

Degradasi Atrazin oleh *Candida* TB1 dengan Penambahan Sumber Karbon dan Nitrogen

S. H. N. Maulidina dan N. H. Alami

Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

e-mail: syndhimanda@gmail.com

Abstrak—Atrazin adalah salah satu herbisida dalam kelompok triazin yang digunakan secara selektif untuk mengendalikan kemunculan gulma berdaun lebar dan berumput di jagung, nanas, sorgum, kapas, dan tanaman lainnya namun bersifat toksik, berpotensi akumulatif dan tetap berada di lingkungan selama bertahun-tahun. Biodegradasi merupakan suatu proses mentransformasikan bahan pencemar yang umumnya memiliki molekul lebih besar (kompleks) menjadi bentuk sederhana. Nutrisi sebagai salah satu faktor yang berpengaruh besar dalam sintesis materi seluler dan pertumbuhan sel. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh sumber nutrisi dan lama waktu terhadap degradasi atrazin serta viabilitas sel. Penelitian dilakukan dengan cara subkultur yeast dan screening yeast pendegradasi atrazin pada medium AMS, uji biodegradasi, perhitungan jumlah sel *Total Plate Count* (TPC). Hasil dari penelitian ini adalah penambahan sumber karbon dan nitrogen serta lama waktu berpengaruh terhadap persentase degradasi atrazin dan viabilitas sel. Persentase degradasi atrazin yang memiliki perbedaan signifikan terbesar ditunjukkan pada perlakuan K0 (control) hari ke 8 dengan besar presentasi mencapai 62,18 %. Pada viabilitas sel perlakuan K4 (penambahan urea) pada hari ke-0, ke-2 dan ke-6 memiliki perbedaan signifikan paling banyak dibandingkan dengan perlakuan lain.

Kata Kunci—Atrazin, Biodegradasi, Nutrisi, Khamir.

I. PENDAHULUAN

A TRAZIN merupakan salah satu herbisida dalam kelompok triazin yang mulai banyak digunakan di seluruh dunia sejak tahun 1960. Atrazin digunakan sebagai herbisida selektif untuk mengendalikan kemunculan gulma berdaun lebar dan berumput di jagung, nanas, sorgum, kapas, dan tanaman lainnya dan sebagai herbisida non-selektif pada lahan industri yang tidak ditanami dan lahan kosong [1]. Golongan herbisida triazin bersifat toksik, memiliki potensi akumulasi dan tetap berada di lingkungan selama bertahun-tahun [2]. Persistensi atrazin bervariasi sesuai dengan jenis tanah dan waktu persistensi biasanya berkisar antara 21 hari hingga 1 tahun [3]. Dampak pertama residu atrazin terjadi pada manusia dan mamalia adalah gangguan sistem endokrin, gangguan kerja sistem kardiovaskular, kerusakan untai tunggal dan ganda pada DNA yang bersifat genotoksik, kerusakan hati serta dapat menginduksi kanker. Kedua, penurunan kualitas sperma dan infertilitas amfibi, tikus dan babi [4]. Badan Internasional untuk Penelitian Kanker telah menyimpulkan atrazin sebagai kelompok 2B karsinogen. Level kontaminan maksimum untuk atrazin dalam air minum yang ditetapkan oleh USEPA adalah $3,0 \mu\text{gL}^{-1}$ [5]. Sehubungan dengan hal tersebut, maka di perlukan penelitian yang difokuskan pada strategi remediasi yang efisien untuk lingkungan tercemar atrazin dan pengurangan kontaminasi ke tingkat yang aman bagi lingkungan.

Bioremediasi adalah proses penguraian limbah organik atau anorganik dengan menggunakan bantuan

Tabel 1.
Uji Persentase Degradasi Atrazin dan Viabilitas Sel

Sumber karbon dan nitrogen	Lama waktu inkubasi				
	H0	H2	H4	H6	H8
K0	K0-	K0-	K0-	K0-	K0-
	H0	H2	H4	H6	H8
K1	K1-	K1-	K1-	K1-	K1-
	H0	H2	H3	H6	H8
K2	K2-	K2-	K2-	K2-	K2-
	H0	H2	H4	H6	H8
K3	K3-	K3-	K3-	K3-	K3-
	H0	H2	H4	H6	H8
K4	K4-	K4-	K4-	K4-	K4-
	H0	H2	H6	H6	H8

Keterangan:

K0 : Kontrol (AMS+Isolat)

K1: AMS+ glukosa+ isolat

K2: AMS+ laktosa+ isolat

K3: AMS+ Urea+ isolate

K4: AMS+ Ammonium nitrat+isolate

H0: Hari ke-0

H2: Hari ke-2

H4: Hari ke-4

H6: Hari ke-6

H8: Hari ke-8

mikroorganisme dalam proses biodegradasi. Salah satu mikroorganisme yang mampu menjadi agen biodegradasi dan tersedia melimpah di alam adalah khamir. Beberapa kelompok khamir dapat diisolasi dari lingkungan yang khusus maupun ekstrim dengan kadar gula atau garam yang tinggi, dengan suhu dan ketersediaan oksigen yang rendah. Khamir memiliki keunggulan lebih efektif dalam memecah komponen bahan kita dengan volume hasil yang lebih banyak. Khamir dapat tumbuh pada larutan yang pekat, misalnya dalam larutan gula, garam dan asam yang berkonsentrasi tinggi. Selain itu khamir juga memiliki sifat resisten terhadap antibiotik, sulfonamida dan agen antibakteri lainnya sehingga beberapa sifat tersebut menjadikan khamir dapat bertahan atau bersaing dengan mikroorganisme lain [6].

Degradasi atrazin tergantung pada berbagai faktor seperti kondisi lingkungan, nutrisi (sumber karbon dan nitrogen eksternal), rasio karbon / nitrogen (C / N), kadar air dan mikroorganisme yang terlibat dalam degradasi [7]. Nutrisi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh besar dalam sintesis materi seluler dan pertumbuhan sel, serta termasuk didalamnya produksi enzim oleh khamir untuk mendegradasi residu atrazin [8]. Unsur penting yang dibutuhkan mikroorganisme termasuk khamir diantaranya adalah karbon dan nitrogen [9]. Secara umum, sel khamir dapat mengkonsumsi sumber C seperti glukosa dan fruktosa lebih baik dari pada golongan mono-, di- ataupun trisakarida lainnya. Sedangkan untuk sumber N, khamir dapat mengasimilasi nitrogen dari sumber organik seperti urea dan dari sumber anorganik seperti ammonium nitrat [10]. Unsur C merupakan komponen utama pembentuk seluruh molekul organik dalam sel. Unsur N berperan penting dalam penyusunan asam nukleat, asam amino dan enzim-enzim

[11]. Pengaruh penambahan sumber nutrisi pada degradasi atrazin dalam tanah bervariasi bergantung pada mikroorganisme pendegradasi atrazin yang digunakan [12]. Beberapa mikroorganisme menunjukkan respon yang berbeda terkait penambahan sumber nutrisi dalam mendegradasi atrazin. Respon tersebut antara lain dapat menurunkan laju degradasi ataupun tidak mempengaruhi laju degradasi atrazin [13].

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah didapatkan khamir yang diisolasi dari tanah pertanian sekitar ITS [14] dan pertanian tebu dan jagung yang terpapar herbisida di daerah Mojokerto. Beberapa khamir tersebut memiliki kemampuan dalam menghasilkan Hormon IAA, namun kemampuan dalam mendegradasi atrazin dengan penambahan sumber karbon dan nitrogen belum diketahui. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian tentang pengaruh sumber nutrisi terhadap degradasi atrazin.

II. METODOLOGI

A. Persiapan Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu botol UC, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, neraca analitik, colony counter dan pipet mikro. Bahan yang digunakan untuk pemuatan *Atrazine Mineral Salt* (AMS) yaitu 0,4 g K_2HPO_4 ; 0,2 g KH_2PO_4 ; 0,1 g NaCl; 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,01 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; 0,01 g $Fe(SO_4)_3$, dan 0,01 g Na_2MoO_4 dalam 1 L aquades dan atrazin dengan konsentrasi $60 \mu g/L$ dalam pelarut methanol 1%. Sedangkan bahan yang digunakan untuk pembuatan *Yeast Malt Ekstrak Agar* (YMEA) yaitu 3 g yeast extract, 3 g malt extract, 5 g pepton, 10 g glukosa, 20 g agar dalam 1 L aquades.

B. Persiapan isolat

Pada penelitian ini menggunakan isolat khamir yang didapatkan dari uji pendahuluan screening isolat dan uji dosis respon isolat khamir dari laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS Yang diisolasi dari lahan pertanian kawasan ITS serta lahan pertanian jagung dan tebu kawasan Mojokerto.

C. Pelakuan Penambahan Sumber Nutrisi

Pengaruh sumber nutrisi nitrogen dan karbon dalam mendegradasi atrazin dilakukan pada botol UC yang berisi 10% (v/v) kultur khamir dan 90 mL AMS steril dengan konsentrasi atrazin yaitu $60 \mu g/L$. Uji pengaruh sumber nutrisi karbon dilakukan dengan penambahan senyawa karbon berbeda seperti glukosa dan laktosa sebanyak 1 g/L dalam medium. Sedangkan pengaruh sumber nutrisi nitrogen dilakukan penambahan senyawa nitrogen yang berbeda seperti urea dan ammonium nitrate sebanyak 1 g/L dalam medium.

Semua kultur uji di inkubasi pada suhu ruang selama 8 hari pada kondisi gelap menggunakan rotary shaker dengan kecepatan 120 rpm. Masing masing uji dilakukan dengan 3 kali pengulangan [13].

D. Analisis Persentase Degradasi

Pengukuran persentase degradasi atrazin dilakukan tiap 2 hari sekali dari hari ke-0 hingga hari ke-8 masa inkubasi (H0, H2, H4, H6, dan H8) menggunakan panjang gelombang maksimum atrazin, yaitu 222 nm [7]. Pada masing-masing kultur isolat yang berisi 54 mL medium

AMS serta atrazin konsentrasi $60 \mu g/L$, diukur absorbansinya sebelum diinkubasi (H0) dan setelah diinkubasi (H2, H4, H6, dan H8) pada panjang gelombang 222 nm, yaitu dengan cara mengambil sebanyak 3 mL kultur dan disentrifugasi pada kecepatan $9000 \times g$ selama 20 menit dengan suhu $4^\circ C$. Supernatan diambil dengan disaring melalui $0,2 \mu m$ membrane filter, lalu filtrat dimasukkan dalam diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan λ 222 nm. Persentase degradasi atrazin ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut [15]:

$$\text{Persen degradasi} = Ab - \frac{Aa}{Ab} \times 100$$

Keterangan:

1. Ab Absorbansi senyawa sebelum degradasi pada panjang gelombang 222 nm
2. Aa Absorbansi senyawa pada panjang gelombang 222 nm setelah degradasi.

Pada tiap perlakuan, dilakukan tiga kali pengulangan dengan sampel tanpa penambahan sumber nutrisi sebagai kontrolnya.

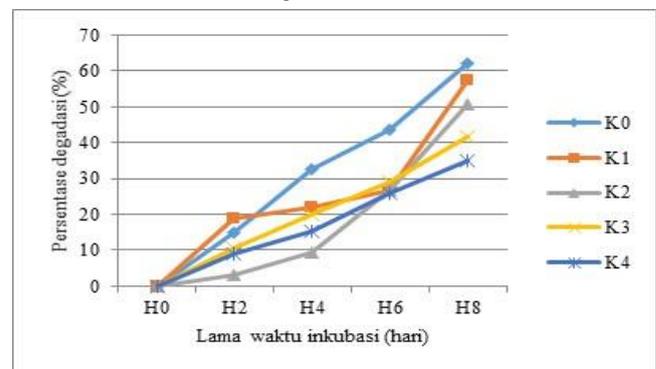
E. Analisis Viabilitas Sel

Uji viabilitas khamir sebagai agen degradasi atrazin dilakukan menggunakan metode TPC. Perhitungan TPC dilakukan menggunakan medium YMEA. 1 mL Biakan dimasukkan ke dalam akuadest steril 9 ml, suspensi dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi sel khamir kemudian di encerkan hingga tingkat pengenceran 10^{-4} . Sebanyak 1 ml dari suspensi pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} diinokulasikan dengan metode pour plate menggunakan medium YMEA. Inkubasi selama 48 jam pada suhu $28^\circ C$. Perhitungan Colony Forming Unit (CFU) dengan rumus berikut [16]:

$$\begin{aligned} & \text{Jumlah CFU/ml} \\ &= \frac{\text{Jumlah rata - rata koloni yang tumbuh}}{\text{Volume inokulum X faktor pengenceran}} \end{aligned}$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisa Persentase Degradasi.



Gambar 1. Grafik Persentase Degradasi atrazin (%).

Keterangan: K0: Kontrol (AMS+Isolat), K1: AMS+ glukosa+ isolat, K2: AMS+ laktosa+ isolat, K3: AMS+ Urea+ isolat, K4: AMS+ Ammonium nitrat+isolat, H0: Hari ke 0, H2: Hari ke 2, H4: Hari ke 4, H6: Hari ke 6, H8: Hari ke 8.

Biodegradasi merupakan perombakan atau pemecahan bahan organik yang dilakukan oleh agen biologis. Proses ini berupa rangkaian reaksi biokimia yang memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai [17]. Pada proses biodegradasi atrazin, penurunan konsentrasi atrazin diakibatkan adanya mineralisasi atrazin yang dilakukan mikroorganisme [18]. Persentase degradasi atrazin dilakukan dengan mengukur

absorbansi filtrat yang merupakan hasil sentrifugasi dan filtrasi masing-masing kultur uji pada H0, H2, H4, H6 dan H8. Hasil persentase degradasi digambarkan melalui Gambar 1.

Persentase degradasi atrazin oleh TB1 mengalami peningkatan dari H0 sampai H8. Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir mampu mendegradasi atrazin yang terdapat dalam medium. Selain itu, semakin lama waktu inkubasi maka kadar atrazin akan semakin berkurang. Hal ini menandakan bahwa mikroorganisme seperti khamir dapat memanfaatkan suatu substrat dalam medium. Ketersediaan atrazin dalam medium yang terus berkurang juga menandakan bahwa atrazin dapat menjadi sumber nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh sel mikroorganisme [19]. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa atrazin dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme tertentu sebagai sumber karbon dan nitrogen [5].

Dapat dilihat pada Gambar 1 dimana jenis perlakuan K0 mengalami persentase degradasi yang paling besar pada hari ke 8 yaitu sebesar 62,18%. Kemudian diikuti dengan jenis perlakuan K1 dan K2 pada lama waktu H8 yaitu sebesar 57,49% dan 50,70%. Sedangkan untuk perlakuan K3 dan K4 pada lama waktu H8 mendapatkan hasil persentase degradasi 41,63% dan 34,81%. Jika dibandingkan dengan perlakuan medium tanpa penambahan nutrisi (kontrol/K0) pencapaian persentase degradasi dari tiap perlakuan lebih kecil. Namun dari perlakuan penambahan sumber karbon dan nitrogen, kelompok penambahan nutrisi karbon memiliki pencapaian persentase degradasi lebih besar dibandingkan dengan penambahan nitrogen.

Penambahan sumber karbon seperti glukosa (K1) pada proses degradasi atrazin dapat mengakibatkan adanya kometabolisme atau adanya stimulasi penambahan sumber nutrisi lain untuk memanfaatkan sumber nutrisi pokok [20]. Hal ini disebabkan oleh penambahan glukosa berperan dalam membantu metabolisme biakan *Candida* dalam suatu medium [21]. Pada perlakuan penambahan laktosa (K2) pencapaian persentase degradasi berada pada posisi ketiga setelah perlakuan penambahan glukosa. Hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan kelompok *Candida* dalam memfermentasi jenis karbohidrat laktosa. Ketidakmampuan dalam fermentasi laktosa dapat di buktikan dengan melakukan uji biokimia, jika menunjukkan hasil negatif maka dapat di simpulkan bahwa *Candida* tidak dapat memanfaatkan laktosa sebagai sumber nutrisi [22]. Oleh karena itu pada perlakuan penambahan laktosa diketahui bahwa persentase degradasi yang cukup besar menandakan bahwa *Candida* TB1 memanfaatkan atrazin secara optimal sebagai sumber karbon dan nitrogen.

Pada penggunaan sumber Nitrogen yaitu penambahan ammonium nitrat (K3) dan urea (K4) menunjukkan persentase yang lebih rendah daripada perlakuan penambahan nitrogen. Hal ini dapat diasumsikan bahwa pemanfaatan atrazin sebagai sumber karbon dan nitrogen tidak optimal. Ammonium nitrat dan urea merupakan salah satu contoh sumber nitrogen untuk sel khamir. Nitrogen merupakan salah satu makronutrien penting bagi kelangsungan hidup sel khamir, nitrogen memiliki peran dalam komponen biosintesis asam amino, asam nukleat dan metabolit sekunder. Nutrisi nitrogen tersedia dalam bentuk organik dan anorganik. Amonium nitrat merupakan salah satu nitrogen anorganik sedangkan urea merupakan nitrogen organik [23]. Hasil persentase degradasi perlakuan penambahan amonium nitrat (K3) lebih tinggi daripada

penambahan urea (K4). Hal ini dapat di sebabkan oleh ketertarikan sel khamir dalam memanfaatkan nutrisi nitrogen. Rendahnya persentase degradasi pada perlakuan K4 menandakan bahwa sel khamir lebih memanfaatkan urea daripada amonium nitrat. Urea sebagai nitrogen organik dapat berperan sebagai peningkatan metabolisme sel khamir sedangkan amonium nitrat sebagai nitrogen anorganik dapat berperan dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder [24].

Penambahan sumber karbon dan nitrogen pada degradasi atrazin memberikan hasil penurunan persentase degradasi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (K0), Penambahan sumber nutrisi menunjukkan efek negatif pada biodegradasi atrazin. Sebagai contoh penambahan sumber nitrogen dalam proses degradasi atrazin menekan mineralisasi atrazin. Hal ini diakibatkan oleh ketersediaan nitrogen lain menekan katabolisme senyawa atrazin yang dilakukan oleh mikroorganisme, karena mikroorganisme lebih memilih memanfaatkan sumber nitrogen eksternal daripada rantai N yang terdapat pada struktur senyawa atrazin [5].

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh perlakuan penambahan sumber karbon dan lama waktu terhadap persentase degradasi dilakukan uji statistik. Normalitas data diuji dengan menggunakan *Kolmogorov-smirnov* dan homogenitas diuji menggunakan *Levene Test*. Hasil uji menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi $0,283 > 0,05$ (lampiran 5) namun tidak homogen dengan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ Menurut [25] apabila ukuran data beskala besar > 30 , maka homogenitas tidak berpengaruh, dan uji lanjut dapat menggunakan *ANOVA* dengan syarat data normal. Sehingga untuk mengetahui pengaruh penambahan sumber karbon dan nitrogen dan waktu terhadap presentase, maka dilakukan uji *ANOVA Two Way test*, hasil uji interaksi perlakuan dan lama waktu menunjukkan nilai sig $0,000 > 0,05$ hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan penambahan sumber nutrisi dan lama waktu berpengaruh terhadap persentase degradasi atrazin. Dikarenakan data bersifat tidak homogen, maka digunakan uji lanjut dengan *Games Howell* untuk melihat kelompok perlakuan mana yang menunjukkan perbedaan signifikan. Berdasarkan hasil uji *Games Howell*, perlakuan yang menunjukkan nilai signifikansi terbanyak adalah K0H8 (kontrol hari ke-8) dimana data tersebut memiliki nilai persentase tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain kecuali perlakuan K1H8 (penambahan glukosa hari ke-8) dan K2H8 (penambahan laktosa hari ke-8). Data terbesar K0H8 mencapai persentase degradasi 62,18%.

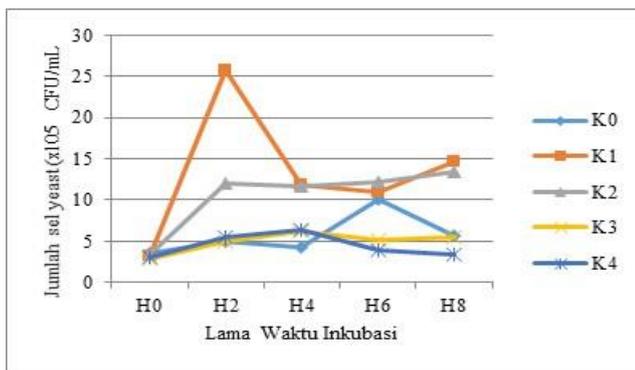
B. Analisa Viabilitas Khamir

Pertumbuhan sel khamir dihitung menggunakan metode TPC dengan pengenceran bertingkat dan dilakukan pengamatan pada hari ke 0, hari ke 2, hari ke 4, hari ke 6 dan hari ke 8. Metode TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam suatu kultur dengan cara menghitung koloni mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media agar [26]. Hasil uji viabilitas sel dapat digambarkan melalui Gambar 2. Berdasarkan hasil uji terlihat bahwa hampir pada semua perlakuan jumlah sel khamir terjadi fluktuatif dari H0 sampai H8. Peningkatan dan penurunan pertumbuhan jumlah sel khamir yang tumbuh pada medium TPC dapat diakibatkan karena viabilitas mikroorganisme dipengaruhi oleh kondisi lingkungan atau faktor yang dapat

mempengaruhi pertumbuhan khamir pada medium seperti suhu, pH, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat yang dapat digunakan oleh khamir untuk tumbuh [27].

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui bahwa rata-rata hasil TPC terbesar yaitu pada jenis perlakuan K1 dengan lama waktu inkubasi 2 hari yaitu sebesar $25,7 \times 10^5$ CFU/mL. Pada perlakuan kontrol (K0) sel khamir tetap mengalami pertumbuhan, hal ini dikarenakan meskipun tidak ada penambahan sumber nutrisi isolat khamir tetap dapat memanfaatkan atrazin yang ditambahkan dalam suatu media sebagai sumber karbon dan nitrogen [28].

Dari data tersebut hasil perlakuan yang paling tinggi yaitu dari perlakuan penambahan sumber nutrisi karbon (K1 dan K2) dibandingkan dengan data kontrol (K0) dan perlakuan penambahan sumber nutrisi nitrogen (K3 dan K4). Sumber karbon merupakan bahan organik dalam bentuk nutrisi yang dimanfaatkan oleh sel khamir untuk pertumbuhan. Sel-sel khamir menyerap sumber karbon untuk pembentukan sel-sel tubuh sehingga jumlah koloni khamir akan semakin meningkat. Kelompok gula monosakarida yang sering digunakan sebagai sumber karbon utama pada pertumbuhan mikroorganisme adalah glukosa memiliki susunan rantai karbon sederhana yang lebih mudah dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisi [29]. Oleh karena itu pada perlakuan penambahan glukosa (K1) mengalami pertumbuhan optimal dan terbesar daripada perlakuan lain pada hari ke-2 (H2). Hasil viabilitas sel disusul oleh penambahan nutrisi laktosa (K2). Pada perlakuan K2 mengalami peningkatan jumlah sel pada hari ke-2, sedangkan hari ke-2 sampai 4 pertumbuhan sel mengalami fase stasioner. Kenaikan sel terjadi lagi pada hari ke-6 hingga ke-8.



Gambar 2. Rata-rata Viabilitas Sel.

Keterangan: K0: Kontrol (AMS+Isolat), K1: AMS+ glukosa+ isolat, K2: AMS+ laktosa+ isolat, K3: AMS+ Urea+ isolat, K4: AMS+ Ammonium nitrat+isolat, H0: Hari ke 0, H2: Hari ke 2, H4: Hari ke 4, H6: Hari ke 6, H8: Hari ke 8.

Kenaikan sel dapat diakibatkan oleh pengoptimalkan sel khamir dalam memanfaatkan substrat dalam medium. *Candida TB1* tidak mampu memfermentasi laktosa, sesuai dengan uji biokimia yang menunjukkan hasil negatif pada uji fermentasi laktosa [24]. *Candida TB1* secara optimal memanfaatkan atrazin yang ada dalam medium sebagai sumber karbon dan nitrogen. Hal ini terjadi pula pada perlakuan tanpa penambahan sumber nutrisi (K0). Sel khamir tidak memperoleh sumber nutrisi eksternal yang mendukung peningkatan jumlah sel sehingga sel-sel khamir memanfaatkan atrazin sebagai satu-satunya sumber karbon dan nitrogen.

Pada perlakuan penambahan sumber nitrogen amonium nitrat (K3) dan urea (K4) menunjukkan hasil viabilitas sel

yang cenderung lebih rendah dari perlakuan dengan penambahan karbon. Hal ini dapat disebabkan oleh rendahnya unsur C pada substrat membuat ketiga perlakuan menunjukkan hasil yang rendah daripada perlakuan penambahan karbon. Sesuai literatur yang menyatakan bahwa karbon merupakan kelompok monosakarida yang berfungsi sebagai peningkat metabolisme sel khamir dan pertumbuhan sel [21]. Sedangkan Nutrisi lain yang dimanfaatkan sel khamir adalah nitrogen. Khamir mampu menggunakan sumber nitrogen organik maupun anorganik yang digunakan sebagai energi dan sintesis komponen struktur sel fungsional di dalam sel [30].

Selanjutnya analisis data dilakukan dengan uji statistik nonparametrik dengan taraf kepercayaan 0.05. Berdasarkan uji normalitas data yang didapatkan dari perhitungan jumlah total sel khamir tidak berdistribusi normal dengan nilai signifikansi 0,001. Sehingga dilakukan analisis secara nonparametrik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan nilai signifikansi pada uji Kruskal Wallis yaitu $\text{sig} < 0,05$ yang berarti kombinasi perlakuan penambahan sumber nutrisi dan lama waktu berpengaruh terhadap pertumbuhan jumlah sel khamir. Untuk mengetahui nilai signifikansi maka dilakukan uji *Man-Whitney U test*. Jika $\text{sig} < 0,05$ maka H_0 ditolak dan jika nilai $\text{sig} > 0,05$ maka H_0 diterima [31].

Dari hasil uji diketahui bahwa Perbedaan sumber nutrisi mempengaruhi *trend* atau kecenderungan viabilitas sel. Perlakuan K1, K2 dan K3 menunjukkan kecenderungan peningkatan jumlah sel pada hari ke-6 hingga hari ke-8 dan tidak terdapat perbedaan signifikan, hal ini sesuai dengan *trend* persentase degradasi K1, K2 dan K3 yang menunjukkan peningkatan pada hari ke-6 hingga hari ke-8. Sebaliknya, pada perlakuan K0 dan K4 pada hari ke-6 hingga hari ke-8 cenderung menurun namun persentase degradasi tetap meningkat. Perlakuan K2 dan K0 memiliki asumsi yang sama dimana *Candida TB1* memanfaatkan atrazin sebagai satu-satunya sumber karbon dan nitrogen namun *trend* viabilitas K2 berada pada posisi kedua setelah K1 sedangkan K0 berada di bawah K2. Akan tetapi, perlakuan K2 dan K0 memiliki *trend* yang hampir sama dan tidak berbeda signifikan pada lama waktu inkubasi hari ke-0 hingga hari ke-8. Pada uji signifikansi Mann Whitney kelompok perlakuan K4 Pada lama waktu H0, H2, dan H6 memberikan nilai signifikansi yang paling banyak dibandingkan kelompok perlakuan lain.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini penambahan sumber karbon dan nitrogen serta lama waktu berpengaruh terhadap persentase degradasi atrazin dan viabilitas sel. Persentase degradasi atrazin yang memiliki perbedaan signifikan terbesar ditunjukkan pada perlakuan K0 hari ke 8 dengan besar presentasi mencapai 62,18 % sedangkan viabilitas sel yang memiliki perbedaan signifikan terbesar ditunjukkan pada perlakuan (K4) pada H0, H2 dan H6. Hal ini ditunjukkan dari penurunan viabilitas sel pada perlakuan penambahan urea

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. Solomon, A. Kumar, and V. S. Santhi, "Atrazine biodegradation efficiency, metabolite detection, and trzD gene expression by enrichment bacterial cultures from agricultural soil," *J. Zhejiang Univ. B (Biomedicine Biotechnol.*, vol. 14, no. 12, pp. 1162–1172, 2013.

- [2] H. Kalantari, M. R. Amirmoezi, Z. N. Khorasgani, A. Behfar, and A. Ameri, "Comparison atrazin concentration levels in the water at the inlet to the bottled water factories and water treatment plant no. 2 in ahvaz city and outlet water of them after the water treatment process," *Int. J. Curr. Res. Chem. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 5, pp. 53–58, 2016.
- [3] Y. Zhang, B. Cao, Z. Jiang, X. Dong, M. Hu, and Z. Wang., "Metabolic ability and individual characteristics of an atrazin degrading consortium DNC5," *J. Hazard. Mater.*, 2012.
- [4] S. Singh *et al.*, "Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazin," *Environ. Chem. Lett.*, vol. 16, no. 1, pp. 211–237, 2018.
- [5] M. Dehghani, S. Nasser, and H. Hashemi., "Study of the bioremediation of atrazin under variable carbon and nitrogen sources by mixed bacterial consortium isolated from corn field soil in fars province of iran," *J. Environ. Public Heal.*, 2013.
- [6] D. O. Satife, A. Rahmawati, and M. Yazid, "Potensi khamir pada pengurangan konsentrasi uranium dalam limbah organik tpb-kerosin yang mengandung uranium," in *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX*, 2011.
- [7] E. A. Abigail, V. Lakshmi, and N. Das, "Biodegradation of atrazin by *Cryptococcus laurentii* isolated from contaminated agricultural soil," *J. Microbiol. Biotechnol. Res.*, vol. 2, no. 3, 2012.
- [8] S. Hogg, *Essential Microbiology*. England: Wiley.
- [9] J. Puspitasari and Khaeruddin, "Kajian bioremediasi pada tanah tercemar pestisida," *Kovalen*, vol. 2, no. 3, 2016.
- [10] R. Broach, "Nutritional control of growth and development in khamir," *Genetics*, vol. 192, 2012.
- [11] Wardani and R. Agustini, "Effect of concentration khamir hydrolysate enzymatic (yhe) as supplements culture media for growth *Lactobacillus bulgaricus*," *UNESA J. Chem.*, vol. 6, no. 1, 2017.
- [12] R. Abdelhafid, S. Houot, and E. Barriuso., "Dependence of atrazin degradation on c and n availability in adapted and non adapted soils," *Oil Biol. Biochem.*, vol. 32, pp. 389–401, 2000.
- [13] A. Abigail and N. Das., "Removal of atrazin from aqueous environment using immobilized *Pichia kudriavzevii* atz-en-01 by two different methods," *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 104, pp. 53–58, 2015.
- [14] S. Puspasari and N.H. Alami, "Uji Potensi Khamir yang Diisolasi dari Rizosfer dalam Menghasilkan IAA dan Antifungal," Surabaya, 2017.
- [15] B. Rokade and G. V. Mali, "Biodegradation of chlorpyrifos by *Pseudomonas desmolyticum* ncm 2112," *Int. J. Pharma Bio Sci.*, vol. 4, no. 2, pp. 609 – 616, 2012.
- [16] D. Marham, Y. Rustam, and D. Sukmawati, "Uji kemampuan antagonisme khamir asal daun jati (*Tectona grandis*) terhadap kapang pengkontaminan pada pakan ternak ayam," *Bioma*, vol. 12, no. 2, pp. 49–56, 2016.
- [17] A. Nugroho, *Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi*. Jakarta: Bumi Aksara, 2003.
- [18] Govantes, O.Porrúa, V. G. González, and E. Santero, "Atrazin biodegradation in the lab and in the field: enzymatic activities and gene regulation," *Microb. Biotechnol.*, vol. 2, no. 2, pp. 178–185, 2009.
- [19] Y. Supriatin and M.Rahayyu, "Modification Of Carry-Blair Transport Media For Storage *Salmonella typhi*," *J. Teknol. Lab.*, vol. 5, no. 2, pp. 72–73, 2016.
- [20] A. Ngigi *et al.*, "Effects of carbon amendment on in situ atrazin degradation and total microbial biomass," *J. Environ. Sci. Heal.*, vol. 48, 2013.
- [21] W. Getas, "Pengaruh penambahan glukosa dan waktu inkubasi pada media sda (sabaroud dextrose agar) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*," *Media Bina Ilmiah*, vol. 8, no. 1, 2014.
- [22] R. Tjampakasari, "Karakteristik *Candida albicans*," *Cermin Dunia Kedokt.*, vol. 151, pp. 33–36, 2006.
- [23] L. Gandjar, W. Samsurizdal, and A. Oetari, "Mikologi: dasar dan terapan," Jakarta, 2006.
- [24] M. Carels. and Sherpherd, "The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture," *Can. J. Microbiol.*, vol. 23, pp. 1360–1372, 1977.
- [25] Whidiarso, "Sedikit uji Homogenitas Data," *ugm.ac.id*, 2018. [Online]. Available: www.widhiarso.staff.ugm.ac.id/wp/?s=homogenitas+data.
- [26] M. Yunita, Y. Hendrawan, and R. Yulianingsih, "Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) Dengan Metode Pour Plate," *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosist.*, vol. 3, no. 3, pp. 237–248, 2015.
- [27] A. Rahman, Y. Tashiro, and K. Sonomoto, "Recent Advances In Lactic Acid Production By Microbial Fermentation Processes," *Biotechnol. Adv.*, vol. 31, 2013.
- [28] A. Omotayo, M. Ilori, O. Obayori, and O. Amund, "Influence of pH, temperature and nutrient addition on the degradation of atrazin by *Nocardioide* spp. isolated from agricultural soil in Nigeria," *Malays. J. Microbiol.*, vol. 12, no. 4, pp. 270–278, 2016.
- [29] Safitri, T. C. Sunarti, and A. Meryandini, "Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu," *J. Sumberd. Hayati*, vol. 2, no. 2, pp. 31–38, 2016.
- [30] Yurliasni and Y. Zakaria, "Kajian penambahan khamir *Kluyveromyces lactis*, *Candida curiosa* dan *Brettanomyces custersii* asal dadih terhadap konsentrasi asam-asam amino, lemak, organik dan karbohidrat susu kerbau fermentasi (dadih)," *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fis.*, vol. 15, no. 1, pp. 54 – 59, 2013.
- [31] P. Permatasari, H. Dini, and F. Raudhatul, "Efektifitas Media Mind Map Berbasis Metode Jenjang terhadap Hasil Ressitensi," *Ar-Razi J. Ilm.*, vol. 5, no. 2, 2017.