

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI Ralstonia pickettii TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH Phlebia brevispora

DEWI KUSUMANING AYU NRP 1412 100 090

Dosen Pembimbing I Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Dosen Pembimbing II Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

JURUSAN KIMIA FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER SURABAYA 2016



THE EFFECT OF ADDITION OF BACTERIA Ralstonia pickettii ON BIODEGRADATION DDT BY WHITE ROT FUNGUS Phlebia brevispora

DEWI KUSUMANING AYU NRP 1412 100 090

Supervisor I Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Supervisor II Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI Ralstonia pickettii
TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH Phlebia brevispora

SKRIPSI

Disusun oleh:

DEWI KUSUMANING AYU NRP 1412 100 090

Surabaya, 3 Juni 2016

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

In And

Drs. Refdinal Nawfa, MS. NIP 19580425 198701 2001

Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

NIP 19800724 200812 1 002

Mengetahui, Ketua Jurusan Kimia

Prof. Dr. Didik Prasetvoko, S.Si., M.Sc. NIP 19710616 199703 1 002

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI Ralstonia pickettii TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH Phlebia brevispora

Nama : Dewi Kusumaning Ayu

NRP : 1412 100 090

Jurusan : Kimia FMIPA - ITS

Dosen Pembimbing I: Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Dosen Pembimbing II: Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

Abstrak

1,1,1-Trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT) telah secara luas dalam beberapa dekade untuk mengendalikan hama dalam pertanian dan serangga penyebar penyakit seperti tipus dan malaria. Residu dari DDT bersifat lipofilik dan sulit didegradasi, sehingga diperlukan proses degradasi yang efektif oleh mikroorganisme. Pada penelitian ini diamati pengaruh penambahan bakteri Ralstonia pickettii terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Phlebia* brevispora. R. pickettii ditambahkan ke dalam 10 mL kultur P. brevispora masing-masing sebesar 0, 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL $\approx 1,337 \times 10^9$ sel). Degradasi DDT tertinggi ditunjukkan pada penambahan 10 mL *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 100% sedangkan jumlah degradasi DDT terendah terjadi pada penambahan 1 mL R. pickettii dengan jumlah degradasi sebesar 44%. Metabolit produk yang dihasilkan dari proses degradasi ini adalah 1,1-Dikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDD) dan asam 2.2-Bis(4-klorofenil)asetat (DDMU).

Kata kunci: Biodegradasi, Phlebia brevispora, Ralstonia pickettii, DDT, DDD, DDMU.

THE EFFECT OF ADDITION OF Ralstonia pickettii ON BIODEGRADATION OF DDT BY WHITE ROT FUNGUS Phlebia brevispora

Name : Dewi Kusumaning Ayu

NRP : 1412 100 090

Department : Kimia FMIPA - ITS

Supervisor I : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Supervisor II : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

Abstract

1,1,1-Trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDT) has been used extensively in the past few decades as an insecticide for protection of crops and for the control of vector-borne diseases like thypus and malaria. DDT residues are lipophilic and very difficult to degrade in the environment. Therefore, the effective method of its degradation process by microorganisms is needed. In this study effect of addition of Ralstonia pickettii on DDT biodegradation by *Phlebia brevispora* was observed. R. pickettii was added into 10 mL P. brevispora culture at 0, 1, 3, 5, 7 and 10 mL (1 mL ≈ 1.337 x 10^9 cells). P. brevispora degraded DDT aproxymately 44% during 7 days incubation period. The addition of 10 mL of R. pickettii in P. brevispora culture enhanced DDT degradation by degrading DDT completely. 1,1-Dichloro-2,2bis(4-chlorophenyl)ethane (DDD) and 2,2-Bis(4chlorophenyl)acetic acid (DDMU) were detected as metabolite products of mixed cultures P. brevispora and R. picketti. It indicated that R. picketti could enhance DDT degradation by P. brevispora.

Keywords: Biodegradation, Phlebia brevispora, Ralstonia pickettii, DDT, DDD, DDMU.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi yang berjudul "Pengaruh Penambahan Bakteri Ralstonia pickettii terhadap Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih Phlebia brevispora" dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih terutama disampaikan kepada:

- 1. Drs. Refdinal Nawfa, MS dan Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang memberi pengarahan dan bimbingan dalam menjalankan tugas akhir saya
- 2. Drs. Eko Santoso, M.Si selaku dosen wali yang selalu memberi pengarahan selama menjalankan proses perkuliahan
- 3. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA ITS atas fasilitas dan pengarahan yang diberikan selama ini
- 4. Keluarga saya yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk saya
- 5. Sahabat saya Naquib, Monica, Rossy, Serafine, Dhea, Dea, Dana, Inda dan teman-teman mahasiswa Kimia FMIPA, SPECTRA, dan teman-teman laboratorium mikroorganisme yang selalu membantu, memberikan semangat, doa dan dukungannya
- 6. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu

Semoga skripsi ini memberikan manfaat, baik bagi penulis maupun pembaca dalam upaya menambah wawasan tentang ilmu kimia.

Surabaya, 3 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

KATA I	PENGANTAR	vii	
DAFTA	R ISI	viii	
DAFTA	R GAMBAR	xi	
DAFTA	R TABEL	xiii	
BAB I PENDAHULUAN			
1.1	Latar Belakang	1	
1.2	Rumusan Masalah	3	
1.3	Batasan Masalah.	3	
1.4	Tujuan Penelitian (()	3	
1.5	Manfaat Penelitian	3	
BAB II	ΓΙΝ <mark>J</mark> AUAN P <mark>US</mark> TAKA	5	
2.1	Pestisida	5	
2.2	Pestisida Organoklorin	5	
2.3	1,1,1-Trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT)		
2.4	Jamur Pelapuk Putih	8	
2.5	Phlebia Brevispora	9	
2.6	Ralstonia Pickettii	9	
2.7	Bioremediasi	10	
2.8	Biodegradasi		
2.8.1	Biodegradasi DDT	13	
	8.1.1 Biodegradasi DDT oleh Bakteri		
2.	8.1.2 Biodegradasi DDT oleh Jamur	14	
2.9	Metode Analisis	16	
2.	9.1 Ekstraksi Cair-cair	16	
2.	9.2 Spektrofotometri UV-Vis	17	

2.9.3 Gabungan Kromatograi Gas dan Spektrometri I (GC-MS)	
2.9.4 Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau in performance liquid chromatography (HPLC)	
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1 Alat dan Bahan	27
3.1.1 Alat	27
3.1.2 Bahan	27
3.2 Prosedur Penelitian	27
3.2.1 Regenerasi Jamur P. brevispora	27
3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur P. brevispora	28
3.2.3 Regenerasi Bakteri R. pickettii	28
3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan R. pickettii	28
3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri R. pickettii	28
3.2.6 Pembuatan Kurva Standar DDT	28
3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Jamur P. brevispora	29
3.2.8 Biodegradasi DDT oleh Bakteri R. pickettii	29
3.2.9 Pengaruh Penambahan <i>R. pickettii</i> terhadap Biodegradasi DDT oleh <i>P. brevispora</i>	29
3.2.10 Perolehan Kembali (Recovery) DDT	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Kultur Jamur <i>P. brevispora</i>	33
4.1.1 Regenerasi Jamur P. brevispora	33
4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur P. brevispora	34
4.2 Kultur Bakteri <i>Ralstonia Pickettii</i>	34
4.2.1 Regenerasi Kultur bakteri R. nickettii	34

4.2.2 Kurva Pertumbuhan R. pickettii35
4.2.3 Persiapan Kultur Cair Bakteri R. pickettii38
4.3 Kurva Standar DDT38
4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT41
4.4.1 Biodegradasi DDT oleh P. brevispora41
4.4.2 Biodegradasi DDT oleh R. pickettii49
4.4.3 Pengaruh Penambahan R. pickettii terhadap biodegradasi DDT oleh P. brevispora53
4.4.4 Perkiraan Jalur Degradasi DDT Hasil Penelitian
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan
5.2 Saran 59
DAFTAR PUSTAKA61
LAMPIRAN1
Lampiran 1. Skema Kerja69
Lampiran 2. Perhitungan70
Lampiran 3. Data Analis is Sampel dengan HPLC72
BIODATA PENULIS

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur kimia DDT	7
Gambar 2. 2 Jalur biodegradasi DDT oleh bakteri, penelitian	
yang dilakukan oleh Wedemeyer (1967), Langlois	
dkk. (1970), Pfander dan Alexander (1972)	14
Gambar 2. 3 Jalur utama biodegradasi DDT oleh P.	
chrysosporium (Bumpus dan Aust, 1987)	15
Gambar 2. 4 Skema alat Spektrofotometer UV-Vis	
Gambar 2. 5 Kromatogram GC senyawa DDT dan metabolitnya	
(Kang, 2016)	
Gambar 2. 6 Spektrum MS senyawa DDT (NIST, 2016)	
Gambar 2. 7 Skema alat GC-MS	22
Gambar 2. 8 Skema alat HPLC	23
Gambar 2. 9 Contoh kromatogram HPLC hasil analisa	
degradasi DDT	24
Gambar 4. 1 Kurva Pertumbuhan R. pickettii	37
Gambar 4. 2 Kurva Standar DDT	
Gambar 4. 3 Kromatogram GC sampel P. brevispora	44
Gambar 4. 4 Spektrum MS Pirena pada database	44
Gambar 4. 5 Spektrum MS Pirena pada sampel jamur	45
Gambar 4. 6 Spektrum MS DDT pada database	46
Gambar 4. 7 Spektrum MS DDT sampel jamur	46
Gambar 4. 8 Spektrum MS DDD pada database	47
Gambar 4. 9 Spektrum MS DDD pada sampel jamur	
Gambar 4. 10 Spektrum MS DDMU pada database	
Gambar 4. 11 Sepktra MS DDMU pada sampel jamur	49
Gambar 4. 12 Kromatogram GC pada sampel R. pickettii	51
Gambar 4. 13 Spektrum MS DDE pada database	52
Gambar 4. 14 Spektrum MS DDE pada sampel bakteri	52
Gambar 4. 15 Grafik Degradasi DDT oleh P. brevispora dengan	n
penambahan R. pickettii	
Gambar 4. 16 Kromatogram GC Degradasi DDT oleh P.	
brevispora dengan Penambahan R. pickettii	55
Gambar 4. 17 Spektrum MS DDMU pada Sampe Campuran	56

Gambar 4. 18 Spektrum MS DDD pada Sampel Campuran 5 Gambar 4. 19 Jalur Degradasi DDT oleh <i>P. brevispora</i> dengan					
	penambahan R. pi	ckettii		58	

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Data Kurva Standar DDT				

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bertambahnya penduduk dan meningkatnya kebutuhan manusia akan pangan menyebabkan pertanian tradisional berkembang menjadi pertanian agrobisnis yang menerapkan berbagai teknologi. Perkembangan agrobisnis berawal dari revolusi pertanian di Eropa yang terjadi pada tahun 1750-1880 M. Dari sinilah pertanian mulai berkembang menjadi pertanian komersial yang menerapkan teknologi dan menekan berbagai faktor pembatasnya, termasuk pengendalian hama (Sastroutomo, 1992).

Pada awal abad ke-20 pengendalian hama mulai berkembang dengan terbitnya buku *Insect Pest of Farm, Garden and Orchard* karya E. Dwigt Sanderson pada tahun 1915. Selanjutnya revolusi pengendalian hama berkembang dengan penggunaan 1,1,1-Trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT) dan pestisida organik lainnya. Hampir semua kegiatan pertanian di seluruh dunia yang dilakukan secara industri menerapkan pengendalian hama dengan menggunakan DDT. Bersamaan dengan itu bermunculan pabrik pestisida pada awal tahun 1900-an (Kusnaedi, 2005).

DDT adalah insektisida sintesis organoklorin yang paling umum dikenal oleh masyarakat. DDT memiliki sifat sangat berbahaya dan mempunyai daya tahan yang lama jika terikat pada ekosistem serta jaringan organisme (Indraningsih dan Widiastuti, 1998). DDT memiliki sifat yang cenderung untuk terakumulasi dalam tubuh manusia, hewan, burung, dan lingkungan (Marrs, 2004), karena senyawa ini sangat lipofilik atau mudah larut dalam lemak (Sumardjo, 2008). Pada tahun 1962, Rachel Carson mempublikasikan buku *Silent Spring* yang memberikan informasi dampak negatif dari pestsida sintetik termasuk DDT terhadap lingkungan dan makhluk hidup. Akhirnya, Amerika Serikat melarang penggunaan DDT pada tahun 1972 (Kusnaedi, 2005).

Kontaminan DDT dapat ditangani secara kimia dan fisika. Namun, metode paling aman, efisien, dan biaya yang rendah adalah dengan metode biodegradasi. Biodegradasi didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi senyawa organik dan anorganik oleh mikroorganisme, baik di tanah dan perairan (Ariesyady, 2011).

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk biodegradasi adalah jamur. Di alam terdapat tiga kelompok jamur yang dapat menguraikan komponen kayu (lignoselulosa) yaitu pelapuk coklat (brown rot), pelapuk putih (white rot) dan pelapuk lunak (soft rot). Jamur pelapuk putih (JPP) mampu menghasilkan enzim lakase, lignin peroksidase (Li-P) serta Mangan peroksidase (Mn-P) dengan aktivitas yang tinggi dan diketahui dapat dimanfaatkan untuk proses degradasi lignin, bioremediasi dan biodegradasi polutan organik (klorofenol dan polisiklik aromatik hidrokarbon) (Thurston, 1994). *Phlebia brevispora* merupakan jenis jamur pelapuk putih yang menghasilkan enzim MnP dan LiP (Orth, 1993), sehingga mampu mendegradasi DDT yang memiliki kesamaan struktur dengan lignin. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xiao dkk (2011), menunjukkan bahwa DDT dapat didegradasi oleh jamur pelapuk putih P. brevispora sebesar 30% selama 21 hari. Hasil ini relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga diperlukan metode baru untuk meningkatkan degradasi DDT oleh jamur P. brevispora.

Pada penelitian ini, penambahan bakteri *Ralstonia pickettii* pada biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *P. brevispora* telah diuji. Bakteri *R. pickettii* merupakan bakteri Gram negatif (Gilligan, 2003) yang dapat mendegradasi beberapa senyawa berbahaya seperti Benzen (Kukor, 1992), (Massol-Deya, 1997), 2,4,6-trichlorophenol (Takizawa, 1995), dan pentaphenol (Kiyohara, 1992). Berdasarkan kemampuan bakteri tersebut, *R. pickettii* diperkirakan dapat meningkatkan kemampuan *P. brevispora* dalam mendegradasi DDT.

1.2 Rumusan Masalah

Jamur P. brevispora memiliki potensi untuk mendegradasi DDT. Akan tetapi, kemampuannya masih relatif rendah dan membutuhkan waktu lama. sehingga diperlukan yang metode untuk meningkatkan degradasinya. pengembangan Bakteri R. pickettii dapat mendegradasi beberapa senyawa berbahaya, sehingga penambahan bakteri ini diharapkan dapat memberikan pengaruh positif dalam meningkatkan proses degradasi DDT oleh jamur P. brevispora. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri R. pickettii terhadap biodegradasi DDT oleh jamur P. brevispora.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada variasi konsentrasi bakteri *R. pickettii* yang ditambahkan ke dalam kultur *P. brevispora* yaitu 0, 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL ≈ 1,337 x 10⁹ sel bakteri *R. pickettii*/ml kultur), dengan volume total campuran jamur dan bakteri yaitu 20 mL untuk proses degradasi DDT selama 7 hari. Variabel yang dianalisis adalah jumlah DDT yang terdegradasi serta analisis metabolit produk yang dihasilkan dalam proses degradasi.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *R. pickettii* pada proses biodegradasi DDT oleh jamur *P. brevispora* serta mengidentifikasi metabolit produk yang dihasilkan selama proses biodegradasi DDT.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan data ilmiah tentang pengaruh penambahan bakteri *R. pickettii* pada proses biodegradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*.

2. Memberikan alternatif penanganan pencemaran DDT dengan memanfaatkan jamur pelapuk putih, *P. brevispora* sebagai metode murah, aman, dan efektif.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Pestisida atau *pesticide* berasal dari *pest* yang berarti hama dan cide yang berarti mematikan/racun. Jadi pestisida adalah racun hama. Secara umum pestisida dapat didefinisikan sebagai bahan yang digunakan untuk mengendalikan populasi pest yang secara langsung maupun tidak langsung merugikan kepentingan manusia (Munaf, 1997). Menurut The United States Federal Environmental Pesticide Contro Act, pestisida adalah semua zat atau campuran zat yang khusus untuk memberantas atau mencegah gangguan serangga, binatang pengerat, nematoda, bakteri atau jasad renik yang dianggap hama kecuali virus, bakteri atau jasad renik yang terdapat pada manusia dan binatang lainnya. Pestisida dapat juga didefinisikan semua zat atau campuran zat yang digunakan sebagai pengatur pertumbuhan tanaman atau pengering tanaman (Sudarmo, 1991). Secara garis besar, pestisida dibagi dalam tiga kelompok besar yaitu pestisida organoklorin (hidrokarbon berklor), organofosfat (fosfat organik) karbamat.

2.2 Pestisida Organoklorin

Organoklorin adalah senyawa pestisida yang mengandung atom karbon (karena itu disebut organo), khlor dan hydrogen, dan formula CxHyClz. terkadang oksigen, dengan umum Organoklorin merupakan polutan yang bersifat persisten dan dapat terbioakumulasi di alam serta bersifat toksik terhadap manusia dan makhluk hidup lainnya. Organoklorin tidak reaktif, stabil, memiliki kelarutan yang sangat tinggi di dalam lemak, dan memiliki kemampuan degradasi yang rendah (Soemirat, 2005). Organoklorin termasuk ke dalam golongan pestisida yang bagus dan ampuh, namun memiliki banyak dampak negatif terhadap Sebagai pestisida, sifat persistensinya lingkungan. menguntungkan untuk mengontrol hama. Terdapat pula kemungkinan terjadinya bioakumulasi dan biomagnifikasi.

Dikarenakan karakteristiknya yang sulit terbiodegradasi dan kelarutannya yang tinggi dalam lemak, organoklorin dapat terakumulasi dalam jaringan hewan. Biomagnifikasi dapat terjadi pada hewan yang terlibat dalam rantai makanan (Karina dkk., 2002).

Penggunaan pestisida yang tidak terkendali menimbulkan masalah yang lebih kompleks antara lain pencemaran tanah, air, tanaman dan kesehatan manusia. Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya residu pestisida yang membahayakan pada tanaman pangan di Jawa Barat (Murtado dkk., 1996), hal tersebut mengakibatkan agroekologi pertanian dan kesehatan manusia sebagai konsumen menjadi terabaikan. Pengendalian hama sebelum program pengendalian hama terpadu (PHT) lebih banyak mengandalkan pestisida ienis organoklorin yang toksisitas tinggi dan persistensi lama dalam tanah sehingga berpotensi mencemari lingkungan dan membahayakan kesehatan manusia. Meskipun perlindungan tanaman dengan sistem PHT telah digalakan, namun masih banyak petani yang menggunakan pestisida secara tidak bijaksana. Di beberapa daerah, sebagian petani tanaman pangan dan sayuran masih menggunakan insektisida yang sudah dilarang (Soejitno dan Ardiwinata 1999).

2.3 1,1,1-Trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT)

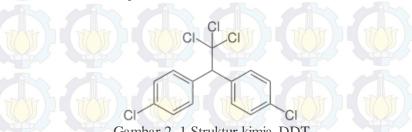
DDT pertama kali disintesis oleh Othmar Zeidler tahun 1874. Namun efek insektisidanya baru dapat diketahui pada tahun 1939 oleh Dr. Paul Muller di Swiss. Dapat dikatakan bahwa munculnya DDT merupakan revolusi dalam pengendalian atau pengelolaan hama. Secara kimia DDT tergolong dalam hidrokarbon berklor (Tarumingkeng, 1989).

Pada awal abad ke-20 pengendalian hama mulai berkembang dengan terbitnya buku *Insect Pest of Farm, Garden and Orchard* karya E. Dwigt Sanderson pada tahun 1915. Selanjutnya revolusi pengendalian hama berkembang dengan penggunaan DDT dan pestisida organik lainnya. Hampir semua kegiatan pertanian di seluruh dunia yang dilakukan secara industri

menerapkan pengendalian hama dengan menggunakan DDT. Bersamaan dengan itu bermunculan pabrik pestisida pada awal tahun 1900-an (Kusnaedi, 2005).

Pada tahun 1962, Rachel Carson mempublikasikan buku Silent Spring yang memberikan informasi dampak negatif dari pestsida sintetik termasuk DDT trhadap lingkungan dan makhluk hidup. Akhirnya, Amerika Serikat melarang penggunaan DDT pada tahun 1972 (Kusnaedi, 2005).

DDT berupa kristal putih, mempunyai susunan kimia yang stabil dengan daya residu yang lama (3-6 bulan). Bersifat tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik serta mudah diserap oleh minyak, oleh karena itu tidak baik menggunakan insektisida ini di tempat pemeliharaan sapi perah. Daya bunuhnya besar, tidak terlalu toksik untuk mamalia dan bersifat serba guna. DDT termasuk kelompok insektisida yang disebut seri DDT (DDT series), bersama-sama dengan DDD, Metoksiklor, DMC (dimetil karbinol) dan Klorobenzilat (Gandahusada, 1996). Gambar 2.1 menunjukkan struktur kimia dari DDT.



Gambar 2. 1 Struktur kimia DDT

DDT merupakan senyawa semi volatil dan dapat menjadi bagian dari atmosfer jika terjadi proses penguapan. Berada dalam jumlah yang sangat banyak di lingkungan dan bahkan residunya ditemukan di kutub utara. Bersifat lipofilik dan mudah larut dalam lemak di semua makhluk hidup dan telah dibuktikan dapat mengalami proses biokonsentrasi dan biomagnifikasi (Ritter, 2007). DDT merupakan jenis insektisida organoklorin yang dahulu paling banyak digunakan. Bahkan setelah dilarang pada

tahun 1970an, banyak petani yang masih menggunakan DDT karena dikenal sebagai pestisida yang dapat menangani seluruh hama serangga. DDT dapat hilang dari tanah akibat proses *run off*, fotolisis, volatilisasi, dan degradasi. DDT dapat terdegradasi dengan cepat secara biotik dan abiotik menjadi DDE atau DDD (Fenxia dkk., 2006).

Terdapat beberapa teori yang menerangkan daya racun dari DDT, yaitu:

- 1. Teori Overton-Meyer

 DDT dianggap mempunyai daya bius karena adanya koefisien pemisahan minyak-air. Dengan demikian menyebabkan kejenuhan lemak pada dinding sel sehingga terjadi pembiusan indiferen.
- 2. Teori Martin
 DDT beracun sebab dapat menghasilkan HCl pada tempat bekerjanya molekul lipoprotein.
- 3. Teori Pori Membran oleh Mullin
 Teori ini menerangkan bahwa DDT dapat tepat
 memasuki ruang diantara jajaran lipoprotein dalam
 membrane sel (Sastrodihardjo, 1979).

2.4 Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih atau *white rot fungi* adalah spesies jamur miselium yang hidup secara saprofit di pohon dan melakukan pembusukan xylon menyerupai spons putih. Selama proses pembusukan, jamur ini menghasilkan enzim oksidase ekstraseluler dalam lumen sel (Gao, 2010).

Jamur pelapuk putih mampu mendegradasi lignin yang merupakan polimer aromatik, sehingga jamur ini dianggap mampu mendegradasi senyawa polutan yang aromatik dengan bantuan enzim-enzim yang dihasilkannya yaitu *lignin peroxidases* (LiPs), manganese dependent peroxidases (MnPs) dan enzim laccase yang dapat mendetoksifikasi senyawa fenolik (Wolfaardt, 2004).

Jamur pelapuk putih termasuk organisme yang dapat mengakumulasi atau memineralisasi dengan baik berbagai macam polutan diantaranya logam berat, insektisida DDT, lindan, pentachlorophenol (PCP), creosote, anthracene, phenanthrene, polychlorinated biphenyls dan dioxins. Kemampuan jamur pelapuk putih dalam mengatasi senyawa xenobiotik berhubungan dengan kemampuannya bekerja secara efisien dan efektif dalam mendegradasi senyawa lignin atau bahan mirip seperti lignin (biodelignifikasi) (Blanchette, 1988). Griffin (1994)mengemukakan, umumnya jamur pelapuk putih yang berpotensi mendegradasi lignin termasuk kelompok mesofil yang hidup pada suhu antara 5-37°C dengan suhu optimum 25-30°C dan kisaran pH 4-7.

2.5 Phlebia Brevispora

P. brevispora merupakan jenis jamur pelapuk putih. Jamur ini memiliki kemampuan yang baik dalam pelapukan kayu (Djarwanto, 2014). P. brevispora pertama ditemukan dan diteliti oleh Nakasone pada tahun 1981 (Nakasone K. K., 1981). Menurut Nakasone (1982), P. brevispora memiliki bentuk basidiospora yang pendek. Jamur ini memproduksi enzim LiP dan MnP (Orth A.B, 1993). Beberapa penelitian P. brevispora digunakan sebagai pendegradasi limbah berbahaya (Lee dkk., 2014).

Berikut merupakan taksonomi dari P. brevispora:

Kerajaan : Fungi

Filum : Basidiomycota Kelas : Agaricomycetes

Bangsa : Cortociales
Keluarga : Corticiaceae
Marga : Phlebia

Jenis : Phlebia brevispora

(Research Organization of Information and Systems, 2015)

2.6 Ralstonia Pickettii

R. pickettii merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang dan umumnya terdapat di tempat lembab seperti tanah,

sungai dan danau (Asranudin, 2014). R. pickettii merupakan salah satu species dari genus Ralstonia yang banyak dijumpai pada lingkungan tandus, tercemar, oligotrofik atau lingkungan dengan nutrisi terbatas. Ryan (2007) melaporkan bahwa R. picketti mampu mendegradasi polutan xenobiotik seperti toluena dan trikloroetilena sebagai limbah industri. R. pickettii mampu menghasilkan polihidroksialkanoat yang dapat dimanfaatkan sebagai cadangan energi dalam melakukan fungsi metabolik ketika berada pada kondisi lingkungan dengan nutrisi terbatas. Pendekatan tersebut memberikan argumen yang kuat bahwa kompleksitas enzim pada R. pickettii sangat tinggi sehingga mempunyai kemampuan seperti yang disebutkan di atas. Ralstonia pickettii merupakan bakteri obligat aerob yang membutuhkan oksigen bebas untuk hidupnya. Organisme ini menggunakan oksigen pada fosforilasi oksidatif, sehingga semakin tersedianya oksigen, semakin banyak energi yang tersedia untuk melakukan oksidasi (Morasch, 2002).

Klasifikasi taksonomi R. pickettii adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Bakteri

Filum : Proteobacteria

Kelas : Beta Proteobacteria

Bangsa : Burkholderiales Keluarga : Ralstoniaceae

Marga : Ralstonia

Je<mark>nis : Ralstonia pic</mark>kettii

(Yabuuchi E, 1983)

2.7 Bioremediasi

Penggunaan organisme seperti bakteri atau jamur untuk menurunkan kontaminan pada lingkungan dikenal sebagai bioremediasi. Organisme mengubah senyawa kontaminan melalui proses metabolisme mereka. Proses bioremidiasi dapat dilakukan dengan memanfaatkan organisme yang ada pada daerah terkontaminasi atau diisolasi dari tempat lain (Vidali, 2001). Keunggulan dari bioremediasi yaitu proses yang alami, biaya

murah dan kemampuannya untuk merubah senyawa pencemar menjadi produk akhir yang tidak berbahaya (Frazar, 2000). Proses bioremediasi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: Keberadaan populasi mikroba yang dapat digunakan untuk mendegradasi polutan, ketersediaan kontaminan pada populasi mikroba dan faktor lingkungan seperti jenis tanah, suhu, pH, adanya oksigen atau akseptor elektron lainnya dan nutrisi (Vidali, 2001).

Mikroorganisme yang digunakan untuk meremediasi dapat dibagi kedalam beberapa kelompok sebagai berikut:

- Aerobik, bakteri yang dapat mendegradasi dengan adanya oksigen. Contohnya seperti Pseudomonas, Alcaligenes, Sphingomonas, Rhodococcus dan Mycobacterium. Bakteri-bakteri tersebut digunakan mendegradasi pestisida dan hidrokarbon, baik alkana dan senyawa poliaromatik. Bakteri ini menggunakan kontaminan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.
- Anaerobik, bakteri yang dapat mendegradasi tanpa adanya oksigen. Bakteri anaerobik tidak sering digunakan seperti bakteri aerobik. Bakteri anaerob banyak digunakan untuk meremediasi *Polychlorinated* biphenyls (PCB), dekrolinasi dari pelarut Trichloethylene (TCE) dan kloroform.
- Jamur ligninolitik. Contohnya seperti jamur pelapuk putih *Phanaerochaete chrysosporium* mampu mendegradasi racun pencemar lingkungan maupun pencemar yang sulit terdegradasi.
- Methylotrophs, bakteri aerob yang memanfaatkan metana sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri ini dapat digunakan untuk mendegradasi trikloroetilena dan 1,2-dikloroetana (Vidali, 2001).

2.8 Biodegradasi

Biodegradasi merupakan salah satu cabang dari bioteknologi lingkungan dimana memanfaatkan aktivitas

mikroorganisme dalam menguraikan senyawa-senyawa besar atau menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih ramah lingkungan. Mikroorganisme digunakan memiliki kemampuan memanfaatkan senyawa organik alami (hidrokarbon pada minyak bumi) sebagai sumber karbon dan energi (Eris, 2006). Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses penguraian oleh aktivitas mikroba (jamur, bakteri, ragi, dan alga) yang mengakibatkan transformasi struktur suatu sehingga terjadi perubahan integritas molekular. senyawa, Biodegradasi dapat berlangsung efektif apabila didukung oleh kondisi lingkungan yang cocok untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Biodegradasi tergantung pada jumlah mikroba atau enzim yang mampu mengkatalisis reaksi kimia yang akan mengubah polutan (termineralisasi).

Dalam melakukan biodegradasi ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kecepatan biodegradasi antara lain yaitu dengan penambahan nutrien untuk menstimulasi mikroorganisme yang biasa disebut metode indigenous (biostimulasi) dan dengan penambahan mikroorganisme yang biasa disebut sebagai metode eksogenous (bioaugmentasi). Pada biostimulasi dapat dilakukan penambahan bahan kimia yang bertindak sebagai akseptor elektron atau tambahan donor elektron (meningkatkan bioavailabilitas). Selain itu, biostimulasi dapat dihubungkan dengan metode ex-situ dan in-situ, metode yang mengatasi keterbatasan pasokan akseptor elektron. Sedangkan pada bioaugmentasi penambahan mikroorganisme dilakukan guna mempercepat degradasi. Bioaugmentasi merupakan satu-satunya cara penggunaan genetik untuk mengubah suatu mikroba (Walter, 1997).

Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradasi agar dapat berjalan optimal antara lain kadar air, suhu, pH tanah, dan kadar oksigen. Disamping Faktor lingkungan, pertumbuhan mikroorganisme banyak ditentukan oleh nutrient yang tersedia. Pada dasarnya mikroorganisme memerlukan karbon sebagai sumber energi untuk aktivitasnya. Dalam kaitan ini sumber C

telah tersedia dari hidrokarbonnya sendiri. Senyawa lain yang menjadi faktor pembatas, yaitu N dan P. Kadar kedua unsur ini banyak menentukan aktivitas pertumbuhan mikroorganisme. Selain unsur-unsur diatas juga diperlukan adanya mineral dan unsur lain yang sesuai dan memadai.

Kelebihan dari biodegradasi adalah sebagai berikut:

- Dapat dilaksanakan di lokasi atau diluar lokasi
- System biologi adalah system yang murah
- Masyarakat dapat menerima dengan baik
- Ramah lingkungan
- Mengurangi resiko jangka panjang

Kekurangan dari biodegraadasi adalah sebagai berikut:

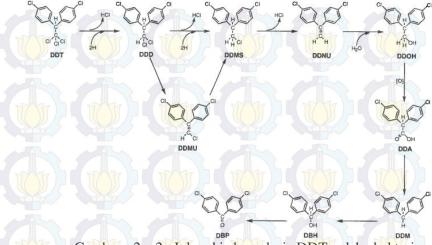
- Tidak semua bahan kimia dapat dilakukan biodegradasi
- Membutuhkan pemantauan yang intensif
- Membutuhkan lokasi tertentu
- Berpotensi menghasilkan produski yang tidak dikenal

2.8.1 Biodegradasi DDT

2.8.1.1 Biodegradasi DDT oleh Bakteri

Penelitian Wedemeyer (1967) dan Alexander (1970) menunjukkan bahwa biodegradasi DDT dan metabolit DDT terjadi pada beberapa bakteri, dan jalur biodegradasi DDT dijelaskan seperti pada Gambar 2.2. DDT secara umum diubah menjadi DDE, tetapi dengan munculnya bakteri mengawali reduksi deklorinasi kelompok triklorometil untuk membentuk DDD. Dalam keadaan anaerobik, DDD dapat terdegradasi lebih lanjut.

Penelitian menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes* menghasilkan beberapa metabolit, anatara lain DDMU (*l*-Kloro-2,2- bis (*p*-klorofenil)etilena), DDMS (*l*-Kloro-2,2- bis (*p*-klorofenil)etana, DDNU (2,2-Bis (*p*-klorofenil) etilena), DDOH (2,2-Bis (*p*-klorofenil) etanol), DDA (Asam bis(p-klorofenil)-asetat acid), dan DBP (Diklorobenzofenon) (Langlois dkk., 1970). Contoh jalur degradasi DDT diperlihatkan pada Gambar 2.2

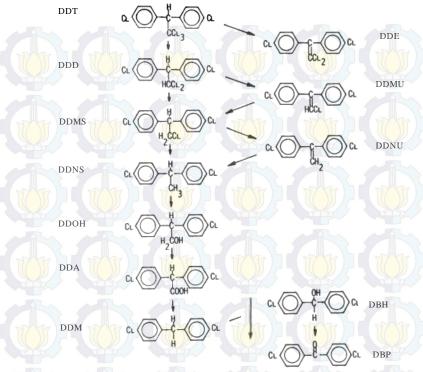


Gambar 2. 2 Jalur biodegradasi DDT oleh bakteri, penelitian yang dilakukan oleh Wedemeyer (1967), Langlois dkk. (1970), Pfander dan Alexander (1972).

2.8.1.2 Biodegradasi DDT oleh Jamur

Selain bakteri, ada makhluk hidup lain yang juga ditemukan dapat melakukan biodegradasi terhadap DDT yaitu golongan fungi atau jamur. Subba-rao dan Alexander (1985) telah menunjukkan bahwa jalur degradasi DDT untuk beberapa fungi yang telah dipelajarinya hampir sama dengan jalur utama degradasi oleh bakteri.

Salah satu jenis fungi yang mampu melakukan biodegrasai terhadap DDT adalah white-rot fungi, Phanerochaete chrysosporium. Jamur ini dapat mendegradasi lignin pada kayu dan memiliki kemampuan yang luar biasa dalam mendegradasi sejumlah polutan lingkungan yang lain. Gambar 2.3 merupakan contoh jalur degradasi DDT oleh jamur P. chrysosporium.



Gambar 2. 3 Jalur utama biodegradasi DDT oleh *P. chrysosporium* (Engst, dkk., 1967;1968) (Focht, dkk., 1970;1971) (Pfaender, dkk., 1972;1973) (Subba-Rao, dkk., 1977;1985).

Bumpus dan Aus (1987) menjelaskan degradasi DDT selama 30 hari dalam kultur *P. chrysosporium* dalam nutrien nitrogen dengan jalur degradasi seperti pada Gambar 2.3. Kemudian, Bumpus dkk. (1993) menjelaskan bahwa DDE dapat terdegradasi lebih lanjut. Setelah 60 hari inkubasi DDE dapat terdegradasi menjadi DBP yang merupakan metabolit intermediet.

Studi terbaru menunjukkan bahwa jamur tanah Trichoderma virida dan Mucor alterans juga dapat mendegradasi (14C) DDT menjadi heksan dan metabolit yang larut dalam air. Dicofol dan DDD diidentifikasi sebagai metabolit DDT pada kultur *T. Virida* sedangkan jumlah metabolit yang tidak diidentifikasi diamati dalam kultur *M. alterans. Fusarium oxysporum* juga ditemukan dapat mendegradasi DDT melalui jalur yang sangat mirip dengan yang dilakukan oleh bakteri (Engst dkk., 1967;1968).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xiao dkk. (2011), menunjukkan bahwa DDT dapat didegradasi oleh jamur pelapuk putih *P. brevispora* sebesar 30% selama 21 hari. Hasil ini relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama.

2.9 Metode Analisis

2.9.1 Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi cair-cair atau yang dikenal dengan ekstraksi merupakan proses pemisahan fasa cair <mark>me</mark>manfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengekstrak (solvent). Prinsip dasar ekstraksi cair-cair ini melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut (solvent) lain yang tidak saling melarut (immisible) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah solvent. Hal ini menyebabkan penambahan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut pengekstrak (solvent). Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan, disebabkan oleh adanya daya dorong (dirving force) yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut. Proses ektraksi cair-cair merupakan proses perpindahan massa yang berlangsung secara difusional (Laddha Degaleesan, 1978)

Untuk mencapai proses ekstraksi cair-cair yang baik, pelarut yang digunakan harus memenuhi kriteria sebagai berikut (Martunus dan Helwani, 2004;2005):

1. Kemampuan tinggi melarutkan komponen zat terlarut di dalam campuran.

- 2. Kemampuan tinggi untuk diambil kembali.
- 3. Perbedaan berat jenis antara ekstrak dan rafinat lebih besar.
- 4. Pelarut dan larutan yang akan diekstraksi harus tidak mudah campur.
- 5. Tidak mudah bereaksi dengan zat yang akan diekstraksi.
- 6. Tidak merusak alat secara korosi.
- 7. Tidak mudah terbakar, tidak beracun dan harganya relatif murah.

2.9.2 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar tampak (380-780) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blangko ataupun pembanding (Khopkar, 1990). Skema alat spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2.4.

Spektrofotometer UV-Vis dapat melakukan penentuan terhadap sampel yang berupa larutan. Sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan pelarut yang dipakai antara lain:

- 1. Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.
- 2. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- 3. Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis (Mulja dan Suharman, 1995).

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi:

- 1. Sumber tenaga radiasi yang stabil, sumber yang biasa digunakan adalah lampu wolfram.
- 2. Monokromator untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis.
- 3. Sel absorpsi, pada pengukuran di daerah visibel menggunakan kuvet kaca atau kuvet kaca corex, tetapi untuk pengukuran pada UV menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini.
- 4. Detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat. Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang

(Khopkar, 1990).



Gambar 2. 4 Skema alat Spektrofotometer UV-Vis

Sumber tenaga radiasi terdiri dari benda yang tereksitasi menuju ke tingkat yang lebih tinggi oleh sumber listrik bertegangan tinggi atau oleh pemanasan listrik. Monokromator adalah suatu piranti optis untuk memencilkan radiasi dari sumber berkesinambungan. Digunakan untuk memperoleh sumber sinar monokromatis. Alat dapat berupa prisma atau grating (Khopkar, 1990).

Pengukuran pada daerah UV harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi maupun berbentuk silinder dengan ketebalan 10 mm. Sel tersebut adalah sel pengabsorpsi, merupakan sel untuk meletakkan cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer. Sel haruslah meneruskan energi cahaya dalam daerah spektrum yang diminati. Sebelum sel dipakai dibersihkan dengan air atau dapat dicuci dengan larutan detergen atau asam nitrat panas apabila dikehendaki (Sastrohamidjojo, 2001).

2.9.3 Gabungan Kromatograi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS)

Kromatografi gas merupakan salah satu metode yang baik untuk memisahkan campuran yang rumit dengan tingkat kemurnian dan sentivitas yang tinggi. Metode ini menggunakan fasa diam berupa cairan dengan titik didih yang tinggi (tidak mudah menguap) dengan fase geraknya berupa gas, yang paling umum helium, hidrogen atau nitrogen. Kromatografi gas (biasa disingkat GC) sering digunakan dalam identifikasi senyawa karena memberikan waktu retensi yang khas untuk senyawa yang berbeda (Silverstein, 2005).

Pemilihan gas pembawa terutama tergantung pada ciri-ciri detektornya. Detektor spektrometer massa merupakan alat analisis yang mempunyai kemampuan aplikasi yang paling luas, yang dapat dipergunakan untuk memperoleh informasi mengenai komposisi sampel dasar dari suatu bahan, struktur dari molekul organik, organik dan biologi, komposisi kualitatif dan kuantitatif

dari kompleks, struktur dan komposisi dari permukaan padat dan perbandingan isotropik atom-atom didalem sampel (Skoog, 1998).

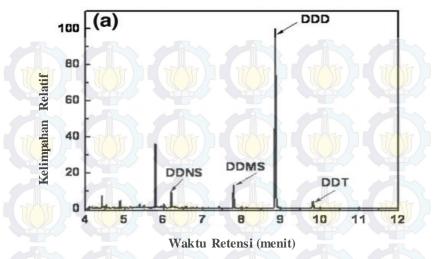
Adapun alur kerja dalam gas kromatografi adalah:

- Gas pembawa dialirkan melalui kolom yang berisi fasa diam
- Sampel diinjeksikan kedalam aliran gas
- Cuplikan yang dibawa oleh gas pembawa mengalami pemisahan dalam kolom
- Komponen-komponen yang terpisahkan satu per satu meninggalkan kolom
- Suatu detektor diletakkan di ujung kolom untuk mendeteksi jenis maupun jumlah tiap komponen campuran
- Hasil pendeteksian berupa kromatogram

(Fansuri, 2010).

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) biasa digunakan untuk analisis di bidang lingkungan, makanan dan perisa, aroma, petroleum, petrokimia dan lain-lain. Penggabungan antara kromatografi gas dan spektrometer massa dapat memberikan informasi kualitatif maupun kuantitatif senyawa yang dianalisis. Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) merupakan salah satu teknik pemisahan yang paling serbaguna karena memiliki fungsi ganda, yaitu untuk memisahkan sekaligus mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam campuran. Senyawa yang dapat diidentifikasi oleh kromatografi gas adalah senyawa volatil dan semivolatil (Settle, 1997).

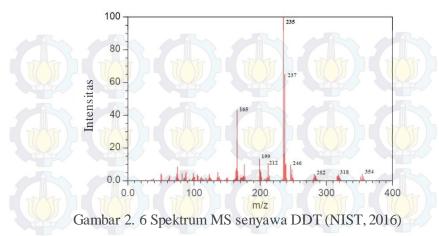
Ada tiga jenis data data yang dihasilkan GC-MS yaitu spektrum massa dari fragmen-fragmen molekul, kromatogram ion yang menggambarkan intensitas ion tunggal terhadap perubahan waktu serta dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa tertentu dalam suatu campuran kompleks, dan kromatogram total yang merupakan jumlah dari semua ion yang tedeteksi (Ashari, 2014).

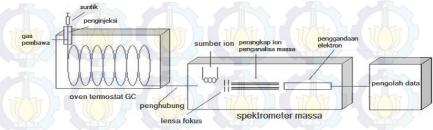


Gambar 2. 5 Kromatogram GC senyawa DDT dan metabolitnya (Kang, 2016)

Spektrum massa merupakan fragmen-fragmen bermuatan positif terhadap massa per muatan ion (m/z). Nilai biasanya terdeteksi +1. Spektrum yang muncul merupakan plot massa per muatan ion (m/z) dan intensitas (I). Puncak yang menunjukan yang menunjukan kation radikal yang tifak terfragmentasi disebut puncak ion mulekular (M⁺) atau basepeak (Lee, dkk., 2008). Kromatogram GC dan spectra MS dari DDT pada Gambar 2.5 dan Gambar 2.6. Skema alat GC-MS ada pada Gambar 2.7.





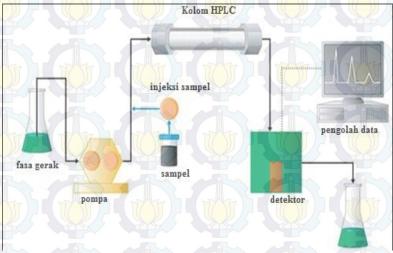


Gambar 2. 7 Skema alat GC-MS

2.9.4 Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau High performance liquid chromatography (HPLC)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu jenis kromatografi cair modern yang efisiennya sama dengan kromatografi cair-gas. HPLC mirip dengan kromatografi kolom konvensional. Perbedaannya, HPLC menggunakan kolom yang umumnya mempunyai diameter kecil (2-8 mm) dengan ukuran partikel penunjang 50 µm disertai laju aliran diperbesar dengan tekanan yang tinggi sehingga waktu retensinya singkat dan analisis berlangsung cepat. HPLC mempunyai ketepatan dan

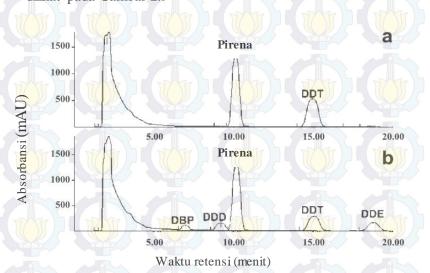
ketelitian tinggi, pelarut dan kolom dapat dipakai berulang (Khopkar, 2007). Skema alat HPLC dapat dilihat pada Gambar 2.8



Gambar 2. 8 Skema alat HPLC

Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, artinya komponen pada suatu analit (sampel) akan terpisah berdasarkan sifat kepolaran masingmasing komponen dalam sampel, apakah kepolarannya lebih mirip dengan fasa diam, maka dia akan tertinggal di fasa diam atau bergerak lebih lambat, ataukah kepolarannya lebih mirip dengan fasa gerak sehingga dia akan bergerak terdistribusi lebih jauh dan lebih cepat. Dengan bantuan pompa, fasa gerak cair dialirkan melalui kolom detektor. Cuplikan (sampel) dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan (injeksi). Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam, maka komponen tersebut akan keluar lebih lama. Setiap

campuran komponennya yang keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Kromatogram HPLC serupa dengan kromatogram kromatografi gas, dimana jumlah puncak menyatakan jumlah kompenen, sedangkan luas puncak meyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Hendayana, 2006). dan kromatogram HPLC dapat dilihat pada Gambar 2.9



Gambar 2. 9 Contoh kromatogram HPLC hasil analisa degradasi DDT

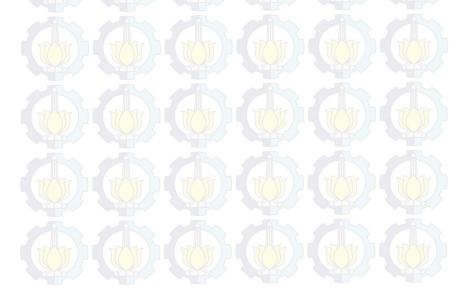
Kromatografi cair kinerja tinggi terdiri dari beberapa komponen penting sebagai berikut

- Eluen, berfungsi sebagai fase gerak yang akan membawa sampel ke dalam kolom pemisah.
- Pompa, berfungsi untuk mendorong eluen dan sampel agar dapat masuk ke dalam kolom.
- Injektor, berfungsi untuk memasukkan sampel yang akan didistribusikan ke dalam kolom.
- Kolom pemisah ion, berfungsi untuk memisahkan ion-ion

- yang terdapat pada sampel.
- Detektor, berfungsi untuk membaca ion yang lewat ke dalam detektor.
- Rekorder, berfungsi untuk merekam dan mengolah data yang masuk (Weiss, 1995)

Pada umumnya HPLC digunakan untuk analisa pemisahan, identifikasi dan pemurnian senyawa. Menurut mulja (1995) HPLC banyak digunakan karena:

- Dapat digunakan untuk senyawa yang tidak stabil dan mudah menguap.
- Dapat dilakukan pada suhu kamar.
- Detektor dapat divariasi.
- Kolom dapat digunakan berulang kali
- Ketelitian tinggi.



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan dan instrumentasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer berpenutup, gelas beker, neraca digital, labu bundar, corong buchner, corong pisah, corong kaca, jarum ose, cawan steril, mikro pipet, pompa vakum, *ultrasonic cleaner*, evaporator, *autoclave*, *autoshaker*, tabung gas oksigen, tabung falcon, *homogenizer*, inkubator, *centrifuge*, HPLC (Jasco, Japan) dengan *intelligent pump* PU-1580 (Jasco, Japan), *multiwavelength detector* LG 1580-02 (Jasco, Japan), dan *autosampler* AS-950 (Jasco, Japan) serta menggunakan kolom inertsil ODS-3 (150 mm) dengan diameter dalam 4,6 mm (GL Sciences, Japan) serta detektor UV-Vis, dan GC-MS merk Agilent Technologies 5975C inert XL MSD.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Ralstonia pickettii* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, jamur *Phlebia brevispora* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, *Dichloro Diphenyl Trichloroethane* (DDT), *potato dextrose agar* (PDA) (Merck), *potato dextrose broth* (PDB) (Becton Dickinson), *nutrient borth* (NB) (Merck), *nutrient agar* (NA) (Merck), aseton (PT. Smart Lab Indonesia), aqua DM, pirena, metanol (Merck), n-heksana (Fulltime), Na₂SO₄ anhidrat (Merck), dan filter Whatman diameter 90 mm

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Regenerasi Jamur P. brevispora

Jamur pelapuk putih, *P. brevispora*, diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur P. brevispora

Jamur hasil regenerasi dengan diameter 1 cm diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB). Selanjutnya, dipre-inkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

3.2.3 Regenerasi Bakteri R. pickettii

Bakteri *R. picketti* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient* agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan R. pickettii

Sebanyak satu koloni bakteri dari hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL media nutrient broth (NB), kemudian dari 10 mL diambil 1 mL dimasukkan ke dalam 600 mL media cair NB. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C dan dikocok di dalam shaker incubator dengan kecepatan 180 rpm. Selanjunya, kultur diambil dengan mikropipet 1 mL, dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur optical density gelombang nm pada panjang 600 (OD_{600}) spektrofotometri UV-Vis tiap 1 jam sekali. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan dengan absorbansi sebagai fungsi waktu.

3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri R. pickettii

Sebanyak satu koloni bakteri dari hasil regenerasi diinokulasi ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 mL media nutrient broth (NB) dan dipre-inkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam dan dikocok di dalam shaker incubator dengan kecepatan 180 rpm.

3.2.6 Pembuatan Kurva Standar DDT

Larutan DDT disiapkan dengan konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100% (100% = 0,25 mmol DDT yang berasal dari 50 µL DDT dengan konsentrasi 5 mM). Masing-masing konsentrasi DDT ditambah dengan 50 µL pirena 5 mM sebagai internal standar. Sampel dianalisis menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Kurva dibuat dengan nilai

perbandingan luas area puncak DDT/pirena sebagai fungsi konsentrasi DDT.

3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Jamur P. brevispora

Sebanyak 10 mL kultur *P. brevispora* hasil pre-inkubasi selama 7 hari, masing-masing ditambah dengan 50 µL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0.25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, kultur ditambah 10 mL potato dextrose broth (PDB) hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur tersebut diberi oksigen selama 1 menit dan ditutup dengan sumbat kaca serta diselotip menggunakan parafilm untuk mencegah penguapan DDT dan kontaminasi. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

3.2.8 Biodegradasi DDT oleh Bakteri R. pickettii

Erlenmeyer yang telah berisi 10 mL potato dextrose broth (PDB) ditambahkan bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL ≈ 1,337 x 10⁹ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur ditambah 50 μL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB masingmasing 9, 7, 5, 3 dan 0 mL hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3,2,10.

3.2.9 Pengaruh Penambahan R. pickettii terhadap Biodegradasi DDT oleh P. brevispora

Sebanyak 10 mL kultur jamur hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL ≈ 1,337 x 10⁹ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Masing-masing kultur ditambah 50 µL DDT 5 mM dalam

DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

3.2.10 Perolehan Kembali (Recovery) DDT

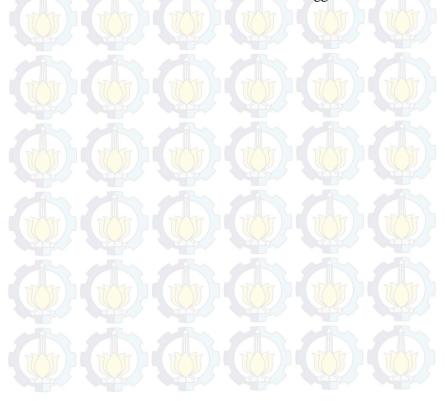
Campuran kultur hasil inkubasi selama 7 hari ditambahkan 50 µL pirena 5mM dan 20 mL metanol. Kemudian, campuran kultur tersebut dipindah ke tabung falcon dan tempat awal campuran dicuci dengan 5 mL aseton. Hasil pencucian dimasukkan juga ke dalam tabung falcon. Kemudian, campuran kultur hasil inkubasi yang berada dalam tabung falcon dihomogenkan menggunakan homoginezer. Campuran kultur yang telah dihomogenkan, disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 7 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman 41 diameter 90 mm. Setelah miselium tersaring, supernatan ditampung kembali dan dimasukkan ke dalam labu bundar.

Supernatan yang ditampung di dalam labu bundar dievaporasi pada suhu 64°C hingga volume mencapai 15 mL. Setelah dievaporasi, supernatan dituang ke dalam corong pisah, sedangkan labu bundar tempat supernatan dicuci dengan 50 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil pencucian dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian, larutan dalam corong pisah dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fase aquos dan organik yang terbentuk dari proses ekstraksi tersebut dikeluarkan dan ditampung di tempat yang berbeda.

Fase aquos dari ekstraksi pertama dimasukkan kembali ke dalam corong pisah. Selanjutnya, labu bundar dicuci dengan 20 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil pencucian dimasukkan ke dalam corong pisah kembali. Kemudian larutan dalam corong pisah dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fase organik yang terbentuk pada ekstraksi kedua ditampung

bersamaan dengan hasil fase organik yang terbentuk pada ekstraksi pertama. Untuk fase aquos sudah tidak diperlukan lagi.

Fase organik hasil dua kali ekstraksi disaring menggunakan kapas dan Na₂SO₄ anhidrat. Setelah disaring, filtrat dievaporasi kembali pada suhu 67°C hingga volume mencapai 5 mL. Selanjutnya filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial pertama ini dianalisis menggunakan GC-MS. Kemudian, filtrat yang tersisa dalam labu bundar dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL metanol. Selanjutnya, filtrat disonik sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial kedua ini dianalisis menggunakan HPLC.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur Jamur P. brevispora

4.1.1 Regenerasi Jamur P. brevispora

Jamur yang digunakan pada penelitian ini adalah jamur pelapuk putih, Phlebia brevispora. P. brevispora diregenerasi terlebih dahulu untuk mencegah kematian akibat kekurangan nutrisi dari media seb<mark>elum</mark>nya. Jamur *P. brevispora* diin<mark>okula</mark>si menggunakan jarum ose ke dalam cawan petri yang berisi media agar steril potato dextrose agar (PDA). PDA mengandung nutrisi yang lengkap yang dibutuhkan oleh jamur selama pertumbuhan. PDA terdiri dari kentang, dextrosa dan agar. Dalam 100 gram kentang memiliki kandungan protein (2 g), lemak (0,1 g), karbohidrat (19,1 g), kalsium (11 mg), fosfor (56 mg), serat (0,3 g), zat besi (0,7 mg), vitamin B1 (0,09 mg), vitamin B2 (0,03 mg), vitamin C (16 mg), niasin (1,4 mg) dan energi (83 kal) (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1997). Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang dibutuhkan untuk mensintesis asam amino, membentuk protoplasma, struktur sel, dan enzim-enzim yang diperlukan dalam metabolisme (Garraway dan Evans, 1984). Karbohidrat merupakan sumber karbon yang digunakan oleh jamur sebagai penyusun struktural sel dan sumber energi (Suharnowo dkk., 2012). Kandungan fosfor berperan penting dalam pembentukan nukleotida (RNA dan DNA). Kalium berperan sebagai kofaktor yang mengaktifkan enzim dalam metabolisme untuk menghasilkan energi (Campos dkk., 2009; Mufarrihhah. 2009). Vitamin digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan miselium dan juga berfungsi sebagai koenzim atau katalisator (Muliani, 2000). Unsur mineral seperti unsur makro (K, P, Ca, Mg, Na, dll) dan unsur mikro (Mn, Co, Cu, Al, dl) berfungsi sebagai pengatur tekanan osmosis, kadar ion hidrogen dan permeabilitas suatu media dan juga kofaktor bagi enzim (Sumarsih, 2003).

Proses inokulasi jamur harus dilakukan dalam keadaan steril untuk mencegah adanya mikroorganisme atau pengotor lain yang dapat menyebabkan kontaminasi. Proses inokulasi dilakukan di dalam *laminary flow*. Setelah diinokulasi ke dalam media PDA, jamur diinkubasi selama 7 hari di inkubator gelap dengan temperature 30°C, dimana jamur pelapuk putih memiliki temperature optimum pada 25°C-30°C. Pemilihan inkubasi dengan kondisi gelap dikarenakan jamur dapat tumbuh secara optimal dalam keadaan lingkungan yang gelap (Djarijah dan Djarijah, 2001). Miselium menutupi seluruh permukaan media setelah inkubasi selama 7 hari. Setelah proses inkubasi tersebut, jamur siap digunakan untuk proses selanjutnya.

4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur P. brevispora

Jamur *P. brevispora* hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) menggunakan jarum ose steril berdiameter 1 cm. PDB memiliki nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur *P. brevispora*. Kultur *P. brevispora* dipre-inkubasi pada temperature 30°C selama 7 hari agar miselium jamur dapat beradaptasi dengan media dan tumbuh dengan baik sebelum ditambahkan DDT. Setelah masa pre-inkubasi 7 hari didapatkan kultur jamur *P. brevispora* yang siap ditambahkan DDT.

4.2 Kultur Bakteri Ralstonia Pickettii

4.2.1 Regenerasi Kultur bakteri R. pickettii

Bakteri *R. pickettii* diinokulasi menggunakan jarum ose ke dalam cawan petri yang berisi media agar steril *nutrient agar* (NA). NA dipilih sebagai media pertumbuhan bakteri karena *R. pickettii* tumbuh baik pada media NA (Asranudin, 2014). Media NA memiliki nutrisi yang dibutuhkan selama pertumbuhan. Komposisi NA terdiri atas pepton, ekstrak daging, NaCl, dan agar. Ekstrak daging sebagai zat hara untuk menyediakan karbohidrat, protein, vitamin B kompleks dan garam mineral (kalsium, sulfur, fosfat, kalium, dll) (Sigmaaldrich, 2010).

Karbohidrat merupakan sumber karbon yang akan menghasilkan energi yang dibutuhkan oleh bakteri selama pertumbuhan. Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang akan dipecah menjadi asam amino dan digunakan sebagai energi bagi sel (Volk dan Wheeler, 1993). Pepton digunakan sebagai sumber nitrogen yang kaya akan nitrogen sederhana bebas. Vitamin B kompleks digunakan sebagai koenzim dan katalisator (Ashari, 2014). NaCl berfungsi sebagai penyedia elemen mikro berupa natrium, selain itu garam NaCl diperlukan untuk menaikkan tekanan osmosis dan keseimbangan psikokimia sel bakteri. Agar berfungsi sebagai pemadat media (Sutarma, 2000). Proses inokulasi dilakukan di dalam *laminary flow* untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

Bakteri diinokulasi dengan cara digoreskan zig-zag pada media padat untuk memperbanyak jumlah bakteri yang tumbuh. Bakteri yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi dengan temperature 37°C. Proses inkubasi diatur pada temperature 37°C dimana kondisi pertumbuhan *R. pickettii* yang baik pada temperatur 37°C (Asranudin, 2014). Setelah proses inkubasi selama 24 jam, didapatkan bakteri hasil regenerasi membentuk koloni-koloni. Terbentuknya koloni menunjukkan bahwa bakteri tersebut telah siap untuk digunakan untuk proses selanjutnya.

4.2.2 Kurva Pertumbuhan R. pickettii

Pertumbuhan mikroba merupakan pertambahan jumlah sel dan volume atau ukuran sel. Pertumbuhan sel dapat diukur secara langsung dari massa sel dan secara tidak langsung dengan mengukur turbiditas cairan medium tumbuh (Suhenry M. d., 2011). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah turbidimetri atau penentuan optical density (OD). Metode turbidimetri didasarkan pada penghamburan cahaya oleh larutan cuplikan yang diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Jumlah cahaya yang dihamburkan atau yang diserap (absorbansi) berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri. Semakin sedikit cahaya yang diteruskan menandakan semakin banyak jumlah sel bakteri yang terdapat pada media

sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan OD dalam kultur bakteri (Purwoko, 2007).

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengambil sekitar 1 koloni bakteri dari stok bakteri hasil regenerasi menggunakan jarum ose dan diinokulasi ke dalam 10 mL media cair steril nutrient broth (NB), kemudian dari 10 mL diambil 1 mL dimasukkan ke dalam 600 mL media cair NB. Inokulasi bakteri dalam NB bertujuan agar sel bakteri dari media padat dapat beradaptasi pada media cair. Bakteri yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 37°C dan digoyang dengan shaker dengan kecepatan 180 rpm. Proses inkubasi dengan keadaan digoyang dengan shaker bertujuan untuk untuk meningkatkan kadar oksigen dalam media, selain itu untuk meratakan sebaran bakteri dalam media, sehingga pengambilan bakteri untuk diukur, jumlah bakteri relatif sama per satuan volume. Dari nilai absorbansi yang telah diperoleh dapat diketahui jumlah bakteri (konsentrasi) berdasarkan perbandingan absorbansi pada OD dengan panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀) dari bakteri Escherichia coli dimana:

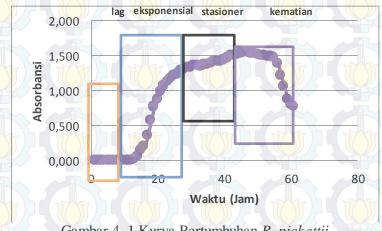
1 absorbansi E. coli ≈ 1 x 10° sel/mL kultur ≈ 1 mg/mL atau 1 g/L berat basah sel ≈ 0,25 g/L berat kering sel (Hermansyah, 2014)

Sehingga,

1,337 absorbansi *P. pickettii* ≈ 1,337 x 10⁹ sel/mL kultur ≈ 1,337 mg/mL atau 1,337 g/L berat basah sel ≈ 0,334 g/L berat kering sel

Pengukuran pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola berupa kurva pertumbuhan sigmoid. Kurva pertumbuhan merupakan kurva yang menggambarkan waktu optimum untuk produksi biomassa secara maksimal. Perubahan kemiringan pada kurva tersebut menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase lainnya. Fase pertumbuhan *R. pickettii*

terbagi menjadi empat fase yakni, fase lag (adaptasi), fase eksponensial (pertumbuhan cepat), fase stasioner (statis) dan fase kematian.



Gambar 4. 1 Kurva Pertumbuhan R. pickettii

Fase lag R. pickettii berada pada rentang waktu jam ke 0-12 jam. Pada fase ini belum terjadi pertambahan populasi, tetapi sel mengalami perubahan dalam komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan bertambahnya ukuran sel. Fase eksponensial terjadi pada rentang waktu jam ke 13-29 jam. Pada fase ini sel R. *pickettii* telah mampu beradaptasi terhadap lingkungan media pertumbuhannya. Pada fase eksponensial jumlah sel yang hidup lebih banyak dibandingkan sel yang mati atau pertumbuhan seimbang, kecuali terjadi perubahan medium secara signifikan. Sel telah melakukan proses metabolisme yang aktif untuk pemenuhan nutrisi, sel melakukan pembelahan dengan kecepatan konstan yang terekspresikan pada fungsi eksponensial kurva pertumbuhan.

Pertumbuahan bakteri sangat bergantung pada ketersediaan nutrisi pada media pertumbuhannya. Perubahan jumlah nutrisi akan mempengaruhi fase pertumbuhan sel yaitu dengan

berkurangnnya nutrisi akan memperlambat proses pertumbuhan pada rentang waktu tertentu. Keadaan seperti ini merupakan fase stasioner dimana jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati atau fase dimana konsentrasi sel maksimal. Fase stasioner *R. pickettii* mulai pada jam ke 30 sampai jam ke 46.

Fase terakhir dalam siklus pertumbuhan bakteri adalah fase kematian, yang menunjukkan bahwa laju kematian sel bakteri lebih cepat daripada laju penggandaan sel. Pada fase stasioner kebanyakan bakteri metabolit sekunder diproduksi pada fase ini yang dapat disimpan dalam sel atau disekresikan keluar sel. Bakteri *R. pickettii* mengalami fase kematian pada jam ke 47 hingga jam ke 61.

4.2.3 Persiapan Kultur Cair Bakteri R. pickettii

Sebanyak satu koloni bakteri *R. pickettii* hasil regenerasi diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL media *nutrient broth* (NB) steril. NB mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga dipilih sebagai media cair bakteri. Kultur *R. pickettii* kemudian dipre-inkubasi di atas *rotary shaker* dengan kecepatan 180 rpm selama 30 jam pada suhu 37°C. Proses inkubasi selama 30 jam didasarkan pada hasil kurva pertumbuhan *R. pickettii* yang telah dilakukan sebelumnya dimana pada jam ke 30, bakteri mengalami fase stasioner. Pada fase ini terjadi keseimbangan antara jumlah sel bakteri yang melakukan pembelahan dengan sel bakteri yang mengalami kematian sehingga jumlah keseluruhan bakteri dalam kultur relatif tetap. Selain itu pada fase ini *R. pickettii* memproduksi secara optimal enzim pendegradasi DDT.

4.3 Kurva Standar DDT

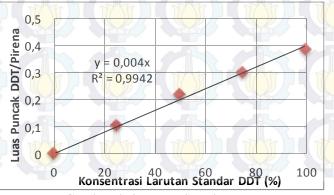
Kurva standar DDT merupakan hasil plot nilai perbandingan luas puncak DDT/pirena dan kosentrasi larutan standar. Tujuan pembuatan kurva standar DDT adalah sebagai acuan untuk memperoleh konsentrasi DDT setelah degradasi. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengukur luas

puncak DDT/pirena dengan variasi konsentrasi larutan standar 0; 25; 50; 75 dan 100% ($100\% = 0.25 \mu mol$ DDT yang berasal dari 50 μL DDT 5 mM) menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 4.1 di bawah ini:

Tabel 4. 1 Data Kurva Standar DDT

Konsentrasi (%)	Luas Puncak DDT	Luas Puncak Pirena	Perbandingan Luas Puncak DDT/Pirena	Rata- Rata	SD
0	0	0	0		0
	0	0	0		
25	8133,85	81132,80	0,10	0,10	0,006
	8291,78	76696,94	0,11	0,10	
50	17689,29	80616,66	0,22	0.22	0,001
	17256,62	79033,15	0,22	0,22	
75	24232,41	79892,88	0,30	0.20	0,003
	22970,71	76780,01	0,30	0,30	
100	29698,65	76994,95	0,39	0.20	0.002
	28740,36	74100,91	0,39	0,39	0,002

Berdasarkan data pada Tabel 4.1 dapat diperoleh grafik seperti Gambar 4.2. berikut :



Gambar 4. 2 Kurva Standar DDT

Dari kurva standar di atas, diperoleh persamaan regresi linear sebagai berikut : y = 0,004x dimana, x adalah konsentrasi DDT, y adalah perbandingan luas puncak DDT/pirena. Persamaan regresi linier ini berfungsi sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel. Hubungan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dapat diketahui dari koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi merupakan suatu ukuran hubungan antara dua variabel yang memiliki nilai antara -1 dan 1. Jika variabel-variabel keduanya memiliki hubungan linier sempurna, koefisien korelasi itu akan bernilai 1 atau -1. Tanda positif atau negatif bergantung pada apakah variabel-variabel itu memiliki hubungan secara positif atau negatif. Koefisien korelasi bernilai 0 jika tidak ada hubungan yang linier antara variabel.

Hasil dari perhitungan diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,994, yang menunjukkan bahwa konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dari kurva standar memiliki hubungan linear sangat kuat atau hampir sempurna. Hubungan signifikansi antara konsentrasi standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dan persamaan regresi kurva standar yang digunakan dalam menentukan konsentrasi DDT dalam sampel, dapat diketahui dengan melakukan uji t. Uji t dilakukan dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$ (dengan nilai selang kepercayaan 95%). H₀ <mark>me</mark>nyatakan tidak ad<mark>anya hubungan</mark> yang signifikan <mark>anta</mark>ra konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena, sedangkan H₁ menyatakan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena. Berdasarkan perhitungan pada lampiran 2 diketahui thitung lebih besar daripada ttabel, sehingga H₀ ditolak dan H₁ diterima yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dan persamaan regresi linier kurva standar dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT 4.4.1 Biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*

Kultur *P. brevispora* yang telah dipre-inkubasi ditambahkan DDT 50 μL yang telah dilarutkan dalam pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). DDT merupakan senyawa organik non polar yang memiliki berat molekul tinggi, sehingga nilai kelarutan dalam air relatif kecil, sehingga DDT perlu dilarutkan dalam pelarut aprotik seperti DMSO agar kelarutan DDT dalam air meningkat (Ashari, 2014).

P. brevispora merupakan jamur aerobik yang memerlukan oksigen dalam proses metabolismenya, sehingga kultur diberi penambahan gas oksigen ketika proses biodegradasi berlangsung. Setelah diberi tambahan oksigen, erlenmeyer ditutup dengan sumbat kaca dan diselotip dengan parafilm untuk menghindari kontaminasi dari mikroorganisme lain. Kemudian, kultur diinkubasi statis pada temperatur 30°C selama 7 hari.

Setelah proses inkubasi dilakukan recovery mengetahui jumlah DDT. Recovery dilakukan dengan menambahkan 20 mL methanol dan 50 µL pirena 5 mM ke dalam kultur. Penambahan metanol digunakan untuk menghentikan proses degradasi atau mematikan kultur jamur. Pirena yang ditambahkan ke dalam kultur berfungsi sebagai internal standar untuk mengoreksi DDT yang hilang selama persiapan sampel. Kultur jamur yang sudah mati dipindahkan ke tabung falcon untuk dihomogenkan menggunakan homogenizer agar DDT yang terperangkap dalam miselium jamur dapat bebas. Campuran homogen disentrifuge selama 7 menit untuk memisahkan kultur jamur dan supernatan. Campuran disaring menggunakan kertas saring Whatman. Supernatan dievaporasi dengan temperature 64°C untuk menghilangkan aseton dan metanol yang berada di dalam supernatan.

Setelah dievaporasi, supernatan diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi cai-cair. Prinsip dari metode ini adalah perbedaan kelarutan solut (komponen terlarut) dalam

solven (pelarut) dan diluen (cairan pembawa). Pada penelitian ini digunakan pelarut air dan n-heksana. Pemilihan pasangan pelarut ini berdasarkan syarat-syarat pemilihan pelarut untuk ekstraksi cair-cair yaitu kedua pelarut tidak saling larut, tidak saling bereaksi, memiliki titik didih relatif rendah, tidak bersifat toksik, memiliki perbedaan densitas yang tinggi, tidak bereaksi dengan solut maupun diluen, memiliki perbedaan titik didih yang tinggi dengan solut, pelarut pertama mampu melarutkan diluen dan pelarut kedua mampu melarutkan solut. Air merupakan pelarut polar, sedangkan DDT memiliki kelarutan rendah dalam air. N-heksana merupakan pelarut non polar yang dapat melarutkan DDT.

Sampel hasil evaporasi diekstraksi dengan pelarut air dan n-heksana menggunakan corong pisah. Kemudian dikocok menggunakan *shaker* selama 15 menit agar kedua pelarut saling kontak sehingga solut dapat terekstrak ke dalam fasa organik. Setelah pengocokan terbentuk dua fasa, yaitu fasa organik dan fasa aquos. Fasa aquos diektraksi kembali menggunakan corong pisah, dan fasa organik dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Fasa aquos dari hasil ekstraksi pertama diekstraksi kembali dengan air dan n-heksana seperti ekstraksi sebelumnya. Tujuan dilakukan ektraksi kedua agar tidak ada DDT dan metabolit produk yang tertinggal di dalam fasa aquos.

Fase organik hasil ekstraksi disaring menggunakan kapas dan Na₂SO₄ sebagai agen pengering (*drying agent*) dalam fasa organik, senyawa ini dapat mengikat senyawa polar seperti air dan alkohol. Penanda bahwa seluruh air yang terkandung dalam fasa organik telah terserap adalah dengan bergeraknya natrium sulfat secara bebas pada dasar wadah. Setelah disaring, filtrat dievaporasi kembali pada suhu 67°C. Evaporasi ini berfungsi menguapkan n-heksana yang terkandung di dalam sampel. Selanjutnya, filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial untuk dianalisis menggunakan GC-MS. Kemudian, filtrat yang tersisa dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL

metanol. Selanjutnya, filtrat disonik sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial untuk dianalisis menggunakan HPLC.

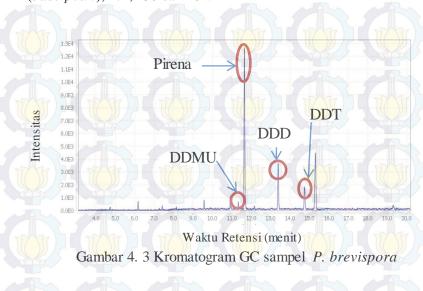
Hasil analisa degradasi DDT oleh *P. brevispora* menggunakan HPLC diperoleh persentase DDT pada kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, persentase DDT yang terdeteksi adalah 96,70%. Pada sampel perlakuan, persentase DDT yang terdeteksi sebesar 32,45%. Sehingga *P. brevispora* dapat mendegradasi DDT sebesar 64,45% selama 7 hari inkubasi pada media PDB. Data yang diperoleh dari rata-rata pengukuran dua kali (n=2), data lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 3. Pada penelitian Xiao dkk (2011), degradasi DDT menggunaka jamur *P. brevispora* menunjukkan bahwa DDT terdegradasi hanya sebesar 30% selama 21 hari inkubasi pada *low nitrogen* (LN) media. Perbedaan hasil dari penelitian Xiao dan penelitian ini adalah karena media jamur yang digunakan berbeda.

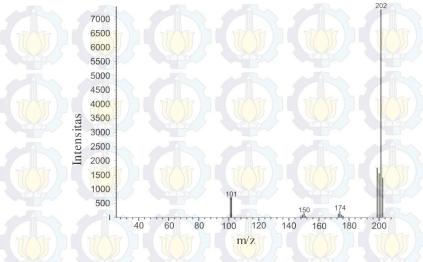
Hasil analisis kromatogram GC sampel jamur pada Gambar 4.3 mendeteksi beberapa senyawa antara lain DDMU pada waktu retensi 11,3 menit, pirena pada waktu retensi 11,7 menit, DDD pada waktu retensi 13,4, dan DDT pada waktu retensi 14,7 menit. Dari analisis dapat diketahui bahwa metabolit produk dari degradasi DDT oleh *P. brevispora* yaitu DDD dan DDMU. Untuk memastikan keakuratan identifikasi senyawa tersebut berupa pirena, DDT, DDD dan DDMU, dilakukan pencocokkan M⁺ yang diperoleh pada spektrum MS masing-masing senyawa dalam sampel hasil analisis dengan M⁺ secara teori dalam database, sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya serta mengurangi potensi kesalahan dalam identifikasi senyawa.

Pirena memiliki nilai M⁺ sebesar 202. Nilai M⁺ ini sesuai dengan spektrum MS pirena dalam database seperti pada Gambar 4.4 dan spektrum MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.5.

Gambar 4.4 merupakan spektrum MS pirena hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS pirena dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS pirena hasil analisis

dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 202 (base peak), 174, 150 dan 101.



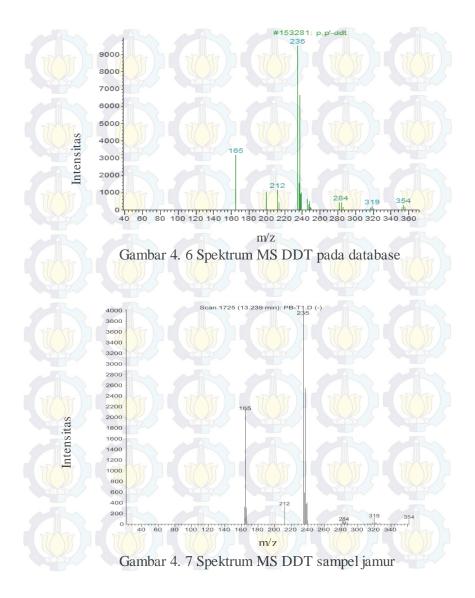


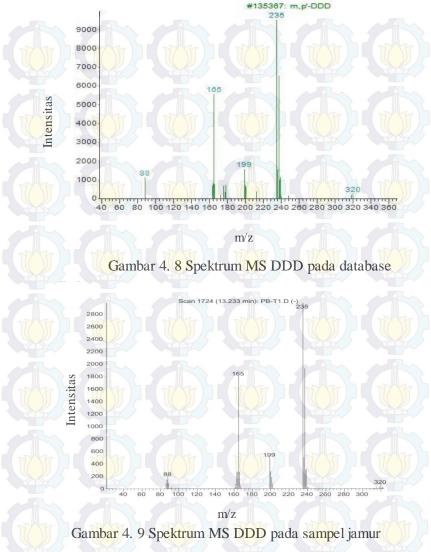
Gambar 4. 5 Spektrum MS Pirena pada sampel jamur

DDT memiliki nilai M⁺ sebesar 354. Nilai M⁺ ini sesuai dengan spektrum MS DDT dalam database seperti pada Gambar 4.6 dan spektrum MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.7.

Gambar 4.7 merupakan spektrum MS DDT hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS DDT dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDT hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 354, 319, 284, 235 (base peak), 212 dan 165.

DDD merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan 1 atom Cl melalui reaksi deklorinasi, maka nilai M⁺ DDD sebesar 320. Nilai M⁺ ini sesuai dengan spektrum MS DDD dalam database seperti pada Gambar 4.8 dan spektrum MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.9.



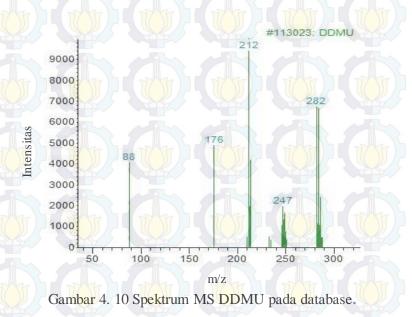


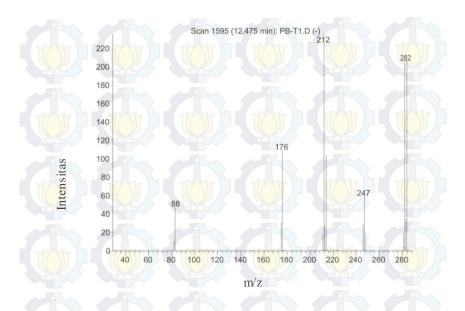
Gambar 4.9 merupakan spektrum MS DDD hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang

sama dengan spektrum MS DDD dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDD hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 320, 235 (base peak), 199, 165 dan 88.

DDMU merupakan senyawa turunan dari DDT yang memiliki nilai M⁺ sebesar 282. Nilai M⁺ ini sesuai dengan spektrum MS DDMU dalam database seperti pada Gambar 4.10 dan spektrum MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.11.

Gambar 4.10 merupakan spektrum MS DDMU hasil analisis sampel jamur dan memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS DDMU dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDMU hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 88, 176, 212 (base peak), 247 dan 282.





Gambar 4. 11 Sepktrum MS DDMU pada sampel jamur

4.4.2 Biodegradasi DDT oleh R. pickettii

Kultur bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam dimasukkan ke dalam PDB dengan variasi penambahan kultur *R. pickettii* 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL ≈ 1,337 x 10° sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Kemudian, campuran kultur ditambah dengan PDB kembali hingga volume total 20 mL dan ditambah juga dengan DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Selanjutnya, tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya dilakukan proses *recovery* untuk mengetahui DDT yang terdegradasi. Hasil perhitungan luas puncak untuk mengetahui degradasi DDT ada pada lampiran 3, dan hasil degradasi DDT diperoleh pada Tabel 4.2.

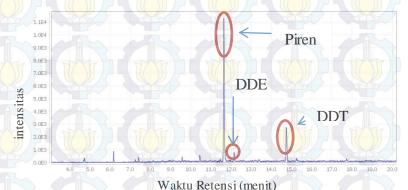
Tabel 4. 2 Degradasi DDT oleh bakteri R. pickettii

Konsentrasi Bakteri (ml)	Kontrol (%)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
1	96,70	88,07	8,52	0,65
3	96,70	84,62	12,08	0,88
5	96,70	81,05	15,64	2,29
7	96,70	65,83	30,87	0,52
10	96,70	76,85	19,84	0,60

Berdasarkan Tabel 4.2, hasil analisis degradasi DDT oleh R. pickettii menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, konsentrasi bakteri yang paling maksimal dalam mendegradasi DDT yaitu pada konsentrasi 7 mL dengan recovery DDT dalam kultur sebesar 65,83% dimana persentase degradasi DDT sebesar 30,87% dan standar deviasi 0,52. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran (n=2).

Data tersebut menunjukkan bahwa degradasi DDT oleh *R. pickettii* turun pada konsentrasi bakteri 10 mL, hal ini menunjukkan bahwa degradasi DDT tidak linier terhadap konsentrasi bakteri. Konsentrasi yang melebihi 7 mL akan menurunkan degradasi DDT karena jumlah bakteri yang terlalu banyak akan meningkatkan persaingan sehingga bakteri akan memproduksi senyawa toksik sebagai proritas untuk dapat bertahan hidup dari pada mendegradasi DDT. Hal tersebut juga dimungkinkan karena bakteri mendegradasi DDT dengan menghasilkan metabolit yang lebih berbahaya sehingga metabolit tersebut menghambat bakteri dalam mendegradasi DDT. Hal ini didukung oleh pernyataan dari *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* yang melaporkan bahwa DDE yang merupakan turunan DDT memiliki LD₅₀ yang sama yaitu 50 mg/kg, namun

DDE memiliki kemampuan bioakumulasi lebih tinggi dari pada DDT sehingga lebih berbahaya (Wrobel, 2011). Hasil dari kromatogram GC pada sampel *R. pickettii* ditunjukkan pada Gambar 4.12.

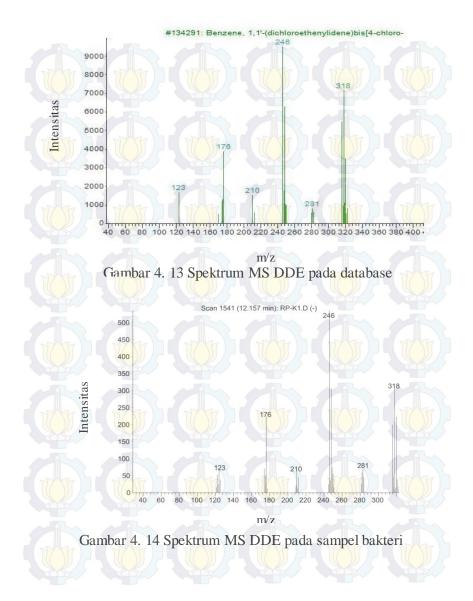


Gambar 4. 12 Kromatogram GC pada sampel R. pickettii

Hasil analisis kromatogram GC sampel bakteri pada Gambar 4.12 mendeteksi beberapa senyawa antara lain pirena pada waktu retensi 11,6 menit, DDE pada waktu retensi 12,2, dan DDT pada waktu retensi 14,8 menit. Dari analisis dapat diketahui bahwa metabolit produk dari degradasi DDT oleh *R. pickettii* yaitu DDE.

DDE merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan 1 atom Cl dan hidrogen melalui reaksi dehidroklorinasi, maka nilai M⁺ DDE sebesar 318. Nilai M⁺ ini sesuai dengan spektrum MS DDE dalam database seperti pada Gambar 4.13 dan spektrum MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.14.

Gambar 4.14 merupakan spektrum MS DDE hasil analisis sampel bakteri yang memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS DDE dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDE hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 318, 281, 246 (base peak), 210, 176 dan 123.



4.4.3 Pengaruh Penambahan R. pickettii terhadap biodegradasi DDT oleh P. brevispora

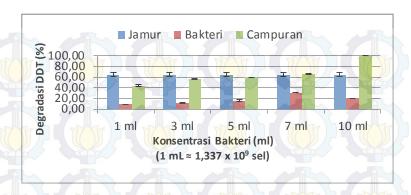
Kultur jamur *P. brevispora* hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* dengan variasi penambahan 0, 1, 3, 5, 7 dan 10 mL. Kemudian, masing-masing kultur ditambah PDB hingga volume total 20 mL dan ditambah juga dengan DDT 5 mM dalam DMSO. Selanjutnya, tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya dilakukan proses *recovery* untuk mengetahui DDT yang terdegradasi. Hasil degradasi DDT diperoleh pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Degradasi DDT oleh P. brevispora dengan

penambahan R. pickettii

Konsentrasi Bakteri (mL)	Kontrol (%)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
771	96,70	52,66	44,04	2,54
3	96,70	39,72	56,98	1,11
5	96,70	37,39	59,36	0,28
7	96,70	30,87	65,82	0,98
10	96,70	0,00	100,00	0,00

Berdasarkan Tabel 4.3, hasil analisis degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *R. pickettii* menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, konsentrasi bakteri yang ditambahkan pada kultur jamur paling maksimal dalam mendegradasi DDT yaitu pada konsentrasi 10 mL dengan *recovery* DDT dalam kultur 0% dimana persentase degradasi DDT sebesar 100% atau dapat dikatakan bahwa DDT terdegradasi total dan standar deviasi 0,00. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran (n=2). Dari tabel dapat diperoleh grafik pada Gambar 4.15.



Gambar 4. 15 Grafik Degradasi DDT oleh P.

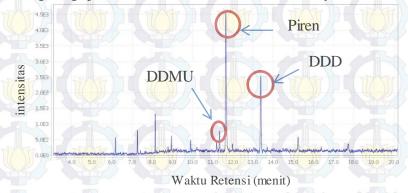
brevispora dengan penambahan R.

pickettii

Dari Tabel 4.3 dapat dibuat grafik yang ditunjukkan pada Gambar 4.15. Dapat dilihat dari data dan grafik bahwa penambahan R. pickettii berpengaruh terhadap biodegradasi DDT oleh P. brevispora. Dari grafik dapat diketahui kolerasi antara jumlah DDT yang terdegradasi dan konsentrasi bakteri yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentrasi bakteri, maka semakin tinggi pula jumlah DDT yang terdegradasi. Hal ini menunjukkan bahwa degradasi DDT oleh P. brevispora linier terhadap konsentrasi bakteri. Jika diamati pada degradasi DDT oleh bakteri, dapat dilihat bahwa pada penambahan 10 mL mengalami degradasi DDT oleh campuran pada penurunan, pada penambahan bakteri 10 mL mengalami kenaikan bahkan terdegradasi total. Hal ini dapat disebabkan karena jamur membantu bakteri mendegradasi senyawa toksik yang mungkin dihasilkan dari degradasi DDT oleh bakteri.

Hasil analisis kromatogram GC sampel campuran pada Gambar 4.16 mendeteksi beberapa senyawa antara lain DDMU pada waktu retensi 11,4 menit, pirena pada waktu retensi 11,6 menit, dan DDD pada waktu retensi 13,4. Dari analisis dapat diketahui bahwa metabolit produk dari degradasi DDT oleh *P*.

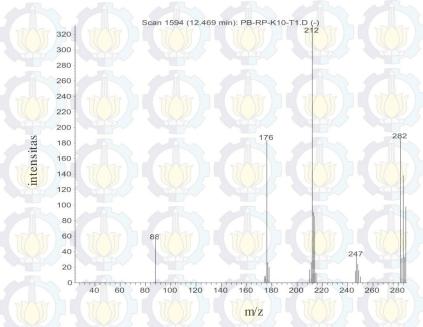
brevispora dengan penambahan *R. pickettii* yaitu DDD dan DDMU. Untuk memastikan keakuratan identifikasi senyawa tersebut berupa pirena, DDD dan DDMU, dilakukan pencocokkan M⁺ yang diperoleh pada spektrum MS masing-masing senyawa dalam sampel hasil analisis dengan M⁺ secara teori dalam database, sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya serta mengurangi potensi kesalahan dalam identifikasi senyawa.



Gambar 4. 16 Kromatogram GC Degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan Penambahan *R. pickettii*

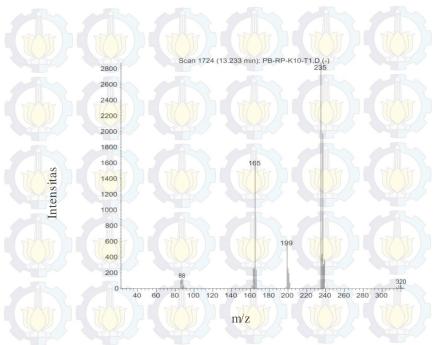
Spektrum MS DDD dan DDMU hasil analisis sampel campuran sama dengan spektrum MS DDD dan DDMU hasil analisis sampel *P. brevispora* ditunjukkan dari m/z yang sama dan sesuai dengan spektrum MS DDD dan DDMU database (Gambar 4.8 dan 4.10). Spektrum MS dari hasil sampel campuran dapat dilihat pada Gambar 4.17.

Gambar 4.17 merupakan spektrum MS DDMU hasil analisis sampel campuran memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS DDMU dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDMU hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 88, 176, 212 (base peak), 247 dan 282.



Gambar 4. 17 Spektrum MS DDMU pada sampel Campuran

Gambar 4.18 merupakan spektrum MS DDD hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektrum MS DDD dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektrum MS DDD hasil analisis dengan spektrum MS dalam database yang sama antara lain: 320, 235 (base peak), 199, 165 dan 88.

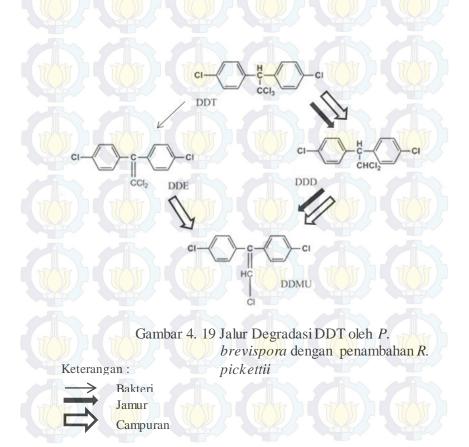


Gambar 4. 18 Spektrum MS DDD pada Sampel Campuran

4.4.4 Perkiraan Jalur Degradasi DDT Hasil Penelitian

Dari data yang diperoleh, dapat dibuat kemungkinan jalur degradasi yang terjadi pada proses degradasi DDT seperti pada Gambar 4.19. Degradasi DDT oleh *P. brevispora* menghasilkan metabolit produk DDD dan DDMU, sehingga kemungkinan DDT diubah menjadi DDD dan DDD diubah menjadi DDMU. Hal ini didukung oleh penelitian degradasi DDT oleh bakteri yang dilakukan oleh Wedemeyer (1967) (Gambar 2.2). Penelitian yang dilakukan Wedemeyer (1966;19967) juga menjelaskan bahwa

mikroba dapat mendegradasi DDT menjadi DDE seperti hasil dari analisa degradasi DDT oleh *R. pickettii* pada penelitian ini. Pada degradasi campuran tidak ditemukan DDE, sehingga kemungkinan DDE yang dihasilkan oleh bakteri diubah menjadi DDMU oleh jamur dengan lepasnya atom Cl dan terikatnya atom hidrogen. Yu dkk. (2011) dan Masse dkk. (1989) juga menyatakan bahwa DDE dapat terdegradasi menjadi DDMU oleh mikroba.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- 1. Pada penambahan bakteri *R. pickettii* sebanyak 10 mL (1,337 x 10¹⁰ CFU) memiliki pengaruh pada biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* dari 64,45% menjadi 100% terdegradasi dengan volume dan konsentrasi DDT yaitu 50 μL dan 5 mM. Degradasi campuran *R. picketti* dan *P. brevispora* lebih efektif dibandingkan biodegradasi DDT hanya dengan *P. brevispora*.
- 2. Metabolit produk yang dihasilkan dari penambahan *R. pickettii* pada biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* adalah DDD dan DDMU.

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan penelitian lebih jauh pada metabolit produk DDT, sehingga dapat menentukan jalur degradasi DDT lebih detail. Disamping itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang faktor-faktor lain yang dapat mengoptimalkan proses degradasi seperti suhu, pH dan waktu inkubasi.



DAFTAR PUSTAKA

- Ariesyady, D. D. (2011). Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat Dengan Teknik Konvensional. Bandung: Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung.
- Ashari, K. (2014). Pengaruh Penambahan Pseudomonas aeruginosa Terhadap Biodegradasi DDT Oleh Pleurotus ostreatus. Surabaya: FMIPA ITS.
- Asranudin, dan Putra, Surya R. (2014). Efek penambahan PEG 400 pada Plastik PHA yang Diproduksi Dari Ralstonia pickettii. Surabaya: Prosiding Seminar Nasional Kimia. Jurusan Kimia, Universitas Negeri Surabaya.
- Blanchette, R. (1988). Selection of White Rot Fungi for Biopulping. *Biomass*, 15:93-101.
- Bumpus, John A., Powers, R.., Sun, T. (1993). Biodegradation of DDE (1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethane by aPhyanerochaete chrysosporium. *Mycology Research*, 97: 95-98.
- Bumpus, J. A., dan Aust, S. D. (1987). Biodegradation of DDT [1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane] by the white rot fungus Phanerochaete chrysosporium. *Applied and environmental microbilogy*, 53: 2001-2008.
- Campos, C.S., Eira, A.F., Minhoni, M.T., dan Nogueira, M.C. (2009). Mineral Composition Of Raw Material, Substrate And Fruiting Bodies Of Pleurotus ostreatus In Culture. Journal of Interciencia. *Journal of Interciencia*, 34: 432-436.
- Djarijah, N. (2001). Budidaya Jamur Tiram. Yogyakarta: s.n.
- Djarwanto, S. S. (2014). Kemampuan Pelapukan 10 Strain Jamur Pada Lima Jenis Kayu Asal Kalimantan Timur. Penelitian Hasil Hutan, 32:263-270.
- Engst, R. (1968). Enzymatischer Abbau des DDT durch Schimmelpilze. 3. Mitt. Darstellung des 2,2-

- bis(pchlorphenyl)-acetaldehyds (DDHO) und seine Bedeutung im Abbaucyclus. *Nahrung*, 12:783-785.
- Engst, R.(1967). Nymatischer Abbau des DDT durch Schimmelpilze. 1. Mitt. Isolierung und Identifizierung eines DDT abbauenden Schimmelpilzes. *Nahrung*, 11:401-403.
- Eris, F. R. (2006). Pengembangan Teknik Bioremediasi dengan Slurry Bioreaktor untuk Tanah Tercemar Minyak Diesel (Thesis). Bogor: IPB.
- Faroon, O., Harris, M. O. (2002). *Toxicological Profile For DDT*, *DDD*, *DDE*. New York: Departement of health and Human Services
- Fansuri, H. (2010). *Buku Panduan Pelatihan Instrumen*. Surabaya: Laboratorium Energi dan Rekayasa.
- Focht, D. M. (1970). Bacterial degradation of diphenylmethane, a

 DDT model substrate. Applied Microbiology, 20:608611.
- Frazar, C. (2000). The Bioremediation and Phytoremediation of Pesticide Contaminated Sites. National Network of Environmental Studies. Washington DC: ASM Press.
- Gandahusada, S. D. (1996). *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI.
- Gao, D. L. (2010). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) by White Rot-Fungus Pseudotrametes gibbosa Isolated From The Bureal Forest in Northeast China. *African Journal of Biotechnology*, 6888-6893.
- Garraway, M. O., dan Evans, R. C. (1984). Fungal Nutrition and Physiology. Canada: John Wiley & Sons, Inc.
- Gilligan, P. L. (2003). Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea and Acidovorax. In Manual of Clinical Microbiology, 8th edn ed.Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A. and Yolken, R.H. pp. Washington DC: ASM.

- Griffin, D. (1994). Fungal Physiology 2nd Ed. New York: Wiley-Liss Inc.
- Hendayana, S. (2006). *Kimia Pemisahan, Metode Kromatografi dan.* Jakarta:Universitas Pendidikan Indonesia.
- Hermansyah, F. T. (2014). Optimasi Degradasi DDT oleh Pleurorue ostreatus dengan Penambahan Bakteri Bacillus subtilis. Surabaya: FMIPA ITS.
- Indraningsih dan Widiastuti, R. (1998). Residu Pestisida Organoklorin serta Kemungkinan Bahayanya pada Ternak dan Manusia. *Wartazoa*, 7[2]:55-60.
- JJ, Kukor, RH, Olsen. (1992). Complete nucleotide sequence of tbuD, the gene encoding phenol/cresol hydroxylase from Pseudomonas pickettii PKO1, and functional analysis of the encoded enzyme. *J Bacteriol*, 174:6518-6526.
- Kang, S., Liu, S., Wang, H., dan Cai, W. (2016). Enhanced degradation performances of likemicro/nanostructured zero valent iron to DDT.

 Journal of Hazardous Materials, 307:145-153.
- Khopkar, S. M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kiyohara, H. H. (1992). Isolation of Pseudomonas pickettii strains that degrade 2, 4, 6-trichlorophenol and their dechlorination of chlorophenols. *Appl Environ Microbiol*, 58: 1276–1283.
- Kusnaedi. (2005). *Pengendalian Hama Tanpa Pestisida*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Laddha, G. D. (1976). *Transfort Phenomena in Liquid Extraction*. New Delhi: Tata Mc-Graw Hill Publishing Co Ltd.
- Langlois, B. E., Collins, J. A., dan Sides, K. G. (1970). Some factors affecting degradation of organochlorine pesticide by bacteria. *Journal of dairy science*, 53: 1671-1675.
- Lee, H., Jang, Y., Choi, Y. S., Kim, M. J., Lee, J., Lee, H. (2014). Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs. *Journal of Microbiological Methods*, 97:56-62.

- Lee, J. S. (2008). Microbial Degradation and Toxicity of Vinclozolin and its Toxic Metabolite 3,5- dichloroaniline. J. Microbiol. Biotechnol, 18:343-349.
- Marrs T.C., Ballantyne, B. (2004). *Pesticide toxicology and international regulation*. UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Martunus dan Helwani, Z. (2004). Ekstraksi Senyawa Aromatis dari Heavy Gas Oil (HGO) dengan Pelarut Dietilen Glikol (DEG). J. Si. Tek, 3[2]: 46-50.
- Martunus dan Helwani, Z. (2005). Ekstraksi Senyawa Aromatis dari Heavy Gas Oil (HGO) dengan Pelarut Trietilen Glikol (TEG). J. Si. Tek, 4[2]: 34-37.
- Masse, R.; Lalanne, D.; Meisser, F.; Sylvestre, M. 1989: Characterization of new bacterial transformation products of l,l,l-trichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl)ethane (DDT) by gas chromatography/ mass spectrometry. *Biomedical environmental mass spectrometry* 18: 741-752.
- Massol-Deya, A., R., Weller., L., Ríos-Hernández. (1997). Succession and convergence of biofilm communities in fixed-film reactors treating aromatic hydrocarbons in groundwater. *Appl Environ Microbiol*, 63:270-276.
- Miglioranza, K. S., de Moreno, J. E., dan de Moreno, V. J. (2002). Dynamics of Organochlorine Pesticides in Soils From a Southeastern Region of Argentina. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22[4]:712-717.
- Morasch, B. R. (2002). Carbon and hydrogen stable isotope fractionation during aerobic bacterial degradation of aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, 68[10]: 5191-5194.
- Mufarrihah, L. (2009). Pengaruh Penambahan Bekatul Dan Ampas Tahu Pada Media Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus). Malang: Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Muliani, L. (2000). Produksi Biomassa Miselia Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus (Jacq. Ex Fr) (Kummer) Pada Media Padat Dengan Memanfaatkan Hasil Samping

- Penggilingan Gandum (Pollard dan Bran). Bogor: Institut Teknologi Bogor.
- Mulja, M. D. (1995). Analisis instrumental. Surabaya: Airlangga University Press.
- Munaf, S. (1997). Keracunan Akut Pestisida: Teknik Diagnosis, Pertolongan Pertama, Pengobatan dan Pencegahannya. Jakarta: Widya Medika.
- Murtado, A. N. (1996). Status residu pestisida pada sentra produksi padi sawah. Laporan Hasil Penelitian Balitbio. Bogor. 15p.
- Nakasone, K. K. (1981). Phlebia brevispora sp. nov. (Corticiaceae, Aphyllophorales), a cause of internal decay in utility poles. *Mycologia*.
- Nakasone, K. K., Burdsall, H. H. (1982). Species of Phlebia Section Leptocyistidiophlebia Aphyllophorales, Corticiaceae in North America. *Mycotaxon*, 14:3-12.
- NIST.2010.The National Institute of Stadards and Technology. [Online] Tersedia di http://webbook.nist.gov [Diakses pada tanggal 20 April 2016]
- Orth A.B, D.J., Royse. (1993). Ubiquity of Lignin degradding Peroxidases among Vaious Wood-Degrading Fungi. *Appl. Environ Microbiol*, 59:40117-4023.
- Pfaender, F. K., dan Alexander, M. (1972). Extensive microbial degradation of DDT in vitro and DDT metabolism by natural communities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 20: 842-846.
- Purwoko, T. (2007). Fisiologi Mikroba. Jakarta: Bumi Aksara.
- Research Organization of Information and Systems.2015. DNA
 Data Bank of Japan (DDBJ). [Online] Tersedia di
 http://ddbj.nig.ac.jp [Diakses pada tanggal 18
 November 2015]
- Ritter, L. S. (2007). Persistent Organic Pollutants. An assessment report on: DDT, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Chlordane, Heptachlor, Hexachlorobenzene, Mirex, Toxaphene,

- Polychlorinated Biphenyls, Dioxins. and Furans. prepared for The International Programme on Chemical Safety. *Review*.
- Ryan, M. P. (2007). Ralstonia pickettii in Environmental Biotechnology: Potential and Applications. *Journal Applied of Microbiology*, 103:754-764.
- Sastrodihardjo. (1979). Pengantar Entomologi Terapan.

 Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Sastrohamidjojo, H. (2001). Dasar dasar Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty.
- Sastroutomo, S. S. (1992). *Pestisida : Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya.* Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Settle, F. (1997). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. New Jersey: Prentice Hall, Inc.
- Sigmaaldrich. (2010). Nutrient Agar. [Online] Tersedia di from http://www.sigmaaldrich.com [Diaskes pada tanggal 28 Mei 2010]
- Silverstein, R. (2005). Spectrometric Idetification of Organic Compounds 7th ED. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Skoog, D. A. (1998). *Principle Analysis*. USA: Saunders College Publishing.
- Soejitno, J. D. (1999). Residu pestisida pada agroekosistem tanaman pangan. 72-90.
- Soemirat, J. (2005). *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sudarmo, S. (1991). Pestisida. Yogyakarta: Kanisius.
- Suharnowo, L. S., Budipramana, dan Isnawati. (2012).

 Pertumbuhan Miselium Dan Produksi Tubuh Buah Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus) Dengan Memanfaatkan Kulit Ari Biji Kedelai Sebagai Campuran pada Media Tanam. *LenteraBio*, 1:125–130.
- Suhenry, M. D. (2011). Kinetika Pertumbuhan Sel Sacharomyces cerevisiae dalam Media Tepung Kulit Pisang. Yogyakarta: Universitas Pembangunan Nasional.

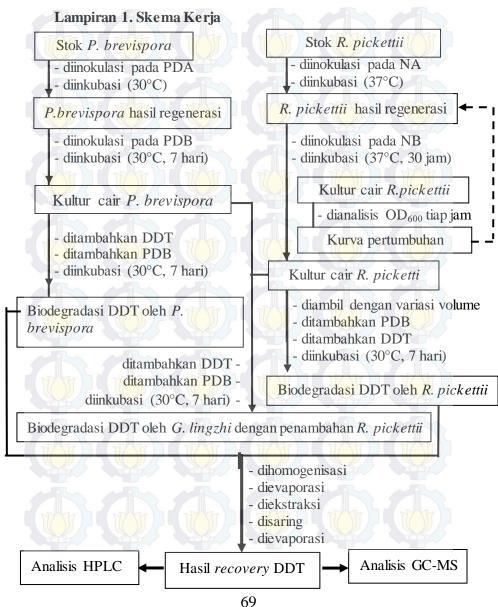
- Sumardjo, D. (2008). Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta. Jakarta: EGC.
- Sumarsih, S. (2003). *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: Fakultas Pertanian UPN Veteran.
- Sutarma. (2000). *Kultur Media Bakteri*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Takizawa, N. Y. (1995). A locus of *Pseudomonas pickettii* DTP0602, had, that encodes 2, 4, 6- trichlorophenol-4-dechlorinase with hydroxylase activity, and hydroxylation of various chlorophenols by the enzyme. *J Ferment Bioeng*, 80:318–326.
- Tarumingkeng, R. C. (1989). *Pengantar Toksikologi Insektisida*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Thurston, C. (1994). The structure and function of fungal laccase. *Microbiology*, 140:19-26.
- Vidali, M. (2001). Bioremidiation: An overview. Pure and Applied Chemistry, 73: 1163-1172.
- Volk, W. A. (1993). *Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid 1*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Walter, M. (1997). Bioaugmentation CJ Hurst (Eds). Manual of Environmental Microbiology. Washington DC: ASM Press.
- Wedemeyer, G. 1967. Biodegradation of dichlorodiphenyltrichloroethane: intermediates in dichlorodiphenylacetic acid metabolism by *Aerobacter aerogenes*. Appl Microbiol. 15:1494-1495.
- Wedemeyer, G. (1967). Dechlorination of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane by Aerobacter aerogenes.

 Applied Microbiology, 15: 569-574.
- Weiss, J. (1995). *Ion Chromatography, 2nd Edition*. Weinheim: VCH.
- Wolfaardt, F. J. (2004). Assesment of Wood-Inhabiting Basidiomycetes for Biokraft Pulping of Softwood Chips. *Bioresource Technology*, 95[1]:25-30.

- Xiao, P., Mori, T., Kamei, I., Kondo, R. (2011). A novel metabolic pathway for biodegradation of DDT by the white rot fungi, Phlebia lindtneri and Phlebia brevispora. *Biodegradation*, 22:859–867.
- Yabuuchi E, K. T. (1983). Sphingobacterium gen. nov., Sphingobacterium spiritivorum comb. nov., Sphingobacterium multivorum comb. nov., Sphingobacterium mizutae sp. nov., and Flavobacterium indologenes sp. nov.: Glucose-nonfermenting gramnegative rods in CDC groups IIK-2 and IIb. *Int J Syst Bacteriol*, 33:580–598.
- Yao, F., Yu, G., Bian, Y., Yang, X., Wang, F., dan Jiang, X. (2006). Bioavailability to grains of rice of aged and fresh DDD and DDE in soils. *Chemosphere*, 68(1):78-84.
- Yu HY, B. L. (2011). Field validation of anaerobic degradation pathways for dichlorodiphenyltrichloroethylene (DDT) and 13 metabolites in marine sediment cores from China. *Environmental Science Technology*, 45: 5245-5252.



LAMPIRAN



Lampiran 2. Perhitungan

1. Pembuatan Larutan DDT 5 mM dalam 50 mL DMSO

$$n = M \cdot V$$

= $5x10^{-3} M \cdot 0.05 L$
= $2.5 \times 10^{-4} mol$

Massa = n . Mr = 2.5 x
$$10^{-4}$$
 mol . 354,49 g/mol = 0.0886225 g DDT

2. Pembuatan Larutan Pirena 5 mM dalam 50 mL DMSO

$$n = M . V$$
= $5x10^{-3} M . 0.05 L$
= $2.5 x 10^{-4} mol$

Massa = n . Mr
=
$$2.5 \times 10^{-4}$$
 mol . 202,25 g/mol
= 0.0505625 g Pirena

3. Uji Signifikansi Koefisien Korelasi (Uji t)

	X_i	Yi	$(X_i - \overline{X})$	$(X_i - \overline{X})$	$(Y_i - \overline{Y})$	$(Y_i - \overline{Y})^2$	$(X_{i} - \overline{X})$ $(Y_{i} - \overline{Y})$
	0	0	-50	2500	-0,202	0,041	10,11
	25 50	0,104 0,219	-25	625	-0,098 0,017	0,009	2,45
	75 100	0,301 0,387	25 50	625 2500	0,099 0,185	0,009	24,75 9,25
1111	₹ = 50	Y = 202	1	$\Sigma = 6250$		$\frac{\Sigma =}{0,095}$	$\Sigma = 24,275$

$$\mathbf{r} = \frac{\sum [(\mathbf{X}_{i} - \overline{\mathbf{X}})(\mathbf{Y}_{i} - \overline{\mathbf{Y}})]}{\sqrt{\sum [(\mathbf{X}_{i} - \overline{\mathbf{X}})^{2}(\mathbf{Y}_{i} - \overline{\mathbf{Y}})^{2}]}}$$

$$= \frac{24,275}{\sqrt{(6250)(0,095)}}$$

$$= 0.998$$

$$t_{\text{hitung}} = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

$$= \frac{0.998\sqrt{5-2}}{\sqrt{1-0.998^2}}$$

$$= 25.392 \ (t_{\text{tabel}} = 3.182)$$

$$\begin{split} &H_0 \text{ diterima, jika } t_{\text{hitung}} \!<\! t_{\text{tabel}} \\ &H_0 \text{ ditolak, jika } t_{\text{hitung}} \!>\! t_{\text{tabel}} \\ &Karena \, t_{\text{hitung}} \!>\! t_{\text{tabel}}, \text{maka } H_0 \\ &\text{ditolak} \end{split}$$

Lampiran 3. Data Analisis Sampel dengan HPLC

Tabel 1. Data Luas Puncak Analisis Sampel pada Jamur P.

brevispora

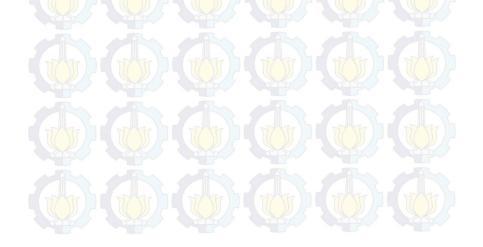
Ket.	n	Pirena	DDT	DDT/ Piren a	Recovery	Rata -rata	SD	Degra -dasi
Tanpa	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
jamur	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
Dengan	TL	17146,34	2412,75	0,14	35,18	32,45	3,86	64,25
jamur	T2	12605,37	1498,4	0,12	29,72			

Tabel 2. Data Luas Puncak Analisis Sampel pada Bakteri R.

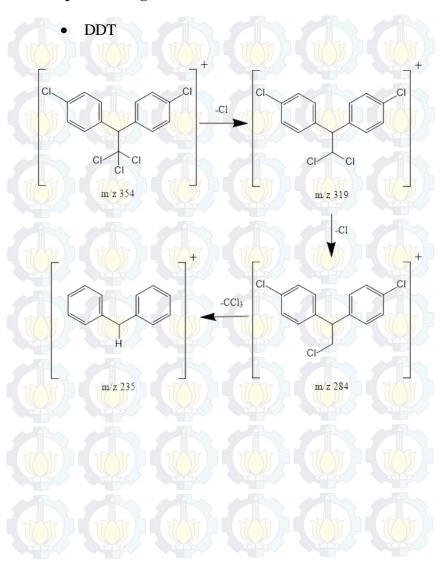
Kons. Bakteri (mL)	n	Pirena	DDT	DDT/ Piren a	Recovery	Rata -rata	SD	Degra -dasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38] -
O (C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	645110	228464	0,35	88,54	88,07	0,65	8,62
1	T2	603386	211455	0,35	87,61			
3	T1	14776,09	4964,6	0,34	84,00	85,62	0,88	12,08
3	T2	14919,79	5087,19	0,34	85,24			
-	T1	8210,44	2715,12	0,33	82,67	81,06	2,29	15,64
5	T2	8707,32	2766,57	0,32	79,43			
7	T1_	8936,46	2366,16	0,26	66,19	65,83	0,52	30,87
1	T2	8991,7	2354,26	0,26	65,46			
10	T1	9762,26	3017,55	0,31	77,28	76,85	0,60	19,84
10	T2	7937,07	2426,63	0,31	76,43			

Tabel 3. Data Luas Puncak Analisis Sampel pada Campuran Bakteri R. pickettii dengan Jamur P. brevispora

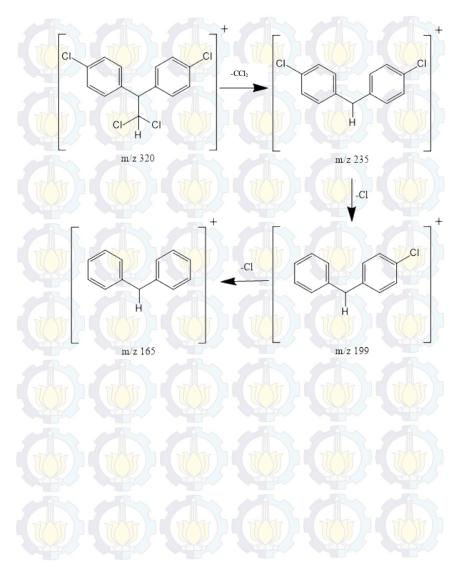
Kons. Bakteri (mL)	n	Pirena	DDT	DDT/ Piren a	Recovery	Rata -rata	SD	Degra- dasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	j -
0	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	13095,33	2852,58	0,22	54,46	52,66	2,54	44,04
1	T2	18903,96	3846,12	0,20	50,86			
3	T1	15067,82	2346,51	0,16	38,93	39,72	1,11	56,98
3	T2	8513,72	1379,37	0,16	40,50			
5	T1	13931,31	2070,44	0,15	37,15	37,34	0,26	59,36
3	T2	10384,57	1558,84	0,15	37,53			
7 17	T1	11824,88	1427,4	0,12	30,18	30,87	0,98	65,82
1	T2	9335,64	1178,8	0,13	31,57			
10	T1	5937,43	0	0,00	0,00	0,00	0,00	100
10	T2	6049,88	0	0,00	0,00			

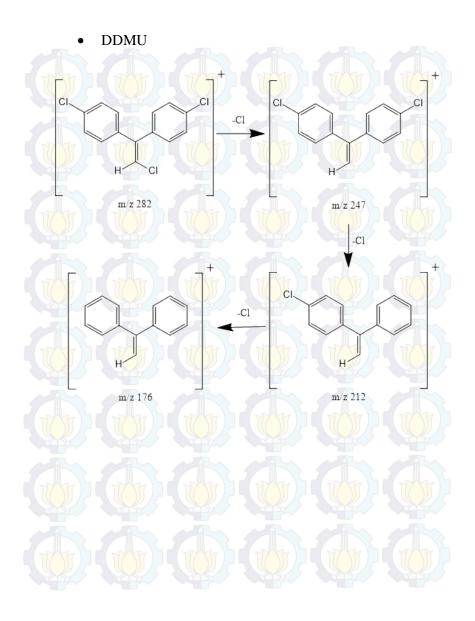


Lampiran 4. Fragmentasi Hasil Analisa GC-MS

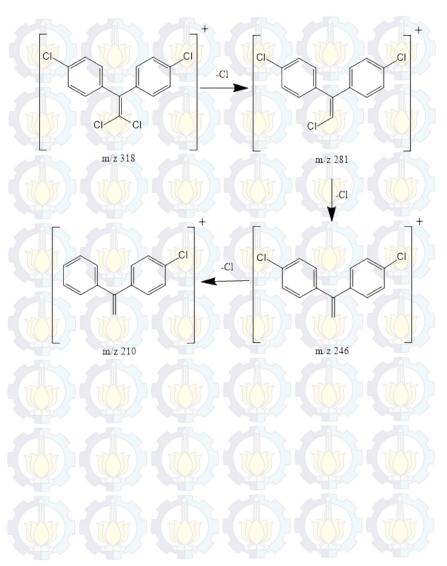


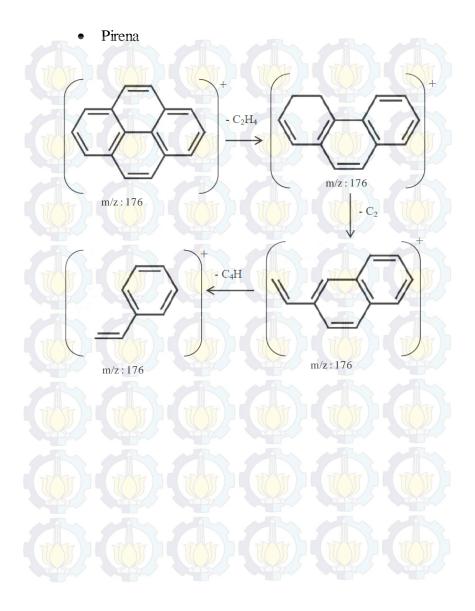
• DDD





• DDE





BIODATA PENULIS



Penulis bernama Dewi Kusumaning Ayu. Penulis yang dilahirkan di Blitar, 14 Juni 1994 ini merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Raden Fatah Blitar (1999-2001), SD Negeri Bendogerit 1 Blitar (2001-2007), SMP Negeri 3 Blitar (2007-2010), dan SMA Negeri 1 Blitar (2010-2012). **Penulis** melanjutkan jenjang pendidikan S1 di Jurusan Kimia FMIPA melalui jalur SNMPTN tulis dan terdaftar dengan Nomor Registrasi Pokok (NRP) 1412100090. Pada tahun kedua penulis

pernah menjadi staff Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) pada departemen DAGRI HIMKA. Pada tahun ketiga penulis pernah menjadi kepala departemen Internal HIMKA. Penulis pernah menjalani kerja praktik di PT. Medco E&P Lematang. Selama kerja praktik, penulis ditempatkan di departemen produksi bagian laboratorium. Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil tugas akhir di bidang Kimia Mikroorganisme dibawah bimbingan Drs. Refdinal Nawfa, MS dan Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D. dan. Penulis dapat dihubungi melalui dewikusumaningayu@outlook.com.

