

**EKSPLORASI DAN UJI POTENSI KHAMIR SEBAGAI  
AGENS PENDEGRADASI RESIDU FUNGISIDA  
BERBAHAN AKTIF MANEB SECARA *IN VITRO***

Oleh  
**ENDAH ARI WAHYUNI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**

**EKSPLORASI DAN UJI POTENSI KHAMIR SEBAGAI  
AGENS PENDEGRADASI RESIDU FUNGISIDA  
BERBAHAN AKTIF MANEB SECARA *IN VITRO***

**OLEH**

**ENDAH ARI WAHYUNI**

**145040201111073**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh**

**Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
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 suatu perguruan tinggi manapun, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2018

Endah Ari Wahyuni



**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Penelitian : Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Agens  
Pendegradasi Residu Fungisida Berbahan Aktif Maneb  
secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Endah Ari Wahyuni

NIM : 145040201111073

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.  
NIP. 19551212 198003 2 003

Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc.  
NIK. 201503 860523 1 001

Diketahui,  
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan:

**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan  
**MAJELIS PENGUJI**

Penguji I,

Penguji II,

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.  
NIP. 19550522 198103 1 006

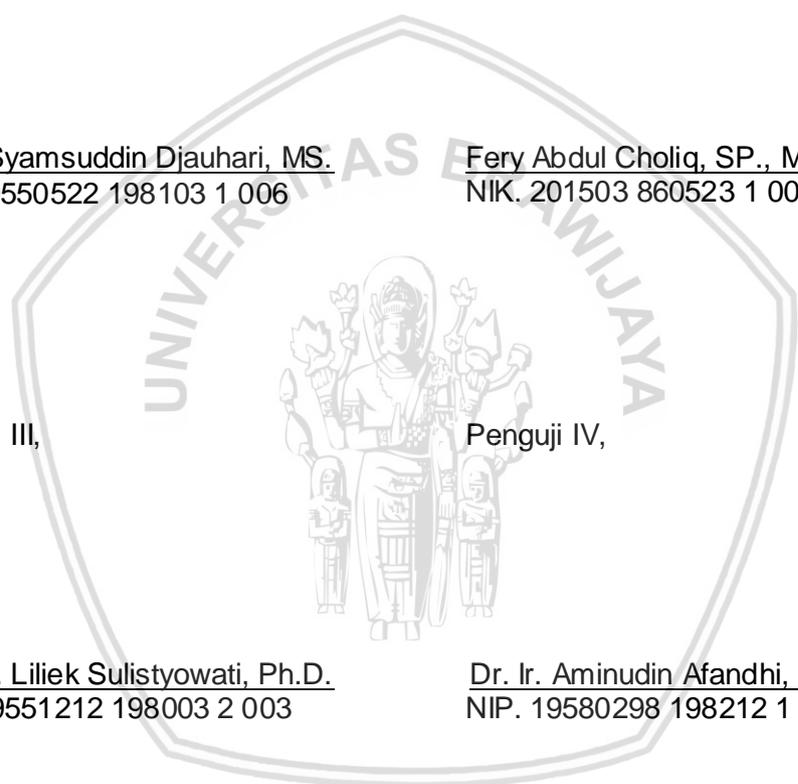
Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc.  
NIK. 201503 860523 1 001

Penguji III,

Penguji IV,

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.  
NIP. 19551212 198003 2 003

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.  
NIP. 19580298 198212 1 001



**Tanggal Lulus:**



## RINGKASAN

**Endah Ari Wahyuni. 145040201111073. Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Agens Pendegradasi Residu Fungisida Berbahah Aktif Maneb secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. sebagai dosen pembimbing utama dan Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc. sebagai dosen pembimbing pendamping.**

---

---

Fungisida maneb merupakan salah satu fungisida golongan ditiokarbamat yang bekerja secara kontak dan dapat mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh *Phytophthora infestans* pada tomat dan *Colletotrichum gloeosporioides* pada cabai. Meningkatnya penggunaan pestisida oleh petani pada lahan pertanian dapat memberikan dampak negatif pada tanah dan lingkungan. Oleh karena itu dilakukan upaya untuk mengembalikan kondisi tanah yaitu dengan melakukan bioremediasi. Khamir merupakan salah satu mikroba yang tersedia melimpah di alam dan digunakan untuk mendegradasi fungisida. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji khamir yang ditemukan pada tanah yang tercemar fungisida berbahah aktif maneb dan potensi khamir tersebut sebagai pendegradasi fungisida berbahah aktif maneb.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Juli 2018, di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Pelaksanaan penelitian ini meliputi beberapa tahapan, yaitu eksplorasi khamir pada tanah yang tercemar fungisida maneb dan isolasi jamur *Colletotrichum gloeosporioides*. Setelah dilakukan eksplorasi dan isolasi, kemudian dilakukan pemurnian khamir untuk mendapatkan koloni murni dan diidentifikasi hingga tingkat genus. Khamir yang telah diidentifikasi kemudian disimpan menjadi stok kultur. Uji adaptasi khamir terhadap fungisida maneb menggunakan rancangan acak lengkap sebanyak 3 ulangan, terdiri dari 13 isolat khamir dan berbagai konsentrasi fungisida maneb 0,1,2, 3,4, dan 5 kali konsentrasi anjuran fungisida. Parameter yang diamati adalah panjang koloni khamir. Untuk melihat kemampuan khamir dalam mendegradasi fungisida maneb, dilakukan uji degradasi dengan mengamati pertumbuhan diameter *C. gloeosporioides*. Uji degradasi menggunakan rancangan acak lengkap dengan 15 perlakuan dan 3 ulangan. 15 perlakuan tersebut terdiri dari 13 khamir dan dua macam kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yaitu media cair yang ditambahkan fungisida sesuai dengan konsentrasi anjuran namun tanpa penambahan khamir hasil eksplorasi. Sedangkan kontrol negatif yaitu media cair tanpa pemberian fungisida maupun khamir hasil eksplorasi.

Hasil eksplorasi khamir diperoleh 13 isolat, 8 isolat merupakan koleksi laboratorium yaitu *Saccharomyces* sp (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), dan 5 isolat merupakan hasil eksplorasi pada tanah yang tercemar fungisida maneb yaitu khamir *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4). Pada uji adaptasi khamir yang tidak mampu hidup pada 5 kali konsentrasi anjuran fungisida yaitu khamir *Schizosaccaromyces* sp. dan *Pichia* sp. (4). Pada Uji degradasi khamir yang memiliki rerata panjang diameter terbesar adalah *Pichia* sp. (4) pada hari kesatu sampai keempat secara berturut-turut yaitu 1,03 cm, 2,00 cm, 3,17 cm dan 3,93 cm dan *Candida* sp. (4) pada hari kelima sampai ketujuh secara berturut-turut yaitu 4,97 cm, 5,83 cm, dan 6,33 cm. Sedangkan pada perlakuan kontrol, kontrol negatif memiliki rerata diameter terbesar. Khamir *Pichia* sp. (4) dan *Candida* sp (4) memiliki kemampuan yang baik sebagai pendegradasi fungisida maneb.

## SUMMARY

**Endah Ari Wahyuni. 145040201111073. Yeast Exploration and Potential Test as Degradation Agents of Maneb Fungicide Residue in Vitro. Supervised by Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. and Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc.**

---

---

Fungicide maneb is one of the ditiocarbamate who work in contact and can control disease caused by *Phytophthora infestans* on tomatoes and *Colletotrichum gloeosporioides* on chili. The increasing use of pesticides by farmers on agricultural land can give a negative impact on the land and the environment. Therefore, efforts to restore the soil conditions by bioremediation. Yeast is one of the microbes that are available in abundance in nature and used to degrade fungicide. The purpose this research is to study of the yeasts found in contaminated soil fungicide maneb and potential of the yeast is degradation of maneb fungicide.

This research start on Januari until Juli 2018, inDepartement Plant Disease Laboratory, Pest and Disease, Agriculture Faculty, University of Brawijaya, Malang. The implementation of this research includes several stages of yeast exploration of soil containing maneb fungicide and *Colletotrichum gloeosporioides* isolation as indicatorin degradation test. After exploration and isolation, then purification of yeast to get pure colony and identification of yeasts to the genus level. The yeasts that have been identified are stored into a stock culture. The yeast adaptation test of the maneb fungicide used a complete randomized design of 3 replicates, consisting of 13 yeast isolates and various concentrations of maneb fungicides 0,1,2,3,4, and 5 times the recommended concentration. The parameter observed were yeast colony length. To view the ability of yeast to degrade maneb fungicide then tested degradation by observing the growth of *C. gloeosporioides* as an indicator. Degradation test used a complete randomized with 15 treatments and 3 replicates. The 15 treatments consisted of 13 yeasts and 2 types of controls, namely positive control and negative control. Positive coontrol is liquid media with fungicide according to the recommend concentration but without add the yeast exploration results. Negative control is liquid media without fungicide according to the recommend concentration and yeast from exploration results.

The results of the exploration of the yeasts obtained 13 isolates, 8 Laboratory is a collection of isolates namely *Saccharomyces* sp. (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), and 5 isolates is the result of exploration on contaminated soil of fungicide maneb namely *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4). In the yeast adaptation test which was unable to live up to 5 concentration the recommended concentration of maneb fungicide was yeast *Schizosaccaromyces* sp. and *Pichia* sp. (4). In the yeast degradation test which has the largest average diameter length is *Pichia* sp. (4) on the first to fourth day respectively 1,03 cm; 2,00 cm; 3,17 cm; and 3,93 cm and *Candida* sp. (4) on the fifth to seventh day respectively 4,97 cm; 5,83 cm; and 6,33 cm. While in the control treatment, negative control had the biggest average diameter. *Pichia* sp. (4) and *Candida* sp. (4) has good ability to degrade fungicide maneb.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan hidayah-Nya, Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Agens Pendegradasi Residu Fungsida Berbahan Aktif Maneb secara *In Vitro*” dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih, kepada Ibu Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. dan Bapak Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing dalam penyusunan skripsi ini, kedua orang tua yang telah memberikan dukungan doa, dukungan, dan material, serta teman-teman yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis terbuka terhadap saran dan kritik yang membangun agar didapatkan hasil yang terbaik dari penelitian ini. Semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2018

Endah Ari Wahyuni

## RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di kota Kediri pada tanggal 23 Juni 1996 dari pasangan Bapak Prawoto dan Ibu Yati. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Riwayat pendidikan penulis pernah menempuh taman kanan-kanak di TK Mutiara Kota Kediri dari tahun 2000 sampai tahun 2002, lalu melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN Mrican 2 Kota Kediri pada tahun 2002 sampai dengan 2008. Pada tahun 2008 sampai tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan tingkat sekolah menengah pertama di SMPN 4 Kediri, kemudian menempuh pendidikan tingkat sekolah menengah atas di SMAN 5 Kediri pada tahun 2011 sampai tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi yaitu sebagai anggota Departemen Pengembangan Sumber Daya Anggota (PSDA) Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (Himapta) 2017. Penulis juga mengikuti beberapa kepanitian diantaranya menjadi Koordinator Acara Buka Bersama dan Halal Bihalal Himapta 2017, dan *Annviversary of* Himapta Djaya pada tahun 2017, serta Divisi Pendamping di Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian tahun 2017.

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Pestisida.....	4
2.1.1 Pengertian Pestisida.....	4
2.1.2 Klasifikasi Tingkat Bahaya Pestisida.....	4
2.2 Maneb.....	6
2.2.1 Karakteristik Bahan Aktif Maneb .....	6
2.2.2 Batas Maksimal Residu Maneb .....	6
2.3 Bioremediasi.....	7
2.3.1 Pengertian Bioremediasi.....	7
2.3.2 Macam-Macam Bioremediasi .....	8
2.3.3 Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi.....	9
2.3.4 Teknik Dasar Bioremediasi.....	9
2.3.5 Variabel Kecepatan Biodegradasi .....	10



2.4	Khamir .....	10
2.4.1	Karakteristik Khamir .....	10
2.4.2	Reproduksi Khamir .....	11
2.4.3	Persebaran Khamir .....	12
III.	METODE PENELITIAN .....	14
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian .....	14
3.2	Alat dan Bahan .....	14
3.3	Metode Penelitian .....	14
3.3.1	Persiapan Penelitian .....	14
3.3.2	Pelaksanaan Penelitian .....	16
3.4	Analisis Data .....	19
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	20
4.1	Identifikasi Khamir .....	20
4.2	Uji Adaptasi Khamir Terhadap Fungisida Maneb .....	28
4.3	Uji Degradasi Maneb oleh Khamir dengan Patogen secara <i>In Vitro</i> .....	29
V.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	33
5.1	Kesimpulan .....	33
5.2	Saran .....	33
	DAFTAR PUSTAKA .....	34
	LAMPIRAN .....	38



## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Klasifikasi Pestisida Berdasarkan Daya Racun yang ditetapkan oleh WHO .....	5
2.	Klasifikasi Pestisida Berdasarkan Daya Racun yang ditetapkan oleh GHS .....	5
3.	Karakteristik Bahan Aktif maneb .....	6
4.	Nilai BMR Maneb pada Berbagai Komoditas Pertanian.....	7
5.	Habitat Khamir .....	13
6.	Komposisi Media Umpan Beracun pada Uji Adaptasi .....	18
7.	Rerata Panjang Strik Khamir pada Media Peracunan .....	28
8.	Rerata Panjang Diameter <i>C. gloeosporioides</i> pada Uji Degradasi .....	30

### LAMPIRAN

1.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (1).....	38
2.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Candida</i> sp. (1).....	38
3.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Schizosaccaromyces</i> sp .....	38
4.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Pichia</i> sp. (1) .....	38
5.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Pichia</i> sp. (2) .....	38
6.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Pichia</i> sp. (3) .....	38
7.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (2).....	38
8.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Candida</i> sp (2).....	39
9.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Debaryomyces</i> sp. ....	39
10.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Issatchenkia</i> sp. ....	39
11.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Candida</i> sp.(3).....	39
12.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Candida</i> sp.(4).....	39
13.	Analisis Ragam Uji Adaptasi Khamir <i>Pichia</i> sp.(4) .....	39
14.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 1.....	39
15.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 2.....	40
16.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 3.....	40



17.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 4.....	40
18.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 5.....	40
19.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 6.....	40
20.	Analisis Ragam Uji Degradasi Hari Ke 7.....	40



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Penampakan Sel Tunggal Khamir secara Mikroskopis .....	11
2.	Struktur Sel Khamir.....	11
3.	Modifikasi Uji Biakan Ganda pada Uji Degradasi fungisida.....	19
4.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (1).....	20
5.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Candida</i> sp. (1).....	21
6.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Schizosaccaromyces</i> sp. ....	21
7.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Pichia</i> sp. (1).....	22
8.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Pichia</i> sp. (2).....	23
9.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Pichia</i> sp. (3).....	23
10.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (2) .....	24
11.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Candida</i> sp. (2) .....	24
12.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Debaryomyces</i> sp. ....	25
13.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Issatchenkia</i> sp.....	26
14.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Candida</i> sp. (3).....	26
15.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Candida</i> sp. (4).....	27
16.	Koloni, Morfologi dan Sel Khamir <i>Pichia</i> sp. (4).....	27
17.	Grafik Rerata Panjang Diameter Pertumbuhan <i>C. gloeosporioides</i> pada Uji Degradasi Maneb .....	30

## LAMPIRAN

1.	Koloni Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (1) pada Media Peracunan .....	41
2.	Koloni Khamir <i>Candida</i> sp. (1) pada Media Peracunan .....	42
3.	Koloni Khamir <i>Schizosaccaromyces</i> sp. pada Media Peracunan .....	43
4.	Koloni Khamir <i>Pichia</i> sp. (1) pada Media Peracunan .....	44
5.	Koloni Khamir <i>Pichia</i> sp. (2) pada Media Peracunan .....	45
6.	Koloni Khamir <i>Pichia</i> sp. (3) pada Media Peracunan .....	46

7.	Koloni Khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (2) pada Media Peracunan .....	47
8.	Koloni Khamir <i>Candida</i> sp. (2) pada Media Peracunan .....	48
9.	Koloni Khamir <i>Debaryomyces</i> sp. pada Media Peracunan .....	49
10.	Koloni Khamir <i>Issatchenkia</i> sp. pada Media Peracunan .....	50
11.	Koloni Khamir <i>Candida</i> sp. (3) pada Media Peracunan .....	51
12.	Koloni Khamir <i>Candida</i> sp. (4) pada Media Peracunan .....	52
13.	Koloni Khamir <i>Pichia</i> sp. (4) pada Media Peracunan .....	53
14.	Penampakan Makroskopis Koloni <i>C. gloeosporioides</i> pada Uji Degradasi .....	54





## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Faktor penghambat dalam budidaya tanaman adalah penyakit yang sebagian besar disebabkan oleh jamur. Pengendalian kimia menggunakan fungisida merupakan salah satu cara yang sampai saat ini masih dilakukan karena belum tersedianya varietas tahan penyakit, permintaan konsumen akan produk pertanian dengan kualitas tinggi, intensitas penyakit yang tinggi, dan ketertarikan masyarakat terhadap varietas introduksi yang umumnya rentan terhadap penyakit. Petani di Indonesia menggunakan fungisida untuk mengendalikan penyakit pada komoditas hortikultura seperti cabai, tomat, buncis, sawi, dan bawang merah (Sumardiyono, 2008).

Tanah sangat penting untuk kehidupan dan perkembangan tanaman yang bergantung pada keadaan tanah. Pada pengaplikasian pestisida, petani cenderung menggunakan takaran kira-kira bahkan melebihi anjuran produk dan mencampurkan beberapa jenis pestisida. Sehingga menyebabkan residu pada lahan, pencemaran lingkungan semakin tinggi, serta tanah menjadi terdegradasi (Afriyanto, 2008). Salah satu bahan aktif fungisida yang digunakan oleh petani untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh jamur adalah fungisida berbahan aktif maneb. Fungisida berbahan aktif maneb merupakan salah satu fungisida golongan ditiokarbamat yang bekerja secara kontak dan memiliki spektrum luas dalam mengendalikan penyakit tanaman. Pestisida berbahan aktif maneb diketahui dapat mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh *Phytophthora infestans* pada tomat dan *Colletotrichum gloeosporioides* pada cabai.

Menurut Oktavia *et al.* (2015) penggunaan pestisida dapat mencemari lingkungan dengan meninggalkan residu dalam tanah serta pada bagian tanaman seperti buah, daun, dan umbi. Pestisida merupakan agen pencemar yang masuk ke lingkungan baik melalui udara, air maupun tanah yang berakibat langsung terhadap makhluk hidup dan lingkungan. Dampak penggunaan pestisida berupa ketidakstabilan ekosistem, adanya residu pada hasil panen dan bahan olahan, pencemaran lingkungan dan keracunan bahkan kematian pada manusia (Djojosumarto, 2008 dalam Puspita dan Khaeruddin, 2016).

Residu pestisida merupakan zat tertentu yang terkandung dalam hasil pertanian, bahan pangan atau pakan hewan, baik sebagai akibat langsung maupun tidak langsung dari penggunaan pestisida (Sakung, 2004). Upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan residu pestisida dengan melakukan bioremediasi. Bioremediasi dapat diartikan sebagai proses pemulihan dari kondisi yang tercemar agar bersih kembali yang dapat dilakukan pada media air, udara dan tanah. Penggunaan mikroorganisme dalam proses pemulihan lingkungan tercemar merupakan alternatif pilihan yang ramah lingkungan (Puspita dan Khaeruddin, 2016). Mikroba yang dapat digunakan untuk proses degradasi antara lain bakteri, jamur, khamir, dan alga. Pada proses degradasi mikroba menggunakan senyawa kimia beracun untuk pertumbuhan dan reproduksi melalui berbagai proses oksidasi (Munir, 2006).

Salah satu mikroba yang tersedia melimpah di alam yaitu khamir. Khamir memiliki peranan penting dalam hidrolisis selulosa yang berada di dalam tanah, memiliki rentang ekologi yang cukup luas, mampu hidup pada daerah ekstrem, dan banyak ditemukan pada lingkungan yang memiliki bahan organik tinggi. Beberapa kelompok khamir yang dominan ditemukan dalam tanah adalah genus *Cryptococcus*, *Candida*, dan *Debaryomyces*. Hal ini dikarenakan tanah banyak mengandung senyawa organik dan mineral yang merupakan salah satu ekosistem subur untuk kehidupan tanah dan pertumbuhan mikroorganisme tanah. Khamir memegang peranan penting dalam hidrolisis selulosa yang berada di dalam tanah (Kanti 2005 dalam Jumiyati *et al.*, 2012).

Upaya untuk mengendalikan pencemaran pestisida berbahan aktif maneb selama ini belum banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan suatu cara untuk mengurangi residu pencemaran pestisida berbahan aktif maneb. Potensi khamir dalam mendegradasi polutan perlu dikaji kemampuannya sebagai pendegradasi residu fungsida berbahan aktif maneb. Dengan adanya penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman khamir yang berpotensi sebagai pendegradasi residu fungsida maneb dan diharapkan mampu memberikan solusi untuk mengurangi residu pestisida pada lahan.

## 1.2 Tujuan Penelitian

1. Menemukan dan mengidentifikasi khamir hingga tingkat genus yang ditemukan pada lahan yang tercemar fungisida berbahan aktif maneb.
2. Mengetahui kemampuan khamir beradaptasi pada berbagai konsentrasi anjuran produk fungisida.
3. Mengetahui khamir yang berpotensi mengurangi daya tingkat racun fungisida maneb pada patogen *C. gloeosporioides*.

## 1.3 Hipotesis

1. Terdapat khamir yang dapat tumbuh pada lahan yang tercemar fungisida berbahan aktif maneb.
2. Khamir yang ditemukan mampu beradaptasi pada berbagai konsentrasi anjuran produk fungisida.
3. Khamir yang ditemukan berpotensi mengurangi daya tingkat racun fungisida maneb pada patogen *C. gloeosporioides*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk mengetahui genus khamir yang ditemukan pada tanah yang tercemar fungisida berbahan aktif maneb.
2. Untuk mengetahui kemampuan khamir beradaptasi pada berbagai konsentrasi anjuran produk fungisida.
3. Untuk mengetahui potensinya sebagai pendegradasi residu fungisida berbahan aktif maneb.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pestisida

#### 2.1.1 Pengertian Pestisida

Pestisida berasal dari kata *pest* dan *caedo*. *Pest* didefinisikan sebagai hama artinya yaitu meliputi hama pengganggu tanaman yang tergolong hewan (mamalia, serangga, tungau, nematoda), dan penyebab penyakit (patogen) atau pengganggu tanaman dari kelompok mikroba, seperti cendawan, bakteri, virus, dan jenis mikroba lainnya, serta tumbuhan pengganggu (gulma). Sedangkan *caedo* berarti membunuh. Sehingga pestisida merupakan senyawa kimia yang dapat membunuh hama termasuk organisme pengganggu tumbuhan (OPT) (Wiryadiputra, 2013).

Pestisida merupakan suatu zat yang dapat bersifat racun namun di sisi lain pestisida sangat dibutuhkan oleh petani untuk melindungi tanamannya (WHO, 2006). Perubahan iklim yang terjadi saat ini, menurut Koleva *et al.*, (2009), dapat meningkatkan penggunaan bahan aktif pada pestisida hingga 60%. Pestisida adalah substansi kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk mengendalikan serangga, tungau, tumbuhan pengganggu, penyakit tanaman yang disebabkan oleh fungi, bakteri, virus, nematoda, siput, tikus, burung dan hewan lain yang dianggap merugikan (Yuantari *et al.*, 2013).

Soemirat (2003), menyatakan pestisida sebagai zat atau campuran zat yang digunakan untuk mencegah memusnahkan, menolak, atau memusuhi hama dalam bentuk hewan, tanaman, dan mikroorganisme pengganggu. Penggunaan pestisida yang berlebihan akan meningkatkan biaya pengendalian, mempertinggi kematian organisme non target serta dapat menurunkan kualitas lingkungan, hal ini dibuktikan bahwa insektisida golongan organofosfat, karbamat dan piretroid sintesis berpengaruh negatif terhadap musuh alami (Laba, 2010).

#### 2.1.2 Klasifikasi Tingkat Bahaya Pestisida

Pestisida dapat diklasifikasikan berdasarkan beberapa parameter yang berkaitan dengan masalah residu pestisida. Pestisida dikelompokkan berdasarkan tingkat bahaya atau tingkat daya racunnya. Daya racun pestisida diukur berdasarkan nilai dosis letal (*Lethal Dose = LD*) yang menggunakan nilai  $LD_{50}$  dan konsentrasi letal (*Lethal Concentration = LC*) yang menggunakan nilai  $LC_{50}$ . Nilai  $LD_{50}$  maupun  $LC_{50}$  merupakan jumlahbahan aktif pestisida (dinyatakan

dalam mg bahan aktif pestisida per kg berat uji atau ppm) yang mematikan 50% dari suatu uji yang digunakan untuk percobaan. Uji coba biasanya dilakukan dengan cara melalui mulut atau secara oral (diberikan sebagai makanan) maupun melalui kulit atau dermal. Berdasarkan definisi tersebut dapat disimpulkan bahwa pestisida dengan nilai LD<sub>50</sub> maupun LC<sub>50</sub> makin rendah maka pestisida tersebut makin beracun. Klasifikasi pestisida menurut daya racunnya telah ditetapkan secara internasional, yaitu oleh WHO (*World Health Organization*) maupun oleh GHS (*The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals*) (WHO, 2009) (Tabel 1 dan Tabel 2).

Tabel 1. Klasifikasi pestisida berdasarkan daya racun yang ditetapkan WHO (Wiryadiputra, 2013)

Kelas WHO	Tingkat Bahaya	Nilai LD <sub>50</sub> pada tikus, mg/kg berat badan	
		Lewat mulut	Lewat Kulit
I a	Sangat Berbahaya	<5	<50
I b	Tingkat Bahaya Tinggi	5-50	50-200
II	Tingkat Bahaya Sedang	50-2000	200-2000
III	Kurang Berbahaya	>2000	>2000
U	Sangat sedikit menimbulkan bahaya	≥5000	

Tabel 2. Klasifikasi pestisida berdasarkan daya racunnya yang ditetapkan oleh GHS (Wiryadiputra, 2013)

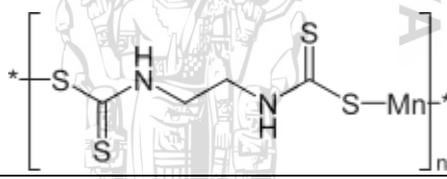
Kategori Kelas GHS	Melalui Mulut		Melalui Kulit	
	LD <sub>50</sub> (mg/kg berat tubuh)	Tingkat Bahaya	LD <sub>50</sub> (mg/kg berat tubuh)	Tingkat Bahaya
1	<5	Fatal bila tertelan	<50	Fatal bila terkena kulit
2	5-50	Fatal bila tertelan	50-200	Fatal bila terkena kulit
3	50-300	Beracun bila tertelan	200-1000	Beracun bila kontak dengan kulit
4	300-2000	Berbahaya bila tertelan	1000-2000	Berbahaya bila kontak dengan kulit
5	2000-5000	Kemungkinan berbahaya bila tertelan	2000-5000	Kemungkinan berbahaya bila kontak dengan kulit

## 2.2 Maneb

### 2.2.1 Karakteristik Bahan Aktif Maneb

Maneb merupakan bahan aktif yang termasuk ke dalam fungisida Ethylene Bisdithiocarbamate (EBDC) yang berkaitan dengan bahan aktif mancozeb dan metiram. Ditiokarbamat terbagi kedalam 3 subkelas yaitu Ethylene BisDithiocarbamates (EBDC) seperti maneb dan mankozeb, Dimethyl Dithiocarbamates (DMDTC) seperti ziram dan ferbam serta Mono Methyl Dithiocarbamates (seperti Metan dan sodium) (EPA, 2001). Fungisida berbahan aktif maneb dapat terurai pada suhu 192-204°C dan memiliki masa jenis 1,92 g/cm<sup>3</sup>. Fungisida maneb berupa bubuk berwarna kuning atau kristal.

Tabel 3. Karakteristik Senyawa Maneb (FAO, 2017)

Nama Umum	Maneb
Nama Kimia	IUPAC: [[2[(dithiocarboxy)amino]ethyl]carbamo]dithioa] (2-) kS,kS']manganese CU : Manganese ethylene1,2 dithiocarbamate
Rumus Struktur	
Rumus Molekul	(C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> MnN <sub>2</sub> S <sub>4</sub> ) <sub>n</sub>
Massa Molekul Relatif	265.3

### 2.2.2 Batas Maksimal Residu Maneb

Residu pestisida adalah zat tertentu yang terkandung dalam hasil pertanian bahan pangan atau pakan hewan, baik sebagai akibat langsung maupun tidak langsung dari penggunaan pestisida. Istilah ini mencakup juga senyawa turunan pestisida, seperti senyawa hasil konversi, metabolit, senyawa hasil reaksi dan zat pengotor yang dapat bersifat toksik (Sakung, 2004). Batas Maksimal Residu (BMR) merupakan konsentrasi maksimum residu pestisida yang secara hukum diizinkan atau diketahui sebagai konsentrasi residu maksimum yang diizinkan atau direkomendasikan pada hasil pertanian yang dinyatakan dalam miligram residu pestisida per kilogram hasil pertanian (Standar Nasional Indonesia, 2007). Nilai BMR Maneb pada berbagai komoditas (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai BMR Maneb pada Berbagai Komoditas Pertanian (FAO, 2017)

Komoditas	Nilai BMR (mg/kg)
Kacang almond	0,1
Kentang	0,1
Apel	2
Melon	4
Pisang	4
Timun	4
Tomat	4
Jagung	5
Seledri	5
Anggur	7
Bawang Merah	7
Cabai	7
Labu	7
Lobak	7
Terong	7
Brokoli	10
Kubis	10
Pepaya	10
Sawi hijau	10

## 2.3 Bioremediasi

### 2.3.1 Pengertian Bioremediasi

Bioremediasi adalah proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar dengan menggunakan material biologis antara lain tumbuhan maupun mikroba. Beberapa keunggulannya antara lain ramah lingkungan, mampu membersihkan pencemar dalam konsentrasi rendah dan mengurangi penggunaan bahan-bahan kimia. Teknik bioremediasi sering diterapkan untuk membersihkan lingkungan dari pencemaran yang ditimbulkan oleh logam berat, hidrokarbon, pestisida maupun zat radioaktif (Suhendrayana, 2001). Menurut Vidali (2001), bioremediasi adalah penggunaan organisme hidup, terutama mikroorganisme, untuk mendegradasi kontaminan lingkungan ke dalam bentuk yang kurang beracun. Bioremediasi bukan konsep baru dalam bidang mikrobiologi terapan. Telah banyak mikroorganisme yang digunakan untuk mengurangi senyawa organik dan beracun limbah industri maupun limbah rumah tangga. Teknik bioremediasi lebih efektif dan murah dalam sisi ekonomi untuk

membersihkan tanah dan air yang telah terkontaminasi senyawa beracun (Munir, 2006)

Bioremediasi adalah proses pembersihan kembali lingkungan dari bahan pencemar dengan menggunakan agen biologi antara lain tumbuhan dan mikrobia. Keunggulannya antara lain periode hidupnya relatif singkat, dapat diproduksi dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat, aktivitas atau kinerjanya dapat diatur, hal ini disebabkan karena mikroba lebih sensitif terhadap keberadaan ion logam berat di lingkungan (Yazid, 2007)

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya. Bioremediasi telah berkembang pada pengolahan air limbah yang mengandung senyawa-senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi dan biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri, antara lain logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa-senyawa organik terhalogenasi seperti pestisida dan herbisida (Priadie, 2012).

### 2.3.2 Macam-macam bioremediasi

Menurut Vidali (2011), teknologi pada bioremediasi ada dua jenis, yaitu *ex-situ* dan *in situ*.

#### a. *Ex-situ*

*Ex-situ* adalah pengelolaan yang meliputi pemindahan secara fisik bahan-bahan yang terkontaminasi ke suatu lokasi untuk penanganan lebih lanjut. Bioremediasi *ex-situ* terbagi atas:

- *Landfarming* yaitu tanah yang terkontaminasi dipindahkan dan diamati sampai polutan terdegradasi.
- *Composting* yaitu melakukan kombinasi antara tanah yang terkontaminasi dengan tanah yang mengandung pupuk atau senyawa organik yang dapat meningkatkan populasi suatu mikroorganisme.
- *Biopiles* yaitu perpaduan antara *landfarming* dan *composting*.
- *Bioreactor* yaitu menggunakan reaktor pada tanah atau air yang terkontaminasi.

b. *In-situ*

*In-situ* adalah perlakuan yang langsung diterapkan pada bahan-bahan kontaminan di lokasi tercemar. Bioremediasi *in-situ* terbagi atas:

- Biostimulasi yaitu penambahan nutrisi untuk mestimulasi pertumbuhan mikroorganisme.
- Bioaugmentasi yaitu penambahan mikroorganisme lain yang dapat melakukan degradasi.
- *Bioventing* yaitu penambahan O<sub>2</sub> pada lingkungan pertumbuhan mikroorganisme.
- *Biosparging* yaitu meningkatkan konsentrasi oksigen dan mempercepat kemampuan untuk mendegradasi.

### 2.3.3 Faktor yang mempengaruhi bioremediasi

Mikroorganisme dalam mendegradasi senyawa kimia khususnya pestisida membutuhkan syarat khusus agar mikroorganisme dapat bekerja secara optimal dalam mengurai senyawa kimia. Menurut Puspitasari dan Khairuddin (2016), faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses bioremediasi adalah mikroba, nutrisi dan lingkungan.

a. Mikroba

Mikroba memiliki kemampuan untuk mendegradasi, mentransformasi dan menyerap senyawa pencemar. Mikroba yang digunakan dapat berasal dari golongan fungi, bakteri, ataupun mikroalga.

b. Nutrisi

Jenis nutrisi utama yang dibutuhkan bagi mikroba, diantaranya unsur karbon (C), Nitrogen (N), Posfor (P).

c. Lingkungan

Lingkungan yang berpengaruh pada proses bioremediasi antara lain oksigen, suhu, DO (*dissolved oxygen*), dan pH.

### 2.3.4 Teknik dasar bioremediasi

Menurut Suryani (2011), ada 4 teknik dasar yang biasa digunakan dalam bioremediasi:

- Stimulasi aktivitas mikroorganisme pada lokasi yang tercemar dengan penambahan nutrisi, pengaturan kondisi redoks, optimasi pH.

- Inokulasi (penanaman) mikroorganisme di lokasi tercemar, yaitu mikroorganisme yang memiliki kemampuan biotransformasi khusus.
- Penerapan *immobilized enzymes*.
- Penggunaan tanaman (phytoremediation) untuk menghilangkan atau mengubah pencemar.

### 2.3.5 Variabel kecepatan biodegradasi

Menurut Singh *et al.*, (2006), kecepatan biodegradasi di tanah tergantung pada empat variabel yaitu:

- a. Ketersediaan pestisida atau metabolit terhadap mikroorganisme.
- b. Status fisiologis dari mikroorganisme.
- c. Perkembangbiakan mikroorganisme pendegradasi pestisida pada lokasi terkontaminasi.
- d. Keberlanjutan populasi mikroorganisme.

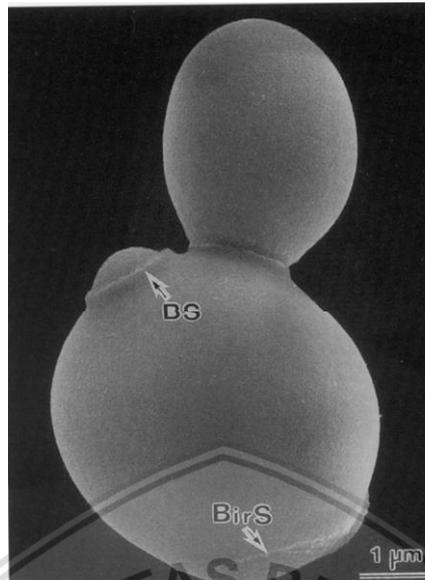
## 2.4 Khamir

### 2.4.1 Karakteristik Khamir

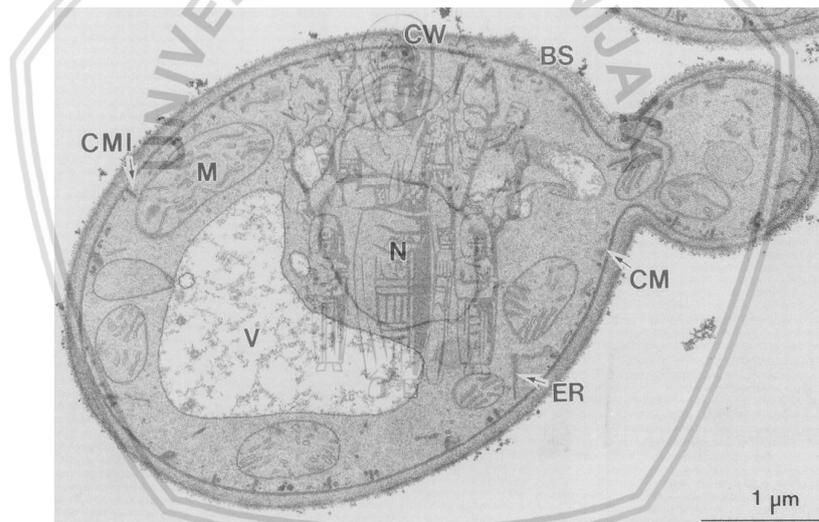
Khamir adalah fungi uniseluler dan tersebar luas di berbagai lingkungan. Khamir mampu berasosiasi dengan tumbuhan tanpa menyebabkan kerusakan ataupun penyakit. Bentuk asosiasi dengan tumbuhan berfungsi sebagai agen biokontrol (memiliki potensi aktivasi antifungi) terhadap fungi patogen (Abdel-Motaal *et al.*, 2009).

Sel baru khamir bersal dari hifa dan pseudohifa. Hifa ialah perpanjangan sel atau rangkaian sel, terdapat sekat membentuk lingkaran. Pseudohifa ialah sel yang umumnya mengalami pemanjangan, dihasilkan dari setiap tunas, sel pseudohifa berkaitan dengan sel induk sehingga membentuk rantai dan membentuk cabang (Barnett, 2011).

Khamir merupakan mikroorganisme yang memiliki sel tunggal atau uniseluler yang bereproduksi dengan membentuk tunas. Khamir merupakan sel eukariotik yang memiliki ukuran panjang 2-3  $\mu\text{m}$  dan ada yang memiliki ukuran panjang 20-50  $\mu\text{m}$ . Bentuknya oval atau bulat tetapi tidak beraturan. Koloni khamir berwarna merah, putih, krem, merah muda, kuning. Sel khamir memiliki organel seperti badan golgi, inti sel, mitokondria, vakuola, sitoplasma, dinding sel (gambar 2) (Walker, 2009).



Gambar 1. Penampakan sel tunggal khamir secara mikroskopis (Walker, 2009)



Gambar 2. Struktur sel khamir. CM: membran sel; CW: dinding sel; BS: bekas tunas; ER: reticulum endoplasma; M: mitokondria; N: nukleus; V: vakuola (Walker, 2011)

#### 2.4.2 Reproduksi pada Khamir

Khamir memiliki tipe reproduksi aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual dikenal dengan pertunasan, pembelahan, atau produksi konidia pada tangkai pendek. Pada pembelahan sel merupakan karakteristik dari genus *Schizosaccharomyces*. Sel tunas dapat berasal dari sel-sel khamir atau sel-sel hifa. Pertunasan diawali dengan pembentukan tunas kecil pada beberapa titik. Beberapa posisi tempat terjadinya pertunasan yang terjadi pada satu kutub

disebut monopolar contohnya dari genus *Malassezia*. Pertunasan yang terjadi pada dua kutub disebut bipolar, contohnya dari genus *Hanseniaspora* dan *Wickerhamia*. Pertunasan bipolar memiliki karakteristik pada khair apikulata. Sedangkan pertunasan dari beberapa tempat pada permukaan sel disebut multilateral, contohnya dari genus *Saccharomyces*. Konidia lateral yang dihasilkan pada hifa dari beberapa spesies terjadi pada sel khusus disebut sel *conidiogenous*, contohnya genus *Ambrosiozyma*. Konidia yang terbentuk pada denticle merupakan karakteristik dari spesies *Stephaoascus* dan *Pichia*. Klamidiospora didefinisikan sebagai spora asexual yang tebal, yang dihasilkan secara interkalar atau terminal. Klamidiospora merupakan karakteristik khamir dari genus *Candida* dan *Metschnikowia*, dan *Cryptococcus* (Gandjar *et al.*, 2016).

Tunas kecil terbentuk dari sel induk. Inti sel dari sel induk terbagi, menjadi inti anakan dan berpindah ke dalam sel anakan. Tunas terus tumbuh sampai memisahkan diri dari sel induk dan membentuk sel baru (Yeong, 2005). Beberapa khamir melakukan reproduksi secara aseksual dengan pembelahan bukan pertunasan. Sehingga sel anakan identik dengan sel induk (Balasubramanian dan Glotzer, 2004).

#### 2.4.3 Persebaran Khamir

Persebaran Khamir di alam tidak seperti bakteri, tetapi khamir dapat diisolasi dari tanah, air, dan tumbuhan. Beberapa genus khamir dapat diisolasi dari lingkungan yang khusus maupun ekstrem, dengan kadar gula atau garam tinggi, dengan suhu rendah dan dengan adanya ketersediaan oksigen yang rendah. Khamir lebih efektif dalam memecah komponen bahan kimia dengan volume hasil yang lebih banyak. Khamir dapat tumbuh dalam larutan yang pekat, misalnya dalam larutan gula, garam, dan asam yang berlebih. Selain itu khamir juga mempunyai sifat anti mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang. Adanya sifat-sifat tahan terhadap stres lingkungan (gula, garam, dan asam berlebih) menjadikan khamir dapat bertahan atau bersaing dengan mikroorganisme lain (Satife *et al.*, 2012)

Khamir dapat hidup pada berbagai tempat seperti tanah, tumbuhan, air, atmosfer, dan bangunan (Tabel 5). Jaringan tanaman seperti daun, bunga, dan buah merupakan habitat yang paling disukai Khamir. Tetapi beberapa genus khamir dapat bersimbiosis dengan hewan secara komensalisme maupun parasitisme (Walker, 2009).

Tabel 5. Habitat Khamir (Walker, 2009)

Habitat	Deskripsi
Tanah	Tanah bukan tempat untuk pertumbuhan khamir tetapi tempat berlangsungnya hidup khamir dalam jangka waktu yang panjang. Khamir dapat ditemukan dilapisan atas tanah (10-15 cm). Khamir yang dapat ditemukan dalam tanah yaitu genus <i>Lipomyces</i> dan <i>Schwanniomyces</i> .
Tumbuhan	Pada bagian tanaman khamir dapat ditemukan pada jaringan tanaman seperti daun, bunga, dan buah. Persebaran khamir pada filosfer dibantu oleh serangga. Adanya bahan organik yang tinggi dapat menguntungkan pertumbuhan khamir.
Air	Khamir terdapat pada permukaan air laut dan tawar dalam jumlah yang tidak besar yaitu sekitar 1000 sel per liter. Khamir genus <i>Rhodotorula</i> yang dapat hidup pada air tawar. Sedangkan khamir genus <i>Debaryomyces hanseii</i> dapat hidup pada air yang berkadar garam tinggi.
Atmosfer	Beberapa sel khamir terdapat dalam setiap meter kubik. Umumnya khamir genus <i>Cryptococcus</i> , <i>Debaryomyces</i> , <i>Rhodotorula</i> , dan <i>Sporobolomyces</i> tersebar di udara dan lapisan permukaan tanah
Bangunan	Khamir dapat tersebar di beberapa bangunan. Contohnya khamir genus <i>Aureobasidium pullulans</i> terdapat pada dinding yang lembab dan khamir genus <i>S. cerevisiae</i> terdapat pada bangunan gudang penyimpanan anggur.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Januari sampai dengan Juli 2018.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari cetok, baskom, kotak es, tabung reaksi, *laminar Air Fow Cabinet* (L AFC), bunsen, autoclaf, jarum ose, *L spreader*, spatula, cawan petri, botol media, gelas ukur, *Microwave*, labu *Erlenmeyer*, mikroskop, timbangan analitik, *object glass*, *cover glass*, pengaduk, pipet tetes, pisau, mikropipet, tip, *rotary shaker*, korek api, kompor listik, panci, corong, penggaris, spidol, gunting, kertas Wattman, botol kaca ( $v=250$  ml) dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah pada tanaman cabai, isolat patogen *C. gloeosporioides*, media YMA (*Yeast Malt Agar*), media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media PDB (*Potato Dextrose Broth*), *chloramphenicol* 0,25 g,  $C_2H_6O$  70%,  $NaOCl$  1%, aquades steril, spirtus, tisu steril, aluminium foil, plastik tahan panas, kertas label, plastik wrap, dan fungisida maneb.

#### 3.3 Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini meliputi beberapa tahap yaitu persiapan penelitian dan pelaksanaan penelitian. Persiapan penelitian meliputi sterilisasi alat, pembuatan media buatan padat dan cair, serta pengambilan sampel tanah yang diduga tercemar fungisida maneb. Sedangkan pelaksanaan penelitian meliputi Isolasi khamir dan pemurnian khamir, identifikasi khamir, isolasi jamur patogen pada media buatan, pembuatan stok kultur khamir, pembuatan larutan stok fungisida, uji adaptasi khamir terhadap fungisida maneb, uji degradasi maneb oleh khamir dengan patogen secara *in vitro*.

##### 1.3.1 Persiapan penelitian

**Sterilisasi alat.** Sterilisasi alat dengan menggunakan autoclaf dan menggunakan  $C_2H_6O$  70%. Alat-alat yang disterilisasi dengan menggunakan autoclaf yaitu gelas ukur, cawan petri, labu erlenmeyer, tabung reaksi, dan alat-

alat tahan panas lainnya pada temperatur 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 120 menit. Sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O 70%. Sterilisasi berfungsi agar peralatan yang dipakai selama penelitian tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme yang tidak diinginkan.

**Pembuatan Media Buatan Padat dan Cair.** Media tumbuh padat untuk pertumbuhan khamir yang digunakan yaitu media YMA. Bahan-bahan yang digunakan dalam membuat 1000 ml media YMA diperlukan yaitu ekstrak yeast 3 g, ekstrak malt 3 g, pepton 5 g, glukosa 10 g, dan agar 20 g. Semua bahan tersebut dicampurkan kedalam aquades sebanyak 1000 ml yang telah mendidih dan diaduk hingga homogen dan tambahkan *chloramphenicol* 2 kapsul. Selanjutnya media yang sudah jadi dimasukkan kedalam botol media kemudian ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap dan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf.

Media padat lain yang digunakan adalah media PDA yang digunakan untuk purifikasi khamir, isolasi patogen, uji adaptasi khamir pada fungisida maneb, dan uji degradasi fungisida maneb oleh khamir dan patogen. Pembuatan media PDA sebanyak 1000 ml, diperlukan kentang 250 g, agar 20 g, dekstrose 20 g, dan aquades 1000 ml. Kentang yang sudah dicuci dan dikupas, dipotong dadu dengan ukuran 1x1 cm, kemudian direbus di dalam 1 liter aquades steril. Setelah mendidih, air rebusan disaring dan ditambahkan aquades steril hingga mencapai volume 1 liter. Agar, dekstros dan *chloramphenicol* 2 kapsul ditambahkan setelah sari kentang mendidih. Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam botol media kemudian ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap dan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf.

Media cair yang digunakan adalah media PDB. Media PDB digunakan untuk uji degradasi pestisida maneb oleh khamir. Untuk membuat 1000 ml media PDB diperlukan kentang 250 g, dekstros 20 g, dan aquades 1000 ml. Kentang yang telah dicuci dan dikupas, lalu dipotong kotak-kotak dengan ukuran 1x1 cm, kemudian direbus di dalam 1 liter aquades steril. Setelah mendidih, air rebusan disaring dan ditambahkan aquades steril hingga mencapai volume 1 liter. Kemudian ditambahkan dekstros dan *chloramphenicol* 2 kapsul setelah sari kentang mendidih. Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam botol

media, kemudian ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap kemudian disterilisasi di dalam autoklaf.

**Pengambilan Sampel Tanah.** Pengambilan sampel tanah dilakukan pada lahan pertanaman cabai di daerah Poncokusumo, Kabupaten Malang. Metode pengambilan sampel tanah yaitu tanah diambil sebanyak 5 titik sampel secara acak. Sampel tanah diambil menggunakan cetok dengan kedalaman 0-15 cm lalu dikompositkan di dalam baskom. Tanah yang sudah tercampur kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan di simpan ke dalam kotak es untuk optimalisasi sampling.

### 3.3.2 Pelaksanaan penelitian

**Isolasi dan pemurnian khamir.** Sampel tanah yang diperoleh ditimbang seberat 10 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 ml aquades kemudian ditambahkan pestisida berbahan aktif maneb sebanyak 0,2 g sesuai dengan konsentrasi anjuran. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *rotary shaker* selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat dengan cara mengambil 1 ml suspensi dari labu erlenmeyer yang berisi isolat hasil *shaker*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril 9 ml dan diencerkan dengan seri pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Dari setiap pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml suspensi lalu ditanam pada media YMA dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*) dengan menggunakan stik L. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan karakter makroskopis koloni yang tumbuh pada media dan dipindah pada media baru sehingga diperoleh isolat murni yang seragam (Widiastutik dan Alami, 2013).

**Identifikasi khamir.** Koloni khamir pada cawan petri diidentifikasi hingga tingkat genus dengan mengacu pada buku *The Yeast a Taxonomic Study* (Kurtzman, 2011). Pengamatan secara makroskopis meliputi bentuk, warna, tekstur, tepian, permukaan, dan elevasi koloni khamir (Ashilha dan Alami, 2014). Sebelum dilakukannya identifikasi secara mikroskopis, terlebih dahulu mengambil satu tetes media PDB menggunakan pipet dan diletakkan di permukaan *object glass*, kemudian mengambil khamir dengan menggunakan jarum ose dan diletakkan diatas *object glass* yang terdapat media PDB dan ditutup dengan *cover glass* kemudian diinkubasi selama 3 hari. Pemberian PDB ini bertujuan agar pengamatan koloni khamir lebih jelas ketika diamati.

Pengamatan secara mikroskopis meliputi bentuk dan ukuran sel, pertunasan, tipe pertunasan, dan tipe sel. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan perbesaran 400 kali (Widiastutik dan Alami, 2013). Hasil eksplorasi khamir diperoleh 13 isolat, yaitu *Saccharomyces* sp (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccharomyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4).

**Isolasi Jamur Patogen.** Jamur patogen yang digunakan sebagai parameter pada uji degradasi. Jamur patogen yang digunakan adalah *C. gloeosporioides* karena merupakan salah satu jamur sasaran dari fungisida berbahan aktif maneb. Sampel tanaman cabai yang sakit diambil dari lahan petani yang terletak di daerah Torongrejo, Batu. *C. gloeosporioides* diisolasi dari buah cabai yang menunjukkan gejala antraknosa. Buah cabai yang bergejala dicuci dengan menggunakan air steril, kemudian dipotong pada ukuran 1x1 cm dengan setengah sehat dan setengah bagian sakit, selanjutnya direndam dalam NaOCl 1%, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O 70%, aquades steril sebanyak dua kali masing-masing selama 1 menit dan ditiriskan pada tisu steril, kemudian ditanam pada media PDA secara aseptik. Inkubasi dilakukan hingga koloni patogen tumbuh pada media.

**Pembuatan Stok Kultur Khamir dan Larutan Stok Fungisida.** Khamir sebanyak 1 ose ditambahkan ke dalam 100 ml media PDB. Lalu di letakkan pada *rotary shaker* selama 3 hari untuk memperbanyak sel-sel khamir. Stok kultur ini digunakan untuk uji adaptasi dan uji degradasi maneb. Sedangkan untuk pembuatan larutan stok fungisida yaitu menggunakan fungisida sebanyak 10 gram atau 50 kali konsentrasi anjuran fungisida dan ditambahkan aquades steril hingga mencapai volume 100 ml. Pembuatan larutan stok fungisida adalah untuk mempermudah pengaplikasian fungisida pada uji adaptasi dan uji degradasi secara *in vitro*.

**Uji Adaptasi Khamir terhadap Fungisida Maneb.** Isolat khamir yang telah dimurnikan hingga didapatkan koloni tunggal kemudian diuji daya adaptasinya terhadap fungisida berbahan aktif Maneb dengan menggunakan media PDA yang sudah dicairkan kemudian ditambahkan larutan stok fungisida pada konsentrasi tertentu dengan berbagai komposisi (Tabel 6). Rancangan yang digunakan pada uji ini adalah rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6

perlakuan konsentrasi fungisida yang diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan tersebut dilakukan pada 13 isolat khamir, sehingga terdapat 244 satuan percobaan. Kemudian diamati panjang koloninya pada 3 hari setelah inokulasi (hsi).

**Tabel 6.** Komposisi media umpan beracun pada uji adaptasi

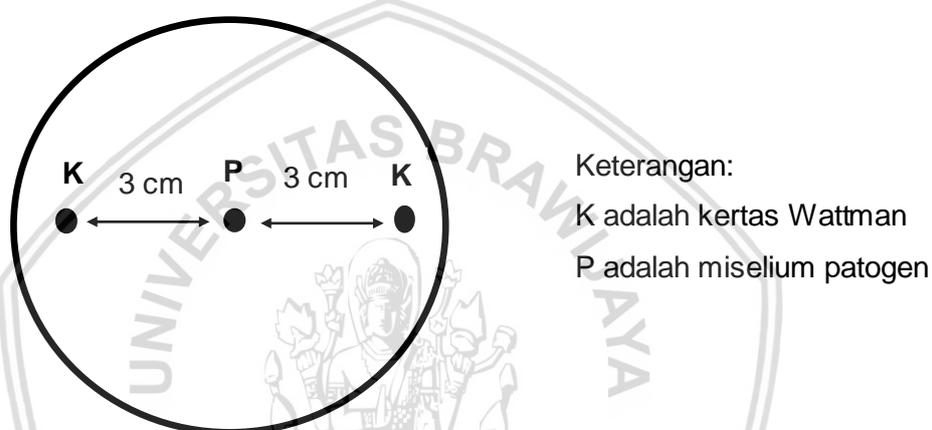
Perlakuan	Media PDA (ml) + larutan stok fungisida (ml)
Kontrol	100 + 0
1*	98 + 2
2*	96 + 4
3*	94 + 6
4*	92 + 8
5*	90 + 10

Keterangan: \*kali konsentrasi anjuran produk fungisida

Pada uji adaptasi, media umpan beracun tersebut (tabel 6) kemudian digunakan sebagai media uji yang di-*plating* pada cawan petri. Selanjutnya diambil sebanyak 1 ose khamir dari *stock culture* dan digoreskan dengan menggunakan metode *strik* pada masing-masing media. Kemudian diamati dan dihitung panjang koloninya pada 3 hari setelah inokulasi (hsi).

**Uji Degradasi Maneb oleh Khamir secara *In Vitro*.** Media PDB sejumlah 100 ml ditambahkan fungisida manebo sejumlah 1 ml dari larutan stok fungisida. Selanjutnya ditambahkan 1 ml suspensi khamir dari masing-masing larutan stok kultur khamir yaitu *Saccharomyces* sp (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccharomyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4), lalu dikocok dengan menggunakan *rotary shaker* selama 10 hari. Setelah 10 hari, larutan uji di autoclaf yang bertujuan untuk mematikan sel-sel khamir, sehingga yang tersisa hanya media PDB dan fungisida berbahan aktif manebo yang diduga sudah terdegradasi oleh khamir hasil eksplorasi. Selanjutnya kertas saring Wattman steril dengan ukuran diameter 0,5 cm direndam ke dalam larutan fungisida tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Kertas ditiriskan dengan menggunakan tisu steril. Uji degradasi dilakukan dengan memodifikasi metode biakan ganda dengan cara meletakkan miselium *C. gloeosporioides* di tengah cawan petri berukuran 9 cm yang telah berisi media PDA. Lalu kertas saring Wattman diletakkan pada jarak 3 cm di sisi kanan dan kiri dari jamur *C. gloeosporioides*.

Kemudian diinkubasi dengan suhu ruang selama 7 hari dan mengukur diameter pertumbuhan *C. gloeosporioides*. Pada uji degradasi ini digunakan dua macam kontrol, yaitu kontrol positif dan negatif. Kontrol positif yaitu media PDB sebanyak 100 ml ditambahkan pestisida sesuai dengan konsentrasi anjuran tanpa penambahan khamir hasil eksplorasi dan kontrol negatif yaitu hanya media PDB 100 ml tanpa pemberian fungisida maupun khamir hasil eksplorasi. Rancangan yang digunakan pada uji ini adalah rancangan acak lengkap dengan 15 perlakuan yaitu 13 khamir dan 2 larutan kontrol (Kontrol positif dan kontrol negatif) yang diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 45 satuan percobaan.



Gambar 3. Modifikasi uji biakan ganda pada uji degradasi fungisida

Parameter pengamatan untuk uji degradasi adalah diameter pertumbuhan *C. gloeosporioides*. Pengukuran diameter dari pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada media buatan ini untuk melihat hasil degradasi dari bahan aktif fungisida maneb yang ditandai dengan penurunan daya toksisitas fungisida bahan aktif maneb yaitu dengan melihat pertumbuhan diameter *C. gloeosporioides*. Semakin besar penurunan toksisitas maneb maka diameter pertumbuhan dari *C. gloeosporioides* juga semakin besar pula. Sebaliknya, jika semakin kecil penurunan toksisitas maka diameter pertumbuhan *C. gloeosporioides* semakin kecil.

### 3.4 Analisis Data

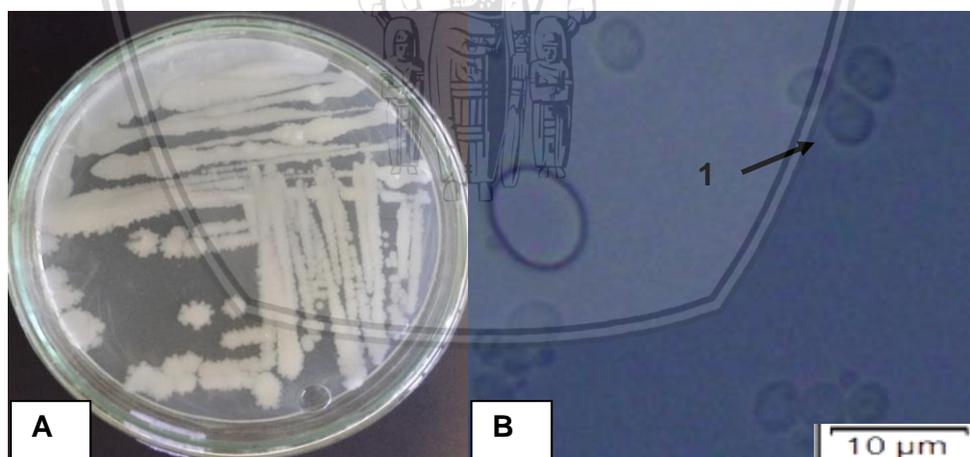
Data yang diperoleh dari uji adaptasi dan uji degradasi dianalisis dengan menggunakan analisa ragam atau Uji F taraf kesalahan 5% diolah dengan menggunakan Microsoft Excel 2007 dan SPSS. Jika hasil Uji F berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan (DMRT) pada taraf kesalahan 5% untuk lebih teliti dan mengetahui perbedaan antara perlakuan.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi Khamir

Hasil eksplorasi khamir diperoleh 13 isolat, 8 isolat merupakan koleksi laboratorium yaitu *Saccharomyces* sp. (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), dan 5 isolat merupakan hasil eksplorasi pada tanah yang tercemar fungisida maneb yaitu khamir *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4). Berikut ini hasil pengamatan genus khamir secara makroskopis dan mikroskopis.

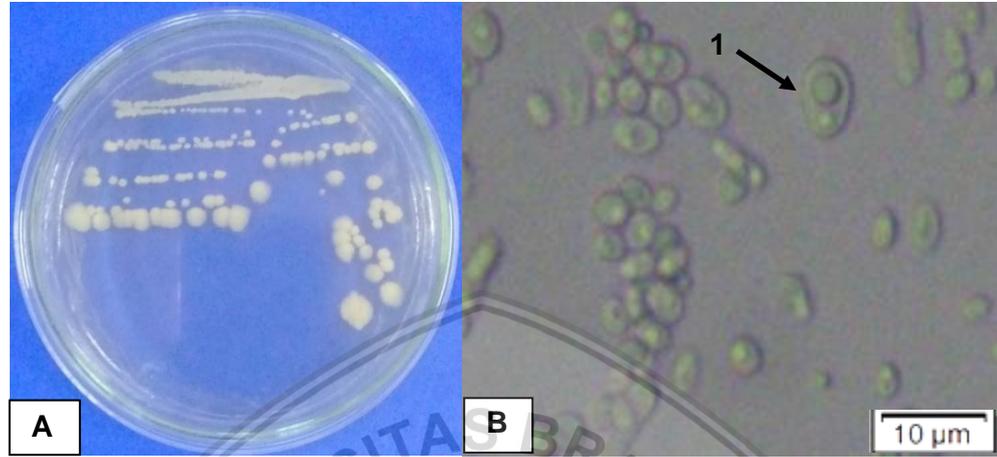
***Saccharomyces* sp. (1)** Koloni khamir berwarna putih kusam, bertekstur butiran, tepi koloni bergelombang, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel oval, berukuran 3-5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa (Gambar 4). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Saccharomyces* sp. (1) berwarna krem muda, tekstur butiran, halus, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat atau agak oval dengan ukuran 3-8  $\mu\text{m}$  dan dapat membentuk pseudohifa.



Gambar 4. A. Koloni khamir *Saccharomyces* sp. (1) pada media PDA; B. Morfologi sel *Saccharomyces* sp. (1); 1. Sel khamir *Saccharomyces* sp. (1)

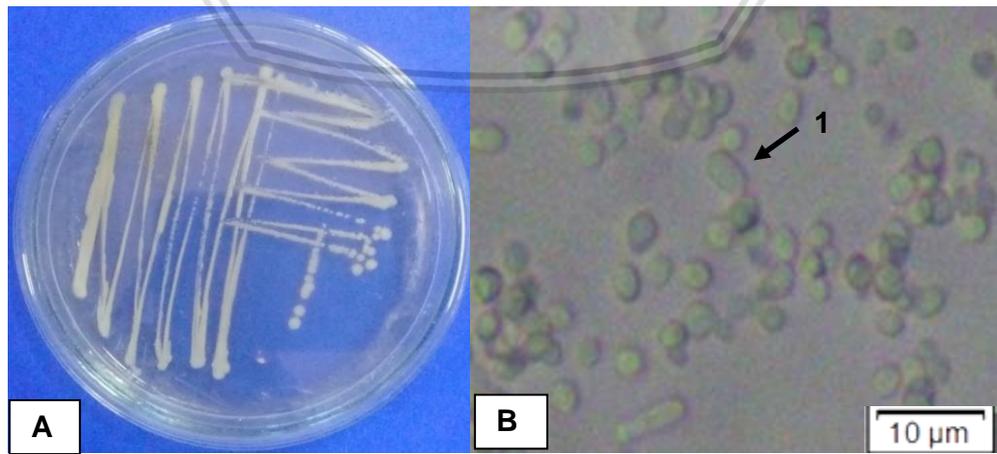
***Candida* sp. (1)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni bergelombang, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel oval, berukuran 4-6  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral dan membentuk pseudohifa (Gambar 5). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Candida* sp. (1) berwarna putih hingga putih

kusam, tekstur butiran, agak bergerigi, dan memiliki permukaan yang mengkilap. Bentuk sel bulat, atau oval, berukuran ukuran 2,5- 4,5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berpasangan, memiliki tipe pertunasan multilateral, dan membentuk pseudohifa.



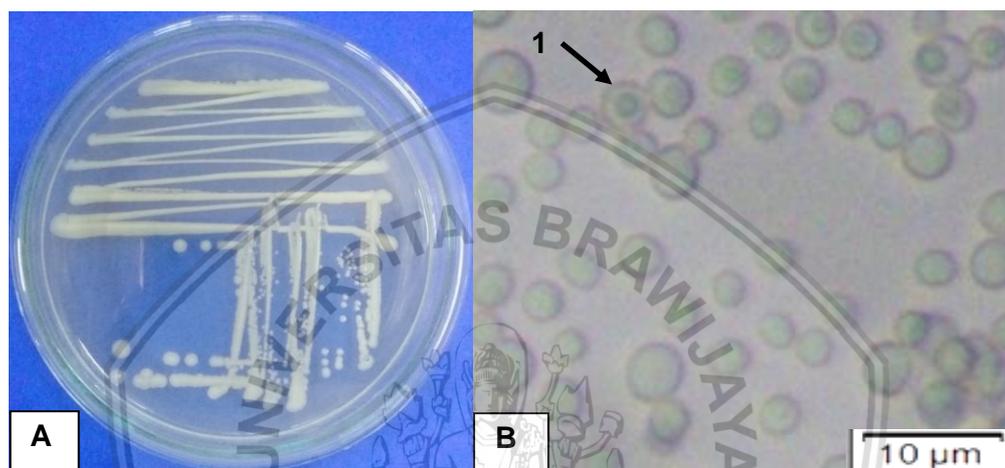
Gambar 5. A. Koloni khamir *Candida* sp. (1) pada media PDA; B. Morfologi sel *Candida* sp. (1); 1. Sel khamir *Candida* sp. (1)

***Schizosaccharomyces* sp.** Koloni khamir berwarna krem kusam, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat atau oval, berukuran 2,45-4,65  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 6). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Schizosaccharomyces* sp. berwarna kecoklatan atau krem, tekstur butiran, tepi rata atau bergerigi, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, oval atau silindris sel berukuran 3-5  $\mu\text{m}$  dengan sel tunggal atau berpasangan dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



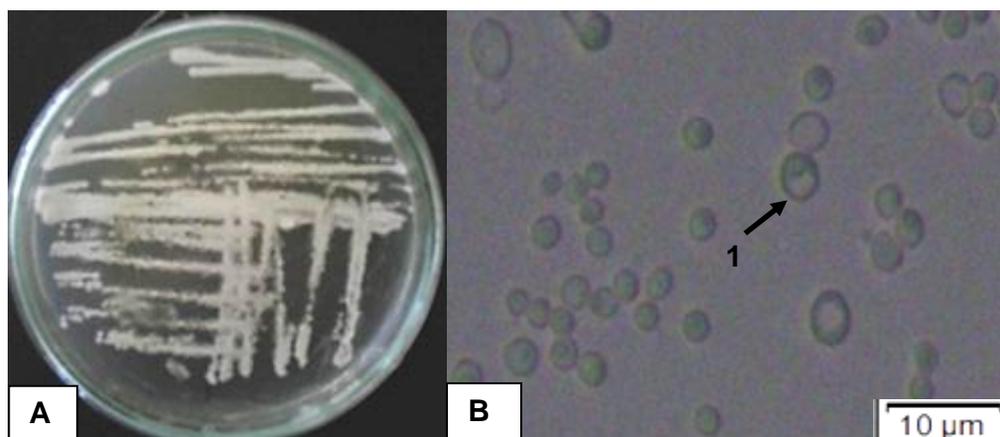
Gambar 6. A. Koloni khamir *Schizosaccharomyces* sp. pada media PDA; B. Morfologi sel *Schizosaccharomyces* sp. (1); 1. Sel khamir *Schizosaccharomyces* sp.

***Pichia sp. (1)*** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2,5-4  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan membentuk pseudohifa (Gambar 7). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Pichia sp. (1)* berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, dan permukaan mengkilap. Bentuk selbulat, berukuran 2,3-4,8  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, memiliki tipe pertunasan multilateral, dan membentuk pseudohifa.



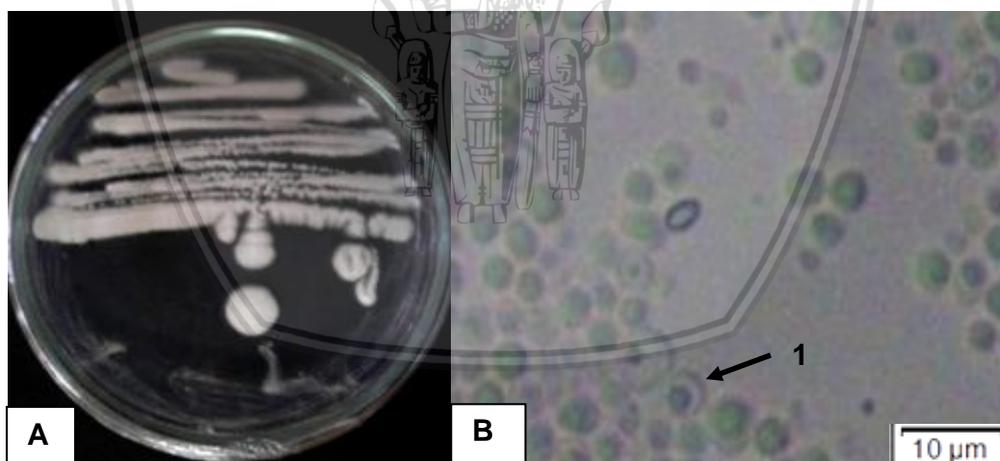
Gambar 7. A. Koloni khamir *Pichia sp. (1)* pada media PDA; B. Morfologi sel *Pichia sp. (1)*; 1. Sel khamir *Pichia sp. (1)*

***Pichia sp. (2)*** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi cembung, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2-3  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 8). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Pichia sp. (2)* berwarna putih sampai krem, bertekstur butiran, halus, dan memiliki permukaan yang mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2-5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 8. A. Koloni khamir *Pichia* sp. (2) pada media PDA; B. Morfologi sel *Pichia* sp. (2); 1. Sel khamir *Pichia* sp. (2)

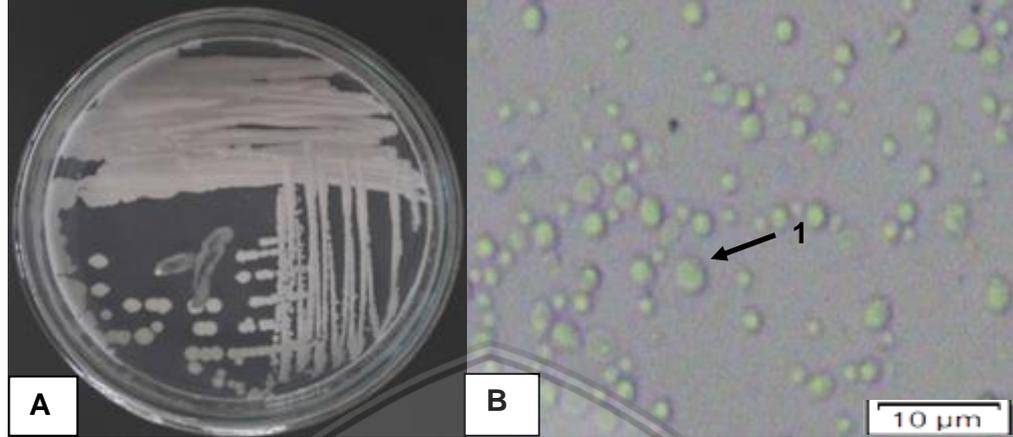
***Pichia* sp. (3)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, elevasi cembung, tepi koloni rata, dan permukaan tidak mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2-4 µm, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 9). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Pichia* sp. 3 berwarna putih, bentuk sel oval atau bulat memanjang, berukuran 1-5 µm, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 9. A. Koloni khamir *Pichia* sp.(3) pada media PDA; B. Morfologi sel *Pichia* sp.(3); 1. Sel khamir *Pichia* sp.(3)

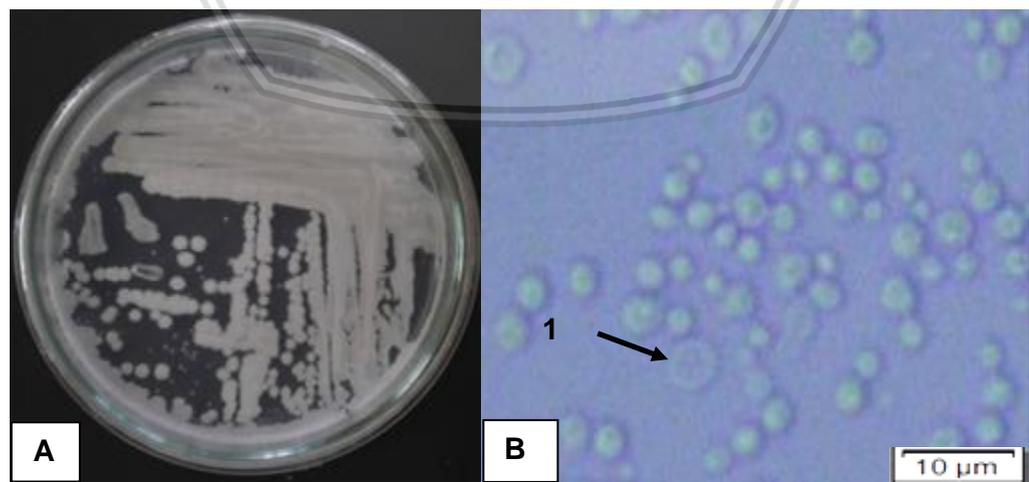
***Saccharomyces* sp. (2)** Koloni khamir berwarna krem, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi rata, permukaan tidak mengkilap dan agak kasar. Bentuk sel bulat, berukuran 2-3 µm, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 10). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Saccharomyces* sp. (2) berwarna krem, permukaan kasar, bentuk

sel bulat, berukuran 3-11  $\mu\text{m}$ , tepi koloni rata, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



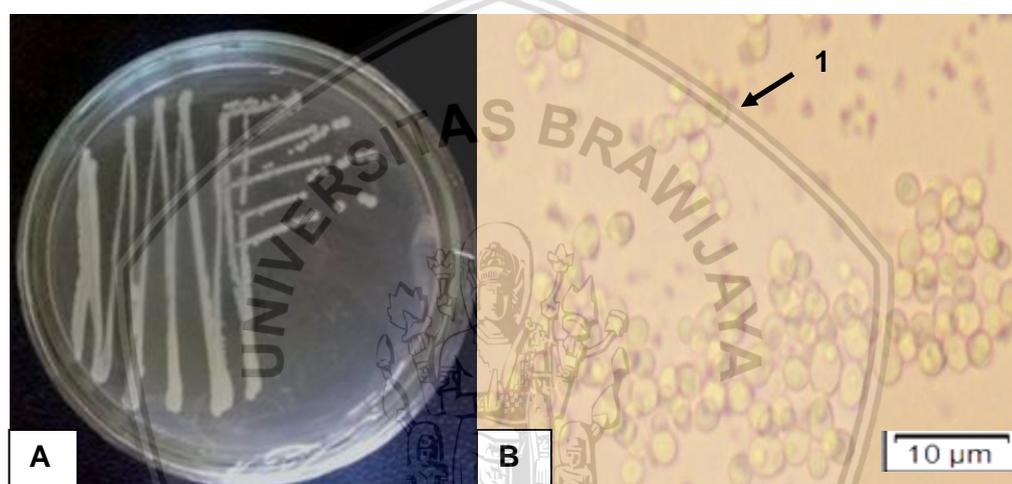
Gambar10. A. Koloni khamir *Saccharomyces* sp. (2) pada media PDA; B. Morfologi sel *Saccharomyces* sp. (2); 1. Sel khamir *Saccharomyces* sp. (2)

***Candida* sp. (2)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi sedikit cembung, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat oval, berukuran 3-4  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, memiliki tipe pertunasan multilateral, dan dapat membentuk pseudohifa (Gambar 11). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Candida* sp. (2) berwarna putih, tekstur butiran, permukaan mengkilap, bentuk sel ovoidal, berukuran 3-10  $\mu\text{m}$ . sel tunggal atau berpasangan, memiliki tipe pertunasan multilateral, dan dapat membentuk pseudohifa.



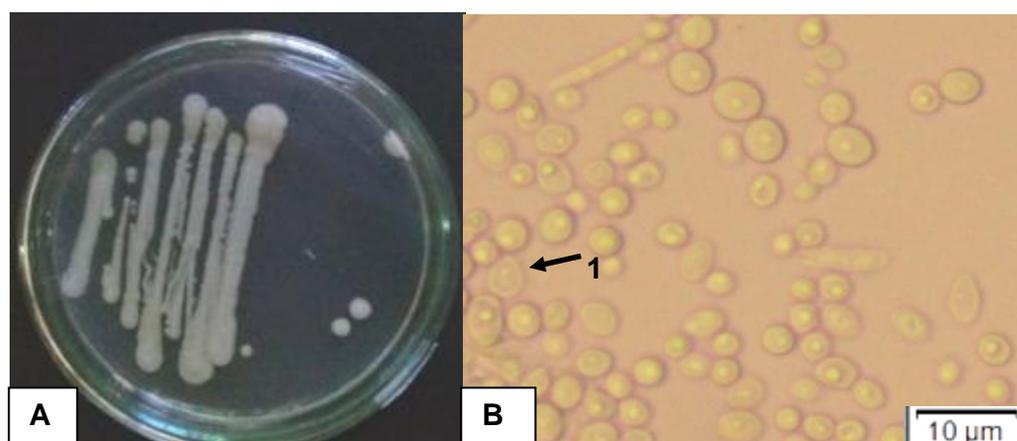
Gambar 11. A. Koloni khamir *Candida* sp. (2) pada media PDA, B. Morfologi sel *Candida* sp. (2); 1. Sel khamir *Candida* sp. (2)

***Debaryomyces* sp.** Koloni khamir berwarna putih kusam, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul dan permukaan agak mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran sel 2-5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dapat membentuk pseudohifa, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 12). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Debaryomyces* sp. berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, tepi koloni halus, memiliki elevasi bergelombang, dan permukaan agak mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2-7  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dapat membentuk pseudohifa, dan tipe pertunasan multilateral.



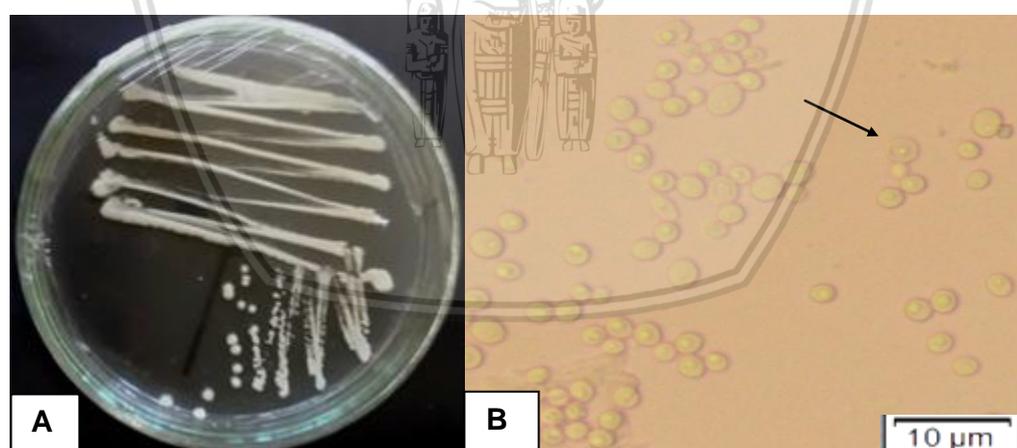
Gambar 12. A. Koloni khamir *Debaryomyces* sp. pada media PDA; B. Morfologi sel *Debaryomyces* sp.; 1. Sel khamir *Debaryomyces* sp.

***Issatchenkia* sp.** Koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel oval, berukuran 2-5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 13). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Issatchenkia* sp. berwarna putih hingga putih kusam, elevasi timbul, tekstur butiran, halus dan mengkilap. Bentuk sel oval atau bulat telur, berukuran 2-9  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 13. A. Koloni khamir *Issatchenkia* sp. pada media PDA, B. Morfologi sel *Issatchenkia* sp.; 1. Sel khamir *Issatchenkia* sp.

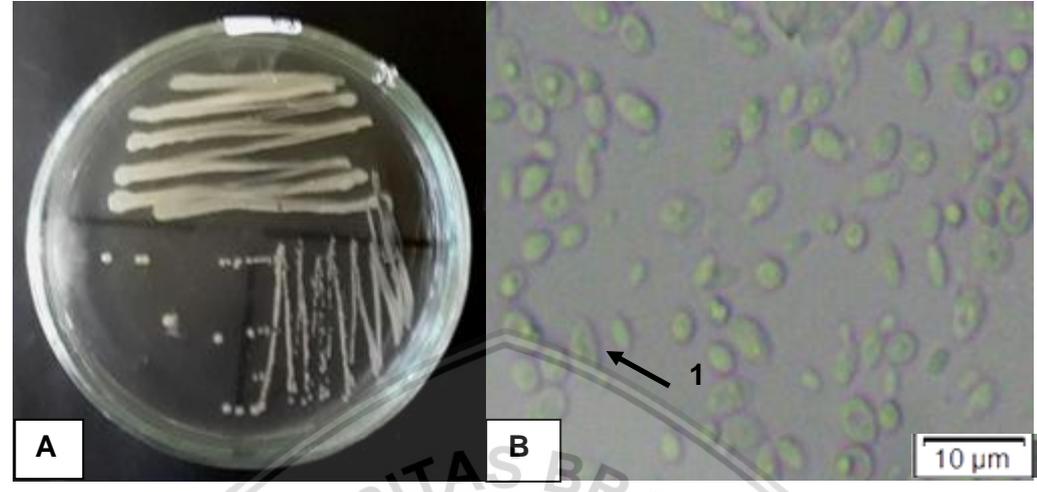
**Candida sp. (3)** Koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi rata, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, berukuran 2-4 µm, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 14). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa *Candida* sp. (3) berwarna putih, putih kusam, atau krem, tekstur butiran, bergerigi, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat atau oval, berukuran 2-4,5 µm, sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 14. A. Koloni khamir *Candida* sp. (3) pada media PDA, B. Morfologi sel *Candida* sp. (3); 1. Sel khamir *Candida* sp. (3)

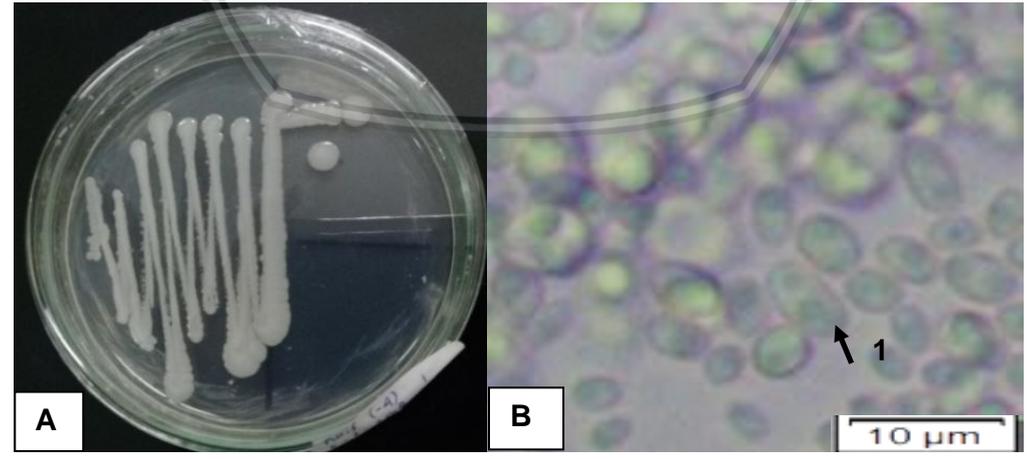
**Candida sp. (4)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi rata, dan permukaan agak mengkilap. Bentuk sel oval, berukuran 2-5 µm sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 15). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Candida* sp. (4) berwarna putih atau krem, tekstur butiran, halus, dan

mengkilap. Bentuk sel bulat atau oval, berukuran 2-4,3  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 15. A. Koloni khamir *Candida* sp. (4) pada media PDA, B. Morfologi sel *Candida* sp. (4); 1. Sel khamir *Candida* sp. (4)

***Pichia* sp. (4)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Sel berbentuk agak lonjong, berukuran 2-5  $\mu\text{m}$ , sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 16). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Pichia* sp. (4) berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, dan mengkilap. Bentuk sel bulat atau lonjong, berukuran 2-5,8  $\mu\text{m}$  sel tunggal atau berkelompok, dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 16. A. Koloni khamir *Pichia* sp.(4) pada media PDA, B. Morfologi sel *Pichia* sp. (4); 1. Sel khamir *Pichia* sp.(4)



#### 4.2 Uji Adaptasi Khamir terhadap Fungisida Maneb

Syarat suatu khamir tergolong sebagai pendegradasi fungisida yaitu khamir tersebut mampu tumbuh dan beradaptasi dengan media yang sudah ditambahkan fungisida. Khamir yang tumbuhnya tidak terputus-putus sepanjang diameter cawan petri merupakan khamir yang dapat beradaptasi dengan maksimal. Sedangkan khamir yang tumbuhnya terputus-putus merupakan khamir yang tidak dapat beradaptasi dengan maksimal. Kemampuan khamir yang mampu beradaptasi dapat dihitung panjang koloni yang distrik pada media PDA yang sudah diracuni dengan fungisida berbahan aktif maneb pada berbagai konsentrasi.

Tabel 7. Rerata panjang strik khamir pada media peracunan (cm)

	Konsentrasi Fungisida					
	0 (Kontrol)	1*	2*	3*	4*	5*
<i>Saccharomyces</i> sp. (1)	9.00b	6.00ab	6.00ab	2.17ab	1.90ab	1.50a
<i>Candida</i> sp. (1)	9.00b	8.20ab	3.16a	3.10a	2.93a	4.10ab
<i>Schizosaccaromyces</i> sp.	9.00c	7.07bc	7.20bc	6.87bc	4.73b	0.00a
<i>Pichia</i> sp. (1)	9.00a	7.67a	6.90a	7.00a	5.37a	7.80a
<i>Pichia</i> sp. (2)	9.00a	8.63a	8.17a	7.63a	4.00a	5.37a
<i>Pichia</i> sp. (3)	9.00b	6.27ab	5.60ab	5.97ab	4.10a	4.00a
<i>Saccharomyces</i> sp. (2)	9.00c	7.40bc	4.83a	4.27a	4.67a	5.53ab
<i>Candida</i> sp. (2)	9.00c	8.50bc	7.87bc	6.13ab	4.73a	3.87a
<i>Debaryomyces</i> sp.	9.00b	5.67ab	6.03ab	7.07ab	4.17ab	3.43a
<i>Issatchenkia</i> sp.	9.00a	8.50a	8.17a	7.23a	6.33a	5.00a
<i>Candida</i> sp. (3)	9.00a	8.00a	7.87a	7.30a	5.23a	3.93a
<i>Candida</i> sp. (4)	9.00a	6.57a	6.43a	6.07a	5.80a	5.50a
<i>Pichia</i> sp. (4)	9.00c	6.73bc	6.70bc	3.33ab	0.17a	0.00a

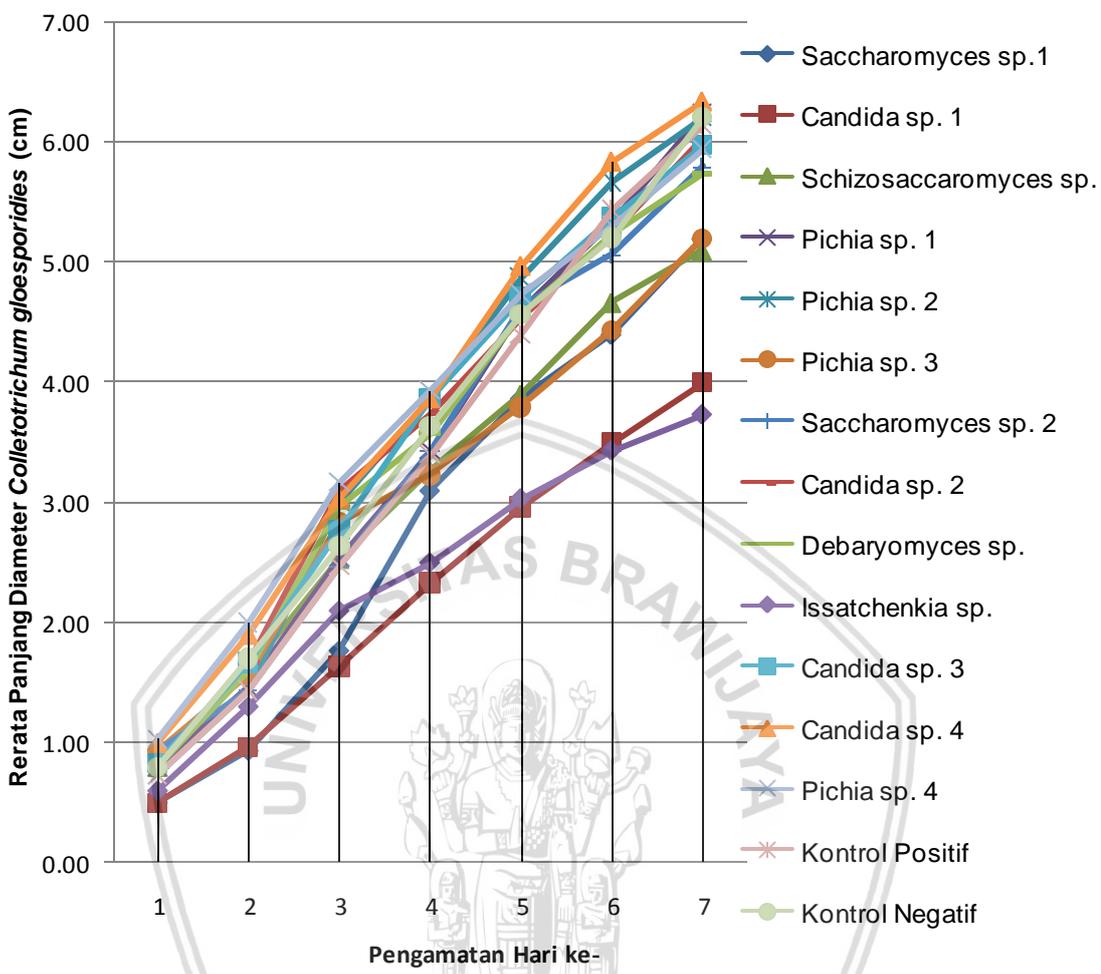
Keterangan: \*Kali konsentrasi anjuran produk fungisida. Angka-angka disertai dengan huruf dan baris yang sama menunjukkan tidak terdapat beda nyata pada DMRT 5%

Berdasarkan data tersebut, diketahui hampir semua khamir mampu beradaptasi pada kondisi media yang teracuni fungisida hingga konsentrasi tertinggi yaitu 5 kali konsentrasi anjuran produk fungisida. Tetapi terdapat khamir yang tidak mampu tumbuh pada perlakuan hingga 5 kali konsentrasi anjuran produk fungisida yaitu khamir *Schizosaccaromyces* sp. dan *Pichia* sp. (4). Sedangkan pada perlakuan kontrol, 13 isolat khamir mampu tumbuh pada media dengan rerata panjang koloni sebesar 9 cm. Kemampuan adaptasi ini ditandai dengan pertumbuhan panjang koloni yang masih mampu untuk tumbuh walaupun panjang koloni cenderung berkurang seiring dengan penambahan konsentrasi fungisida. Pemberian fungisida maneb pada konsentrasi tinggi diduga dapat menurunkan pertumbuhan khamir, disebabkan semakin tingginya konsentrasi fungisida yang semakin beracun. Sedangkan pemberian fungisida maneb pada konsentrasi rendah tidak berpengaruh pada pertumbuhan khamir, sehingga khamir masih mampu bertahan hidup.

Adanya penambahan konsentrasi pestisida menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme menjadi terhambat dan populasi menjadi berkurang dikarenakan sifat toksik dari pestisida tersebut (Cahyaningtyas dan Sumantri 2012). Keberadaan senyawa senobiotik (senyawa toksik pestisida) dapat menyebabkan reaksi metabolik yang berbeda pada suatu mikroorganisme ketika diberikan berbagai konsentrasi pestisida sehingga menyebabkan mikroorganisme mengalami fluktuasi pada setiap perlakuan (Sulistinah *et al.*, 2011). Menurut Slavikova dan Vadkertiova (2003), penggunaan pestisida seperti herbisida dan fungisida dapat menghambat tumbuhnya khamir pada lahan pertanian.

#### **4.3 Uji Degradasi Maneb oleh Khamir dengan Patogen Secara *In Vitro***

Uji degradasi terdapat 15 perlakuan yaitu 13 perlakuan menggunakan khamir dan 2 perlakuan menggunakan kontrol. Perlakuan kontrol yang digunakan yaitu kontrol positif (hanya pemberian fungisida dan tanpa khamir) dan kontrol negatif (tanpa pestisida dan tanpa khamir). Dari hasil uji degradasi fungisida yang berbahan aktif maneb menunjukkan bahwa rerata panjang diameter pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* berbeda-beda pada setiap perlakuan dan pada setiap harinya.



Gambar 17. Grafik rerata panjang diameter pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada uji degradasi Maneb

Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa hari kesatu sampai hari ketujuh rerata panjang diameter *C. gloeosporioides* semakin besar. Pengamatan uji degradasi pada hari kesatu, kedua, ketiga dan keempat pada perlakuan kontrol dan perlakuan dengan penambahan khamir yang memiliki rerata diameter terbesar yaitu pada kontrol negatif dan *Pichiasp.*(4). Rerata diameter terbesar terdapat pada perlakuan kontrol negatif secara berturut-turut yaitu 0,80 cm; 1,70 cm; 2,63 cm; dan 3,63 cm. Sedangkan rerata diameter yang terbesar secara berturut turut pada perlakuan khamir *Pichia sp.* (4) yaitu 1,03 cm; 2,00 cm; 3,17 cm; dan 3,93 cm. Pada pengamatan uji degradasi hari kelima menunjukkan pada perlakuan kontrol yaitu kontrol negatif menunjukkan rerata panjang diameter terbesar sebesar 4,57 cm. Pada pengamatan uji degradasi hari keenam, menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol, kontrol positif memiliki panjang

diameter terbesar yaitu 5,43 cm. Pada pengamatan uji degradasi hari ketujuh pada perlakuan kontrol, kontrol negatif menunjukkan rerata panjang diameter yang terbesar yaitu 6,20 cm. Sedangkan pada pengamatan uji degradasi pada hari kelima, keenam, dan ketujuh secara berturut turut pada perlakuan khamir, khamir *Candida* sp. (4) menunjukkan rerata diameter terbesar yaitu 4,97 cm; 5,83 cm; dan 6,33 cm. Pada perlakuan kontrol negatif memiliki rerata panjang diameter terbesar karena pada kontrol negatif tidak adanya penambahan fungisida maneb sehingga pertumbuhan *C. gloeosporioides* tidak terhambat. Pada perlakuan khamir yaitu khamir *Pichia* sp. (4) dan *Candida* sp. (4) memiliki rerata panjang diameter terbesar (tabel 8), karena diduga khamir tersebut memiliki kemampuan yang baik untuk mendegradasi fungisida berbahan aktif maneb. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata antar khamir hasil eksplorasi dalam mendegradasi fungisida berbahan aktif maneb dalam 7 hari.

Tabel 8. Rerata panjang diameter *C. gloeosporioides* pada uji degradasi (cm)

Perlakuan	Pengamatan hari ke -						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Saccharomyces</i> sp. 1	0.50a	0.93a	1.77ab	3.10abc	3.87abc	4.40b	5.20bc
<i>Candida</i> sp. 1	0.50a	0.97a	1.63a	2.33a	2.97a	3.50a	4.00a
<i>Schizosaccharomyces</i> sp.	0.80bcd	1.60abc	2.53bcd	3.27bc	3.90bcd	4.67bcd	5.10b
<i>Pichia</i> sp. 1	0.80bcd	1.47abc	2.5bcd	3.43c	4.60cde	5.33bcde	6.23cd
<i>Pichia</i> sp. 2	0.73abc	1.43abc	3.00d	3.87c	4.87de	5.67e	6.20cd
<i>Pichia</i> sp. 3	0.93cd	1.57abc	2.83cd	3.23bc	3.80abc	4.43bc	5.20bc
<i>Saccharomyces</i> sp. 2	0.93cd	1.43abc	2.47bcd	3.43c	4.63cde	5.07bcde	5.80bcd
<i>Candida</i> 2	0.80bcd	1.67bc	3.10d	3.73c	4.53cde	5.23bcde	6.03bcd
<i>Debaryomyces</i> sp.	0.80bcd	1.60abc	2.97d	3.57c	4.57cde	5.23bcde	5.73bcd
<i>Issatchenkia</i> sp.	0.60ab	1.30ab	2.10abc	2.50ab	3.03ab	3.43a	3.73a
<i>Candida</i> sp. 3	0.83bcd	1.67bc	2.77cd	3.87c	4.70cde	5.37cde	5.97bcd
<i>Candida</i> sp. 4	1.00d	1.90bc	3.03d	3.87c	4.97e	5.83e	6.33d
<i>Pichia</i> sp. 4	1.03d	2.00c	3.17d	3.93c	4.73cde	5.30bcde	5.93bcd
kontrol +	0.73abc	1.43abc	2.47bcd	3.40c	4.40cde	5.43de	6.13cd
kontrol -	0.80bcd	1.70bc	2.63cd	3.63c	4.57cde	5.20bcde	6.20cd

Keterangan : Angka-angka disertai dengan huruf dan kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat beda nyata pada DMRT 5%

Mikroorganisme memiliki kemampuan berinteraksi yang baik secara fisik maupun kimia yang mengarah pada perubahan struktural atau mendegradasi molekul target (Raymond *et al.*, 2001). Kelompok mikroba seperti bakteri, jamur dan golongan actinomycetes adalah transformator utama dan pendegradasi pestisida. Jamur melakukan biotransformasi pestisida dan xenobiotik lain dengan merubah struktural pada molekul racunnya tidak beracun. Pestisida dilepaskan ke dalam tanah, di mana akan didegradasi lebih lanjut oleh bakteri (Gianfreda dan Rao, 2004). Pada uji degradasi terjadi karena adanya proses penguraian pestisida oleh mikroba, reaksi kimia, dan sinar matahari (Tarumingkeng 1992). Metabolisme dan kecepatan degradasi pestisida dipengaruhi oleh sifat tanah, temperatur, kelembaban tanah dan dosis pestisida. Setelah mengalami proses degradasi pestisida mengalami transformasi secara oksidasi, reduksi, hidrolisis dan konjugasi. Degradasi pestisida dapat berjalan secara biologi maupun nonbiologi. Semua proses itu menentukan keberadaan bahan aktif pestisida di lingkungan (Suciatiet *al.*, 2015). Senyawa hidrokarbon digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi dan sumber energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangbiakan. Terjadinya proses degradasi senyawa hidrokarbon secara mekanisme berlandaskan pada prinsip bioremediasi dengan melakukan proses perombakan senyawa hidrokarbon dengan enzim pengoksidasi hidrokarbon, sehingga mikroba mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan memotong rantai hidrokarbon menjadi lebih pendek (Cookson, 1995)

Berdasarkan uji adaptasi dan uji degradasi fungisida berbahan aktif maneb, khamir *Pichia* sp. (4) memiliki kemampuan adaptasi paling lemah. Tetapi justru memiliki potensi yang besar dalam mendegradasi fungisida berbahan aktif maneb. Khamir *Pichia* sp. mengeluarkan suatu senyawa berupa enzim organophosphorus hydrolase (OPHC<sub>2</sub>) yang dapat mengurai organophosphorus menjadi molekul baru yang tidak beracun (Chu *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2013). Sedangkan pada khamir *Candida* memiliki daya selulolitik, dikatakan memiliki daya selulolitik karena mikroorganisme tersebut mampu menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis ikatan  $\beta$  (1-4) glikosidik pada selulosa dimana merupakan hasil dari hidrolisis enzim (Idiawati *et al.*, 2014). Khamir *Candida* sp. merupakan salah satu jenis khamir yang banyak digunakan karena dapat tumbuh dengan cepat, selain itu dapat tumbuh pada media yang miskin akan nutrisi (Winugroho dan Widiawati, 2003).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat 13 isolat khamir terdiri atas 8 khamir dari koleksi laboratorium yaitu khamir *Saccharomyces* sp (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), dan 5 khamir pada lahan yang tercemar residu fungisida berbahan aktif maneb yaitu *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candidasp.* (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4)
2. Pada uji adaptasi khamir *Schizosaccaromyces* sp. dan *Pichia* sp. (4) tidak mampu beradaptasi hingga 5 kali konsentrasi anjuran produk fungisida maneb.
3. Khamir *Pichia* sp. (4) dan *Candida* sp. (4) memiliki kemampuan yang baik sebagai pendegradasi fungisida maneb.

### 5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis awal pada sampel tanah untuk mengetahui kandungan maneb pada sampel tanah, uji sampai tingkat DNA pada khamir yang ditemukan agar mengetahui spesiesnya secara pasti, dan pengujian kandungan maneb akhir yang telah terdegradasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Motaal, F.F., S.A. El-Zayat, Y. Kosaka., M.A. El-Sayed., M.S.M. Nassar., and S. Ito. 2009. Four novel ustilaginomyceteous anamorphic yeast species isolated as endophytes from the medicinal plant *hyocyanus muticus*. *Asian Journal of Plant Science* 8(8):526-535
- Afriyanto.2008. Kajian Keracunan Pestisida pada Petani Penyemprot Cabe di Desa Candi Kecamatan Bandungan Kabupaten Semarang. Universitas Diponegoro. Semarang
- Ashliha, I.N., dan N.H. Alami. 2014. Karakterisasi khamir dan pulau poteran Madura. *Jurnal sains dan Seni POMITS* 3 (2):49-50
- Balasubramanian, M.K., dan E.M. Glotzer. 2004. Comparative analysis of cytokinesis in budding yeast, fission yeast and animal cells. *Current Biology* 14(18): 806-818
- Barnett, J. 2011. *Yeast research: a historical approach*. ASM Press. Washington.
- Cahyaningtyas, W.P., dan I. Sumantri. 2012. Pengaruh penambahan biochar limbah pertanian dan pestisida pada inkubasi tanah inceptisol untuk menekan emisi gas metana (CH<sub>4</sub>) sebagai gas rumah kaca. *Jurnal Teknologi kimia dan industri* 1(1): 521-527
- Chu, X., N. Wu., M. Deng., J. Tian., B. Yao., dan Y. Fan. 2006. Expression of organophosphorus hydrolase *ophc2* in *pichia pastoris*: Purification and Characterization. *Protein Expression and Purification* 49: 9-14
- Cookson, J. T, Jr. 1995. *Bioremediation Engineering Design & Application*. McGraw Hill, Inc. USA
- Djojsumarto, P. 2008. *Panduan Lengkap Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- EPA.2001. The Determination of Whether Dithiocarbamate pesticides shares a common mechanism of toxicity. Health effects Division Office of Pesticide Programs.
- FAO (Food And Agriculture Organization). 2017. Maneb. Diunduh dari [www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/ .../maneb.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/.../maneb.pdf). Pada tanggal 15 Januari 2018
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal., dan A. Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia : Jakarta*
- Gianfreda L., M. Rao. 2004. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme Microb. Tech.* 35, 339–354
- Iidiawati, N., E.M. Harfinda., dan L. Arianie. 2014. Produksi enzim selulase oleh *aspargillus niger* pada amapas sagu. *Jurnal Natur Indonesia* 16(1):1-9

- Jumiyati, S.H. Bintari., dan I. Mubarak. 2012. Isolasi dan identifikasi khamir secara morfologi di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Jurnal Biosantifika*. 4(1): 28
- Kanti, A., 2005. Actinomycetes Selulolitik dari Tanah Hutan Taman Nasional Bukit Duabelas.Jambi. *Jurnal Biodiversitas*, 6: Hlmn 85-89.
- Koleva, N.G., U.A. Schneider. 2009. The impact of climate change on the external cost of pesticide applications in US agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 7(3):203-216
- Kurtzman, C.P., J.W Fell. 1998. *The Yeast A Taxonomic Study*. New York: Elsevier.
- Kurtzman, C.P., J.W Fell, dan T. Boekhout. 2011. *The Yeast A Taxonomic Study*. Vol. 1.Fifth Edition. New York: Elsevier.
- Laba, I.W, 2010. Analisis empiris penggunaan insektisida menuju pertanian berkelanjutan. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 3(2):120-137.
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan mikroba dalam bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Oktavia, N.D., A.D. Moelyaningrum., R.S. Pujiati. 2015. Penggunaan pestisida dan kandungan residu pada tanah dan buah semangka. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa
- Priadie, B. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 10(1):39-40
- Puspitasari, D.J, dan Khaeruddin. 2016. Kajian bioremediasi pada tanah tercemar pestisida. *Kovalen* 2(3):98-106
- Raymond, J. T. Rogers., D. Shonnard., A. Kline., 2001. A review of structure based biodegradation estimation methods, *J. Hazard. Mater.* 84, 189–215.
- Sakung, J. 2004. Kadar residu pestisida golongan organofosfat pada beberapa jenis sayuran. *Jurnal Ilmiah Santina*. 1(4):520 – 525
- Satife, D.O., A. Rahmawati., dan M. Yazid. 2012. Potensi yeast pada pengurangan konsentrasi uranium dalam limbah organik TBP-Kerosin yang mengandung uranium. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX Pusat Teknologi Limbah Radioaktif-BATAN*. 183-185
- Singh, B.K., A.Walker. 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 30: 428–471
- Slavikova, E. dan R. Vadkertiova. 2003. Effects of Pesticides on Yeasts Isolated from Agricultural Soil. *Culture Collection of Yeasts. Institute of Chemistry. Slovak Academy of Sciences. Slovakia*
- Soemirat, J. 2003. *Toksikologi Lingkungan*. Gajah Mada University Press, Bandung

- Standar Nasional Indonesia.2007. Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian. Badan Standarisasi Nasional
- Suciati, F., S. Anwar., Dadang., D. B. Aviantara., dan R. Widyastuti. 2015. Pengaruh pemberian pestisida terhadap transformasi asam fenolat serta produksi CO<sub>2</sub> dan CH<sub>4</sub> pada tanah gambut. *Jurnal tanah dan Iklim* 40(1):19
- Suhendrayana. 2001. Heavy Metal Bioremoval by Microorganism; A Literature Study. Japan: Department of Applied Chemistry and Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kagoshima University
- Sulistinah, N., S. Antoniuos., dan M. Rahmansyah. 2011. Pengaruh residu terhadap pola populasi bakteri dan fungi tanah di rumahkaca. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 12(1): 51
- Sumardiyono, C. 2008. Katahanan jamur terhadap fungisida di Indonesia.*Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 14(1):1-5
- Suryani, Y. 2011. Bioremediasi limbah merkuri dengan menggunakan mikroba pada lingkungan yang tercemar. 5:1-2
- Tarumingkeng, R. C. 1992. Insektisida: Sifat, Mekanisme Kerja, dan Dampak Penggunaannya. Universitas Kristen Krida Wacana: Jakarta
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem.*, 73(7):11631172
- Walker, G. M. 2009. Yeasts. In: M. Schaechter (Ed.) *Desk Encyclopedia of Microbiology* 2<sup>nd</sup> ed. London: Elsevier/Academic Press. Hlm: 1174-1187.
- Walker, G. M., N.A. Walker. 2011. *Fungal Physiology*. Hlm:2-5
- Widiastutik, N. dan N.H. Alami. 2013. Isolasi dan identifikasi yeast dari rhizosfer rhizophora mucronata Wonorejo. *Jurnal sains dan seni POMITS*. 2(1):1-5
- Winugroho, M dan Y. Widiawati. 2003. Candia Utilis Sebagai Pengganti Saccharomyces Cerevesiase Pendamping Bioplus Untk Meningkatkan Produksi Ternak. *J. Seminar Nasional* Hlm: 142-145.
- Wiryadiputra, S. 2013. Residu pestisida pada biji kakao Indonesia dan produk variannya serta upaya penanggulangannya. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*. 1(1):43-44
- WHO. 2006. Sound Management of Pesticides And Diagnosis And Treatment Of Pesticide Poisoning
- World Health Organization (2009). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. *International Programme on Chemicals Safety*. Hlmn 78.
- Yazid, M. 2007. Kajian pemanfaatan bakteri hasil isolasi sebagai agen bioremediasi radionuklida uranium di lingkungan. *Pusat Teknologi Akselerator dan Proses bahan BATAN*. Hlm:116-117

- Yeong, F.M. 2005. Severing All Ties Between Mother and Daughter: Cell Separation in Budding Yeast. *Molecular Microbiology* 55 (5):1325-1331
- Yuantari, M.G.C., B. Widiarnako, dan R.H. Sunoko. 2013. Tingkat pengetahuan petani dalam menggunakan pestisida (Studi Kasus di Desa Curut Kecamatan Penawangan Kabupaten Grobogan). *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. 1(2):67-78.
- Zheng, Y., Y. Long, Y. Fan., J. Gan., J. Fang., dan W. Jin. 2013. A review on the detoxification of organophosphorus compounds by microorganisms. *hubey key laboratory of economic forest germplasm improvement and resources comprehensive utilization. African Journal Microbiology Research* 7(20):2127-2134



## LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Saccharomyces* sp.(1)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	137,454	27,491	1,919	3,11
Galat	12	171,937	14,328		
Total	17	309,391			

Tabel Lampiran 2 . Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (1)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	114,867	22,973	2,929	3,11
Galat	12	94,132	7,844		
Total	17	208,999			

Tabel Lampiran 3 . Analisis ragam Uji adaptasi khamir *Schizosaccaromyces* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	149,158	29,832	9,184*	3,11
Galat	12	39,980	3,248		
Total	17	188,138			

Tabel Lampiran 4 . Analisis ragam Uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (1)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	21,784	4,357	0,985	3,11
Galat	12	53,073	4,423		
Total	17	74,858			

Tabel Lampiran 5. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (2)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	49,958	9,992	1,814	3,11
Galat	12	66,113	5,509		
Total	17	116,071			

Tabel Lampiran 6. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (3)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	32,516	6,503	0,770	3,11
Galat	12	101,293	8,441		
Total	17	133,809			

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Saccharomyces* sp. (2)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	51,918	10,384	6,528*	3,11
Galat	12	19,087	1,591		
Total	17	71,005			

Tabel Lampiran 8 . Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (2)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	66,318	13,264	6,613*	3,11
Galat	12	24,067	2,006		
Total	17	90,385			

Tabel Lampiran 9. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Debaryomyces* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	60,396	12,079	1,556	3,11
Galat	12	93,133	7,761		
Total	17	153,529			

Tabel Lampiran 10. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Issatchenkia* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	33,836	6,767	1,422	3,11
Galat	12	57,120	4,760		
Total	17	90,956			

Tabel Lampiran 11. Analisis ragam uji adaptasi Khamir *Candidasp.* (3)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	54,878	10,976	1,417	3,11
Galat	12	92,960	7,747		
Total	17	147,838			

Tabel Lampiran 12. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (4)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	23,743	4,749	0,353	3,11
Galat	12	161,400	13,450		
Total	17	185,143			

Tabel Lampiran 13. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (4)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	5	210,831	42,166	5,919*	3,11
Galat	12	85,480	7,123		
Total	17	296,311			

Tabel Lampiran 14. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 1

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	1,072	0,077	4,594*	2,04
Galat	30	0,5	0,017		
Total	44	1,572			

Tabel Lampiran 15. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 2

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	3,564	0,255	2,110*	2,04
Galat	30	3,620	0,121		
Total	44	7,184			

Tabel Lampiran 16. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 3

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	9,180	0,656	3,684*	2,04
Galat	30	5,340	0,178		
Total	44	14,520			

Tabel Lampiran 17. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 4

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	9,644	0,689	3,312*	2,04
Galat	30	6,240	0,208		
Total	44	15,884			

Tabel Lampiran 18. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 5

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	16,476	1,177	4,617*	2,04
Galat	30	7,647	0,255		
Total	44	24,123			

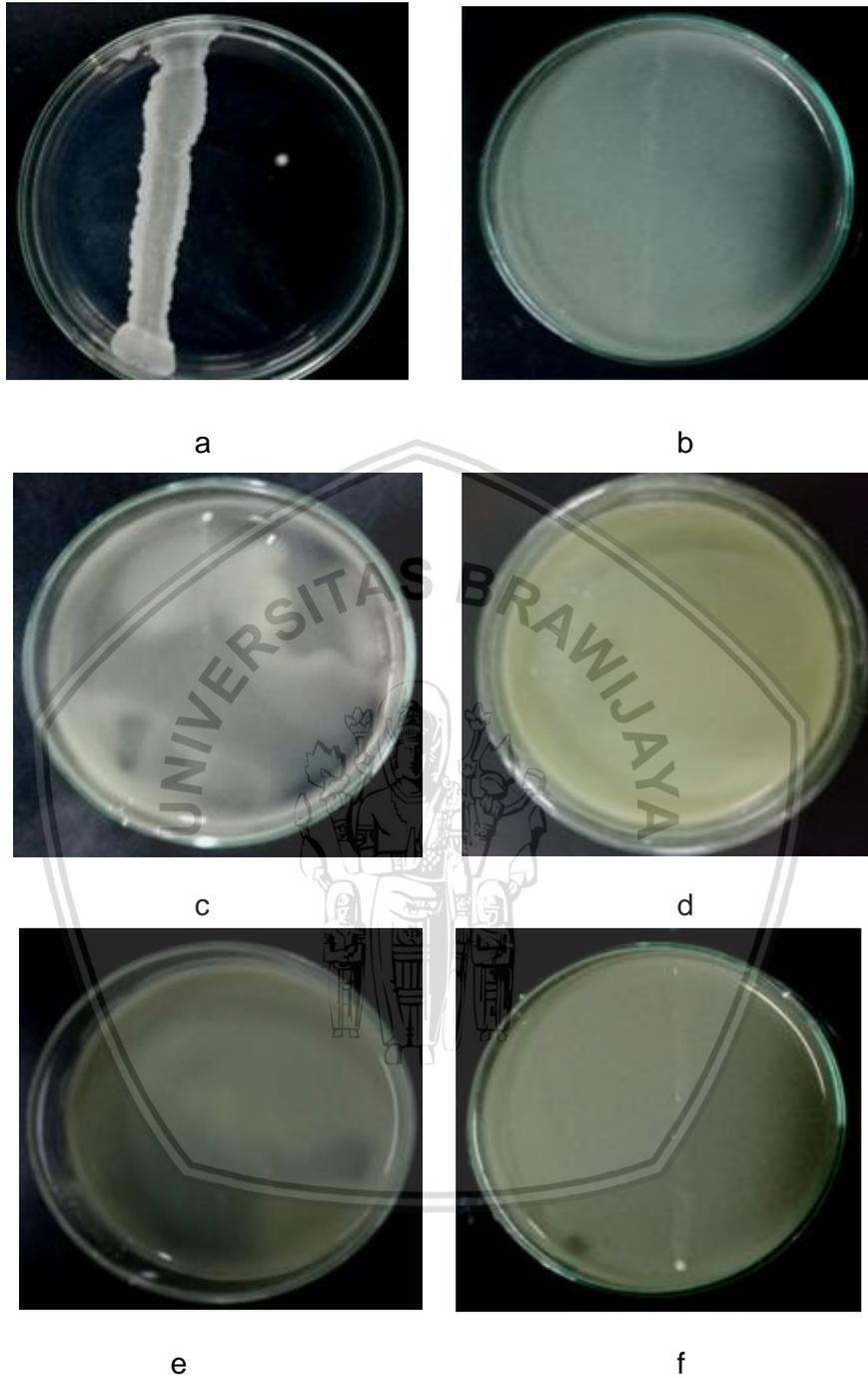
Tabel Lampiran 19. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 6

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	21,775	1,555	6,451*	2,04
Galat	30	7,233	0,241		
Total	44	29,008			

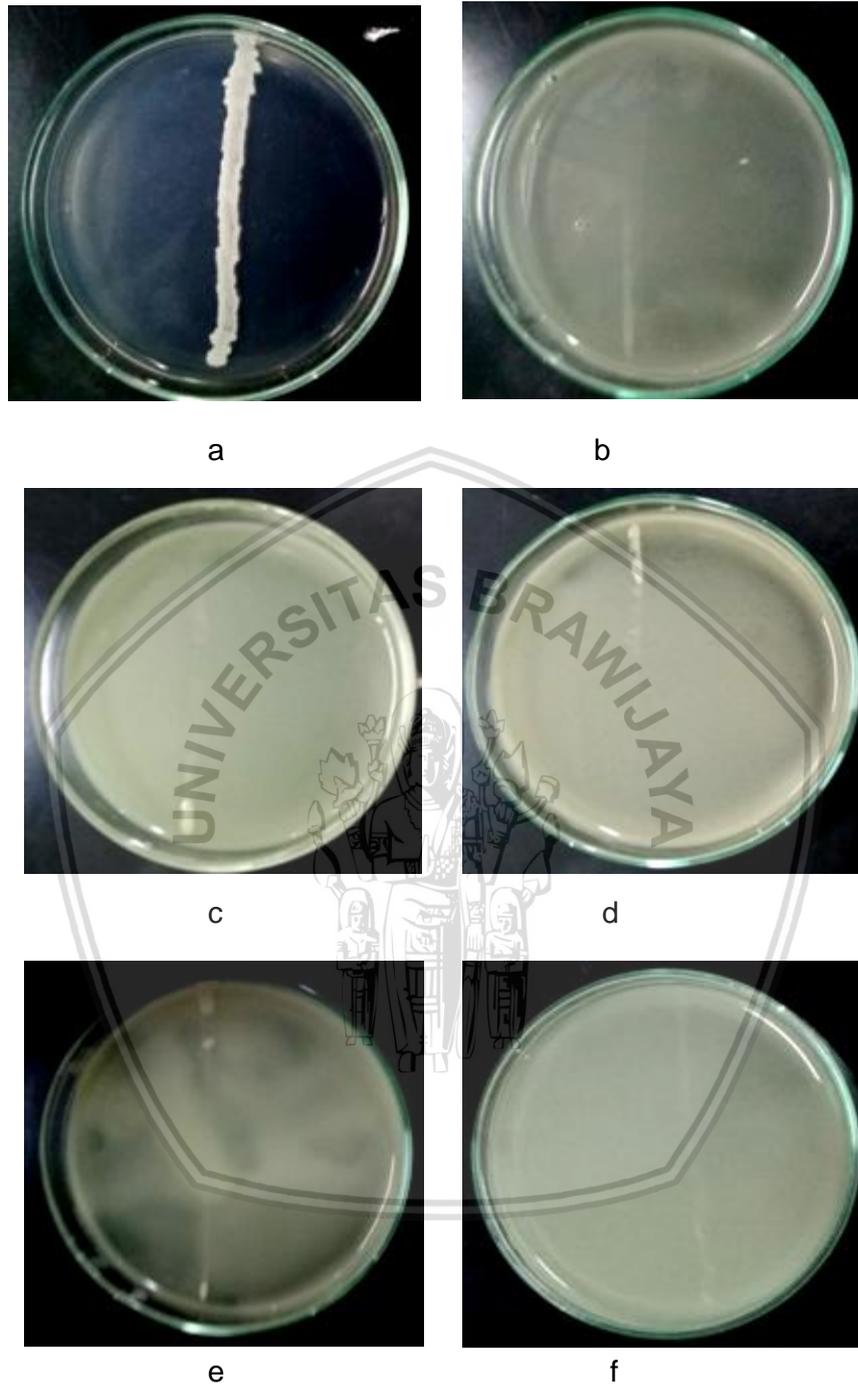
Tabel Lampiran 20. Analisis ragam uji degradasi Hari ke 7

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel 5%
Perlakuan	14	27,139	1,938	6,896*	2,04
Galat	30	8,433	0,281		
Total	44	35,572			

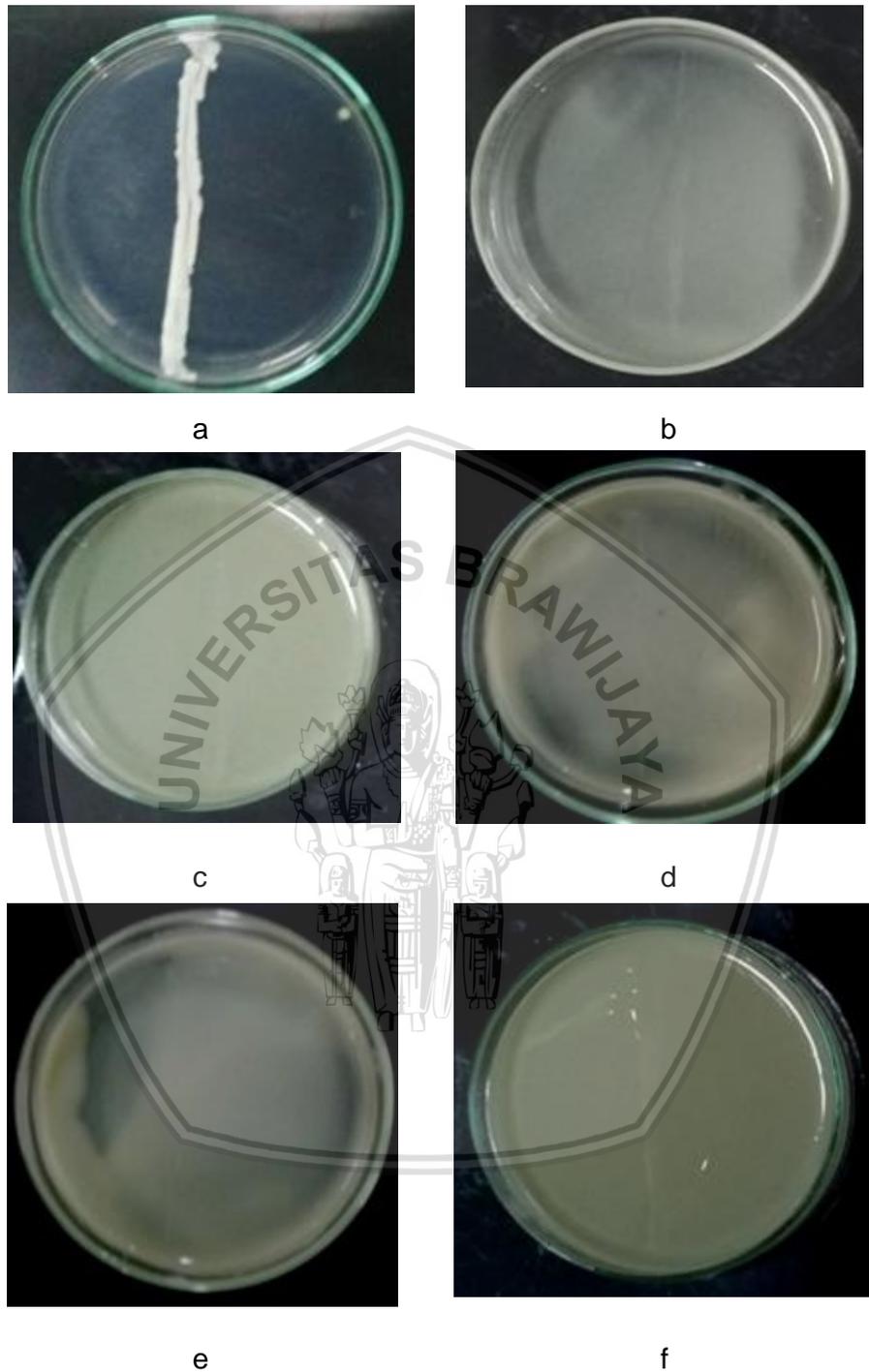
Keterangan: \* Berbeda Nyata



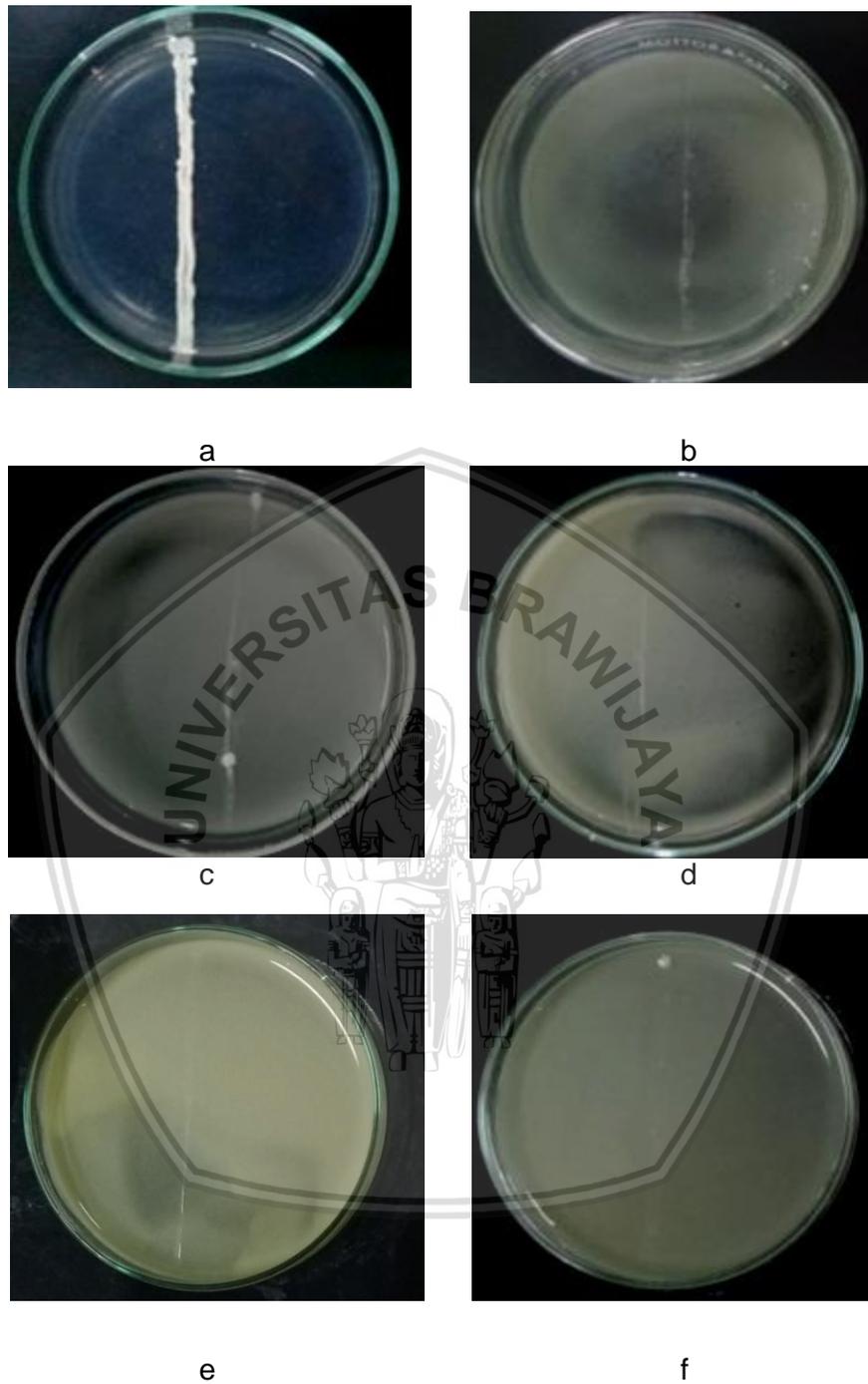
Gambar lampiran 1. Pertumbuhan khamir *Saccharomyces* sp. (1) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



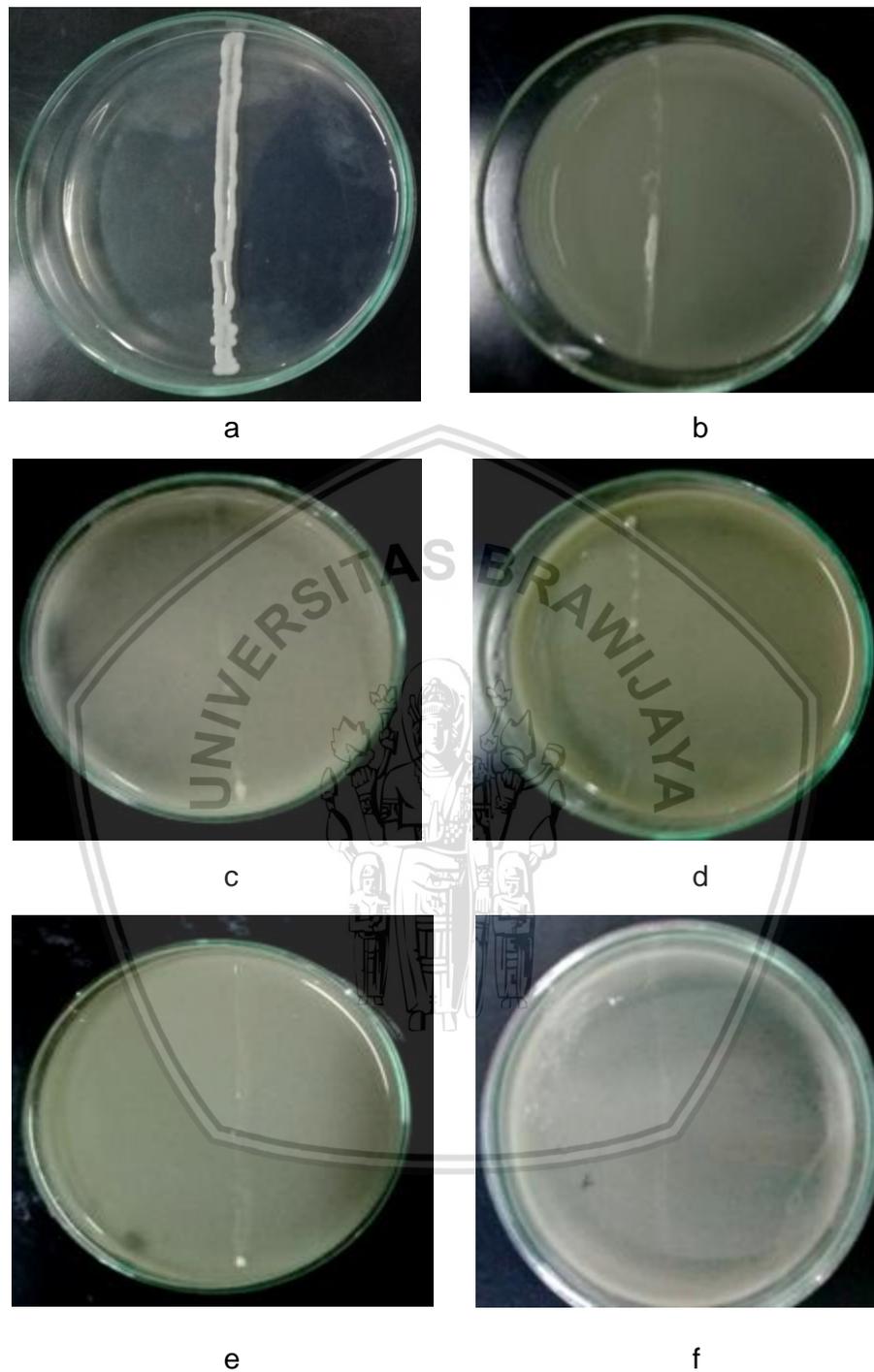
Gambar lampiran 2. Pertumbuhan khamir *Candida* sp. (1) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



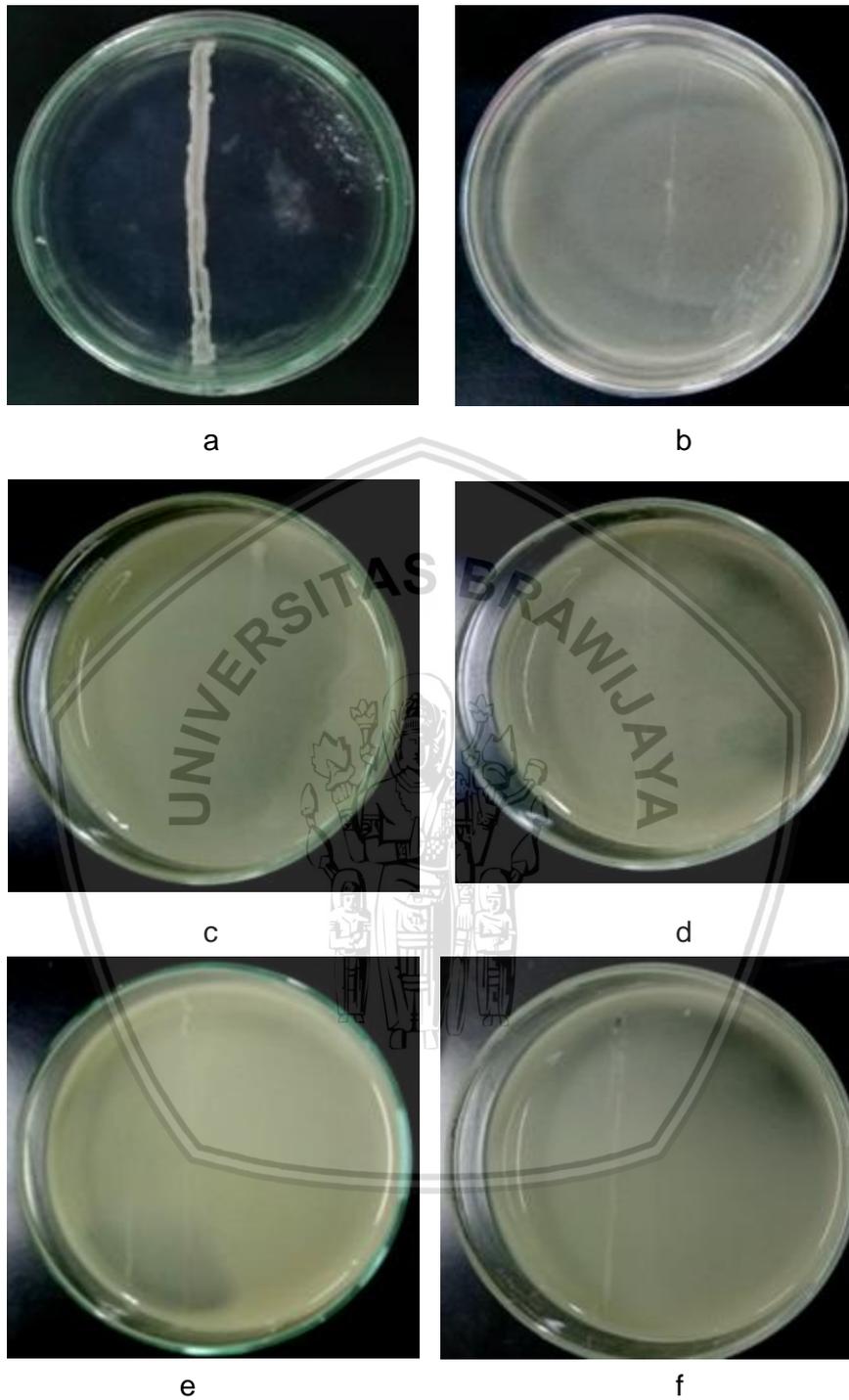
Gambar lampiran 3. Pertumbuhan khamir *Schizosaccaromyces* sp pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



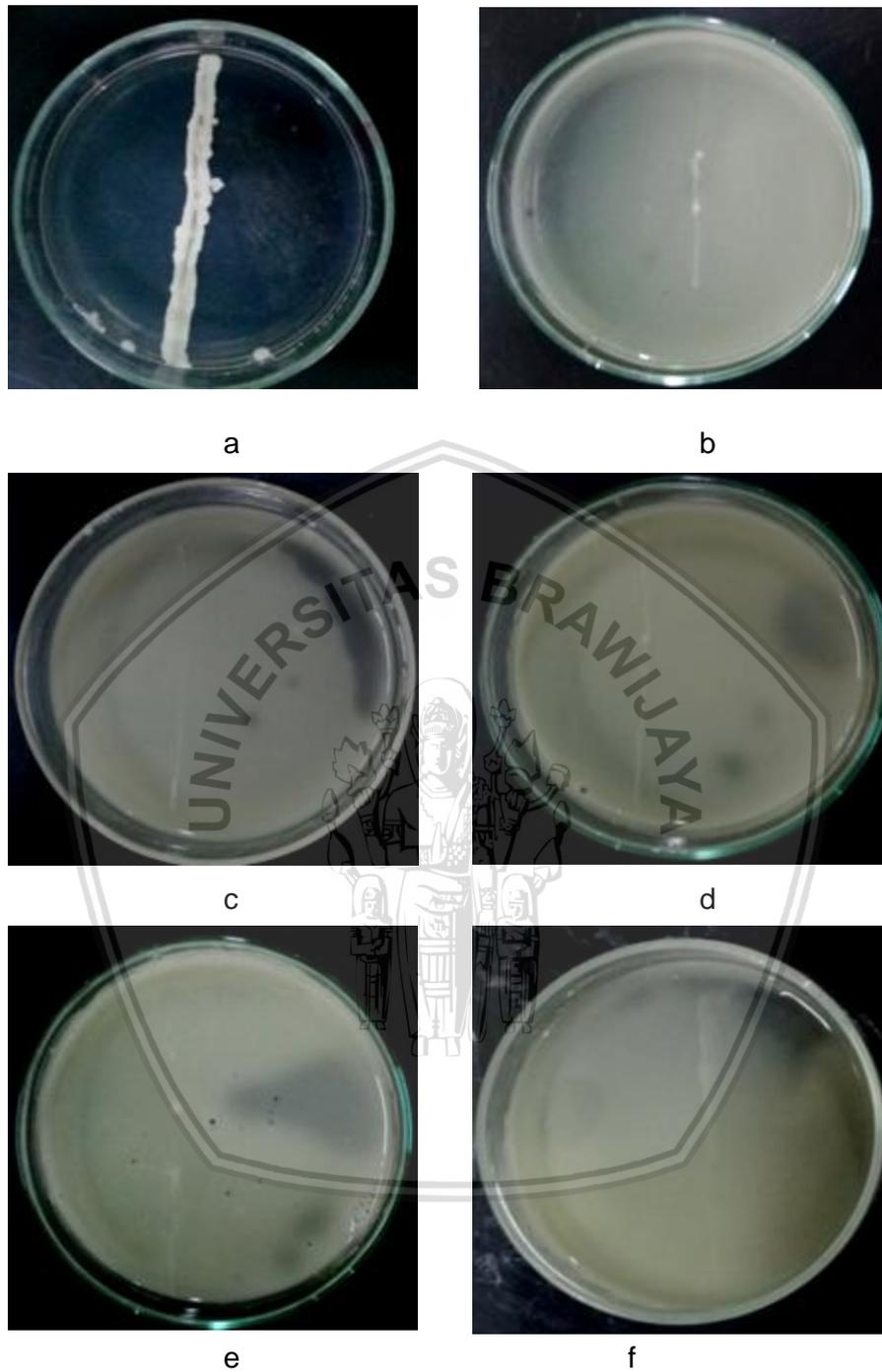
Gambar lampiran 4. Pertumbuhan khamir *Pichia* sp. (1) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



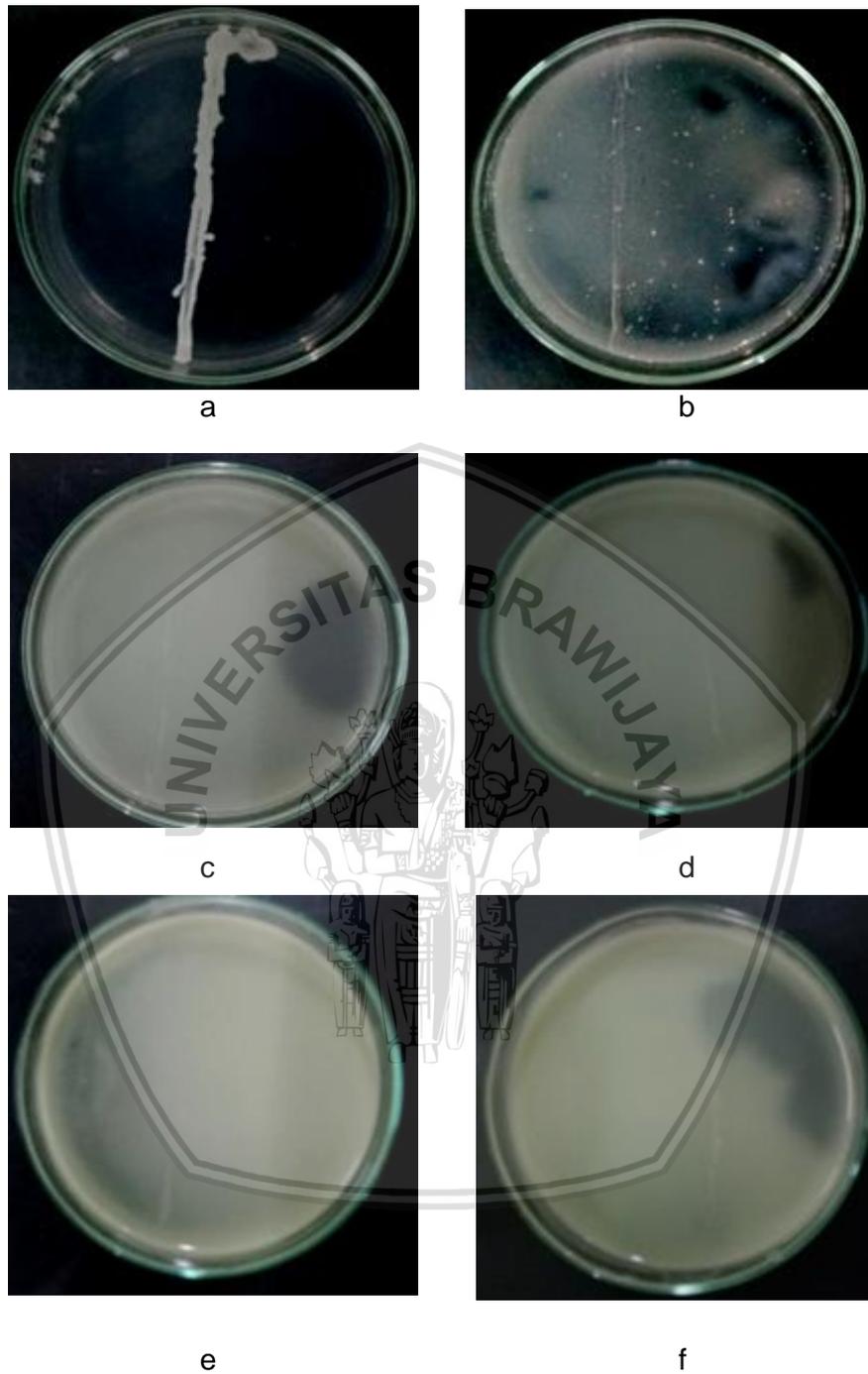
Gambar lampiran 5. Pertumbuhan khamir *Pichia* sp. (2) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



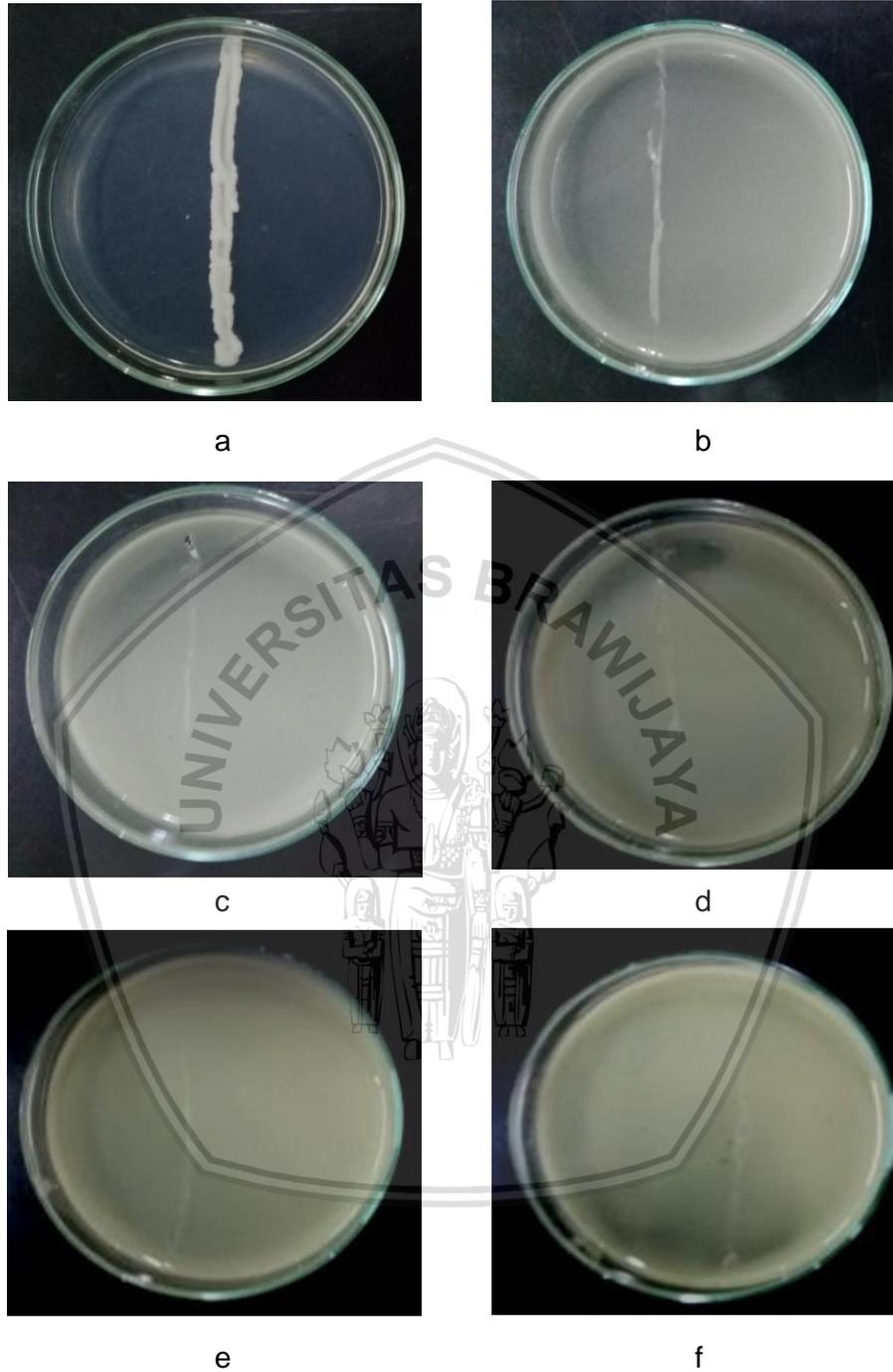
Gambar lampiran 6. Pertumbuhan khamir *Pichia* sp. (3) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



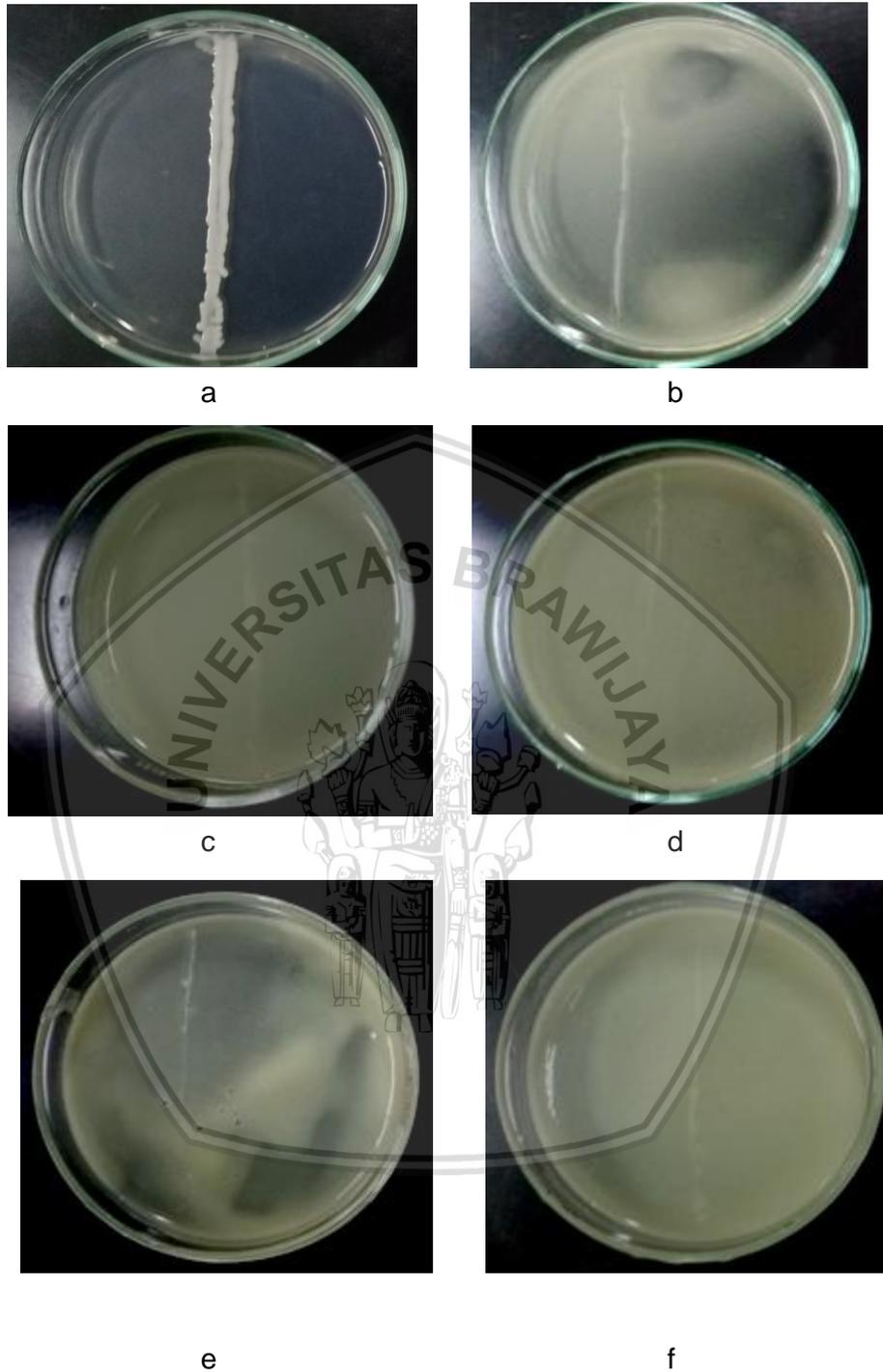
Gambar lampiran 7. Pertumbuhan khamir *Saccharomyces* sp. (2) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



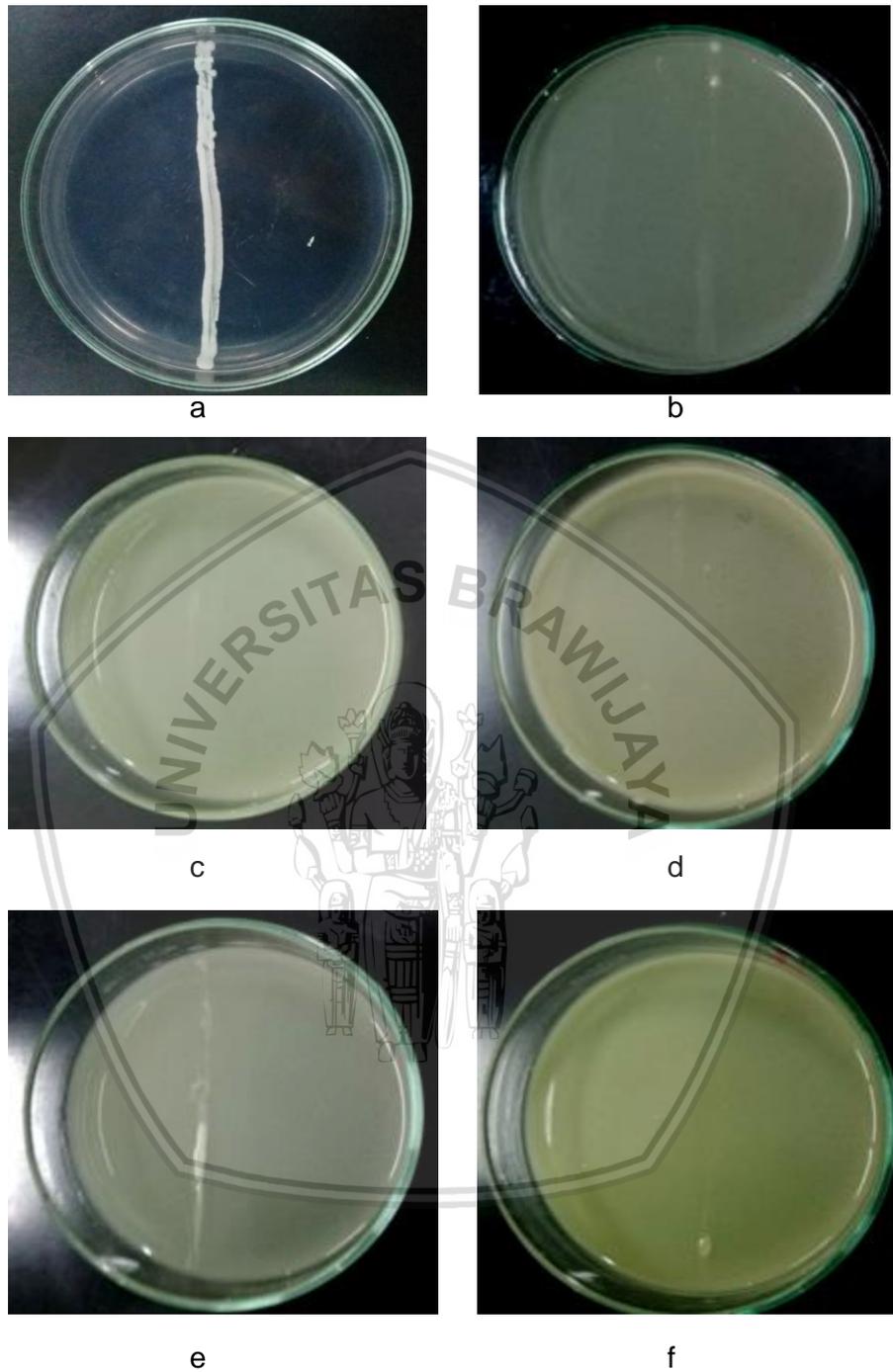
Gambar lampiran 8. Pertumbuhan khamir *Candida* sp. (2) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



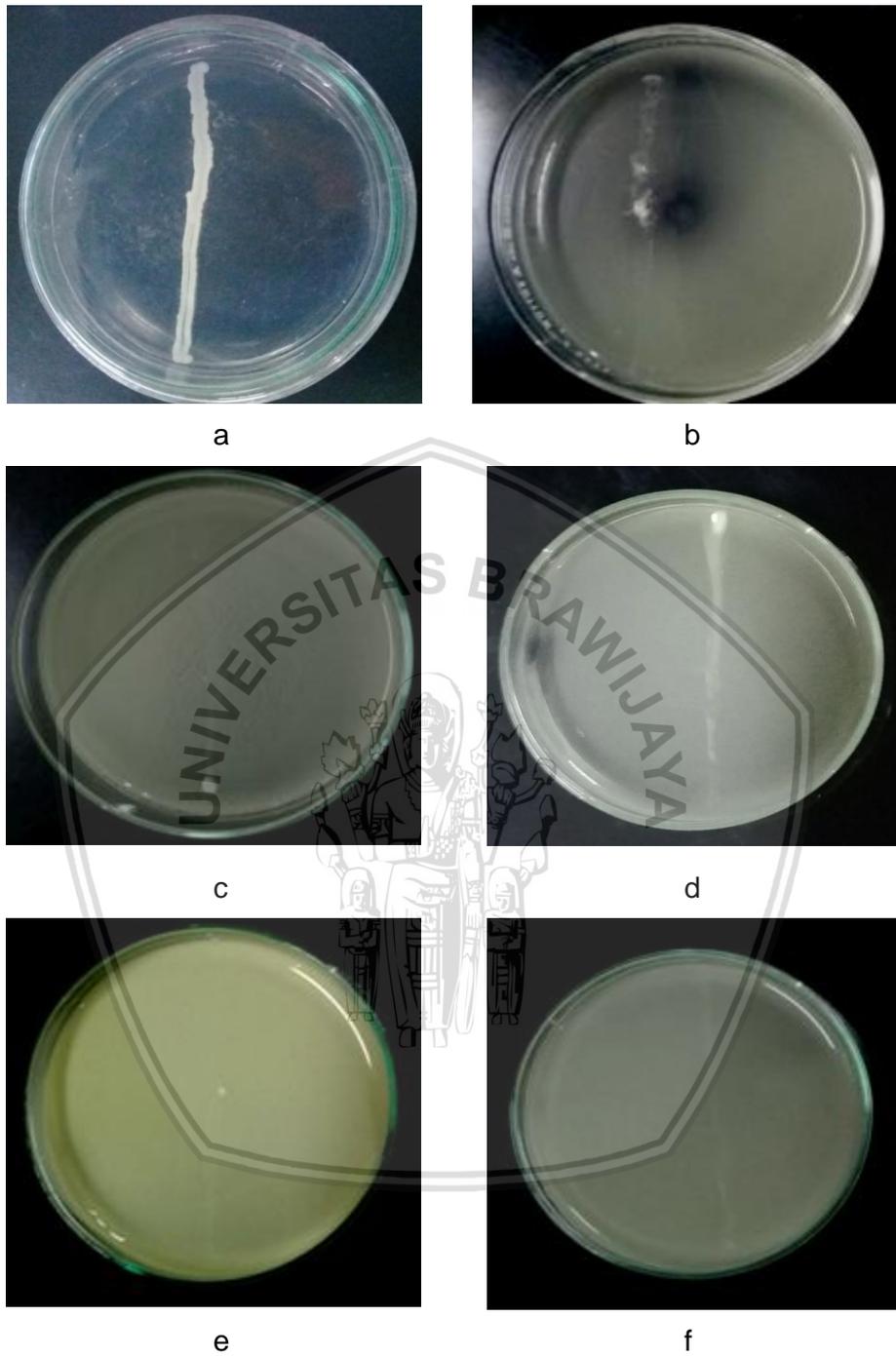
Gambar lampiran 9. Pertumbuhan khamir *Debaryomyces* sp. pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



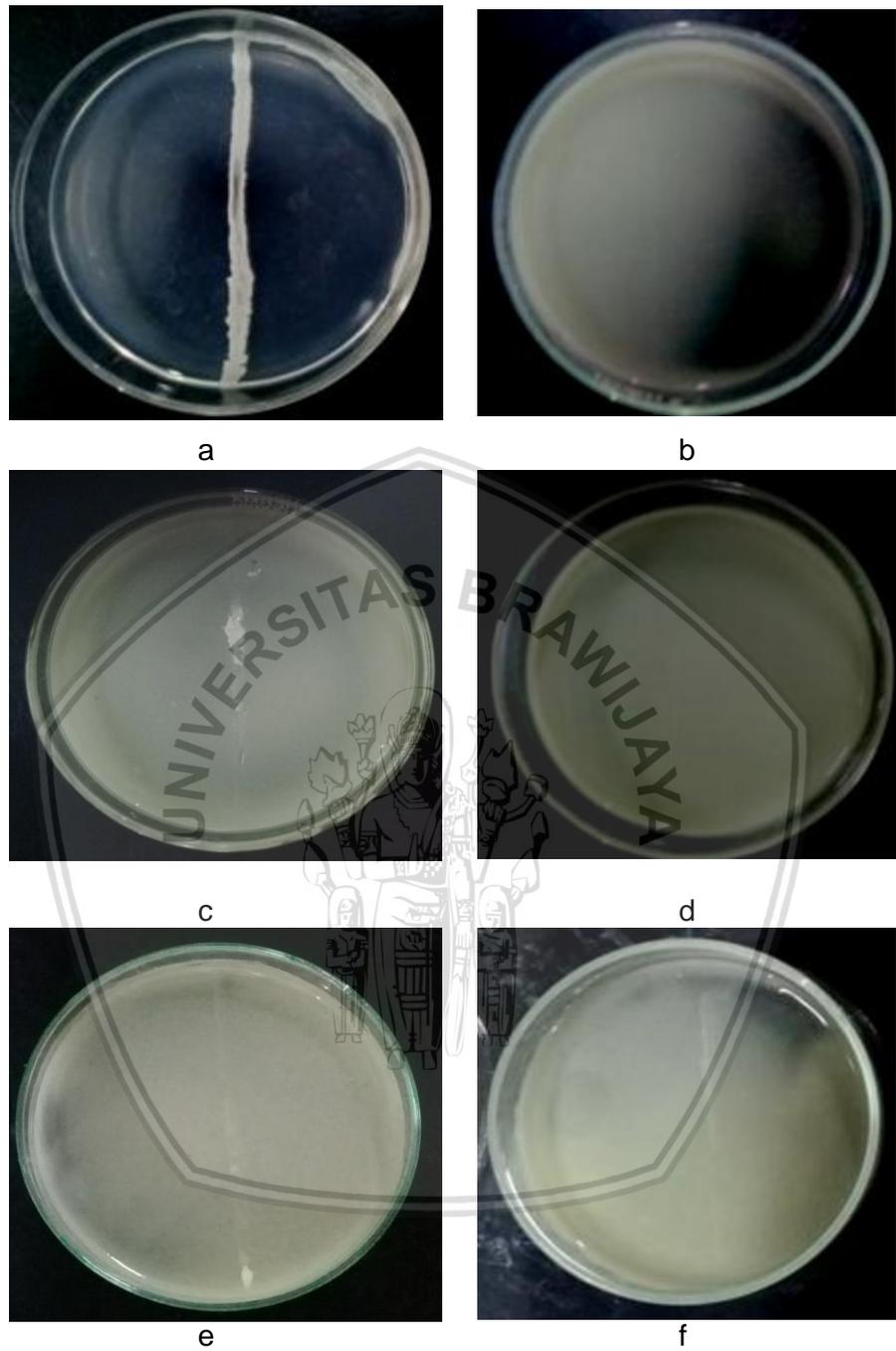
Gambar lampiran 10. Pertumbuhan khamir *Issatchenkia* sp. pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



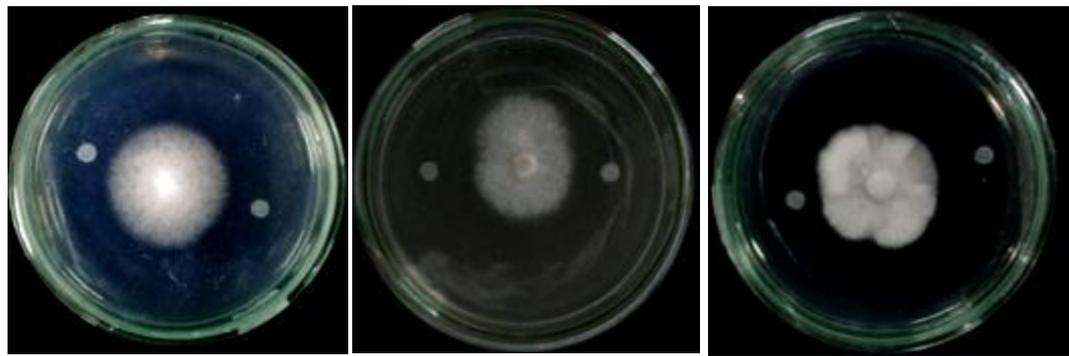
Gambar lampiran 11. Pertumbuhan khamir *Candida* sp. (3) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



Gambar lampiran 12. Pertumbuhan khamir *Candida* sp. (4) pada berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



Gambar lampiran 13. Pertumbuhan khamir *Pichia* sp. (4) berbagai konsentrasi fungisida maneb dengan metode streak plate pada media peracunan. a. 0 kali; b. 1 kali; c. 2 kali; d. 3 kali; e. 4 kali; f. 5 kali konsentrasi anjuran



a

b

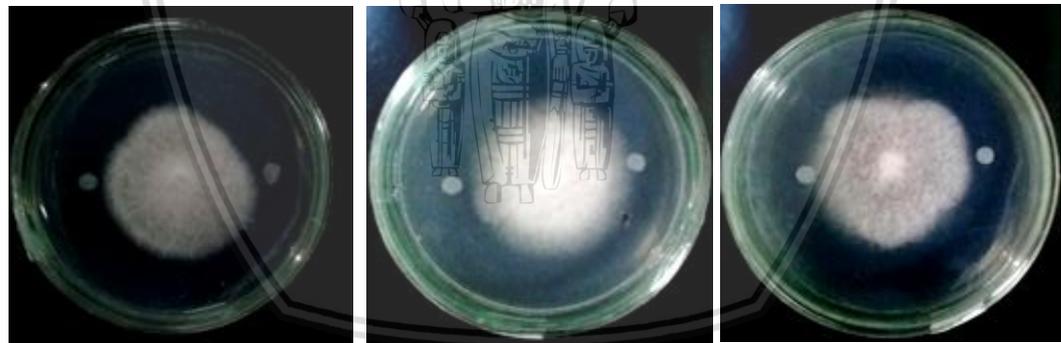
c



d

e

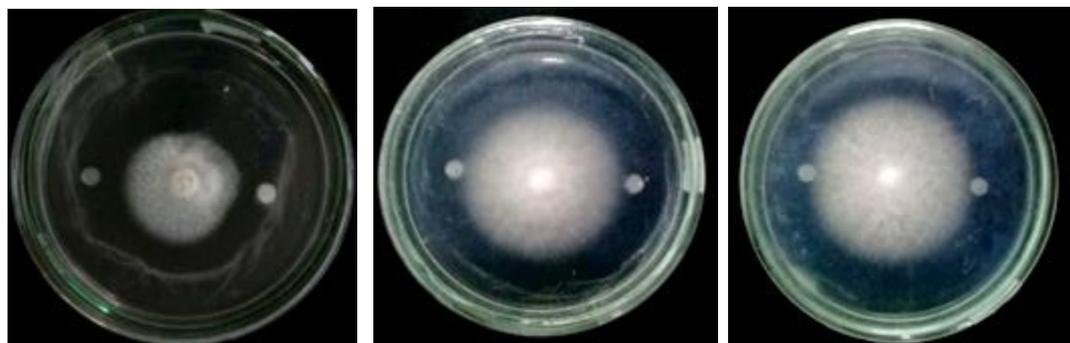
f



g

h

i

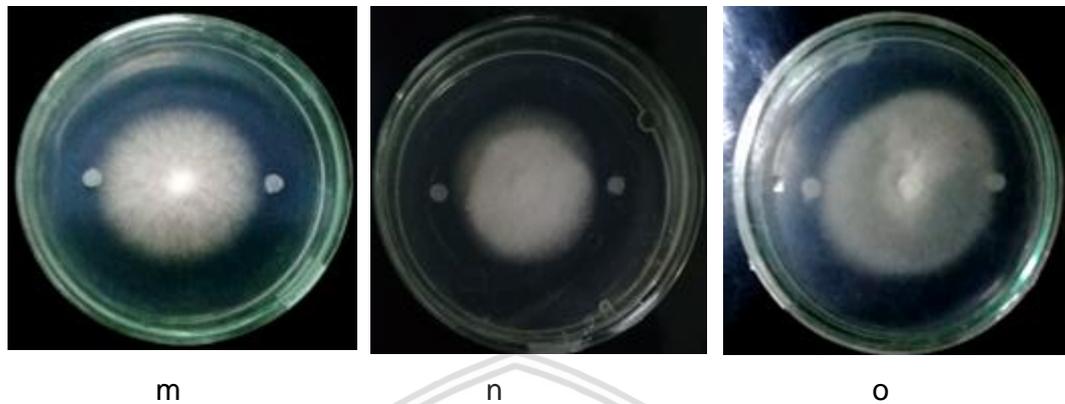


j

k

l





Gambar Lampiran 14. Penampakan makroskopis koloni jamur *C. gloeosporioides* pada uji degradasi maneb secara *In Vitro*:  
 a. *Saccharomyces* sp.(1); b. *Candida* sp. (1);c. *Schizosaccaromyces* sp; d. *Pichia* sp. (1);e. *Pichia* sp. (2);  
 f. *Pichia* sp. (3); g. *Saccharomyces* sp. (2); h. *Candida* sp. (2);i. *Debaryomyces* sp.; j. *Issatchenkia* sp.; k. *Candidasp.* (3);l. *Candida* sp. (4); m. *Pichia* sp. (4); n. Kontrol positif,o. Kontrol negatif

