

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PENDEGRADASI  
POLIETILENA BERDENSITAS RENDAH (LDPE) DARI  
TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**DWI PUTRI AYU WARDANI**  
**NIM. 16620092**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ISLAM MAULANA MALIK  
IBRAHIM MALANG  
2021**



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PENDEGRADASI  
POLIETILENA BERDENSITAS RENDAH (LDPE) DARI  
TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**DWI PUTRI AYU WARDANI**  
**NIM. 16620092**

**Diajukan Kepada:**  
**Fakultas Sains dan Teknologi**  
**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang**  
**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**  
**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**  
**MALANG**  
**2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PENDEGRADASI POLIETILENA  
BERDENSITAS RENDAH (LDPE) DARI TPA SUPIT URANG, MALANG**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DWI PUTRI AYU WARDANI**

**NIM. 16620092**

**Telah Diperiksa dan Disetujui :**

**Tanggal 9 Februari 2021**

**Dosen Pembimbing I**

Prilva Dewi Fitriyani, M. Sc  
NIP. 19900428 2016080 1 2062

**Dosen Pembimbing II**

Oky Bagas Prasetyo, M.PdI  
NIDT. 19890113 20180201 1 244

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Biologi**



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P  
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PENDEGRADASI  
POLIETILENA BERDENSITAS RENDAH (LDPE) DARI  
TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Dwi Putri Ayu Wardani**  
NIM. 16620092

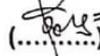
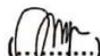
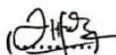
telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima  
sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana  
Sains (S.Si)  
Tanggal: 22 April 2021

**Penguji Utama** : Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si  
NIP. 19740325 200312 1 001

**Ketua Penguji** : Dr. Nur Kusmiyati, M.Si  
NIDT. 19890816 20160108 2 061

**Sekretaris Penguji** : Prilya Dewi Fitriyasari, M. Sc  
NIDT. 19900428 2016080 1 2062

**Anggota Penguji** : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I  
NIDT. 19890113 20180201 1 244



Mengetahui,  
**Ketua Program Studi Biologi**

  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk semua orang-orang baik yang telah hadir dalam setiap lini kehidupan saya, terkhusus:

1. Kedua orangtua tercinta dan tersayang yakni Ibu Muniroh, S.Pd dan Bapak Masrohan Hidayatulloh, Drs, terima kasih untuk semua perjuangan kalian yang tidak akan pernah bisa terbalaskan dengan apapun di dunia ini.
2. Bapak Dr. Dwi Suheriyanto, M. P sebagai dosen wali yang telah mengarahkan dan membimbing sejak awal masuk perkuliahan hingga kelulusan.
3. Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc. sebagai pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga serta pikiran dalam membimbing penyelesaian tugas akhir ini.
4. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.PDI sebagai dosen pembimbing agama yang telah membimbing saya terkait integrasi islam dan sains.
5. Ibu Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si dan ibu Dr. Nur Kusmiyati, M. Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran demi kebaikan skripsi ini.
6. Teman-teman Hurin In, Gita Niken Madapuri, Roudlotus Solicha dan Esamada Rose Nursaputri yang selalu memberikan dukungan tiada henti-hentinya.
7. Teman-teman tercinta biologi 2016 yang telah membantu dalam pengambilan data serta menemani dalam perkuliahan baik didalam kampus maupun diluar kampus.
8. Terimakasih saya ucapkan juga kepada seluruh elemen yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Doa baik untuk semua orang-orang baik.

Semoga Allah *Subhanahu WaTa'alla* memberikan balasan kebaikan yang berlimpah. Aamiin

## PERYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda di bawah ini:

Nama : Dwi Putri Ayu Wardani  
NIM : 16620092  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Isolasi Dan Identifikasi Jamur Pendegradasi Polietilena Berdensitas Rendah (Ldpe) Dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data hasil, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai pengambilan data tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan entri sumber pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Februari 2021  
Yang membuat pernyataan,



Dwi Putri Ayu Wardani  
NIM. 16620092

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkerkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

## **MOTTO**

*“Kritis Berpikir, Ikhlas Berkarya”*

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PENDEGRADASI POLIETILENA BERDENSITAS RENDAH (LDPE) DARI TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG

Dwi Putri Ayu Wardani, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRAK

Penggunaan plastik secara luas dan terus menerus telah memposisikan plastik sebagai salah satu penyebab utama pencemaran lingkungan di ekosistem karena sifatnya yang tidak dapat terdegradasi secara alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi jamur pendegradasi polietilena berdensitas rendah (LDPE) dan melakukan identifikasi berdasarkan karakter morfologi dan pendekatan molekuler berdasarkan gen ITS ribosomal. Sampel tanah dari TPA Supit Urang Malang disiapkan untuk isolasi jamur. Potensi biodegradasi dari isolat ditentukan dari keberadaan zona bening dalam media minimum garam (MSM) dengan penambahan bubuk LDPE sebagai satu-satunya sumber karbon. Identifikasi jamur pada tingkat genus dilakukan dengan mengamati karakter makroskopik isolat seperti warna koloni, bentuk koloni, tekstur permukaan atas, tekstur permukaan bawah dan diameter koloni, serta karakter mikroskopis isolat seperti hifa, konidia, konidiofor dan susunan spora. Identifikasi tingkat spesies dilakukan secara molekuler menggunakan primer universal ITS1 dan ITS4. Hasil seleksi keberadaan zona bening berhasil menyeleksi lima isolat terpilih untuk dilakukan uji pengurangan berat kering yaitu isolat AY1, AY2, AY4, AY7, AY8. Isolat AY1 memiliki kemampuan pengurangan berat kering lembar LDPE paling tinggi yaitu sebesar 5,7% dalam kurun waktu inkubasi 30 hari. Identifikasi secara morfologi dan molekuler menunjukkan bahwa isolat AY1 memiliki kemiripan identik dengan *Aspergillus flavus*. Penelitian ini adalah upaya awal untuk menyelesaikan masalah lingkungan akibat sampah plastik untuk kemudian dapat diaplikasikan sebagai bioremediasi.

**Kata kunci:** Biodegradasi, Jamur, Polietilen berdensitas rendah

# ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LOW DENSITY POLYETHYLENE (LDPE) DEGRADING FUNGI FROM SUPIT URANG LANDFILL, MALANG REGENCY

Dwi Putri Ayu Wardani, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRACT

Accumulation of polyethylene and plastic waste pose a major ecological threat since they are found as non-degradable polymers in environment. The aims of this study were to isolate LDPE degrading fungi and identify based on their morphological characters and molecular approaches of internal transcribed spacer (ITS) sequencing. For this purpose, soil samples from Supit Urang landfill Malang were prepared to fungi isolation. The biodegradation potential of the isolates was investigated with the existence of clear zone in minimal salt medium by using LDPE powder as the sole carbon source. Identification of fungi at the genus level was carried out by observing the macroscopic characters of the isolates such as colony color, colony shape, upper surface texture, lower surface texture and colony diameter, as well as the microscopic characters of isolates such as hyphae, conidia, conidiophores and spore arrangement. The results of the selection for the presence of clear zones succeeded in selecting five selected isolates for dry weight reduction tests, namely isolates AY1, AY2, AY4, AY7, AY8. It was found that AY1 isolates had the highest biodegradability. The reduction in dry weight of LDPE sheets by AY1 isolates was 5.7% in 30 days incubation period. The morphological and molecular identification results showed that AY1 isolates had identical similarities with *Aspergillus flavus*. This study is the first effort to resolve environmental threats due to plastic, and probably can be used for further plastic bioremediation.

**Keywords:** Biodegradation, Fungi, Low density polyethylene, *Aspergillus flavus*

من الفطريات انحلال إلى يؤدي مما الكثافة منخفضة إيثيلين البولي مادة كثافة وتحديد عزل  
ملاج النفائات مكب اوراغ سوفيت موقع

دوي بوتري ابو وارداني

### مستخلص البحث

الرئيسية الأسباب من كواحد البلاستيك وضع إلى للبلستيك والمستمر الواسع الاستخدام أدى الغرض كان .طبيعي بشكل تتحلل أن يمكن لا التي طبيعته بسبب البيئية النظم في البيئي للتلوث وتحديد (LDPE) الكثافة منخفض إيثيلين البولي من المهينة الفطريات عزل هو الدراسة هذه من الذكية النقل لأنظمة الريبوزومي الجين أساس على الجزئية والأساليب المورفولوجية الصفات على بناءً إمكانات تحديد تم .الفطري للعزل **Supit Urang** النفائات مكب من تربة عينات تحضير تم (MSM) الملح وسط من الأدنى الحد في واضحة منطقة وجود خلال من للعزلات الحيوي التحلل على قدرة كانت التي الفطر اختبار تم .الوحيد الكربون كمصدر LDPE مسحوق إضافة مع الفطر وجد ، البحث على بناءً .الجاف الوزن تقليل طريقة باستخدام واضحة مناطق وتشكيل النمو لألواح الجاف الوزن في الانخفاض كان .البيولوجي للتحلل قابلية أعلى لديها **AY1** تسمى واحدة *Aspergillus* فترة في 57% يعني **AY1** عزلات بواسطة الكثافة منخفض إيثيلين البولي المورفولوجي التعريف نتائج أظهرت .أيام 30 لمدة حضانة *flavus* أنواع مع متطابقة قرابة علاقات لها **AY1** عزلات أن والجزئي

الكلمات الرئيسية: التحلل حيوي ، فطريات ، بولي إيثيلين منخفض الكثافة

## KATA PENGANTAR

Bersyukur atas kehadiran Allah SWT., bershawat atas Nabi Muhammad SAW. Penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak dan ibu dan semua keluarga yang telah mendidik, mendampingi serta selalu memberikan do'a kepada penulis dalam menuntut ilmu.
2. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Prilya Dewi Fitriyani, M. Sc selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan.
6. Oky Bagas Prasetyo, M.PDI selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran substansi nilai-nilai moral kepada penulis.
7. Teman-teman Biologi 2016 atas segala bantuan dan supportnya.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan proposal ini. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat menemukan pembacanya dan bermanfaat. Amiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.

Malang, 10 Februari 2021

Penulis,

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vi
HALAMAN MOTTO.....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
مستخلص البحث .....	x
KATA PENGANTAR .....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi

### BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat.....	8

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Polietilena Berdensitas Rendah .....	9
2.2 Biodegradasi LDPE .....	10
2.3 Jalur Degradasi LDPE oleh Jamur .....	12
2.4 Seleksi Jamur Menggunakan Metode Zona Bening .....	13
2.5 Faktor yang Memengaruhi Biodegradasi .....	14
2.6 Identifikasi Isolat Jamur .....	16
2.6.1 Identifikasi Morfologi.....	16
2.6.1.1 Identifikasi secara Makroskopi.....	16
2.6.1.2 Identifikasi secara Mikroskopi.....	16
2.6.2 Identifikasi Molekuler.....	17
2.6.2.1 Isolasi DNA Jamur .....	17
2.6.2.2 Gen ITS.....	20
2.6.2.3 Amplifikasi DNA dengan PCR .....	22
2.6.2.4 Penentuan Sekuen DNA dan Analisis Bioinformatik .....	23

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Rancangan Penelitian .....	25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
3.3 Alat dan Bahan .....	25
3.4 Langkah kerja .....	26
3.4.1 Pengambilan Sampel Tanah .....	26
3.4.2 Persiapan Bubuk LDPE dan Lembar LDPE .....	26
3.4.3 Isolasi Jamur Pendegradasi LDPE .....	27
3.4.4 Seleksi Jamur Pendegradasi LDPE Metode Zona Bening .....	27
3.4.5 Uji Biodegradasi LDPE dengan Metode Berat Kering .....	28
3.4.6 Identifikasi Morfologi .....	30
3.4.7 Identifikasi Molekuler .....	30
3.4.7.1 Isolasi DNA Menggunakan Metode CTAB .....	30
3.4.7.2 Uji Kuantitatif DNA .....	31
3.4.7.3 Uji Kualitatif DNA .....	31
3.4.7.4 Amplifikasi gen ITS dengan PCR .....	32
3.4.7.5 Sekuensing DNA dan Analisis Bioinformatika .....	32

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Isolat Jamur dari TPA Supit Urang .....	35
4.2 Hasil Seleksi Isolat Pendegradasi LPDE Berdasarkan Zona Bening .....	39
4.3 Hasil Uji Biodegradasi Metode Pengurangan Berat Kering .....	41
4.4 Karakteristik Morfologi Isolat Jamur Pendegradasi LDPE .....	45
4.3.1 Isolat AY1 .....	46
4.3.2 Isolat AY2 .....	48
4.3.3 Isolat AY4 .....	51
4.3.4 Isolat AY7 .....	53
4.3.5 Isolat AY8 .....	55
4.5 Hasil Identifikasi Molekuler Isolat .....	58

### **BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan .....	65
5.2 Saran .....	65

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>67</b>
-----------------------------	-----------

<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>75</b>
-----------------------	-----------

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Hasil Seleksi Metode Zona Bening .....	41
4.2 Hasil Prosentase Pengurangan Berat Kering .....	42
4.3 Hasil Karakterisasi Morfologi Isolat AY1 .....	46
4.4 Hasil Karakterisasi Morfologi Isolat AY2 .....	49
4.5 Hasil Karakterisasi Morfologi Isolat AY4 .....	51
4.6 Hasil Karakterisasi Morfologi Isolat AY7 .....	53
4.7 Hasil Karakterisasi Morfologi Isolat AY8 .....	56
4.8 Hasil Hasil Analisis Penyejajaran BLAST .....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Umum Polietilena Berdensitas Rendah (LDPE) .....	9
2.2 Mekanisme Biodegrasi pada Kondisi Aerob .....	11
2.3 Pembentukan Zona Bening Disekitar Koloni .....	14
2.4 Skema Letak Daerah ITS pada DNA Ribosom .....	21
4.1 Penampakan Isolat Jamur Hasil Pemurnian .....	35
4.2 Perbedaan Penampakan Zona Bening Dan Karakter Pertumbuhan yang Berbeda Dari Dua Isolat.....	39
4.3 Biodegradasi LDPE .....	45
4.4 Karakteristik Isolat AY 1 <i>Aspergillus</i> sp. ....	47
4.5 Karakteristik Isolat AY 2 <i>Trichoderma</i> sp. ....	50
4.6 Karakteristik Isolat AY 4 <i>Aspergillus</i> sp. ....	52
4.7 Karakteristik Isolat AY 7 <i>Aspergillus</i> sp. ....	54
4.8 Karakteristik Isolat AY 8 <i>Rhizopus</i> sp. ....	57
4.9 Rekonstruksi Pohon Filogenetik Isolat AY1 .....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil Pemurnian isolat jamur.....	75
2. Penghitungan Persentase Pengurangan Berat Kering Isolat AY1 .....	76
3. Uji biodegradasi LDPE oleh isolat jamur, 3 ulangan .....	77
4. Karakterisasi morfologi isolat hasil seleksi zona bening ...	79
5. Hasil uji kuantitatif dan kualitatif DNA dari isolat AY1 .....	80
6. Hasil Sequensing.....	81
7. Hasil grafik BLAST.....	82
8. Hasil penyejajaran dengan metode <i>ClustalW multiple alignment 70</i> .....	83
9. Jarak genetik .....	84

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 LATAR BELAKANG

Produksi plastik terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya kebutuhan plastik sebagai pengemas produk makanan, obat-obatan, kosmetik dan bahan kimia. Produksi plastik dunia tercatat mengalami kenaikan drastis dari dua juta ton pada tahun 1950 menjadi 380 juta ton di tahun 2015 (Geyer *et al.*, 2017), memasuki tahun 2017 jumlah produksi plastik mencapai 8,3 miliar ton (PlasticsEurope, 2017). Di Indonesia, produksi plastik nasional mencapai 175 ribu ton per hari, jika dikalkulasikan mencapai 64 juta ton per tahun (KLHK, 2019).

Penggunaan plastik terbesar berasal dari bahan dasar polietilena. Menurut Geyer *et al* (2017), produksi plastik non-serat terbesar adalah polietilena (36%), polipropilena (21%), PVC (12%) dan jenis polimer lain (31%). Polietilena merupakan polimer dari etilena ( $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ ) dan termasuk jenis termoplastik berbahan dasar minyak bumi. Polietilena umumnya memiliki dua jenis yaitu HDPE (Polietilena berdensitas tinggi) dan LDPE (Polietilena berdensitas rendah) (Shah *et al.*, 2008). HDPE memiliki geomembrane yang tahan air dan korosi, juga sangat tahan terhadap paparan zat asam sehingga jenis HDPE lebih sulit terdegradasi secara alami dibanding LDPE (Balasubramanian *et al.*, 2014). Namun, LDPE menjadi material plastik yang paling banyak diaplikasikan karena memiliki berbagai keunggulan dibanding jenis polimer lain sehingga keberadaannya di alam melimpah dan menumpuk menjadi sampah yang dapat menyebabkan kerusakan alam (Munir *et al.*, 2018).

Keunggulan-keunggulan LDPE adalah fleksibel atau mudah dibentuk, kuat, tahan pada suhu tinggi hingga 95 °C, daya proteksi terhadap uap air tergolong baik serta tahan terhadap paparan bahan kimia (Iiyoshi *et al.*, 2014). LDPE banyak digunakan sebagai material pengemasan produk, tempat makanan dan botol-botol bertekstur lembek. Penggunaan plastik berbahan dasar LDPE secara terus-menerus memposisikan plastik LDPE sebagai sumber sampah terbesar (Sen & Raut, 2015).

Sampah plastik akan terakumulasi di tempat pemrosesan akhir (TPA) sebagai pusat pengolahan sampah. Di Indonesia, hampir setiap daerah memiliki TPA, salah satunya TPA Supit Urang yang terletak di kota Malang Provinsi Jawa Timur. TPA Supit Urang merupakan pusat pengelolaan sampah terbesar di Kota Malang yang menampung segala jenis sampah termasuk sampah plastik. Data dari Dinas Lingkungan Hidup Kota Malang menyebutkan bahwa TPA Supit Urang memiliki luas  $\pm 15,2$  ha dengan kapasitas penampungan sampah hingga  $\pm 421,50$  ton/hari. Komposisi sampah tersebut terdiri atas 77,40 % jenis sampah organik dan 22,60 % sampah anorganik. Sampah yang terakumulasi di TPA Supit Urang diolah berdasarkan jenisnya. Sampah organik dimanfaatkan sebagai kompos sedangkan sampah anorganik yang masih baik kondisinya akan didaur ulang dan sisanya akan ditimbun di dalam tanah. Sampai akhir tahun 2019 TPA Supit Urang telah memiliki zona penimbunan sampah dengan luas total 9,6 ha. Sampah yang ditimbun adalah golongan sampah yang sudah tidak dapat dimanfaatkan lagi seperti plastik (DLH Malang, 2019).

Akumulasi plastik di dalam tanah menjadi salah satu penyebab utama pencemaran lingkungan (Verma *et al.*, 2016). Plastik memiliki berat molekul yang tinggi sehingga sulit terdegradasi secara alami, hal ini menjadi inisiator berbagai kerusakan alam (Iiyoshi *et al.*, 2014). Jika sampah plastik ditimbun di dalam tanah maka akan mengakibatkan ketidakseimbangan siklus biologi tanah sehingga dapat menurunkan kualitas kesuburan tanah (Iiyoshi *et al.*, 2014). Selain itu, sampah plastik juga berdampak buruk bagi ekosistem perairan, studi Woerden *et al.* (2018) menunjukkan bahwa sekitar 75% sampah yang mencemari lautan berupa plastik dari daratan, sampah plastik yang terakumulasi di laut akan tereduksi menjadi mikroplastik, hal ini menyebabkan pencemaran air laut.

Kerusakan lingkungan akibat sampah plastik adalah bukti ketidakpedulian manusia akan alam. Hal ini menyimpang dari tujuan awal penciptaan manusia untuk menjaga, melestarikan dan mengelolah bumi dengan bijak. Allah telah berfirman dalam surat Ar-rum ayat 41:

يَرْجِعُونَ لَعَلَّهُمْ عَمِلُوا الَّذِي بَعْضَ لِيُذِيقَهُمُ النَّاسَ أَيْدِي كَسَبَتْ بِمَا وَالْبَحْرِ الْبَرِّ فِي الْقَسَادُ ظَهَرَ

*Artinya: "Telah Nampak kerusakan di darat dan laut disebabkan karena lah tangan manusia, supaya Allah SWT. merasakan kepada mereka sebagian dari akibat perbuatan mereka, agar mereka kembali ke jalan yang benar" (Q.S. Ar-rum: 41).*

Ayat diatas menegaskan bahwa kerusakan yang terjadi di lautan dan di daratan adalah akibat perbuatan manusia. Baik atau buruk kondisi lingkungan sangat bergantung terhadap aktivitas manusia sebab manusia berinteraksi langsung dengan lingkungan

sekitar. Penafsiran ayat dalam Tafsir Tematik Kementerian Agama Republik Indonesia menafsirkan bahwa telah terjadi *al-fasad* di daratan dan lautan. *Al-Fasad* adalah segala bentuk pelanggaran atas sistem atau hukum yang dibuat Allah, yang diterjemahkan dengan "perusakan". Perusakan itu bisa berupa pencemaran alam seperti penumpukan sampah plastik, atau bahkan penghancuran alam sehingga tidak bisa lagi dimanfaatkan (Kemenag, 2014).

Penumpukan sampah plastik harus diatasi dengan metode yang baik dan benar guna mencegah terjadinya kerusakan lingkungan. Beberapa metode yang telah diterapkan secara kimiawi dan mekanik diantaranya melalui degradasi secara foto-oksidasif dengan penyinaran UV (Yousif & Haddad, 2013), degradasi termo-oksidasif yaitu perusakan molekul oleh suhu panas tinggi (Karlsson *et al.*, 2018), fotokatalitis dan biodegradasi oleh mikroorganisme (Shah *et al.*, 2008). Metode diatas tidak semua dapat diterapkan dalam skala besar karena membutuhkan biaya operasional yang tinggi serta resiko lapangan lebih besar akibat polusi yang dihasilkan. Biodegradasi oleh mikroorganisme dinilai sebagai metode yang paling baik untuk diterapkan dalam skala besar karena lebih mudah, murah dan ramah lingkungan, namun membutuhkan waktu lama untuk mencapai degradasi yang sempurna (Shah *et al.*, 2008).

Biodegradasi polimer oleh mikroorganisme dinilai efektif dan adaptif terhadap lingkungan dibanding dengan metode kimia atau fisika. Pada prosesnya, mikroorganisme akan mengeluarkan enzim ekstraseluler yang akan mendegradasi polimer plastik menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu oligomer dan monomer, selanjutnya komponen tersebut akan dimanfaatkan

sebagai sumber energi dan karbon melalui proses asimilasi (Arutchelvi *et al.*, 2008; Gewert *et al.*, 2015).

Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa jamur memiliki aktivitas degradasi yang paling tinggi dibanding mikroorganisme lain, permukaan polimer yang bersifat hidrofobik akan direduksi tingkat hidrofobitasnya oleh protein surfaktan (hidrofobin) yang diproduksi oleh jamur sehingga memudahkan jamur untuk melekat pada permukaan polimer (Kumar & Raut, 2015). Beberapa jenis jamur yang telah diteliti memiliki potensi biodegradasi LDPE diantaranya *Rhizopus oryzae* NS5 mampu mendegradasi LDPE sebesar  $8,4 \pm 3$  % dari berat awal dalam waktu 30 hari (Awasthi *et al.*, 2017), kelompok *Aspergillus* yaitu *A. niger* menunjukkan pengurangan berat kering LDPE sebesar 5,8 % dan *A. japonicas* sebesar 11,11 % dalam kurun waktu 30 hari inkubasi (Raaman *et al.*, 2012), kelompok *Fusarium* ssp. dengan kode isolat dan prosentase pengurangan berat kering masing-masing yaitu FSM-10 (9 %), FSM-3 (8 %), FSM-6 dan FSM-8 (7 %), FSM-5 (5 %) dalam masa inkubasi 60 hari (Das & Kumar, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi jamur yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik jenis LDPE. LDPE memiliki aplikasi yang cukup luas, sehingga limbah LDPE mudah dijumpai di lingkungan bebas ataupun di tempat pembuangan sampah, hal ini menyebabkan pencemaran jika tidak diatasi dengan cara yang aman bagi lingkungan (Shah *et al.*, 2008). Jamur pendegradasi LDPE diisolasi dari tanah TPA Supit Urang. TPA Supit Urang telah memiliki zona penimbunan sampah plastik yang luas dan sudah melalui proses pemisahan dari sampah non-

plastik, sehingga isolat yang diperoleh berpotensi sebagai agen pendegradasi plastik (DLH Malang, 2019). Potensi isolat dievaluasi berdasarkan keberadaan zona bening dalam media tumbuh yang mengandung LDPE. Terbentuknya zona bening disekitar koloni jamur menunjukkan bahwa isolat mampu mendepolimerisasi polimer sebagai langkah awal biodegradasi (Deepika & Jaya, 2015). Isolat jamur dengan kemampuan menghasilkan zona bening akan diuji lebih lanjut menggunakan metode pengurangan berat kering, semakin besar pengurangan berat lembar LDPE menunjukkan semakin efektif isolat tersebut sebagai agen pendegradasi LDPE (Shah et al., 2008).

Penelitian ini adalah upaya awal untuk menyelesaikan masalah lingkungan akibat sampah plastik, dengan harapan dapat diaplikasikan sebagai agen bioremediasi. Isolat jamur potensial pendegradasi LDPE perlu diketahui jenisnya untuk memudahkan penerapan bioremediasi lebih lanjut. Pada penelitian ini identifikasi isolat jamur dilakukan secara morfologi dan molekuler. Identifikasi morfologi mampu memberikan gambaran karakter makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui jenis isolat sampai tingkat genus (Deacon, 2006). Kelemahan identifikasi morfologi terletak pada kesamaan beberapa karakter pada jenis jamur yang sebenarnya berbeda secara genetik. Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi secara spesifik melalui pendekatan molekuler, identifikasi molekuler dapat mengetahui jenis isolat sampai pada tingkatan spesies dengan menggunakan teknologi sekuens atau urutan gen, menurut Fatchiyah dkk (2011) bahwa secara molekuler jenis organisme dapat diketahui dengan membandingkan bagian kode genetik yang bersifat stabil dan

klas. Penelitian ini menggunakan gen ITS sebagai gen penanda karena bersifat konservatif dan berukuran pendek sehingga mudah untuk diamplifikasi (Umesha *et al.*, 2016).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana kemampuan degradasi LDPE oleh isolat jamur dari TPA Supit Urang?
2. Bagaimana hasil identifikasi isolat jamur dari TPA Supit Urang yang memiliki kemampuan degradasi LDPE?

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah;

1. Mengetahui kemampuan degradasi LDPE oleh isolat jamur dari TPA Supit Urang Malang.
2. Mengetahui identitas isolat jamur dari TPA Supit Urang yang berpotensi mendegradasi LDPE.

## **1.4 Batasan Masalah**

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Biodegradasi LDPE dievaluasi berdasarkan kemampuan isolat jamur dalam menghasilkan zona bening dan karakter pertumbuhannya pada media tumbuh minim nutrisi ditambah bubuk DPE.
2. Identifikasi morfologi dan molekuler dilakukan pada isolat jamur dengan kemampuan degradasi tertinggi.
3. Pasangan primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler adalah ITS1 dan ITS4.

## **1.5 Manfaat**

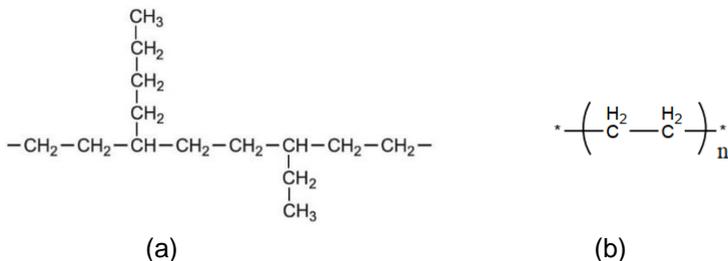
Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi tentang jenis isolat jamur dari TPA Supit Urang dengan kemampuan biodegradasi plastik jenis LDPE.
2. Penelitian ini diharapkan mampu menjadi langkah awal untuk menyelesaikan masalah lingkungan akibat sampah plastik untuk kemudian dapat diaplikasikan sebagai bioremediasi.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1 Polietilena Berdensitas Rendah (Low Density Polyethylene)**

Polietilena merupakan polimer dari etilena ( $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ ) yang dibuat dengan proses polimerisasi membentuk rantai hidrokarbon panjang dan kompleks (Gambar 2.1). Proses polimerisasi ini melalui adiksi tekanan tinggi (1000- 3000 atm) dengan suhu tinggi (300-500 °C). Karakter dari polietilena dipengaruhi oleh kerapatan dan struktur rantainya. Diantara jenis polietilena yang sering ditemui adalah: LDPE (*Low Density Polyethylene*), HDPE (*High Density Polyethylene*), LLDPE (*Linear Low Density Polyethylene*). LDPE memiliki struktur polimer rantai panjang yang bercabang pendek dan panjang, HDPE memiliki struktur polimer rantai panjang yang lurus, sedangkan LLDPE memiliki struktur rantai lurus bercabang pendek (Ogah & Afiukwa, 2012; Shah *et al.*, 2008).



Gambar 2.1 Struktur umum polietilena berdensitas rendah (a) polimer (b) monomer etilena (Shah *et al.*, 2008).

LDPE (*Low Density Polyethylene*) adalah jenis polietilena yang paling banyak diaplikasikan dalam sektor industri karena karakternya yang baik sebagai material pengemasan produk. LDPE memiliki densitas rendah dibanding jenis polietilena lain karena hanya terdiri dari 2% rantai pendek, inert pada suhu ruang, tahan terhadap paparan bahan kimia, tahan dengan suhu pemanasan sampai 95 °C, tidak mudah rusak walau diregangkan. Ketahanannya terhadap kerusakan didukung oleh sifat hidrofobisitas yang tinggi (Kumar & Raut, 2015).

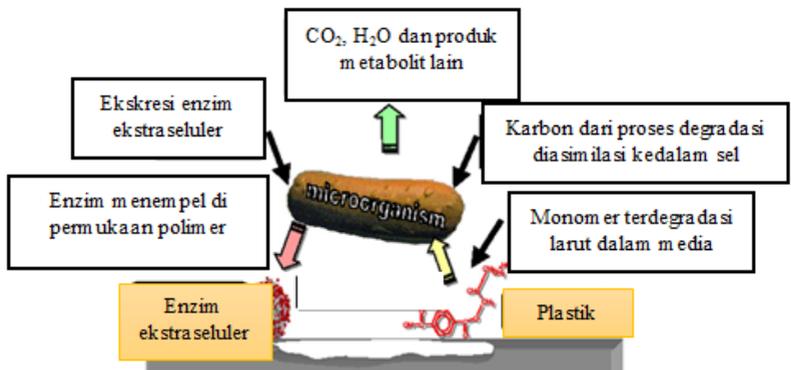
## **2.2 Biodegradasi LDPE**

Degradasi polimer diartikan sebagai menurunnya sifat fisika dan kimia dari polimer. Kompleksitas karakter pada polimer menyebabkannya sulit terdegradasi baik secara fisik maupun kimia, termasuk LDPE. Sifat ketahanan LDPE berpotensi menjadi inisiator kerusakan alam karena tidak dapat terdegradasi secara alami. Laju degradasi LDPE sangat rendah karena tidak memiliki gugus fungsi yang dapat menginisiasi proses degradasi di alam. Hal ini mengakibatkan akumulasi LDPE di tanah dapat menjadi polusi bagi siklus alami tanah.

LDPE dapat didegradasi dengan bantuan faktor abiotik, biotik, atau kombinasi antara keduanya. Degradasi oleh faktor abiotik dimediasi oleh faktor lingkungan yang berperan dalam merusak struktur polimer seperti tingkat keasaman (PH), suhu, kelembapan dan paparan sinar UV. Degradasi oleh faktor biotik dapat dimediasi oleh aktivitas mikroorganisme dengan memodifikasi struktur polimer kompleks menjadi lebih sederhana secara kimia maupun fisika (Iiyoshi *et al.*, 2014).

Biodegradasi LDPE dimulai dengan melekatnya mikroorganisme di permukaan polimer LDPE. Jika kondisi disekitar polimer menguntungkan untuk pertumbuhan mikroba, mikoba akan melakukan aktivitas metabolisme dan mensekresi enzim ekstraseluler untuk mendepolarisasi polimer menjadi lebih sederhana seperti oligomer, dimer dan monomer untuk dapat melewati membran *semipermeable* mikroba (Gambar 2.2) (Arutchelvi *et al.*, 2008; Shah *et al.*, 2008).

Biodegradasi dapat terjadi melalui dua mekanisme yaitu aerobik dan anaerobik. Biodegradasi aerobik terjadi di dalam tanah dengan hasil akhir  $\text{CO}_2$  dan air, sementara biodegradasi anaerobik terjadi di tempat pembuangan sampah dan pada sedimen dengan hasil akhir  $\text{CO}_2$ , air dan metan. Mikroorganisme akan mendegradasi polimer menjadi komponen sederhana lalu memanfaatkan monomernya sebagai sumber karbon kemudian mensekresikan hasil samping tersebut dengan sifat yang aman bagi lingkungan (Sangale, 2012; Tokiwa *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Mekanisme biodegradasi pada kondisi aerob: mikroorganisme mengeluarkan enzim ekstraseluler yang dapat mendepolimerisasi

LDPE, kemudian karbon hasil degradasi akan diasimilasi ke dalam sel. Proses degradasi menyebabkan monomer termineralisasi menjadi  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan produk metabolit lain (Shah *et al.*, 2008).

### 2.3 Jalur Degradasi LDPE oleh Jamur

Jamur dapat mendegradasi LDPE melalui dua jalur yaitu ekstraseluler dan intraseluler. Pada jalur ekstraseluler, degradasi LDPE terjadi di luar sel dengan mengekskresi eksoenzim yang akan mendepolimerisasi polimer menjadi monomer, kemudian hasil depolimerisasi dapat dimanfaatkan jamur sebagai sumber karbon melalui asimilasi. Jalur intraseluler membutuhkan proses *cracking* diluar sel untuk membentuk fragmen pendek hidrokarbon yang akan masuk melewati membran sel dan didegradasi didalam sel dengan bantuan endoenzim (Awasthi *et al.*, 2017).

Jamur memiliki kemampuan degradasi yang tinggi dibanding mikroorganisme lain karena mampu menghasilkan protein hidrofobik yang dapat menempel pada permukaan polimer. Kemampuan jamur dalam membentuk kolonisasi pada permukaan polimer memudahkan penetrasi hifa ke dalam rantai polimer yang merupakan langkah awal dalam proses biodegradasi. Selain itu Jamur mampu menghasilkan enzim yang sesuai untuk proses degradasi seperti *Laccase*, *Catalase*, *Protease* dan *Glycosidase* yang mampu mengkatalis reaksi degradasi (Tokiwa *et al.*, 2009). Jamur juga mampu bertahan hidup di lingkungan dengan minim nutrisi, pH rendah dan kelembapan rendah sehingga kemampuan jamur bertahan hidup lebih tinggi dengan memanfaatkan plastik pada media sintetik (Hikmah *et al.*, 2017).

Penelitian-penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi beberapa jamur dengan kemampuan mendegradasi LDPE yaitu *Fusarium solani* dan *Aspergillus flavus* (Das & Kumar, 2014), *Aspergillus oryzae* (Muhonja *et al.*, 2018), *Aspergillus terreus* dan *Aspergillus tubingiensis* (Khan *et al.*, 2017), *Rhizopus oryzae* NS5 dan *Aspergillus clavatus* (Gajendiran *et al.*, 2016), *Aspergillus niger* (Deepika & Jaya, 2015).

## **2.4 Seleksi Jamur Berdasarkan Keberadaan Zona Bening**

Uji zona bening merupakan uji pelat agar semi-kuantitatif dengan mendispersikan polimer sebagai partikel yang sangat halus dalam media agar sintesis sehingga memiliki penampilan buram. Setelah diinokulasi dengan mikroorganisme, pembentukan zona bening di sekitar koloni menunjukkan bahwa organisme mampu mendepolimerisasi polimer yang merupakan langkah awal biodegradasi (Shah *et al.*, 2008).

Zona bening yang dihasilkan ini disebabkan oleh produksi berbagai enzim yang membantu dalam proses biodegradasi. Semakin luas zona bening maka kemampuan spesies untuk melepaskan jenis enzim semakin besar. Penelitiannya menunjukkan kemampuan *Aspergillus* menghasilkan zona bening 12 mm dan *Penicillium* 8 mm dengan masa inkubasi 7 hari (Ahsan *et al.*, 2016).

Hasil penelitian Deepika & Jaya (2015) menunjukkan pertumbuhan jamur pada media MSM dengan campuran bubuk LDPE 0.1% (w/v). Pertumbuhan jamur dimulai pada hari ke 4-5 dan terbentuk zona buram di sekitar koloni kemudian perlahan mulai terbentuk zona bening transparan pada hari ke 10. Proses inkubasi

dilakukan pada suhu ruang. Hasil penelitian menunjukkan jari-jari zona tersebut berkisar 0,25 hingga 0,75 cm (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Pembentukan zona bening disekitar koloni pada media MSM dengan kandungan 0,1 % LDPE (a) Zona bening yang terbentuk (Deepika & Jaya, 2015).

## 2.5 Faktor yang Memengaruhi Biodegradasi

Proses biodegradasi plastik dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu (Ahmed *et al.*, 2018):

### 1. Kelembapan

Kelembapan mempengaruhi pertumbuhan dan multiplikasi mikroorganisme karena erat kaitannya dengan persediaan air di lingkungan sebagai media transportasi nutrisi. Setiap jenis mikroorganisme memiliki kondisi optimal yang berbeda, pada jamur pertumbuhan optimal miselium dapat terjadi pada kelembapan udara 65% - 70%. Pada proses degradasi polimer kondisi yang lembap mendukung proses hidrolisis dengan menghasilkan lebih banyak reaksi pemotongan rantai polimer. Oleh karena itu, kecepatan biodegradasi dapat meningkat dengan kelembapan yang sesuai kebutuhan mikroorganisme.

### 2. Suhu dan Tingkat Keasaman

Suhu dan tingkat keasaman (pH) berpengaruh terhadap reaksi enzimatik mikroorganisme. Suhu dan pH substrat penting untuk pertumbuhan mikroorganisme karena enzim-enzim tertentu hanya dapat beraktivitas untuk mengurai substrat pada suhu dan pH tertentu. Umumnya jamur akan beraktivitas pada pH dibawah 7.0 atau dalam kondisi asam, sedangkan suhu yang optimal untuk pertumbuhan jamur adalah suhu ruangan kisaran 22-25 °C. Pada proses biodegradasi, suhu dan pH berpengaruh terhadap laju hidrolisis dan aktivitas enzimatik, beberapa penelitian menunjukkan bahwa diantara enzim yang berperan dalam biodegradasi plastik adalah *Catalase*, *Protease* dan *Glycosidase* yang dihasilkan oleh golongan *Aspergillus* (Tokiwa *et al.*, 2009), *Manganase peroxidase* oleh *Amycolaptosis* sp. (Muhamad *et al.*, 2015) dan *Laccase* dan *Manganase peroxidase* oleh *Chaetomium globosum* (Sowmya *et al.*, 2014).

### 3. Karakteristik Polimer

Karakter polimer berpengaruh terhadap laju degradasi oleh mikroorganisme, diantara sifat polimer yang berpengaruh adalah berat molekul, bentuk dan ukuran. Mikroorganisme lebih mudah mendepolimerisasi polimer dengan berat molekul rendah dan luas permukaan lebar.

## 2.6 Identifikasi Isolat Jamur

### 2.6.1 Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi merupakan pengamatan karakter luar fisik dari suatu organisme. Identifikasi morfologi dilakukan untuk

mengetahui identitas suatu organisme sampai pada tingkat genus. Identifikasi morfologi dilakukan dalam dua tahap yaitu identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis (Deacon, 2006).

### **2.6.1.1 Identifikasi secara Makroskopis**

Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati karakter yang tampak seperti warna jamur pada permukaan atas dan bawahnya (*reverse slide*), ukuran koloni, tepi koloni, bentuk, garis-garis radial dari pusat koloni ke tepi, ada tidaknya lingkaran konsentris, pola pertumbuhan dari awal ditanam serta tekstur permukaan seperti halus, kasar, rata, licin, ada atau tidaknya tetes-tetes eksudat. Menurut Gandjar *et al.* (1999), beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pengamatan makroskopis jamur adalah medium yang digunakan, umur isolat pada saat pengamatan dan suhu inkubasi.

### **2.6.1.2 Identifikasi secara Mikroskopis**

Identifikasi jamur secara mikroskopis dilakukan dengan mikroskop untuk mengamati bentuk sel, ukuran sel, tipe mieslium, tipe reproduksi dan tipe pertunasan. Menurut Gandjar *et al.* (1999), beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengamatan mikroskopis adalah:

1. Pengamatan karakter hifa yaitu berseptum atau tidak, berpigmen hialin (tidak berwarna atau berwarna biru jika diberi pewarna) atau dematiaceous (berwarna coklat kehijauan atau kehitaman) serta bentukan hifa (spiral atau bernodul atau mempunyai rhizoid).
2. Spora aseksual, berbentuk sederhana (arthospora, blastospora, kladidospora) atau sporangiospora atau spora aseksual khusus seperti konidia dan aleuspora. Karakter spora

aseksual diamati adalah bentuk, ukuran, jumlah dan letak. Bentuk spora diantaranya gelondong, ganda, bulan sabit, bulat atau semi bulat, tidak teratur, silindris, elips, seperti bintang, seperti benang. Ukuran spora aseksual dibedakan menjadi dua yaitu kecil (1-5  $\mu\text{m}$ ) dan besar (120-100 nm).

3. Spora seksual, memiliki bentuk yang variative seperti basidiospore, askospora dan zigospora.
4. Karakter sel, bersel tunggal (berdinding tipis atau tebal, berpigmen atau tidak) atau bersel banyak (dinding tipis atau tebal, bersepta atau tidak, bersepta transversal saja atau transversal dan longitudinal, berpigmen atau tidak).

## **2.6.2 Identifikasi Molekuler**

### **2.6.2.1 Isolasi DNA Jamur**

Ekstraksi DNA genomik dari jamur berfilamen memiliki tingkat kesulitan yang tinggi karena struktur dinding sel yang kompleks, konsentrasi polisakarida tinggi dan keberadaan metabolit sekunder lain yang mengikat atau mengendap bersama dengan asam nukleat. Oleh karena itu dibutuhkan metode yang efektif untuk memperoleh DNA dengan kemurnian tinggi (Raihan, Rahman, & Mohammad, 2016). Tahap awal dari isolasi DNA adalah proses ekstraksi DNA dari dalam sel. Metode yang umum dalam ekstraksi DNA jamur adalah metode *Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide* (CTAB). CTAB mengandung surfaktan kationik yang sangat efektif dalam melisiskan dinding sel dengan kandungan polifenol dan polisakarida tinggi. Metode CTAB banyak dipilih karena lebih mudah, murah dan efisien dibandingkan metode kit komersial (Huang *et al.*, 2019).

Metode CTAB memiliki prinsip seperti isolasi DNA pada umumnya yaitu lisis sel, ekstraksi, presipitasi dan purifikasi. Dalam metode CTAB, komposisi bufer lisis sangat berpengaruh terhadap keberhasilan proses lisis. Komposisi buffer lisis dalam metode CTAB adalah surfaktan CTAB, NaCl, EDTA, Tris-HCl dan Polivinilpirolidon (PVP). CTAB merupakan surfaktan kationik bermuatan positif pada bagian kepala dan gugus hidrofobik pada bagian ekor. Gugus hidrofobik pada surfaktan akan berinteraksi dengan lemak sehingga lemak akan terdenaturasi sedangkan muatan positif surfaktan akan berinteraksi dengan muatan negatif protein sehingga protein akan terdenaturasi. CTAB juga memiliki kemampuan untuk memecah polisakarida menjadi monomer sederhana dengan cara berinteraksi dengan polisakarida menjadi monomer sederhana dengan cara berinteraksi dengan polisakarida secara hidrofobik membentuk senyawa kompleks. Kandungan NaCl berfungsi menghilangkan senyawa polisakarida. EDTA berfungsi mengurangi integritas dinding sel dengan mengikat ion magnesium agar aktivitasnya menurun, ion magnesium berkontribusi dalam mempertahankan aktivitas enzim nuklease, Tris-HCl berfungsi berfungsi menyeimbangkan pH, PVP berfungsi menghilangkan senyawa fenolik (Nyström *et al.*, 2009).

Dinding sel yang telah lisis mengakibatkan seluruh isi sel keluar termasuk DNA dan kontaminan yang masih tersisa menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang biasa digunakan adalah kloroform dan isoamil alkohol, kloroform berfungsi mendenaturasi protein, sedangkan isoamil alkohol berfungsi menghilangkan busa. Perlakuan tersebut menjadi menjadikan campuran membentuk 3 lapisan dengan penampakan berbeda. Lapisan atas mengandung

DNA dan RNA karena sifatnya polar. Hal ini disebabkan karena meningkatnya kelarutan DNA dalam air akibat interaksi antara muatan dipol positif air dengan dipol negatif pada gugus fosfodiester DNA. Protein yang terdenaturasi akan masuk diantara lapisan intermediet atau fase organik-air. Sedangkan pada lapisan bawah atau fase organik tersisa lemak dan protein nonpolar yang mudah larut dalam kloroform (Almarhoon *et al.*, 2019).

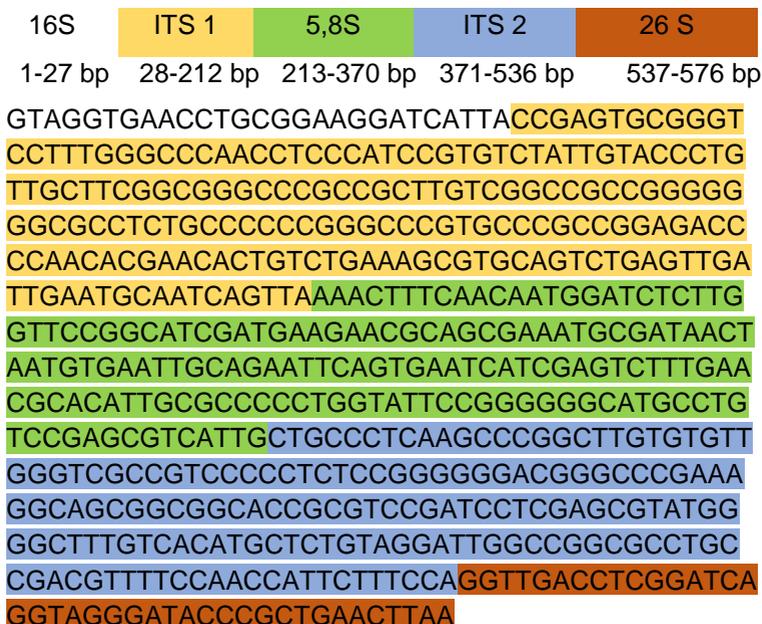
Proses presipitasi DNA merupakan proses pengendapan DNA dengan bantuan etanol dingin dan garam ammonium asetat. Etanol akan menghilangkan sisa kloroform dengan memekatkan DNA. Etanol akan menurunkan aktivitas molekul H<sub>2</sub>O sehingga molekul DNA dengan muatan netral akan menggumpal dan mengendap menjadi pelet. Garam ammonium asetat berfungsi menurunkan kelarutan DNA dalam air kemudian kontaminan RNA dapat didenaturasi dengan penambahan enzim RNase. Pemurnian DNA merupakan proses pencucian DNA dari sisa-sisa kontaminan dan garam. Pelet DNA yang terbentuk dilarutkan dalam TE agar sampel DNA agar tetap stabil (Fatchiyah dkk., 2011).

Tingkat keberhasilan isolasi DNA dari suatu isolat DNA dapat ditentukan dari nilai rasio absorbansi A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> dan hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa dibawah sinar UV transluminator. DNA dengan kualitas kemurnian baik memiliki rentang nilai rasio A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> antara 1,8 - 2,0 dan menunjukkan pita tunggal yang utuh tanpa *smear* pada hasil elektroforegram. Jika nilai rasio A<sub>260</sub>/280 lebih kecil dari 1,8 maka isolat DNA terkontaminasi oleh fenol dan jika lebih besar dari 2,0 maka isolat mengandung protein dan senyawa lain (Fatchiyah dkk., 2011).

### 2.6.2.2 Gen ITS

Daerah DNA ribosomal (rDNA) yaitu daerah penyandi genom dalam komponen rRNA (RNA ribosomal). Deret rDNA pada organisme eukariotik terletak pada inti sel dan mitokondria. Daerah tersebut dipisahkan menjadi beberapa segmen oleh daerah pembatas atau *spacer* yaitu ETS (*external transcribed spacer*), IGS (*Intergenic spacer*) dan ITS (*internal transcribed spacer*). Fragmen ITS menjadi pembatas antara segmen 18S, 5.8S dan 28S. Golongan jamur memiliki daerah ITS yang terbagi menjadi dua bagian yaitu ITS1 dan ITS2, skema letak daerah ITS dapat dilihat pada (Gambar 2.4). Kedua daerah ITS tersebut merupakan daerah *non-coding* karena tidak diterjemahkan saat proses pengkodean RNA ribosom (Deacon, 2006; Mulyatni *et al.*, 2011).

Daerah ITS mempunyai tingkat konservasi yang tinggi sehingga sering digunakan sebagai gen penanda universal dalam mengidentifikasi jamur, sehingga gen ITS juga sering digunakan sebagai dasar mempelajari hubungan kekebarabatan. Keunggulan yang lain dari daerah ITS adalah dapat mengalami perubahan atau mutasi yang cepat sehingga menunjukkan variasi genetik yang tinggi. Variasi genetik ini dapat membedakan antara spesies satu dengan yang lain dalam satu genus. Selain itu, daerah ITS memiliki ukuran basa nukleotida yang pendek yaitu antara 500-600 pasangan basa, hal ini dapat memudahkan proses amplifikasi menggunakan primer universal, ITS banyak digunakan untuk analisis filogenetik, penentuan identitas taksonomi dan studi evolusi (Rampersad, 2014).



Gambar 2.4 Skema letak daerah ITS pada DNA ribosom dari *Aspergillus niger* dengan panjang 576 bp . Warna putih (1-27 bp) menunjukkan sekuen unit 18S, warna kuning (28-212 bp) menunjukkan daerah ITS1, warna hijau (213-370 bp) menunjukkan sekuen unit 5,8S, warna biru (371-536 bp) menunjukkan daerah ITS2, warna cokelat (537-576 bp) menunjukkan sekuen unit 28S) ([www.ncbi.nlm.gov/nuccore/AF\\_132799.1](http://www.ncbi.nlm.gov/nuccore/AF_132799.1)).

### 2.6.2.3 Amplifikasi DNA dengan PCR

Reaksi polimerasi berantai atau PCR merupakan Teknik amplifikasi DNA pada suatu daerah tertentu, tujuannya adalah untuk memperoleh kopian sekuen dalam jumlah besar dalam waktu singkat. PCR melibatkan beberapa siklus berulang dan setiap siklusnya terjadi duplikasi sejumlah target DNA untai ganda. Secara umum, komponen yang dibutuhkan dalam proses PCR

adalah DNA template, sepasang primer, master mix PCR, *deoxynucleotide triphosphates* (dNTPs),  $MgCl_2$  dan DNA polymerase (Garibyan & Avashia, 2013).

Proses PCR melalui tiga tahap utama yaitu denaturasi, *annealing* dan elongasi. Pada tahap denaturasi, untai ganda DNA akan berpisah menjadi untai tunggal. DNA dapat digunakan sebagai cetakan untuk untai baru dalam kondisi untai tunggal. Denaturasi dilakukan dalam rentang suhu 90–95 °C selama 60 detik. Pada tahap *Annealing* (Penempelan) terjadi penempelan primer tepat di daerah DNA target. Setelah penempelan primer, enzim taq polymerase akan memulai pembentukan untai DNA baru. Agar suatu primer dapat menempel dengan tepat pada daerah target maka dibutuhkan suhu yang rendah, sekitar 55 °C dengan waktu 20-60 detik. Tahap terakhir adalah elongasi, tahap ini terjadi pada suhu sekitar 72 °C selama 60 detik. Primer yang telah menempel akan mengalami pemanjangan dari sisi 3' dengan penambahan dNTPs yang komplemen dengan DNA template oleh DNA polimerase (Alsohaili & Bani-Hasan, 2018).

Keberhasilan proses amplifikasi sangat bergantung pada pemilihan primer yang tepat, dibutuhkan dua macam primer yaitu *forward* dan *reverse*, primer *forward* merupakan titik penanda awal yang akan menempel pada untai DNA dari ujung 3'5', sedangkan primer *reverse* adalah titik akhir daerah yang diamplifikasi, primer ini menempel pada untai DNA dari sisi 3'5'. Dalam penelitian ini, digunakan primer ITS1 dan ITS4, 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' dan ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'. Pemilihan primer dan suhu penempelan yang tepat adalah faktor utama keberhasilan

amplifikasi. Penelitian yang dilakukan Umesha *et al.* (2016) dengan menggunakan pasangan primer ITS1 dan ITS4 menunjukkan keberhasilan amplifikasi DNA yang mengindikasikan fragmen ITS.

#### **2.6.2.4 Penentuan Sekuen DNA dan Analisis Bioinformatika**

Sekuensing DNA adalah teknik penentuan urutan basa nukleotida adenin (A), sitosin (C), guanin (G), timin (T) dalam suatu molekul DNA. Urutan tersebut merupakan informasi dasar dari suatu gen atau genom untuk menentukan identitas atau fungsi dari suatu gen. Proses sekuensing DNA menggunakan metode *dideoxy nucleotide chain termination* yang akan menghasilkan kromatogram yang tersusun atas puncak dalam empat warna berbeda, warna tersebut adalah representasi dari empat macam basa yang menyusun DNA (Fatchiyah dkk., 2011).

Hasil urutan DNA kemudian dianalisis dengan beberapa program komputer seperti Bioedit, BLAST-n dan MEGA-X. Bioedit digunakan untuk menganalisa bagian contig (serangkaian bagian DNA yang tumpang tindih) untuk memperoleh hasil sekuensing yang lebih baik. Program Bioedit akan menghapus daerah yang tidak termasuk hasil konsensi dari sekuen *forward* dan *reverse*. Program Blast-n digunakan untuk mencocokkan sekuen DNA *query* dengan sekuen dari NCBI (Mulyawati *et al.*, 2017; Suchowersky, 2013; Yuniarti dkk, 2017).

MEGA-X digunakan untuk melakukan konstruksi pohon filogenetik berdasarkan pendekatan *maximum likelihood* atau kemiripan paling tinggi. Metode ini memberi estimasi terbaik dari setiap panjang percabangan, artinya yang paling dekat

merefleksikan jarak nyata antar sekuen. *Bootstrap* 1000 digunakan untuk memperkirakan tingkat kredibilitas pohon filogenetik (Kumar *et al.*, 2018).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksploratif dari hasil isolasi fungi indigenus di TPA Supit Urang Malang yang diidentifikasi secara morfologi dan molekuler. Selain itu merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif dan kuantitatif berupa hasil zona bening dan berat kering.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 sampai Maret 2020. Pengambilan sampel tanah dilakukan di TPA (Tempat Pemrosesan Akhir) Supit Urang, Malang. Proses Isolasi sampai identifikasi dilakukan di laboratorium mikrobiologi, biokimia dan genetika, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Penelitian ini menggunakan alat-alat diantaranya kantong steril, sendok steril, kotak penyimpanan sampel, *blender*, timbangan digital *Sartorius*, gelas ukur *PYREX IWAKI*, tabung Erlenmeyer *PYREX IWAKI*, pipet ukur, tabung kaca *Amoxsan*, cawan petri *PYREX IWAKI*, jarum ose, spatula, tabung mikro 1.5 mL, tabung *Eppendorf*, *Shaker*, kompor listrik *Thermo scientific*, vortex *Maxi Mix I*, *Laminar air flow*, incubator *mammerr*, mikropipet *BIO-RAD*, tip *ONEMED* (biru, kuning dan putih), bunsen, *autoclave SS XFS 280A*, alat sentrifugasi *Thermo scientific*, alat sentrifugasi *HIRAEUS*, *microwave UROLUX*, cetakan agar, perangkat elektroforesis *Mupid*, *power supply BIO-RAD*, *Molecular Imager®*

Agar Doc™ XR System *BIO-RAD*, AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer, dan MyCycler™ Thermal Cycler *BIO-RAD*.

### 3.3.2 Bahan

Sampel tanah diperoleh dari TPA Supit Urang Malang. Bahan-bahan yang digunakan dalam isolasi jamur adalah media PDA komersial *Merck* dan akuades steril, *mineral salt medium* (MSM) yang mengandung (g/L:  $K_2HPO_4$  1,  $KH_2PO_4$  0,2,  $(NH_4)_2 SO_4$  1,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,5, NaCl 1,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0,01,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0,002,  $MnSO_4 \cdot H_2O$  0,001,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0,001,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  0,001, Agar 15, *chloramphenicol*, bubuk LDPE) untuk uji biodegradasi. Proses isolasi DNA membutuhkan CTAB 2%, NaCl 0.7 M; 1.5 M, kloroform, isopropanol, buffer TE, ddH<sub>2</sub>O, etanol 70 %. Proses elektroforesis DNA jamur memerlukan *agarose*, buffer TAE 1X, EtBr dan *loading dye*. Proses amplifikasi DNA menggunakan primer ITS1 dan ITS4, PCR mix, marker 1 kb.

## 3.4 Langkah Kerja

### 3.4.1 Pengambilan Sampel Tanah

Tanah yang digunakan sebagai sumber isolat diambil dari lahan TPA Supit Urang pada kedalaman 3-5 cm pada tiga titik yang berbeda. Semua sampel dicampur sampai merata dalam *polybag* steril kemudian dimasukkan dalam *icebox* yang telah diisi *blue ice* dan dibawa ke laboratorium (Khan *et al.*, 2017).

### 3.4.2 Persiapan Bubuk LDPE dan Lembar LDPE

Butir kristal LDPE sebanyak lima gram dihaluskan dengan *blender* sampai menjadi bubuk, sedangkan lembar LDPE dipersiapkan dari kantong plastik berbahan LDPE, dipotong dengan ukuran 3X3 cm. Keduanya direndam dalam alkohol

selama 24 jam kemudian dikeringkan dibawah sinar UV dalam *laminar air flow* (Somya *et al.*, 2014).

### **3.4.3 Isolasi Jamur Pendegradasi LDPE**

Sampel tanah sebanyak satu gram disiapkan dalam gelas ukur dan ditambah akuades steril sampai volume 10 mL. Suspensi dihomogenkan dan dilakukan pengenceran sampai larutan sampel tidak pekat. Pada penelitian ini dilakukan lima kali pengenceran ( $10^{-5}$ ) karena dipilih kondisi sampel tanah yang kering dan tidak menggumpal. Hasil dari pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$  ditanam ke dalam media PDA dengan metode *pour plate* sebanyak 1 mL kemudian diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu ruang. Setiap koloni jamur yang terbentuk ditransfer ke media PDA baru sampai mendapat isolat murni (Singh & Gupta, 2014).

### **3.4.4 Seleksi Jamur Pendegradasi LDPE Berdasarkan Keberadaan Metode Zona Bening**

Uji potensi jamur pendegradasi LDPE dilakukan dalam media MSM agar dengan kandungan bubuk LDPE sebanyak 0,1 % (w/v), kemudian disterilkan dengan *autoclave* 120 °C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media didinginkan hingga suhu 45 °C dan dituang pada cawan petri steril. Setelah padat, isolat jamur diinokulasikan dalam media selama 8-10 hari dengan suhu 30-35 °C. Kemudian diamati keberadaan zona bening di sekitar koloni. Jamur yang menghasilkan zona bening di sekitar koloni serta memiliki karakter pertumbuhan yang cepat dan menyebar pada permukaan media menunjukkan potensi sebagai pendegradasi LDPE (Ahsan *et al.*, 2016; Deepika & Jaya, 2015; Thilagavathi *et al.*, 2018).

### 3.4.5 Uji Biodegradasi LDPE dengan Metode Berat Kering

Lembar LDPE yang telah disterilkan dengan alkohol ditanam dalam 100 mL media MSM cair sebagai media kultur. Isolat jamur dengan kemampuan menghasilkan zona bening dan pertumbuhan yang baik dikultur kembali dalam media PDA selama 14 hari dan spora yang dihasilkan dipindahkan ke dalam media MSM, pemindahan spora jamur dilakukan dengan menggunakan campuran akuades steril dengan tween 20 sebanyak 10 mL kemudian dikikis menggunakan kuas steril. Inkubasi dilakukan selama 30 hari pada *shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam suhu ruang. Lembar LDPE diambil dari media setelah masa inkubasi selesai kemudian dibersihkan menggunakan methanol dan dibilas dengan akuades steril kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 12 jam dan ditimbang berat keringnya. Semakin besar pengurangan berat, menunjukkan kemampuan yang semakin tinggi dari isolat dalam mendegradasi LDPE. Pengurangan berat kering dihitung menggunakan rumus (1) berikut (Deepika & Jaya, 2015; Singh & Gupta 2014; Sowmya *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2016):

$$\% \text{ kehilangan berat} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir}) \text{ lembar LDPE} \times 100}{\text{berat awal lembar LDPE}} \quad (1)$$

### 3.4.6 Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan langsung pada koloni jamur yang telah tumbuh selama tujuh hari, karakter yang diamati meliputi: warna jamur (atas dan bawah), ada tidaknya garis radial, ada tidaknya garis konsentris,

ada tidaknya titik air (eksudat), diameter koloni, tepi koloni, tekstur permukaan koloni dan pertumbuhan koloni.

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan metode *slide culture* (Rosana, *et al.*, 2014). Disiapkan isolat jamur dari media tumbuh dengan ukuran 1x1 cm<sup>2</sup> dari cawan petri menggunakan pimes steril secara aseptis. Diletakkan potongan media diatas kaca obyek steril. Dikultur isolat jamur yang akan diidentifikasi dengan cara digoreskan pada empat sudut media, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan ditekan secara perlahan. Preparat tersebut di letakkan diatas tisu yang telah dibasahi dengan akuades steril dalam cawan petri steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari. Langkah selanjutnya adalah pengamatan dibawah mikroskop, sebelumnya disiapkan kaca obyek baru dan ditetesi larutan pewarna *Lactophenol cotton blue*. Ditutup dengan kaca penutup yang berasal dari preparat kultur jamur. Diamati dibawah mikroskop komputer dengan perbesaran 100X dan 400X. Komponen yang diamati meliputi: hifa, konidia, konidiofor dan rizoid. Hasil pengamatan dikomparasikan dengan buku identifikasi jamur *Soil and Seed Fungi* dan buku *Description of Medical Fungi* untuk menentukan genus dari isolat (Bechem & Afanga, 2018), serta buku *Pictoral Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 2th Edition* karangan Watanabe (2002).

### **3.4.7 Identifikasi Molekuler**

#### **3.4.7.1 Isolasi DNA Menggunakan Metode CTAB**

Miselium jamur disiapkan sebanyak 100 mg kemudian digerus menggunakan mortar dan alu sampai hancur, ditambahkan nitrogen cair untuk memudahkan penggerusan kemudian ditambah

1000  $\mu\text{L}$  bufer 2X CTAB yang mengandung 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl; 10 mM Tris-HCl pH 8; 2% CTAB; 2% PVP40; 0,2%  $\beta$ -mercaptoethanol, divortex dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit. Selama proses inkubasi, tabung mikro dibolak-balik setiap 5 menit sekali. Ditambah 900  $\mu\text{L}$  (24:1) chloroform:isoamilalkohol dan diinkubasi di suhu ruang selama 1 jam. Disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit, supernatan yang terbentuk dipindah pada tube 1.5 mL. Ditambah 1X volume chloroform:isoamilalkohol (24:1) dan disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit. Diambil supernatan dan dipindah pada tube 1.5 mL.

Langkah selanjutnya adalah presipitasi DNA dengan isopropanol dingin sebanyak 2/3 kali volume supernatan yang diperoleh, disimpan semalaman dalam suhu -4 °C kemudian dilakukan sentrifugasi 13.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh endapan DNA pada pellet. Ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  etanol absolut dan disentrifugasi 13.000 rpm/ 5 menit kemudian dikering anginkan dan diresuspensi dengan 50  $\mu\text{L}$  buffer TE. Disimpan pada suhu -4 °C dan dilakukan uji kuantitatif dengan spektrofotometer NanoDrop dengan panjang gelombang 260/280 nm (Doyle & Doyle, 1987; Prabha *et al.*, 2013).

#### **3.4.7.2 Uji Kuantitatif DNA**

Uji kuantitatif DNA menggunakan nanodrop dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260-280 nm dan 260-230 nm. Langkah pertama ditentukan nilai absorbansi pada larutan *blank* (larutan TE) kemudian klik tombol *blank* pada layer nanodrop, proses pembacaan selesai ditanda dengan tulisan *Acid ready measurement* menandakan siap untuk membaca nilai

absorbansi DNA. Disiapkan sampel sebanyak 1-2  $\mu\text{L}$  dan diletakkan di tempat sampel kemudian ditekan tombol *Measure* pada layer untuk memulai proses. Hasil pengukuran uji kuantitatif DNA berupa nilai konsentrasi DNA ( $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) dan nilai rasio *Optical Density (OD)* (Lee *et al.*, 2012).

#### **3.4.7.3 Uji Kualitatif DNA**

Uji kualitatif DNA menggunakan *agarose* konsentrasi 1 %, 03 gram bubuk *agarose* dilarutkan dalam 30 mL buffer TAE 1X, kemudian dipanaskan dalam *microwave* sampai homogen. Gel didinginkan sampai suhu 60  $^{\circ}\text{C}$  kemudian ditambah 1-2  $\mu\text{L}$  pewarna EtBr dan dituang ke dalam *tray*, kemudian dipasang sisir. Gel dibiarkan selama 1 jam agar mengeras, kemudian sisir dilepas dan *agarose* dapat digunakan dengan dimasukkan kedalam tanki elektroforesis yang berisi buffer TE. Selanjutnya 5  $\mu\text{L}$  sampel dimasukkan kedalam sumur. Proses elektroforesis dilakukan selama 60 menit dengan voltase 85 V kemudian gel diletakkan dibawah UV transluminator untuk diamati pita-pita DNA yang terbentuk. Pada sampel hasil amplifikasi, posisi pita menunjukkan panjang fragmen DNA (pb) yang mengacu pada ukuran marker (Lee *et al.*, 2012).

#### **3.4.7.4 Amplifikasi gen ITS dengan PCR**

Amplifikasi daerah ITS dilakukan dengan pembuatan PCR mix volume 25  $\mu\text{L}$  dan menggunakan primer universal ITS1 dan ITS4. Komponen dalam PCR mix meliputi: DNA *template* 1  $\mu\text{L}$ , primer *forward* 1  $\mu\text{L}$  1 pmol, primer *reverse* 1  $\mu\text{L}$  1 pmol, ddH<sub>2</sub>O 7.5  $\mu\text{L}$ , PCR mix 12.4  $\mu\text{L}$ . Primer *forward* yang digunakan adalah ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'), sedangkan primer *reverse* yang digunakan adalah ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3').

Amplifikasi dilakukan dengan tahapan denaturasi awal 94 °C selama 3 menit sebanyak satu siklus. Selanjutnya 35 siklus yang terdiri atas: denaturasi 94 °C selama 1 menit, penempelan 56 °C selama 2 menit dan pemanjangan 72 °C selama 1 menit 30 detik kemudian diakhiri dengan tahap tiga sebanyak satu siklus pada 72 °C selama 7 menit. Sampel hasil amplifikasi dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui panjang fragmen DNA (Raihan *et al.*, 2016).

#### **3.4.7.5 Sekuensing DNA dan Analisis Bioinformatika**

Hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dilakukan proses sekuensing di perusahaan *Bioneer* Korea Selatan. Hasil sekuensing DNA disusun dengan program Bioedit kemudian dilakukan analisis dengan program BLAST-N pada NCBI dan ditentukan *outgroup* dari family yang berbeda.. Setelah itu dilakukan konstruksi pohon filogenetik mengguakan *software* MEGA-X. Data yang telah disejajarkan sebelumnya dibuka dengan aplikasi MEGA-X dan dikonfirmasi pembuatan pohon filogenetik dengan metode statistik Maximum Likelihood. Digunakan tes filogeni berupa metode *bootstrap* (jumlah replikasi sebanyak 1000 kali) dan model substitusi Tamura-Nei. Tingkat kemiripan yang paling tinggi ditunjukkan dengan jarak terdekat dari sekuen sampel terhadap sekuen pembanding (Suchowersky, 2013; Yuniarti *et al.*, 2017).

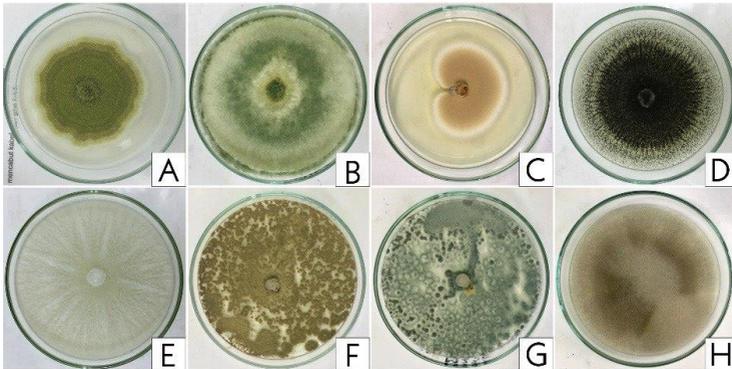


## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Isolat Jamur dari TPA Supit Urang

Jamur indigenus berhasil diisolasi dari tanah TPA Supit Urang pada kedalaman 3–5 cm di tiga titik berbeda. Kondisi tanah memiliki pH rata-rata 8 dan suhu rata-rata 34 °C. Diperoleh delapan jenis jamur indigenus dengan penampakan morfologi yang berbeda. Isolat hasil pemurnian diberi kode AY1, AY2, AY3, AY4, AY5, AY6, AY7, dan AY8 (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Penampakan isolat jamur hasil pemurnian, media PDA, masa inkubasi 7 hari, 28 °C: (A) isolat AY1 (B) isolat AY2 (C) isolat AY3 (D) isolat AY4 (E) isolat AY5 (F) isolat AY6 (G) isolat AY7 (H) isolat AY8.

Perbedaan morfologi dari masing-masing isolat menunjukkan keanekaragaman dari jamur, setiap isolat memiliki karakter khas sebagai pembeda dari jenis lainnya. Fenomena ini telah dijelaskan dalam Al-quran, Allah telah menciptakan makhluknya dalam bentuk yang beranekaragam supaya dijadikan sebagai pengenal antara satu dengan yang lain.

Firman Allah dalam surat Al-hajj ayat 5:

وَتَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنْزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنْبَتَتْ مِنْ كُلِّ رَوْحٍ يَخْرِجُ

*Artinya: Dan kamu lihat bumi ini kering, kemudian apabila kami turunkan (air) hujan di atasnya, hiduplah bumi itu dan menjadi subur dan menumbuhkan berbagai jenis tanaman (tumbuhan) yang indah (Q.S. Al-hajj: 5).*

Al-qur'an melalui potongan ayat ke-5 surat Al-hajj di atas menegaskan bahwa penciptaan makhluk hidup dengan segala perbedaan bukanlah hal yang sia-sia, melainkan terdapat hikmah yang besar. Yaitu, bahwa bumi yang kering kerontang itu, apabila diturunkan air akan memperlihatkan tanda kehidupan, bergerak, mengembang, permukaannya meninggi akibat air dan udara yang menyela-nyelanya, dan akhirnya memunculkan berbagai jenis tumbuhan yang indah, memukau dan membuat senang siapa saja yang melihatnya (Shihab, 2012).

Jika diartikan lebih luas, konteks penciptaan dari ayat di atas adalah penciptaan berbagai jenis makhluk hidup seperti manusia, hewan, mikroorganisme termasuk jamur, hal ini bertujuan untuk menghidupkan bumi dari kekeringan. Seperti halnya siklus rantai makanan, tidak akan berlangsung hanya dengan keberadaan tumbuhan sebagai produsen, dibutuhkan hewan dan manusia sebagai konsumen, juga mikroorganisme seperti jamur sebagai pengurai. Hal ini menunjukkan bahwa penciptaan keanekaragaman makhluk hidup dengan perbedaan karakter morfologi dan fisiologi disesuaikan dengan fungsinya untuk menunjang keberlangsungan kehidupan di muka bumi.

Jamur dapat bertahan hidup pada beragam kondisi lingkungan termasuk tanah TPA yang bercampur limbah. Limbah dengan

berbagai kandungan senyawa organik dan anorganik sulit terdegradasi karena memiliki bentuk dan struktur polimer yang komposit dan kompleks seperti plastik. Kondisi ini dimanfaatkan oleh jamur indigenus sebagai salah satu lingkungan tumbuh yang menguntungkan, jamur dapat memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber nutrisi. Menurut Darliana & Wilujeng (2020) jamur indigenus adalah jamur yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa organik dan menjadikannya sebagai sumber nutrisi untuk metabolisme dan kehidupannya. Jamur indigenus dari tanah TPA dapat menguraikan berbagai jenis polimer termasuk LDPE dari limbah plastik, sehingga pada perlakuan laboratorium jamur indigenus mampu beradaptasi saat diberi perlakuan pada media yang mengandung LDPE. Penelitian-penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi berbagai jenis jamur indigenus dari tanah TPA diantaranya *Fusarium solani* dan *Aspergillus flavus* (Das & Kumar, 2014), *Aspergillus oryzae* (Muhonja *et al.*, 2018), *Aspergillus terreus* dan *Aspergillus tubingensis* (Khan *et al.*, 2017), *Rhizopus oryzae* NS5 dan *Aspergillus clavatus* (Gajendiran *et al.*, 2016), *Aspergillus niger* (Deepika & Jaya, 2015).

Jamur pada tahap isolasi penelitian ini dapat tumbuh dengan optimal karena didukung oleh lingkungan yang baik dan nutrisi yang terpenuhi. Pertumbuhan miselium jamur hasil pemurnian telah memenuhi cawan petri di hari ke-7, meskipun pada jamur AY3 menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat. Dapat diamati bahwa pigmentasi miselium dari semua isolat menunjukkan warna yang jelas.

Lingkungan tumbuh sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur, dalam penelitian ini isolasi jamur dilakukan di

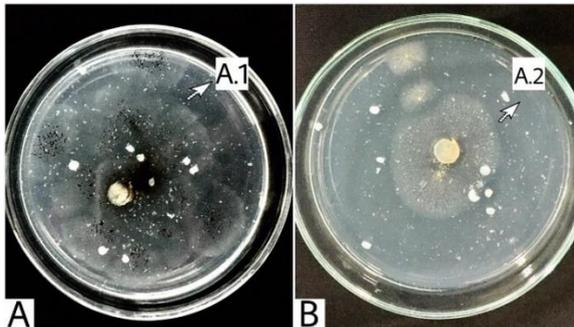
ruangan dengan kondisi suhu yang stabil yaitu 27 °C, suhu yang efektif dan stabil penting untuk pertumbuhan mikroorganisme karena enzim-enzim yang bekerja hanya dapat beraktivitas untuk mengurai substrat pada suhu tertentu. Menurut Ahmed *et al.* (2018) suhu yang optimal untuk pertumbuhan jamur adalah suhu ruangan kisaran 22-27 °C. Selain itu, kelembapan ruang juga mempengaruhi pertumbuhan dan multiplikasi mikroorganisme karena erat kaitannya dengan persediaan air di lingkungan sebagai media transportasi nutrisi. Menurut Ahmed *et al.* (2018), pertumbuhan optimal miselium jamur dapat terjadi pada kelembapan udara 65% - 70%.

Nutrisi yang terpenuhi dengan baik juga menjadi faktor penting pertumbuhan jamur. Menurut Qadr & Abdulla (2018) jamur membutuhkan pasokan nutrisi untuk menjalankan proses metabolisme sehingga dapat tumbuh optimal. Molekul sederhana seperti gula sederhana dan asam amino dapat langsung diserap oleh hifa jamur, sedangkan polimer yang lebih kompleks seperti selulosa, pati, dan protein harus diproses terlebih dahulu sebelum digunakan oleh jamur. Menurut Fellbaum *et al.* (2012) pertumbuhan jamur ditunjang oleh keberadaan karbon, bahkan separuh dari berat kering sel jamur terdiri dari karbon. Oleh karena itu, dalam penelitian ini uji biodegradasi didasarkan pada kemampuan jamur dalam memanfaatkan sumber karbon tunggal berupa LDPE pada media minim nutrisi.

#### **4.2 Hasil Seleksi Isolat Jamur Pendegradasi LPDE Berdasarkan Keberadaan Zona Bening**

Hasil seleksi isolat jamur pendegradasi LDPE ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Gambar 4.2). Pertumbuhan jamur dimulai pada hari ke 4, lebih lambat dibandingkan pertumbuhan pada media kaya nutrisi (PDA). Hari ke 5-6 telah terbentuk zona buram di sekitar koloni, kemudian hari ke-7 mulai terbentuk zona bening dari satu sisi dan perlahan menyebar ke sisi lainnya.

Terbentuknya zona bening disebabkan oleh aktivitas enzim hidrolisis ekstraseluler yang diekskresikan oleh mikroorganisme ke dalam media selektif MSM dengan tambahan bubuk LDPE sebagai sumber karbon tunggal. Menurut Deepika & Jaya (2015) pembentukan zona bening di sekitar koloni menunjukkan bahwa isolat jamur mampu menghasilkan enzim hidrolisis ekstraseluler yang berperan sebagai katalisator reaksi degradasi.



Gambar 4.2 Perbedaan penampakan zona bening dan karakter pertumbuhan yang berbeda dari dua isolat, inkubasi hari ke-sepuluh (A) Isolat AY4 tumbuh menyebar (B) Isolat AY3 tumbuh lambat dan berpusat di tengah media (A.1; A.2) Penampakan zona bening.

Diameter zona bening yang terbentuk antara 0,15–0,35 cm, zona yang dihasilkan tidak nampak jelas dikarenakan warna media MSM sangat bening. Zona bening terbentuk di semua isolat,

namun pertumbuhan beberapa isolat tidak optimal dan bahkan berhenti pada hari ke-8. Hal ini disebabkan karena media MSM merupakan media minim nutrisi, sehingga jamur akan memaksimalkan absorpsi karbon dari bubuk LDPE, lingkungan ini disebut kondisi ekstrim. Menurut Qadr & Abdulla (2018) jamur merupakan organisme yang mampu bertahan hidup dalam lingkungan ekstrim, namun pertumbuhan pada kondisi ekstrim tidak akan optimal. Jika dibandingkan dengan isolat jamur yang ditumbuhkan pada media PDA kaya nutrisi, jamur pada media MSM lebih lambat pertumbuhannya.

Isolat dinilai mampu mendegradasi LDPE dengan baik jika menunjukkan keberadaan zona bening di sekitar koloni, serta memiliki pertumbuhan koloni yang cepat dan menyebar pada media MSM (Deepika & Jaya, 2015). Menurut Esa *et al* (2014), karakter fisiologis mikroorganisme seperti kecepatan pertumbuhan dipengaruhi berbagai faktor seperti aerasi, ketersediaan air dan kelembaban, serta sifat substrat. Kadar air dan pemenuhan nutrisi merupakan faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur (Velmurugan *et al.*, 2011).

Tabel 4.1 Hasil seleksi isolat jamur pendegradasi LDPE berdasarkan keberadaan zona bening dan karakter pertumbuhan isolat, pengamatan hari ke-7, (+) menandakan keberadaan zona bening, (-) menandakan tidak terbentuk zona bening.

Isolat	Keberadaan Zona Bening	Karakter Pertumbuhan Isolat
AY1	+	Cepat dan menyebar
AY2	+	Cepat dan menyebar
AY3	+	Lambat dan terpusat di tengah media
AY4	+	Cepat dan menyebar
AY5	+	Lambat dan menyebar
AY6	+	Lambat dan terpusat di tengah media
AY7	+	Cepat dan menyebar
AY8	+	Sangat cepat dan menyebar

Berdasarkan keberadaan zona bening dan karakter pertumbuhan isolat (Tabel 4.1), diseleksi lima isolat yang memiliki karakter pertumbuhan yang cepat dan menyebar untuk dilakukan uji pengurangan berat kering. Pemilihan isolat dilihat dari keberadaan zona bening kemampuan tumbuh isolat pada media minim nutrisi yang ditambah LDPE sebagai satu-satunya sumber karbon yaitu isolat AY1, AY2, AY4, AY7, AY8.

#### 4.3 Hasil Uji Biodegradasi Metode Pengurangan Berat Kering

Hasil uji biodegradasi LDPE dengan metode pengurangan berat kering disajikan pada tabel 4.2. Berdasarkan hasil perhitungan persentase kehilangan berat kering lembar LDPE ditunjukkan bahwa jamur AY1 memiliki nilai paling tinggi yaitu 5,7 %. Jamur AY4 berada pada posisi kedua dengan persentase kehilangan berat kering lembar LDPE sebesar 2,07 %, kemudian jamur AY7 sebesar 1,6 %, jamur AY8 dan AY2 menunjukkan

persentase kehilangan berat kering yang rendah yaitu masing-masing 0,89 % dan 0,4 %.

Tabel 4.2 Hasil persentase kehilangan berat kering lembar LDPE

<b>Isolat</b>	<b>Berat awal (gram)</b>	<b>Berat akhir (gram)</b>	<b>Selisih berat (gram)</b>	<b>% kehilangan berat</b>
AY1	0,0246	0,0232	0,0014	<b>5,7 %</b>
AY2	0,0241	0,0240	0,0001	0,4 %
AY4	0,0241	0,0236	0,0005	2,07 %
AY7	0,0245	0,0241	0,0004	1,6 %
AY8	0,0233	0,0231	0,0002	0,89 %

Hasil presentase pengurangan berat kering lembar LDPE pada penelitian ini menunjukkan nilai yang rendah. Hal ini dipengaruhi oleh lama inkubasi dan beberapa faktor lain seperti konsentrasi bahan pencemar, biomassa, suhu, pH, ketersediaan nutrisi, ketersediaan substrat primer, terjadinya adaptasi, ketersediaan oksigen, dan kelembapan (Ahmed *et al.*, 2018).

Durasi inkubasi menjadi faktor utama dalam uji biodegradasi karena berhubungan dengan pertumbuhan jamur. Menurut Sen dan Raut (2015), pertumbuhan jamur dapat mempengaruhi berkurangnya berat kering yang lebih signifikan, semakin lama masa inkubasi maka jamur yang tumbuh juga semakin banyak, sehingga jamur yang menggunakan polimer LDPE sebagai sumber nutrisinya juga semakin banyak.

Durasi inkubasi dalam penelitian ini hanya 30 hari, sehingga persentase pengurangan berat kering LDPE juga rendah. Beberapa penelitian menunjukkan pengurangan berat kering pada masa inkubasi lebih dari 30 hari dan mendapatkan nilai persentase pengurangan berat kering yang lebih besar. Penelitian Muhonja *et*

*al.* (2018) mendapatkan hasil pengurangan berat kering lembar LDPE oleh jamur genus *Aspergillus* sp. sejumlah 35,4 % dalam masa inkubasi 120 hari. Penelitian lain dilakukan oleh Usha *et al.*, (2011) melakukan uji biodegradasi LDPE oleh jamur *Aspergillus flavus* dengan masa inkubasi selama 120 hari dan mendapatkan hasil pengurangan berat kering sebesar 20,96 %.

Perbedaan nilai pengurangan berat kering juga dipengaruhi oleh jenis spesies dan enzim yang dihasilkan. Menurut Chinaglia *et al.* (2018) enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroorganisme dalam proses biodegradasi akan mengikis permukaan polimer melalui proses hidrolisis sehingga berat polimer akan berkurang dan persentase kehilangan berat kering dapat meningkat seiring dengan bertambahnya masa inkubasi. Penjelasan lebih lanjut dalam penelitian Gajendiran *et al.* (2016), bahwa enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroba mampu menginduksi laju biodegradasi pada permukaan polimer sehingga menyebabkan proses erosi permukaan LDPE.

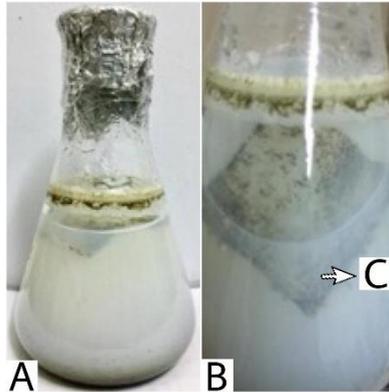
Produksi enzim ekstraseluler berperan penting dalam degradasi polimer melalui depolimerisasi menjadi subunit yang lebih kecil, kemudian secara enzimatik didegradasi lebih lanjut menjadi produk perantara yang dapat diasimilasi ke dalam sel mikroba dan digunakan sebagai sumber karbon pada produksi energi, air, karbon dioksida, metana dalam proses respirasi anaerobik (Muhonja *et al.*, 2018).

Jenis enzim spesifik yang dihasilkan tiap jenis jamur menentukan efektivitas proses biodegradasi. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa tiga isolat dengan kemampuan degradasi tertinggi merupakan jamur dari genus

Aspergillus, sedangkan dua lainnya yaitu AY2 dan AY7 merupakan jamur *Trichoderma* sp. dan *Rhizopus* sp.. Menurut Muhonja *et al.* (2018) Aspergillus mampu menghasilkan dua jenis enzim yang memegang peran penting dalam proses degradasi LDPE yaitu enzim lakase dan esterase.

Enzim lakase dapat membantu dalam oksidasi ikatan hidrokarbon dan mengkatalisis oksidasi senyawa aromatik pada LDPE, sedangkan enzim esterase mampu mengkatalisis pemutusan ikatan ester dari rantai pendek trigliserida atau rantai ester. Hal ini dibuktikan dengan adanya produk perantaran berupa ester pada media setelah dilakukan analisis GC-MS, selanjutnya ester dapat diasimilasi ke dalam sel mikroba sebagai bahan proses respirasi untuk menghasilkan energi (Muhonja *et al.*, 2018).

Proses degradasi LDPE diawali dengan penempelan isolat pada lembar LDPE mulai hari ke-6 (Gambar 4.3). Penempelan ini menandakan bahwa jamur memiliki kompatibilitas untuk memanfaatkan LDPE sebagai nutrisi. Menurut Karlsson *et al.* (2018) proses awal biodegradasi plastik oleh jamur adalah pembentukan biofilm pada permukaan plastik, pembentukan biofilm berpengaruh terhadap penurunan hidrofobisitas permukaan secara bertahap, sehingga pada tahap selanjutnya jamur dapat melakukan penetrasi hifa ke dalam rantai polimer.



Gambar 4.3 Biodegradasi LDPE (A) Media MSMB inkubasi hari ke-14 (B) Isolat menempel pada lembar LDPE (C) Lembar LDPE

Pengamatan juga dilakukan pada perubahan fisik lembar LDPE yang telah melalui proses biodegradasi, lembar LDPE menjadi lembek dan bergelombang. Perubahan fisik lembar LDPE menunjukkan bahwa telah terjadi penguraian rantai panjang LDPE menjadi rantai yang lebih sederhana seperti oligomer dan monomer dalam proses *cracking*, sehingga tekstur lembar LDPE yang semula kaku menjadi lembek (Gajendiran et al., 2016).

#### 4.4 Karakteristik Isolat Jamur Pendegradasi LDPE secara Makroskopis dan Mikroskopis

Hasil seleksi jamur yang memiliki potensi sebagai pendegradasi LDPE diidentifikasi secara morfologi. Diperoleh lima isolat untuk diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis (*Lampiran 4*), pemilihan isolat didasarkan pada keberadaan zona bening serta pertumbuhan yang optimal dalam media selektif.

##### 4.4.1 Isolat AY1

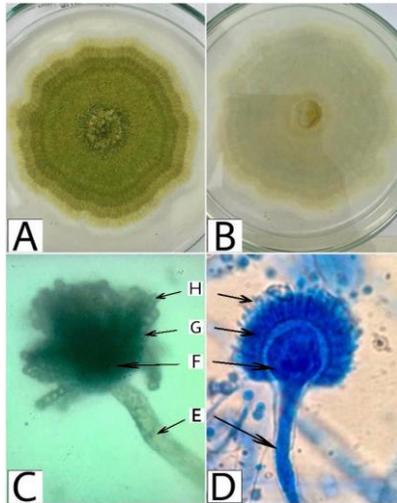
Hasil karakterisasi jamur AY1 secara morfologi disajikan pada tabel 4.3. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas memiliki tekstur seperti serbuk halus. Pertumbuhan isolat tergolong cepat, pada hari ke-7 isolat mampu tumbuh memenuhi cawan petri. Awal pertumbuhan miselium tampak berwarna putih, semakin lama miselium tumbuh menjadi kuning. Kemudian pada hari ke-tujuh miselium menunjukkan warna hijau dengan tepi putih dan membentuk cincin sporulasi. Permukaan bawah isolat berwarna putih kekuningan dan memiliki lingkaran konsentris (Gambar 4.4).

Tabel 4.3 Hasil karakterisasi morfologi isolat AY1

<b>Karakter</b>	<b>Isolat AY1</b>
Permukaan atas koloni	Tekstur seperti serbuk, kasar, berwarna hijau tua dengan tepi putih pada hari ke-tujuh.
Sisi balik	Putih kekuningan.
Ukuran	Menyebar
Lingkaran konsentris	Ada
Hifa	Bersekat, bercabang, berdinging tipis dan memanjang, menggembung di puncak membentuk vesikula bulat.
Konidia/ spora	Konidia phialosporous, hijau, bentuk bulat, tumbuh bergerombol pada vesikula
Dugaan isolat	Aspergillus

Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 1000x menunjukkan karakter hifa bersekat dan bercabang, memiliki dinding yang tebal dan memanjang, pada bagian ujung menggembung dan membentuk vesikel bulat. Pada vesikel tersebut terdapat batang yang pendek disebut sterigmata, tiap

anakan dari sterigmata menghasilkan spora berbentuk *globose* (Gambar 4.4C). Berdasarkan hasil karakterisasi dan kajian literatur diduga isolat AY1 merupakan kelompok jamur *Aspergillus* sp..



Gambar 4.4 Isolat AY I *Aspergillus* sp. (A) Morfologi permukaan atas (B) Morfologi permukaan bawah (C) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000X (D) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000X (E) Konidiofor (F) Vesikel (G) Fialid (H) Konidia (Debasi *et al.*, 2016).

Hasil karakterisasi makroskopis isolat AY1 sesuai dengan pengamatan Praja dan Aditya (2017), *Aspergillus flavus* memiliki permukaan atas seperti kapas yang halus sampai kasar, terkadang seperti granula, miselium berwarna hijau muda sampai hijau tua dengan tepi koloni berwarna putih yang merupakan miselium muda, permukaan bawah berwarna kekuningan dan memiliki lingkaran konsentris, memiliki sklerotia dan cairan eksudat bening pada beberapa isolat.

Pengamatan mikroskopis isolat AY1 sesuai dengan penelitian Debasi *et al.* (2016), *Aspergillus flavus* memiliki konidia tegak dan konidiofor udara, konidiofor bercabang dengan ujung membentuk fialida sebagai penghasil spora. Diperkuat oleh literatur dari Watanabe (2011) bahwa *Aspergillus flavus* memiliki konidiofor hialin yang sederhana dan berdinding tipis dengan tinggi antara 55–125  $\mu\text{m}$ , memiliki vesikel berukuran 12,5–16,3  $\mu\text{m}$ , memiliki *phialide* berdiameter 3,6–4,9  $\times$  2,5  $\mu\text{m}$ , kepala konidia berdiameter 175,1–243,3  $\times$  15–55  $\mu\text{m}$ , dan diameter konidia 2,4–2,7  $\mu\text{m}$ .

#### 4.4.2 Isolat AY2

Hasil karakterisasi jamur AY2 secara morfologi disajikan pada tabel 4.4. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis diketahui isolat AY2 memiliki permukaan bertekstur kasar seperti berserat, bagian tepi halus disebabkan umur miselium yang masih muda, mula-mula koloni muda berwarna putih, seiring waktu koloni menunjukkan spektrum warna dengan batas yang jelas, bagian tengah berwarna hijau tua, lalu hijau muda di lapisan selanjutnya, tepi koloni berwarna putih seperti kapas dengan batas warna yang jelas, pada koloni dewasa warna putih memudar dan digantikan warna hijau (Gambar 4.5). Warna permukaan bawah koloni putih kekuningan dan memiliki lingkaran konsentris, pertumbuhan koloni hari ke-6 berdiameter 8 cm.

Tabel 4.4 Hasil karakterisasi morfologi isolat AY2

Karakter	Isolat AY2
Permukaan atas koloni	Pertumbuhan awal berwarna putih, hari ke-5 menghijau, terlihat batas yang jelas

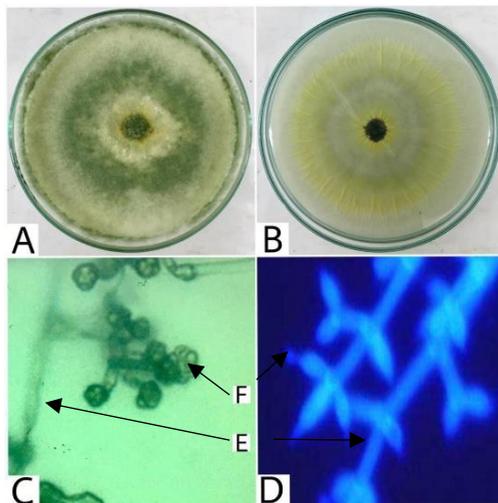
---

	antar warna. Tekstur seperti kapas dan kasar pada miselium hijau.
Sisi balik	Putih kekuningan.
Ukuran	8 cm pada hari ke-6
Lingkaran konsentris	Ada
Hifa	Tidak bersekat, bercabang, bewarna hijau, ada tangkai fialida pendek,
Konidia/ spora	Konidia berwarna kehijauan, bentuk <i>globuse</i> (bulat), tumbuh pada ujung dan ada juga konidium terbentuk secara bergerombol berwarna hijau pada permukaan konidiofornya.
Dugaan isolat	<i>Trichoderma</i>

---

Pengamatan mikroskopis isolat AY2 menunjukkan karakter hifa berwarna hijau, tangkai fialida pendek, konidiofor bercabang dan bersekat, ujung konidiofor terhubung dengan fialida pendek, fialida tersusun atas kelompok-kelompok yang berbeda, terdapat 2–3 fialida tiap kelompok, di ujung fialida terdapat konidia berbentuk bulat (*globuse*), konidium terbentuk secara bergerombol pada permukaan konidiofor.

Hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat AY2 secara makroskopis dan mikroskopis dicocokkan dengan buku identifikasi jamur oleh Watanabe (2011), hasil karakterisasi menunjukkan tingkat similaritas atau kedekatan dengan *Trichoderma harzianum*. *T. harzianum* memiliki miselium berwarna putih di awal pertumbuhan, kemudian warna berubah menjadi hijau ketika miselium tersebut dewasa dengan batas yang jelas antar warna.



Gambar 4.5 Isolat AY 2 *Trichoderma* sp. (A) Morfologi permukaan atas (B) Morfologi permukaan bawah (C) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000X (D) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000X (E) Konidiofor (F) Konidia (Sharma & Singh, 2014).

Karakter mikroskopis dari *Trichoderma* sp. adalah memiliki konidiofor hialin, tegak, bercabang, fialida pendek dan tebal, berkelompok, tiap kelompok berjumlah 2–3, terdapat konidia berbentuk bulat di ujung fialida. Ciri utama dari *Trichoderma* sp. menurut Suanda (2016) adalah adanya banyak percabangan konidiofor yang menyerupai piramid yaitu cabang yang lebih panjang dibawahnya, fialid tersusun pada kelompok-kelompok yang berbeda, terdapat 2-3 fialid per kelompok.

Lebih lanjut dalam buku Watanabe (2011), menjelaskan karakter mikroskopis dari *T. harzianum* yaitu memiliki dimensi tiap-tiap struktur hifa adalah tinggi konidiofor 60–110  $\mu\text{m}$ , fialida 7,2–

9,8 × 2,4–2,7 µm. Konidia bulat dengan diameter 2,1–3 µm. Diameter klamidospora 6,2–8,8 µm (Sharma & Singh, 2014; Sharma *et al.*, 2009; Watanabe, 2011).

#### 4.4.3 Isolat AY4

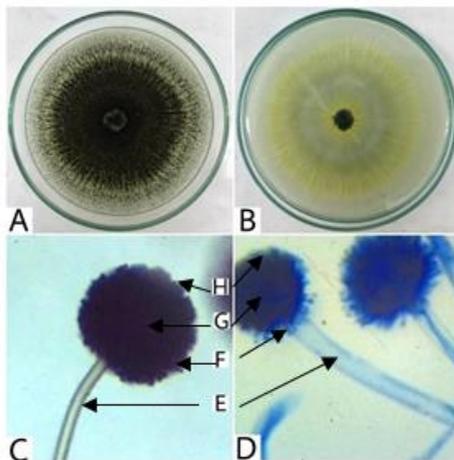
Hasil karakterisasi jamur AY4 secara morfologi disajikan pada (Tabel 4.5), berdasarkan hasil pengamatan makroskopis diketahui isolat AY4 bertekstur serbuk sehingga memiliki permukaan yang kasar, awal pertumbuhan miselium berwarna putih, hari ke-4 mulai menunjukkan perubahan warna menjadi coklat tua dan hari ke-7 miselium berwarna hitam dengan tepi putih. Ukuran koloni 8 cm pada hari ke-7. Permukaan bawah berwarna putih kekuningan dan memiliki lingkaran konsentris.

Tabel 4.5 Hasil karakterisasi morfologi isolat AY4

Karakter	Isolat AY4
Permukaan atas koloni	Tekstur serbuk, permukaan kasar, berwarna hitam dengan tepi putih pada hari ke-7, tepi koloni beraturan.
Sisi balik	Putih kekuningan.
Ukuran	8 cm pada hari ke-6
Lingkaran konsentris	Ada
Hifa	Bersekat, tidak bercabang, menggembung di puncak membentuk vesikula bulat.
Konidia/ spora	Konidia berbentuk bulat, berwarna hitam, tumbuh bergerombol pada vesikula
Dugaan isolat	Aspergillus

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat AY4 memiliki konidiofor yang sangat panjang, bersekat dan menggembung pada ujung membentuk vesikel berbentuk bulat

dan besar, memiliki fialida yang memenuhi seluruh permukaan vesikel. Memiliki konidia berbentuk bulat dan berwarna hitam kecoklatan (Gambar 4.6). Berdasarkan karakter yang diperoleh dan kajian literatur, diduga isolat AY4 merupakan jenis jamur *Aspergillus* sp..



Gambar 4.6 Isolat AY 4 *Aspergillus* sp. (A) Morfologi permukaan atas (B) Morfologi permukaan bawah (C) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000X (D) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000X (E) Konidiofor (F) Vesikel (G) Fialid (H) Konidia (Tawab *et al.*, 2020).

Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat AY4 yang menunjukkan dugaan isolat genus *Aspergillus* sesuai dengan pengamatan Tawab *et al* (2020), *Aspergillus niger* memiliki karakter permukaan atas berwarna hitam dengan tepi putih, permukaan bawah berwarna putih kekuningan, memiliki lingkaran konsentris, memiliki konidiofor panjang dan bercabang, terdapat

vesikel bulat di ujung konidiofor, konidia berbentuk bulat. Menurut Watanabe (2011) *A. niger* memiliki konidiofor hialin yang tegak dengan ukuran sekitar  $740 \mu\text{m} \times 10\text{--}14 \mu\text{m}$ , berdinding tebal, menggebung di ujung membentuk vesikula bulat berukuran  $55\text{--}75 \mu\text{m}$ , terdiri dari konidia *catenulate* berdiameter  $3,7\text{--}4,5 \mu\text{m}$  di atas fialida *niseriat* atau *biseriate*.

#### 4.4.4 Isolat AY7

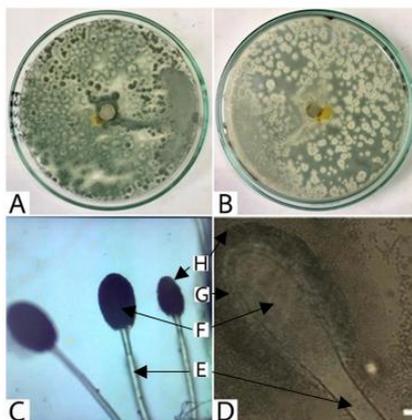
Hasil karakterisasi jamur AY7 secara morfologi disajikan pada (Tabel 4.6). Isolat AY7 tumbuh dengan cepat memenuhi cawan petri pada hari ke-7 (Gambar 4.7). Permukaan atas berwarna hijau abu-abu kebiruan dengan tekstur beludru (*velvety*). Pertumbuhan pada media PDA menghasilkan cairan eksudat berwarna kuning bening di permukaan atas. Permukaan bawah isolat berwarna putih kecoklatan dan memiliki lingkaran konsentris yang sulit diamati karena koloni tumbuh menyebar. Isolat AY7 tumbuh dengan sangat cepat sehingga seringkali menjadi kontaminan pada isolat lain, maka dibutuhkan kehati-hatian saat memindahkan isolat ke media baru.

Tabel 4.6 Hasil karakterisasi morfologi isolat AY7

Karakter	Isolat AY7
Permukaan koloni	atas Tekstur seperti serbuk, permukaan kasar, berwarna hijau abu-abu kebiruan dengan tepi putih, tepi koloni tidak beraturan. Menghasilkan cairan eksudat.
Sisi balik	Putih kekuningan
Ukuran	Menyebar
Lingkaran konsentris	Ada
Hifa	Bersekat dan bercabang

Karakter	Isolat AY7
Konidia/ spora	Konidia berbentuk bulat sampai bulat telur, tumbuh bergerombol pada vesikula
Dugaan isolat	Aspergillus

Pengamatan mikroskopis menunjukkan beberapa karakter khusus, isolat AY7 memiliki konidiofor hialin berdinding halus, panjang dan tidak berwarna, ujung konidiofor membentuk vesikula berukuran besar, berbentuk oval. Pada permukaan vesikel terdapat sterigmata yang sangat banyak sehingga vesikel terlihat pendek dan padat. Konidia bentuk memiliki kepala besar berbentuk oval sampai bulat, halus, memiliki ketebalan dinding yang berbeda, konidia pada ujung vesikel lebih tebal dari konidia di dasar vesikel karena masih muda, karakter ini disebut *clavated*.



Gambar 4.7 Isolat AY 7 *Aspergillus* sp. (A) Morfologi permukaan atas (B) Morfologi permukaan bawah (C) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000X (D) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000X (E) Konidiofor (F) Vesikel (G) Fialid (H) Konidia (Tawab *et al.*, 2020)

Berdasarkan karakter yang diamati, isolat AY7 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Aspergillus*. Menurut Nyongesa *et al.* (2015) secara makroskopis, *Aspergillus clavatus* memiliki karakter khusus yaitu menghasilkan cairan bening di sisi atas yang disebut eksudat. Permukaan atas miselium seperti beludru, berwarna hijau abu-abu kebiruan dan tumbuh sangat cepat, pada hari ke-7 spesies ini mampu mencapai diameter 8 cm, kecepatan tumbuh dipengaruhi oleh kemampuan beradaptasi yang baik pada berbagai kondisi lingkungan. *A. clavatus* mampu tumbuh dalam suhu minimum hingga 5 °C dan maksimum 42 °C (Zulkifli & Zakaria, 2017).

*Aspergillus clavatus* memiliki konidiofor berdinding halus dengan panjang 1,5–3 mm dan diameter 20–30 µm, konidiofor tidak berwarna pada beberapa bagian dan berwarna cokelat kehijauan di bagian yang lain, memiliki vesikula yang membesar dengan panjang 200–250 µm dan lebar 40–60 µm, konidia berukuran 3,0–4,5 x 2,5–3,5 µm, konidia terhubung dengan konidiofor oleh sterigmata (Tawab *et al.*, 2020; Watanabe, 2011).

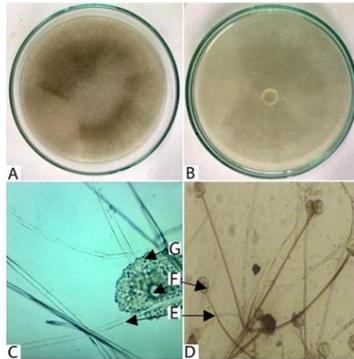
#### **4.4.5 Isolat AY8**

Hasil karakterisasi jamur AY8 secara morfologi disajikan pada (Tabel 4.7), berdasarkan hasil pengamatan makroskopis (Gambar 4.8) diketahui isolat AY4 memiliki tekstur permukaan atas seperti serabut halus. Koloni tumbuh sangat cepat, awal pertumbuhan berwarna putih kemudian menjadi abu-abu sampai coklat dengan sporulasi. Permukaan bawah berwarna putih kekuningan.

Tabel 4.7 Hasil karakterisasi morfologi isolat AY8

Karakter	Isolat AY8
Permukaan atas koloni	Tesktur seperti serabut halus. Koloni tumbuh cepat, awal pertumbuhan berwarna putih kemudian menjadi abu-abu atau coklat dengan sporulasi.
Sisi balik	Putih kekuningan
Ukuran	8 cm pada hari ke-6
Lingkar konsentris	Tidak ada
Hifa	Bercabang, tidak bersekat, sporangiofor hialin sangat panjang. Sporangia didukung oleh kolumela <i>apophysate</i> besar di atas sporangiofor
Konidia/ spora	Sporangia berbentuk bulat, berwarna hitam kecoklatan
Dugaan isolat	Rhizopus

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa jamur AY4 dicirikan dengan adanya dua macam miselium yaitu miselium yang tertanam seperti serabut dalam media disebut rhizoid dan miselium yang tumbuh menyamping sebagai stolon, memiliki sporangiofor sangat panjang dan bercabang. Ujung sporangiofor memiliki kolumela berbentuk bulat, tempat sporangiospora menempel. Spora berbentuk bulat telur dan bergerombol.



Gambar 4.8 Isolat AY 8 *Rhizopus* sp. (A) Morfologi permukaan atas (B) Morfologi permukaan bawah (C) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000 (D) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000 (E) Sporangiofor (F) Kolumela (G) Spora (Hartanti *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan karakter morfologi isolat AY8 secara makroskopis dan mikroskopis dicocokkan dengan buku identifikasi jamur oleh Watanabe (2011), hasil karakterisasi menunjukkan tingkat similaritas atau kedekatan jamur dengan genus *Rhizopus*. Menurut Sine & Soetarto (2018) secara makroskopis koloni *Rhizopus* berwarna keputihan di awal pertumbuhan kemudian menjadi kecoklatan dengan bertambahnya usia koloni, terdapat hifa aerial mencapai tinggi kurang lebih 10 mm. Menurut Dolatabadi *et al.* (2014) kelompok *Rhizopus* tumbuh sebagai hifa bercabang dan berserabut yang umumnya tidak memiliki sekat, disebut sebagai hifa koenositik.

Karakter mikroskopis *Rhizopus* menunjukkan rhizoid pendek, berinding halus sampai agak kasar, panjang hingga 1000  $\mu\text{m}$  dan berdiameter 10–18  $\mu\text{m}$ . sporangia berbentuk bulat, berwarna hitam

kecoklatan pada saat dewasa dan berdiameter 100–180  $\mu\text{m}$ , memiliki kolumela berbentuk bulat hingga semi bulat dengan bentuk apofise, menyerupai corong. Sporangiaspora berbentuk bulat, elips, atau tidak teratur, memiliki panjang 7–10  $\mu\text{m}$  (Sine & Soetarto, 2018).

#### 4.5 Hasil Identifikasi Molekuler Isolat

Satu isolat terpilih (AY1) memiliki kemampuan biodegradasi LDPE tertinggi yaitu 5,7 % dalam kurun waktu inkubasi 30 hari. Berdasarkan karakterisasi secara morfologi diduga bahwa isolat AY1 merupakan kelompok jamur dari genus *Aspergillus*, maka untuk mengetahui jenis isolat pada tingkat spesies perlu dilakukan identifikasi secara molekuler dengan menganalisis urutan DNA. Menurut Fatih (2009) DNA merupakan serangkaian materi genetik yang membawa sifat herediter atau sifat turun temurun pada makhluk hidup sehingga identifikasi molekuler akan memberi hasil akurat dalam proses identifikasi.

Allah SWT. berfirman dalam surat Al-furqaan ayat 2:

كُلٌّ وَخَلَقَ الْمَلَكُ فِي شِرْبِكُمْ لَهُ. يَكُنْ وَمَ وَلَدًا يَتَّخِذُ وَمَ وَالْأَرْضِ السَّمُوتِ مُلْكُ لَهُ. الْذِي  
تَقْدِيرًا فَقَدَرُهُ. شَيْءٌ

*Artinya: “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan-Nya, dan dia telah menciptakan segala sesuatu dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.” (Q.S Al-furqaan:2).*

Tafsir Al-Mishbah volume 9 menjelaskan bahwa ilmu pengetahuan modern menyatakan bahwa semua makhluk

memiliki sisi kejadian dan perkembangan yang berbeda. Semua kejadian berjalan sesuai dengan sistem yang sangat teliti dan bersifat konstan. Dari sisi kejadiannya, sudah jelas bahwa semua makhluk terlepas dari perbedaan jenis dan bentuknya terdiri atas kesatuan unsur-unsur yang sangat terbatas jumlahnya. Sedangkan dalam tahapan perkembangannya, sifat-sifatnya berkembang dari makhluk hidup bersel satu, seperti mikroba, sampai kepada makhluk hidup yang bersel banyak, seperti manusia yang dapat dikatakan paling sempurna (Shihab, 2012).

Kejadian penciptaan makhluk hidup dengan komposisi DNA yang sangat presisi dan susunan yang terstruktur menjadi pusat informasi yang membedakan antara satu individu dengan yang lain. Tafsir Al-Mishbah juga menjelaskan bahwa setiap jenis memiliki sifat-sifat tertentu yang diwarisi dari generasi ke generasi. Semua itu berjalan menurut hukum dan aturan yang bersifat konstan dan teliti yang menggambarkan secara jelas kebesaran dan kekuasaan Allah subhanahu wa ta'ala. Hal ini berkolerasi dengan adanya daerah ITS sebagai gen penanda universal dalam mengidentifikasi jamur. Daerah ITS dimiliki oleh setiap jamur namun memiliki variasi genetik yang tinggi. Variasi genetik ini dapat membedakan antara spesies satu dengan yang lain dalam satu genus. Maha suci Allah dari apa yang mereka persekutukan (Shihab, 2012).

Keberhasilan identifikasi molekuler ditentukan oleh kemurnian DNA melalui uji kuantitas dan kualitas DNA (*Lampiran 5*). Hasil uji kuantitatif DNA jamur AY1 menggunakan nanodrop menunjukkan nilai absorbansi A260/A280 sebesar 1,83 yang berarti secara kuantitatif DNA jamur AY1 memiliki kemurnian yang tinggi.

Sambrook (2006) menjelaskan bahwa rasio nilai kemurnian DNA pada absorbansi A260/A280 adalah 1.8–2.0. Uji kualitatif DNA genom isolat AY1 menunjukkan adanya *smear* pada saat divisualisasikan dengan *gel doc*. Menurut Skutkova (2013), *smear* yang timbul dari hasil elektroforesis DNA genom disebabkan adanya presipitasi protein hasil isolasi DNA.

DNA hasil isolasi diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer ITS1 (*forward*) dan ITS4 (*reverse*). Hasil PCR divisualisasikan menggunakan *Gel Doc* dan diperoleh ukuran pita sekitar 600 bp, berada diantara pita 500 bp dan 750 bp. Menurut Alshehri & Palanisamy (2020) daerah ITS pada kingdom jamur dari kelompok Ascomycetes dan Basidiomycetes memiliki panjang sekitar 500-600 bp, sedangkan menurut White *et al.* (1990) daerah ITS1-ITS2 pada jamur memiliki panjang sekuen 563-602 bp.

Hasil sekuensing yang diperoleh dari *Bioneer* dianalisis dengan data serupa yang tersedia di *gen bank* menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). BLAST merupakan program analisa penyejajaran untuk mengetahui kemiripan dua sekuen atau lebih (Sogandi, 2018). Hasil analisis BLAST memberi data berupa grafik yang menunjukkan tingkat homologi kedua sekuen. Hasil analisis penelitian ini menunjukkan warna merah dan memiliki nilai >200 (*Lampiran 7*). Hal ini menandakan bahwa dua sekuen yang dibandingkan sama dan memiliki hubungan evolusi yang erat (Sogandi, 2018).

Program BLAST juga memberi informasi berupa *Max score*, *Query coverage*, *E-value* dan *Maximum identity*. Berdasarkan data hasil BLAST pada tabel 4.8 diketahui bahwa skor tertinggi adalah

*A. flavus*, hal ini menunjukkan bahwa nukleotida isolat AY1 memiliki homogenitas yang paling mirip dengan sekuen yang dicari. Nilai *query coverage* tertinggi juga dimiliki oleh *A. flavus* dengan nilai mencapai 100%. Menurut Sogandi (2018), *Query coverage* adalah persentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST.

Tabel 4.8 Hasil analisis penyejajaran BLAST untuk nilai lima tertinggi antara isolat AY1 dengan data *gen bank*

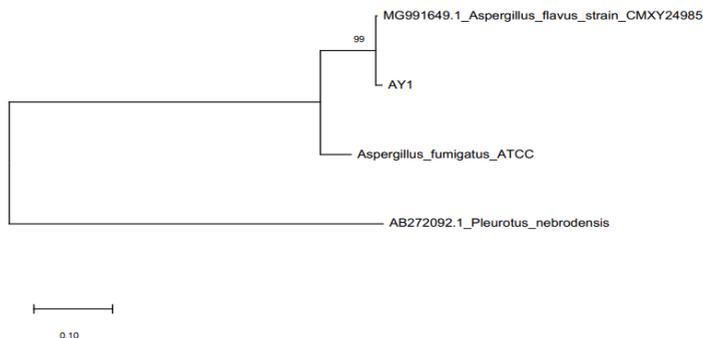
No	Jenis Isolat	Query coverage	Percent identity
1	<i>Aspergillus flavus</i> isolate En14	100%	98,14%
2	<i>Aspergillus flavus</i> isolate En12	100%	98,14%
3	<i>Aspergillus flavus</i> strain A12R	100%	98,14%
4	<i>Aspergillus flavus</i> strain A872	100%	98,14%
5	<i>Aspergillus flavus</i> strain HBUM07183	100%	98,14%

Informasi lain yang diperoleh dari hasil analisis penyejajaran BLAST adalah nilai *max identity*, isolat AY1 memiliki tingkat kemiripan 98,14 % dengan spesies *A. flavus*. Menurut Sogandi (2018) nilai *max identity* merupakan nilai tertinggi dari persentase identitas atau kecocokan antara sekuen *query* dengan sekuen database yang disejajarkan. Nilai *max identity* diatas 97 % menandakan bahwa isolat memiliki tingkat homologi yang tinggi dan merupakan spesies yang sama (Kwasna, 2008).

Hasil BLAST sekuen kemudian dilakukan analisis *p-distance* dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA 10. Menurut Yuniarti & Rinanti (2017) analisis *p-distance* dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik dari basa-basa nukleotidanya, semakin kecil jarak genetik

maka semakin besar similaritas antara sampel dengan masing-masing individu yang menjadi spesies pembanding. Rekonstruksi pohon filogenetik bertujuan untuk mengetahui hubungan antar organisme dengan tepat serta mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya (Sogandi, 2018). Sekuen dilakukan penyejajaran dengan metode *ClustalW multiple alignment* sebelum dilakukan analisis jarak genetik dan filogenetik (*Lampiran 8*).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat AY1 berada dalam cabang yang sama dengan *A. flavus* (Gambar 4.9). Hasil analisis *p-distance* juga menunjukkan jarak genetik sebesar 0,0105 sehingga isolat AY1 memiliki kemiripan yang tinggi dengan *A. flavus* (*Lampiran 9*). Diperkuat dengan data hasil BLAST yang menunjukkan nilai homologi >200, grafik berwarna merah, nilai *Query coverage* 100 %, dan nilai *max identity* 98,14 %, dapat disimpulkan bahwa isola AY1 dengan *A. flavus* memiliki kemiripan identik dan merupakan spesies yang sama.



Gambar 4.9 Rekonstruksi pohon filogenetik isolat AY1 metode *Neighbor Joining*, *bootstrap* 1000 pengulangan berdasarkan nilai *p-distance* basa-basa nukleotida rDNA ITS.

Kestabilan cabang pohon filogenetik dapat dievaluasi berdasarkan nilai *bootstrap*, percabangan yang stabil berarti hasil akurat dan pohon filogenetik tidak akan berubah. Konstruksi pohon dikatakan stabil jika nilai *bootstrap* di atas 90%, sedangkan nilai *bootstrap* dikatakan rendah jika kurang dari 70% (Osawa 2004). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik penelitian ini menunjukkan nilai 99% yang berarti percabangan dikategorikan stabil dan pohon filogenetik tidak akan berubah. Metode yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik adalah metode *Neighbor joining* (NJ). Menurut (Alshehri & Palanisamy, 2020) kombinasi antara metode *Neighbor joining* (NJ) dengan analisis *bootstrap* menjadi metode terbaik dalam mengevaluasi hubungan kekerabatan berbasis jarak.

*Aspergillus flavus* diketahui telah banyak dimanfaatkan oleh berbagai penelitian sebagai agen pendegradasi LDPE. *A. flavus* mengeluarkan enzim ekstraseluler yang digunakan untuk mendegradasi LDPE menjadi senyawa karbon sederhana yang dapat digunakan sebagai sumber energi. Penelitian Iiyoshi *et al.* (2014) menunjukkan bahwa *A. flavus* memiliki kemampuan untuk mendegradasi LDPE sebesar 8,06% dari berat kering LDPE dalam kurun waktu inkubasi 2 bulan, sedangkan inkubasi selama 6 bulan menunjukkan isolat mampu mendegradasi LDPE sebesar 20,9%. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Deepika & Jaya (2015), hasil penelitian menunjukkan bahwa *A. flavus* memiliki kemampuan untuk mendegradasi LDPE sebesar 5,69% dari berat kering LDPE dalam kurun waktu inkubasi 2 bulan.

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam proses bioremediasi yang bertujuan untuk menyelamatkan alam dari

penumpukan sampah plastik. Melakukan penelitian adalah sebuah implementasi amal kebaikan karena memberi dampak kebaikan bagi lingkungan. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT. dalam surat An Nahl ayat 97:

مَا بِأَحْسَنَ أَجْرِهِمْ وَلَنَجْزِيَنَّهُمْ أَطْيَبًا حَيَوَةً فَلَنُحْيِيَنَّهُ مُؤْمِنًا وَهُوَ أَنتَنِي أَوْ ذَكَرٍ مِّنْ صَالِحَاتِنَا عَمَلٍ مِّنْ يَعْمَلُونَ كَانُوا

*Artinya: "Barangsiapa mengerjakan kebaikan, baik laki-laki maupun perempuan, dalam keadaan iman, maka pasti akan Kami berikan kepadanya kehidupan yang baik dan Kami beri balasan dengan pahala yang lebih baik dari apa yang telah mereka kerjakan." (QS. An-Nahl: 97)*

Tafsir Tematik oleh Kementerian Agama menjelaskan bahwa dalam ayat di atas Allah berjanji benar-benar akan memberikan kehidupan yang bahagia dan sejahtera di dunia kepada hamba-Nya, baik laki-laki maupun perempuan yang mengerjakan amal saleh. Lebih lanjut dijelaskan bahwa yang dimaksud amal sholeh adalah segala amal yang sesuai petunjuk Al-Qur'an dan sunnah Rasul yang dilakukan dengan hati penuh keimanan (Kemenag, 2014). Suatu aktivitas meneliti fenomena alam yang dapat memberi dampak baik bagi lingkungan menjadi salah satu contoh amal sholeh. Manusia sebagai makhluk yang dianugerahi akal hendaknya terus menebar kebaikan dan berusaha untuk memperbaiki kerusakan alam yang telah disebabkan oleh manusia itu sendiri. Maka dari itu aktivitas tersebut akan tergolong sebagai amal sholeh. Maha suci Allah dengan segala firman-Nya.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian yang dilakukan menunjukkan kemampuan biodegradasi dari lima isolat jamur yang diisolasi dari tanah TPA Supit Urang, dari lima isolat terpilih didapat satu isolat dengan kemampuan biodegradasi paling tinggi yaitu isolat AY1. Pengurangan berat kering lembar LDPE oleh isolat AY1 sebesar 5,7% dalam kurun waktu inkubasi 30 hari.
2. Karakterisasi secara morfologi menunjukkan bahwa isolat AY1 termasuk dalam kelompok genus *Aspergillus*, ciri utama dari kelompok ini adalah memiliki hifa bersekat, bercabang, berdinding tipis dan memanjang, serta menggembung di puncak membentuk vesikula bulat. Hasil identifikasi molekuler, menunjukkan bahwa isolat AY1 memiliki kemiripan identik dengan *Aspergillus flavus*.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian lebih lanjut adalah:

1. Penelitian ini telah melakukan uji biodegradasi LDPE berdasarkan pengurangan berat kering dengan masa inkubasi 30 hari, untuk penelitian lebih lanjut dapat dilakukan evaluasi terkait enzim yang berperan dalam proses biodegradasi LDPE.
2. Kemampuan isolat AY1 dalam mendegradasi LDPE masih tergolong rendah dan perlu optimalisasi untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Salah satu cara untuk

mengoptimalkan proses biodegradasi adalah dengan membuat konsorsium jamur. Konsorsium mikroba akan bekerja secara multidisiplin pada substrat yang kompleks seperti polimer jenis polietilen, hal ini dapat meningkatkan laju degradasi dengan mengurai polimer menjadi monomer sederhana yang berbeda. Oleh karena itu, pembuatan konsorsium mikroorganisme dalam proses biodegradasi LDPE juga menjadi saran untuk penelitian lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahsan, A., Ashraf, M., Ali, S., Aslam, R., & Zubair, M. 2016. Isolation and Screening of Polyethylene Degrading Fungi from Solid Waste Material Isolation and Screening of Polyethylene Degrading Fungi from Solid Waste Material. *JABS*. 1: 1–7.
- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., Muhammad, S. 2018. Biodegradation of Plastics: Current Scenario and Future Prospects for Environmental Safety. *ESPR*. 25(8): 7287–7298. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1234-9>
- Almarhoon, Z. M., Al-Onazi, W. A., Alothman, A. A., Al-Mohaimed, A. M., & Al-Farraj, E. S. 2019. Synthesis, DNA Binding, and Molecular Docking Studies of Dimethylaminobenzaldehyde-based Bioactive Schiff Bases. *J. Chem.* 2019: 1-14. <https://doi.org/10.1155/2019/8152721>
- Alshehri, B., & Palanisamy, M. 2020. Evaluation of Molecular Identification of *Aspergillus* Species Causing Fungal Keratitis. *Saudi J. Biol. Sci.* 27(2), 751–756. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.030>
- Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. 2018. Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. *Jordan J. Biol. Sci.* 11(3): 329–337.
- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., & Uppara, P. V. 2008. Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene. *Indian J. Biotechnol.* 7(1): 9–22.
- Awasthi, S., Srivastava, N., Singh, T., Tiwary, D., & Mishra, P. K. 2017. Biodegradation of Thermally Treated Low Density Polyethylene by Fungus *Rhizopus oryzae* NS 5. *3 Biotech.* 7(1). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0699-4>
- Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI. 2014. **Tafsir Al-Qur'an Tematik Edisi Revisi**. Jakarta. Pustaka Kamil.

- Bechem, E. T., & Afanga, Y. A. 2018. Morphological and Molecular Identification of Fungi Associated with Corm Rot and Blight Symptoms on Plantain (*Musa paradisiaca*) in Macro-propagators. *IJBCS*. 11(6): 2793. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i6.19>
- Chinaglia, S., Tosin, M., & Degli-Innocenti, F. 2018. Biodegradation Rate of Biodegradable Plastics at Molecular Level. *Elsevier*. 147 (2017): 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.12.011>
- Das, M. P., & Kumar, S. 2014. Microbial Deterioration of Low Density Polyethylene by *Aspergillus* and *Fusarium*. *Int. J. Chemtech Res.* 6(1): 299–305.
- Deacon, J. W. 2006. **Fungal Biology 4th Edition**. Blackwell Publishing (4th ed.). <https://doi.org/10.1146/annurev.en.11.010166.002231>
- Debasi, T., Al Bekairy, A. M., Alkatheri, A. M., Al-Ferayan, Y. A., Al-Fakhri, A. S., & Alenazi, T. 2016. A Successfully Treated Case of *Aspergillus Flavus* Fungal Keratitis Caused by Stale Bread Corneal Injury Tariq. *Am. J. Med. Case Rep.* 4(1): 5–7. <https://doi.org/10.12691/ajmcr-4-1-2>
- Deepika, S., & R, J. M. 2015. Biodegradation of Low Density Polyethylene by Microorganisms from Garbage Soil. *J. EXP. BIOL.* 3(1): 15–21.
- Dolatabadi, S., Walther, G., Gerrits Van Den Ende, A. H. G., & De Hoog, G. S. 2014. Diversity and Delimitation of *Rhizopus microsporus*. *Fungal Divers.* 64(1): 145–163. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0229-6>
- Doyle., J.J. & Doyle J.L. 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin.* 19:11-15.
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. **Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis**. Jakarta. Penerbit Erlangga.
- Fellbaum, C. R., Mensah, J. A., Pfeffer, P. E., Toby Kiers, E., &

- Bücking, H. 2012. The role of carbon in fungal nutrient uptake and transport: Implications for resource exchange in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Signal Behav.* 7(11). <https://doi.org/10.4161/psb.22015>
- Gajendiran, A., Krishnamoorthy, S., & Abraham, J. 2016. Microbial Degradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* Strain JASK1 Isolated from Landfill Soil. *3 Biotech.* 6(1): 1–6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0394-x>
- Garibyan, L., & Avashia, N. 2013. Polymerase Chain Reaction. *J. Invest. Dermatol.* 133(3): 1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Gandjar, I., Robert A. S., Karin V. D. Ariyanti O., Iman S. 1999. **Pengenalan Kapang Tropik Umum.** Jakarta. Yayasan Obor Indonesia.
- Gewert, B., Plassmann, M. M., & Macleod, M. 2015. Pathways for Degradation of Plastic Polymers Floating in the Marine Environment. *Environ. Sci. Process. Impacts.* 17(9): 1513–1521. <https://doi.org/10.1039/c5em00207a>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. 2017. Production, Use, and Fate of All Plastics Ever Made. *Sc. Adv.* 3(7): 25–29. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Hartanti, A. T., Rahayu, G., & Hidayat, I. 2015. Rhizopus Species from Fresh Tempeh Collected from Several Regions in Indonesia. *Hayati.* 22(3): 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.004>
- Huang, X., Duan, N., Xu, H., Xie, T. N., Xue, Y. R., & Liu, C. H. 2019. Erratum: “CTAB-PEG DNA Extraction from Fungi with High Contents of Polysaccharides.” *Mol. Biol.* 53(4): 624. <https://doi.org/10.1134/S0026893319080016>
- Iiyoshi, Y., Tsutsumi, Y., Nishida, T., Chandra, R., Rustgi, R. 2014. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences Biodegradation of Low Density Polyethylene by Micro- Organisms from Garbage Soil. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(2): 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014>

- Karlsson, T. M., Hassellöv, M., & Jakubowicz, I. 2018. Influence of Thermooxidative Degradation on The In Situ Fate of Polyethylene in Temperate Coastal Waters. *Mar. Pollut. Bul.* 135: 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.015>
- Khan, S., Nadir, S., Shah, Z. U., Shah, A. A., Karunarathna, S. C., Xu, Hasan, F. 2017. Biodegradation of Polyester Polyurethane by *Aspergillus tubingensis*. *Environ. Pollut.* 225: 469–480. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.012>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35(6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kumar Sen, S., & Raut, S. 2015. Microbial Degradation of Low Density Polyethylene (LDPE): A Review. *J. Environ. Chem. Eng.* 3(1): 462–473. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.003>
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Jove-J. Vis. Exp.* 62: 1–5. <https://doi.org/10.3791/3923>
- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M. 2018. Biodegradability of Polyethylene by Bacteria and Fungi from Dandora Dumpsite Nairobi-Kenya. *PLoS One.* 13(7): 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Mulyatni, A. S., Priyatmojo, A., & Purwantara, A. 2011. Sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA ribosomal *Oncobasidium theobromae* dan Jamur Sekerabat Pemandang. 79(1). 1–5.
- Mulyawati, C., Salmawati, S., Subianto, M., & Wafdan, R. 2017. Molecular Identification of *Shorea johorensis* in Ketambe Research Station, Gunung Leuser National Park. *Jurnal Natural.* 17(2): 69. <https://doi.org/10.24815/jn.v0i0.7032>

- Nyström, B., Kjørniksen, A. L., Beheshti, N., Zhu, K., & Knudsen, K. 2009. Rheological and Structural Aspects on Association of Hydrophobically Modified Polysaccharides. *Soft Matter*. 5(7): 1328–1339. <https://doi.org/10.1039/b817349d>
- Nyongesa, B. W., Okoth, S., & Ayugi, V. 2015. Identification Key for *Aspergillus* Species Isolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya. *Adv. Appl. Microbiol.* 05(04): 205–229. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.54020>
- Ogah, A. O., & Afiukwa, J. 2012. The Effects Of Linear Low-Density Polyethylene (LLDPE) on the Mechanical Properties of High-Density Polyethylene (HDPE) Film Blends. *IJEMS*. 3(2): 85–90.
- PlasticsEurope. 2017. *Plastics – the Facts 2017*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.015>
- Prabha, T. R., Revathi, K., Vinod, M. S., Shanthakumar, S. P., & Bernard, P. 2013. A simple Method for Total Genomic DNA Extraction from Water Moulds. *Curr. Sci.* 104(3): 345–347.
- Qadr, N., & Abdulla, F. 2018. The Some Physiological and Nutritional Factors that affect the growth of Some Fungi. *ZJPAS*. 30(5). <https://doi.org/10.21271/zjpas.30.5.16>
- Raaman, N., Rajitha, N., Jayshree, a, & Jegadeesh, R. 2012. Biodegradation of Plastic by *Aspergillus* spp. Isolated from Polythene Polluted Sites Around Chennai. *JAIR*. 1(6): 313-316.
- Raihan, A., Rahman, A., & Mohammad, A. S. 2016. Genomic DNA Extraction Method from *Trichoderma* Spp. Colonies without The Use of Phenol. *IJIR*. 2(4): 2454–1362.
- Rampersad, S. N. 2014. ITS1, 5.8S And ITS2 Secondary Structure Modelling for Intra-Specific Differentiation among Species of The *Colletotrichum gloeosporioides* Sensu Lato Species Complex. *Springerplus*. 3(1): 1–10. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-684>
- Rosana, Y., Tetsuhiro Matsuzawa, Tohru Gonoï & Anis

- Karuniawati. 2014. Modified Slide Culture Method for Faster and Easier Identification of Dermatophytes. *Microbiol Indones.* 8(3): 135-139.
- Sangale, M. K. 2012. A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach. *J. Bioremediat. Biodegrad.* 03(10). <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000164>
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. 2008. Biological Degradation of Plastics: A Comprehensive Review. *Biotechnol. Adv.* 26(3): 246–265.
- Sharma, K. K., & Singh, U. S. 2014. Cultural and Morphological Characterization of Rhizospheric Isolates of Fungal Antagonist Trichoderma. *J. Nat. Appl. Sci.* 6(2): 451–456. <https://doi.org/10.31018/jans.v6i2.481>
- Sharma, K., Mishra, A. K., & Misra, R. S. 2009. Morphological, Biochemical and Molecular Characterization of Trichoderma harzianum Isolates for their Efficacy as Biocontrol Agents Kamal. *Phytopathology.* 157(1): 51–56. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01451.x>
- Shihab, M. Quraish. 2012. **Tafsir al-Mishbah Volume 9.** Jakarta. Lentera Hati.
- Sine, Y., & Soetarto, E. S. 2018. Isolasi dan Identifikasi Kapang Rhizopus pada Tempe Gude (Cajanus cajan L.). *Savana Cendana.* 3(04): 67–68. <https://doi.org/10.32938/sc.v3i04.487>
- Singh, J., & Gupta, K. C. 2014. Screening and Identification of Low density Polyethylene ( LDPE) Degrading Soil Fungi Isolated from Polythene Polluted Sites around Gwalior city ( M. P.). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3(6): 443–448.
- Sogandi, S. 2018. **Biologi Molekuler Identifikasi Bakteri Secara Molekuler.** Jakarta Utara: Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
- Sowmya H.V., Ramalingappa, Krishnappa, & Tippeswamy B. 2014. Low Density Polyethylene Degrading Fungi Isolated from Local Dumpsite of Shivamogga District. *Int.*

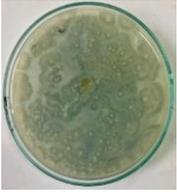
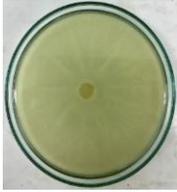
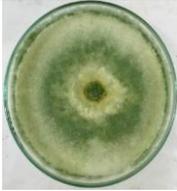
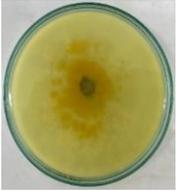
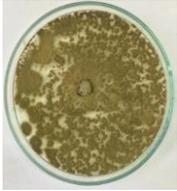
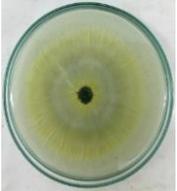
*J. Biol. Res.* 2(2): 39–43.  
<https://doi.org/10.14419/ijbr.v2i2.2877>

- Suchowersky, O. 2013. BioEdit: An important Software for Molecular Biology. *Can. J. Neurol. Sci.* 40(1): 1–2.  
<https://doi.org/10.1017/S0317167100012865>
- Tawab, A., Elhofy, F., Moustafa Moustafa, E., & Halawa, M. 2020. Isolation and Molecular Identification of *Aspergillus* Species from Cultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *BVMJ.* 38(2),136–140.  
<https://doi.org/10.21608/bvmj.2020.27514.1198>
- Thilagavathi, S., Gomathi, V., & Kumar, K. 2018. An Approach to Low Density Polyethylene (LDPE) Biodegradation by *Xylaria* sp. from Termite Garden. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 7(2): 2408–2411.
- Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U., & Aiba, S. 2009. Biodegradability of Plastics. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 3722–3742. <https://doi.org/10.3390/ijms10093722>
- Umesha, S., Manukumar, H. M., & Raghava, S. 2016. A Rapid Method for Isolation of Genomic DNA from Food-Borne Fungal Pathogens. *3 Biotech.* 6(2).  
<https://doi.org/10.1007/s13205-016-0436-4>
- Verma, R., Vinoda, K. S., Papireddy, M., & Gowda, A. N. S. 2016. Toxic Pollutants from Plastic Waste- A Review. *Procedia Environ. Sci.* 35: 701–708.  
<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.069>
- Watanabe, Tsuneo. 2002. **Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 2th Edition.** New Yok. CRC Press.
- Woerden, F. Van, Nygard, J., & Sanchez-Triana, E. 2018. Hotspot Sampah Laut Indonesia. *Laporan Sintesis.* (April): 1–3.
- Yousif, E., & Haddad, R. 2013. Photodegradation and Photostabilization of Polymers, Especially Polystyrene: Review. *SpringerPlus.* 2(1): 1–32.  
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>

- Yuniarti, H., S, Bambang Cholis, & Rinanti, A. 2016. Diagram Filogenik Hasil Sekuens Basa Dna Menggunakan Program Mega-7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis). *Penelitian Dan Karya Ilmiah*. 1(2): 109–117. <https://doi.org/10.25105/pdk.v1i2.1457>
- Zulkifli, N. A., & Zakaria, L. 2017. Morphological and Molecular Diversity of *Aspergillus* from Corn Grain Used as Livestock Feed. *Hayati*.24(1):26–34. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.05.002>

### Lampiran 1. Hasil Pemurnian isolat jamur

Hasil isolasi jamur dari TPA Supit Urang Malang diperoleh delapan isolat dengan penampakan morfologi sebagai berikut:

Kode	Tampak depan	Tampak belakang	Kode	Kode Isolat	Tampak depan
AY1			AY5		
AY2			AY6		
AY3			AY7		
AY4			AY8		

**Lampiran 2.** Penghitungan Persentase Pengurangan Berat Kering Isolat AY1

Hasil seleksi isolat pendegradasi LDPE berdasarkan persentase pengurangan berat kering dipilih satu isolat dengan nilai tertinggi yaitu AY1. Perhitungan persentase pengurangan berat kering LDPE isolat AY1 menggunakan rumus berikut:

Rumus:

$$\frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir}) \text{ lembar LDPE} \times 100}{\text{berat awal lembar LDPE}} = \% \text{ kehilangan}$$

Diketahui:

Berat awal lembar LDPE: 0,0246

Berat akhir lembar LDPE: 0,0232

Perhitungan:

$$\frac{(0,0246 - 0,0232) \times 100}{0,0246} = \mathbf{5,7 \%}$$

**Lampiran 3.** Uji biodegradasi LDPE oleh isolat jamur.

Uji biodegradasi LDPE dilakukan menggunakan tiga ulangan dalam waktu inkubasi 30 hari oleh isolat jamur, gambar penampakan inkubasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Kode Isolat	Gambar
<b>AY1</b>	
<b>AY2</b>	
<b>AY4</b>	

---

**AY7**

---

**AY8**

#### Lampiran 4. Karakterisasi morfologi isolat hasil seleksi zona bening

Hasil karakterisasi morfologi isolat hasil seleksi zona bening dari lima isolat terpilih disajikan dalam tabel berikut:

Karakter	Isolat AY1	Isolat AY2	Isolat AY4	Isolat AY7	Isolat AY8
<b>Permukaan atas koloni</b>	Tekstur seperti serbuk, kasar, berwarna hijau tua dengan tepi putih pada hari ke-tujuh.	Pertumbuhan awal berwarna putih, hari ke lima menghijau, terlihat batas yang jelas antar warna. Tekstur seperti kapas dan kasar pada miselium hijau.	Tekstur serbuk, permukaan kasar, berwarna hitam dengan tepi putih pada hari ketujuh, tepi koloni beraturan.	Tekstur seperti serbuk, permukaan kasar, berwarna hijau abu-abu kebiruan dengan tepi putih, tepi koloni tidak beraturan. Menghasilkan cairan eksudat.	Tekstur seperti serabut halus. Koloni tumbuh cepat, awal pertumbuhan berwarna putih kemudian menjadi abu-abu atau coklat dengan sporulasi.
<b>Sisi balik</b>	Putih kekuningan.	Putih kekuningan.	Putih kekuningan.	Putih kekuningan	Putih kekuningan
<b>Ukuran</b>	Menyebar	8 cm pada hari ke-6	8 cm pada hari ke-6	Menyebar	8 cm pada hari ke-6
<b>Lingkaran konsentris</b>	Ada	Ada	Ada	Ada	Tidak ada
<b>Hifa</b>	Bersekat, bercabang, berinding tipis dan memanjang, menggebung di puncak membentuk vesikula bulat.	Tidak bersekat, bercabang, berwarna hijau, ada tangkai <i>fialid</i> pendek,	Bersekat, tidak bercabang, menggebung di puncak membentuk vesikula bulat.	Bersekat dan bercabang	Bercabang, tidak bersekat, sporangiofor hialin sangat panjang. Sporangia didukung oleh kolumela <i>apophysate</i> besar di atas sporangiofor
<b>Konidia/ spora</b>	Konidia phialosporous, hijau, bentuk bulat, tumbuh bergerombol pada vesikula	Konidia berwarna kehijauan, bentuk <i>globuse</i> (bulat), tumbuh pada ujung dan ada juga konidium terbentuk secara bergerombol berwarna hijau pada permukaan konidioformya.	Konidia berbentuk bulat, berwarna hitam, tumbuh bergerombol pada vesikula	Spora (zoospora) di dalam sporangium	Sporangia berbentuk bulat, berwarna hitam kecoklatan
<b>Dugaan isolat</b>	Aspergillus	Trichoderma	Aspergillus	Aspergillus	Rhizopus

### Lampiran 5. Hasil uji kuantitatif dan kualitatif DNA dari isolat AY1

Hasil uji kuantitatif DNA jamur AY1 menggunakan nanodrop menunjukkan nilai absorbansi A260/A280 sebesar 1,83 yang berarti secara kuantitatif DNA jamur AY1 memiliki kemurnian yang tinggi. Sambrook (2006) menjelaskan bahwa rasio nilai kemurnian DNA pada absorbansi A260/A280 adalah 1.8–2.0. Hasil uji kuantitatif DNA dari isolat AY1 disajikan dalam tabel berikut:

260/230	Abs 230	Abs 260	Abs 280	260/280	Konsentrasi (ng/ $\mu$ l)
1,81	7,88	14,23	7,70	1,85	711,43

Uji kualitatif DNA genom isolat AY1 menunjukkan adanya *smear* pada saat divisualisasikan dengan *gel doc*. Menurut Skutkova (2013), *smear* yang timbul dari hasil elektroforesis DNA genom disebabkan adanya presipitasi protein hasil isolasi DNA. DNA hasil isolasi diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer ITS1 (*forward*) dan ITS4 (*reverse*). Hasil PCR lalu divisualisasikan menggunakan *Gel Doc* dan diperoleh ukran pita sekitar 550 bp, berada diantara pita 500 bp dan 750 bp (Gambar 4.9). Menurut Alshehri & Palanisamy (2020) daerah ITS pada kingdom jamur dari kelompok Ascomycetes dan Basidiomycetes memiliki panjang sekitar 500-600 bp. Hasil uji kualitatif DNA dari isolat AY1 dapat dilihat dari gambar berikut:



**Lampiran 6.** Hasil Sequensing

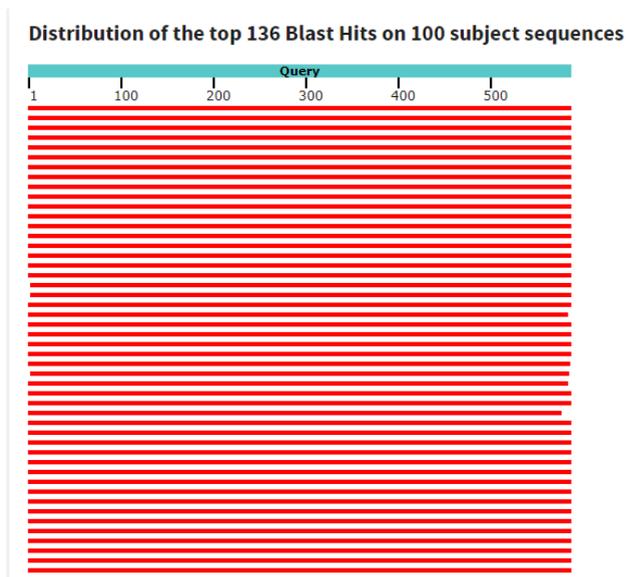
Hasil sequencing adalah sebagai berikut:

>Consensus

```
CCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGTAGG
GTTCTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCT
TAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCATTCATGGCCGCCGGGGG
CTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAA
CTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAAT
CAGTTAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCG
ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCA
GAATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCC
CCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCT
GCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCTCCCTC
TCCGGGGGGGACGGGCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGC
GTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGT
AGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCTTTTC
CAGGTTGACCTCGGATCAGGATASSCGCTGAACTTAAGCCA
ATAAGCGGA
```

### Lampiran 7. Hasil grafik BLAST

Analisis BLAST memberi data berupa grafik yang menunjukkan tingkat homologi kedua sekuen. Hasil analisis BLAST penelitian ini menunjukkan warna merah dan memiliki nilai >200. Hal ini menandakan bahwa dua sekuen yang dibandingkan sama dan memiliki hubungan evolusi yang erat (Sogandi, 2018). Grafik homologi dapat dilihat pada gambar berikut:





### Lampiran 9. Jarak genetik

Analisis *p-distance* dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik dari basa-basa nukleotidanya, semakin kecil jarak genetik maka semakin besar similaritas antara sampel dengan masing-masing individu yang menjadi spesies pembanding (Yuniarti & Rinanti, 2017). Hasil analisis *p-distance* juga menunjukkan jarak genetik sebesar 0,0105 sehingga isolat AY1 memiliki kemiripan yang tinggi dengan *A. flavus*. Hasil analisis jarak genetik dapat dilihat pada tabel berikut:

Isolat	1	2	3
AB272092.1_ <i>Pleurotus nebrodensis</i>			
MG991649.1_ <i>Aspergillus flavus</i>	0,9435		
AY1	0,9435	0,0105	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,9058	0,1081	0.1202



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Dwi Putri Ayu Wardani  
NIM : 16620092  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Genap TA 2020/2021  
Pembimbing : Priya Dewi Fitriasari, M. Sc  
Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Jamur Pendegradasi Polietilena Berdensitas Rendah (LDPE) Dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	16/12/2019	Judul dan Kerangka Penelitian	P D.P.
2.	23/01/2020	Konsultasi BAB I	P D.P.
3.	04/03/2020	Konsultasi BAB II	P D.P.
4.	07/03/2020	Revisi BAB II dan Konsultasi BAB III	P D.P.
5.	12/03/2020	ACC BAB I, II dan III	P D.P.
6.	16/11/2020	Konsultasi data BAB IV	P D.P.
7.	03/12/2020	Revisi BAB IV	P D.P.
8.	16/01/2021	Revisi BAB IV	P D.P.
9.	30/01/2021	Konsultasi Perbaikan BAB IV dan BAB V	P D.P.
10.	02/02/2021	ACC Skripsi	P D.P.

Pembimbing Skripsi,

Priya Dewi Fitriasari, M. Sc  
NIP. 19900428 2016080 1 2062

Malang, 29 Maret 2021  
Ketua Program Studi,



Dr. Suci Suci Savitri, M.P  
NIP.197410182003122002

