekomposisi. Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi adalah bakteri (Yulma, *et al.*, 2017). Keberadaan bakteri di daerah tersebut memiliki peran penting dalam menguraikan serasah tanaman pinus menjadi bahan organik yang dapat digunakan organisme untuk melakukan aktivitas metabolisme. Bakteri terdapat hampir di seluruh ekosistem, yang bertanggung jawab untuk mendegradasi dan mendaur ulang unsur-unsur atau elemen esensial seperti karbon, nitrogen dan fosfor. Sehingga, terdapat potensi yang dapat dikembangkan untuk mendegradasi residu pestisida menggunakan bakteri serasah.

Salah satu faktor kesuburan pada ekosistem UB Forest adalah serasah tanaman pinus yang jatuh dan mengalami proses dekomposisi. Serasah yang terdekomposisi oleh mikroorganisme akan menghasilkan bahan organik yang diserap oleh tanaman. Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi adalah bakteri. Bakteri merupakan salah satu komponen penting yang

berperan dalam penguraian serasah daun di suatu ekosistem hutan. Namun, ketersediaan jumlah dan jenis bakteri akan dipengaruhi oleh jenis serasah yang tersedia. Hal ini disebabkan karena ketersediaan bakteri pengurai pada suatu lokasi akan berbeda tergantung faktor lingkungan yang menyusun suatu jenis ekosistem. Sesuai dengan penelitian Yulma, *et al.*, (2017) mengisolasi bakteri dari serasah daun mangrove memiliki keanekaragaman namun ada yang paling dominan ditemukan pada semua jenis serasah daun mangrove yang terdekomposisi seperti *Bacillus* ada pula bakteri yang hanya ditemukan pada satu jenis mangrove saja seperti *Nocardiae*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Actinobacilus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Plesiomonas* dan *Streptococcus*.

#### 4.2 Seleksi Bakteri Serasah di UB Forest

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan 35 isolat bakteri pada NA yang mengandung mancozeb dengan konsentrasi 0,96 g/L. Dari jumlah keseluruhan isolat bakteri yang diseleksi, tidak semua isolat bakterimampu hidup pada media NA+mancozeb. Hasil seleksi bakteri serasah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil seleksi bakteri yang mampu hidup pada media NA+mancozeb

Kode Isolat	Hasil Seleksi	Kode Isolat	Hasil Seleksi
P1	-	Pa	+
P2	+	Pb	-
P4	-	Pc	-
P5	-	P3	-
P6	-	P34	+
P7	-	P35	-
P7a	-	P36	-
P10	-	P37	+
P11	+	P38	+
P19	-	P39	-
P21	+	P40	-
P22	-	P41	-
P23	+	P42	-
P24	+	P43	+
P25	-	P44	+
P26	+	P41a	-
P27	+	P42a	-
P29	-		

Keterangan: (+) mampu hidup, (-) tidak mampu hidup

Berdasarkan hasil pengujian terdapat 13 isolat bakteri yang mampu hidup pada media NA+mancozeb, yaitu P2, P11, P21, P23, P24, P26, P27, P34, P37, P38, P43, P44, dan Pa. Hasil seleksi menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri

mampu hidup dan beradaptasi di media NA yang telah diracuni dengan fungisida berbahan aktif mancozeb. Menurut Setiyo *et al.*, (2014) mikroba dapat mendegradasi pestisida apabila mikroba tersebut sudah beradaptasi dengan lingkungan yang mengandung pestisida. Pestisida didegradasi oleh mikroorganisme yang menggunakannya sebagai sumber karbon, mineral atau penerima elektron dalam rantai respirasi (Puspitasari dan Khaeruddin, 2016). Bakteri yang tetap bertahan hidup di lingkungan yang mengandung pestisida pada penelitian ini merupakan isolat bakteri yang mampu hidup dan dapat mendegradasi pestisida (Rahmansyah dan Sulistinah, 2009). Sehingga, 13 isolat bakteri yang mampu beradaptasi memiliki potensi sebagai agens bioremediasi dalam mendegradasi pestisida.

Ketersediaan jumlah isolat bakteri yang berhasil diseleksi dapat dipengaruhi oleh jenis sampel serasah yang digunakan. Serasah tanaman pinus berasal dari Kawasan UB Forest yang memiliki biodiversitas tinggi seperti ekosistem hutan alami. Kondisi tersebut memungkinkan jumlah bakteri yang mampu mendegradasi pestisida lebih sedikit dibandingkan eksplorasi yang dilakukan pada lahan pertanian yang intensif menggunakan pestisida. Hal ini sesuai dengan penelitian Rahmansyah dan Sulistinah (2009), bahwa populasi total bakteri pada tanah pertanian yang didapat cenderung lebih tinggi dari populasi tanah hutan. Hal itu menjadi indikasi bahwa sisa residu pestisida di tanah merupakan sumber karbon yang dapat dimanfaatkan oleh konsorsia mikroba tanah. Oleh karena itu, ketersediaan bakteri yang mampu beradaptasi dalam mendegradasi pestisida pada serasah tanaman pinus akan lebih sedikit.

Pengamatan pertumbuhan isolat bakteri pada media NA+mancozeb dilakukan selama empat hari karena bakteri membutuhkan waktu untuk tumbuh yang lebih lama pada media yang mengandung mancozeb. Hal ini sesuai dengan penelitian Wahyuni *et al.*, (2013) bahwa pada perlakuan kontrol tanpa pestisida waktu replikasi lebih cepat dibandingkan dengan strain yang ditumbuhkan di dalam media pestisida atau toksikan, hal ini diduga makromolekul kromosom yang dimiliki oleh bakteri akan cepat mengalami replikasi sebab tidak ada gangguan dari senyawa lain yang akan masuk ke dalam sel sehingga akan mempengaruhi kondisi di dalam sel bakteri. Sebaliknya apabila kondisi bakteri tersebut diberikan senyawa

toksikan, akan mengganggu jalannya proses pembelahan, sehingga bakteri membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan kontrol.

### 4.3 Uji Hipersensitif

Pengujian hipersensitif dilakukan dengan menginfiltrasi suspensi bakteri pada daun tanaman tembakau. Hasil uji hipersensitif pada 13 isolat bakteri setelah hari ketiga dan keempat menunjukkan perlakuan kontrol dengan aquades steril tidak menimbulkan gejala nekrosis (Gambar 9a), sedangkan terdapat 4 isolat bakteri yang menimbulkan perubahan warna daun tembakau menjadi kuning hingga muncul nekrosis (Gambar 9b).



Gambar 2. Hasil uji hipersensitif (A) Perlakuan kontrol, (B) reaksi (+) Isolat P24, (C) reaksi (-) Isolat P2

Berdasarkan hasil seleksi dengan uji hipersensitif menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri terdapat 9 isolat bakteri yang bukan bakteri patogen (Gambar 9c) dan 4 isolat bakteri yaitu P21, P24, P44, dan Pa berpotensi sebagai bakteri patogen pada tanaman. Reaksi positif pada uji hipersensitif ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrosis setelah diinfiltrasi dengan suspensi bakteri. Gejala tersebut muncul dalam waktu 24-48 jam setelah infiltrasi. Sedangkan dinyatakan negatif apabila bakteri yang diinfiltrasi ke daun tembakau tidak menyebabkan respon hipersensitif. Menurut Zuraidah (2013), reaksi hipersensitif merupakan proses kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Injeksi tanaman tembakau dengan menggunakan inokulum *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), menunjukkan nekrosis dengan munculnya bercak abu-abu gelap dan berubah menjadi kecoklatan pada daun tembakau. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen yang merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Adanya reaksi positif ini membuktikan bahwa bakteri yang diuji merupakan patogen tanaman (Masnilah, *et al.*, 2013).

#### 4.4 Uji Biodegradasi Fungisida Mancozeb secara *In Vitro*

Hasil pengujian biodegradasi fungisida mancozeb oleh 9 isolat bakteri dilakukan dengan ulangan sebanyak 3 kali. Hasil analisis menggunakan uji sidik ragam (ANOVA) dengan taraf kesalahan 5% menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel Lampiran 1). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan *Trichoderma* sp. Hasil rerata diameter *Trichoderma* sp. pada uji degradasi mancozeb dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel 2. Rerata diameter *Trichoderma* sp. pada uji degradasi mancozeb

Perlakuan	Rerata diameter pada pengamatan hari ke- (cm)						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol A (NB)	1.90 e	3.90 c	5.53 c	6.70 c	7.20 c	7.80 d	8.27 c
Kontrol B (NB+Mancozeb)	1.43 cde	2.90 bc	4.00 bc	4.83 bc	5.10 c	5.23 cd	5.30 b
P2	1.70 de	3.80 c	5.40 c	6.20 c	6.97 c	7.23 cd	7.53 bc
P11	1.53 de	3.80 c	5.30 c	6.17 c	6.63 c	6.90 cd	7.37 bc
P23	1.23 bcd	2.70 bc	3.87 bc	4.70 bc	4.83 bc	4.97 bc	5.27 b
P26	1.80 e	3.8 c	5.50 c	6.50 c	7.17 c	7.47 d	7.63 bc
P27	0.67 a	0.83 a	0.93 a	1.13 a	1.17 a	1.20 a	1.20 a
P34	0.57 a	0.53 a	0.67 a	0.70 a	0.70 a	0.70 a	0.70 a
P37	0.87 ab	1.37 a	1.83 a	2.30 a	2.47 a	2.53 a	2.57 a
P38	0.73 ab	1.23 a	1.37 a	1.53 a	1.63 a	1.67 a	1.67 a
P43	1.00 abc	1.73 ab	2.40 ab	2.70 ab	2.77 ab	2.80 ab	2.80 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 7 hari terhadap uji biodegradasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri mampu mendegradasi mancozeb yang sebelumnya telah diinkubasi selama 10 hari. Penilaian kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi fungisida mancozeb menggunakan indikator. Indikator yang digunakan adalah *Trichoderma* sp., hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari fungisida berbahan aktif mancozeb pada jamur antagonis bermanfaat yang ada didalam tanah. *Trichoderma* sp. merupakan salah satu jenis jamur yang banyak dijumpai hampir pada semua jenis tanah dan pada berbagai habitat yang merupakan salah satu jenis yang dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati pengendali patogen tanah (Gusnawaty *et al.*, 2014).

Pada perlakuan kontrol A merupakan kontrol negatif dengan media NB tanpa penambahan fungisida dan isolat bakteri. Sedangkan perlakuan kontrol B merupakan kontrol positif dengan media NB+mancozeb tanpa penambahan isolat bakteri. Pada hari ke-7 pengamatan hasil rerata diameter *Trichoderma* sp. pada kontrol A lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lain sebesar 8,27 cm dan berbeda nyata dengan kontrol B pada hari pengamatan ke-7 setelah dilakukan uji lanjut. Hal ini disebabkan karena pada kontrol A tidak ada penambahan mancozeb sehingga pertumbuhan *Trichoderma* sp. tidak terhambat. Pada perlakuan 9 isolat bakteri diketahui bahwa rerata diameter *Trichoderma* sp. pada isolat P2, P11, P23, dan P26 tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Sedangkan pada isolat P27, P34, P37, P38, dan P43 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Berdasarkan hasil uji biodegradasi 9 isolat bakteri terdapat 4 isolat bakteri yang menunjukkan rerata pertumbuhan *Trichoderma* sp. terbesar berturut-turut yaitu P26 sebesar 7,63 cm; P2 sebesar 7,53 cm; P11 sebesar 7,37 cm; dan P23 sebesar 5,27 cm. Pada perlakuan NB+mancozeb yang ditambahkan isolat bakteri, perlakuan yang menunjukkan hasil rerata pertumbuhan *Trichoderma* sp. terbesar yaitu pada isolat bakteri P26 dengan rerata diameter *Trichoderma* sp. sebesar 7,63 cm meskipun setelah dilakukan uji lanjut tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol B. Sedangkan, pada perlakuan dengan rerata diameter *Trichoderma* sp. paling rendah yaitu isolat bakteri P34 sebesar 0,70 cm dan tidak berbeda nyata dengan hasil perlakuan P27, P37, P38, dan P43.

Berdasarkan hasil uji biodegradasi diperoleh empat isolat terbaik yang diduga mampu mendegradasi pestisida mancozeb berturut-turut, yaitu P26, P2, P11, dan P23. Hasil analisis ragam terhadap rerata diameter pertumbuhan *Trichoderma* sp. meskipun tidak berbeda nyata namun pertumbuhan diameter pada keempat isolat tersebut hampir sama dengan perlakuan kontrol. Hal ini mengindikasikan potensi penggunaan *Trichoderma* sp. dengan pestisida sintetis jenis tertentu secara bersamaan atau bergantian dapat dilakukan untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman. Menurut Supriadi (2013), beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* kompatibel dengan mimba dan spinosad, sedangkan *Trichoderma* sp. kompatibel dengan beberapa jenis

pestisida sintetis, seperti mancozeb, kaptan, deltametrin, monokrotofos, dan imidakloprid.

Pendegradasian pestisida dapat terjadi melalui proses mineralisasi, yang secara utuh hasilnya dimanfaatkan langsung oleh sel-sel mikroba (Rahmansyah dan Sulistinah, 2009). Proses degradasi difasilitasi oleh adanya enzim fungsional yang dimiliki bakteri. Pestisida sebagai komponen asing di lingkungan tanah menimbulkan instabilitas terhadap aktivitas enzim. Fosfatase dan esterase sebagai enzim hidrolisa yang dihasilkan mikroba tanah dapat memutus susunan kimia pestisida yang memiliki susunan rantai labil seperti pada Carbamate, Pyrethroids, Diazinon, Dicamba, Dichloropicolinic Acid, Dimethoate, Phenylalkanoic Ester, Phenylalkanoic Pyrazon, Atrazine, Linuron, Propanil, Chlorpyrifos, dan 2,4-D (Rahmansyah dan Sulistinah, 2009).

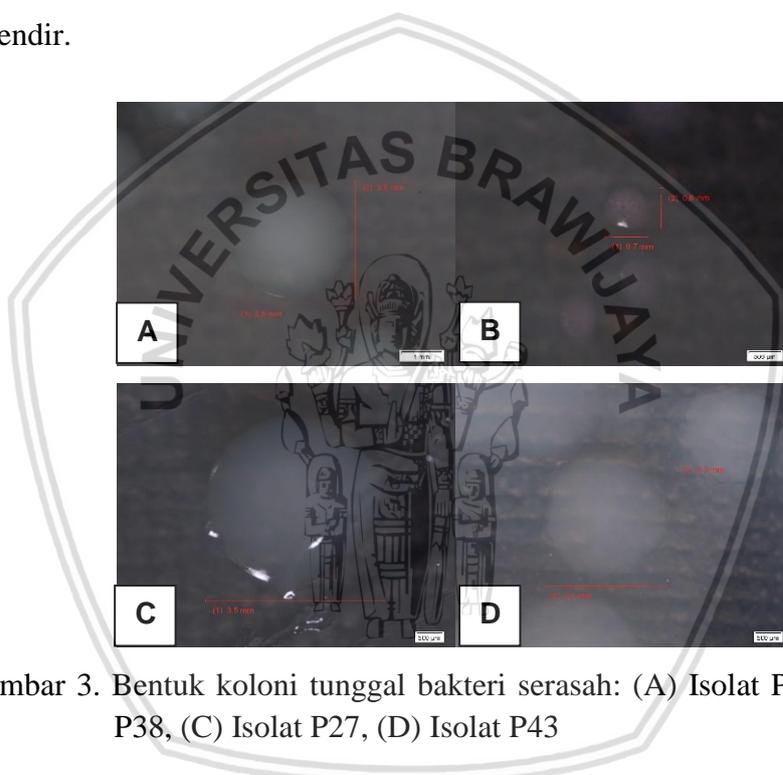
Hasil identifikasi bakteri serasah tanaman pinus yang berhasil dieksplorasi memiliki keanekaragaman yang berbeda dengan ditemukan bakteri genus *Erwinia*, *Xanthomonas*, dan *Pseudomonas*. Bakteri dari genus *Pseudomonas* yaitu isolat P23, diketahui sangat aktif dalam melakukan metabolisme pestisida, banyak organokimia yang mengkontaminasi tanah diketahui telah didegradasi dan digunakan sebagai sumber karbon, termasuk dasinon dan organofosfat lain seperti chlorpyrifos, parathion (Puspitasari dan Khaeruddin, 2016). Bakteri *Pseudomonas* secara umum tidak memiliki enzim hidrolitik yang penting dalam mendegradasi polimer menjadi monomer namun bakteri ini memiliki sistem *inducible operon* yang mampu menghasilkan enzim tertentu dalam proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa digunakan. Oleh karena itu bakteri ini memiliki peran yang sangat penting dalam proses biodegradasi berbagai macam polimer antara lain senyawa xenobiotic dan pestisida. Salah satu jenis enzim yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. yang berperan dalam biodegradasi adalah serine hidrolase, esterase dan lipase (Shimao, 2001).

## 4.5 Karakterisasi Bakteri Serasah Tanaman Pinus

### 4.5.1 Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi bakteri secara morfologi dapat dilihat dari karakteristik koloni tunggal bakteri pada media NA. Bakteri yang diamati ditumbuhkan pada media NA

dengan metode *streak* tunggal dengan umur 24 jam. Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi dan terdapat mukoid atau tidak. Hasil pengamatan menunjukkan bentuk koloni sembilan isolat bakteri yaitu bulat. Pada isolat bakteri P2, P11, dan P26 memiliki warna koloni putih keruh. Pada isolat bakteri P23, P37, dan P38 memiliki warna koloni putih kemerahan. Pada isolat bakteri P27 dan P34 memiliki warna koloni putih susu, sedangkan isolat bakteri P43 memiliki warna koloni putih bening. Bentuk tepian dari sembilan isolat bakteri yaitu rata, sedangkan bentuk elevasi permukaan koloni bakteri semua isolat yaitu cembung. Berdasarkan ciri mukoidnya, semua isolat bakteri memiliki ciri mukoid atau berlendir.



Gambar 3. Bentuk koloni tunggal bakteri serasah: (A) Isolat P2, (B) Isolat P38, (C) Isolat P27, (D) Isolat P43

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni tunggal bakteri yang telah dilakukan didapatkan hasil yang hampir sama pada sembilan isolat bakteri serasah, hanya bervariasi pada karakteristik warna bakteri. Semua isolat bakteri serasah memiliki bentuk bulat, tepi yang rata, elevasi permukaan cembung, dan bersifat mukoid (Gambar 10). Ciri-ciri morfologi bakteri yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri serasah termasuk Gram negatif yang ciri utamanya adalah terdapat mukoid atau berlendir. Hasil karakterisasi secara morfologi pada 9 isolat bakteri serasah dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil karakterisasi bakteri serasah tanaman pinus

Kode Isolat	Karakterisasi morfologi						Karakterisasi fisiologi dan biokimia					Genus
	Bentuk	Elevasi	Warna	Tepi	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Uji KOH 3%	Uji OF	Media YDC	Media King's B		
P2	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Fermentatif	Putih	TU	<i>Erwinia</i> sp.	
P11	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	Kuning*	Tidak berpendar	<i>Xanthomona</i> sp.	
P23	Bulat	Cembung	Putih kemerahan	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	TU	Berpendar	<i>Pseudomonas</i> sp.	
P26	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	Kuning*	Tidak berpendar	<i>Xanthomonas</i> sp.	
P27	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	Kuning*	Tidak berpendar	<i>Xanthomonas</i> sp.	
P34	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Fermentatif	Putih	TU	<i>Erwinia</i> sp.	
P37	Bulat	Cembung	Putih kemerahan	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	TU	Berpendar	<i>Pseudomonas</i> sp.	
P38	Bulat	Cembung	Putih kemerahan	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	TU	Berpendar	<i>Pseudomonas</i> sp.	
P43	Bulat	Cembung	Putih bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	TU	Berpendar	<i>Pseudomonas</i> sp.	

Keterangan: Karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimia bakteri serasah. (TU): tidak diuji, (\*): Uji lanjut pada media YDC dengan suhu 33°C.

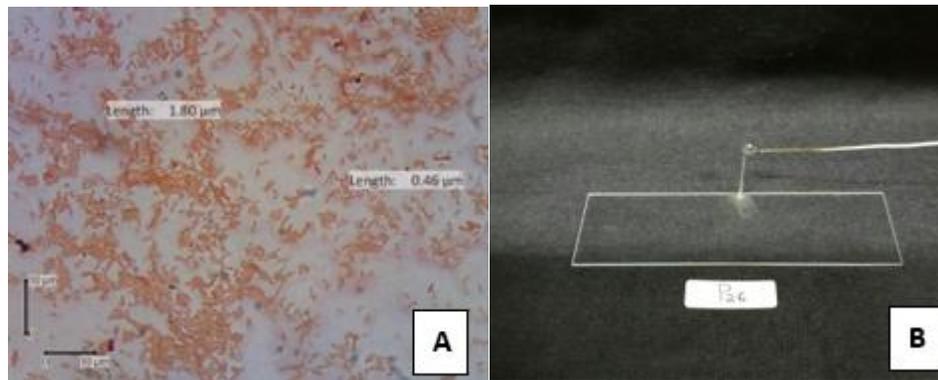
#### 4.5.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Pengujian secara fisiologi dan biokimia mengacu pada metode identifikasi menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Pengujian fisiologi dan biokimia pada isolat bakteri serasah terpilih terdiri dari beberapa tahapan. Pengujian terdiri dari beberapa tahapan berikut: pengujian Gram, pengujian KOH 3%, pengecatan endospora, uji oksidatif-fermentatif, uji katalase, pigmen fluorescent pada media King's B dan pertumbuhan pada media YDC. Karena semua isolat bakteri memiliki gram negatif maka pengecatan endospora dan uji katalase tidak dilakukan. Hasil pengujian fisiologis dan biokimia pada bakteri serasah dapat dilihat pada Tabel 4.

##### 1. Pengujian Gram

Pengujian Gram dilakukan untuk mengetahui bakteri yang diuji termasuk golongan bakteri Gram positif atau Gram negatif. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram dari kesembilan bakteri serasah diketahui bahwa semua bakteri memiliki Gram negatif karena menunjukkan warna merah saat diamati di bawah mikroskop (Gambar 11a). Menurut Schaad *et al.*, (2001), bakteri Gram positif ditandai dengan warna biru atau ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin. Selain itu, pengecatan Gram juga digunakan untuk mengetahui bentuk sel dari bakteri. Oleh karena itu, hasil uji Gram menunjukkan bahwa sembilan isolat yang diuji termasuk dalam Gram negatif dengan bentuk sel batang.

Pengujian Gram dilanjutkan dengan pemberian larutan Kalium Hidroksida (KOH) 3% pada suspensi isolat bakteri. Berdasarkan hasil pengujian KOH 3% diketahui bahwa pada semua isolat bakteri menunjukkan adanya lendir saat ditarik dengan jarum ose (Gambar 11b). Menurut Masnilah *et al.* 2013, Isolat bakteri yang ditambahkan larutan KOH 3% terbentuk lendir lengket dan dapat diangkat lebih dari 1 cm oleh jarum ose merupakan bakteri Gram negatif.



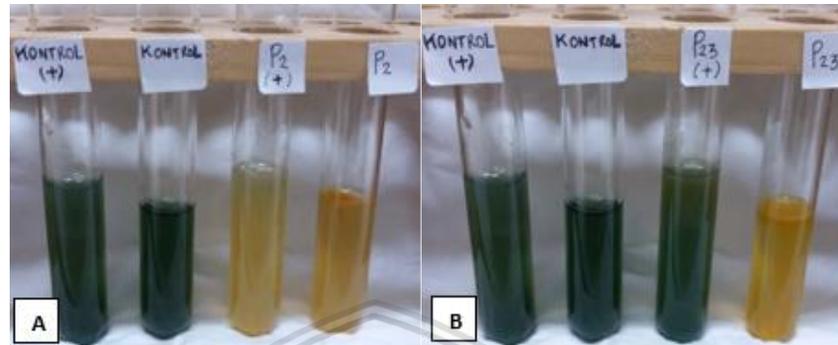
Gambar 4. Hasil pengujian KOH 3%:(A). Uji pengecatan Gram isolat P26 termasuk Gram negatif karena koloni bakteri berwarna merah, (B) Uji KOH 3% isolat P26 terdapat lendir menunjukkan bakteri Gram negatif.

## 2. Pengujian Oksidatif-Fermentatif

Pada pengujian oksidatif-fermentatif diketahui bahwa dua isolat bakteri memiliki sifat fermentatif dan tujuh isolat bakteri memiliki sifat oksidatif. Berdasarkan hasil pengujian anaerob pada isolat bakteri P2 dan P34 bersifat fakultatif anaerob (fermentatif) yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari warna hijau tua menjadi kuning pada media tanpa *water agar* maupun media yang ditambahkan *water agar* (Gambar 12a). Menurut Mustahal dan Waqiah (2012), hasil uji pertumbuhan anaerob apabila terjadi perubahan warna pada media yaitu dari warna hijau-kebiruan menjadi kuning maka dapat dikatakan fermentatif. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam melakukan respirasi (oksidatif) maupun fermentatif karbohidrat.

Pada ketujuh isolat bakteri lainnya yaitu isolat P11, P23, P26, P27, P37, P38, dan P37 hanya mengalami perubahan warna dari hijau tua menjadi kuning pada tabung yang tidak ditutup dengan *water agar*. Hal ini menunjukkan bahwa ketujuh isolat bakteri tersebut positif bersifat oksidatif. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna hijau menjadi kuning yang dimulai dari permukaan media yang tidak tertutup minyak paraffin setelah masa inkubasi 7-14 hari (Masnilah, *et al.*, 2013). Menurut Schaad *et al.*, (2001), sifat oksidatif menunjukkan bahwa bakteri hidup dalam kondisi

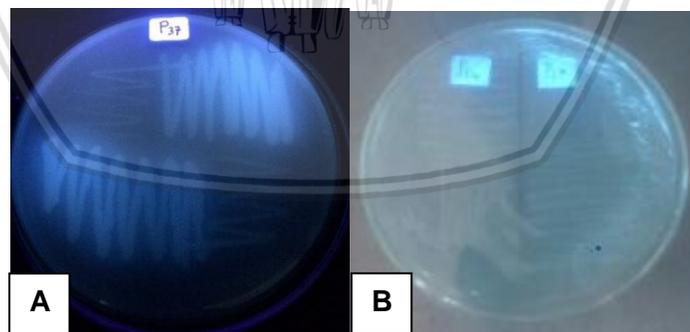
aerob yang ditandai dengan tidak ada perubahan warna dari warna hijau tua menjadi kuning pada media yang ditutup *water agar* (Gambar 12b).



Gambar 5. Hasil pengujian anaerob: (A) Isolat bakteri P2 bereaksi positif yaitu bersifat fermentatif, (B) Isolat bakteri P23 bereaksi negatif yaitu bersifat oksidatif

### 3. Pengujian Pigmen *Fluorecent* pada Media King's B

Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media King's B untuk mengetahui bakteri yang diuji menghasilkan pigmen *fluorescent* atau tidak. Berdasarkan hasil pengujian pada media King's B, diketahui bahwa terdapat empat isolat bakteri yang menunjukkan warna koloni yang berpendar, yaitu P23, P43, P38, dan P37 (Gambar 13a).



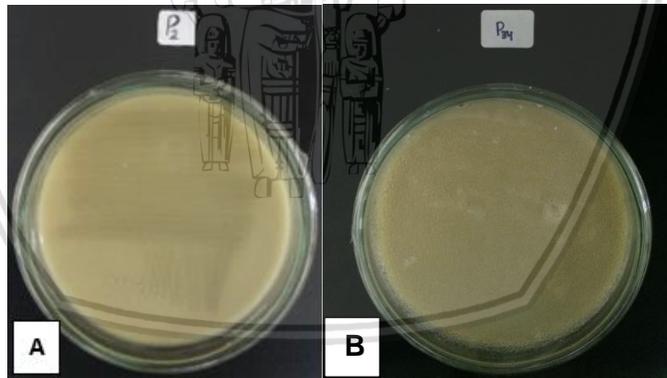
Gambar 6. Hasil pengujian pada media King's B: (A) reaksi (+) Isolat P37, (B) reaksi (-) Isolat P26 dan P27

Isolat bakteri genus *Pseudomonas* yang ditumbuhkan pada medium King's B menunjukkan adanya persamaan karakteristik pertumbuhan koloni, yaitu koloni berbentuk bulat, halus, bening dengan tepi sedikit bergelombang dan memproduksi

pigmen *fluoresen*, hal ini terlihat saat biakan bakteri disinari lampu ultra violet (UV) menghasilkan warna hijau berpendar sehingga digolongkan sebagai bakteri pendar fluor (Masnilah, *et al.*, 2013). Isolat bakteri yang mengeluarkan warna hijau-kebiruan dan berpendar merupakan bakteri *Pseudomonas* dari golongan *fluorescent*. Sehingga, keempat isolat tersebut termasuk golongan bakteri *Pseudomonas* sp, karena bakteri *Pseudomonas* sp. akan menunjukkan warna kebiruan pada media King's B ketika diamati di bawah sinar UV.

#### 4. Pertumbuhan pada Media YDC

Pengujian pertumbuhan bakteri pada media YDC merupakan pengklasifikasian bakteri Gram negatif untuk menentukan bakteri genus *Erwinia* atau genus *Pantoea*. Pertumbuhan isolat bakteri P2 dan P34 pada media YDC menghasilkan koloni berwarna putih (Gambar 14). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri dari genus *Erwinia*. Berdasarkan Schaad *et al.*, (2001), bakteri yang bersifat anaerob (fermentatif) jika ditumbuhkan pada media YDC dan menghasilkan warna koloni putih, maka bakteri tersebut termasuk genus *Erwinia*.



Gambar 7. Hasil pengujian pada media YDC:(A) koloni isolat P2, (B) koloni isolat P34

Pada pengujian sebelumnya isolat P11, P26, dan P27 telah ditumbuhkan pada media King'B namun tidak menghasilkan pigmen *fluorescent*, sehingga dilakukan pengujian kembali pada media YDC dan disimpan didalam inkubator dengan suhu 33°C. Setelah 24 jam pada media YDC ketiga isolat bakteri menghasilkan koloni berwarna kuning (Gambar 15). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan

bakteri dari genus *Xanthomonas*. Berdasarkan Schaad *et al.*, (2001), bakteri yang bersifat aerob (oksidatif) jika ditumbuhkan pada media YDC dan menghasilkan warna koloni putih, maka bakteri tersebut termasuk genus *Xanthomonas*.



Gambar 8. Hasil pengujian Isolat P11 pada media YDC dengan suhu 33°C

#### 4.5.3 Identifikasi Bakteri hasil eksplorasi

Sembilan isolat bakteri serasah terpilih diidentifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia sampai tingkat genus berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) sebagai berikut:

##### a. Isolat P2

Bakteri dengan kode isolat P2 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif (anaerob) dan menunjukkan koloni berwarna putih saat ditumbuhkan pada media YDC. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Erwinia*.

##### b. Isolat P11

Bakteri dengan kode isolat P11 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menunjukkan koloni berwarna kuning saat ditumbuhkan pada media YDC dengan kondisi suhu 33°C. Berdasarkan

buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Xanthomonas*.

**c. Isolat P23**

Bakteri dengan kode isolat P23 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih kemerahan, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menghasilkan pigmen *fluorescent* pada media King's B. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Pseudomonas*.

**d. Isolat P26**

Bakteri dengan kode isolat P26 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menunjukkan koloni berwarna kuning saat ditumbuhkan pada media YDC dengan kondisi suhu 33°C. Berdasarkan buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Xanthomonas*.

**e. Isolat P27**

Bakteri dengan kode isolat P27 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih susu, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menunjukkan koloni berwarna kuning saat ditumbuhkan pada media YDC dengan kondisi suhu 33°C. Berdasarkan buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Xanthomonas*.

**f. Isolat P34**

Bakteri dengan kode isolat P34 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih susu, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif (anaerob) dan menunjukkan koloni berwarna putih saat ditumbuhkan pada media YDC. Berdasarkan buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Erwinia*.

**g. Isolat P37**

Bakteri dengan kode isolat P37 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih kemerahan, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menghasilkan pigmen *fluorescent* pada media King's B. Berdasarkan buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Pseudomonas*.

**h. Isolat P38**

Bakteri dengan kode isolat P38 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih kemerahan, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menghasilkan pigmen *fluorescent* pada media King's B. Berdasarkan buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Pseudomonas*.

**i. Isolat P43**

Bakteri dengan kode isolat P43 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih bening, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mukoid. Hasil pengujian fisiologi dan biokimianya menunjukkan bahwa reaksi Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif (aerob) dan menghasilkan pigmen *fluorescent* pada media King's B. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

(Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk ke dalam genus *Pseudomonas*.



## V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan hasil eksplorasi pada serasah tanaman pinus di UB Forest diperoleh 35 isolat bakteri dan hasil seleksi menunjukkan terdapat 9 isolat bakteri yang mampu hidup pada media fungisida berbahan aktif mancozeb dan tidak bersifat patogen untuk tanaman.
2. Hasil identifikasi 9 isolat bakteriterpilih diketahui termasuk genus *Erwinia*, *Xanthomonas*, dan *Pseudomonas*.
3. Hasil pengujian *In vitro* menunjukkan bahwa bakteri yang berpotensi sebagai biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb yaitu Isolat P26, P2, P11, dan P23.

### 5.2 Saran

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri dari serasah tanaman pinus di UB Forest dan menyeleksi jenis bakteri dari serasah tanaman pinus yang berpotensi menjadi biodegradator fungisida berbahan aktif mancozeb telah berhasil dilakukan. Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu ditemukan isolat bakteri serasah tanaman pinus yang berpotensi sebagai biodegradator fungisida mancozeb telah tercapai. Namun, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan masih terdapat data pengamatan yang menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif, sehingga perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Uji sensitivitas jamur indikator yang akan digunakan terhadap bahan aktif pestisida.
2. Pengujian sampai tingkatan DNA pada isolat bakteri yang ditemukan agar mengetahui spesiesnya secara pasti.
3. Pengujian dan perhitungan residu terhadap bahan aktif yang telah terdegradasi.
4. Perlu dilakukan pengujian tingkat lapang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology Fifth Edition*. New York: Elsevier Academic Press.
- Akpor, O. B., Okoh, A. I., & Babalola, G. O. (2006). Culturable Mikrobial Population Dynamics During Decomposition of Theobrome cacao leaf litters in a Tropical Soil Setting. *Journal of Biological Sciences*, 6(4), 768-774.
- Anshori, A., & Prasetyono, C. (2016). Pestisida Pada Budidaya Kedelai Di Kabupaten Bantul D. I. Yogyakarta. *Caraka Tani – Journal of Sustainable Agriculture*, 31(1), 38-44.
- BUA UB. (2017). UB Forest / Badan Usaha Akademik Universitas Brawijaya. Available at <http://bua.ub.ac.id/ubforest/>.
- Cookson, J. T. (1995). *Bioremediation Engineering : Design and Application*. McGraw-Hill: Inc. Toronto.
- Direktorat Jenderal Prasarana dan Sarana Pertanian. (2016). *Statistik Prasarana dan Sarana Pertanian 2011—2015*. Jakarta.
- Dupont. (2011). *Lembar Data Keselamatan: Delsene MX-80 WP Fungisida*. Jakarta: PT DuPont Agricultural Product Indonesia.
- Environmental Protection Agency. (2006). *In Situ and Ex Situ Biodegradation Technologies for Remediation of Contaminated Sites*. United States: Engineering Issue.
- European, C. (2005). Mancozeb. SANCO/4058/2001 - rev. 4.3.
- Gusnawaty, Taufik, M., Triana, L., & Asniah. (2014). Karakterisasi Morfologis *Trichoderma Spp. Indigenus* Sulawesi Tenggara. *Jurnal Agroteknos*, 4(2), 87-93.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H., Staley, J. T., & William, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. USA: Williams & Wilkins.
- Masnilah, R., Abadi, A. L., Astono, T. H., & Aini, L. Q. (2013). Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame Di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1), 10-14.
- Moore, E. B., Tindall, B. J., Santos, V. P., Pieper, D. H., Ramos, J., & Palleroni. (2006). Nonmedical *Pseudomonas*. *Prokaryotes* 6 , 649-703.

- Munir, E. (2006). Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan.
- Mustahal, & Waqiah, A. (2012). Identifikasi Bakteri Yang Menginfeksi Ikan Garra Rufa (*Cyprinion macrostamus*) Di Balai Besar Karantina Ikan Soekarno-Hatta. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 2(2), 65-70.
- Petrosida. (2015). Menyuburkan Negeri Menuai Prestasi di Era Globalisasi . Gresik: PT. Petrokimia.
- Puspitasari, D. J., & Khaeruddin. (2016). Kajian Bioremediasi Pada Tanah Tercemar Pestisida. *Kovalen*, 2(3), 98-106.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd Edition. St. Paul Minnesota: APS Press.
- Setiyo, Y., Gunam, I., Sumiyati, & Manurung, V. M. (2014). Kajian Populasi Mikroba Pada Proses Bioremediasi Secara *In-Situ* Di Lahan Budidaya Kentang. Seminar Nasional Sains dan Teknologi (Senastek) Denpasar Bali.
- Shimao, M. (2001). Biodegradation of plastics. *Current Opinion of Biotechnology* 12, 242–247.
- Singh, B. K., & Walker, A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol Rev* 30, 428–471.
- Standar Nasional Indonesia. (2007). *Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian*. Badan Standarisasi Nasional.
- Sobirin, A. S. (2017). *Eksplorasi Dan Uji Potensi Khamir Sebagai Bioremediator Residu Fungisida Berbahan Aktif Mankozeb Secara In Vitro*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Sun, W. Y., Chen, L., Liu, J., Tang, J., Chen, P., & Liu. (2010). Conidia immobilization of T-DNA inserted *Trichoderma atroviride* mutant AMT-28 with dichlorvos degradation ability and exploration of biodegradation mechanism. *Bioresource Technology* 101, 9197-9203.
- Supriadi. (2013). Optimasi Pemanfaatan Beragam Jenis Pestisida Untuk Mengendalikan Hama Dan Penyakit Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*, 32(1), 1-9.
- Tomlin, C. D. (2009). *The pesticide manual: a world Ed. 15*. British Crop Production Council.
- Vidali, M. (2011). Bioremediation . An overview. *Pure Appl. Chem*, 7(3), 1163–1172.

- Wahyuni, S., Ardiwinata, A. N., & Sudiana, I. M. (2013). Isolasi Bakteri Pendegradasi Senyawa *Persisten Organic Pollutants* Asal Tanah Inceptisol Karawang. Prosiding Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS, 1, 18-175.
- Yulma, Ihsan, B., Sunarti, Malasari, E., Wahyuni, N., & Mursyban . (2017). Identifikasi Bakteri pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2, 28—33.
- Zuraidah. (2013). Pengujian Beberapa Bakteri Penghambat Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* Pada Tanaman Padi. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*, 5(1), 18-24.



## LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Hasil Analisis Ragam Uji Biodegradasi

## A) Pengamatan Hari ke-1

<b>Sumber</b>					
<b>Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>
perlakuan	6.948484848	10	0.694848	8.189286	2.22E-05 **
Galat	1.866666667	22	0.084848		
Total	8.815151515	32	0.275473		

## B) Pengamatan Hari ke-2

<b>Sumber</b>					
<b>Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>
perlakuan	52.11515152	10	5.211515	10.14631	3.85E-06 **
Galat	11.3	22	0.513636		
Total	63.41515152	32	1.981723		

## C) Pengamatan Hari ke-3

<b>Sumber</b>					
<b>Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>
perlakuan	114.7818182	10	11.47818	11.43659	1.39E-06 **
Galat	22.08	22	1.003636		
Total	136.8618182	32	4.276932		

## D) Pengamatan Hari ke-4

<b>Sumber</b>					
<b>Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>
perlakuan	162.0157576	10	16.20158	11.08087	1.82E-06 **
Galat	32.16666667	22	1.462121		
Total	194.1824242	32	6.068201		

## E) Pengamatan Hari ke-5

<b>Sumber</b>					
<b>Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>
perlakuan	197.0054545	10	19.70055	12.49987	6.39E-07 **
Galat	34.67333333	22	1.576061		
Total	231.6787879	32	7.239962		

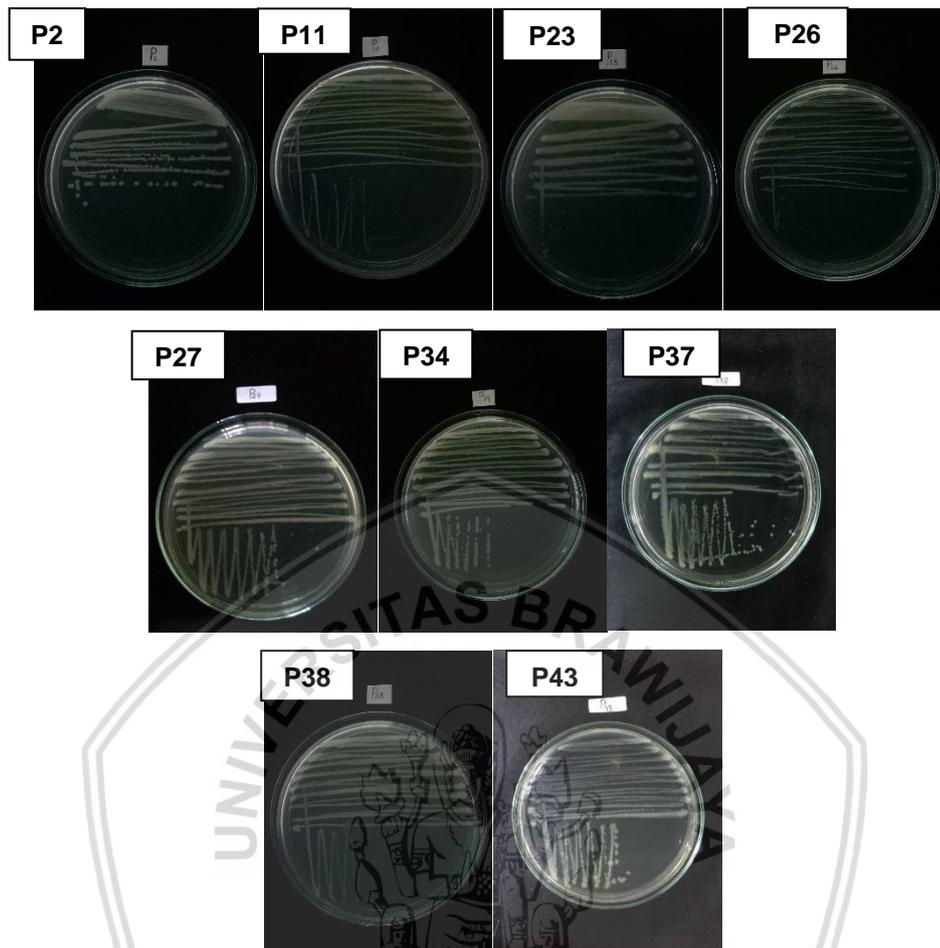
F) Pengamatan Hari ke-6

<b>Sumber Keragaman</b>	<b>JK</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>	
perlakuan	221.1072727	10	22.11073	12.58241	6.03E-07	**
Galat	38.66	22	1.757273			
Total	259.7672727	32	8.117727			

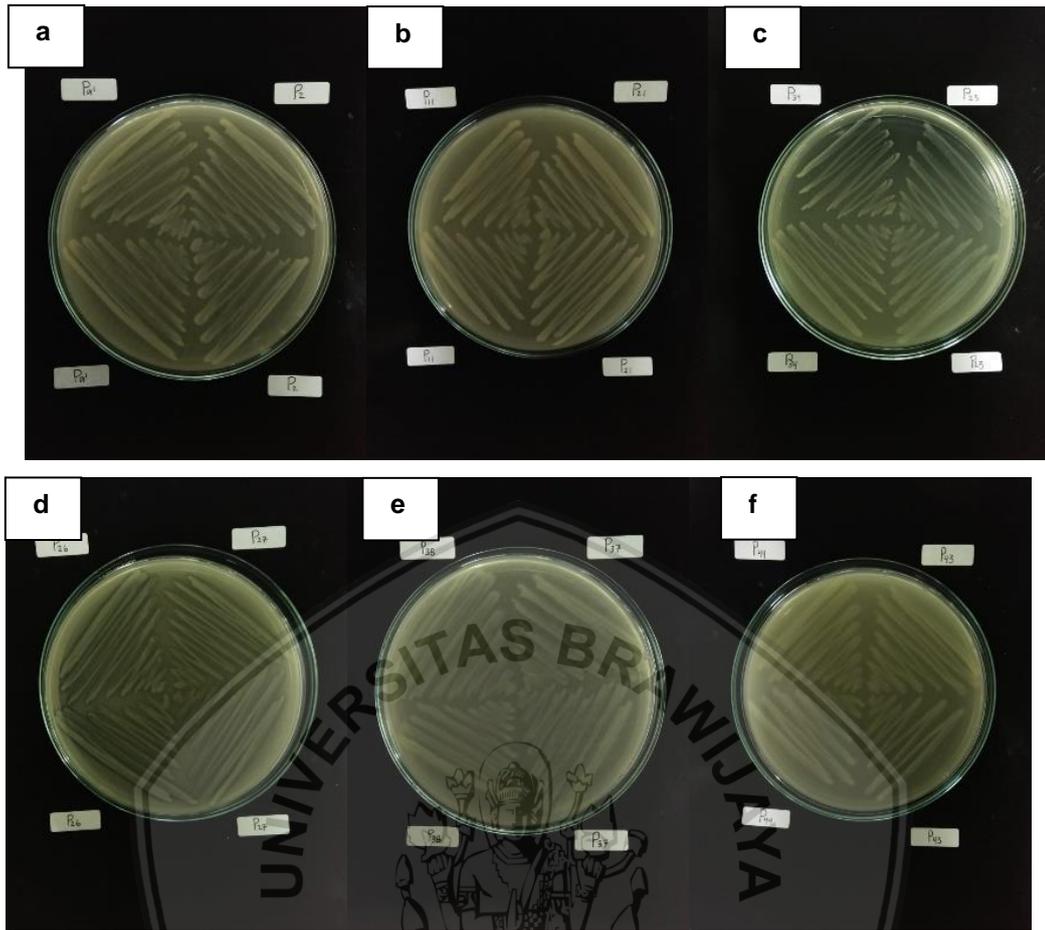
G) Pengamatan Hari ke-7

<b>Sumber keragaman</b>	<b>Jk</b>	<b>DB</b>	<b>KT</b>	<b>F hitung</b>	<b>F tabel</b>	
perlakuan	247.7387879	10	24.77388	12.79202	5.21E-07	**
Galat	42.60666667	22	1.936667			
Total	290.3454545	32	9.073295			

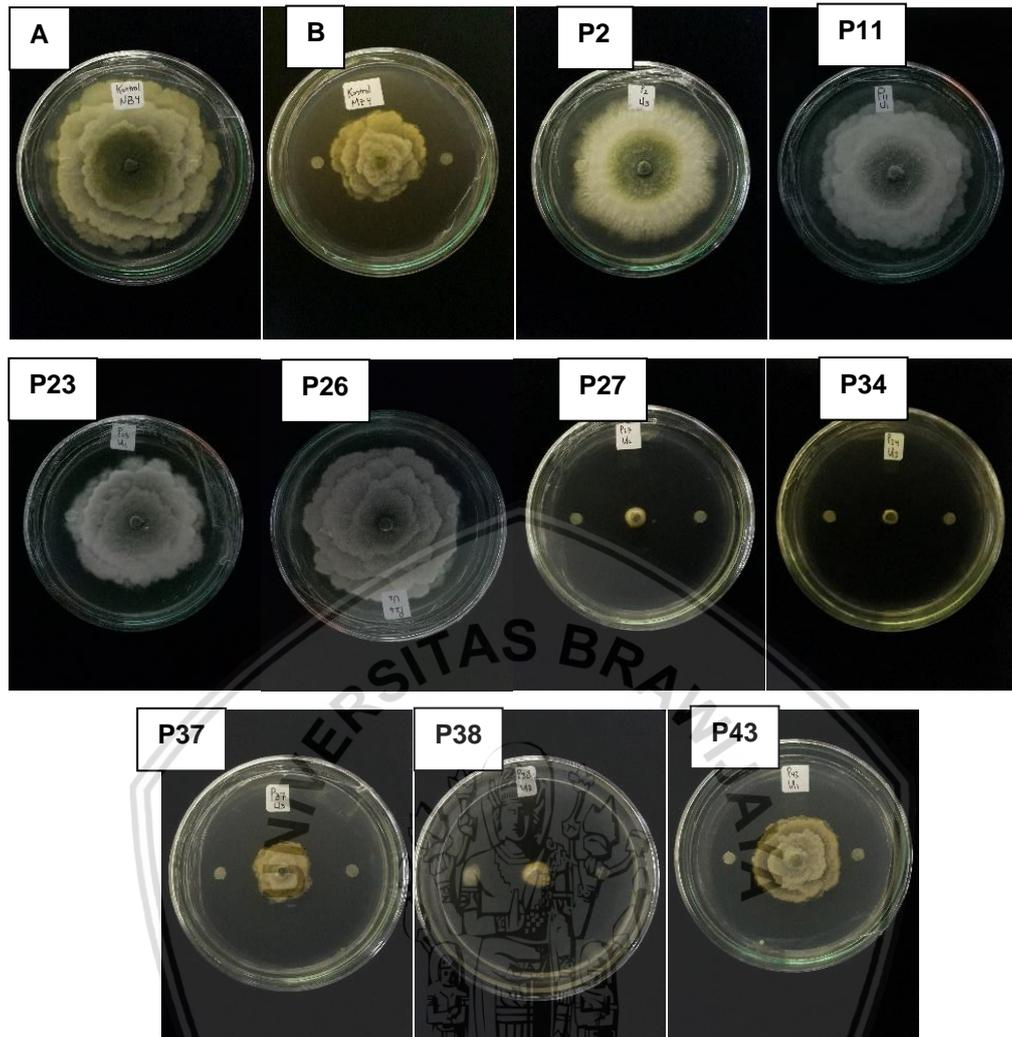




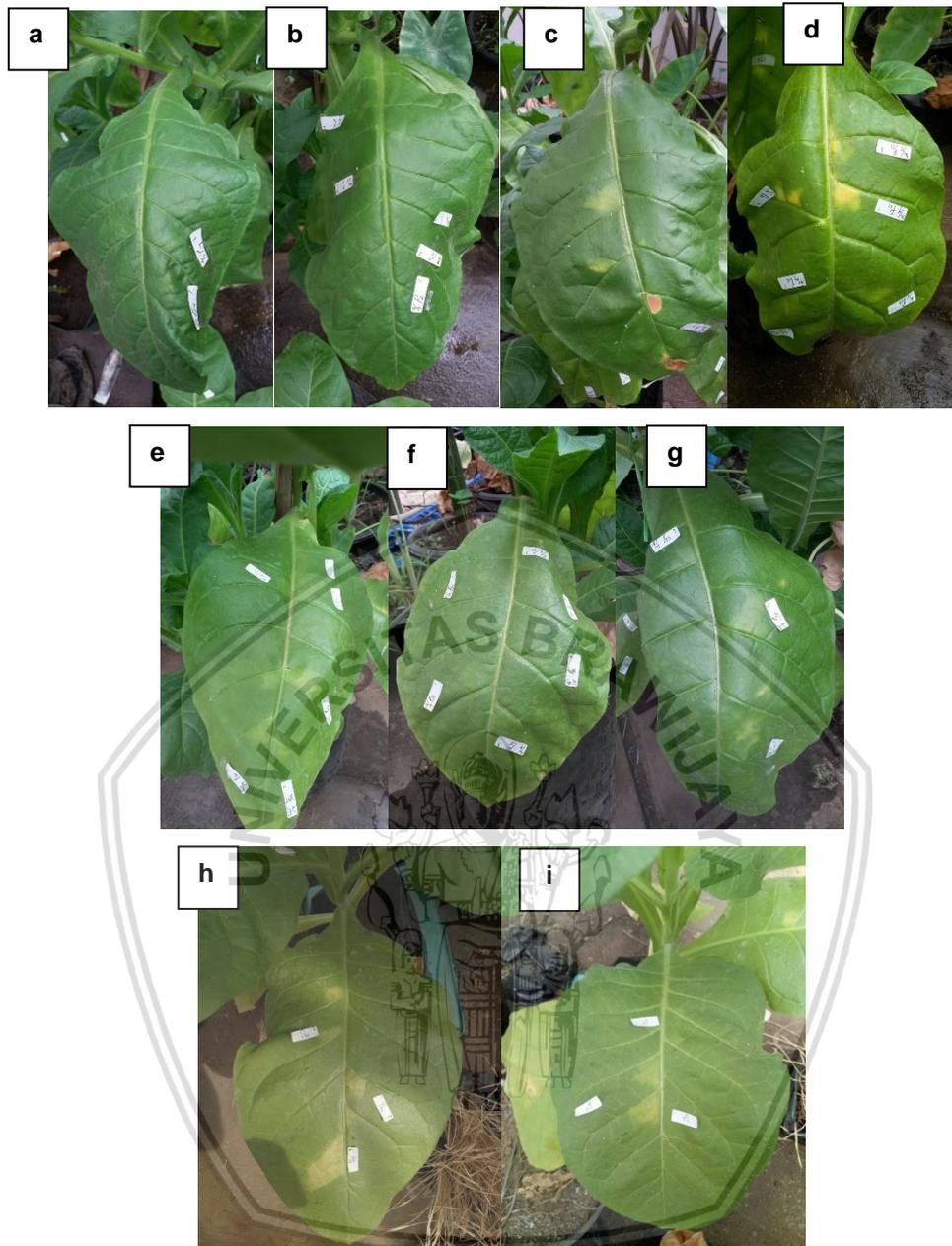
Gambar Lampiran 1. Streak tunggal bakteri terpilih pada media NAI isolat P2, Isolat P11, Isolat P23, Isolat P26, Isolat P27, Isolat P34, Isolat P37, Isolat P38, dan Isolat P43.



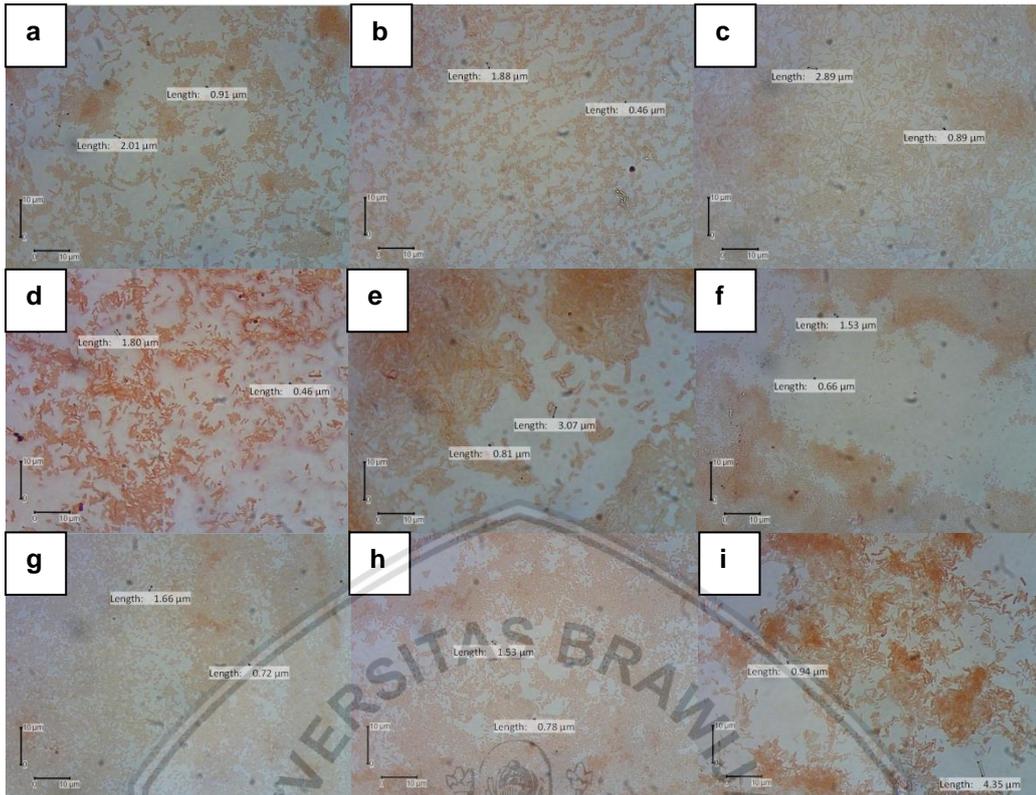
Gambar Lampiran 2. Hasil seleksi bakteri pada media NA+mancozeb(a) Isolat Pa dan P2; (b) Isolat P11 dan P21; (c) Isolat P34 dan P23; (d) Isolat P26 dan P27; (e) Isolat P37 dan P38; (f) Isolat P43 dan P44.



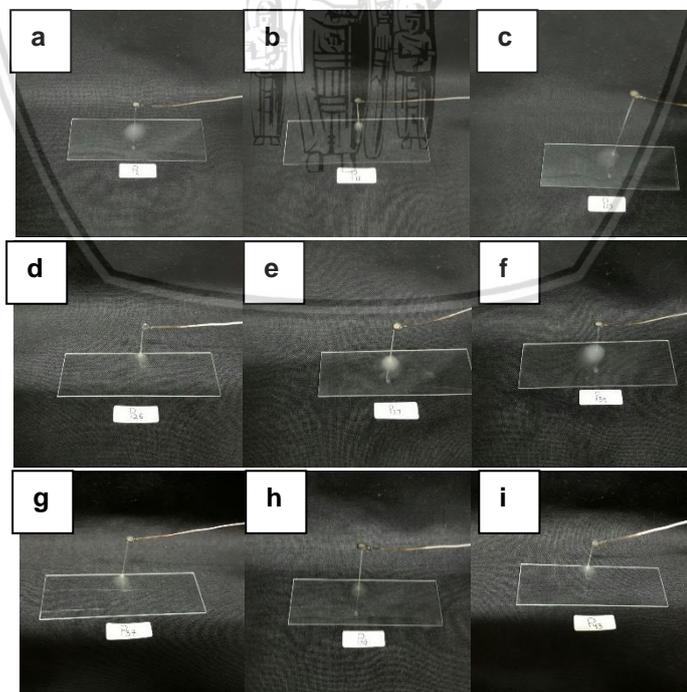
GambarLampiran 3. Uji Biodegradasi secara *in vitro* pada hari ke-7(A= kontrol NB; B=kontrol NB+mancozeb).



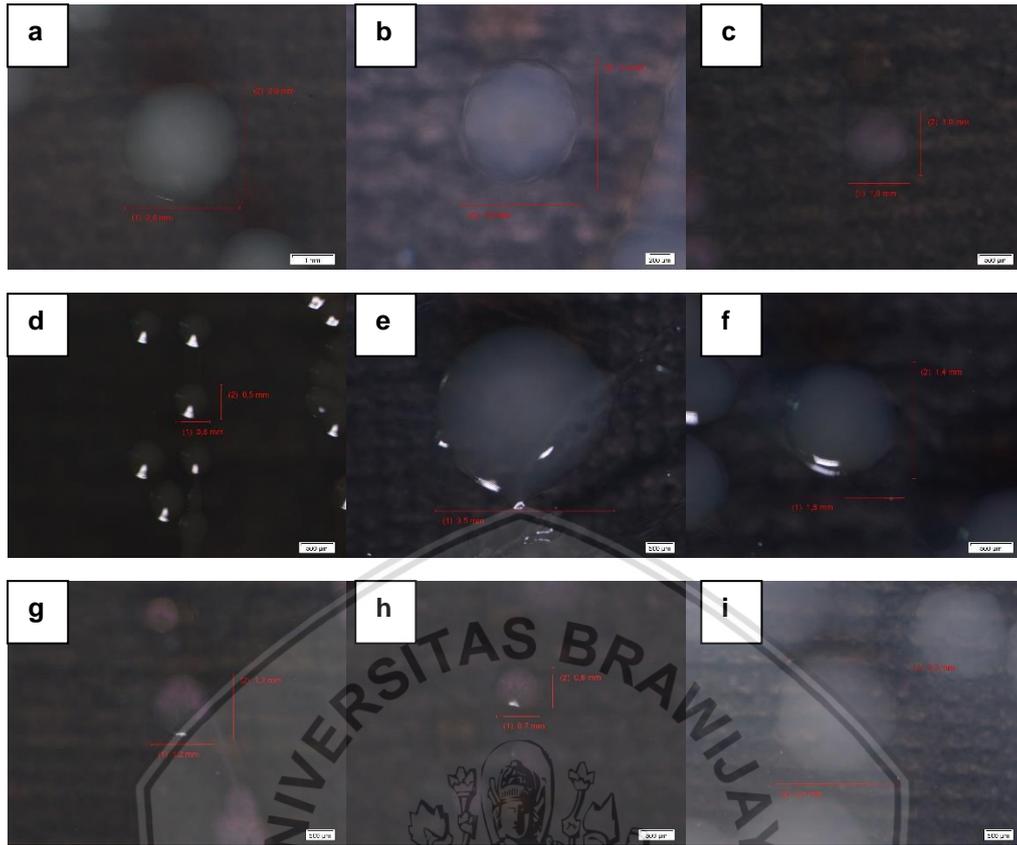
Gambar Lampiran 4. Uji Hipersensitif setelah 72 jam: (a) P34; (b) P2 dan P11; (c) P24; (d) P21 dan P23; (e) P26 dan P27; (f) P37 dan P38; (g) P43; (h) P44; (i) Pa.



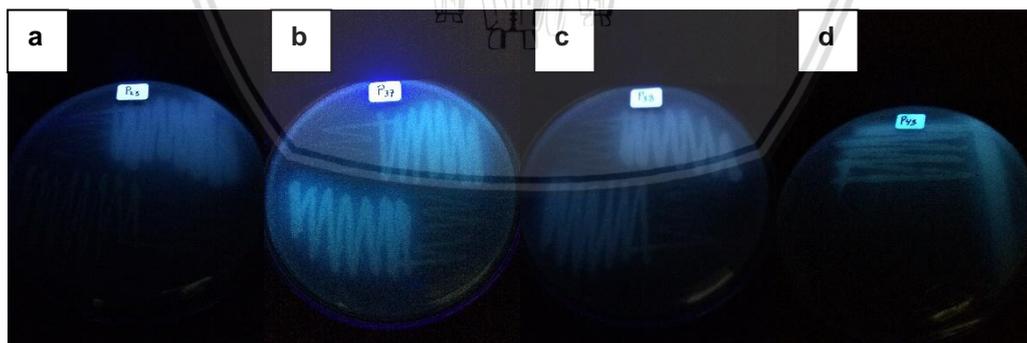
GambarLampiran 5. Hasil uji Gram dengan pewarnaan: (a) P2; (b) P11; (c) P23; (d) P26; (e) P27; (f) P34; (g) P37; (h) P38; (i) 43.



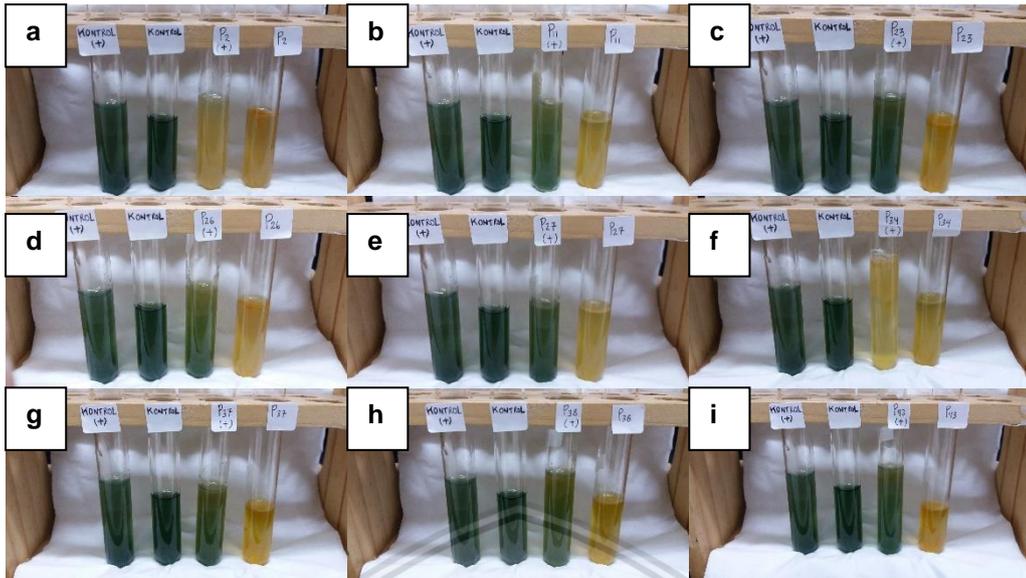
Gambar Lampiran 6. Hasil uji KOH 3%:(a) P2; (b) P11; (c) P23; (d) P26; (e) P27; (f) P34; (g) P37; (h) P38; (i) 43.



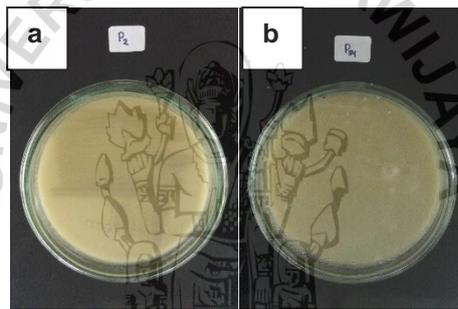
Gambar Lampiran 7. Bentuk koloni isolat bakteri pendegradasi fungisida mancozeb: (a) P2; (b) P11; (c) P23; (d) P26; (e) P27; (f) P34; (g) P37; (h) P38; (i) 43.



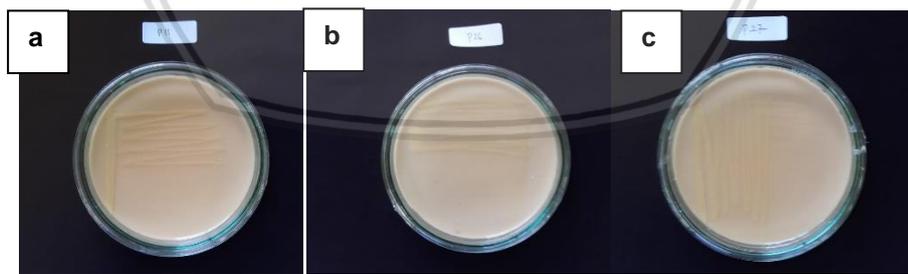
GambarLampiran 8. Hasil ujipigmen fluorescent pada media King's B: (a) P23; (b) P37; (c) P38; (d) P43.



GambarLampiran 9. Hasil uji Oksidatif Fermentatif: (a) P2; (b) P11; (c) P23; (d) P26; (e) P27; (f) P34; (g) P37; (h) P38; (i) 43.



GambarLampiran 10. Hasil pengujian pada media YDC negatif (putih) (a) koloni isolat P2; (b) koloni isolat P34.



Gambar Lampiran 11. Hasil pengujian pada media YDC positif (kuning) dengan suhu 33°C (a) koloni isolat P11; (b) koloni isolat P26; (c) P27.