Tesis – SK 142502

PengaruhPenambahanBakteriterhadapDegradasi DDT oleh*Phlebiabrevispora*

Fajriah
1414201027

DosenPembimbing
AdiSetyoPurnomo, M.Sc., Ph.D.

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN BIOKIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

THESIS – SK 142502

Effect of Bacteria of Addition on Degradation of DDT by *Phlebiabrevispora*

Fajriah
1414201027

Supervisor
AdiSetyoPurnomo, M.Sc., Ph.D.

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

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si)
di
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :
FAJRIAH
NRP.1414 201 027

Tanggal Ujian: 28 Juli 2016
Periode Wisuda: September 2016

Disetujui oleh:

1. **Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.** **(Pembimbing)**
   NIP. 19800724 200812 1 002

2. **Prof. Mardi Santoso, Ph.D.** **(Penguji)**
   NIP. 19650131 198910 1 001

3. **Suprapto, M.Si., Ph.D.** **(Penguji)**
   NIP. 19720919 199802 1 002

Direktur Program Pascasarjana,

Prof. Ir. DjauharManfaat, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19601202 198701 1 001

Pengaruh Penambahan Bakteri terhadap Degradasi DDT oleh *Phlebia brevispora*

Nama Mahasiswa : Fajriah

NRP : 1414201027

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

ABSTRAK

1,1,1-Trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDT) adalah polutan organik yang persisten di alam dan memiliki dampak buruk bagi lingkungan, binatang dan manusia. *Phlebia brevispora* memiliki kemampuan dalam mendegradasi DDT, akan tetapi masih tergolong rendah dan memerlukan waktu degradasi yang lama. Dalam penelitian ini, pengaruh penambahan bakteri *(Pseudomonas aeruginosa, Bacilllus subtilis*, dan *Ralstonia pickettii)* pada biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* telah diteliti, dimana masing-masing bakteri ditambahkan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL ke dalam kultur *P. brevispora.* Degradasi DDT oleh *P. brevispora* tanpa penambahan bakteri sebesar 64%. Penambahan 10 mL *P. aeruginosa* mampu meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan sempurna (100%). 1,1-dikloro-2,2-bis (4-klorofenil) etana (DDD) dan 1-kloro-2,2-bis (4-klorofenil) etilen (DDMU) merupakan metabolit produk dari DDT oleh kultur campuran *P. brevispora* dan *P. aeruginosa*. Reduktif deklorinasi merupakan reaksi tahap pertama pada proses biodegradasi DDT oleh *P.brevispora* dengan penambahan *P. aeruginosa*.

Kata kunci: Biodegradasi, DDT, *Phlebia brevispora, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Ralstonia picketti*

The Effect of Addition of Bacteria on Degradation of DDT by *Phlebia brevispora*

Name : Fajriah

NRP : 1414201027

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

ABSTRACT

1,1,1-Trichloro -2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDT) is an organic pollutant that persisten in nature and has bad effect for the environment, animal and human. *Phlebia brevispora* has an ability to degrade DDT, but still relatively low and need longer time. In this study, the effect of adding bacteria *(Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, and Ralstonia pickettii*) on biodegradation of DDT by *P. brevispora* was investigated, which each bacterium was added by 1, 3, 5, 7 and mL into 10 mL *P. brevispora* culture. Degradation of DDT by *P. brevispora* without addition of bacteria was 64%. However, the addition of *P. aeruginosa* was able to increase the degradation of DDT by *P.brevispora* completely (100%). 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDD) and 1-chloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethylene (DDMU) were metabolite product of DDT. Reductive dechlorination was the first step reaction on DDT biodegradation process by *P. brevispora* with the addition of *P. aeruginosa.*

Keywords: Biodegradation, DDT, *Phlebia brevispora, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Ralstonia picketti*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN i
ABSTRAK .....Ошибка! Закладка не определена.
ABSTRACT.....Ошибка! Закладка не определена.
KATA PENGANTAR.....Ошибка! Закладка не определена.
DAFTAR ISI..... 1
DAFTAR TABEL .....Ошибка! Закладка не определена.
DAFTAR GAMBAR.....Ошибка! Закладка не определена.
BAB I PENDAHULUAN..... 1
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 IIKAJIAN PUSTAKA..... 5
2.1 Pestisida 5
2.2 Dikloro Difenil Trikloroetana (DDT) 6
2.3 Jamur Pelapuk Putih..... 9
2.3.1 Enzim Ligninolitik..... 9
2.3.2 Jamur *Phlebia brevispora*..... 11
2.4 Bakteri 11
2.4.1 Bakteri *Pseudomonasaeruginosa* 11
2.4.2 Bakteri *Bacillus subtilis*..... 12
2.4.3 Bakteri *Ralstonia Pickettii*..... 13
2.5 Bioremediasi 14
2.6 Biodegradasi..... 14
2.6.1 Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih..... 15
2.6.2 Biodegradasi DDT oleh Bakteri 18

2.6.3 Biodegradasi DDT oleh Jamur dan Bakteri 19
2.7 Biosurfaktan 20
2.8 Metode Analisis 21
2.8.1 Spektroskopi Ultraviolet dan Visible 21
2.8.2 High Performance Liquid Chromatogrphy (HPLC) 23
2.8.3 Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) 24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN 27
3.1 Alat dan Bahan 27
3.1.1 Alat 27
3.1.2 Bahan 27
3.2 Prosedur Kerja 27
3.2.1 Regenerasi Jamur Phlebia brevispora 27
3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur 28
3.2.3 Regenerasi Bakteri 28
3.2.4 Persiapan Kultur Cair Bakteri 28
3.2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri 28
3.2.6 Pembuatan kurva standar DDT 28
3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Jamur pelapuk putih *Phlebia brevispora* ……..29
3.2.8 Screening Bakteri Biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora* .. …….. 29
3.2.9 Perolehan Ulang (*Recovery*) DDT Dan Identifikasi Metabolit Produk 29
3.2.10 Pengaruh Bakteri pada Pertumbuhan *P. brevispora* 30
BAB IVHASIL DAN PEMBAHASAN 31
4.1 Kultur Jamur *Phlebia brevispora* 31
4.1.1 Regenerasi Jamur *Phlebia brevispora* 31
4.1.2 Kultur Cair Jamur *Phlebia brevispora* 31
4.2 Kultur Bakteri 32
4.2.1 Regenerasi Bakteri 32
4.2.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri 33
4.3 Kurva standar DDT 35

4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT 37
4.4.1 Biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* 37
4.4.2 Biodegradasi DDT oleh Bakteri 46
4.4.3 Screening Bakteri Biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora* ……..48
4.5 Jalur degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *P.aeruginosa* 52
4.6 Konfrontasi Assay Jamur dan Bakteri 54
BAB VKESIMPULAN DAN SARAN 59
5.1 Kesimpulan 59
5.2 Saran..... 59
DAFTAR PUSTAKA 61
LAMPIRAN 69

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis-jenis pestisida yang mengandung bahan aktif yang dilarang di Indonesia..... 6
Tabel 2.2 Kelebihan dan kekurangan biodegradasi 5
Tabel 4.1 Data kurva standar DDT 35
Tabel4.2 Degradasi DDT oleh bakteri selama 7 hari inkubasi 47
Tabel 4.3 Jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri selama 7 hari inkubasi 49
Tabel 4.4 Metabolik produk hasil degradasi DDT oleh masing-masing kultur.... 53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 DDT (1,1,1-trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana) 7
Gambar 2.2 Jalur degradasi DDT oleh *P. chrysosporium* (Bumpus dkk, 1985) .. 16
Gambar 2.3 Jalur degradasi DDT oleh *P. lindtneri* dan *P. brevispora* (Xiao, dkk., 2010) 17
Gambar 2.4 Reaksi reduktif deklorinasi DDT menjadi DDD 18
Gambar 2.5 Reaksi dehidroklorinasi DDT menjadi DDE 19
Gambar 2.6 Jumlah degradasi DDT oleh P. ostreatus dengan penambahan bakteri *P. aeruginosa* selama 7 hari inkubasi 19
Gambar 2.7 Kurva pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* (Ashari, 2014)..... 20
Gambar 2.8 Diagram ilustrasi sistem pada UV-Vis detector..... 22
Gambar 2.9 Diagram blok instrumen HPLC 23
Gambar 2.10 Profil elusi HPLC DDT dan metabolitnya dalam *G. trabeum* (Purnomo dkk, 2008) 24
Gambar 2.11 Alat Kromatografi Gas 25
Gambar 2.12 Kromatogram GC sampel jamur P. ostreatus..... 26
Gambar 3.1 Contoh perlakuan konfrontasi assay jamur dan bakteri secara assay 30
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *P. aeruginosa* 33
Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan *B. subtilis*..... 34
Gambar 4.3 Kurva pertumbuhan *R. pickettii* 34
Gambar 4.4 Kurva standar DDT 36
Gambar 4.5 Kultur cair *P. brevispora* setelah inkubasi..... 37
Gambar 4.6 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora* 40
Gambar 4.7 Spektra MS Piren (a) Spektra MS piren hasil analisis, (b) spektra MS piren dalam *database* 41
Gambar 4.8 Spektra MS DDT (a) Spektra MS DDT hasil analisis, (b) spektra MS DDT dalam *database* 42
Gambar 4.9 Spektra MS DDD (a) Spektra MS DDD hasil analisis, (b) Spektra MS DDD dalam *database*..... 43

Gambar 4.10 Spektra MS DDE (a) Spektra MS DDE hasil analisis, (b) Spektra MS DDE dalam *database* 44
Gambar 4.11 Spektra MS DDMU (a) Spektra MS DDMU hasil analisis, (b) Spektra MS DDMU dalam *database* 45
Gambar 4.12 Jumlah degradasi DDT oleh bakteri selama 7 hari masa inkubasi .. 47
Gambar 4.13 Jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri selama 7 hari masa inkubasi 49
Gambar 4.14 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh P. aeruginosa 51
Gambar 4.15 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan bakteri P. aeruginosa 52
Gambar 4.16 Jalur degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan P. aeruginosa 54
Gambar 4.17 Perbandingan laju pertumbuhan miselium *P. brevispora* dalam konfrontasi assay 55
Gambar 4.18 Foto dari konfrontasi assay in vitro setelah 7 hari (a) kontrol, (b) *P. brevispora*-aeruginosa, (c) *P. brevispora*-B. subtilis, (d) *P. brevispora* -R. pickettii 56

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dikloro-difenil-trikloroetana (DDT) merupakan insektisida sintetik pertama yang memiliki peranan penting dalam membasmi nyamuk malaria pada masa Perang Dunia ke II. Efek insektisida DDT ditemukan oleh Paul Muller tahun 1939, dimana DDT dijuluki *the wonder chemical*, bahan kimia ajaib yang menyelamatkan ribuan hektar tanaman dari serangan hama serangga. Akan tetapi para peneliti lingkungan mulai mengamati serius dampak negatif DDT dan menemukan bahwa DDT memiliki sifat larut dalam lemak, sehingga residunya terus terbawa dalam rantai makanan, dan menumpuk dalam jaringan lemak (WHO, 1979). Residu DDT dapat menimbulkan masalah kesehatan seperti kanker payudara, metabolisme hormon, gangguan imunologi, kerusakan DNA dalam sel, dan mampu menurunkan kemampuan reproduksi atau menyebabkan cacat pada janin (Dalvie, 2011).

Oleh karena sifat DDT yang cenderung terakumulasi dalam tubuh manusia, hewan, dan lingkungan, sehingga dibeberapa negara maju telah dilarang penggunannya. Di Indonesia, DDT termasuk dalam daftar pestisida yang dilarang, berdasarkan SK Menteri Pertanian RI No. 434.1/Kpts/TP.270/ 7/2001. Namun residu DDT hingga kini masih ditemukan tertinggal di lingkungan terutama lokasi yang dekat dengan aktivitas manusia seperti pelabuhan, dan area pertanian.

Sudaryanto dkk. (2007) melaporkan berbagai data residu DDT yang masih ditemui pada lingkungan air dari beberapa sungai dan daerah pesisir pulau Jawa, seperti Surabaya, Semarang, Bogor, Jakarta, dan Citarum. Kontaminasi DDT dalam tanah diamati di tepi sungai Ciliwung yang terletak di Jakarta dan Surabaya mencapai 120 ppb dan 42 pbb. Diperkirakan butuh waktu sekitar 10 sampai 20 tahun untuk menghilangkan DDT dari lingkungan jika keberadaannya dihilangkan secara total, sedangkan metabolit utamanya DDE, kemungkinan akan tetap ada. Waktu paruh plasma DDE diperkirakan mendekati 10 tahun (Bumpus, 1985), sehingga diperlukan metode yang efektif untuk mendegradasi DDT dan residunya.

Beberapa metode untuk proses degradasi DDT telah diterapkan, termasuk secara fisikokimia dan biologi. Proses kimia dan fisika lebih cepat dibandingkan dengan biologi, akan tetapi pada umumnya berdampak pada tanah dan biaya yang digunakan juga relatif tinggi. Biodegradasi merupakan metode paling aman, efisien dan lebih murah dalam mendegradasi beberapa polutan organik. Metode ini menggunakan mikroorganisme (jamur atau bakteri) sebagai agen pendegradasi DDT dengan cara mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa yang kurang toksik atau senyawa tidak toksik yang ramah lingkungan. Salah satu jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi DDT adalah *Phlebia brevispora* (Xiao dkk., 2011).

Pada penelitian sebelumnya telah diteliti jalur metabolit dari degradasi DDT oleh kelompok jamur *Phlebia* (*Phlebia lindtneri* dan *P. brevispora*), diperoleh jenis *P. brevispora* hanya mampu mendegradasi 30% DDT selama 21 hari masa inkubasi (Xiao dkk., 2011), dimana hasil ini relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga perlu dilakukan modifikasi kultur yang tepat untuk meningkatkan kemampuan *P. brevispora* dalam mendegradasi DDT.

Salah satu metode untuk mengoptimalkan degradasi DDT oleh jamur adalah dengan penambahan bakteri. Bakteri mampu hidup pada berbagai habitat dan mampu menguraikan senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana untuk memperoleh zat-zat tertentu yang dibutuhkan dalam rangka mempertahankan hidupnya. Beberapa bakteri tanah telah diketahui mampu mendegradasi senyawa-senyawa polutan seperti xenobiotik dan organoklorin diantaranya adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Ralstonia pickettii*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu mendegradasi 37,06% DDT selama 7 hari (Ashari, 2014), dan dalam 72 hari pada konsentrasi 10 μg/g DDT, bakteri ini mampu mendegradasi sampai 100% (Bidlan, 2003). *Bacillus subtilis* medengradasi DDT sebesar 65.4% selama 14 hari masa inkubasi dalam kondisi anaerob (Jhonson dkk., 1976). *Ralstonia pickettii* merupakan bakteri yang banyak dijumpai pada lingkungan tandus, tercemar, oligotrofik atau lingkungan yang terbatas nutrisinya. Ryan (2007) melaporkan bahwa *R. picketti* juga mampu mendegradasi polutan xenobiotik seperti toluene dan trikloroetilena sebagai limbah industri. Optimasi degradasi DDT oleh jamur dengan penambahan bakteri

telah dilakukan oleh Ashari (2014), dimana kultur bakteri *P. aeruginosa* ditambahkan spada biodegradasi DDT oleh *P. ostreatus* dan diperoleh persen degradasi sebesar 85,74 % selama 7 hari inkubasi. Berdasarkan uraian diatas, maka dalam penelitian ini pengaruh penambahan bakteri (*P. aeruginosa*, *B. subtilis* dan *R. picketti*) pada degradasi DDT oleh *P.brevispora* telah diteliti.

1.2 Rumusan Masalah

Jamur *P. brevispora* hanya mampu mendegradasi 30% DDT selama 21 hari inkubasi, dimana jumlah ini dinilai relatif rendah dan memerlukan waktu degradasi yang lama, sehingga perlu upaya untuk meningkatkan jumlah tersebut dengan penambahan bakteri yang juga mempunyai kemampuan mendegradasi polutan organik. Penambahan bakteri diharapkan mampu meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan waktu yang lebih cepat.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada :

1. Jenis bakteri yang dipergunakan *P. aeruginos*, *B. subtilis* dan *R. pickettii.*
2. Variasi jumlah penambahan bakteri pada 1, 3, 5, 7 dan 10 mL pada kultur 10 mL kultur *P. brevispora.*
3. Variabel yang diamati adalah jumlah DDT yang terdegradasi dan metabolit produk yang dihasilkan.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan peningkatan jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri, mendapatkan metabolit produk hasil degradasi DDT, dan untuk mendapatkan bakteri yang memberi efek sinergitas pada pertumbuhan *P. brevispora.*

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan data ilmiah mengenai pengaruh penambahan bakteri terhadap laju degradasi DDT oleh jamur *P. brevispora* .

2. Memberikan referensi yang aktual untuk menangani masalah pencemaran DDT di lingkungan.
3. Memberikan alternative penanganan masalah nasional khususnya limbah DDT dengan menggunakan jamur tiram sebagai metode yang murah, aman, cepat dan efektif sehingga akan membantu pemerintah dalam proses pelestarian lingkungan.

BAB II
KAJIAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Berdasarkan Peraturan menteri pertanian No. 24 tahun 2011, pestisida merupakan semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang dipergunakan untuk memberantas dan mencegah hama-hama pengganggu dan penyakit yang merusak tanaman. Bahan kimia atau campuran bahan kimia yang terkandung dalam pestisida bersifat bioaktif yang umumnya bersifatracun. Sifat racun yang dimiliki oleh pestisida inilah yang dimanfaatkan dalam bidang pertanian untuk mengendalikan atau membunuh organisme penganggu tanaman, tetapi juga dapat memberikan pengaruh yang tidak diinginkan terhadap organisme bukan sasaran, termasuk manusia dan lingkungan hidup (Kementan RI, 2011).

Pestisida yang umumnya digunakan untuk mengendalikan hama tanaman adalah pestisida organik sintetik, yang berdasarkan struktur kimianya dibagi atas organoklrorin, organofosfat, karbamat dan piretrin (Squibb, 2002). Dari keempat golongan pestisida ini, organoklorin merupakan senyawa yang sangat stabil dan masih dapat terdeteksi karena memiliki waktu paruh yang panjang dan bersifat presisten.Sifat tersebut menyebabkan penggunaan pestisida organoklorin menimbulkan banyak masalah kesehatan dan lingkungan (Srimumpuni, 1997).Selain itu, senyawa ini memiliki kelarutan dalam air yang rendah, lipofilitas yang tinggi, dapat membioakumulasi dalam individu makhluk hidup serta dapat membiomagnifikasi dalam rantai makanan (Mortimer dan Connell, 1995).Jenis organoklorin tersebut adalah aldrin, heksaklorobenzen, klordan, mireks, dieldrin, toksafen, DDT, dioksin, endrin, furans, heptaklor dan PCBs.

Penggunaan pestisida yang tidak terkontrol berakibat agroekologi pertanian dan kesehatan manusia sebagai konsumen menjadi terabaikan. Oleh karena itu, beberapa jenis pestisida yang mengandung bahan aktif telah dilarang penggunannya di Indonesia, melalui Surat Keputusan Menteri Pertanian nomor 434.1/kpts/TP.270/7/2001 tentang syarat dan tata cara pendaftaran pestisida (Tabel 2.1).

Tabel2.1 Jenis-jenis estisida yang mengandung bahan aktif yang dilarang diIndonesia

1.	2,3,5- Triklorofenol	21.	Kaptafol
2.	2,4,5- Triklorofenol	22	Klordan
3	2,3,6- Triklorofenol	23	Klordimefon
4.	Natrium4-Brom-2,5-diklorofenol	24	Leptofos
5.	Aldikrab	25	Lindan
6.	Aldrin	26	Metoksiklor
7.	Chyhexatin	27	Mevinfos
8.	**Diklorodifeniltrikloroetan (DDT)**	28	Monosodium metam arsonat (MSMA)
9.	1,2-Dibromo-3-kloropropan (DBCP)	29	Natrium klorat
10.	Dieldrin	30	Natrium tribromofenol
11.	2,3-Diklorofenol	31	Paration metil
12.	2,4-Diklorofenol	32	Pentaklorofenol (PCP) dan garamnya
13.	2,5-Diklorofenol	33	Senyawa arsen
14.	Dinoseb	34	Senyawa merkuri
15.	Etil *p*-nitrofenilbenzentioposfat (EPN)	35	Strikhnin
16.	Etilen Dibromida (EDB)	36	Telodrin
17.	Fosfor Merah	37	Toxaphen
18.	Halogen fenol	38	Mireks
19.	Heksaklorida (HCH) dan isomernya	39	Fosfor kuning (yellow phosphorus)
20.	Heptaklor		

2.2 Dikloro Difenil Trikloroetana (DDT)

DDT(1,1,1-trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana) pertama kali disintesis oleh Zeidler pada tahun 1873. Akan tetapi sifat insektisidanya baru ditemukan oleh Dr Paul Mueller pada tahun 1939 (*WHO*, 1979).DDT mulai diproduksi dalam skala besar pada tahun 1943. Nama dagang DDT yang beredar dipasaran adalah Anofex, Cezarex, Chlorophenothane, Clofenotane, Dicophane, Dinocide, Gesarol,

Guesapon, Guesarol, Gyron, Ixodex, Neocid, Neocidol, dan Zerdane (Zeng dkk., 2011)

DDT diperkenalkan sebagai insektisida selama Perang Dunia II untuk memerangi nyamuk yang menyebarkan penyakit malaria dan tifus.DDT adalah insektisida sintetis pertama dan di kenal didunia.Akan tetapi setelah penggunaannya, DDT masih bertahan di lingkungan selama puluhan tahun karena keberadaan jangka panjang, lipofilisitas, sulit didegradasi, dan bersifat bioakumulatif.DDT telah dilaporkan mengakibatkan efek karsinogenik terhadap fungsi sistem syaraf (Bumpus, 1985) seperti kanker, endokrin dan gangguan imunologi.Sifat estrogenik DDT diduga mampu menurunkan kemampuan reproduksi atau menyebabkan cacat pada janin (Bumpus, 1985; Dalvie, 2011), sejalan dengan penelitian Magnarelli (2009) yang mendeteksi keberadaan pestisida organoklorin (Heptachlor dan *o-p'*DDT) dalam plasenta.

Gambar 2.1 DDT (1,1,1-trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana)

DDT merupakan insektisida organoklorin, struktur DDT (Gambar 2.1) mirip dicofol dan pestisida metoksiklor.Dua sifat buruk yang menyebabkan DDT sangat berbahaya terhadap lingkungan hidup adalah: Pertama sifat apolar DDT: tidak larut dalam air tapi sangat larut dalam lemak. Makin larut suatu insektisida dalam lemak (semakin lipofilik) semakin tinggi sifat apolarnya.Hal ini merupakan salah satu faktor penyebab DDT sangat mudah menembus kulit.Kedua Sifat DDT yang sangat stabil dan persisten. DDT sukar terurai sehingga cenderung bertahan dalam lingkungan hidup, karena sifatnya yang stabil dan persisten, DDT bertahan sangat lama di dalam tanah, sehingga DDT dapat terikat dengan bahan organik dalam partikel tanah masuk rantai makanan (*food chain*) melalui jaringan lemak mahluk hidup, sehingga DDT bersifat bioakumulatif dan biomagnifikatif (WHO, 1979).

DDT di lingkungan dihadapkan pada berbagai proses degradasi yang menyebabkan perubahan-perubahan strukturnya dan membentuk DDD *(1,1-dichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl)ethane*), dan DDE *(1,1-dichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl)ethylene)*. Pada tingkatan tertentu DDE mengalami reduksi deklorinasi membentuk DDMU (1-chloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane) (Huerta., dkk., 2007) dan DDOH*(2,2-bis (p-chlorophenyl)ethanol)*, *2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene* (DDNU), DDA*(bis(4-chlorophenyl)-acetic acid)* dan selanjutnya mengalami dekarboksilasi membentuk DDM(*bis(p-chlorophenyl)methane*) dan DBP (*4,4'dichlorobenzophenone)* (Langlois., dkk., 1970).

Kondisi lingkungan redoks diakui sebagai faktor penentu perubahan-perubahan DDT menjadi metabolitnya.Lingkungan redoks merupakan fungsi dari jumlah banyak bahan organik mudah terurai dan oksigen terlarut. DDD umumnya terbentuk pada suasana anaerobik, sebaliknya DDE terbentuk pada suasana aerobik baik di perairan maupun dalam proses metabolisme dalam organisme (Lal dan Saxena, 1982).

Para peneliti lingkungan dan pakar wabah penyakit mulai mengamati serius dampak unsur pengganggu itu sejak tiga dekade lalu.Mula-mula diketahui, racun pembunuh serangga yang amat ampuh dan digunakan secara luas membasmi nyamuk malaria, yakni DDT memiliki dampak samping yang amat merugikan.DDT memiliki sifat larut dalam lemak, sehingga residunya terus terbawa dalam rantai makanan, dan menumpuk dalam jaringan lemak. Dari situ, sisa DDT mengalir melalui air susu ibu kepada anaknya, baik pada manusia maupun pada binatang. Binatang pemangsa mendapat timbunan sisa DDT dari binatang makanannya dimana rantainya seolah tidak bisa diputus (WHO, 1979).

Pengamatan terhadap burung pemangsa menunjukkan bahwa DDT menyebabkan banyak burung yang memproduksi telur dengan kulit amat tipis, sehingga mudah pecah.Selain itu, terlepas dari tebal tipisnya kulit telur, semakin banyak anak burung pemangsa yang lahir cacat.Penyebaran residu DDT bahkan diamati sampai ke kawasan kutub utara dan selatan.Anjing laut di kutub utara, banyak yang melahirkan anak yang cacat, atau mati pada saat dilahirkan.Penyebabnya pencemaran racun serangga jenis DDT.

2.3 Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih atau *white rot fungi* (WRF) merupakan kelompok ekofisiologis beragam terdiri dari sebagian besar *Basidiomycetes* dan beberapa *Ascomycetes*. Jamur pelapuk putih tidak dapat memproduksi makanannya sendiri dari substansi yang sederhana seperti karbon dioksida, air, dan mineral, oleh karena itu jamur pelapuk putih hidup dari bahan organik yang terdapat pada pohon-pohon tumbang, tanah, sampah (serasah daun) sebagai saprofit ataupun memperoleh makanan dari pohon hidup sebagai parasit (Webster dan weber, 2007).

Jamur pelapuk putih dapat menyebabkan delignifikasi selektif dan nonselektif.Delignifikasi selektif, lignin dan hemiselulosa didegradasi lebih banyak dibanding selulosa, sedangkan delignifikasi nonselektif semua komponen utama dinding sel terdegradasi.Di antara yang terbaik dipelajari jamur pelapuk putih yaitu *Phanerochaetechrysosporium* dan *Phlebia radiata* yang mendegradasi lignin secara selektif, *Trametes versicolor* yang menurunkan lignin nonselektif (Hatakka, 1994). Degradasi lignin merupakan proses oksidatif oleh enzim ligninolitik, dengan mengurangi kandungan metoksi, fenolik dan alifatik lignin serta memutus cincin aromatik. Pertumbuhan jamur menurun dalam kondisi nitrogen terbatas, dimana aktivitas enzim ligninolitik akan muncul sebagai bentuk metabolisme sekunder (Kirk dan Farrell, 1987). Selain degradasi lignin, jamur pelapuk putih memiliki kapasitas mendegradasi polutan dengan efisiensi tinggi, biaya rendah serta spektrum polutan yang luas, sehingga secara luas telah diterapkan dalam pengolahan air limbah, bioremediasi tanah tercemar, degradasi limbah pewarna, TNT, hidrokarbon aromatik polisiklik, dan polutan organik beracun lainnya (Gao, 2010).

2.3.1 Enzim Ligninolitik

Lignin, merupakan bagian utama pada dinding sel tanaman dengan struktur aromatik kompleks.Beberapa jamur tingkat tinggi yang menyebabkan pelapuk putih pada kayu dikenal dapat menghasilkan peroksidase ekstraseluler, disebut dengan ligninasi, yang mengkatalisis depolimerisasi lignin (Kohler., dkk., 1988).Secara umum enzim pendegradasi lignin ini terdiri dari dua kelompok

utama yaitu lakase(Lac) dan peroksidase, dimanaperoksidaseterdiri dari lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase(MnP) (Perez, dkk., 2002).

Lakasepada jamur pelapuk putih adalah enzim yang mengandung tembaga (Cu) glikosilasi yang mengkatalisis O_2 menjadi H_2O dengan molekul substrat asal fenolik tanpa melibatkan H_2O_2.Disamping senyawa fenolik,lakasejuga dapat menyerang non-fenolik aromatik dengan adanya mediator senyawa aromatik (Hataka, 1994).Aktivitas lakase ditentukan dengan mengamati oksidasi ABTS pada panjang gelombang 420 nm.Aktivitas lakase diartikan sebagai jumlah enzim yang mampu mengoksidasi 1 µmol ABTS per menit. Ekstrak lakase dari jamur pelapuk putih efisien menurunkan jumlah DDT dalam tanah, lakasemampu mendegradasi 69% DDTs pada kondisi aerob pada 25hari inkubasi (Yuechun, dkk., 2010).

Lignin peroksidase(LiP) merupakan glikoprotein dengan kelompok *heme* di tengah aktif yang aktivitasnya bergantung pada H_2O_2.Massa molekul berkisar 38-43 kDa dan pI-nya 3,3-4,7. LiP adalah peroksidase yang paling efektif dan dapat mengoksidasi senyawafenolik dan non-fenolik, amina, eter aromatik, dan aromatik polisiklik dengan potensi ionisasi yang tepat (Kirk, dkk., 1998). LiP merupakan enzim ligninolitik yangpertama berhasil ditemukan yang diisolasi dari beberapa jamur pelapuk putih kelas *basidiomycetes*, seperti *P. chrysosporium*. Aktivitas LiP dalam ekstraseluler ditentukan dengan mengukur tingkat awal oksidasi veratril alkohol menjadi veratraldehida (Linko, 1992).

Mangan peroksidase(MnP) hanya dihasilkan oleh beberapa jamur *basidiomycetes,*ditemukan oleh Kuwahara dkk.(1984) tidak lama setelah di temukannya LiP pada jamur *P. chrysosporium*.Sama dengan LiP, MnP juga termasuk *heme peroksidase* ekstraseluler yang membutuhkan Mn (II) sebagai substrat pereduksinya (Steffen, 2003). MnP mengoksidasi Mn(II) menjadi Mn(III) yang mengoksidasi struktur fenolik menjadi radikal fenoksil. Potensi redoks sistem MnP lebih rendah dari pada redoks LiP dan lebih banyak mengoksidasi substrat fenolik (Perez,2002). Enzim ini biasanya memiliki massa molekul 45-60 kDa, lebih tinggi dibanding LiP.

2.3.2 Jamur *Phlebia brevispora*

Jamur *P. brevispora* termasuk dalam golongan jamur pelapuk putih. Kedudukan jamur *P. brevispora* dalam dunia fungi adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Fungi
Filum : Basidiomycota
Kelas : Agaricomycetes
Ordo : Poliporales
Famili : Meruliaceae
Marga : Phlebia
Spesies : *P. brevispora*

Menurut Nakasone dan Eslyn (1981), *P. brevispora* ditandai oleh produksi sel blastoconidium, pertumbuhannya pada MEA adalah 25-28 mm radius pada 30° C selama 48 jam.Fitur makroskopik berbetuk tikar miselium putih, sistem hifa, halus, berdinding tipis, jarang bercabang.

Hasil penelitian Ruttimann dkk. (1992) yang menganalisis enzim ligninolitik padajamur*P. brevispora* (satu strain) dan *Ceriporiopsis subvermispora* (lima strain),ditemukanbahwa pada media kultur jamur terdapatMangan peroksidase (MnP) danlakase. Aktivitas peroksidadalam memproduksi hidrogen juga ditemukan dalamkultur*P. brevispora*, akan tetapi aktivitaslignin peroksidase (LiP)tidak ditemukan dalam studi ini.Spesifikasi subtrat *P. brevispora* mirip dengan yang terdapat pada *P. chrysosporium*.Penambahan veratril alkohol tidak berpengaruh pada produksi enzim oleh salah satu jamur, sedangkan molekul oksigenhanya merangsang sistem enzim dari*P. brevispora*.

2.4 Bakteri

2.4.1 Bakteri*Pseudomonasaeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri Gram-negatif serbaguna yang tumbuh di tanah, rawa dan habitat laut pesisir, serta pada jaringan tanaman dan hewan, (Stoverdkk., 2000). Taksonomi*P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
Filum : Proteobakteria

Kelas : Gamma Proteobakteria

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Pseudomonadadaceae

Marga : Pseudomonas

Spesies : *P. aeruginosa*

*P. aeruginosa*dalam tanah mampu memecah senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik, detoksifikasi lingkungan dari zat kimia sintetik dan pestisida, memproduksi rhamnolipid, quinolon, hidrogen sianida, phenazines, dan lektin (Stover dkk.,2000).*P. aeruginosa* juga memiliki kemampuan untuk mendegradasi DDT dengan menggunakan enzim yang diproduksinya antara lain dehalogenase, 4-CBA-dehalogenase, 1,2-dioksigenase, 2,3-dioksigenase (Bidlan, 2003). Ashari (2014) melaporkan bahwa *P. aeruginosa*mendegradasi DDT 36,07% pada konsentrasi optimum 5 mL (1 ml ≈ 1,2525 x 10^9 sel bakteri/ml kultur) dalam 7 hari. Pada umumnya bakteri *Pseudomonas* memiliki kemampuan mendegradasi DDT dalam kondisi aerobik dengan DDE sebagai metabolik produk utama (Chandrappa dkk., 2004). Namun beberapa mikroba termasuk *P. aeruginosa* memiliki kemampuan mengkonversi DDT menjadi DDD (Sharma dkk., 1987; Aislabie dkk., 1997).

2.4.2 Bakteri*Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis*termasuk bakteri Gram-positif, hidup secara anaerob obligat.Organisme yang bertanggung jawab untuk kontaminasi makanan,berasaldari tanah yang melekat pada buah dan sayuran.*B. subtilis* endospora, lebih tahan terhadap kondisi lingkungan seperti suhu tinggi (15-45^{o}C), nilai pH rendah dan tinggi, serta stres mekanik dibandingkan dengan mikroorganisme vegetative lainnya.*B. subtilis* tidak tergolong bakteri pathogen bagi manusia. Taxonomi bakteri *B. subtilis* sebagai berikut :

Kerajaan : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacili

Ordo : Bacillales

Famili : Bacillaceae

Marga : Bacillus

Spesies : *B. subtilis*

Richana dkk. (2000) telah berhasil mengisolasi biosurfaktan dari isolate lokal *Bacillus sp.* yang ditumbuhkan pada substrat gula hasil hidrolisis pati dengan konsentrasi 1,94 g/L. Biosurfaktan yang dihasilkan *Bacillus sp* mampu menurunkan tegangan permukaan supernatant kultur mencapai 33,5 dyne/cm. Bakteri *Bacillus sp* mampu menghilangkan 51% DDT dari kultur cair setelah inkubasi 7 hari, pada recovery ditemukan 6% dalam bentuk DDD, dan 3% dalam bentuk DDE (Katayama, dkk., 1993; Kantachote, dkk., 2003). Disamping itu, Jhonson dkk., (1976) sebelumnya telah melaporkan kemampuan *B. subtilis* mendegradasi DDT sebesar 65.4% selama 14 hari masa inkubasi dalam kondisi anaerob.

2.4.3 Bakteri*Ralstonia pickettii*

R. pickettii merupakan jenis bakteri Gram-negatif yang hidup dalam kondisi aerobik, bakteri ini banyak ditemukan dalam tanah dan air (Galligan dkk., 2003). Genus *Ralstonia* menempati ekologi yang beragam, dimana banyak dijumpai pada lingkungan tandus, tercemar, oligotrofik atau lingkungan yang terbatas nutrisinya (Ryan dkk., 2007). Taxonomi *R. picketti*, sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Betaproteobacteria

Ordo : Burkholderiales

Famili : Burkholderiaceae

Marga : Ralstonia

Spesies :*R. pickettii*

Beberapa strain dari Ralstonia merupakan phytopathogen penting organisme lingkungan. *R. pickettii*memiliki potensi bioteknologi yang signifikan dalam bidang bioremediasi dan memilki kemampuan untuk medegradasi senyawa toksik, salah satunya adalah mampu mendegradasi polutan xenobiotik seperti toluene dantrikloroetilena sebagai limbah industri (Coenye dkk., 2003).

2.5 Bioremediasi

Bioremediasi didefinisikan oleh US Environmental Protection Agency (EPA) sebagai suatu proses spontan di mana mikrobiologis digunakan untuk menurunkan atau mengubah kontaminan yang beracun menjadi kurang beracun atau tidak beracun, sehingga menghilangkan kontaminasi lingkungan (Jeffrery, 2005). Proses-proses mikrobiologis dapat mengurangi konsentrasi hidrokarbon di berbagai jenis tanah dan sedimen ke tingkat yang tidak lagi menimbulkan risiko terhadap lingkungan atau kesehatan manusia (Linz dan Nakles, 1997; Jeffrery, 2005).Bioremediasi juga dapat didefenisikan mengubah atau menurunkan senyawa beracun atau menjadi tidak beracun menggunakan sistem enzimatik dari mikrorganisme (Bennett dkk., 2002).

Secara umum, kontaminan dapat terdegradasi hanya ketika kadarair mencukupi dan bersentuhan dengan membran sel mikroorganisme. Dengan cara ini, kontaminan berfungsi sebagai substrat untuk mikroorganisme dan masuk melalui transportasi membran ke dalam sel dan digunakan sebagai sumber energi dalam jalur metabolisme utama sel (Jeffrery,2005).Bioremediasi juga dipengaruhi faktor-faktor yang mampu mendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroba, meliputi: keberadaan populasi mikroba yang mampu mendegradasi polutan; ketersediaan kontaminan ke populasi mikroba; faktor lingkungan (jenis tanah, suhu, pH, adanya oksigen atau akseptor elektron lainnya, dan nutrisi) (Vidali, 2001).

Teknik bioremediasi secara umum dibagi berdasarkan treatmen yang di berikan pada daerah kontaminan, yaitu teknik *Ex-Situ* (Landfarming, Composting, Biopiles dan bioreactor) dan*In-Situ* (Biodegradasi, Biosparging, Bioventing and Bioaugmentation)(Vidali, 2001).

2.6 Biodegradasi

Biodegradasi merupakan salah satu treatmen dalam proses bioremediasi, diartikan sebagai proses penguraian senyawa polutan oleh aktivitas mikroba (jamur, bakteri, ragi dan alga) yang mengakibatkan perubahan struktur suatu senyawa, sehingga toksisitasnya berkurang. Kondisi lingkungan yang cocok untuk

menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroba merupakan penunjang utama dalam proses biodegradasi (Sheehan, 1997).Tabel 2.2 menunjukkan kelebihan dan kekurangan biodegradasi.

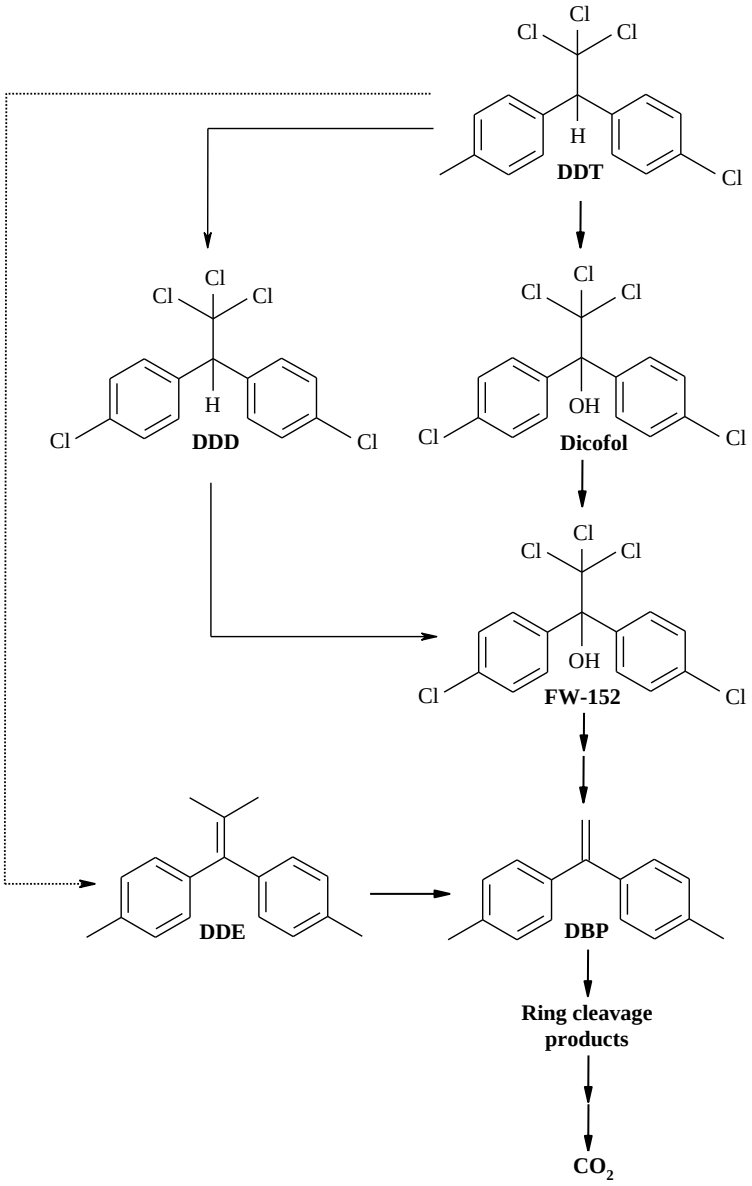
Tabel 2.2 Kelebihan dan kekurangan biodegradasi

Kelebihan	Kekurangan
- Dapat dilaksanakan dilokasi atau diluar lokasi - Masyarakat dapat menerima dengan baik - Ramah lingkungan - Menghapus resiko jangka panjang	- Tidak semua bahan kimia dapat diolah secara biodegradasi - Membutuhkan pemantauan yang intensif - Membutuhkan lokasi tertentu - Berpotensi menghasilkan produk yang tidak dikenal

2.6.1 Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih telah digunakan selama bertahun-tahun untuk mendegradasi DDT dan metabolitnya. Jamur Pelapuk putih memiliki enzim-enzim yang dapat mendegradasi lignin, antara lain adalah: lakase, LiP dan MnP. Enzim-enzim ini adalah oksidator yang sangat kuat. Sistem enzim ini menghasilkan radikal bebas melalui transfer elektron. Radikal bebas yang dihasilkan mengalami berbagai reaksi non enzimatik.Enzim ini dapat memecah lignin.Lignin adalah makromolekul yang sangat komplek dan sangat kuat, dimana lignin adalah senyawa pelindung, sehingga sangat kuat dan sangat resisten.

Bumpus dkk. (1985) merupakan peneliti pertama yang meneliti kemampuan jamur *P. chrysosporium* dalam mendegradasi DDT, hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa DDT sebagai polutan yang persisten terhadap lingkungan telah mampu didegradasi oleh fungi *P. chrysosporium.* Fungi ini mengubah DDT menjadi bentuk metabolitnya sehingga dapat lebih diterima oleh lingkungan. Jalur degradasi DDT oleh *P. Chrysosporium* ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar2.2 Jalur degradasi DDT oleh *P. chrysosporium* (Bumpus dkk, 1985)

Jamur Pelapuk putih dari jenis *Basidiomycota*, *P. brevispora* juga dengan memproduksi enzim ligninolitik LiP, MnP dan lakase. Jamur *P. brevispora*dan *P. lindtneri* mampu mendegradasi *polychlorinated dibenzo-p-dioxin* (PCDD) (Kamei dan Kondo, 2006) dan *polychlorinated biphenyls* (PCB) (UNEP, 2009).

Xiao dkk. (2010), mendeteksi jalur metabolik untuk degradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *P. brevispora*dan *P. lindtneri*. Biakan murni *P. lindtneri* dan *P. brevispora* masing-masing mampu mendegradasi DDT (25 µmol l^{-1}) sebesar 70

dan 30%, dalam kondisi media Low Nitrogen (LN) setelah masa inkubasi 21 hari. Pada Gambar 2.3 menunjukkan metabolit DDT yang teridentifikasi yaitu DDD, DDA dan DBP.Selain itu, DDD dikonversi menjadi DDA dan DBP. DDA dikonversi menjadi DBP dan DBH (4,4-dichlorobenzhydrol). Sementara DBP diperlakukan sebagai substrat, DBH dan tiga metabolit dihidroksilasi, termasuk DBP terhidroksilasi dan dua isomer yang berbeda dari DBH termonohidroksilasi.

Gambar 2.3 Jalur degradasi DDT oleh *P. lindtneri* dan *P. brevispora* (Xiao dkk., 2010)

2.6.2 BiodegradasiDDT olehBakteri

Surya, dkk. (1987) menunjukkan adanya kultur bakteri di alam yang mampu mendegradasi lingkungan yang terkontaminasi DDT dari senyawa yang presisten menjadi senyawa yang ramah lingkungan.

Secara umum, bakteri dapat mendegradasi DDT secara aerob atau anaerob. Bakteri yang diinkubasi secara aerob akan mendegradasi DDT melalui reaksi dehidroklorinasi dengan metabolit produk berupa DDE, berbeda ketika diinkubasi secara anaerob, degradasi DDT terjadi melalui reaksi reduktif deklorinasi menghasilkan DDD sebagai metabolit produk utama. (Aislabie, dkk., 2010).

Dalam kondisi anaerob, DDD mampu mengalami metabolisme lebih lanjut. Penelitian dengan *E. coli* dan *E. aerogenes* menghasilkan isolasi DDD sebagai metabolit utama dan jumlah DDMU, *1-chloro-2,2-bis (p - chlorophenyl) etana* (DDMS), DDNU, DDOH, DDA, dan DBP (Aislabie, dkk., 2010).

Reaksi reduktif deklorinasi DDT merupakan reaksi penggantian atom klorin pada karbon non-aromatik dengan atom hidrogen (Gambar 2.4).Dalam reaksi ini diperlukan donor elektron atau reduktan (substrat organik atau gas hidrogen) dan aseptor elektron (DDT), reaksi ini dikatalisis oleh enzim dehalogenase.

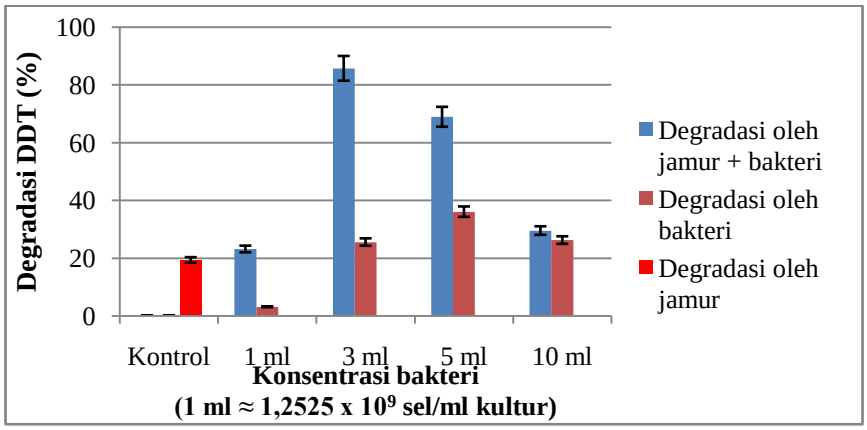
Gambar 2.4 Reaksi reduktif deklorinasi DDT menjadi DDD

Reaksi dehidroklorinasi DDT merupakan reaksi yang meliputi pemindahan secara simultan atom hidrogen dari karbon tetangga dan klorin dari karbon terklorinasi jenuh membentuk sebuah ikatan rangkap karbon-karbon pada substrat.Reaksi ini dikatalisi oleh enzim dehidrohalogenase (Gambar 2.5).

Gambar 2.5 Reaksi dehidroklorinasi DDT menjadi DDE

2.6.3 Biodegradasi DDT oleh Jamur dan Bakteri

Jamur dan bakteri masing-masing telah diketahui kemampuannya dalam mendegradasi kontaminan yang terdapat dilingkungan tanah dan air (Foght, dkk., 2001; Sharma, dkk., 1987). Selain itu jamur dan bakteri dalam tanah juga memiliki hubungan dinamis pada proses degradasi *high molecularweight-polycyclic aromatic hydrocarbons*(HMW-PAH), kultur campuran jamur dan bakteri mampu mendegradasi piren sebesar 67% dalam 28 hari, sedangkan kultur *mixed* jamur sebesar 39% dan *mixed* bakteri sebesar 56% (Wang, dkk., 2012). Boonchan, dkk. (2000) melaporkan hal serupa, terjadi peningkatan secara signifikan degradasi PHA oleh kultur campuran jamur *P. janthinellum* dan bakteri *S. maltophilia* dari 25% benza[α]piren yg termineralisasi selama 49 hari menjadi 53% dan dalam 100 hari benza[α]piren dipulihkan menjadi CO_2.



Gambar2.6 Jumlah degradasi DDT oleh *P. ostreatus* dengan penambahan bakteri *P. aeruginosa* selama 7 hari inkubasi

Kultur campuran bakteri dan jamur juga telah digunakan dalam mengoptimasi degradasi DDT, dimana degradasi ini menggunakan

bakteri*P.aeruginosa* untuk mengoptimalkan kemampuan degradasi DDT oleh *P. ostreatus* telah dilakukan (Ashari, 2014). Hasilnya menunjukkan bahwa degradasi DDT oleh *P. ostreatus* meningkat setelah penambahan 3 mL kultur*P. aeruginosa*, seperti yang terlihat pada Gambar 2.6.

2.7 Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan beragam kelompok senyawa aktif permukaan yang disintesis oleh mikroorganisme.Senyawa amphipatik ini diproduksi diatas permukaan sel hidup, terutama pada permukaan sel mikroba atau dihasilkan secara ekstraseluler. Senyawa amphipatik ini trdiri dari gugus hidrofilik dan hidrofobik, sehingga dapat berada diantara cairan yang memiliki sifat polar dan ikatan hydrogen yang berbeda seperti diantara minyak dan air (Gilligan, dkk., 2003).

Kosaric (1992) menyatakan bahwa jenis biosurfaktan yang dihasilkan oleh setiap mikroba berbeda-beda. Jenis-jenis biosurfaktan, tipe biosurfaktan dan mikroba penghasil biosurfaktan dapat dilihat pada Tabel 2.3(Pacwa dkk., 2011). Kemampuan biosurfaktan dan strain bakteri penghasil biosurfaktan dalam mendegradasi polutan telah banyak dilaporkan. Bakteri penghasil biosurfaktan *B. subtlis* DM-04 dan *P. aeruginosa* M digunakan dalam bioremediasi kontaminan hidrokarbon minyak mentah (Das dan Mukherjee, 2007).*Pseudomonas* juga mampu mendegradasi tetradekana, pristan dan heksadekana dalam lempung lumpur (Jain dkk., 1992). Shoprolipid digunakan sebagai agen pencuci tanah (Kang, dkk., 2010). Herman (1995) menggunakan biosurfaktan untuk mendorong desorpsi logam berat dalam tanah.

Bila dibandingkan dengan surfaktan sintesis, biosurfaktan memiliki beberapa keunggulan termasuk biodegradabilitas tinggi (Mulligan, dkk., 2005), toksisitas rendah selektif, aktif pada suhu ekstrim, pH dan terutama ramah lingkungan (Banat, 2000).

Tabel 2.3 Klasifikasi biosurfaktan dari beberapa mikroorganisme (Pacwa dkk., 2011)

Biosurfaktan		**Mikroorganisme**
Kelompok	**Kelas**	
Glikolipid	Rhamnolipids	*Pseudomonas aeruginosa,*
		Pseudomonas sp.
	Trehalolipids	*Mycobacterium tuberculosis,*
		Rhodococcus erythropolis,
		Arthrobacter sp.,
		Nocardia sp.,
		Corynebacterium sp.
	Shoporolipids	*Torulopsis bombicola,*
		Torulopsis petrophilum,
		Torulopsis apicola
Asam lemak, fosfolipid	Spiculisporic acid	*Penicillium spiculisporum*
	Phosphat dylethanolamine	*Acinetobacter* sp.,
		Rhodococcus erythropolis
Lipopeptida	Surfactin	*Bacillus subtilis*
	Lychenisin	*Bacillus licheniformis*
Polimer	Emulsan	*Acinetobacter calcoaceticus RAG-1*
	Alasan	*Acinetobacter radioresistens KA-53*
	Biodispersan	*Acinetobacter calcoaceticus A2*
	Liposan	*Candida lipolytica*
	Mannoprotein	*Saccharomyces cerevisiae*

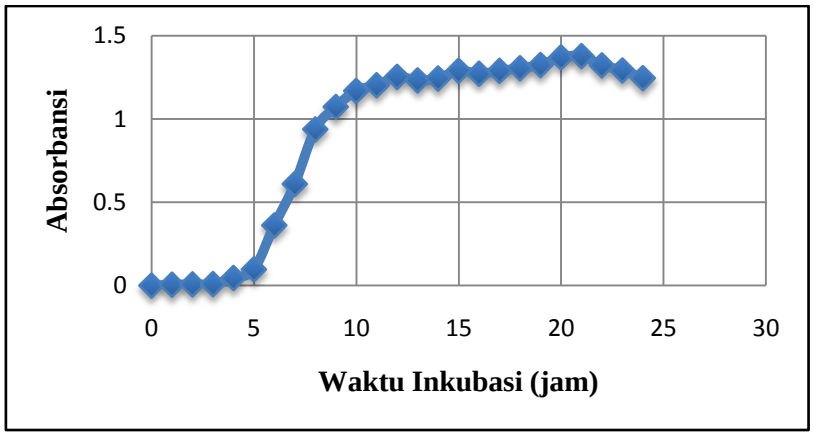
2.8 Metode Analisis

2.8.1 Spektroskopi Ultraviolet dan Visible

Metodeyang cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan adalah turbidimetri dengan menggunakan spektrofotometer. Teknik ini merupakan

teknik sentral dalam mikrobiologi. Bakteri menyerap cahaya sebanding dengan volume total sel (ditentukan oleh ukuran dan jumlah). Ketika mikroba bertambah jumlahnya atau semakin besar ukurannya dalam kultur cair, terjadi peningkatan kekeruhan dalam kultur. Kekeruhan dapat disebut optical density (OD) atau absorbansi cahaya. Dasar penentuan cara ini adalah jika seberkas sinar dilakukan pada suatu suspensi bakteri, maka makin pekat (keruh) suspensi tersebut makin besar intensitas sinar yang diabsorbsi, sehingga intensitas sinar yang diteruskan makin kecil (waluyo, 2010).

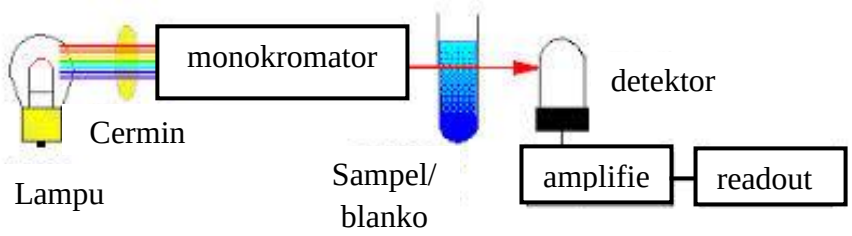
Pada penelitian ini UV-Vis digunakan untuk menghitung pertumbuhan sel bakteri yang akan digunakan untuk proses degradasi. Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 600 nm (OD_{600}), Nilai panjang gelombang yang digunakan tergantung pada warna kultur, 420 nm digunakan untuk kultur tak berwarna, 540 nm digunakan untuk kultur berwarna kuning terang, dan 600-625 digunakan untuk kultur berwarna kuning-coklat (Brodham, 2007). Nilai absorbansi dari pengukuran yang dilakukan secara random selama 24 jam dapat digunakan untuk menghitung jumlah bakteri. Nilai absorbansi juga digunakan untuk mengetahui fase stasioner bakteri, dengan membuat kurva pertumbuhan bakteri seperti ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar2.7 Kurva pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* (Ashari, 2014)

Seperti terlihat pada Gambar 2.8 Spektrofometer UV-vis, suatu sumber cahaya dipancarkan melalui monokromator.Monokromator menguraikan sinar yang masuk dari sumber cahaya tersebut menjadi pita-pita panjang

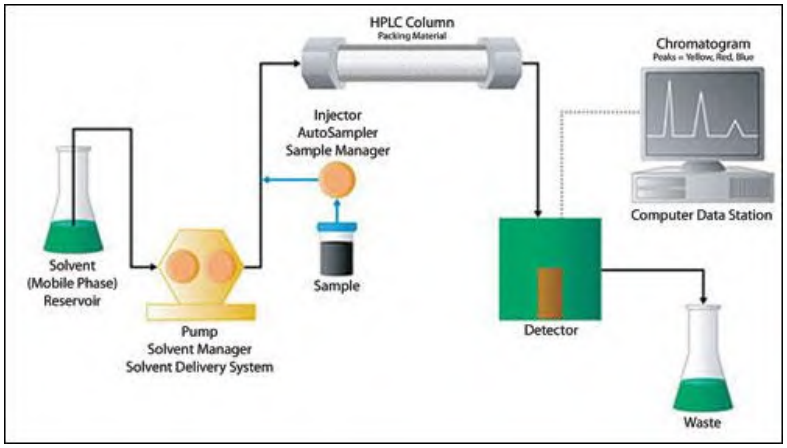
gelombang.Dari monokromator tadi cahaya/energi radiasi diteruskan dan diserap oleh suatu larutan yang akan diperiksa di dalam kuvet. Kemudian jumlah cahaya yang diserap oleh larutan akan menghasilkan signal elektrik pada detektor, yang mana signal elektrik ini sebanding dengan cahaya yang diserap oleh larutan tersebut. Besarnya signal elektrik yang dialirkan ke pencatat dapat dilihat sebagai angka (Skoog dan West, 1971).



Gambar 2.8 Diagram ilustrasi sistem pada UV-Vis detector

2.8.2 High Performance Liquid Chromatogrphy (HPLC)

High Performance Liquid Chromatogrphy (HPLC) / kromatografi cair kinerja tinggi merupakan salah satu contoh kromatografi kolom.HPLC merupakan hasil optimasi kolom dengan mengatur laju alir fasa geraknya sehingga pemisahan lebih sempurna.(Surjani, 2013).

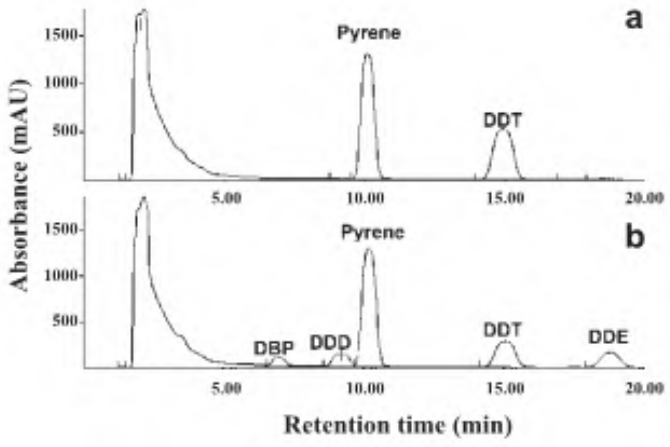


Gambar2.9 Diagram blok instrumen HPLC

HPLC menggunakankolom yang umumnya mempunyai diameter kecil (2-8 μm dengan ukuran partikel penunjang 50μm disertai laju aliran diperbesar

dengan tekanan yang tinggi sehingga waktu retensinya singkat dan analisis berlangsung cepat.Tapi jika lajualir dan tekanan di perbesarmaka lapisan akan terkoyak, oleh karena itu perlu dibuat isi kolom permanen dimana padatan penyangga, misalnya dari silica yang memiliki gugus silanol diesterkan dengan alkohol sehingga membentukester silikat sebagaifasa diamnya.(Khopkar, 2007).

Aplikasi HPLC sangatluas , senyawa-senyawa organik dapat dipisahkan dengan baik dalam waktu singkat dan sempurna. Gambar 2.10 memperlihatkan profil kromatogram HPLC untuk analisa DDT dan metabolitnya oleh *G. trabeum* selama masa inkubasi 14 hari dalam medium PDB, (a) kontrol (*G. trabeum* di non aktifkan menggunakan natrium azida) dan (b) treatmen piren digunakan sebagai standar internal. Waktu retensi (min) untuk masing-masing senyawa: DDT (14,89), DDE (18,61), DDD (9,04), DBP (6,83) dan piren (10,02) (Purnomo, dkk., 2008).

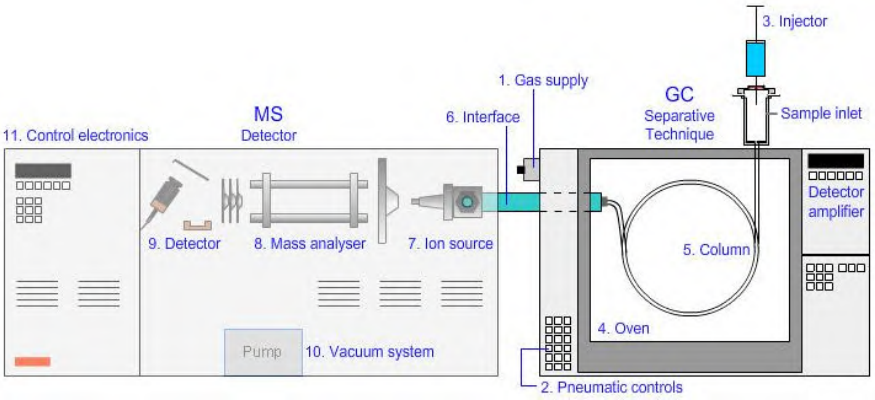


Gambar2.10 Profil elusi HPLC DDT dan metabolitnya dalam *G. trabeum*(Purnomo dkk, 2008)

2.8.3 Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)

Kromatografi gas spektrometri massa (GCMS) merupakan instrumen analisis hasil kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa, kromatografi gas memiliki kemampuan yang sangat baik dalam hal pemisahan dan analisis kuantitatif komponen sedangkan spektrometri massa memiliki kemampuan yang tinggi dalam hal identifikasi atau analisis kualitatif. Di bidang

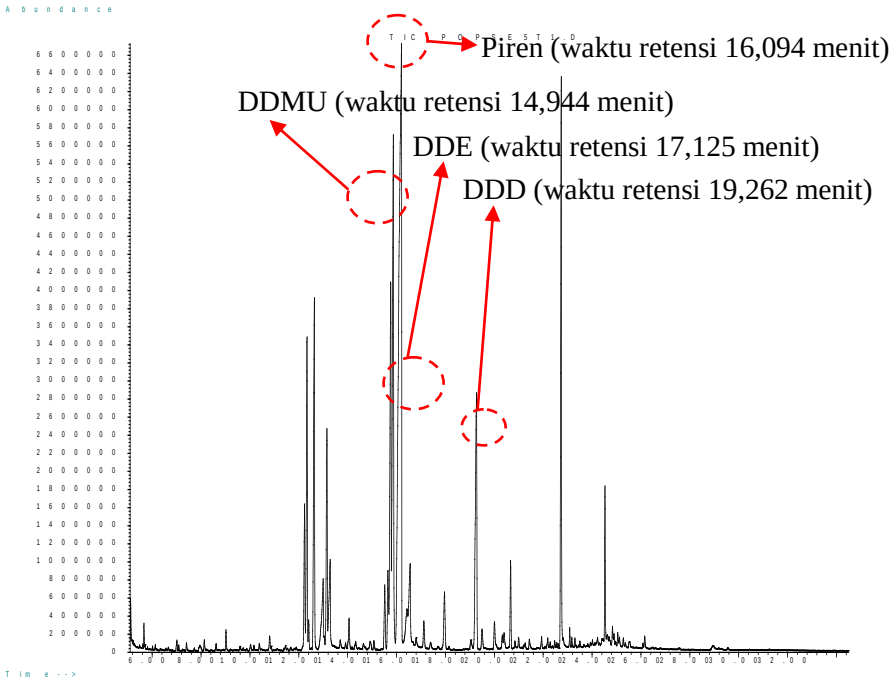
lingkungan, GC dapat digunakan untuk analisis pestisida (Harvey, 2000).Bagian-bagian GCMS dapat dilihat pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Alat Kromatografi Gas

Kromatografi ini didasarkan pada perbedaan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Sampel yang berupa cairan atau gas dapat langsung diinjeksikan ke dalam injektor, jika sampel dalam bentuk padatan maka harus dilarutkan pada pelarut yang dapat diuapkan. Aliran gas yang mengalir akan membawa sampel yang teruapkan untuk masuk ke dalam kolom. Komponen-komponen yang ada pada sampel akan dipisahkan berdasarkan partisi diantara fase gerak (gas pembawa) dan fase diam (kolom). Hasilnya adalah berupa molekul gas yang kemudian akan diionisasikan pada spektrometer massa sehingga melokul gas itu akan mengalami fragmentasi yang berupa ionion positif. Ion akan memiliki rasio yang spesifik antara massa dan muatannya (m/z).

GC dan MS merupakan kombinasi kekuatan yang simultan untuk memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen campuran. Kromatogram GC sampel degradasi DDT oleh jamur *Pleurotus ostreatus*(Gambar 2.12) mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren, DDT dan beberapa metabolik produk pada waktu retensi yang berbeda.



Gambar2.12 Kromatogram GC sampel jamur P. ostreatus

Identifikasi senyawa piren, DDT, serta beberapa metabolit produkdi atas berdasarkan pada spektra MS pada waktu retensi masing-masing senyawayang memiliki pola pemecahan molekul dengan tingkat kemiripan yang tinggi dengan pola pemecahan molekul piren, DDT, DDE, DDD, dan DDMU yang ada dalam *database* (Ashari, 2014).

BAB III
METODOLOGIPENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Dalam penelitian ini alat dan instrumentasi yang digunakan yaitu: erlenmeyer berpenutup, gelas beker, neraca digital, corong pisah, labu bundar, corong kaca, jarum ose, cawan steril, botol ampul, suntikan, pompa penyedot, *ultrasonic cleaner*, evaporator, *autoclave*, *autoshacker*, filter Whatman 0,2 µm diameter 110 mm, HPLC terdiri dari pompa Integral PU-1500 (Jasco, Jepang) dan detector UV-Vis MD-1510 (Jasco, Jepang) dilengkapi dengan Inertsil ODS-3 kolom (150 mm) dengan diameter dalam 4,6 mm (GL Science, Jepang). GC/MS dengan system GC HP 6890 (HP, USA) terhubung dengan detektor *mass-selective* HP 5973 (HP, USA) dengan kolom 30-m digabungkan dengan DB-5ms (J and W Ilmiah, CA, USA).

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: DDT, jamur *P. brevispora, P. aeruginosa, B. subtilis, R. pickettii* yang diperoleh dari koleksi jamur Laboratorium Kimia Mikroorganisme Jurusan Kimia FMIPA ITS, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), Nutrient Borth (NB), Nutrient Agar (NA), Aseton, Aqua DM, $Na_2SO_4.xH_2O$,*n*-Heksana, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Metanol, Tri Fluoro Acid (TFA), Piren, DDE, DDD, DDMU. Semua bahan kimia PA di dapatkan secara komersil dari PT Mitra Gemilang Surabaya.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 RegenerasiJamur*Phlebia brevispora*

Jamur pelapuk putih dari spesies*P. brevispora*merupakan jamur yang digunakan dalam penelitian ini.Miselium jamur *P. brevispora* di inokulasikan pada medium PDA dalamcawan petri berdiameter 9 cm, dan di pre-inkubasi statis pada suhu 30^{o}C selama 7 hari.

3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur

Miselium jamur*P. brevispora* hasil regenerasi (diameter 1 cm) diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer 100 mL, yang berisi media 10 mL medium PDB, dengan menggunakan jarum ose secara aseptis, kemudian dipre-inkubasi selama 7 hari pada suhu 30^{o}C.

3.2.3 Regenerasi Bakteri

Pada penelitian ini digunakan tiga (3)bakteri yang berbeda yaitu, *P. aeruginosa (PA), B. subtillis (BS), dan R. pickettii (RP)*.Bakteri-bakteri ini diperoleh dari NITE Biological Resource Center (NBRC, Jepang). Masing-masing bakteri diregenerasi dengan caradiinokulasi ke dalam cawan petri yang berisi medium NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.2.4 Persiapan Kultur Cair Bakteri

Sebanyak 1 koloni bakteri di inokulasikan kedalam labu erlenmeyer (50 mL)yangberisi 10 mL medium NB. Kultur bakteri diinkubasike dalam inkubatorshaker dengankecepatan 180 rpm dansuhu 37^{o}C, selama 12 jam.

3.2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sebanyak 1 koloni dari masing-masing jenis bakteri hasil regenerasi diinokulasi ke dalam 450 mL medium PDB(dalam erlenmeyer 1000 mL)dandi ukur Optical Density (OD) pada panjang gelombang 600 nm(OD_{600}) dengan spektroskopi UV-Vis (spektra Optima 300). Pengukuran sebelum inkubasi digunakan sebagai data ke 0. Tiap 1 jam berikutnya sampaijamke 48 di ukur dengan UV-Vis dan di buat kurva dengan absorbansi sebagai fungsi waktu.

3.2.6 Pembuatan kurva standar DDT

Larutan DDT disiapkandengankonsentrasi25, 50, 75, 100 % (100 % = 0,25 µmol DDT yang berasal dari 50 µL DDT 5 mM). Masing-masingkonsentrasi DDT ditambah dengan 50 µL piren 5 mM sebagai internal standar.Sampel dianalisa menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 83%.Kurva standar dibuat dengan nilai perbandingan luas area puncak DDT/piren sebagai fungsi konsentrasi DDT (Purnomo, dkk., 2008).

3.2.7 BiodegradasiDDT olehJamur pelapuk putih*Phlebia brevispora*

Jamur *P. brevispora*setelah pre-inkubasiselama 7 hari,Jamur *P. brevispora*ditambahkan 5 μM DDT 50 mMdalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25μmol DDT/labu). Tiap labu diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotipuntuk mencegah penguapan DDT.Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Sebagai kontrol, kultur dinonaktifkan dengan autoclave terlebih dahulu pada suhu 121°C selama 15 menit sebelum ditambah DDT.

3.2.8 Screening Bakteri Biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora*

Screening bertujuan untuk memilih hasil terbaik dari biodegradasi DDT menggunakanjamurdengan penambahan bakteri. Kultur cair *P. brevispora*hasil pre-inkubasi selama 7 hari,masing-masing ditambah 50 μL dari DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 μmol DDT/labu). Tiap labu ditambahkan bakteri *P. aeruginosa, B. subtilis danR. pickettii*masing-masingsebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 ml, diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Sebagai kontrol negatif, kultur dinonaktifkan dengan autoclave terlebih dahulu pada suhu 121°C selama 15 menit sebelum ditambah DDT.Degradasi DDT dengan masing-masing bakteri tanpa jamur dijadikan sebagai kontrol positif. Jenis bakteri dengan kemampuan degradasi terbesar akan digunakan pada proses selanjutnya (Purnomodkk., 2008)

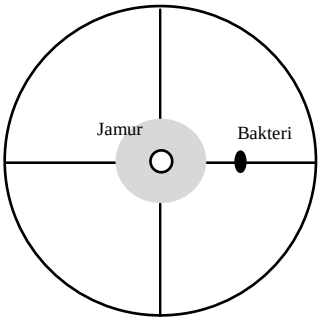
3.2.9 Perolehan Ulang (*Recovery*) DDT dan Identifikasi Metabolit Produk

Masing-masing kulturhasilinkubasi ditambah 30 mL metanol dan 50 μL piren 5 mM. Sampel dicuci dengan 50 ml aseton. Kultur disaring menggunakan filter 0,2 μm diameter 110 mm.Filtrat dievaporasi pada suhu40°C hingga aseton dan metanol menguap semua. Filtrat yang tidak menguap dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan 50 mL aquades dan 50 mL *n*-heksana dan dikocok selama 10 menit.Fasa organik dipisahkan sedangkan fasa air di ekstrak kembali sebanyak 2 kali.Fasa organik yang terkumpul dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi Na_2SO_4 anhidrat.Sampel dievaporasi pada suhu 60°C hingga tersisa sekitar 1 mL. Sampel di analisis menggunakan GCMS, detektor MS

menggunakan kolom dengan kapiler HP-5MS (5%-*phenyl)-methylpolysilaxane*), panjang 30 m, diameter 250 µm, gas pembawa Helium, volume injeksi 1 µL, aliran spilt54 mL/menit, dan suhu oven diatur 80°C selama 3 menit, dinaikkan hingga 320°C dan ditahan selama 2 menit dengan kenaikan konstan20°C per menit, kemudian suhu diturunkan menjadi 300^{o}C dan ditahan selama 5 menit. Sisa sampel dievaporasi kembali hingga kering dan ditambah 1 mL metanol. Sampel dihomogenkan dengan *ultrasonic cleaner*,kemudiandianalisismenggunakan HPLC, sampel dielusi dengan 82% methanol dan 18 ml air (1%TFA) dengan laju alir 1 ml/min (Purnomo dkk., 2008).

3.2.10 Pengaruh Bakteri pada Pertumbuhan *P. brevispora*

Jamur *P. brevispora* diinokulasikan kedalam medium agar steril PDA, diinkubasi selama 3 hari. Sel bakteri dalam media cair PDB hasil pre-inkubasi selama 30 jam, diambil sebanyak 20 mL kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm dengan suhu 4^{o}C. Biomassa dicuci dengan 20 mL air destilat yang telah disterilkan dengan autoclave, biomassa dihomogenkan dan disentrifugasi kembali selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm, proses pencucian diulang sebanyak 3 kali. Jamur *P. brevispora*diinokulasikan kedalam petri disk yang berisi media agar streril PDA menggunakan loop steril berukuran 5 mm. Bakteri ditempatkan ±2.5 cm dari disk jamur, diinkubasi pada suhu 28^{o}C dalam kondisi gelap. Pertumbuhan miselium diukur mulai hari ke-4 sampai seluruh permukaan medium tertutupi miselium (Kamei dkk, 2012).



Gambar 3.1 Contoh perlakuan konfrontasi assay jamur dan bakteri secara assay

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur Jamur *Phlebia brevispora*

4.1.1 Regenerasi Jamur *Phlebia brevispora*

Jamur yang digunakan pada penelitian ini adalah *P. brevispora* yang diinokulasi ke dalam petri disk yang berisi media agar steril PDA. PDA memiliki kandungan nutrisi lengkap yang dibutuhkan oleh jamur yaitu ekstrak kentang dan dekstrosa. Ekstrak kentang sebagai sumber karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Karbohidrat dan dekstrosa berfungsi sebagai sumber karbon yang mampu menghasilkan energi untuk digunakan sel jamur dalam metabolismenya. Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang berfungsi untuk mensintesis asam amino yang selanjutnya digunakan untuk sintesis protein yang digunakan sebagai protoplasma, struktur sel, dan enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme. Vitamin B kompleks digunakan sebagai katalisator sekaligus sebagai koenzim. Kandungan mineral dalam ekstrak kentang berfungsi mengoptimalkan pertumbuhan jamur, unsur-unsur mineral tersebut meliputi unsur makro seperti kalium (K), fosfor (P), kalsium (Ca), magnesium (Mg) dan lainnya, serta unsur mikro seperti tembaga (Cu) dan zink (Zn). Seluruh proses inokulasi jamur ini dilakukan dengan teknik aseptik dalam *Laminary Flow*, hal ini untuk menghindari terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Jamur yang telah diinokulasi ke media PDA selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C dan disimpan di tempat gelap, hal ini karena jamur *P. bevispora* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 24 - 36˚C dengan kelembapan 60-70% (Nakasome dan Eslyn, 1981), serta pada umumnya jamur pelapuk putih dapat tumbuh secara optimal dalam keadaan lingkungan yang gelap (Djarijah, 2001). Miselium *P. bevispora* tumbuh dan menutupi seluruh permukaan media diperoleh pada 7 hari masa inkubasi. Biakan kultur *P. bevispora* yang baru siap untuk perlakuan selanjutnya.

4.1.2 Kultur Cair Jamur *Phlebia brevispora*

Kultur *P. brevispora* pada media agar hasil regenerasi di inoklasikan ke dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi 10 mL media PDB menggunakan jarum ose

dengan diameter 1 cm. Penggunaan PDB sebagai media cair karena PDB memiliki kandungan nutrisi yang identik dengan media PDA. Purnomo, dkk (2008) melaporkan bahwa media PDB lebih efektif untuk pertumbuhan jamur tiram. Oleh karena jamur tiram adalah salah satu jenis dari jamur pelapuk putih, maka dalam penelitian ini digunakan media cair yang serupa. Kultur jamur selanjutnya dipreinkubasi dalam ruang gelap dengan kondisi aerob pada suhu 30^{o}C selama 7 hari. Kultur *P. brevispora* siap digunakan dalam proses degradasi DDT.

4.2 Kultur Bakteri

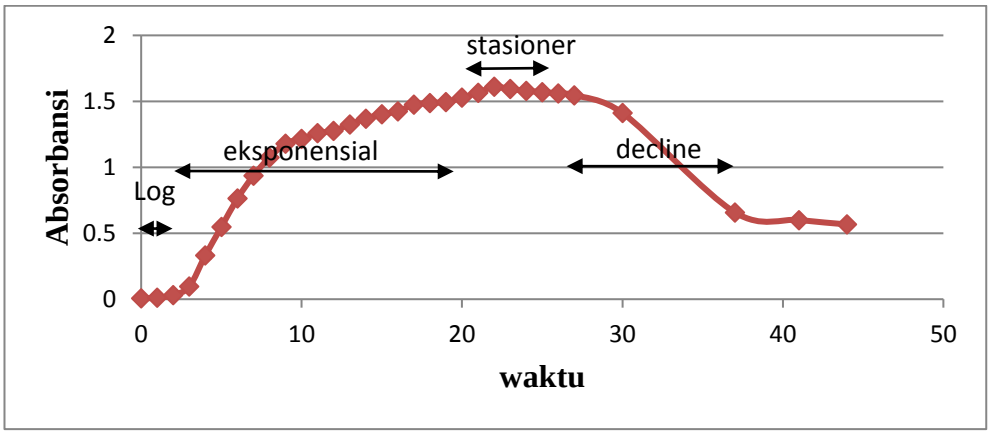
4.2.1 Regenerasi Bakteri

Penelitian ini menggunakan tiga jenis bakteri yaitu *P. aeroginosa, B. subtilis*, dan *R. picketti*. Bakteri ini dinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media agar steril NA menggunakan jarum ose dengan metode kuadran. Pada proses pertumbuhan dan perkembangan bakteri memerlukan nutrisi yang lengkap yang terdapat dalam NA. Nutrisi dalam NA terdiri atas, pepton, ekstrak daging, NaCl, dan agar-agar. Pepton sebagai sumber nitrogen yang digunakan oleh bakteri untuk mensintesis asam amino, protein, dan enzim serta membantu pembentukan sel baru. Ekstrak daging mengandung karbohidrat sebagai sumber karbon yang menjadi sumber energi utama yang diperlukan dalam proses metabolisme dan perkembangan bakteri. Vitamin B berperan sebagai katalitik dalam sel dan sebagai komponen koenzim, protein dan mineral (kalsium, sulfur, fosfat, kalium dll). NaCl berfungsi sebagai penyedia elemen mikro berupa natrium, dan juga diperlukan untuk menaikkan tekanan osmosis dan keseimbangan psikokimia sel bakteri. Agar-agar berfungsi sebagai pemadat media (Sutama, 2000). Plate yang berisi bakteri diinkubasi pada suhu 37^{o}C, suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *P. aeroginosa*, *B. subtilis, R. picketti* adalah sekitar 30 – 42^{o}C (Todar, 2012; Graumann, 2012; Asranuddin, 2014). Sekitar 24 jam setelah masa inkubasi, koloni-koloni bakteri baru telah terbentuk dan siap digunakan untuk proses selanjutnya.

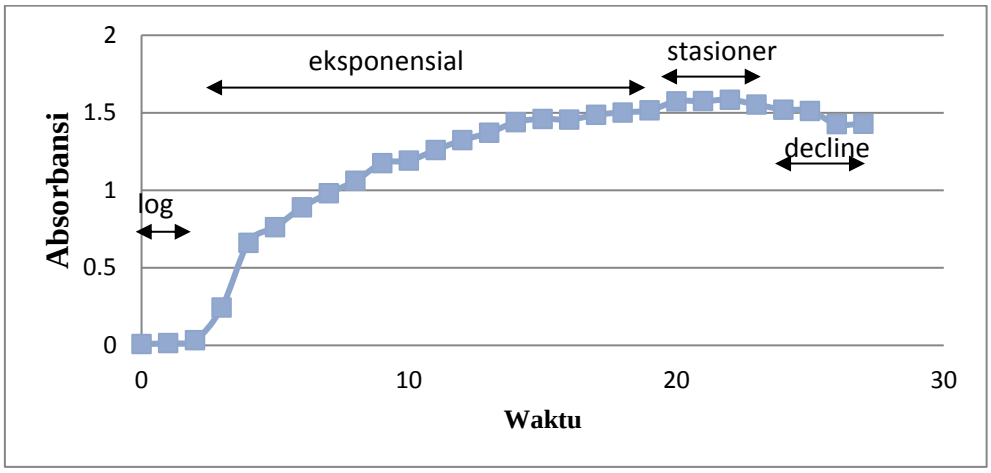
4.2.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Perumbuhan dapat didefenisikan sebagai pertambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan merupakan pertambahan volume dan ukuran sel dan juga sebagai pertambahan jumlah sel. Pertumbuhan sel bakteri mengikuti suatu pola pertumbuhan berupa kurva pertumbuhan sigmoid (Brock dan Madigan, 1991).

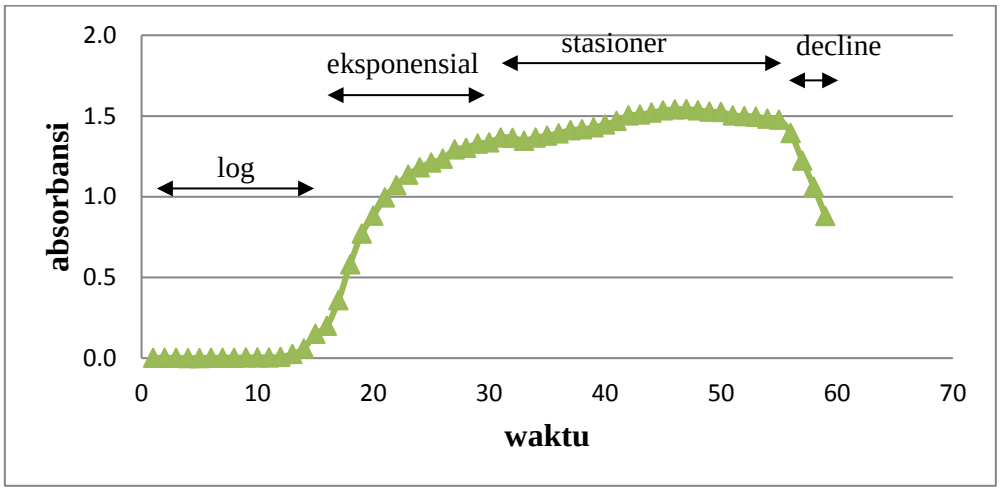
Perubahan kemiringan pada kurva menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase lainnya. Kurva pertumbuhan bakteri terdiri dari beberapa fase, dimulai dari *fase lag* (fase lamban atau lag phase), fase ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan populasi, sel mengalami perubahan komposisi kimiawi, bertambah ukuran dan bertambahnya substansi intraselular. Setelah itu pertumbuhan bakteri akan memasuki *fase pertumbuhan eksponensial* (fase pertumbuhan cepat atau log phase), di dalam fase ini sel membelah dengan laju yang konstan, aktivitas metabolik seimbang dan pertumbuhan seimbang. Pertumbuhan bakteri selanjutnya adalah *fase stationer* (fase statis atau stationary phase), fase ini ditandai dengan habisnya nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri dalam pertumbuhannya. Pada fase ini ditandai dengan diproduksinya metabolik sekunder sebagai bentuk pertahanan diri pada bakteri terhadap lingkungan, senyawa yang dihasilkan menyebabkan beberapa sel bakteri mati sedangkan yang lain tumbuh, sehingga jumlah sel yang hidup menjadi tetap. Dan terakhir adalah *fase kematian atau penurunan populasi* (decline), yang ditandai dengan sel-sel bakteri menjadi lebih cepat mati dari pada terbentuknya sel-sel baru (Pelczar, 1986).



Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *P. aeruginosa*



Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan *B. subtilis*



Gambar 4.3 Kurva pertumbuhan *R. pickettii*

Waktu untuk melalui fase-fase pada proses pertumbuhan setiap bakteri berbeda-beda, dari kurva pertumbuhan diketahui bahwa fase lag *P. aeruginosa* (Gambar 4.1) berada pada rentang waktu 0–3 jam, fase eksponensial berada pada 3–20 jam, fase stasioner berada pada 20–26 jam, dan fase kematian mulai pada jam ke 26. Bakteri *B. subtilis* (Gambar 4.2) mengalami fase lag (0–3 jam inkubasi), fase eksponensial (3–19 jam inkubasi), fase stasioner (19–23 jam inkubasi) dan fase kematian (23-27 jam inkubasi). Bakteri *R.pickettii* (Gambar 4.3) mengalami fase lag pada rentang waktu 0–14 jam inkubasi, fase eksponensial pada rentang waktu 14–29 jam inkubasi. Fase stasioner berada pada rentang

waktu 29–54 jam inkubasi, dan fase kematian pada jam ke 54–59 inkubasi. Dari data tersebut diketahui waktu panen setiap bakteri untuk digunakan pada proses selanjutnya yaitu ketika peralihan antara fase eksponensial ke fase stasioner, untuk bakteri *P. aeruginosa* 21 jam inkubasi, *B. subtilis* 20 jam inkubasi dan *R. pickettii* 30 jam inkubasi.

4.3 Kurva standar DDT

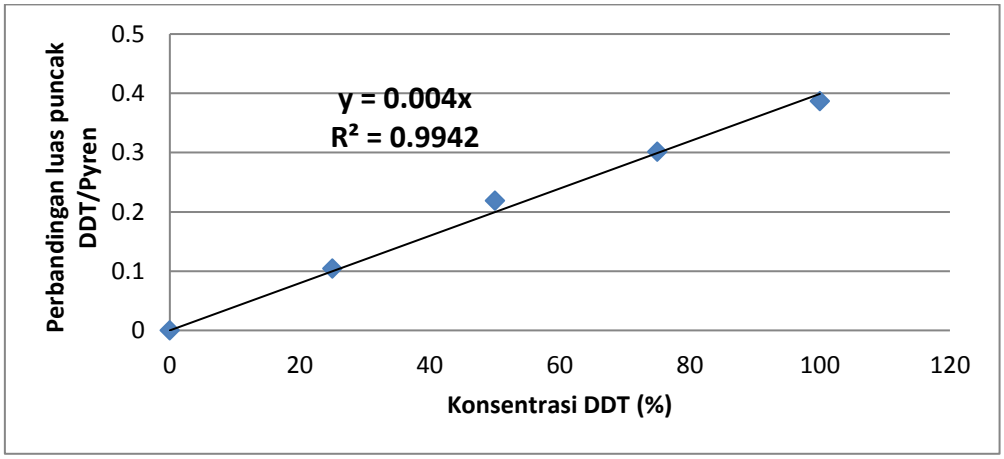
Kurva standar DDT merupakan kurva hasil plot antara nilai perbandingan luas area puncak DDT/piren dengan konsentrasi larutan standar DDT. Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data kurva standar DDT

Konsentrasi	Luas puncak Pyren	Luas puncak DDT	Perbandingan DDT/Pyren
0	0	0	0
25	78914,87	8212,82	0,104
50	79824,91	17472,96	0,219
75	78336,45	23601,56	0,301
100	75547,93	29219,51	0,387

Dari Tabel 4.1 dibuat kurva standar seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.4. Kurva standar diperoleh persamaan regresi linear y = 0,004x, dimana x adalah konsentrasi DDT dan y adalah perbandingan luas puncak DDT/pyren. Hubungan linearitas antara konsentrasi DDT dan perbandingan luas puncak DDT/pyren dapat diketahui melalui nilai koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi adalah nilai yang menunjukkan kuat atau tidaknya hubungan linear antar dua variabel yang memiliki nilai +1, 0 dan -1. Nilai r yang mendekati 0 mengindikasikan lemahnya hubungan antara dua variable, dan nilai r yang mendekati -1 atau +1 menunjukkan hubungan yang kuat antara dua variabel. Tanda +/- memberikan informasi mengenai arah hubungan antara dua variabel, jika bernilai positif (+) berarti memiliki hubungan searah, sedangkan jika bernilai negatif (-) artinya korelasi antara keduanya bersifat berlawanan. Nilai koefisien korelasi (r) pada kurva standar DDT sebesar 0.994, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi

larutan standar DDT (variabel X) dan perbandingan luas puncak DDT/pyren (variabel Y) memiliki hubungan linearitas yang kuat, dimana r mendekati +1 yang berarti bahwa peningkatan nilai X diikuti dengan peningkatan nilai Y.



Gambar 4.4 Kurva standar DDT

Untuk memastikan hubungan linearitas antara konsentrasi lautan standar DDT dengn perbandingan luas puncak DDT/pyren maka dilakukan uji signifikansi koefisien korelasi (uji t) dengan tingkat signifikansi $\alpha \leq 0{,}025$ (selang kepercayaan 97,5%). H_0 menyatakan tidak ada hubungan secara signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. H_1 menyatakan ada hubungan secara signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. H_0 diterima jika $t_{hitung} \leq t_{Tabel}$, dan H_0 ditolak jika $t_{hitung} > t_{Tabel}$, dari hasil perhitungan **(lampiran 2)** diketahui bahwa $t_{hitung} > t_{Tabel}$ yang berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pyren dan persamaan regresi linear kurva standar DDT layak digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

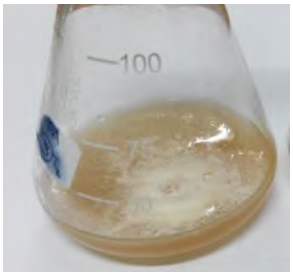
Kurva standar untuk metabolik produk seperti DDD, DDE dan DDMU juga telah diketahui **(lampiran 3)**. Persamaan regresi linear dan koefisien korelasi dari masing-masing metabolik produk tersebut adalah DDD: y = 0.0041 dengan r = 0.990, DDE: y = 0.0043 dengan r = 0.996, DDMU: y = 0.0045 dengan r = 0.999.

4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT

4.4.1 Biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*

Kultur *P. brevispora* yang telah dipre-inkubasi selama 7 hari ditambahkan 50 µL DDT dengan konsentrasi 0,25 µmol. DDT merupakan senyawa organik yang bersifat non-polar dengan berat molekul yang cukup tinggi (354.48 $g \cdot mol^{-1}$) sehingga kelarutannya dalam air sangat rendah 1 μg^{-1} (20^{o}C). Oleh karena itu dalam penelitian ini DDT dilarutkan dalam DMSO, hal ini karena DMSO merupakan pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan senyawa polar dan non-polar sehingga dapat melarutkan DDT, dan DMSO dapat larut dalam berbagai pelarut organik serta air. Dengan titik didih yang tinggi (189^{o}C) DMSO tidak mudah hilang dalam proses pemanasan.

Kultur dibuat dalam kondisi aerobik, sehingga sebelum diinkubasi kultur terlebih dahulu ditambahkan oksigen. Oksigen dibutuhkan oleh jamur *P. brevispora* selama proses degradasi berlangsung. Labu ditutup dengan sumbat kaca dan selotip untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Kultur setelah diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25^{o}C ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kultur cair *P. brevispora* setelah inkubasi

Perhitungan *recovery* (perolehan ulang) DDT yang tersisa dalam kultur dilakukan untuk mengetahui jumlah DDT yang terdegradasi selama masa inkubasi. Sebelum *recovery*, proses degradasi DDT dihentikan dengan mematikan kultur *P. brevispora* dengan 20 mL metanol. Keberadaan metanol mampu mengganggu struktur biologis membran dan fungsinya, seperti komposisi lipid, protein dan sintesis asam nukleat dan sistem transport, sehingga membran kehilangan stabilitas dan denaturasi protein terutama enzim yang terdapat dalam membran (Patterson dkk., 2015; Salakkam dkk., 2015). Piren kemudian

ditambahkan ke dalam kultur sebagai internal standar (senyawa referen) yang digunakan untuk menentukan nilai perbandingan antara luas area puncak DDT dalam sampel terhadap luas area puncak dari snyawa internal standar.

Sampel dipindahkan ke dalam labu falkon, untuk selanjutnya di homogenizer, labu Erlenmeyer dicuci dengan 5 mL aseton. Pencucian dilakukan bertujuan untuk melarutkan DDT yang kemungkinan masih terdapat pada dinding labu erlenmeyer. Pemilihan aseton sebagai pencuci karena aseton merupakan pelarut polar aprotik, dan memiliki titikk didih yang rendah (56^{o}C) sehingga lebih mudah dipisahkan dari sampel melalui proses evaporasi. Homogenizer berfungsi untuk memecah miselium *P. brevispora* menjadi lebih kecil, sehingga luas permukaan miselium semakin besar dan DDT yang terabsobsi ke dalam miselium dapat larut kembali dalam solven. Sampel kemudian disaring menggunakan filter kertas whatman 0,2 µm diameter 90 mm untuk memisahkan biomassa jamur dan filtrat. Filtrat yang merupakan campuran metanol, aseton dan sampel kemudian dipisahkan melalui poses evaporasi dengan suhu evap 60^{o}C sampai tersisa 5 mL sampel.

Dalam penelitian ini proses *recovery* dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen camppuran homogen menggunakan pelarut cair sebagai agen pemisah. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah perbedaan kelarutan solute (komponen terlarut) dalam solven dan diluen (cairan pembawa). Beberapa syarat dalam memilih pelarut untuk ekstraksi cair-cair antara lain kedua pelarut tidak saling larut, tidak saling bereaksi, memiliki titik didih relatif rendah, tidak bersifat toksik, memiliki perbedaaan densitas yang tinggi, tidak bereaksi dengan solut maupun diluen, memiliki perbedaan titik didih yang tinggi dengan dengan solute, pelarut pertama mampu melarutkan diluen, dan pelarut kedua mampu melarutkan solut. Berdasarkan syarat tersebut maka dalam penelitian ini digunakan pasangan pelarut aquades dan *n*-heksana. Dengan spesifikasi aquades sebagai pelarut pertama termasuk pelarut polar yang memiliki polaritas tinggi (konstanta dielektrik = 80), memiliki densitas 1 g/mL, tidak larut dengan kebanyakan pelarut organik, serta kelarutan DDT dalam air sangat kecil (1 µg/L) dan mampu melarutkan diluen. *n*-Heksana sebagai pelarut kedua, karena senyawa ini karena senyawa ini termasuk

pelarut non-polar yang memiliki polaritas rendah (konstanta dielektrik = 2), memiliki densitas 0,655 g/mL dan mampu melarutkan DDT sebesar 97 g/100 mL.

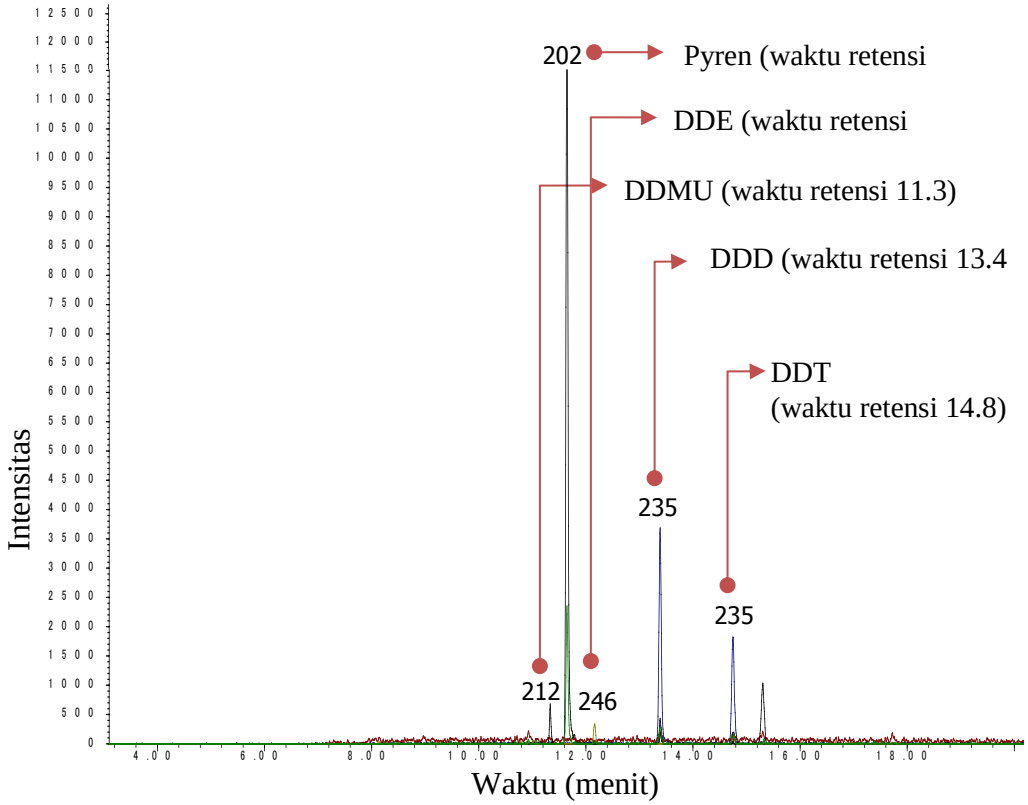
Sampel hasil evaporasi diekstraksi dengan aquades an *n*-heksana 1/1 dalam corong pisah, dikocok beberapa kali dengan tangan kemudian kran corong pisah dibuka untuk mengurangi tekanan yang dihasilkan oleh uap *n*-heksana yang terbentuk selama pengocokan, sampel kemudian dikocok menggunakan *autoshacker* selama 10 menit. Pengocokan dilakukan agar terjadi pencampuran secara intensif antara kedua pelarut, sehingga solut dapat terekstrak ke dalam fasa organik. Fasa air kemudian diekstrak kembali untuk memaksimalkan hasil *recovery* dan memastikan DDT dan metabolik produk terekstrak sempurna ke dalam fasa organik. Fasa organik hasil ekstraksi pertama dan kedua dikumpulkan dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi Na_2SO_4 anhidrat yang berfungsi sebagai agen pengering (drying agent) dalam larutan fasa organik. Na_2SO_4 anhidrat berbentuk kristal putih memiliki kemampuan untuk menangkap senyawa-senyawa polar seperti air dan alkohol, memiliki kapasitas yang tinggi dalam mengabsorb air,memiliki nilai hidrasi (jumlah molekul air yang mampu diansorb per molekul natrium sulfat) 7 sampai 10. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:

$$Na_2SO_4 + nH_2O \rightarrow Na_2SO_4 \bullet nH_2O$$

Jumlah Na_2SO_4 yang digunakan tergantung kadar air yang terkandung dalam fasa organik, ketika natrium sulfat yang ditambahkan tidak menggumpal lagi atau dapat bergerak bebas di dasar Erlenmeyer menandakan bahwa seluruh air yang terkandung dalam fasa organik telah terabsorbsi oleh natrium sulfat. Sampel disaring dengan tetap menggunakan natrium sulfat untuk memastikan bahwa fasa organik tidak lagi mengandung air. Filtrat dievaporasi hingga tersisa 3 mL. evaporasi dilakukan untuk menguapkan *n*-heksana serta meningkatkan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga memudahkan dalam analisis. Sampel dianalisis menggunakan GC/MS dengan suhu inlet 250^{o}C, kondisi 80–320^{o}C. Sisa sampel dievaporasi kembali sampai kering, setelah itu ditambah 1 mL metanol untuk analisis HPLC dengan fasa gerak metanol:air 80:12% pada suhu 45^{o}C.

Hasil analisis degradasi DDT oleh *P. brevispora* menggunakan HPLC diperoleh *recovery* pada control sebesar 96,7%, sedangkan *recovery* pada

treatment sebesar 32,45%, sehingga degradasi DDT oleh *P. brevispora* sebesar 64%.



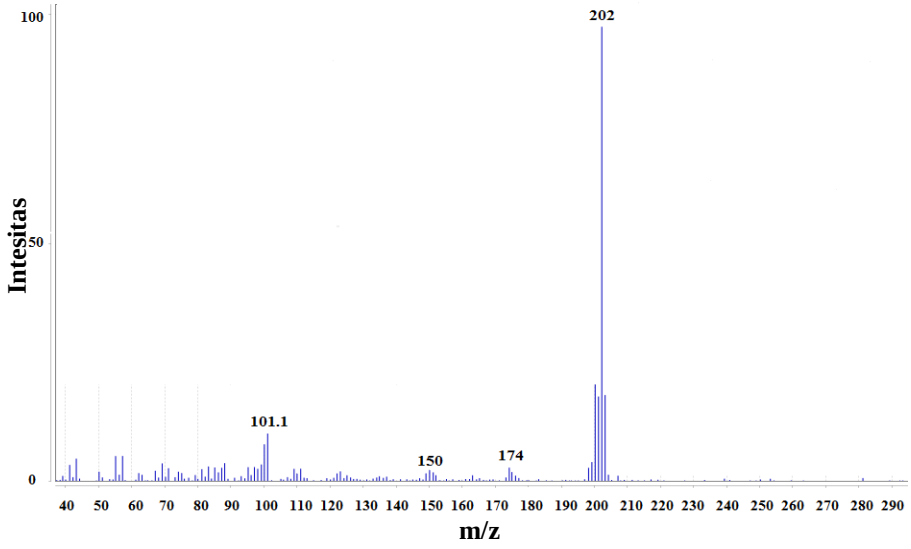
Gambar 4.6 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora*

Hasil analisis kromatogram GC *P. brevispora* (Gambar 4.6) mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren, DDT, DDD, DDE dan DDMU dengan waktu retensi dari masing-masing senyawa tersebut adalah 11,7, 14,8, 13,4, 12,2 dan 11,3 menit. Dalam penentuan dan identifikasi metabolik produk secara lebih akurat dapat menggunakan Data MS sebagai referensi. Masing-masing puncak pada Gambar 4.7 memiliki tingkat kemiripan tinggi dengan senyawa-senyawa pada *database* MS berdasarkan pencocokan nilai *m/z* dalam *database* dan nilai *m/z* dari hasil analisis.

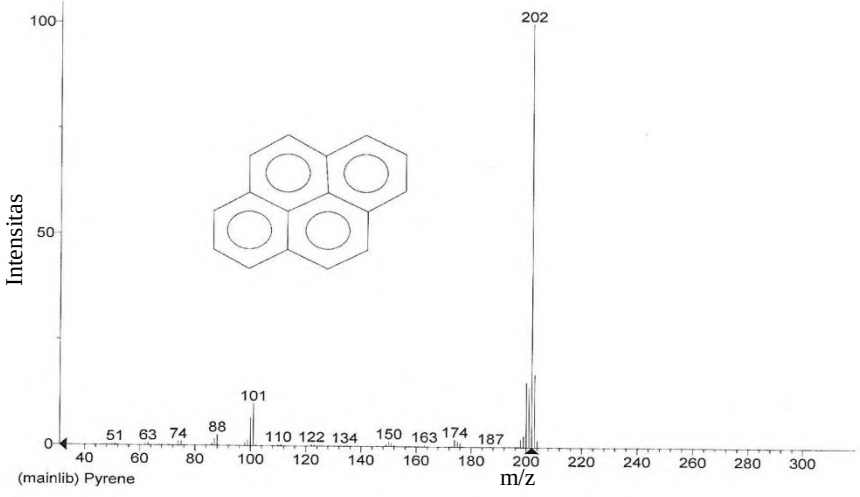
Piren memiliki nilai puncak molekul ion sebesar 202 pada waktu retensi 1.7 menit. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS piren dalam *database* (Gambar **4.7a dan 4.7b**). Berikut ini ion-ion fragmentasi piren dengan nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS piren hasil analisis dan *database* yang memiliki

tingkat kemiripan yang tinggi antara lain: 202 ($C_{16}H_{10}$) (base peak), 174 (M-C2H4), 150 (M-C_2) dan 101 (M-C_4H). Berikut spektra MS pirena dari hasil analisis sampel jamur dan *database* MS.

(a)



(b)

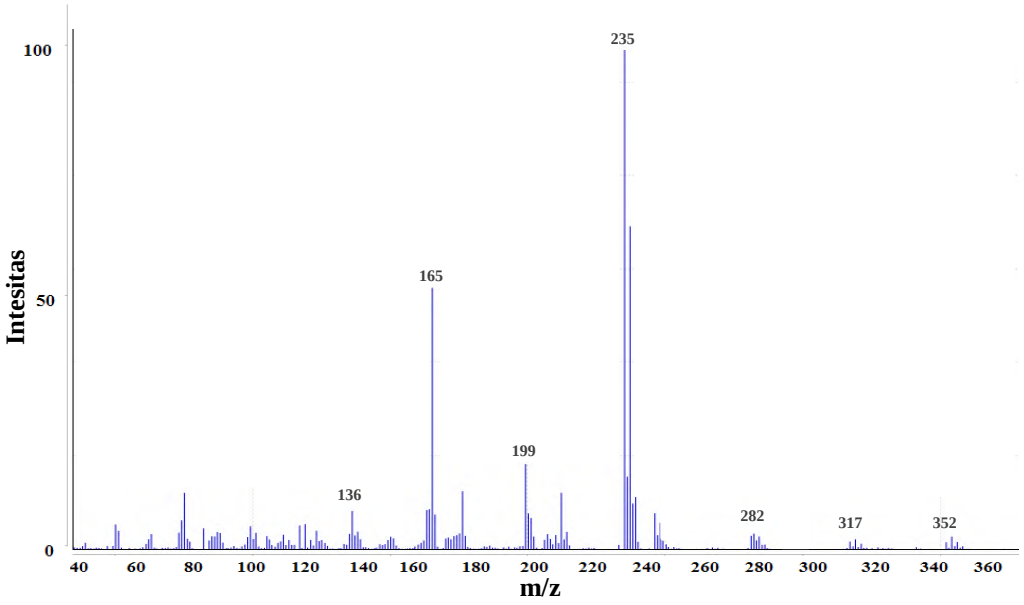


Gambar 4.7 Spektra MS Piren (a) Spektra MS piren hasil analisis, (b) spektra MS piren dalam *database*

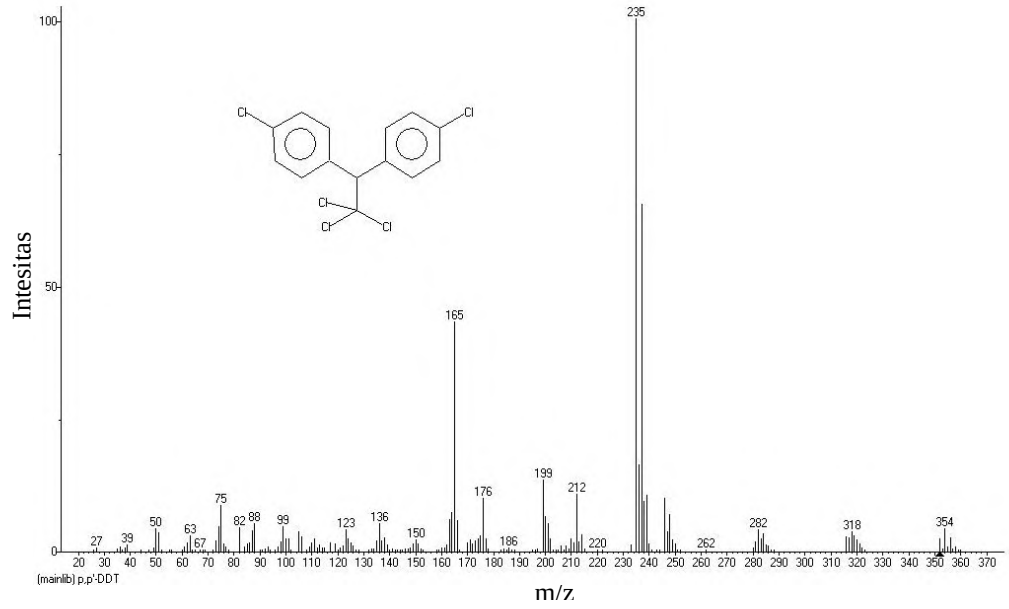
Nilai M^+ DDT sebesar 352 pada waktu retensi 14.8 menit, hal ini sesuai dengan spektra MS DDT hasil analisis dan spektra MS DDT pada *database* (Gambar 4.8a dan 4.8b). Beberapa puncak ion-ion fragmentasi dengan nilai m/z pada spektra MS DDT hasil analisis sama dengan *database*, antara lain: 352 ($C_{14}H_9Cl_5$), 317 (M- Cl), 282 (M–Cl_2), 235 (M-CCl_3, base peak) dan 165 (235-

Cl_2)**.** Berikut spektra MS DDT hasil analasis sampel jamur dan spektra MS DDT dari *database* MS.

(a)



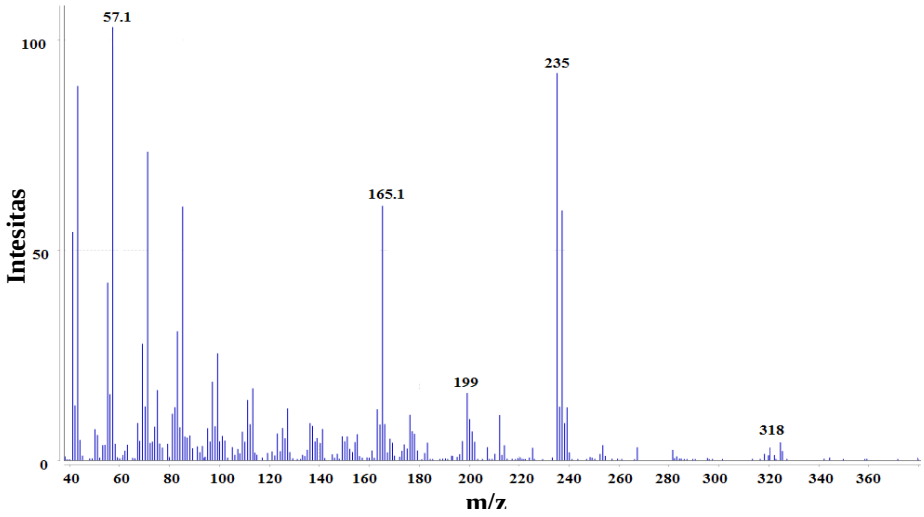
(b)



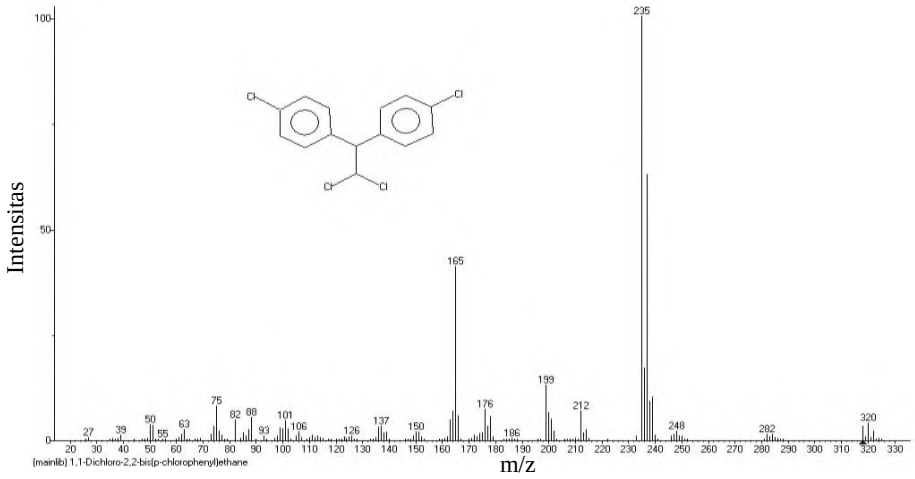
Gambar 4.8 Spektra MS DDT (a) Spektra MS DDT hasil analisis, (b) spektra MS DDT dalam *database*

Massa spektrum dari senyawa pada waktu retensi 13.4 memiliki nilai *m/z* sebesar 318. Nilai m/z ini sesuai dengan spektra MS DDD pada spektra dalam *database* . DDD merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan atom Cl dan disubtitusi oleh atom H. Beberapa puncak ion-ion fragmentasi dengan nilai m/z pada spektra MS DDT hasil analisis sama dengan *database*, antara lain 283 (M-Cl), 235 (M- $CHCl_2$ base peak), 199 (M-$CHCl_3$) dan 165 (M-$CHCl_4$). Berikut spektra MS DDD hasil analasis sampel jamur dan spektra MS DDT dari *database* MS.

(a)



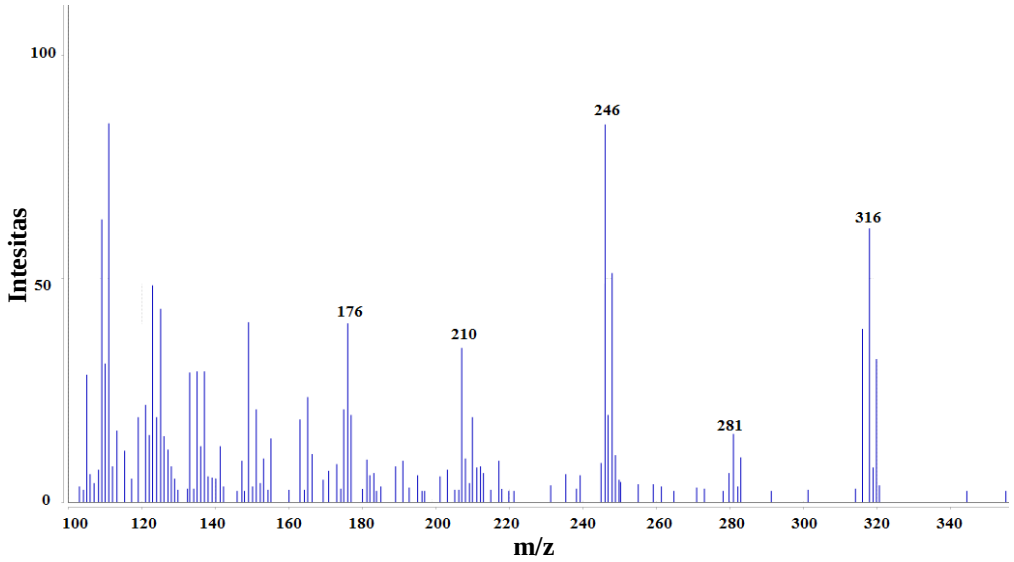
(b)



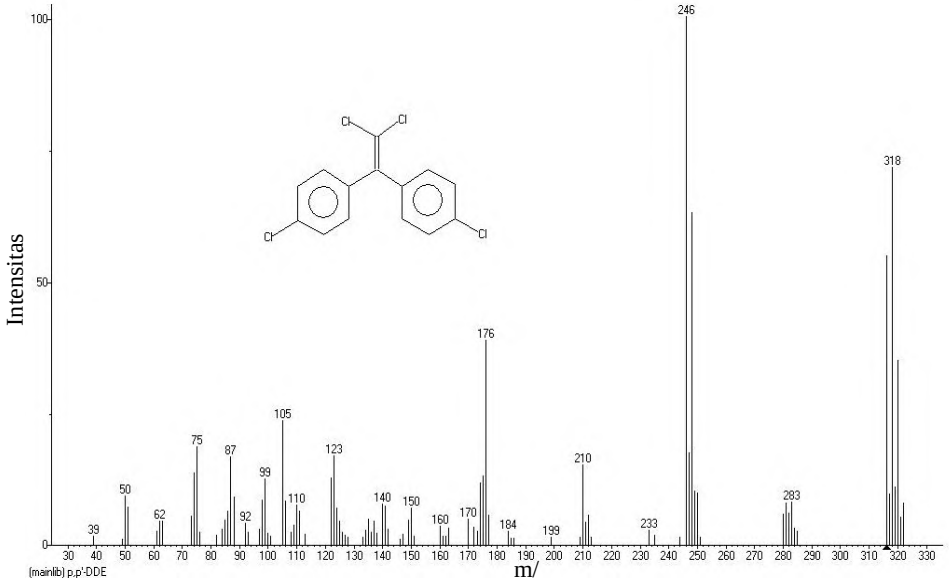
Gambar 4.9 Spektra MS DDD (a) Spektra MS DDD hasil analisis, (b) Spektra MS DDD dalam *database*

Massa spektrum dari senyawa pada waktu retensi 12.2 memiliki nilai *m/z* sebesar 316. Nilai m/z ini sesuai dengan spektra MS DDE pada spektra dalam *database* MS (lihat Gambar 4.10b). DDE merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan 1 atom Cl dan 1 atom H melalui reaksi dehidroklorinasi. Beberapa puncak ion-ion fragmentasi dengan nilai m/z pada spektra MS DDE hasil analisis sama dengan *database*, antara lain: 316 ($C_{14}H_8Cl_4$), 281(M–Cl) , 246 (M–Cl_2, base peak), 210 (M–HCl_3) dan 176 (M–HCl_4). Berikut spektra MS DDE hasil analisis sampel jamur dan spektra MS DDE dari *database* MS.

a)



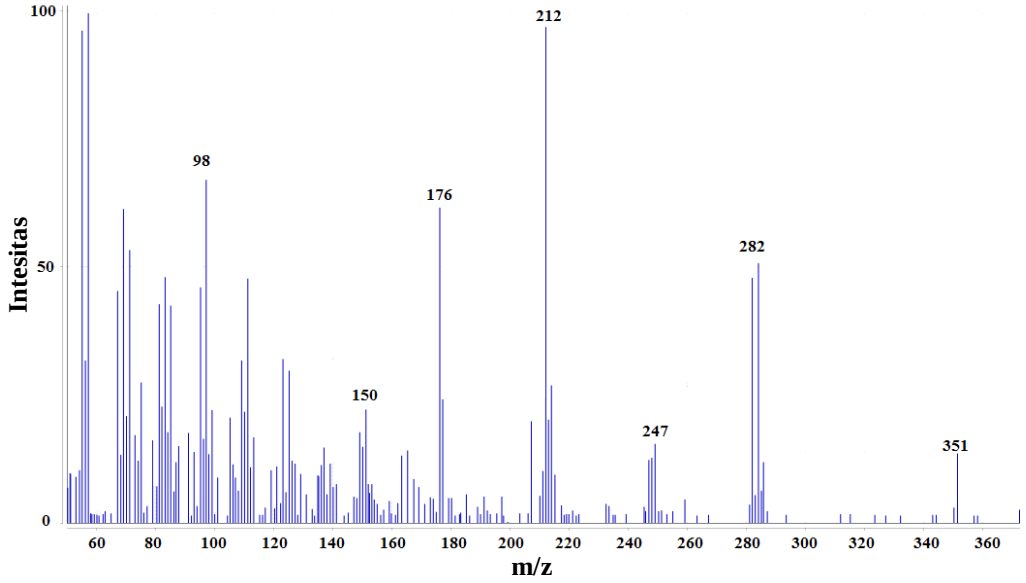
b)



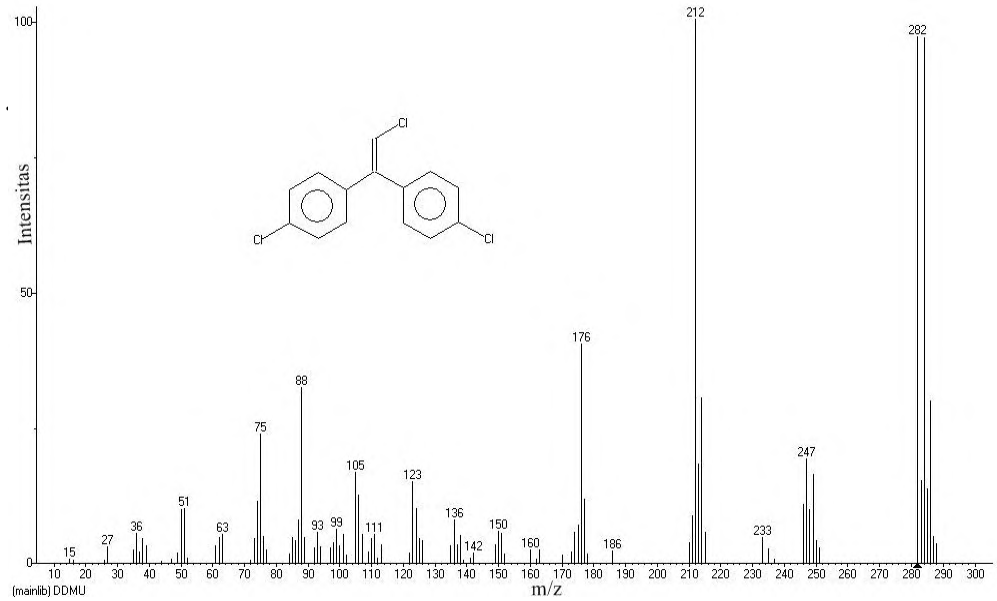
Gambar 4.10 Spektra MS DDE (a) Spektra MS DDE hasil analisis, (b) Spektra MS DDE dalam *database*

Nilai M^+ dari senyawa pada waktu retensi 11.3 memiliki nilai *m/z* sebesar 282. Nilai m/z ini sesuai dengan spektra MS DDMU pada spektra dalam *database* MS (lihat Gambar **4.11b**). DDMU merupakan senyawa turunan dari DDD yang telah kehilangan 1 atom Cl dan 1 atom H melalui reaksi dehidroklorinasiBerikut spektra MS DDMU hasil analasis sampel jamur dan spektra MS DDMU dari *database* MS.

(a)



(b)



Gambar 4.11 Spektra MS DDMU (a) Spektra MS DDMU hasil analisis, (b) Spektra MS DDMU dalam *database*

Beberapa puncak ion-ion fragmentasi dengan nilai m/z pada spektra MS DDMU hasil analisis sama dengan *database*, antara lain: 282 ($C_{14}H_8Cl_3$), 247 (M-Cl) dan 212 (M- Cl_2, base peak) dan 176 (M – HCl_3).

Jamur pelapuk putih khususnya dari jenis *Phlebia* diketahui memiliki sistem enzim ekstraselular pendegradasi lignin termasuk didalamnya LiP, MnP dan lakase (Vares, dkk.,1995; Leontievsky, dkk., 1997). Fonseca dkk. (2014) melaporkan bahwa lakase diproduksi dalam jumlah banyak oleh *P. brevispora* BAFC 633 selektif dalam mendegradasi lignin. Jenis jamur pelapuk putih lainnya seperti *P. ostreatus* ketika dibiakkan dalam media cair PDB, aktifitas enzim yang terdeteksi adalah lakase (Hou dkk., 2004), hal ini serupa dengan laporan Santoyo (2008) yang melaporkan bahwa *P. ostreatus* menghasilkan enzim lakase dalam jumlah yang banyak namun tidak menghasilkan enzim LiP. Oleh karena itu metabolit produk dalam penelitian ini kemungkinan dihasilkan dari aktivitas enzim lakase yang mengkatalisis oksidasi DDT, walaupun mekanisme katalisis dan jalur degradasi DDT oleh lakase belum diketahui secara jelas (Zhao, dkk., 2010). Reaksi dehidroklorinasi mendominasi dalam pembentukan metabolik produk dibawah kondisi aerobik, sedangkan dibawah kondisi anaerobik rekasi yang dominan terjadi adalah reduktif deklorinasi (Lal dan Saxena, 1982).

4.4.2 Biodegradasi DDT oleh Bakteri

Kultur bakteri yang telah dipre-inkubasi (selama 21, 20 dan 30 jam untuk masing-masing bakteri *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, dan *R. pickettii*) dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL [1 mL = ($1{,}5 \times 10^9$ cfu/mL bakteri PA), ($6{,}7 \times 10^8$ cfu/mL bakteri BS), ($1{,}44 \times 10^{13}$ cfu/mL bakteri RP)] yang berisi media PDB dengan volume total sebesar 20 mL/erlenmeyer. Bakteri ditambahkan ke dalam media PDB pada suhu 30^{o}C, hal ini bertujuan untuk melihat apakah bakteri mampu tumbuh dan mendegradasi DDT pada kondisi optimum pertumbuhan jamur *P. brevispora*. Bakteri yang digunakan merupakan jenis bakteri aerobik, penambahan oksigen ke dalam kultur bertujuan untuk menyuplai oksigen selama 7 hari masa inkubasi.

Hasil analisis degradasi DDT oleh bakteri menggunakan HPLC ditunjukkan pada Tabel **4.3**.

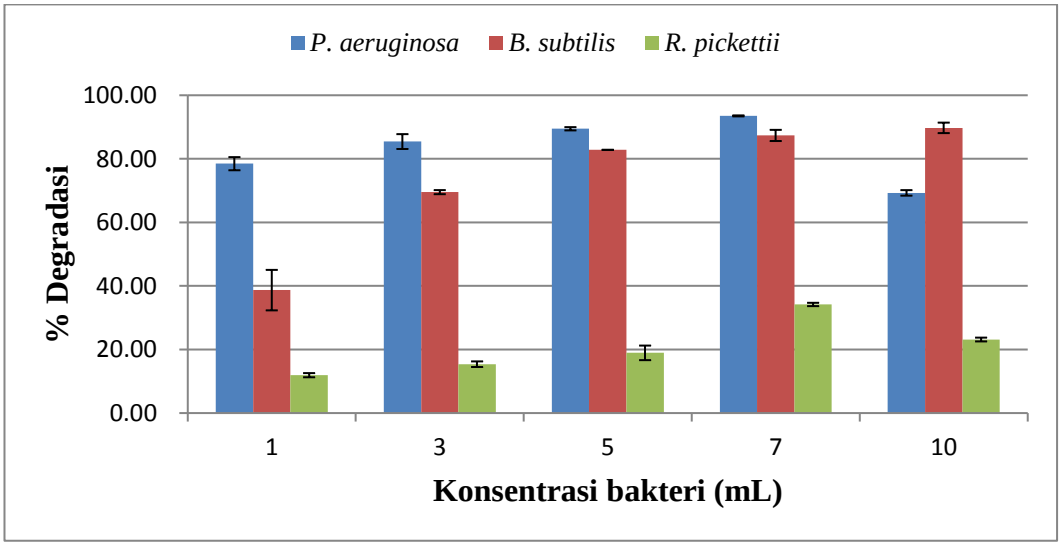
Tabel 4.2 Degradasi DDT oleh bakteri selama 7 hari inkubasi

Konsentrasi Bakteri	% Degradasi Bakteri		
(mL)*	PA[a]	BS[b]	RP[c]
1	78,47 ± 2,06	38,69 ± 6,36	11,93 ± 0,65
3	85,43 ± 2,34	69,52 ± 0,64	15,38 ± 0,88
5	89,46 ± 0,51	82,82 ± 0,04	18,95 ± 2,29
7	93,51 ± 0,16	87,36 ± 1,76	34,17 ± 0,52
10	69,28 ± 0,87	89,74 ± 1,64	23,15 ± 0,60

[a] *P. aeruginosa*, [b] *B. subtilis*, [c]*R. pickettii*

* 1 ml = (1,5 x 10^9 cfu/mL bakteri)[a], (6,7 x 10^8 cfu/mL bakteri)[b], (1,44 x 10^{13} cfu/mL bakteri)[c].

Tabel **4.2** menunjukkan bahwa jumlah degradasi DDT tertinggi didapatkan dari degradasi oleh bakteri *P. aeruginosa* sebesar 93,51% pada konsentrasi 7 mL, pada bakteri *B. subtilis* sebesar 89,74% pada konsentrasi 10 mL dan untuk bakteri *R. pickettii* sebesar 34,17% pada konsentrasi 7 mL. Dari Tabel 4.3 dapat dibuat grafik seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.12 Jumlah degradasi DDT oleh bakteri selama 7 hari masa inkubasi

Dari Gambar 4.13. dapat dilihat korelasi antara konsentrasi bakteri dan jumlah DDT yang terdegradasi oleh masing-masing bakteri. Ketiga bakteri tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi bakteri yang digunakan semakin besar pula jumlah DDT yang terdegradasi. Akan tetapi pada bakteri *P. aeruginosa* dan *R. pickettii*, pada konsentrasi 10 mL jumlah. DDT yang

terdegradasi mengalami penurunan. Selain menghasilkan biosurfaktan sebagai metabolit produk, bakteri juga memproduksi senyawa toksik sebagai bentuk pertahanan dari lingkungannya ketika nutrisi dalam kultur mulai berkurang, sehingga prioritas untuk bertahan hidup disbanding untuk mendegraasi DDT. Konsentrasi optimum untuk *P. aeruginosa* dan *R. pickettii* dalam mendegradasi DDT adalah 7 mL, dan untuk bakteri *B. subtilis* konsentrasi optimum pada 10 mL.

Metabolit produk DDT dianalisis menggunakan instrument GCMS (kromatogram lihat pada lampiran 4), hasil analisis menunjukkan bahwa bakteri *B. subtilis* dan *R. pickettii* menghasilkan DDE sebagai metabolit utama. Lal dan Saxena (1982) melaporkan bahwa secara umum biodegradasi DDT oleh bakteri dalam kondisi aerob akan mendegradasi DDT melalui reaksi dehidroklorinasi dengan metabolik produk utamanya adalah DDE, sedangkan dalam kondisi anaerob reaksi yang dominan reduktif deklorinasi dengan metabolik produk utamanya adalah DDD. Akan tetapi pengecualian untuk beberapa bakteri seperti *E. coli*, *Enterobacter aeroginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas putida*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Sharma dkk., 1987; Aislabie dkk., 1997), bakteri-bakteri tersebut memiliki kemampuan mengkonversi DDT menjadi DDD. Hasil peneltian dari Sharma dkk. (1987) tersebut sama dengan hasil kromatogram *P. aeruginosa* pada penelitian ini yang menunjukkan bahwa metabolit produk yang dihasilkan adalah DDD dan DDMU.

4.4.3 Screening Bakteri Biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora*

Kultur *P. brevispora* yang telah dipre-inkubasi ditambahkan kultur bakteri *P. aeruginosa*, *B. subtilis* dan *R. pickettii* masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7, dan 10 mL. Hasil analisis biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri ditunjukkan pada Tabel 4.4. Dari data analisis menggunakan HPLC diperoleh jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* yang tertinggi pada penambahan masing-masing bakteri adalah: penambahan *P. aeruginosa* sebanyak 10 mL mampu mendegradasi 100%, penambahan *B. subtilis* sebanyak 10 mL mampu mendegradasi 75%, dan penambahan *R. pickettii* sebanyak 10 mL mampu mendegradasi 100% mL. Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa semakin banyak

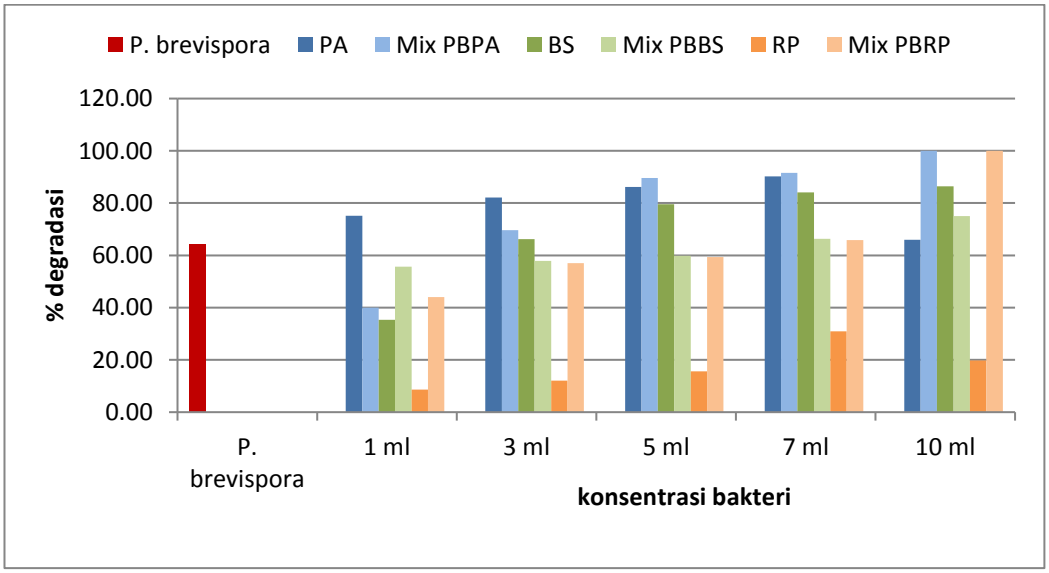
konsentrasi bakteri yang ditambahkan, jumlah DDT yang terdegradasi semakin besar. Akan tetapi jika dibandingkan dengan jumlah degradasi DDT oleh masing-masing bakteri dan jamur, maka beberapa data jumlah degradasi DDT dalam kultur campuran mengalami penurunan.

Tabel 4.3 Jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri selama 7 hari inkubasi

Konsentrasi Bakteri (mL)	% Degradasi		
	PBPA[a]	PBBS[b]	PBRP[c]
1	39.97 ± 1.14	55.73 ± 0.19	44.04 ± 2.54
3	69.66 ± 0.84	57.84 ± 0.98	56.98 ± 1.11
5	89.58 ± 3.70	59.89 ± 0.27	59.36 ± 0.26
7	91.60 ± 0.52	66.35 ± 1.31	65.82 ± 0.98
10	100 ± 0	75 ± 0.01	100 ± 0

[a] kultur campuran *P. brevispora* (PB) dan *P. aeruginosa* (PA)
[b] kultur campuran *P. brevispora* (PB) dan *B. subtilis* (BS)
[c] kultur campuran *P. brevispora* (PB) dan *R. pickettii* (RP)

Dari Tabel **4.3** diatas dibuat grafik seperti pada Gambar **4.13** dibawah ini. Grafik ini menunjukkan perbandingan jumlah degradasi DDT antara jamur, bakteri dan campuran kultur keduanya.

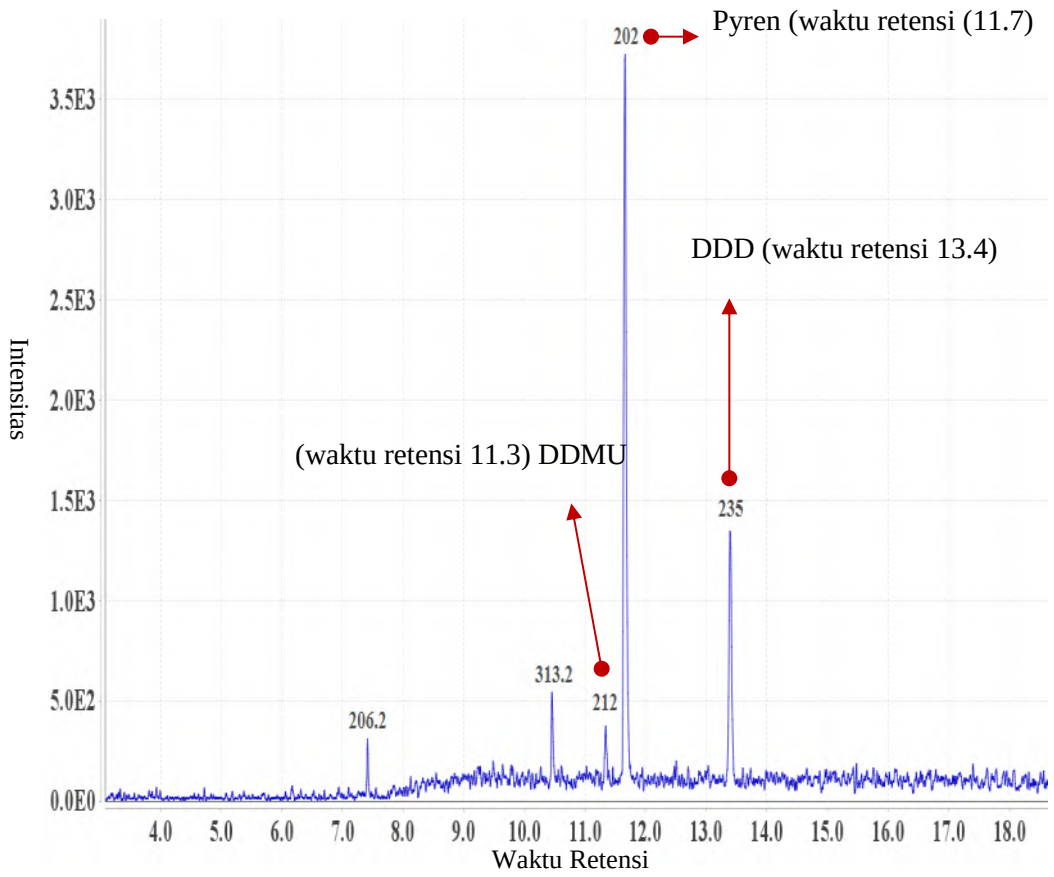


Gambar 4.13 Jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri selama 7 hari masa inkubasi

Grafik pada Gambar 4.13 menunjukkan bahwa dengan penambahan bakteri ke dalam kultur *P. brevispora* memiliki pengaruh yang bervariasi terhadap jumlah degradasi DDT. Pada penambahan bakteri *P. aeruginosa* terjadi peningkatan jumlah degradasi DDT pada konsentrasi 5, 7 dan 10 mL. Data ini diperkuat dengan analisis t-Test (*Two-Sample Assuming Equal Variances*) pada Tabel 4.4. Pada hasil perhitungan (lihat lampiran 5) diketahui bahwa $t_{hitung} > t_{Tabel}$, H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang berarti bahwa ada pengaruh penambahan *P. aeruginosa* pada biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*. Peningkatan jumlah degradasi DDT ini terjadi karena *P. aeruginosa* mampu memproduksi biosurfaktan berupa rhamnolipid (Ron dan Rosenberg, 2001). Biosurfaktan sebagai metabolit sekunder bakteri diproduksi pada fase stasioner pertumbuhan bakteri, fase dimana bakteri kehabisan nutrisi dalam kultur (Pelczar, 1986). Oleh sebab itu semakin besar konsentrasi bakteri yang ditambahkan, maka semakin cepat pula produksi biosurfaktan. Dengan adanya rhamnolipid yang berperan sebagai agen pengemulsi, kadar DDT yang terlarut meningkat dalam kultur, sehingga *P. brevispora* lebih mudah mendegradasi DDT. Pada konsentrasi bakteri 1 dan 3 mL tidak mengalami peningkatan jumlah degradasi DDT, hal ini kemungkinan disebabkan oleh masih terdapat banyak nutrisi dalam kultur, sehingga memerlukan waktu lebih lama untuk menghasilkan rhamnolipid.

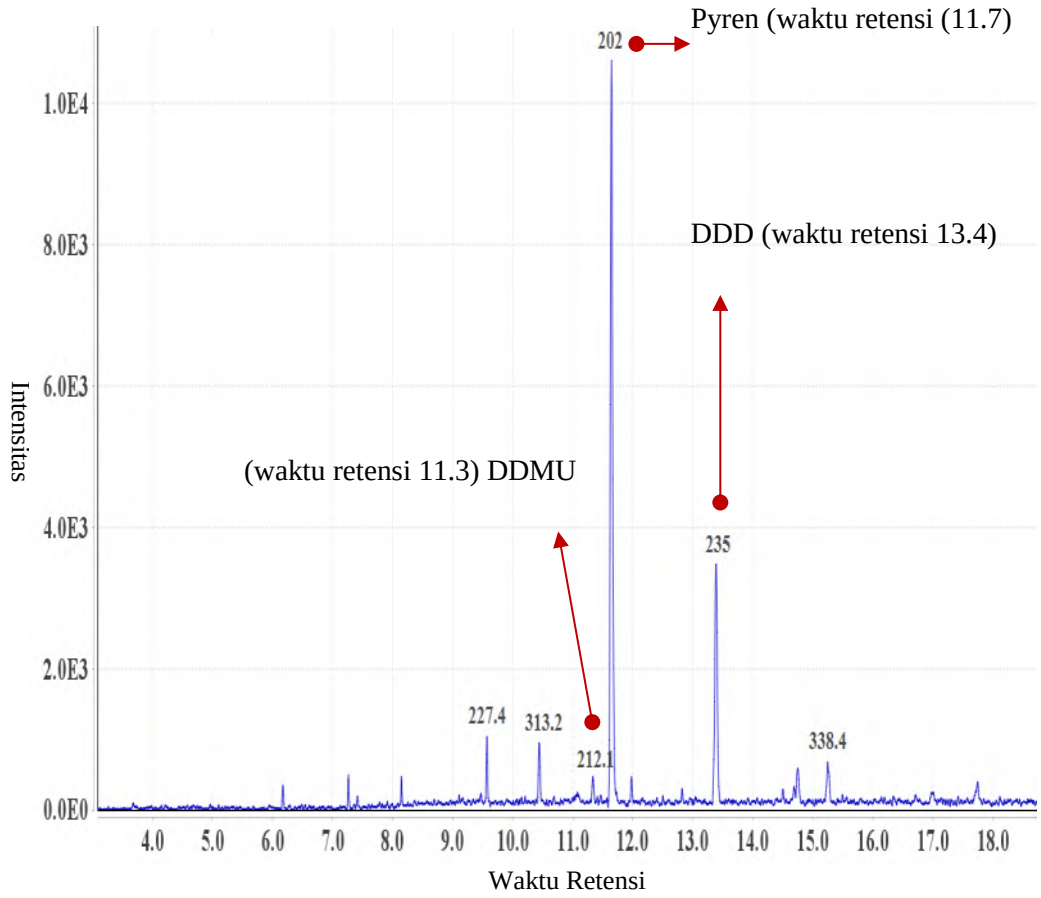
Pada penambahan *B. subtilis* dan *R. pickettii* cenderung menurunkan jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora*. Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa jumlah degradasi DDT pada penambahan konsentrasi 1, 3 dan 5 mL lebih kecil dibandingkan degradasi DDT oleh *P. brevispora*. Pada penambahan konsentrasi 7 mL terjadi peningkatan degradasi DDT, akan tetapi pada analisis uji t menunjukkan bahwa peningkatan tersebut tidak signifikan (Lampiran 2), dimana $t_{hitung} < t_{Tabel}$, H_0 diterima dan H_1 ditolak. Pada Gambar 4.13 menunjukkan bahwa jumlah degradasi DDT oleh *B. subtilis* lebih tinggi dibandingkan dengan degradasi DDT oleh kultur campuran. Penurunan jumlah degradasi DDT disebabkan oleh *B. subtilis* selain menghasilkan surfaktin yang dapat melarutkan DDT, *B. subtilis* juga menghasilkan metabolit antibiotik dan senyawa volatil

sebagai antijamur (Fiddaman dan Rossall, 1993). Namun pada konsentrasi tinggi *B. subtilis* mampu meningkatkan degradasi DDT.



Gambar 4.14 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. aeruginosa*

Pada Gambar **4.14** menunjukkan bahwa metabolit produk yang terdeteksi dari hasil degradasi DDT oleh bakteri *P. aeruginosa* pada konsentrasi 7 mL adalah DDD dan DDMU. Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan 10 mL kultur bakteri *P. aeruginosa* ditunjukkan pada Gambar **4.15**. Gambar kromatogram ini menunjukkan metabolit produk yang sama dengan degradasi DDT oleh *P. aeruginosa* yaitu DDD dan DDMU. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* memiliki peranan dominan dalam degradasi DDT.



Gambar 4.15 Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan bakteri *P. aeruginosa*

4.5 Jalur degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *P. aeruginosa*

Dalam penelitian ini, metabolik produk dari degradasi DDT pada masing-masing kultur *P. brevispora*, *P. aeruginosa* dan kultur campuran keduanya dapat dilihat pada Tabel 4.6 dibawah ini.

Pada *P. brevispora*, metabolik produk DDT yang terdeteksi meliputi DDE, DDD dan DDMU. Hasil ini menunjukkan bahwa DDT telah mengalami reaksi dehidroklorinasi, hidrogenasi dan deklorinasi. Metabolik produk DDT yang sama telah dilaporkan oleh Sari (2012) dari degradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Trametes versicolor* U97.

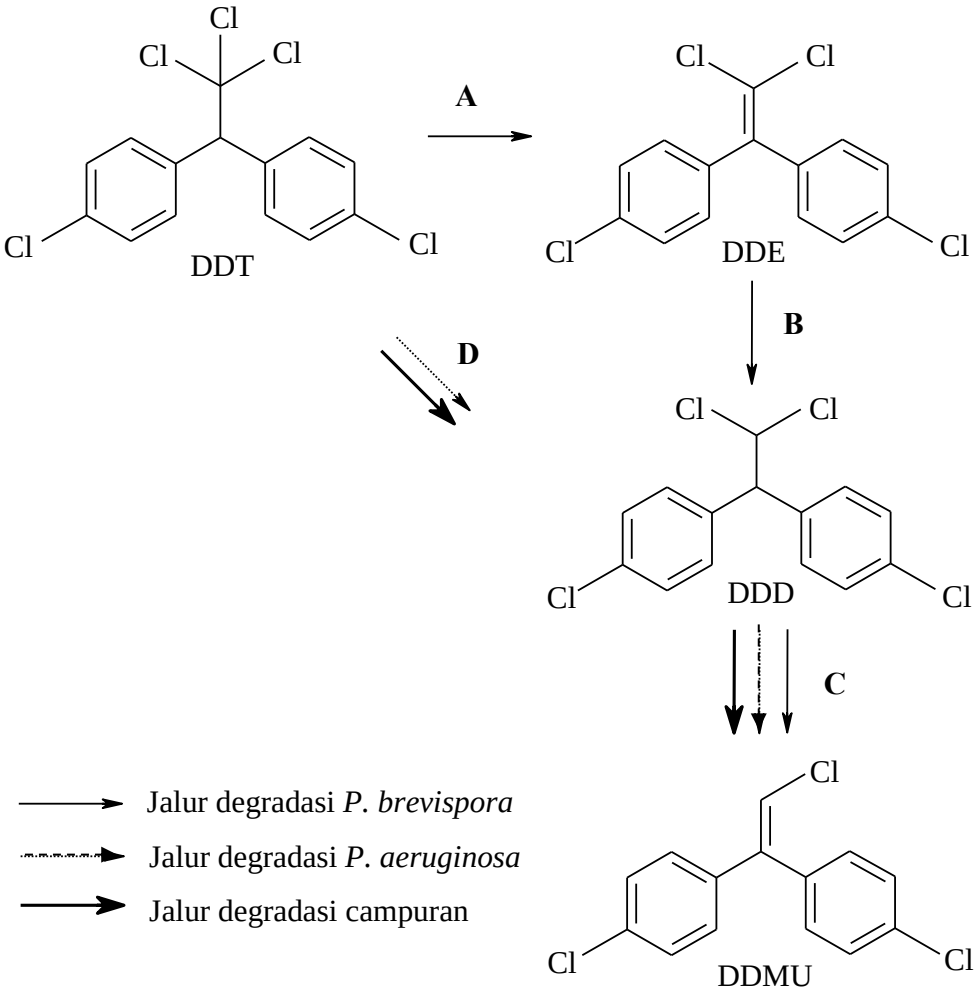
Tabel 4.5 Metabolik produk hasil degradasi DDT oleh masing-masing kultur

Metabolik produk / Jenis kultur	DDE	DDD	DDMU
P. brevispora	+	+	+
P. aeruginosa	-	+	+
Jamur dan bakteri	-	+	+

+ terdapat metabolik produk yang dimaksud
- tidak terdapat metabolik produk yang dimaksud

Pada *P. aeruginosa* dan kultur campuran, metabolik produk yang terdeteksi sama yaitu DDD dan DDMU. Telah diketahui bahwa beberapa mikroba telah menunjukkan kemampuannya mengkonversi DDT menjadi DDD dalam kultur murni melalui reaksi reduktif deklorinasi, termasuk bakteri *P. aeruginosa* (Sharma dkk., 1987; Aislabie dkk., 1997). Reaksi ini melibatkan substitusi atom klorin alifatik dengan atom hidrogen (Gambar 2.4) (Aislabie dkk., 1997).

Daftar metabolit produk jamur *P. brevispora* pada Tabel 4.5 diatas diketahui memiliki kesamaan dengan metabolit produk pada jalur degradasi DDT yang diusulkan oleh Sari, dkk. (2012) dengan menggunakan enzim yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih *Trametes versicolor* U97 pada proses biodegradasinya, seperti ditunjukkan oleh garis ⟶ yang terlihat pada Gambar 4.16. Jalur metabolit produk untuk bakteri melalui reaksi reduktif deklorinasi dengan mengubah DDT menjadi DDD telah diusulkan oleh Heberer dan Dünnbier (1999) dan Foght, dkk. (2001), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.16 (garis panah ----➤). Dalam jalur degradasi DDT dibawah, proses degradasi DDT terjadi melalui Beberapa reaksi antara lain: (A) reaksi dehidroklorinasi, (B) reaksi hidrogenasi, (C) reaksi deklorinasi, dan (D) reaksi reduktif deklorinasi.

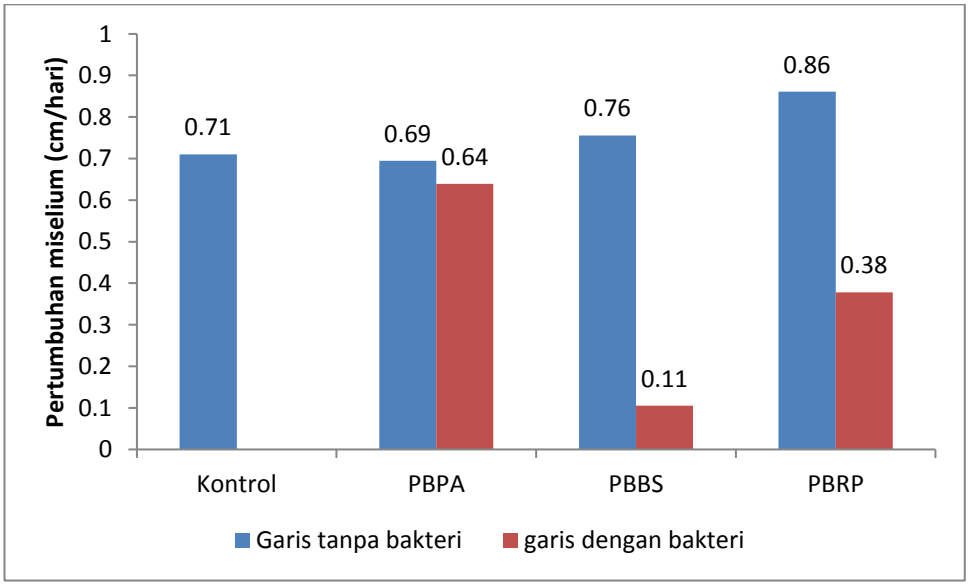


Gambar 4.16 Perkiraan jalur degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *P. aeruginosa*

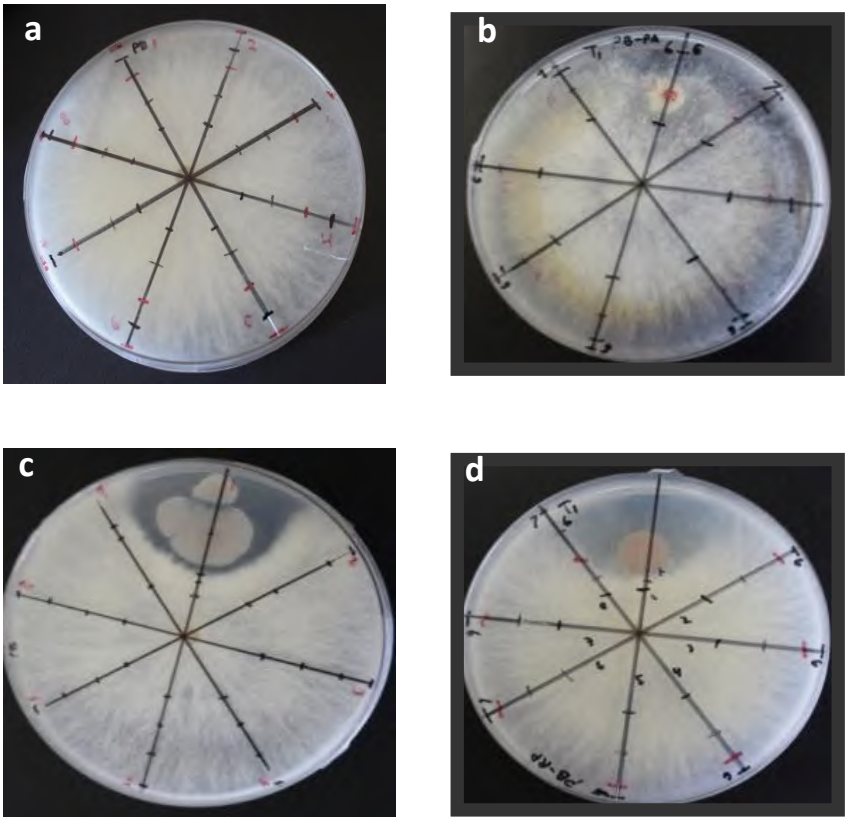
4.6 Konfrontasi Assay Jamur dan Bakteri

Pertumbuhan jamur *P. brevispora* dengan kehadiran bakteri pada media PDA telah diteliti. Jari-jari pertumbuhan miselium jamur diukur setiap hari, sampai seluruh permukaan medium tertutupi miselium jamur. Konfrontasi assay jamur dan bakteri bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri *P. aeruginosa*, *B. subtilis* dan *R. pickettii* terhadap pertumbuhan jamur *P. brevispora*. Dari assay ini dapat diketahui bakteri yang memiliki potensi untuk meningkatkan atau meng-inhibisi pertumbuhan jamur *P. brevispora*, sehingga diketahui hubungan antara jamur dan bakteri dalam mendegradasi DDT.

Grafik pada Gambar 4.17 menunjukkan perbandingan pertumbuhan miselium *P. brevispora* dengan penambahan bakteri dan tanpa bakteri (kontrol). Tingkat pertumbuhan miselium pada jamur tidak konstan. Kecepatan pertumbuhan miselium kontrol, *P. brevispora* tanpa inokulasi bakteri adalah 0,71 cm/hari. Pertumbuhan miselium *P. brevispora* yang searah dengan garis tanpa bakteri *P. aeruginosa* sebesar 0,69 cm/hari dan searah garis dengan bakteri sebesar 0,64 cm/hari, keduanya menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dengan kontrol. *P. brevispora* yang di konfrontasikan dengan bakteri *B. subtilis*, pertumbuhan miselium pada garis tanpa bakteri sebesar 0,76 cm/hari sedangkan pada garis dengan bakteri kecepatan pertumbuhan miselium menurun sampai 0,11 cm/hari. Begitu pula dengan konfrontasikan *P. brevispora* dengan bakteri *R. pickettii*, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara pertumbuhan miselium pada garis tanpa bakteri (0,86 cm/hari) dengan kontrol, serta mengalami penurunan kecepatan pertumbuhan miselium pada garis dengan bakteri sebesar 0,38 cm/hari. Dari grafik pada Gambar 4.17 menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* memberikan efek positif dan memiliki sinergitas pada pertumbuhan jamur *P. brevispora*, jika dibandingkan dengan bakteri *B. subtilis* dan *R. pickettii* yang cenderung meng-inhibisi pertumbuhan miselium *P. brevispora*.



Gambar 0.17 Perbandingan laju pertumbuhan miselium *P. brevispora* dalam konfrontasi assay



Gambar 0.18 Foto dari konfrontasi assay in vitro setelah 7 hari (a) kontrol, (b) *P. brevispora-P. aeruginosa*, (c) *P. brevispora-B. subtilis*, (d) *P.* brevispora *-R. pickettii*

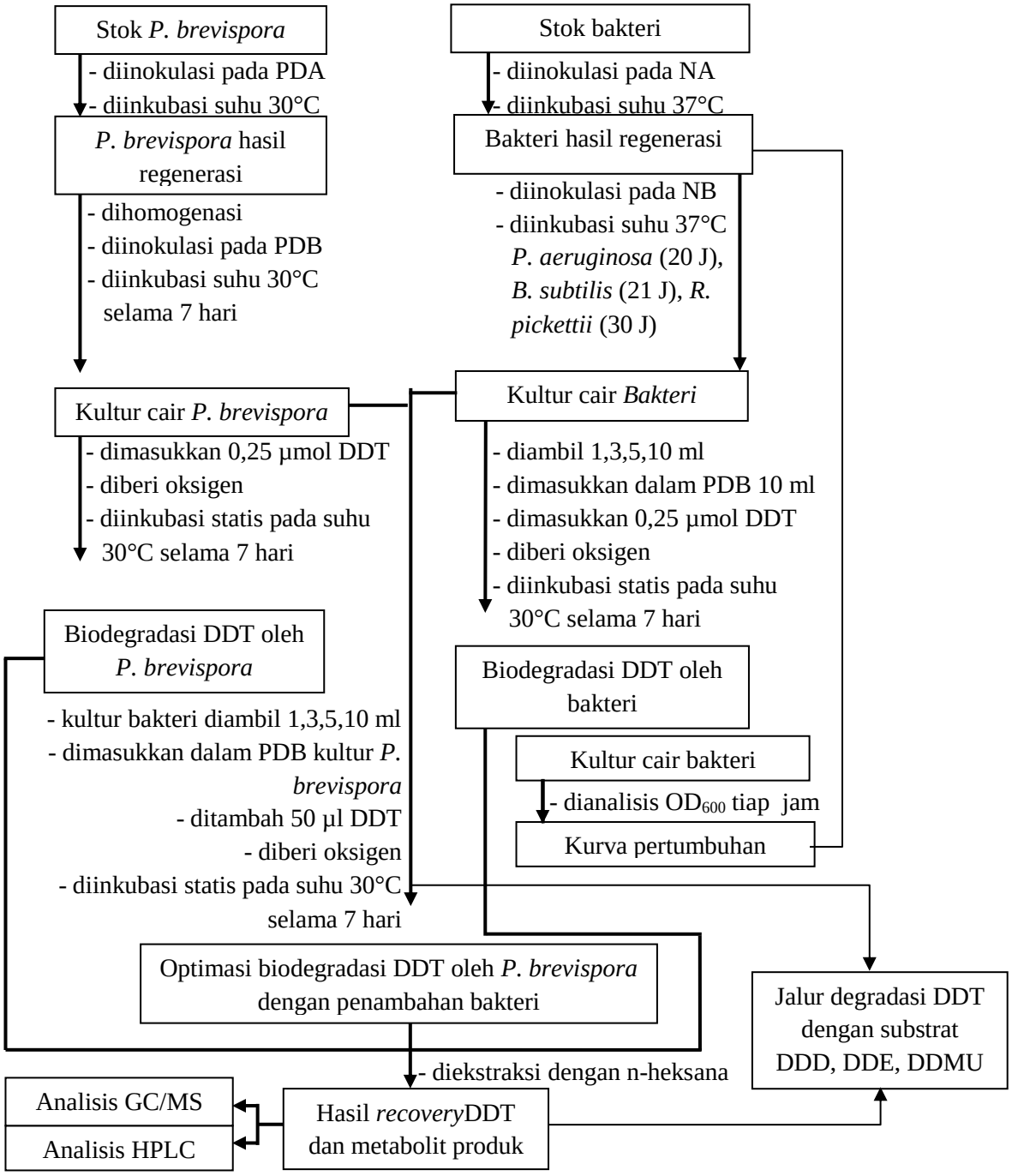
Gambar **4.18** menjelaskan lebih lanjut dari grafik pada Gambar **4.17**, dari Gambar 4.18 terlihat bahwa morfologi miselium jamur berubah ketika di konfrontasikan dengan bakteri. Gambar 4.18a merupakan control atau *P. brevispora* tanpa ada bakteri. Gambar 4.18b merupakan *P. brevispora* yang dikonfrontasikan dengan bakteri *P. aeruginosa*, Gambar ini menunjukkan morfologi dari jamur berubah, ditandai dengan perubahan warna yang melingkar pada ujung miselium jamur menjadi kuning kecoklatan. Namun, pertumbuhan miselium *P. brevispora* dapat tumbuh melewati sel bakteri dengan laju pertumbuhan yang sama dengan control. Gambar 4.18c merupakan *P. brevispora* yang dikonfrontasikan dengan bakteri *B. subtilis*, pada Gambar ini terlihat disekitar *B. subtilis* membentuk lingkaran halo yang menandakan bakteri ini menghambat pertumbuhan miselium jamur. Hal ini disebabkan karena *B. subtilis* menghasilkan metabolit senyawa volatile sebagai antijamur. Serupa dengan *B.*

subtilis, *R. pickettii* pada Gambar 4.18d menunjukkan bahwa terbentuk lingkaran halo disekitar sel bakteri yang menandakan pertumbuhan jamur terhambat. Dari hasil assay ini memperkuat asumsi bahwa *P. aeruginosa* memiliki hubungan sinergitas dengan jamur *P. brevispora*, ditandai dengan meningkatnya jumlah degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan bakteri *P. aeruginosa*.

Halaman ini sengaja di kosongkan

LAMPIRAN

1. Skema kerja



2 Perhitungan

2.1 Pembuatan larutan DDT 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 x 10^{-4} mol . 354,49 g/mol
= 0,0886225 g DDT

2.2 Pembuatan larutan piren 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 x 10^{-4} mol . 202,25 g/mol
= 0,0505625 g Piren

2.3 Uji signifikansi koefisien korelasi (uji t) standar DDT

X_i	Y_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$(Y_i - \bar{Y})$	$(Y_i - \bar{Y})^2$	$(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})$
0	0	-50	2500	-0,202	0,041	10,111
25	0,104	-25	625	-0,098	0,010	2,451
50	0,219	0	0	0,017	0,000	0,000
75	0,301	25	625	0,099	0,010	2,476
100	0,387	50	2500	0,185	0,034	9,228
$\bar{X} = 50$	$\bar{Y} = 0{,}202$		$\sum = 6250$		$\sum = 0{,}095$	$\sum = 24{,}266$

$$r = \frac{\sum[(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})]}{\sqrt{\sum[(X_i - \bar{X})^2 (Y_i - \bar{Y})^2]}}$$

$$= \frac{24{,}266}{\sqrt{(6250)(0{,}095)}}$$

$$= 0{,}998$$

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

$$= \frac{0{,}998\sqrt{5-2}}{\sqrt{1-0{,}998^2}}$$

$$= 25{,}362\ (t_{tabel} = 3{,}182)$$

H_0 diterima, jika $t_{hitung} < t_{Tabel}$
H_0 ditolak, jika $t_{hitung} > t_{Tabel}$
Karena $t_{hitung} > t_{Tabel}$, maka H_0 ditolak

2.4 Uji signifikansi koefisien korelasi (uji t) Biodegradasi DDT oleh jamur dengan penambahan bakteri.

Hasil uji t dibawah ini menggunaka Microsoft exel, analisis t-Test (*Two-Sample Assuming Equal Variances*). Dimana t Stat pada Tabel = t hitung, t critical = t Tabel, P = derajat signifikan.

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

PB-PBPA konsentrasi 1

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	56.726
Variance	14.9129	1.3081
Observations	2	2
Pooled Variance	8.1105	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-8.525	0
P(T<=t) one-tail	0.00674	Ho
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.01348	
t Critical two-tail	4.30265	

PB-PBPA konsentrasi 3

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	27.0403
Variance	14.9129	0.69948
Observations	2	2
Pooled Variance	7.80618	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	1.93556	0
P(T<=t) one-tail	0.09628	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.19256	
t Critical two-tail	4.30265	

PB-PBPA konsentrasi 5

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	7.1157
Variance	14.9129	13.738
Observations	2	2
Pooled Variance	14.3253	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	6.69306	1
P(T<=t) one-tail	0.0108	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.0216	
t Critical two-tail	4.30265	

PB-PBPA konsentrasi 7

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	5.09702
Variance	14.9129	0.26611
Observations	2	2
Pooled Variance	7.5895	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	9.92816	1
P(T<=t) one-tail	0.005	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.00999	
t Critical two-tail	4.30265	

PB-PBPA konsentrasi 10

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	0
Variance	14.9129	0
Observations	2	2
Pooled Variance	7.45644	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	11.8829	1
P(T<=t) one-tail	0.0035	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.00701	
t Critical two-tail	4.30265	

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

PBBS Konsentrasi 1 ml

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	40.97
Variance	14.9129	0.0379
Observations	2	2
Pooled Variance	7.47539	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-3.11671	0
P(T<=t) one-tail	0.04468	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.08936	
t Critical two-tail	4.30265	

PBBS Konsentrasi 3 ml

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	38.8552
Variance	14.9129	0.95498
Observations	2	2
Pooled Variance	7.93393	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-2.27466	0
P(T<=t) one-tail	0.07538	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.15075	
t Critical two-tail	4.30265	

PBBS Konsentrasi 5 ml

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	36.808
Variance	14.9129	0.0713
Observations	2	2
Pooled Variance	7.4921	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-1.59277	0
P(T<=t) one-tail	0.12611	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.25222	
t Critical two-tail	4.30265	

PBBS Konsentrasi 7 ml

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	30.3471
Variance	14.9129	1.72048
Observations	2	2
Pooled Variance	8.31668	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	0.72854	0
P(T<=t) one-tail	0.27102	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.54204	
t Critical two-tail	4.30265	

PBBS Konsentrasi10 ml

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.4481	21.693
Variance	14.9129	0.0001
Observations	2	2
Pooled Variance	7.45651	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	3.93861	1
P(T<=t) one-tail	0.02942	
t Critical one-tail	2.91999	
P(T<=t) two-tail	0.05883	
t Critical two-tail	4.30265	

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

PB-PBRP Konsentrasi 1 mL

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.448142	52.66095
Variance	#DIV/0!	6.45848
Observations	1	0
Pooled Variance	6.4584801	2
Hypothesized Mean Difference	0	
df	1	
t Stat	-6.494055	0
P(T<=t) one-tail	0.048633	
t Critical one-tail	6.313751	
P(T<=t) two-tail	0.097267	
t Critical two-tail	12.70620	

PB-PBRP Konsentrasi 3 mL

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.448142	39.7184
Variance	#DIV/0!	1.2353622
Observations	1	2
Pooled Variance	1.2353622	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	1	
t Stat	-5.3408091	0
P(T<=t) one-tail	0.0589174	
t Critical one-tail	6.3137515	
P(T<=t) two-tail	0.1178348	
t Critical two-tail	12.706205	

PB-PBRP Konsentrasi 5 mL

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.448142	37.34111
Variance	#DIV/0!	0.069697
Observations	1	0
Pooled Variance	0.069697	2
Hypothesized Mean Difference	0	
df	1	
t Stat	-15.13283	0
P(T<=t) one-tail	0.0210039	
t Critical one-tail	6.3137515	
P(T<=t) two-tail	0.0420077	
t Critical two-tail	12.706205	

PB-PBRP Konsentrasi 7 mL

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.448142	30.872547
Variance	#DIV/0!	0.9650804
Observations	1	0
Pooled Variance	0.9650804	2
Hypothesized Mean Difference	0	
df	1	
t Stat	1.309535	0
P(T<=t) one-tail	0.2075913	
t Critical one-tail	6.3137515	
P(T<=t) two-tail	0.4151826	
t Critical two-tail	12.706205	

PB-PBRP Konsentrasi 10 mL

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	32.448142	0
Variance	14.912882	0
Observations	2	2
Pooled Variance	7.456441	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	11.882944	1
P(T<=t) one-tail	0.0035038	
t Critical one-tail	2.9199856	
P(T<=t) two-tail	0.0070076	
t Critical two-tail	4.3026527	

2.5 Koefisien Distribusi DDT Diantara n-heksana Dan Aquades

Kelarutan DDT dalam aquades = 2,5 x 10^{-6} g/100 mL

Kelarutan DDT dalam n-heksana = 97 g/100 mL

$$K_D = \frac{\text{kelarutan DDT dalam fasa organik (g/100mL)}}{\text{kelarutan DDT dalam fasa aquos (g/100mL)}}$$

$$= \frac{97\ \text{g/100mL}}{2{,}5 \times 10^{-6}\ \text{g/100mL}}$$

$$= 38{,}8 \times 10^{6}$$

2.6 Contoh Perhitungan Persen *Recovery*

Data analisis sampel kontrol (bakteri 1 mL)

Luas puncak Piren	Luas puncak DDT	Perbandingan luas puncak DDT/piren	*Recovery*
5684,99	2139,81	0,3764	94,10%
5846,27	2153,19	0,3683	92,08%

*Analisis menggunakan HPLC

Persamaan regresi linear kurva standar DDT **y = 0,004 x**

$0{,}3764 = 0{,}004x$

$$x = \frac{0{,}3764}{0{,}004}$$

$x = 94{,}10\%$

dimana:

y : perbandingan luas area puncak DDT/piren

x : persen *recovery*

3 DATA ANALISIS SAMPEL

3.1 Data analisis sampel *P. brevispora*

N	Pyren	DDT	DDT/ pyren	Recovery (%)	Rata-rata	SD	% Degradasi
C1	76994 ,95	29698 ,65	0 ,39	96 ,43	96 ,70	0 ,38	-
C2	74100 ,91	28740 ,36	0 ,39	96 ,96			
T1	17146 ,34	2412 ,75	0 ,14	35 ,18	32 ,45	3 ,86	64,25
T2	12605 ,37	1498 ,4	0 ,12	29 ,72			

3.2 Data analisis sampel screening bakteri

P. brevispora-P.aeruginosa (PB-PA)

Konsentrasi bakteri	n	Pyren	DDT	DDT/ pyren	% recovery	rata-rata	SD	% Degradasi
	C1	76994 ,95	29698 ,65	0 ,39	96 ,43	96 ,70	0 ,38	-
	C2	74100 ,91	28740 ,36	0 ,39	96 ,96			
1	T1	5454 ,49	1255 ,30	0 ,23	57 ,54	56 ,73	1 ,14	39 ,97
	T2	3612 ,05	807 ,91	0 ,22	55 ,92			
3	T1	7158 ,710	757 ,360	0 ,106	26 ,449	27 ,04	0 ,836	69 ,66
	T2	5447 ,190	602 ,060	0 ,111	27 ,632			
5	T1	5713 ,24	222 ,51	0 ,04	9 ,74	7 ,12	3 ,71	89 ,58
	T2	2610 ,18	46 ,93	0 ,02	4 ,49			
7	T1	13901 ,59	303 ,71	0 ,02	5 ,46	5 ,10	0 ,52	91 ,60
	T2	5126 ,53	97 ,04	0 ,02	4 ,73			
10	T1	5649 ,08	0	0	0	0	0	100 ,00
	T2	6743 ,24	0	0	0			

P. brevispora-B.subtilis (PB-BS)

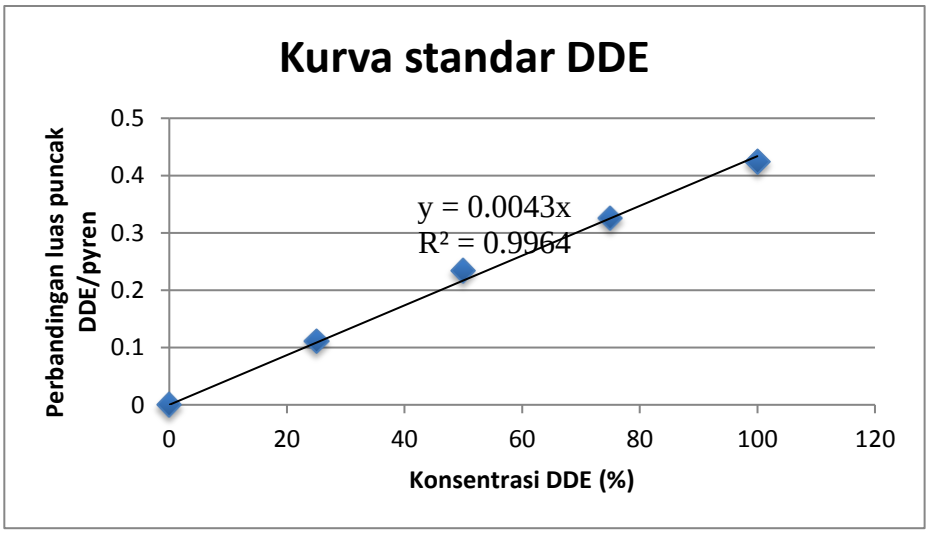
Konsentrasi bakteri	n	Pyren	DDT	DDT/ pyren	% recovery	rata-rata	SD	% Degradasi
	C1	76994 ,95	29698 ,65	0 ,39	96 ,43	96 ,70	0 ,38	
	C2	74100 ,91	28740 ,36	0 ,39	96 ,96			
1	T1	7973 ,42	1302 ,28	0 ,16	40 ,83	40 ,97	0 ,19	55 ,73
	T2	8341 ,96	1371 ,66	0 ,16	41 ,11			
3	T1	9780 ,17	1493 ,01	0 ,15	38 ,16	38 ,86	0 ,98	57 ,84
	T2	11019 ,32	1743 ,09	0 ,16	39 ,55			
5	T1	13997 ,38	2050 ,28	0 ,15	36 ,62	36 ,81	0 ,27	59 ,89
	T2	6737 ,5	997 ,06	0 ,15	37 ,00			
7	T1	3718 ,52	437 ,59	0 ,12	29 ,42	30 ,35	1 ,31	66 ,35
	T2	8746 ,31	1094 ,15	0 ,13	31 ,27			
10	T1	11515 ,81	998 ,86	0 ,09	21 ,68	21 ,69	0 ,01	75 ,00
	T2	9378 ,99	814 ,16	0 ,09	21 ,70			

P. brevispora-R. pickettii (PB-RP)

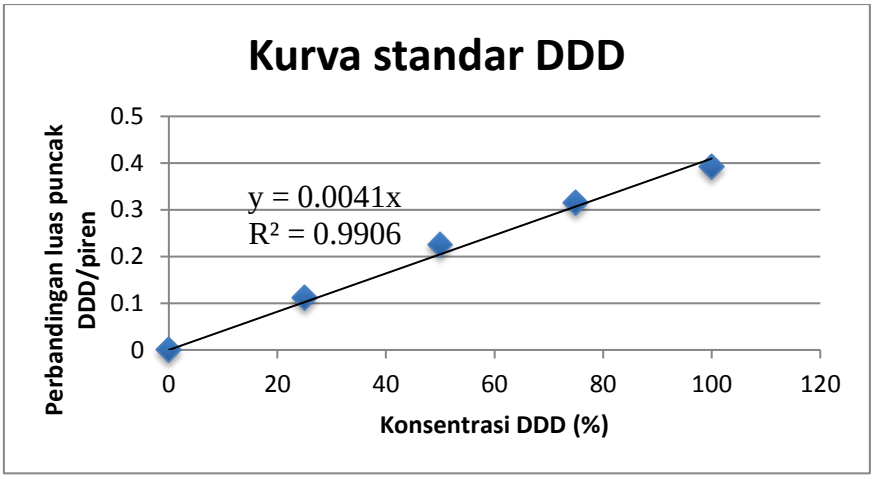
Konsentrasi bakteri	n	Pyren	DDT	DDT/ pyren	% recovery	rata-rata	SD	% Degradasi
	C1	76994 ,95	29698 ,65	0 ,39	96 ,43	96 ,70	0 ,38	
	C2	74100 ,91	28740 ,36	0 ,39	96 ,96			
1	T1	13095 ,33	2852 ,58	0 ,22	54 ,46	52 ,66	2 ,54	44 ,04
	T2	18903 ,96	3846 ,12	0 ,20	50 ,86			
3	T1	15067 ,82	2346 ,51	0 ,16	38 ,93	39 ,72	1 ,11	56 ,98
	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
	T2	10384 ,57	1558 ,84	0 ,15	37 ,53			
7	T1	11824 ,88	1427 ,4	0 ,12	30 ,18	30 ,87	0 ,98	65 ,82
	T2	9335 ,64	1178 ,8	0 ,13	31 ,57			
10	T1	5937 ,43	0	0 ,00	0 ,00	0 ,00	0 ,00	100
	T2	6049 ,88	0	0 ,00	0 ,00			

4 Kurva standar

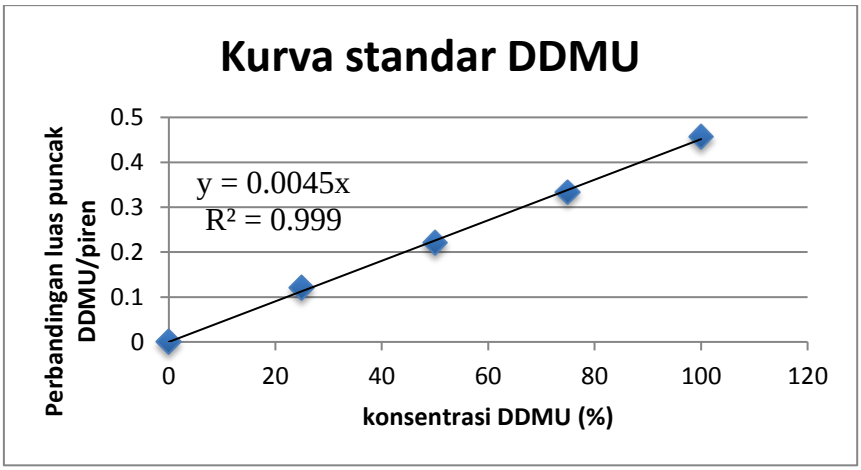
4.1 Kurva standar DDE



4.2 Kurva standar DDD

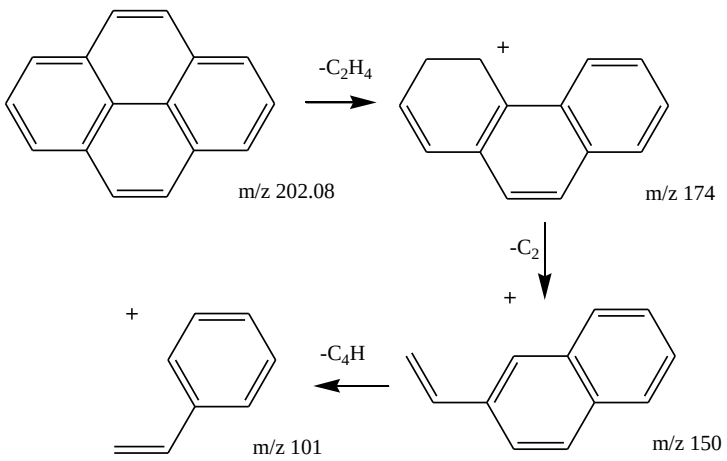


4.3 Kurva standar DDMU

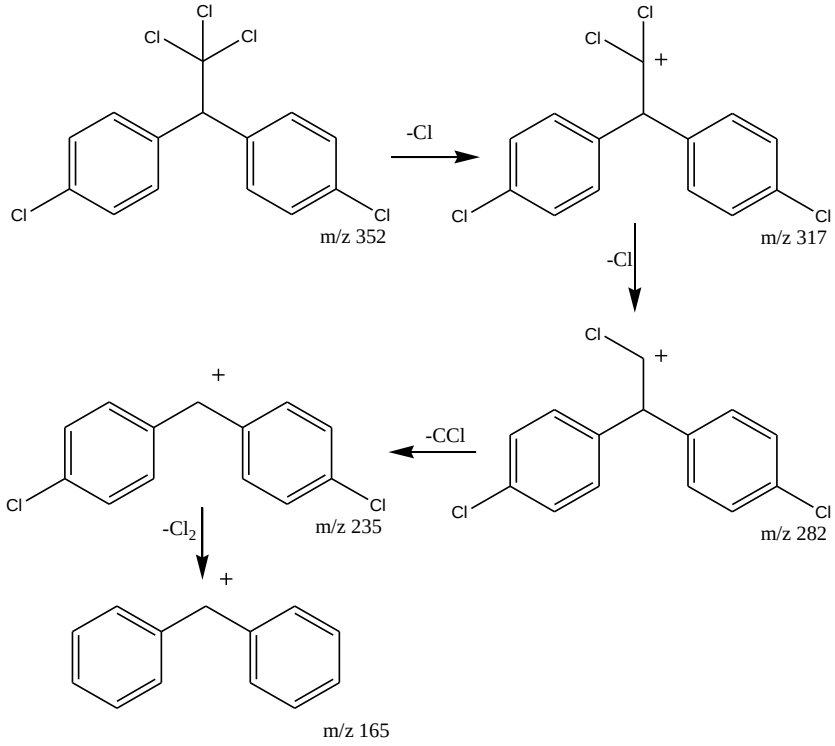


5 FRAGMENTASI MOLEKUL

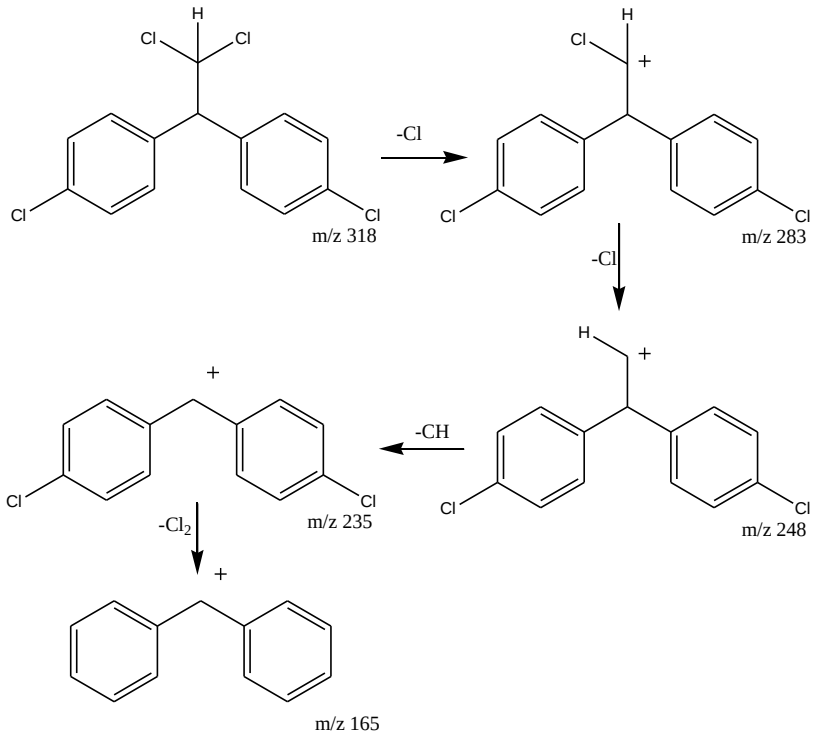
4.1. Ion hasil fragmentasi molekul piren



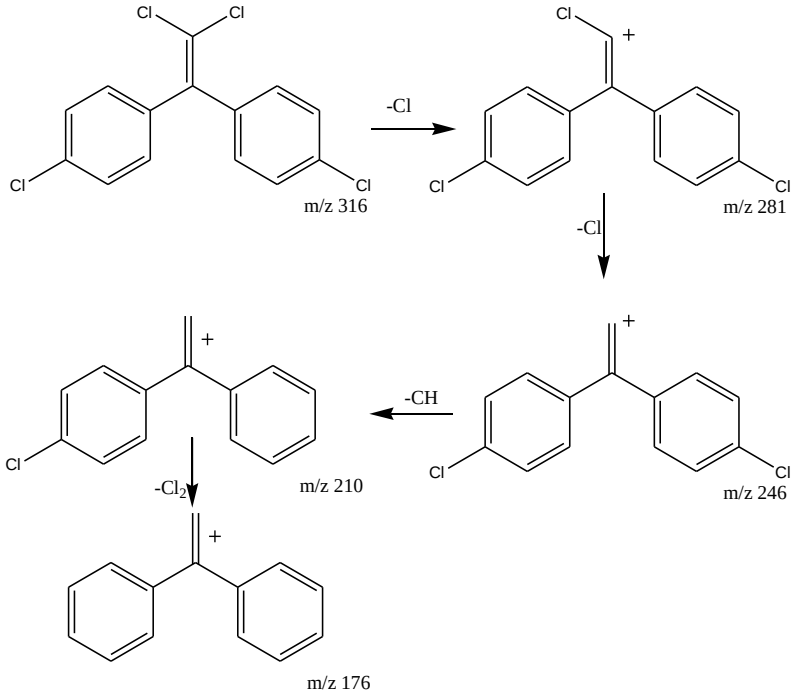
4.2. Ion hasil fragmentasi molekul DDT



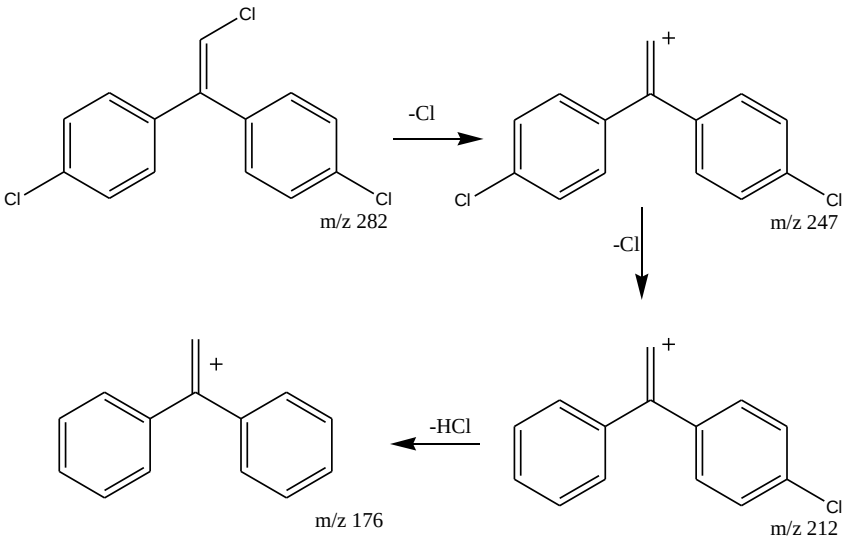
4.3. Ion hasil fragmentasi molekul DDD



4.4. Ion hasil fragmentasi molekul DDE

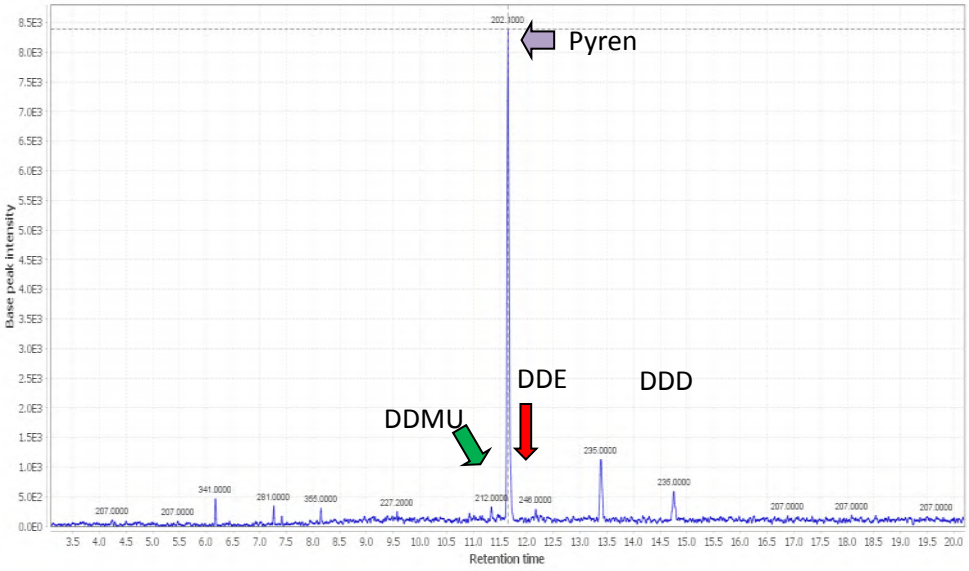


4.5. Ion hasil fragmentasi molekul DDMU



6 KROMATOGRAM GC

Kromatogram GC hasil degradasi DDT oleh *Bacillus subtilis*



BIODATA PENULIS

Penulis dilahirkan di Polmas, 15 Desember 1987, merupakan anak kelima dari lima bersaudara. Putra bungsu pasangan bapak Harun Letana dan ibu Hasania. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di SD Negeri 031 Banu-banua, Kabupaten Polewali Mandar, SLTP Negeri 3 Tinambung, Kabupaten Polewali Mandar dan SMA Negeri 1 Layonga, Kabupaten Polewali Mandar. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana di Universitas Negeri Makassar tahun 2010. Penulis menempuh studi master di Institut Teknologi Sepuluh Nopember melalui program Pra S2 3T pada tahun 2013 dan dilanjutkan dengan program BPPDN Calon Dosen Dikti pada tahun 2014. Penulis mengambil bidang minat Biokimia di bawah bimbingan Bapak Adi Setyo Purnomo, MSc., PhD (adi.spurnomo@gmail.com). Penulis dapat dihubungi melalui nomor HP 082336196631 dan email: fajriahharun@gmail.com

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Beradasarkanhasipenelitiandapatdisimpulkanbahwapenambahankulturbakteri*P. aeruginosa*mampumeningkatkanjumlahdegradasi DDT olehjamurpelapukputih*P. brevispora*. Penambahankultur*P. aeruginosa*mampumendegradasi 100% DDT pada konsentrasi 10 mL (1 mL ≈ 1,5 x 10^9cfu/mL kultur*P. aeruginosa*). DDD dan DDMU merupakanmetabolikproduk yang dihasilkanselama proses degradasi DDT oleh*P.brevispora*denganpenambahan 10 mL bakteri*P. aeruginosa*, denganperkiraanreaksipertama pada step biodegradasi DDT adalahreduktifdeklorinasi.

5.2 Saran

Perludilakukanpenelitianlanjutanmengenaijenisenzim yang berperanpentingdalam proses degradasi DDT olehjamurpelapukputih*P.brevispora*denganujienzimatik, yaituenzimligninolitik yang terdiridari lignin peroksidase, manganperoksidase dan lakase, sertapengaruh pH dan jenis media cair yang digunakanuntukmengoptimalkanhasildegradasi DDT.

Halamaninisengajadikosongkan

DAFTAR PUSTAKA

Aislabie, J.M., Richards, N.K.andBoulH.L. (2010), "Microbial degradation of DDT and its residues—A review", *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Vol. 40, No. 2,hal.269-282.

Ashari, K. (2014), *PengaruhPenambahan Pseudomonas aeruginosaTerhadapBiodegradasi DDT olehPleurotusostreatus*, Skripsi, InstitutTeknologiSepuluh November, Surabaya.

Asranuddin, (2014), *EfekPenambahanPolietilenGlikol (PEG) 400 TerhadapSifatFisik dan MekanikPlastikPolihidroksialkanoat (PHA) yang DiproduksidariRalstoniapickettii.*Thesis, InstituteTeknologiSepuluh November.

Baldrian, P. dan Gabriel, J. (2008), "Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotusostreatus*",*FEMS Microbiology letters*.Vol.206, hal.69-74.

Banat, I.M., Makkar, R.S. andCameotra, S.S. (2000), "Potential commercial applications of microbial surfactants", *Applied microbiology and biotechnology*, Vol. 53, No.5,hal.495-508.

Bennet, J.W., Wunch, K.G., Faison, B.D. and Hurst, ChJ, (2002), Use of fungi biodegradation,Manual of environmental Microbiology.

Boonchan, S., Britz, M.L., and Stanley, G.A. (2000), "Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures", *Applied and environmental microbiology*, Vol. 66, No. 3,hal. 1007-1019.

Brock, T.D. and Madigan, M.T. (1991), *Biology of Microorganisms*, 6th edition, Prentice Hall, New York.

Bumpus, J., Focht, D.D., Alexander, M. and Steven, D.A. (1985), "Biodegradation of DDT (1,1,1trikloro-2,2-bis (4-klorofenil) etana) by Phanerochaetechrysosporium", *Journal Chemosphere*, Vol. 19, hal. 8-9.

Cairney, J.W. and Meharg, A.A. (2002), "Interactions between ectomycorrhizal fungi and soil saprotrophs: implications for decomposition of organic matter in soils

and degradation of organic pollutants in the rhizosphere", *Canadian Journal of botany*, Vol. 80, No. 8, hal. 803-809.

Chandrappa, K. and Ninnekar, Z.H. (2004), "Biodegradation of DDT by a *Pseudomonas* species, *Current Microbiology An International Journal*, Vol 48**,** hal.10-13.

Coenye, T., Goris, J., De, V.P., Vandamme, P. and LiPuma, J.J. (2003), "Classification of *Ralstoniapickettii*-like isolates from the environment and clinical samples as *Ralstoniainsidiosa* sp., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 53, No.4, hal. 1075-1080.

Dalvie, MA.(2011), DDT:Health Effects. University of Cape Town, Cape Town, South Africa. Elsevier

Das, K. and Mukherjee, A.K. (2007), "Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-EastIndia", *Bioresource Technol.*, Vol. 98, hal. 1339–1345.

Das, Surajit. (2014), "Microbial Biodegradation and Bioremediation", Vol. 26,hal. 1119–1125

Desai, J.D.and Banat, I.M. (1997), "Microbial production of surfactants and their commercial potential", *Microbiology and molecular Biology reviews*, Vol. 61 No.1,hal. 47-64.

Djarijah, N. M. dan Djarijah, A. S. (2001), *Budidayajamurtiram*.,Kanisius. Yogyakarta.

Foght, J., April, T., Biggar, K. and Aislabie, J. (2001), "Bioremediation of DDT-contaminated soils: a review",*Biorernediation Journal*, Vol.5, No 3,hal.225-246.

Fonseca, M.I., Fariña, J.I., Castrillo, M.L., Rodríguez, M.D., Nuñez, C.E., Villalba, L.L. and Zapata, P.D. (2014), "Biopulping of wood chips with *Phlebiabrevispora* BAFC 633 reduces lignin content and improves pulp quality", .*International Biodeteriorationand Biodegradation*, Vol. 90, hal. 29-35.

Gao, D., Du, L., Yang, J., Wu, W.M. and Liang, H. (2010), "A critical review of the application of white rot fungus to environmental pollution control", *Critical reviews in biotechnology*, Vol. 30, No.1,hal. 70-77.

Gilligan, P.H., Lum, G., Vandamme, P.A.R. and Whittier, S. (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., Washington, DC: ASM, hal729–748

Gouma,S.,Fragoeiro,S., Bastos, A.C. andMagan, N. (2014), "Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies",*Journal of Biodegradationand Bioremediation*,Vol. **13**, hal.301- 323

Graumann, P. (Ed.). (2012). *Bacillus: cellular and molecular biology*. Horizon Scientific Press

Hajšlová, J. and Ýajka, T. (2007), Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS), *Food Toxicants Analysis*, elsivier.

Harvey, D. (2000), Modern Analytical Chemistry. *The McGraw-Hill Companies*, Inc. Columbus, OH.

Hatmananti, Ariani. (2000),Pengenalan*Bacillus* spp. *Oseana*, Volume XXV, Nomor 1.31-41.

Heberer, T. and U.Dünnbier. 1999. DDT metabolite bis(chlorophenyl)acetic acid: the neglected environmentalcontaminant. Environ. Sci. Technol. 33:2346-2351.

Herman, D.C., Artiola, J.F. and Miller, R.M. (1995), "Removal of cadmium, lead, and zinc from soil by a rhamnolipidbiosurfactant", *Environ. Sci. Technol*, Vol. 29, hal. 2280–2285.

Johnson, B.T., Goodman, R.N. and Goldberg, H.S. (1967), "Conversion of DDT to DDD by pathogenic and saprophytic bacteria associated with plants",*Science*, Vol.157,No. 3788,hal. 560-561

Kamei, I., Yoshida, T.,Enami, D., & Meguro, S. (2012), "Coexisting *Curtobacterium* bacterium promotes growth of white-rot fungus *Stereum* sp.",*Current microbiology*, Vol. 64, No. 2,hal.173-178.

Kamei, I. dan Kondo, R. (2009), "Influence of soil properties on the biodegradation of *1,3,6,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin* and fungal treatment of contaminated paddy soil by white rot fungus *Phlebiabrevispora*, *Chemosphere*, Vol. 75, hal.1294–1300.

Kang, S.W.,Kim, Y.B., Shin, J.D. and Kim, E.K. (2010), "Enhanced biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial biosurfactant, sophorolipid", *Appl. Biochem. Biotechno,* Vol.*160*,hal.780–790.

Kirk, K.T.dan Farrell, R. (1987), "Enzymatic "combustion":the microbial degradation lignin, *Rev. Microbiol,* Vol 41**,** hal.465–505

Köhler, A., Jäger, A., Willershausen, H. and Graf, H. (1988), "Extracellular ligninase of *Phanerochaetechrysosporium*Burdsall has no role in the degradation of DDT",*Applied microbiology and biotechnology*, Vol. 29, No. 6, hal.618-620.

Kosaric, N. (1992), "Biosurfactants in industry",*Pure and Applied Chemistry*Vol. 64, No. 11, hal.1731-1737.

Kuwahara, M., Glenn, J.K., Morgan, M.A. and Gold, M.H. (1984), "Separation and characterization of two extracelluar H_2O_2-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaetechrysosporium*", *FEBS letters*, Vol. 169, No.2, hal. 247-250

Lal, R. and Saxena, D.M. (1982), "Accumulation, metabolism, and effects of organochlorineinsecticides on microorganisms", *Microbiological reviews*, Vol. 46, No. 1,hal. 95.

Langlois, B.E., Collins, J.A.and Sides, K.G. (1970), "Some factors affecting degradation of organochlorine pesticides by bacteria",*Journal of dairy science*, Vol. 53, No. 12, hal.1671-1675.

Leontievsky, A.A., Vares, T., Lankinen, P., Shergill, J.K., Pozdnyakova, N.N., Myasoedova, N.M. and Hatakka, A. (1997), "Blue and yellow *laccases* of ligninolytic fungi", *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 156, No. 1,hal 9-14.

Linko, S. (1992), "Production *Phanerochaetechrysosporium*lignin peroxidase", *Biotechnology Advances,* Vol. 10, hal.191-236.

Magnarelli, G., Souza, M.S., and D'Angelo, A.M. (2009), "Heptachlor and o-p′ DDT effects on protein kinase activities associated with human placenta particulate fractions",*Journal of Biochemical and Molecular Toxicology,* Vol. 23, No.3,hal.185-192.

Maier, R.M., and Chávez, G. (2000), "*Pseudomonas aeruginosa*rhamnolipids: biosynthesis and potential applications", *Application Microbiology Biotechnol*, Vol. 54, hal.625–633.

Mayer, M.A. and Staples, R.C. (2002), "Laccase: new functions for an old enzyme", *Phytochemistry,* Vol. 60, hal.551–565.

Mulligan, C.N. (2005), "Environmental applications for biosurfactants", *Environmental pollution*, Vol. 133, No.2, hal.183-198.

Nakasone, K.K., and Eslyn, W.E. (1981), "A new species, *Phlebiabrevispora*, a cause of internal decay in utility poles", *Mycologia*, hal.803-810.

Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G.A., Piotrowska-Seget, Z. and Cameotra, S.S. (2011), "Environmental applications of biosurfactants: recent advances", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 12, No. 1, hal. 633-654.

Patterson, J.A. andRicke, S.C. (2015), "Effect of ethanol and methanol on growth of ruminal bacteria *Selenomonasruminantium* and *Butyrivibriofibrisolvens*", *Journal of Environmental Science and Health*, Part B, Vol. 50, No. 1,hal.62-67.

Pelczar, M.J. and Pelczar, Jr. (1986), Dasar-dasarmikrobiologi. *Jilid* 2: 456.

Perez, J., Munoz-Dorado, J., de la Rubia and Martinez, J. (2002), "Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview", *International Microbiology*, Vol. 5, No. 2,hal. 53-63.

Purnomo, A.S., Kamei, I. and Kondo, R. (2008), "Degradation of *1, 1, 1-trichloro-2, 2-bis (4-chlorophenyl)* ethane (DDT) by brown-rot fungi", *Journal of bioscience and bioengineering*, Vol. 105, No. 6,hal.614-621.

Purnomo, A.S., Mori,T., Kamei, I., Nishii, T. and Kondo, R. (2010), " Application of mushroom waste medium from *Pleurotusostreatus* for bioremediation of DDT-contaminated soil", *International Biodeteriorationand Biodegradation*, Vol. 64, No. 5,hal.397-402.

Ramadhani, N.W. and Oginawati,K.,Residuinsektisidaorganoklorin di persawahan SUB DAS Citarumhulu.

Richana, N., Suryani, A., Makagiansar, H.Y., and Irawadi, T.T. (2000), "Hydrolysis Methods of Strach for culture media of *Bacillus* sp. BMN14 producing biosurfactant*Lipopeptide*", *JurnalMikrobiologi Indonesia*, Vol. 5, No. 2, hal. 29-31.

Ruttimann, C., Schwember, E., Salas, L., Cullen, D. and Vicuña, R. 1992, "Ligninolytic enzymes of the white-rotbasidiomycetes*Phlebiabrevispora* and *Ceriporiopsissubvermispora*",*BiotechnolApplBiochem*, Vol. 16, hal.64–76.

Ryan, M.P., Pembroke, J.T.andAdley, C.C. (2007), "*Ralstoniapickettii* in environmental biotechnology: potential and applications", *Journal of applied microbiology*, Vol. 103, No. 4,hal 754-764.

Salakkam, A. and Webb, C. (2015), "The inhibition effect of methanol, as a component of crude glycerol, on the growth rate of Cupriavidusnecator and other micro-organisms",*Biochemical Engineering Journal*, Vol. 98,hal.84-90.

Sari, A.A., Tachibana, S. and Itoh, K. (2012), "Determination of co-metabolism for 1, 1, 1-trichloro-2, 2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) degradation with enzymes from *Trametesversicolor* U97",*Journal of bioscience and bioengineering*, Vol. 114, No.2, hal.176-181.

Santoyo, F., González, A.E., Terrón, M.C., Ramírez, L.andPisabarro, A.G. (2008), "Quantitative linkage mapping of lignin-degrading enzymatic activities in *Pleurotusostreatus*,*Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 43, No. 2,hal.137-143.

Sharma, S.K., Sadasivam, K.V., and Dave, J.M. (1987), "DDT degradation by bacteria from activated sludge" *Environment international*, Vol. 13, No. 2, hal. 183-190.

Sheehan, D. (1997), Bioremediation protocols. Humana Press.

Sifour, M., Al-Jilawi, M.H. and Aziz, G.M. (2007), " Emulsification properties of biosurfactant produced from *Pseudomonas aeruginosa*RB 28", *Pak. J. Biol. Sci*,Vol.10, hal.1331–1335.

Skoog, D.A. and West, D.M. (1971), Principles of instrumental analysis,*Holt, Rinehart and Winston, Inc.*, New York.

Steffen, K.T. (2003), *Degradation of recalcitrant biopolymers andpolycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetousfungi*, [disertasi]. Helsinki: Division of MicrobiologyDepartment of Applied Chemistry and Microbiology ViikkiBiocenter, University of Helsinki.

Vares, T., Kalsi, M. andHatakka, A. (1995), "Lignin Peroxidases, Manganese Peroxidases, and Other Ligninolytic Enzymes Produced by*Phlebiaradiata* during Solid-State Fermentation of Wheat Straw", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 61, No. 10, hal.3515-3520

Vidali, M. (2001), "Bioremediation: An overview",*Pure and Applied* Chemistry, Vol. 73,hal.1163–1172.

Wang, S., Nomura, N., Nakajima, T. and Uchiyama, H. (2012), "Case study of the relationship between fungi and bacteria associated with high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation",*Journal of bioscience and bioengineering*, Vol. 113, No. 5,hal. 624-630

Webster, J. and Weber, R. (2007),*Introduction to fungi*.Cambridge University Press.

World Health Organization,(1979), *EnvironmentalHealth Criteria 9: DDT and its derivatives*, WHO, Geneva.

Xiao, P., Mori, T., Kamei, I. and Kondo, R. (2011), "A novel metabolic pathway for biodegradation of DDT by the white rot fungi, *Phlebialindtneri* and *Phlebiabrevispora*, *Biodegradation*, Vol. 22, No. 5,hal.859-867.

Yuechun, Z.H.A.O., Xiaoyun, Y.I., Minghua, L.I., Lu, L.I.U. and Weijuan, M.A. (2010), "Biodegradation kinetics of DDT in soil under different environmental conditions by laccase extract from white rot fungi",*Chinese Journal of Chemical Engineering*, Vol. 18, hal. 486 – 492.

Zeng, Y., Li, B., Ma, W., Zhou, K., Fan, H. and Wang, H. (2011), "Discussion on current pollution status andLegislation of environmental hormone in China",*Procedia Environmental Sciences*, Vol. 11, hal.1267-1277.

Halamaninisengajadikosongkan

BIODATA PENULIS

Penulis dilahirkan diPolmas, 15 Desember 1987, merupakananak kelima dari lima bersaudara. Putra bungsu pasangan bapakHarunLetana dan ibu Hasania. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di SD Negeri 031 Banu-banua, KabupatenPolewaliMandar, SLTP Negeri 3 Tinambung, KabupatenPolewaliMandar dan SMA Negeri 1 Layonga, KabupatenPolewaliMandar.Penulismenyelesaikanpendidikansarjana di UniversitasNegeri Makassar tahun 2010.Penulismenempuhstudi master di InstitutTeknologiSepuluhNopembermelalui program Pra S2 3T pada tahun 2013 dan dilanjutkandengan program BPPDN CalonDosenDikti pada tahun 2014. Penulismengambil bidang minat Biokimiadi bawah bimbingan BapakAdi Setyo Purnomo,MSc.,PhD (adi.spurnomo@gmail.com).Penulis dapat dihubungi melalui nomor HP 082336196631 dan email: fajriahharun@gmail.com