

Identifikasi Jamur Pada Pupuk Organik Cair (POC) Limbah Dapur Di Desa Sanur Kauh

ARDHIKA FAHRIZA HARVIANTO, NI WAYAN SRI SUTARI*),
I WAYAN DANA ATMAJA

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana,
Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali 80231

*)Email: srisutaridharma@yahoo.com

ABSTRACT

Identification of Fungi in Kitchen Waste Liquid Organic Fertilizer (LOF) in Sanur Kauh Village. Decomposed kitchen waste contains certain microorganisms, one of which is fungus. Fungi are one of the microorganisms that are widespread in soil and water and have the potential in the process of decomposition of organic matter. The research objective was to determine the composition of kitchen waste and obtain fungi species from LOF of kitchen waste in Sanur Kauh Village. The research was conducted from September to December 2020. Sampling was conducted in Sanur Kauh Village, South Denpasar District. Furthermore, LOF making and analysis was carried out at the Laboratory of Soil and Environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Udayana University and at the Indonesian Genetika Science Laboratory, Tangerang. The method used is a descriptive analysis experiment, which consists of field exploration, laboratory analysis and molecular identification. The results showed that the most dominant percentage of LOF from kitchen waste composition was fruit at 46.69% followed by vegetables at 24.17%, rice at 18.92%, egg shells, bones and meat at 5.16% and the remaining side dishes of 5.06%. The results of molecular identification of fungal species on LOF fermentation of kitchen waste isolates LDA 2 and LDB 2 were similar to *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 2 (99.71%) and *Pichia kudriavzevii* culture CBS: 5147 (99.56%).

Keywords: decomposer, fermentation, fungi, molecular identification, *Pichia kudriavzevii*, organic waste

PENDAHULUAN

Pola konsumsi masyarakat memberikan kontribusi dalam menimbulkan jenis sampah yang semakin beragam, antara lain, sampah organik limbah dapur dan sampah kemasan yang

berbahaya serta sulit diurai oleh proses alam. Sampah yang telah membusuk banyak mengandung mikroorganisme tertentu, salah satunya adalah jamur. Jamur adalah salah satu mikroorganisme yang tersebar luas di tanah dan air serta

berpotensi dalam proses dekomposisi bahan organik. Dekomposisi bahan organik adalah perombakan bahan organik oleh mikroorganisme dalam kondisi yang terkontrol. Peranan jamur sebagai perombak bahan organik dapat mempercepat proses perombakan limbah organik menjadi unsur yang lebih sederhana, sehingga mudah diserap oleh tanaman. Beberapa jamur memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Jamur yang mampu menghasilkan komponen selulase diantaranya adalah *Trichoderma*, sehingga jamur ini sering disebut sebagai selulolitik sejati (Salma dan Gunarto, 1999).

Menurut Hadisuwito (2012) POC adalah larutan yang berasal dari hasil dekomposisi bahan-bahan organik yang berasal dari sisa tanaman dan hewan. Kelebihan POC mampu mengatasi defisiensi hara secara cepat, tidak bermasalah dalam pencucian hara, dan mampu menyediakan hara secara cepat.

Komposisi limbah dapur yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap hasil identifikasi mikroorganisme. Penggunaan POC dari limbah buah-buahan dan sisa sayur-sayuran aman, mengandung unsur hara,

berbahan dasar dari bahan organik, mudah membuatnya, dapat meningkatkan aktivitas kimia, biologi dan fisik tanah dan baik untuk pertumbuhan tanaman (Krisnaningsih dan Suhartini, 2018).

POC mengandung unsur hara makro dan mikro esensial, dibuat sangat sederhana dengan memanfaatkan limbah rumah tangga atau bahan organik di sekitar lingkungan. Bahan baku POC yang bagus adalah bahan organik basah yang mempunyai kandungan air tinggi seperti sisa buah-buahan dan sisa sayur-sayuran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi limbah dapur dan mendapatkan spesies jamur dari POC limbah dapur di Desa Sanur Kauh.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan September hingga Desember 2020, menggunakan metode eksperimen analisis deskriptif dengan subyek utama adalah limbah dapur di Desa Sanur Kauh. Pelaksanaan penelitian diawali dengan penentuan lokasi pengambilan sampel, pengambilan sampel limbah dapur dilakukan secara acak pada setiap Dusun di Desa Sanur Kauh, Kecamatan Denpasar Selatan, Kota Denpasar. Komposisi limbah dapur berdasarkan

pada ketersediaan di lapangan secara nyata yang terdiri dari nasi, sayur, sisa lauk, kulit telur, buah dan kulit buah, tulang dan daging. Pembuatan POC dengan bahan baku limbah dapur kemudian difermentasi selama dua minggu. Media PDA digunakan untuk membiakkan dan mengisolasi jamur. Isolasi jamur dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah dan Lingkungan Fakultas Pertanian Universitas Udayana menggunakan metode *Pour Plate*. Identifikasi jamur dilaksanakan sampai tingkat spesies di Laboratorium Genetika Science Indonesia, Tangerang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ember, botol plastik, pisau, jerigen/botol, autoklaf, *laminar air flow cabinet*, neraca analisis/timbangan, oven, blender, *vortex mixer*, Erlenmeyer, Petridish, tabung reaksi, tabung mikro, penangas air, UV transilluminator, jarum ose, pipet tetes, pinset, kapas, api bunsen, rak tabung reaksi, karet, tissue, aluminium foil, plastik, kertas label, masker, *handgloves*, alat tulis, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), software BLAST dan *GenBank* NCBI. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah dapur, gula merah, air kelapa,

aquades, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), antibiotik, alkohol 70%, larutan *buffer* AW, AE, AP, dan TAE, NaCl fisiologis 1%.

Pembuatan POC

Prosedur pembuatan POC limbah dapur dilakukan dengan cara sebagai berikut: limbah dapur sebanyak 1 (satu) kg dicincang hingga halus lalu masukkan ke dalam wadah, kemudian ditambahkan 100 g larutan gula dan 1 L air cucian beras. Aduk semua bahan-bahan tersebut hingga tercampur rata dan tutup rapat kemudian lubangi penutup dengan paku hingga selang dapat masuk. Diamkan selama 14 hari untuk fermentasi (Krisnaningsih dan Suhartini, 2018).

Pembuatan Media PDA

Pembuatan media PDA terdiri dari 125 g kentang, 10 g agar, 10 g dextrose, 1 tablet *chloramphenicol* 250 g dan 500 ml aquades. Kentang yang sudah dikupas dan dicuci bersih lalu dipotong dadu. Kemudian ditambah 500 ml aquades dan dimasak hingga mendidih, lalu disaring hingga memperoleh sari kentang. Selanjutnya sari kentang ditambah aquades hingga mencapai volume 500 ml dan dimasak hingga mendidih. Campurkan dextrose, agar dan

chloramphenicol aduk hingga bahan tersebut tercampur rata. Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditutup dengan aluminium foil. Lalu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Isolasi Jamur

Larutan suspensi POC sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis NaCl. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Isolasi jamur menggunakan seri pengenceran bertingkat 10^{-4} dan 10^{-5} . Metode isolasi yang digunakan yaitu metode *Pour Plate*, masing-masing suspensi dituang ke dalam cawan petri dan ditambahkan media PDA lalu goyangkan secara perlahan hingga homogen. Masing-masing isolat diberikan kode berdasarkan seri pengenceran. Isolat selanjutnya diinkubasikan selama 72 jam dalam inkubator dengan suhu 25°C (Indrawati dan Fakhruddin, 2016). Pemurnian jamur dilakukan dengan menginokulasi koloni jamur yang tumbuh pada isolat yang dibiakkan dengan metode sumur difusi.

Identifikasi Jamur

Tahapan ekstraksi DNA total jamur menggunakan Zymo Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (D6005). Prosedur ekstraksi DNA di Laboratorium Genetika Science Indonesia Tangerang, dilakukan sesuai dengan protokol dari *Zymo Research*. Kondisi PCR diawali dengan denaturasi pada suhu 95°C selama 3 menit sebanyak 1 kali, selanjutnya denaturasi pada suhu 95°C selama 10 detik, *annealing* pada 52°C selama 30 detik, dan proses ekstensi akhir berlangsung pada suhu 72°C selama 45 detik, diulang sebanyak 35 kali. Produk PCR kemudian disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4°C. Hasil amplifikasi dielektroforesis dengan gel agarose 1% dan *buffer* TAE 1 x pada tegangan 50 volt selama 30 menit. Pita DNA dilihat di atas *UV transilluminator* dan fragmen DNA akan terlihat. Ukuran fragmennya dapat diketahui dengan cara membandingkan dengan pita DNA *ladder* 100 bp.

Fragmen DNA hasil PCR dilakukan sekuensing menggunakan *Sequence Scanner software 2 v.2* untuk peruntukan basa nukleotidanya. Data hasil sekuensing selanjutnya dilakukan proses analisis BLAST pada *GenBank* NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) secara

online (Haddad, *et al.*, 2014). Analisa data menggunakan *Multiple alignment* dibuat dengan Program MEGA X. Pembuatan atau rekonstruksi pohon filogenetik dianalisis menggunakan *software* MEGA X model jarak genetik *Distance Method* dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) sekuen gen 18S rRNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

POC dengan bahan baku limbah dapur diambil dari 11 Dusun di Desa Sanur Kauh terdiri dari nasi, buah, sayur, sisa lauk, kulit telur, tulang dan daging. Hasil dari pengambilan sampel limbah dapur didapatkan komposisi sampah yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa komposisi sampel limbah dapur sayur tertinggi pada Dusun Abiantimbul sebesar 545 g, terendah pada Dusun Puseh, Blanjong, dan Pekandelan sebesar 0 g. Komposisi limbah dapur nasi tertinggi pada Dusun Abiantimbul sebesar 530 g, terendah pada Dusun Tewel dan Pekandelan sebesar 5 g. Komposisi limbah dapur buah tertinggi pada Dusun Blanjong sebesar 1250 g, terendah pada Dusun Medura sebesar 0 g. Komposisi limbah dapur sisa lauk tertinggi pada Dusun Abiantimbul

sebesar 110 g, terendah pada Dusun Blanjong sebesar 0 g. Komposisi limbah dapur kulit telur, tulang dan daging tertinggi pada Dusun Medura sebesar 250 g, terendah pada Dusun Penopengan dan Blanjong sebesar 0 g. Buah merupakan penyumbang komposisi limbah dapur tertinggi dengan 3220 g, diikuti oleh sayur sebesar 1667 g, nasi sebesar 1305 g, kulit telur, tulang dan daging sebesar 356 g dan paling rendah sisa lauk sebesar 349 g.

Perhitungan persentase komposisi limbah dapur pada Tabel 2 didapatkan dengan berat masing-masing komposisi limbah dapur dibagi dengan berat total dan dikalikan dengan 100%. Tingginya angka persentase menunjukkan komposisi limbah dapur yang lebih dominan dibanding dengan komposisi limbah dapur yang memiliki angka persentase yang rendah. Persentase komposisi limbah dapur sayur tertinggi terdapat pada Dusun Dangin Peken sebesar 47,74%, terendah pada Dusun Puseh, Dusun Blanjong dan Dusun Pekandelan sebesar 0%. Persentase limbah dapur nasi tertinggi pada Dusun Puseh sebesar 36,37%, terendah pada Dusun Tanjung sebesar 3,92%. Persentase limbah dapur buah tertinggi

pada Dusun Blanjong sebesar 87,41%, terendah pada Dusun Medura sebesar 0%. Persentase limbah dapur sisa lauk tertinggi pada Dusun Pekandelan sebesar 23,08%, terendah pada Dusun Blanjong sebesar 0%. Selanjutnya persentase limbah dapur kulit telur, tulang dan daging tertinggi pada Dusun Medura sebesar 24,95%, terendah pada Dusun Penopengan dan Dusun Blanjong sebesar 0%. Persentase komposisi limbah dapur

yang paling dominan terdapat pada buah sebesar 46,69% atau hampir setengah dari jumlah persentase komposisi limbah dapur secara keseluruhan. Diikuti oleh sayur sebesar 24,17%, nasi sebesar 18,92%, kulit telur, tulang dan daging sebesar 5,16% dan terendah sisa lauk sebesar 5,06%.

Tabel 1. Komposisi Limbah Dapur di Desa Sanur Kauh

No.	Nama Dusun	Tanggal Pengambilan	Komposisi Limbah Dapur					Berat Total (g)
			Sayur (g)	Nasi (g)	Buah (g)	Sisa Lauk (g)	Kulit Telur, Tulang & Daging (g)	
1	Puseh	5-09-2020	0	40	40	20	10	110
2	Puseh Kauh	5-09-2020	80	100	285	40	1	506
3	Abiantimbul	4-09-2020	545	530	500	110	5	1690
4	Tewel	5-09-2020	7	5	35	10	5	62
5	Dangin Peken	5-09-2020	390	120	290	7	10	817
6	Penopengan	4-09-2020	35	25	90	20	0	170
7	Tanjung	4-09-2020	110	30	505	60	60	765
8	Blanjong	4-09-2020	0	180	1250	0	0	1430
9	Betngandang	4-09-2020	35	20	185	30	10	280
10	Medura	4-09-2020	465	250	0	37	250	1002
11	Pekandelan	4-09-2020	0	5	40	15	5	65
Total			1667	1305	3220	349	356	6897

Tabel 2. Persentase Komposisi Limbah Dapur di Desa Sanur Kauh

No.	Nama Dusun	Tanggal Pengambilan	Persentase Komposisi Limbah Dapur					Berat Total (%)
			Sayur (%)	Nasi (%)	Buah (%)	Sisa Lauk (%)	Kulit Telur, Tulang & Daging (%)	
1	Puseh	5-09-2020	0	36,37	36,37	18,18	9,09	1,59
2	Puseh Kauh	5-09-2020	15,81	19,76	56,32	7,90	0,20	7,34
3	Abiantimbul	4-09-2020	32,25	31,36	29,59	6,51	0,30	24,50
4	Tewel	5-09-2020	11,29	8,06	56,45	16,13	8,06	0,90
5	Dangin Peken	5-09-2020	47,74	14,69	35,50	0,86	1,22	11,85
6	Penopengan	4-09-2020	20,59	14,71	52,94	11,76	0	2,46
7	Tanjung	4-09-2020	14,38	3,92	66,01	7,84	7,84	11,09
8	Blanjong	4-09-2020	0	12,59	87,41	0	0	20,73
9	Betngandang	4-09-2020	12,5	7,14	66,07	10,71	3,57	4,06
10	Medura	4-09-2020	46,41	24,95	0	3,69	24,95	14,53
11	Pekandelan	4-09-2020	0	7,69	61,54	23,08	7,69	0,94
Total			24,17	18,92	46,69	5,06	5,16	100

Fermentasi POC Limbah Dapur



Gambar 1. Proses Fermentasi POC (a) Fermentasi POC hari ke-1 (b) Fermentasi POC hari ke-7 (c) Fermentasi POC hari ke-14

Berdasarkan Gambar 1, proses fermentasi POC limbah dapur pada hari ke-1 menunjukkan warna putih kecoklatan dan berbau busuk. Pada fermentasi hari ke-7 atau minggu pertama menunjukkan perubahan warna yang tidak terlalu signifikan menjadi coklat muda serta terdapat endapan berwarna putih dan berbau asam. Pada minggu ke dua atau 14 hari fermentasi menunjukkan perubahan warna menjadi coklat serta mengeluarkan bau seperti tape.

Menurut Mokodompis (2018) perubahan warna pada POC terjadi akibat bahan campuran yang digunakan. Sedangkan bau atau aroma yang dihasilkan pada proses fermentasi merupakan suatu tanda bahwa telah terjadi aktivitas dekomposisi bahan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme memecah senyawa karbohidrat menjadi senyawa sederhana dalam bentuk air, karbondioksida, alkohol, dan asam organik (Budiyani, 2016).

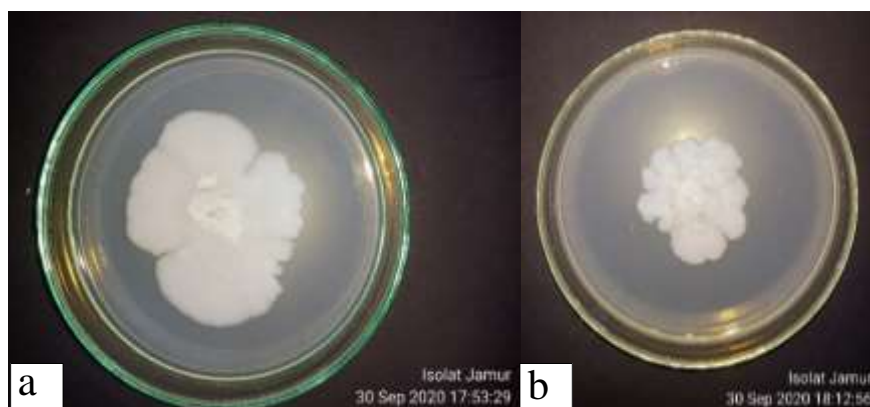
Isolasi Jamur dari Limbah Dapur

Warna koloni dari isolat yang ditemukan dalam penelitian ini dominan berwarna putih dan krem. Hal ini

menunjukkan bahwa kemungkinan jamur yang diisolasi dari fermentasi POC limbah dapur termasuk ke dalam kelompok jamur *Ascomycetes* bukan dari kelompok *Bacidiomycetes*. Menurut Fell (1998 dalam Citra, 2019) kelompok *Bacidiomycetes* umumnya memiliki pigmen dengan warna-warna terang seperti merah muda, merah dan jingga. Berbeda dengan kelompok jamur *Ascomycetes* yang tidak memiliki pigmen warna sehingga koloni dominan berwarna putih dan krem.

Identifikasi Jamur Dari Limbah Dapur

Isolat yang diidentifikasi secara molekuler adalah isolat LDA 2 yang berasal dari fermentasi POC limbah dapur (Gambar 2) dengan seri pengenceran 10^{-4} dan isolat LDB 2 yang berasal dari seri pengenceran 10^{-5} . Menurut White *et al.*, (1990) proses PCR dilakukan melalui tiga tahap yaitu ekstraksi DNA, proses amplifikasi gen 18S rRNA dengan menggunakan siklus PCR dan proses sekuensing.



Gambar 2. Isolat Jamur

Tabel 3. Kuantifikasi DNA Genom

No.	Sampel	Konsentrasi (ng/ μ l)	$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
1	LDA 2	138,6	1,89	1,30
2	LDB 2	189,7	1,87	1,24

Keterangan : A = Absorbansi

Berdasarkan hasil pengukuran konsentrasi DNA pada kedua sampel didapatkan hasil ekstraksi DNA dengan nilai konsentrasi 138,6 – 189,7 ng/ μ l. Hasil pengukuran kemurnian DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA $A_{260/280}$ yaitu 1,87-1,89. Menurut Widayat *et. al.*, (2019) standar nilai rasio $A_{260/280}$ yang baik untuk kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0. Nilai absorbansi rasio $A_{260/230}$ yang didapat adalah 1,24-1,30. Rasio $A_{260/230}$ digunakan sebagai indikator adanya kontaminan organik seperti fenol, trizol, garam buffer, ataupun senyawa organik lainnya.

Standar nilai rasio $A_{260/230}$ yang dianggap bebas kontaminan berkisar antara 2,0-2,2. Berdasarkan hasil pengukuran nilai rasio $A_{260/230}$ kedua sampel uji berada di bawah standar. Hal ini dapat diakibatkan terbawanya residu fenol ataupun senyawa organik lainnya pada saat ekstraksi. Tetapi pada beberapa kasus, nilai rasio $A_{260/230}$ di bawah standar tidak mempengaruhi terhadap analisis PCR, sehingga sampel dapat digunakan untuk analisis lanjutan pada PCR (Widayat *et. al.*, 2019).

Identifikasi Molekuler Hasil PCR

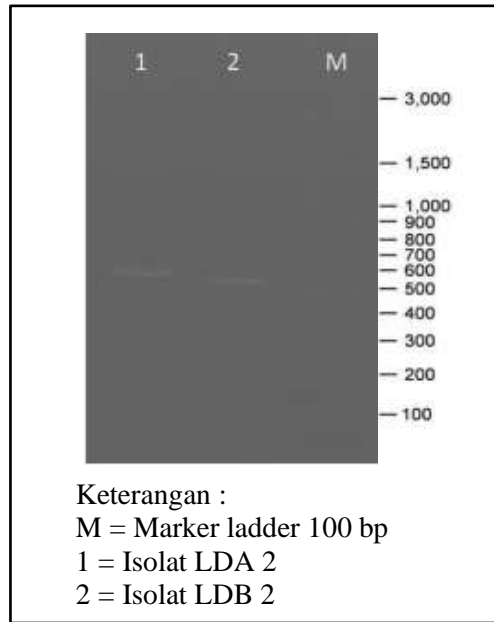
Berdasarkan hasil foto gel elektroforesis produk PCR terdapat perbedaan ukuran daerah ITS rDNA pada masing-masing isolat. Ukuran pita amplikon berada pada kisaran 500-600 bp. Menurut Katsu *et al.*, (2003) daerah ITS rDNA jamur sangat bervariasi antar spesies dengan ukuran 300-900 bp. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya pita amplikon yang tebal untuk kedua isolat (Gambar 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa daerah ITS rDNA dari seluruh isolat berhasil teramplifikasi menggunakan daerah primer ITS 1 dan ITS 4 dengan kondisi PCR tepat dan konsentrasi *template* DNA yang cukup.

Analisis Hasil Sekuensing dan Kekerabatan Spesies

Senyawa DNA yang berhasil teramplifikasi kemudian dilakukan proses sekuensing untuk penentuan urutan nukleotidanya dengan menganalisis hasil PCR produk. Hasil sekuensing dibaca dengan menggunakan *Sequence Scanner software 2 v.2* menunjukkan bahwa pasang basa (bp)

sekuens isolat LDA 2 berjumlah 345 bp. Sedangkan isolat LDB 2 berjumlah 458 bp. Hal ini terjadi karena adanya kesalahan pada proses sekuensing hingga menyebabkan banyaknya *None* (N) yang tidak diperlukan pada basa nukleotida hingga menyebabkan jumlahnya berkurang (citra, 2019). Pada masing-masing sampel isolat terdapat *double peak* pada hasil sekuensing primer ITS 1 yang dimulai dari basa pertama. Hal ini biasanya diakibatkan karena terdapat *template* yang lebih dari satu dalam reaksi PCR yang mengakibatkan pembacaan *Sanger Sequencing* menjadi *noise* (bising).

Hasil sekuensing isolat primer *reverse* ITS 4 LDA 2 dan LDB 2 selanjutnya dianalisis menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada website *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), *National Institute for Health, USA*: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil perbandingan persentase kemiripan isolat LDA 2 dengan berbagai isolat pada *GenBank* disajikan pada Tabel 4.



Gambar 3. Hasil foto gel elektroforesis produk PCR

Tabel 4. Perbandingan Persentase Kemiripan Isolat Primer *Reverse* ITS 4 LDA 2 dengan Berbagai Sekuen DNA di *GenBank* Menggunakan Program BLAST

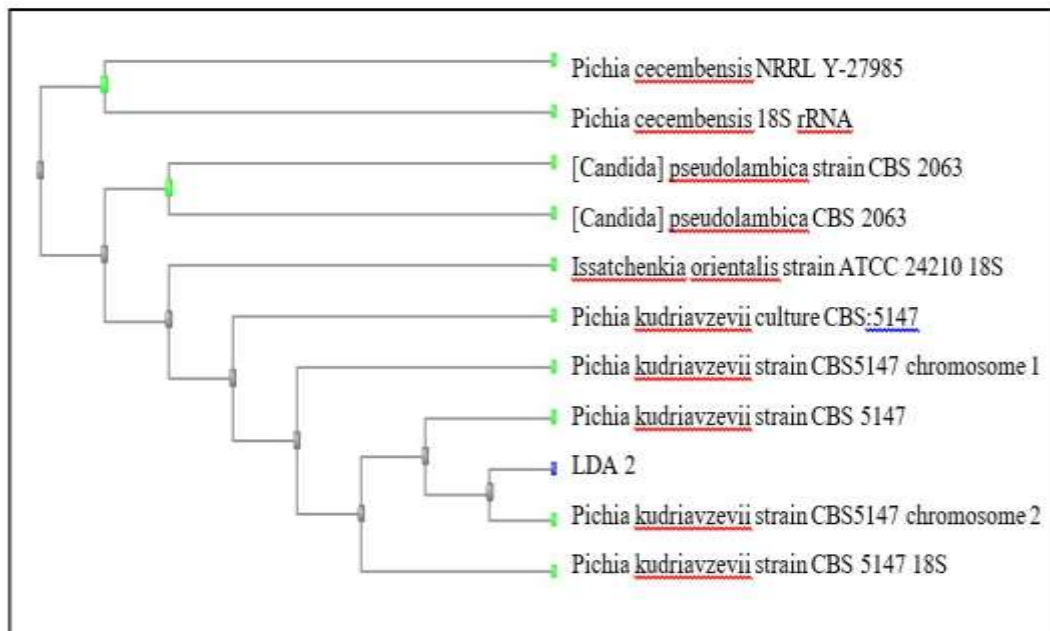
Deskripsi	Persentase Identitas %	Accession
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS 5174 18S	99.71%	MH545928.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS 5174	99.71%	MK394162.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS5174 chromosome 2	99.71%	CP028532.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS5174 chromosome 1	99.71%	CP028531.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> culture CBS:5147	99.71%	KY104577.1
<i>Issatchenkia orientalis</i> strain ATCC 24210 18S	99.71%	AY939801.1
<i>Pichia cecembensis</i> NRRL Y-27985	97.08%	NR164078.1
<i>Pichia cecembensis</i> 18S rRNA	97.08%	AM233511.3
<i>(Candida) pseudolambica</i> strain CBS 2063	96.88%	MK394161.1
<i>(Candida) pseudolambica</i> CBS 2063	96.88%	NR153281.1

Berdasarkan hasil pensejajaran isolat primer *reverse* ITS 4 dengan database *GenBank* menggunakan

program BLAST pada (Tabel 4), isolat LDA 2 mempunyai kekerabatan yang dekat dengan *Pichia kudriavzevii* strain

CBS 5174 18S (MH545928.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS 5174 (MK394162.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 2 (CP028532.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 1 (CP028531.1), *Pichia kudriavzevii* culture CBS:5147 (KY104577.1), *Issatchenkia orientalis* strain ATCC 24210 18S (AY939801.1) dengan tingkat kemiripan 99.71%. Isolat sampel yang menggunakan marka 18S rRNA dapat dikatakan identik (*similar*) pada level spesies jika nilai persentase identitasnya di atas 97.5%, dan pada level genus jika nilai persentase identitasnya di atas 95% (Stackebrandt and Goebel, 1994).

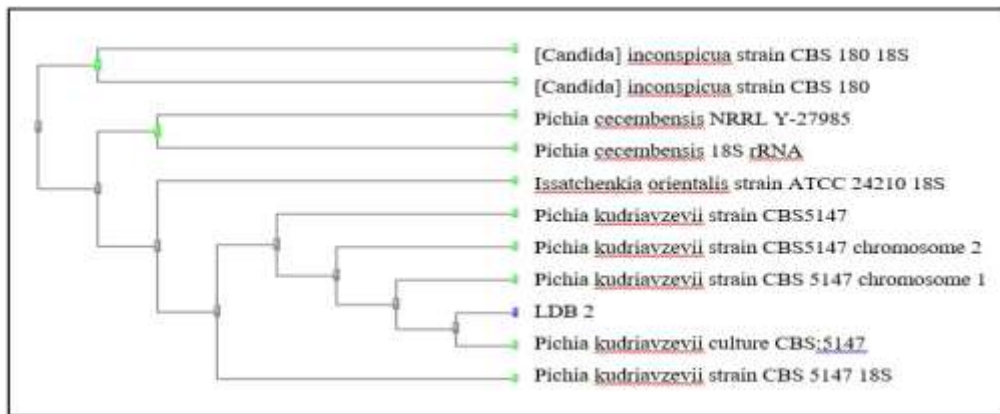
Hasil proses similaritas dengan menggunakan web server BLAST dilanjutkan analisis sekuen menggunakan pohon filogenetik. Menurut Brinkman dan Leipe (2001), analisis kekerabatan menggunakan pendekatan ini memiliki tingkat keakuratan yang lebih tinggi dibanding dengan BLAST. Rekonstruksi pohon filogenetik (Gambar 4) dianalisis menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) sekuen gen 18S rRNA yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat jamur LDA 2 dengan *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 2 dengan nilai persentase sebesar 99.71%.



Gambar 4. Pohon Filogeni Isolat LDA 2

Tabel 5. Perbandingan Persentase Kemiripan Isolat Primer *Reverse* ITS 4 LDB 2 dengan Berbagai Sekuen DNA di *GenBank* Menggunakan Program BLAST

Deskripsi	Persentase Identitas %	Accession
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS 5174 18S	99.56%	MH545928.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS 5174	99.56%	MK394162.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS5174 chromosome 2	99.56%	CP028532.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> strain CBS5174 chromosome 1	99.56%	CP028531.1
<i>Pichia kudriavzevii</i> culture CBS:5147	99.56%	KY104577.1
<i>Issatchenkia orientalis</i> strain ATCC 24210 18S	99.56%	AY939801.1
<i>Pichia cecembensis</i> NRRL Y-27985	96.30%	NR164078.1
<i>Pichia cecembensis</i> 18S rRNA	96.30%	AM233511.3
(<i>Candida</i>) <i>inconspicua</i> strain CBS 180 18S	87.42%	MH545929.1
(<i>Candida</i>) <i>inconspicua</i> strain CBS 180	87.42 %	MK394166.1



Gambar 5. Pohon Filogeni Isolat LDB 2

Berdasarkan hasil perbandingan menggunakan program BLAST pada Tabel 5, isolat LDB 2 memiliki kemiripan yang dekat dengan *Pichia kudriavzevii*

strain CBS 5174 18S (MH545928.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS 5174 (MK394162.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 2

(CP028532.1), *Pichia kudriavzevii* strain CBS5174 chromosome 1 (CP028531.1), *Pichia kudriavzevii* culture CBS:5147 (KY104577.1), *Issatchenkia orientalis* strain ATCC 24210 18S (AY939801.1) dengan tingkat kemiripan 99.56%.

Rekonstruksi pohon filogenetik (Gambar 5) menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat jamur LDB 2 dengan *Pichia kudriavzevii* culture CBS: 5147 dengan nilai persentase sebesar 99.56%.

Pembahasan

Hasil identifikasi secara molekuler pada isolat jamur LDA 2 dan LDB 2 menunjukkan hasil nama spesies yang sama yaitu *Pichia kudriavzevii* meskipun berbeda 0.15 %, karena memiliki tingkat kemiripan diatas 99%. Hal ini diperkuat oleh Sugita (1999), bahwa secara keseluruhan kesamaan urutan basa nukleotida adalah 99% atau lebih, meskipun strain pada spesies yang sama tidak sepenuhnya memiliki sekuen yang identik.

Kemunculan jamur *Pichia kudriavzevii* dari hasil penelitian ini tidak terlepas dari komposisi limbah dapur yang terdiri dari nasi, sayur, buah, sisa lauk, serta kulit telur, tulang dan daging yang telah difermentasi menjadi POC.

Dengan persentase komposisi paling dominan oleh buah 46,69% dan sayur 24,17%. *Pichia kudriavzevii* adalah jamur yang sangat melimpah di lingkungan dan dapat ditemukan di tanah, buah-buahan, sayuran, telur ayam, fermentasi biji kakao dan aneka minuman fermentasi. *P. kudriavzevii* dapat tetap aktif secara metabolik pada suhu setinggi 45 °C dan pada pH rendah (Kurtzman, 2010).

Pichia kudriavzevii memiliki morfologi koloni setelah 3 hari berwarna putih krem, tekstur butiran. Bentuk sel bulat telur memanjang dengan ukuran 1,3-6 μm x 3,3-14 μm . Sel tunggal atau berpasangan, membentuk pseudohifa dan pelikel berbentuk keras dan kering (Brewing, 2014). Menurut Herlanda (2017) dalam penelitiannya mendeskripsikan *Pichia sp.* pada media PDA memiliki karakteristik koloni berwarna putih, tekstur padat butiran, tepi rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, sel tunggal atau berkelompok, berukuran 1-3 μm , tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa.

Pichia kudriavzevii dapat berfungsi dalam mengembangkan strategi bioremediasi, fermentasi makanan dan minuman serta pengendali hayati. Jamur

ini mengandung beberapa enzim untuk proses produksi bioetanol dan fitase yang digunakan untuk meningkatkan serapan fosfor oleh tanaman (Chan, 2012). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Meryandini *et. al.*, (2019) IP4 mempunyai peranan penting dalam proses fermentasi kakao, karena berperan dalam merombak gula pada substrat menjadi etanol sehingga dapat meningkatkan kinerja yang terjadi pada saat fermentasi. Jenis gula yang paling banyak tersedia adalah fruktosa dan sukrosa yang juga mengandung glukosa. Spesies jamur *Pichia kudriavzevii* dapat muncul tanpa menyebabkan kerusakan, namun dalam beberapa kasus bersifat patogen.

SIMPULAN

Komposisi limbah dapur didominasi oleh buah dengan persentase sebesar 46,69% memberikan pengaruh nyata terhadap hasil identifikasi jamur yang diperoleh. Diikuti oleh sayur sebesar 24,17%, nasi sebesar 18,92%, kulit telur, tulang dan daging sebesar 5,16% dan sisa lauk sebesar 5,06%. Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler spesies jamur yang ditemukan pada fermentasi POC limbah dapur isolat LDA 2 memiliki kemiripan dengan

Pichia kudriavzevii strain CBS5174 chromosome 2 (99.71%) dan isolat LDB 2 adalah *Pichia kudriavzevii* culture CBS : 5147 (99.56%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan fasilitas. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Ni Wayan Sri Sutari, S.P., M.P. selaku pembimbing I dan Ir. I Wayan Dana Atmaja, M.P. selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brewing, E. 2014. Hello, My Name is *Pichia kudriavzevii*. <https://eurekabrewing.wordpress.com/2014/02/16/hello-my-name-is-pichia-kudriavzevii/>.
- Brinkman, F. S. L and Leipe D. D. 2001. Phylogenetic Analysis. *In: Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Gene and Protein*. Baxevanis, A. D. and B. F. F. Ouellette (Eds.). *John Willey & Sons*. pp. 323-358.
- Budiyani, N. K., N. N. Soniari, N. W. S. Sutari, 2016. Analisis Kualitas Larutan Mikroorganisme Lokal (MOL) Bonggol Pisang. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 5(1): 63-72. ISSN: 2301-6515.
- Chan, G.F., Gan, H.M., Ling H.L., Rashid N.A. 2012. Genome Sequence of *Pichia kudriavzevii*

- M12, a Potensial Producer of Bioethanol and Phytase. *Eukaryot Cell*. 11(10).
- Citra, Y. I. F. 2019. Isolasi dan Identifikasi Khamir pada Bunga Pisang Klutuk (*Musa balbisiana*) serta Kemampuannya dalam fermentasi Karbohidrat. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Haddad, R., Alemzadeh, E., Ahmadi, A.R., Hosseini, R., & Moezzi, M. 2014. Identification of Chlorophyceae based on 18S rDNA Sequences from Persian Gulf. *Iranian Journal of Microbiology*. 6(6): 437.
- Hadisuwito, S. 2012. Membuat Pupuk Organik Cair. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Herlanda, R. 2017. Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Pendegradasi Residu Fungisida Berbahan Aktif Propineb secara *in vitro*. Skripsi. Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.
- Indrawati, I. dan S. D. Fakhruddin. 2016. Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen pada Air Sumur dan Air Sungai di Pemukiman Warga Desa Karangwangi, Cianjur, Jawa Barat. *Jurnal Biodjati Vol 1 (1)*: 27-38
- Katsu, M., S. Kidd, A. Ando, M.L. Moretti-Branchini, Y. Mikami, K. Nishimura & W. Meyer. 2003. The Internal Transcribed Spacers and 5.8S rRNA Gen Show Extensive Diversity among Isolates of the *Cryptococcus neformans* Species Complex. *FEMS Yeast Res.* 1608: 1-12.
- Krisnaningsih, A. dan Suhartini. 2018. Kualitas dan Efektivitas POC dari MOL Limbah Buah-buahan Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Sawi. *Jurnal Prodi Biologi*. Vol. 7 No. 6. Yogyakarta.
- Meryandini, A., Basri, A., Sunarti, T.C. 2019. Peningkatan Kualitas Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) melalui Fermentasi Menggunakan *Lactobacillus* sp. dan *Pichia kudriavzevii*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 6(1): 11-19 ISSN: 2548-611X
- Mokodompis, D. 2018. Efektivitas Mikroorganisme Lokal MOL Limbah Sayuran dan Buah- Buah sebagai Aktifator Pembutan Kompos. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Palu.
- Salma, S. dan L. Gunarto. 1999. Enzim Selulase Dari *Trichoderma* sp. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi dan Bioteknologi Pertanian*. 2(2): 37-38.
- Stackebrandt, E., Goebel, B. M. 1994. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 44: 846-849.
- Sugita, T., Nishikawa, A., Ikeda, R., & Shinoda, T. 1999. Identification of Medically Relevant *Trichosporon* species based on Sequences of Internal Transcribed Spacer Regions and Construction of a Database for *Trichosporon* Identification. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(6) : 1985-1993.
- White, T. J, T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Amplification and Direct Sequencing of Fungal

Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics). Academic Press Part Three Genetic and Evolution. PP. 315-322.

Widayat *et al.*, 2019. *Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan. Indonesian Journal of Halal.* ISSN : 2656-4963.