1. BIODEGRADATION
2. ALKYL BENZENE SULFONATE

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DICETAK UNTUK UJIAN TAHAP I

DISERTASI

BIODEGRADASI *ALKYLBENZENE SULFONATE* PENDEKATAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK UNTUK PENGOLAHAN LIMBAH

KK
DIS DIK K 10/02
wig
b.

WIGNYANTO

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1997

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DISERTASI

BIODEGRADASI *ALKYLBENZENE SULFONATE* PENDEKATAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK UNTUK PENGOLAHAN LIMBAH

WIGNYANTO
NIM. 0993311481 D

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1997

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BIODEGRADASI *ALKYLBENZENE SULFONATE*
PENDEKATAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK
UNTUK PENGOLAHAN LIMBAH

DISERTASI

DIAJUKAN UNTUK UJIAN TAHAP I PROGRAM DOKTOR

DALAM ILMU KEDOKTERAN

PADA PROGRAM PASCASARJANA UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

oleh :

W i g n y a n t o

NIM. 099311481 D

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Disertasi ini telah disetujui untuk Ujian Tahap I

tanggal

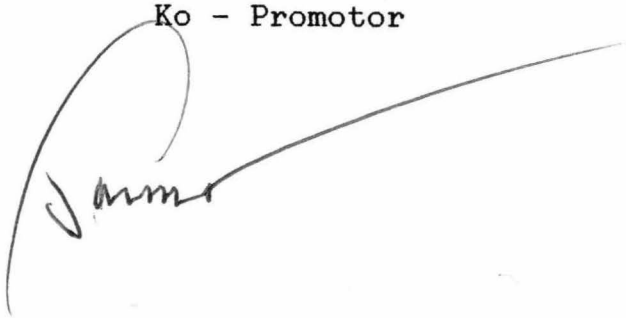
oleh

Promotor

Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK.

NIP. 130 128 125

Ko - Promotor



Prof. H.A. R. Soeparmo. Drs., M.Sc.

NIP. 130 058 170

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

ALKYLBENZENE SULFONATE BIODEGRADATION AN EXPERIMENTAL LABORATORY APPROACH FOR WASTE TREATMENT PROCESSING

A B S T R A C T

Keywords : biodegradation
alkylbenzene sulfonate
laboratory experiment
waste treatment

This research is intended to improve of *alkylbenzene sulfonate* biodegradation in contrast with the previous research.

Four topics of research include 1) improvement of biodegradation efficiency by shaking of degradation medium and resulting non-toxic biodegradation product, 2) discovering new *alkylbenzene sulfonate* biodegradator microorganisms, is non-toxic, non-patogen, having higher efficiency than the previous research, 3) improvement of *alkylbenzene sulfonate* biodegradation by giving temperature and pH suitable for the most efficiency bacterial growth compared to a shaking way 4) improvement of biodegradation efficiency of the most efficient *alkylbenzene sulfonate* microorganism under aeration control and entrapped application compared to temperatur and pH control done under experimental research.

Dependent variable is time of degraration and independent variable are *alkylbenzene sulfonate* concentration, inoculum type, temperature, pH, aeration speed, and entrapping substance. The design was randomized block factorial design and randomized factorial design. The data collected were analized by using analysis of varians of Minitab 9.2 for Window. The difference between treatments were tested by DMRT 1 %. The result of research indicates that the shaking system is able to shorten time of degradation into 0,27 - 0,41 times compared to a shiking way. *Staphylococcus aureus* patogenity cannot loosing, so the bacteria cannot rcomendation. A toxicity test for degradation outcome using *Escherichia coli* is stated to be non-toxic. The new *alkylbenzene sulfonate* biodegradator microorganisms is discovered to be non-patogen, non-toxic referring to *Kurthia zopfii* and *Pseudomonas facilis*. Kurthia zopfii is the most efficient microorganism, the time of biodegradation is about 10,1 days. The temperature of 30^{o}C and pH of 7.2 is the most suitable treatment, giving the time of degradation for 8,67 days. Aeration of 1,50 vvm is the most suitable one with the degradation time about 7,50 days. The application of sodium-alginate entrapping substance in continuous culture is able to shorten more time to be only 4,75 days. This result of research is able to develop for waste treatment.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BIODEGRADASI *ALKYLBENZENE SULFONATE* PENDEKATAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK UNTUK PENGOLAHAN LIMBAH

R I N G K A S A N

Surfaktan *alkylbenzene sulfonate* yang banyak digunakan sebagai bahan aktif deterjen di Indonesia adalah senyawa yang sangat sulit terdegradasi. Jika terbuang kemudian terakumulasi di perairan berpotensi besar sebagai bahan pencemar lingkungan karena menimbulkan gangguan kesehatan pada hewan dan manusia. Pada hewan menyebabkan gangguan respons imun pada marmut (Ritz *et al.*, 1993) dan perubahan morfologik serta ultrasruktural pada organ yang peka rasa pada ikan *Ictalurus* (Zeni *et al.*, 1993). Pada manusia dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan mata, kerusakan pada hati, ginjal dan empedu (Sears dan Stanitski, 1979; Flyvholm, 1993).

Keberadaannya di perairan tetap utuh dalam waktu relatif lama, sehingga perlu dicari mikroorganisme pengurai senyawa tersebut yang tidak patogen, tidak toksik, serta efisien kemampuan biodegradasinya.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi biodegradasi *alkylbenzene sulfonate* dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ekowati *et al.*, (1992).

Peningkatan efisiensi biodegradasi *alkylbenzene sulfonate* dilakukan melalui serangkaian penelitian yang dibagi menjadi 4 topik penelitian, yaitu 1) peningkatan efisiensi biodegradasi dengan pengocokan medium degradasi serta menghasilkan hasil biodegradasi yang tidak toksik; 2) menemukan mikroorganisme perombak *alkylbenzene sulfonate* baru tidak toksik, tidak patogen, efisiensinya lebih tinggi daripada hasil penelitian sebelumnya; 3) peningkatan biodegradasi *alkylbenzene sulfonate* dengan pemberian suhu dan pH yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri daripada pengocokan saja; 4) peningkatan efisiensi biodegradasi *alkylbenzene sulfonate* mikroorganisme yang paling efisien dengan pengaturan aerasi dan pemberian bahan pengamobil dibandingkan dengan pengaturan suhu dan pH. Rangkaian penelitian merupakan penelitian eksperimental.

Pada rangkaian penelitian pertama merupakan pengaruh inokulum meliputi isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*; *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*; serta campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae*) dan kadar *alkylbenzene sulfonate* (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 75,0; 100,0 ppm) terhadap kemampuan biodegradasinya. Diikuti uji hasil patogenitas *Staphylococcus aureus* menggunakan uji perombakan manitol, DNA, dan oksidase katalase.

Rangkaian penelitian yang kedua merupakan usaha eksplorasi mikrorganisme perombak *alkylbenzene sulfonate* baru yang tidak patogen, tidak toksik, dan efisiensi degradasinya lebih tinggi daripada hasil penelitian sebelumnya. Eksplorasi dilakukan dengan mengisolasi mikroorganisme pada medium Agar Nutrien yang mengandung *alkylbenzene sulfonate* 100 ppm. isolat-isolat yang diperoleh diidentifikasi sampai ditemukan nama jenisnya menggunakan kunci determinasi *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* Edisi IX. Pada rangkaian penelitian ini juga dibandingkan antara waktu degradasi yang ditempuh oleh temuan-temuan bakteri perombak *alkylbenzene sulfonate* baru dengan ketiga jenis bakteri temuan Ekowati *et al.*, (1992) yang sudah melalui perlakuan pengocokan.

Rangkaian penelitian yang ketiga berupa penentuan suhu yang sesuai (26, 28,30, 32^{o}C) dan pH yang sesuai (7,0; 7,2; 7,4) untuk pertumbuhan bakteri terhadap waktu degradasi bakteri terpilih dari rangkaian penelitian sebelumnya.

Rangkaian penelitian keempat berupa penentuan pengaruh pemberian aerasi (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ppm) pada jenis bakteri dan sistem yang paling efisien dari rangkaian penelitian ketiga dan terhadap waktu biodegradasinya. Pada rangkaian penelitian keempat ini juga diperbandingkan penggunaan bahan pengamobil bakteri natrium alginat dan karagenen terhadap waktu degradasi *alkylbenzene sulfonate* yang diperoleh.

Keempat tahap rangakaian penelitian tersebut menggunakan Rancangan Acak Kelompok, Rancangan Acak Lengkap yang di-

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

susun secara faktorial. Pengujian dilakukan menggunakan Minitab 9.2 for Window. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA - Universitas Brawijaya, mulai bulan Juli 1996 sampai dengan Januari 1997.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengocokan medium degradasi dapat memperpendek waktu degradasi *alkylbenzene sulfonate* yang berisi inokulum isolat tunggal, ganda, dan campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae*; dan kadar *alkylbenzene sulfonate* (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 75,0; 100,0 ppm) mampu memperpendek waktu degradasi hingga 0,27 - 0,41 kalinya dibanding tanpa pengocokan.

Sifat patogen *Staphylococcus aureus* setelah digunakan untuk proses biodegradasi tidak dapat hilang, sehingga penggunaan *Staphylococcus aureus* sebagai inokulum dalam bentuk isolat bakteri tunggal, ganda, maupun campuran tiga isolat tidak dapat direkomendasikan.

Isolasi dan identifikasi pengurai *alkylbenzene sulfonate* diperoleh temuan bakteri baru *Kurthia zopfii* dan *Pseudomonas facilis*. Kedua isolat juga dapat tumbuh pada medium Agar Nutrien diperkaya dengan *LAS* 100 ppm.

Kurthia zopfii secara tunggal merupakan isolat yang paling efisien mendegradasi *alkylbenzene sulfonate*, dapat merombak *alkylbenzene sulfonate* memerlukan waktu degradasi 10,1 - 39,12 hari. Waktu retensi tertinggi dicapai sebesar 0,6 pada kadar *alkylbenzene sulfonate* 20 ppm.

Uji toksisitas hasil degradasi *alkylbenzene sulfonate* terhadap viabilitas *Escherichia coli* yang ditanam pada medium Agar Nutrien menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak mengalami hambatan pertumbuhan. Bakteri yang ditanam sejumlah 10^1 cfu/ml dapat tumbuh sekitar $8 - 9.10^9$ sel / ml. Jadi toksisitas hasil degradasi telah hilang,

Penentuan suhu dan pH yang sesuai untuk proses degradasi *alkylbenzene sulfonate* oleh *Kurthia zopfii* dicapai pada suhu 30^o dan pH 7,2 dengan waktu degradasi selama 8,67 hari. Waktu degradasi *Kurthia zopfii* dapat diperpendek lagi menjadi 7,50 hari dengan perlakuan aerasi 1,5 vvm, dibandingkan hanya dengan pengaturan suhu dan pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Hasil penelitian dapat diterapkan untuk penglahan limbah dengan menggunakan dasar faktor-faktor proses yang telah terbukti sesuai untuk proses degradasi *alkylbenzene sulfonate*.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

PERNYATAAN TERIMAKASIH

Serangkaian percobaan pendahuluan dan penulisan telah penulis tempuh untuk menyelesaikan usul penelitian disertasi ini. Kesemuanya itu terlaksana berkat karunia, rakhmat, dan perkenan Tuhan Yang Maha Kuasa.

Selesainya penulisan ini sebenarnya bukanlah karya sumbangsih dari berbagai pihak. Karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang setulus-tulusnya kepada barbagai pihak atas bantuan yang telah diberikan. Penulis tidak sanggup menyebut nama-nama pribadi satu demi satu, walaupun demikian penulis merasa perlu menyebutkan beberapa nama secara khusus berkenaan dengan perannya yang khusus pula dalam terwujudnya penulisan ini.

Ibu Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK., selaku promotor, bimbingan di sela-sela kesibukan beliau. Beliau pula selalu memberikan dorongan semenjak masa-masa awal memasuki program doktor sampai saat-saat terakhir penulisan ini. Rasanya bimbingan dan nasihat beliau terlalu besar untuk sekedar memperoleh ucapan terimakasih dari penulis.

Prof. H.A. R. Soeparmo, Drs., M.Sc. yang telah memberikan masukan dan koreksi yang sangat bermanfaat, tanpa itu semua mustahil penulisan ini akan terwujud. Beliau juga telah berkenan memberikan rekomendasi ketika penulis akan memasuki program Pasca Sarjana S-3 Universitas Airlangga Surabaya.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Calon Tim Penguji disertasi yang terdiri dari **Bapak Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H., Ph.D., Bapak Prof. Eddy Pranowo Soedibjo, dr., MPH., Bapak Prof. H. Soeprapto, As., dr., DPH., Ibu Prof. Radyastuti Winarno, Ir., dan Bapak Kuntoro, dr.,MPH., Ph. D.** yang telah memberikan masukan sehingga terjadi kelancaran komunikasi dan penulisan.

Saudara **Drs. Suharjono, M.Si.** Kepala Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang yang telah membantu penyediaan fasilitas untuk isolasi, identifikasi, dan pengujian aktivitas biodegradasi bakteri yang akan digunakan dalam penelitian.

Saudara **Drs. Sutiman Bambang Sumitro, M.Sc., D.Sc.** selaku konsultan yang telah banyak membantu menyumbangkan referensi, pemikiran dan pencarian bahan kimia untuk penelitian ke luar negeri.

Semoga Tuhan Yang Maha Kuasa lagi Maha Kaya berkenan membalas budi baik semua pihak yang telah banyak membantu penyelesaian penulisan ini.

Surabaya, Agustus 1997

Penulis,

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR ISI

Abstract i

Ringkasan ii

Pernyataan Terimakasih..... v

Daftar Isi vii

Daftar Tabel xi

Daftar Gambar xii

Daftar Lampiran..... xiv

Daftar arti lambang, singkatan dan istilah..... xv

1. PENDAHULUAN 1

   1.1 Latar Belakang Masalah..... 1

   1.2 Rumusan Masalah 5

   1.3 Tujuan Penelitian..... 6

      1.3.1 Umum..... 6

      1.3.2 Khusus 6

   1.4 Manfaat Penelitian..... 7

      1.4.1 Terhadap khasanah keilmuan..... 7

      1.4.2 Terhadap aplikasi praktis..... 7

2. TINJAUAN PUSTAKA..... 8

   2.1 Sifat kimia deterjen dan surfaktannya..... 8

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

2.1.1 Macam-macam deterjen berdasarkan surfaktannya 10
2.2 Pembuatan deterjen 11
2.2.1 Pembuatan deterjen alami secara umum.. 11
2.2.2 Pembuatan deterjen sintetis *ABS*..... 12
2.3 Kelainan pada hewan dan manusia 14
2.3.1 Penyakit pada hewan..... 14
2.3.2 Penyakit pada manusia..... 22
2.4 Biodegradasi surfaktan deterjen..... 25
2.4.1 Model pendekatan biodegradasi *LAS*..... 26
2.5 Mekanisme keluar masuknya molekul deterjen dalam sel bakteri..... 29
2.5.1 Membran sel bakteri tempat pengaturan masuk keluarnya zat..... 30
2.5.2 Protein pembawa molekul deterjen..... 32
2.5.3 Transport zat 34
2.5.4 Biodegradasi *ABS* dalam sel bakteri.... 37
2.5.4.1 Faktor-faktor yang berpengaruh selama biodegradasi surfaktan deterjen oleh bakteri..... 38
3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.... 42
3.1 Kerangka Konsep Penelitian 42
3.2 Hipotesis..... 45

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

4. METODE PENELITIAN..... 46
4.1 Rancangan penelitian yang digunakan..... 46
4.2 Populasi, sampel dan besarnya sampel..... 46
4.2.1 Populasi..... 46
4.2.2 Sampel..... 46
4.2.3 Pennggambilan sampel..... 47
4.2.3.1 Besar sampel pada penelitian tahap pertama..... 47
4.2.3.2 Besar sampel pada penelitian tahap kedua..... 48
4.2.3.3 Besar sampel pada penelitian tahap ketiga 48
4.2.3.4 Besar sampel pada penelitian tahap keempat..... 48
4.2.3.5 Besar sampel pada penelitian tahap kelima..... 48
4.3 Variabel penelitian..... 49
4.3.1 Klasifikasi variabel..... 49
4.3.2 Definisi operasional variabel bebas... 52
4.4 Bahan penelitian..... 53
4.4.1 Bahan kimia untuk identifikasi bakteri 53

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

4.4.2 Bahan kimia utnuk penelitian eksperi -
mental..... 55
4.4.2.1 *ABS* ddan *LAS*..... 55
4.4.2.2 Larutan methylene blue..... 55
4.4.2.3 Indikator phheol phtalein..... 55
4.4.2.4 Pembuatan H_2SO_4 6N..... 55
4.4.2.5 Larutan pencuci..... 56
4.4.2.6 Larutan standar *ABS*..... 56
4.5 Alat penelitian 57
4.5.1 Alat yang digunakan untuk isolasi dan
identifikasi mikroorganisme..... 57
4.5.2 Alat untuk mengukur kadar *ABS*..... 57
4.6 Lokasi dan waktu penelitian 58
4.6.1 Lokasi penelitian 58
4.6.2 Waktu penelitian 59
4.7 Prosedur pengumpulan data 59
4.7.1 Prosedur pengumpulan data penelitian
awal isolasi dan identifikasi mikroor-
4.7.1.1 Prosedur pengumpulan data iso
lasi mikroorganisme pengurai
ABS..... 59

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

4.7.1.2 Prosedur pengumpulan data identifikasi mikroorganisme pengurai *ABS*..... 60
4.7.2 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap pertama..... 61
4.7.2.1 Prosedur pengumpulan data persentase degradasi..... 61
4.7.2.2 Prosedur pengumpulan data waktu degradasi..... 63
4.7.2.3 Prosedur pengumpulan data laju pertumbuhan spesifik mikroorganisme..... 63
4.7.3 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kedua..... 64
4.7.4 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap ketiga..... 64
4.7.5 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap keempat..... 64
4.7.6 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kelima..... 64
4.8 Cara analisis data..... 64

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

5. HASIL PENELITIAN 66

5.1 Peningkatan kemampuan bakteri dalam mendegradasi *ABS* dengan perlakuan pengocokan..... 66

5.2 Temuan isolat-isolat baru..... 94

5.2.1 Mikroorganisme - 1..... 94

5.2.2 Mikroorganisme - 2..... 96

5.3 Isolat bakteri tertinggi kemampuan biodegradasinya..... 101

5.4 Peningkatan kemampuan biodegradasi melalui pengaturan suhu dan pH optimal pertumbuhan bakteri *Kurthia zopfii*..... 104

5.5 Peningkatan kemampuan biodegradasi *Kurthia zopfii* melalui pengaturan kecepatan aerasi yang optimal..... 106

6. PEMBAHASAN..... 109

6.1 Peningkatan kemampuan bakteri tunggal, ganda dan campuran tiga isolat dalam mendegradasi *ABS* dengan perlakuan pengocokan..... 111

6.2 Isolat-isolat baru yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen..... 131

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

6.3 Isolat bakteri temuan baru tidak patogen yang berkemampuan mendegradasi *ABS* tertinggi..... 136

6.4 Terjadinya peningkatan kemampuan biodegradasi aakibat pemberian suhu dan pH sesuai bagi pertumbuhan bakteri *Kurthia zopfii*..... 139

7. KESIMPULAN DAN SARAN 144

7.1 Kesimpulan..... 144

7.2 Saran..... 145

DAFTAR PUSTAKA..... 146

LAMPIRAN 151

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pengaruh linear *alkylbenzene sulfonate*, hexachlorocyclohexane dan *linear alkylbenzene sulfonate* dicampur dengan hexachlorocyclohexane terhadap hati marmut setelah 30 hari pelakuan 16

Tabel 2.2 Pengaruh linear *alkylbenzene sulfonate*, hexachlorocyclohexane dan *linear alkylbenzene sulfonate* dicampur dengan hexachlorocyclohexane terhadap gginjal marmut setelah 30 hari perlakuan..... 17

Tabel 4.1 Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri..... 54

Tabel 4.2 Daftar alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme..... 57

Tabel 4.3 Daftar alat yang digunakan untuk untuk mengukur kadar *alkylbenzene sulfonate*..... 57

Tabel 5.1 Rerata persentase degradasi hasil perlakuan tujuh jenis inokulum bakteri (B) dengan sembilan macam kadar *alkylbenzene sulfonate* 67

Tabel 5.2 Rerata waktu degradasi hasil perlakuan tujuh jenis inokulum bakteri (B) dengan sembilan macam kadar *alkylbenzene sulfonate* 67

Tabel 5.3 Prediksi waktu yang diperlukan untuk mendegradasi habis *alkylbenzene sulfonate* berkadar 100 ppm 91

Tabel 5.4 Rerata waktu degradasi hasil perlakuan sembilan jenis inokulum bakteri (B) dengan sembilan macam kadar *alkylbenzene sulfonate* .....

Tabel 5.5 Nilai rerata waktu retensi (μ) berbagai kadar *alkylbenzene sulfonate* yang diperlakukan dengan isolat bakteri *Kurthia zopfii*..... 104

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Tabel 5.6 Nilai rerata waktu degradasi (hari) sampai *Alkylbenzene sulfonate* 20 ppm habis terdegradasi 105

Tabel 5.7 Rerata waktu degradasi sampai habisnya *ABS* (hari) dari perlakuan *Kurthia zopfii* dan kecepatan aerasi pada kondisi kadar *alkylbenzene sulfonate* 20 ppm, suhu 32^{o}C dan pH 7,2..... 106

Tabel 5-8 Rerata waktu degradasi *alkylbenzene sulfonate* kadar 20 ppm, suhu 30^{o}C, pH 7,2, aerasi 1,5 vvm oleh bakteri *Kurthia zopfii* yang telah diamobilkan pada sistem kultur kontinyu..... 107

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Model Jacob dan Monod untuk sistem enzim dengan induktor (inducer)..... 33

Gambar 2.2 Gambaran skematis mekanisme kerja protein pembawa lac menembus membran 37

Gambar 3.1 Diagram alir kerangkan konsep penelitian .. 44

Gambar 4.1 Spectronik - 501..... 62

Gambar 4.2 Fermentor..... 65

Gambar 5.1 Bakteri *Kurthia zopfii*..... 96

Gambar 5.2 Bakteri *Pseudomonas facilis*..... 98

Gambar 5.3 Hasil biakan bakteri menggunakan medium Agar Nutrien diperkaya dengan *ABS* 100 ppm 99

Gambar 5.4 Biakan murni bakteri menggunakan medium Agar Nutrien diperkaya dengan *ABS* 100 ppm... 99

Gambar 5.5 Karakteristik isolat-isolat menggunakan medium Triple Sugar Iron Agar..... 100

Gambar 5.6 Karakteristik isolat-isolat menggunakan medium Cimmon Citrate Agar dalam menggunakan berbagai sumber karbohidrat..... 100

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis ragam persentase degradasi tujuh jenis inokulum terhadap sembilan macam kadar *ABS*..... 151

Lampiran 2. Analisis ragam waktu degradasi tujuh jenis inokulum terhadap sembilan macam kadar *ABS*..... 152

Lampiran 3. Rerata Logarithma jumlah *E.coli* pada pada medium Agar Nutrien dari hasil degra dasi *ABS*..... 153

Lampiran 4. Analisis ragam waktu degradasi *ABS* sem bilan jenis inokulum terhadap sembilan macam kadar *ABS*..... 156

Lampiran 5. Analisis ragam waktu degradasi pengaruh suhu dan pH..... 157

Lampiran 6. Analisis ragam waktu degradasi pengaruh aerasi yang sesuai untuk pertumbuhan..... 158

Lampiran 7. Analisis ragam waktu degradasi pengaruh bahan pengamobil yang sesuai untuk per - tumbuhan..... 159

Lampiran 8. Surat rekomandasi hasil identifikasi bak- teri dari lembaga penanggung jawab pengi- dentifikasi bakteri..... 160

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti
absorbsi	perembesan zar ke dalam sel hidup.
adsorbsi	penempelan pada suatu permukaan.
aerob	ke(hidup)an memerlukan oksigen bebas.
ampifatik	melekul yang mengandung bagian polar (hidrofobik) dan bagian polar (hidrofilik).
anion	ion bermuatan negatip.
anaerob	ke(hidup)an tidak memerlukan oksigen bebas
antagonis	suatu mikroorganisme mematikan mikroorganisme lain dengan cara mengeluarkan zat.
antibodi	sekelompok protein plasma dasar yang membentuk dasar bagi sistem kekebalan pada vertebrata.
antigen	zat, biasanya protein yang injeksinya dalam aliran darah vertebrata merangsang produksi antibodi yang menetralisasikan antigen.
biodegradasi	proses pemotongan rantai atom dalam suatu molekul dengan atom lainnya yang dilakukan oleh aktivitas makhluk hidup.
tahap pertama	sebagian atom dalam molekul rantainya putus.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

tuntas	seluruh atom dalam molekul rantainya telah putus.
digital	angka penunjuk hasil pengukuran dengan nyala lampu yang bergerak secara otomatis.
eksergonik	reaksi yang menghasilkan energi : $K_{kes} > 1$
eksositosis	sistem pengeluaran metabolit ke luar sel.
emulsi	keadaan setimbang bahan hidrofob dan hidrofil dalam larutan.
endergonik	reaksi memerlukan energi : $K_{kes} < 1$.
enzim	biokatalisator berupa protein yang mampu mengkatalisis suatu reaksi dalam suatu cara yang sangat spesifik.
fakultatip anaerob	sel yang dapat hidup tanpa adanya oksigen bebas.
fermentasi	oksidasi biologis yang menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron terakhir.
gen	bagian untai molekul DNA yang menyandi / mengarahkan sintesis molekul RNA tertentu.
identifikasi	pelacakan untuk menentukan nama suatu organisme sampai dengan nama jenisnya.
induktor	zat yang menginduksi/membantu mengawali proses reaksi.

ion	unsur yang muatannya tidak seimbang/kekurangan muatan.
isolasi	proses memisahkan mikroorganisme dari kehidupannya di alam ke dalam suatu medium buatan.
isolat	mikroorganisme hasil isolasi.
inokulasi	proses memasukkan inokulum ke dalam tabung/wadah bersisi medium degradasi.
inokulum	populasi mikroorganisme tertentu yang akan digunakan sebagai pemula untuk melakukan proses biodegradasi.
kadar	perbandingan antara kandungan suatu zat di dalam zat lain.
karsinogen	penyebab kanker
kation	ion bermuatan positip.
koenzim	melekul organik yang diperlukan sebagai pembantu kerja enzim tertentu dalam melakukan aktivitas katalitiknya.
kofaktor	molekul anorganik kecil atau ion yang diperlukan sebagai pembantu kerja enzim tertentu dalam melakukan aktivitasnya.
kompetitif	kedaan bersaing antara dua atau lebih subyek pelaku aktivitas kegiatan.

kromosom	molekul tunggal yang utuh dari DNA berbentuk heliks rangkap.
limbah	buangan bentuk cair yang tercemar deterjen.
metabolisme	rangkaian kegiatan pembongkaran molekul makanan yang menghasilkan enersi dan penyusunan bahan sel.
metabolit	hasil metabolisme.
micelle	agregat koloidal dari molekul atau ion yang menyebabkan konsentrasi llaarutan surfaktan dalam bagian terbesar larutannya menjadi terbatas.
operon	sekelompok gen yang secara metabolik ada hubungannya satu dengan lainnya dan transkripsinya diatur sebagai satu satuan.
organel	struktur yang terkelilingi oleh membran dan mempunyai fungsi-fungsi khusus di dalam eukariotik.
oksidasi	terlepasnya elektron dari suatu reduktan.
logarithma	suatu bilangan dari kepangkatan sepuluh.
parasit	mengambil bahan makanan (terutama bahan organik) dari organisme yang ditumpanginya (inangnya), ukuran pemangsa lebih kecil daripada yang dimangsa.

patogen	penyebab penyakit.
polar	bagian yang menghadap ke molekul suka air
predator	organisme yang memangsa organisme lain, ukuran pemangsa lebih besar daripada yang dimangsa.
prokariot	organisasi uniseluler yang tidak jelas bentuk intinya, tidak ada membran inti, tidak ada organel subseluler, dan hanya mempunyai kromosom tunggal.
regulator	pengatur suau sistem sintesis enzim.
replikasi	ssintesis dua anak DNA yang mempunyai urutan nukleotida serupa dengan yang dipunyai induk DNA.
ribosom	kompleks protein RNA yang berguna sebagai tapak sintesis protein.
sel	satuan terkecil ke(peng)hidupan yang mampu bereprodksi secara bebas.
sitokrom	protein yang mengandung heme dan pemindah/pemancar elektron.
subtrat	senyawa spesifik yang diikat dan mengalami perlakuan oleh tapak aktif suatu enzim.
surfaktan	bahan aktif permukaan.
toksik	merusak sel/jaringan.

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan, arti selengkapnya
ABS	*alkylbenzene sulfonate*
Dati	Daerah tingkat
et al.,	dan kawan-kawan
Jl.	jalan
ppm	part per million, per sejuta
O	oksigen
OH	hidroksida
R	alkil atau metil n kali
C	karbon
cfu	colony forming unit
CO_2	karbon dioksida
DNA	*Deoxyribo nucleic acid*
H	hidrogen
H_2SO_4	asam sulfat
lac	laktosa
LAS	*linear alkylbenzene sulfonate*
M	molaritas
ml	mili liter
N	Normalitas

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

nm	nano meter, 10^{-9} meter
RNA	ribo nucleic acid (asam ribi nukleat)
m-RNA	mesenger RNA
p.a.	pro analysis
PT	Perseroan Terbatas
S	Substrat
sp.	spesies
V	volume
v	volume
vvm	volume/volume/menit

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

DAFTAR LAMBANG

Lambang	Nama lengkap	Arti
α	alfa	letak gugus OH di kanan atau atas dari atom karbon nomer satu
β	beta	letak gugus OH di kiri atau bawah dari atom karbon nomer satu
μ	myu	waktu retensi
ω	omega	proses degradasi dari rantai paling ujung
^{o}C	derajat Celcius	satuan suhu menurut Celcius
%	persen	per seratus atau angka didapan lambang dibagi seratus
K_S	konstanta sebanding konsentrasi substrat	suatu nilai konstan perbandingan kadar enzim dan substrat

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 1
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Deterjen merupakan bahan pembersih yang banyak digunakan masyarakat luas, sebagai bahan pembersih alat-alat rumah tangga, rumah sakit, industri dan sebagainya. Bahan ini dapat menurunkan tegangan permukaan dan mengangkat benda-benda yang melekat pada suatu bahan dan alat, khususnya karena lemak (Grayson *et al.*, 1983; Bourdeau and Treshow, 1987; Sawyer and Mac Carty, 1987 ; Parker, 1993).

Deterjen adalah bahan pengemulsi (*emulsifier*) yang dapat berpenetrasi dan memecah lapisan minyak kemudian mengikat partikel kotoran dan bertindak sebagai "bahan pembasah" (*wetting agent*) sehingga membantu menghanyutkan kotoran, dengan cara menurunkan tegangan permukaan (Parker, 1993).

Deterjen terdiri dari tiga kelompok besar yaitu deterjen anionik, deterjen kationik dan deterjen non-ionik. Deterjen anionik dan kationik dapat mengion dalam air sedangkan non-ionik tidak dapat mengion dalam air (Anonim, 1991).

Mengingat pemakaian deterjen meningkat terus-menerus dari tahun ke tahun, dikhawatirkan akumulasi residu deterjen di lingkungan dalam jumlah besar dapat mengganggu

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

keseimbangan lingkungan.

Pencemaran menjadi sangat membahayakan apabila yang terakumulasi di lingkungan adalah deterjen yang tidak dapat terdegradasi secara mikrobiologis (*non-biodegradable*), apalagi deterjen yang dijual di pasaran Indonesia masih banyak yang menggunakan surfaktan *alkylbenzene sulfonate* (*ABS*) rantai bercabang. Bahan ini merupakan senyawa yang resisten terhadap biodegradasi (Atlas, 1990; Schlegel, 1992; Parker, 1993) karena adanya percabangan dengan gugus metil, struktur menjadi semakin stabil (Morrison dan Boyd, 1992).

Tidak dapat terdegradasinya *ABS* rantai bercabang yang menimbulkan bahaya akibat terakumulasinya di lingkungan, mendorong usaha pencarian mikroorganisme yang dapat mendegradasi bahan tersebut yang resisten terhadap biodegradasi.

Berbagai bahan aktif deterjen telah diteliti mengganggu kesehatan hewan dan manusia antara lain gangguan respons imun pada marmut (Ritz *et al.* 1993) pada manusia dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan mata, kerusakan pada hati dan ginjal (Sears dan Stanitski, 1979 ; Sugai *et al.*, 1990; Mathur et al., 1992), sedangkan Bick (1991) menyatakan bahwa deterjen non-ionik dapat menyebabkan gangguan pada kontraksi otot.

Jenis surfaktan deterjen *ABS* yang telah dapat diketahui dengan baik metabolisme biodegradasinya adalah yang rantainya lurus. Senyawa ini disebut *linear alkylbenzene sulfo-*

nate (*LAS*).

Struktur rantai hidrokarbon dengan rantai lurus ini dapat dioksidasi oleh ensim pengoksidasi yang dimiliki oleh bakteri menggunakan jalur β-oksidasi.

Proses oksidasi yang dimulai dari ujung rantai karbon (β-oksidasi) menghasilkan asam karboksilat (Cain, 1976 *dikutip dari* Anonim 1991). Pada proses oksidasi tersebut alkohol dan aldehid sebagai senyawa antara, karenanya dua senyawa disinfektan tersebut tidak akan terlarut sebagai metabolit dalam sel maupun medium (Bailey, 1989).

Ensim yang aktif melakukan oksidasi biologis adalah *cytochrom* P-450 yang mengandung Fe yang dimiliki oleh bakteri pengurai *LAS* seperti marga-marga *Pseudomonas* sp, *Klebsiella* sp, *Enterobacter* sp, dan *Acinobacter* sp.

Ekowati *et al.* (1992) telah berhasil mengisolasi 29 isolat bakteri pada medium Agar Nutrien dengan *ABS* berkadar 100 ppm sebagai sumber karbon, beberapa di antaranya dari marga-marga *Sarcina* sp, *Enterobacter* sp, *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Klebsiella* sp, dan lain-lain. Peneliti memilih tiga isolat karena berdasarkan penelitian kelanjutan peneliti, isolat tersebut jelas berkemampuan tinggi dalam menguraikan surfaktan *ABS*. Hasil identifikasi ternyata isolat-isolat tersebut adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*, dan *Staphylococcus aureus*.

Dengan terdegradasinya surfaktan *ABS* toksisitas bahan

tersebut menjadi lebih kecil (Kimerle and Swisher, 1977).

Kemampuan degradasi dari isolat-isolat tunggal jelas tetap harus dipertimbangkan dalam variabel penelitian sebab keberadaan isolat-isolat tersebut di laboratorium dan di unit pengolah limbah berbeda dengan kondisi asalnya pada waktu bakteri tersebut diisolasi.

Dari uraian di atas akan dilakukan penelitian tentang kemampuan isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae*; ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae, Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*

Selain itu juga akan dicari isolat lain yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen dalam menguraikan surfaktan *ABS* yang tidak patogen dan tidak toksik yang lebih efektif dan efisien kemampuan biodegradasinya.

Penelitian juga diarahkan untuk mencari kondisi optimal kemampuan biodegradasi bakteri yang telah diketahui tinggi efektivitas dan efisiensinya untuk diterapkan di model pengolah limbah dengan sistem kultur kontinyu, dengan harapan dapat dikembangkan pada skala yang lebih besar.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan Problem.

1. Apakah pengocokan medium degradasi berisi isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*; *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*; campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae* ; mampu meningkatkan efisiensi penguraian surfaktan *ABS* kadar 1-30 dan 75-100 ppm, dibandingkan tanpa pengocokan ?
2. Apakah ada mikroorganisme lain yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen, selain yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi oleh Ekowati *et al.* (1992), mampu mendegradasi *ABS* ?
3. Apakah penguraian surfaktan *ABS*, oleh bakteri yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen lebih efisien daripada tiga jenis mikroorganisme yang ditemukan oleh Ekowati *et al.* (1992) ?
4. Apakah ~~isolat-isolat~~ hasil pengurai *ABS* yang digunakan dalam penelitian tidak toksik ?
5. Apakah mikrorganisme yang digunakan dalam penelitian di laboratorium dapat digunakan juga pada model pengolah limbah ?

1.3 Tujuan Penelitian

Umum

Untuk menentukan kemampuan model pengolah limbah dalam mendegradasi surfaktan *ABS* secara biologis.

Khusus

1. Untuk menentukan kemampuan isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus aureus* dengan *Entehrobacter gergoviae*; *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*; campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae* dan isolat lain selain isolat tunggal, isolat ganda dan campuran tiga isolat di atas yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen dalam menguraikan surfaktan *ABS* kadar 1-30 dan 75-100 ppm, dan patogenitas *Staphylococcus aureus* dapat hilang;
2. Untuk menentukan isolat-isolat bakteri lain selain yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen oleh Ekowati *et al.* (1992) yang tidak patogen dan tidak toksik;
3. Untuk menentukan isolat mikroorganisme yang dapat direkomendasikan untuk digunakan pada model pengolah limbah.

4. ~ ~

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Terhadap Khasanah Keilmuan

Menyajikan data empiris tentang :

(1) besarnya kemampuan isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*; ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*; *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*; campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae* yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen dalam menguraikan surfaktan *ABS* kadar 1-30 dan 75 - 100 ppm;

Selasi yg ditemukan Elsowah et al (1992)

(2) besarnya kemampuan isolat-isolat mikroorganisme lain yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen dalam penguraian surfaktan *ABS* kadar 1 - 30 dan 75 - 100 ppm;

(3) koleksi isolat-isolat yang tidak patogen dan tidak toksik;

(4) isolat-isolat mikroorganisme yang dapat digunakan pada model pengolah limbah.

1.4.2 Terhadap Aplikasi Praktis :

Data empiris yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi penguraian deterjen di lapangan.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat kimia deterjen dan surfaktannya

Deterjen adalah bahan pengemulsi (*emulsifier*) yang dapat berpenetrasi dan memisahkan lapisan minyak atau lemak kemudian bergabung dengan partikel kotoran, bertindak sebagai bahan pembasah (*wetting agent*) untuk membantu menghanyutkannya (Parker, 1993).

Bahan dasar deterjen yang berupa senyawa organik bersifat sebagai zat aktif permukaan dalam medium cair disebut surfaktan (Sawyer and Mac Carty, 1987).

Dalam pengertian umum, deterjen diartikan sebagai bahan pembersih yang terbuat dari campuran surfaktan, bahan pembersih khusus (*specifically cleaning*), bahan pengharum, bahan pemutih atau bahan pengkilat warna (Grayson, 1983).

Sifat-sifat fisik surfaktan antara lain :

(1) *berstruktur ampifatik*, artinya bahwa molekul surfaktan merupakan senyawa bertipe minyak dengan hidrokarbon rantai panjang dengan gugus-gugusnya yang mudah larut dalam air (Noller, 1990);

(2) *teradsorpsi pada permukaan*, artinya bahwa pada keadaan setimbang konsentrasi larutan surfaktan pada fase permukaan lebih besar daripada konsentrasi bagian terbesar larutannya (Grayson, 1983; Egli, 1990);

(3) *lapisan tunggal pada permukaan*, molekul surfaktan dan bentuk ionnya berorientasi sebagai lapisan tunggal pada permukaan (Grayson, 1983);

(4) *berformasi micelle*, artinya agregat koloidal dari molekul atau ion yang menyebabkan konsentrasi larutan surfaktan dalam bagian terbesar larutannya menjadi terbatas, keadaan ini disebut *Critical Micelle Concentration* (*CMC*) (Noller, 1990 ; Ariens, *et al.*, 1986);

(5) *bahan pengemulsi* (*emulsifier*), artinya surfaktan deterjen dapat bertindak sebagai pendispersi minyak dalam air dan sebaliknya pada kondisi stabil (Sax and Lewis, 1987, Parker, 1993).

Gugus hidrofil terdapat di bagian luar misel, sedang gugus hidrofob yang sulit larut dalam air tertimbun di bagian dalam atau dalam lipofil misel. Misel dapat terjadi dalam beberapa bentuk tergantung pada kondisi dan komposisi dari sistem, antara lain bentuk : bola, cakram, batang dan kebalikannya (*reversed*), diameter masing-masing bentuk sekitar 2 nm (Ariens *et al.*, 1985 ; Parker, 1993).

Pada media polar, bagian yang bersifat polar mudah terionisasi, pada keadaan ini misel mengandung kira-kira 30% gugus bersifat ampifil pada keadaan terionisasi yang dapat menghasilkan partikel bermuatan tinggi membentuk awan "counterion" (muatan lawan ion misel) (Parker, 1993). Pada media non polar, seperti benzene, gugus ampifil di

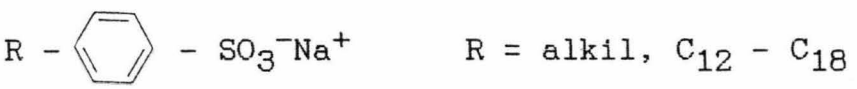
sekeliling tetesan-tetesan air pada suatu sistem dapat membentuk bentuk kebalikan (reversed) *micelle* (Parker, 1993).

Pada kondisi teremulsi tersebut, molekul air saling menarik kuat karena sifat dipolnya. Hasil penarikan timbal balik ini ialah adanya kecenderungan untuk membentuk permukaan sekecil mungkin. Sejumlah besar air berusaha membentuk bola atau tetesan. Bila struktur molekul air pada permukaan tetesan dipecahkan oleh deterjen atau surfaktannya maka tegangan permukaan dan tahanan terhadap perluasan permukaan berkurang. Hal ini terlihat pada mudahnya pembentukan busa (Ariens *et al.*, 1985).

2.1.1 Macam-macam deterjen

Berdasarkan surfaktannya deterjen dibagi menjadi : deterjen anionik, deterjen kationik, dan deterjen non-ionik.

Deterjen anionik adalah senyawa yang bermuatan negatif, contohnya *ABS*.



Deterjen anionik merupakan bahan yang sifat adsorpsinya terhadap air terbaik daripada golongan yang lain sehingga dapat menembus dengan baik pada bahan-bahan tekstil *wool*, *cotton* dan *silk*.

Deterjen kationik adalah senyawa yang bermuatan positip, contohnya :

$$R \text{ —— } N^{+} (CH_3)_3 \, Cl^{-} \qquad R = \quad C_{16}$$

Deterjen kationik merupakan bahan germisida dan pembersih logam yang mahal harganya.

Deterjen non-ionik adalah senyawa yang tidak bermuatan atau netral, contoh grup-grup etilen oksida.

$$R \text{ —— } (OC_2H_4)_7 \, OH \qquad R = \quad C_{15}$$

Deterjen non-ionik dapat berpenetrasi pada tekstil golongan *polyester*. Di pabrik berguna sebagai "water repelling" yang menghasilkan buih rendah, sehingga baik digunakan untuk pencucian otomatis (Grayson, 1983).

2.2 Pembuatan deterjen

2.2.1 Pembuatan deterjen alami secara umum

Pembuatan deterjen alami dilakukan berdasarkan prinsip penggabungan senyawa polar dengan bagian ujung rantai karbon non-polar. Deterjen anionik dibuat dengan menggunakan bahan polar asam sulfonat (RSO_3^-), kadang-kadang juga digunakan alkil sulfat ($R\text{-}OSO_3^-$), sedang bahan non-polarnya adalah asam-asam lemak alami.

Deterjen kationik dibuat dengan bahan non polar dari kelompok amonium kuarterner ($RN(CH_3)_3^+$) dan deterjen non-ionik dibuat dengan bahan polar senyawa yang kaya gugus hidroksil (OH), sedang bahan non polarnya masing-masing adalah asam lemak alami.

Pada tahun 1962, telah dijual 70 merek deterjen anionik *ABS* dibuat dengan bahan dasar alami yaitu dengan menggabungkan propena yang diperoleh dari pemecahan (*cracking*) hidrokarbon serta benzene yang berasal dari katalisis *petrolium* (Bailey *et al.*, 1989).

2.2.2 Pembuatan deterjen *ABS* sintetis

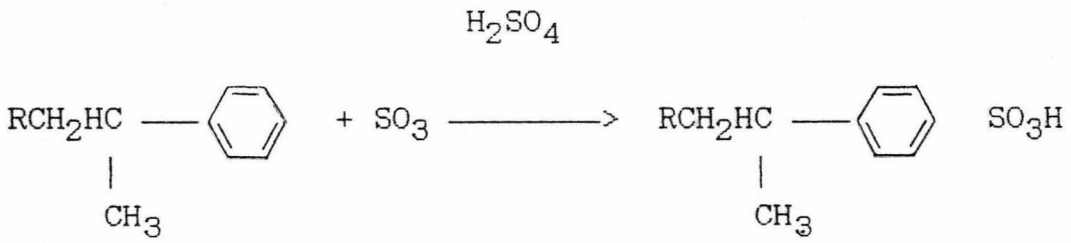
Pembuatan deterjen *ABS* secara garis besar disajikan pada persamaan reaksi kimia di bawah ini (persamaan 1 sampai dengan 3), awalnya dari oligomerisasi dari propena.

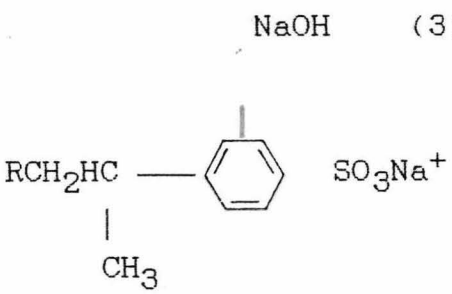
$$CH_3CH{=}CH_2 \xrightarrow[300\ -\ 500^oC]{H_3PO_4} (CH_3)_2CH(CH_2\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}H)_2CH{=}CH{-}CH_3 \quad (1)$$

Hasil oligomerisasi propena kemudian direaksikan dengan benzene :

$$RCH{=}CHCH_3 + C_6H_6 \xrightarrow[\text{atau } H_2SO_4]{AlCl_3 \text{ atau } HF} RCH_2HC(CH_3)C_6H_5 \quad (2)$$

Hasil reaksi ke 2 selanjutnya digabungkan dengan gugus *sulfonate*, kemudian dengan Natrium hidroksida akhirnya terbentuklah *ABS* :





ABS

2.3 Kelainan-kelainan pada hewan dan manusia akibat deterjen

2.3.1 Kelainan pada hewan

2.3.1.1 Kelainan pada marmut akibat *LAS*

Kelainan yang terjadi pada marmut akibat *LAS* dipakai sebagai suatu model karena senyawa ini mirip dengan *ABS*, hanya berbeda percabangan rantai karbonnya saja. *LAS* rantai karbonnya lurus sedang pada *ABS* rantai karbonnya bercabang. Jadi kejadian yang timbul dapat diasumsikan sama.

Mathur *et al.*, (1992) melaporkan tentang penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Toksikologi Industri di Lucnow, India (*Industrial Toxicology Research Centre, Lucnow, India*). Penelitian dilakukan pada 40 ekor marmut dengan berat 250 g yang diperlakukan dengan *LAS* (60 mg/kg dilarutkan dalam akuades), *hexachlorocyclohexane* (*HCH*) dilarutkan dengan aseton, dan *LAS* dicampur dengan *HCH* (60 m/kg ditambah 100 mg/kg).

Marmut dipelihara secara terpisah dan dijaga ketat dari pengaruh bahan-bahan kimia lain selain bahan kimia yang diperlakukan. Hati dan ginjalnya akibat perlakuan dan kontrol diamati setelah 30 hari.

Pengamatan dilakukan pada jaringan organ-organ yang sudah dihomogenkan dalam 0,25 M larutan sukrose (10% w/v) dingin untuk uji-uji biokimia dan larutan 0,15 M KCl untuk uji peroksidase lipida menggunakan *Potter Elvehjem type homogenizer*.

Uji-uji biokimia pada hati dan ginjal meliputi *β-glucoronidase* (*β-Glu*), *gamma glutamyl transpeptidase* (*GGT*), *5-nucleotidase* (*5-ND*), dan *sorbitol dehydrogenase* (*SDH*). Uji lainnya adalah peroksidasi lipida (*lipid peroksidation, LPO*), uji *glutathione*, dan uji histopatologik.

2.3.1.1.1 Kelainan-kelainan pada hati marmut

Hasil penelitian setelah selang waktu 30 hari diperlakukan terhadap hati marmut menunjukkan bahwa *LAS*, *hexachlorohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorohexane* berpengaruh secara bermakna terhadap enzim-enzim pada hati.

Aktivitas *β-glucoronidase* meningkat secara bermakna baik pada perlakuan pemberian *hexachlorocyclohexane* demikian juga dengan *LAS* yang dicampur *hexachlorocyclohexane.*

Aktivitas *gamma glutamyl transpeptidase* juga meningkat setelah perlakuan pemberian *LAS*, *hexachlorocyclohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane.*

Enzim *5-nucleotidase*, aktivitasnya juga meningkat secara bermakna, hal yang serupa juga terjadi pada aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase.* Paparan tersebut disajikan pada Tabel 2.1 di bawah ini,

Tabel 2.1 Pengaruh *LAS*, *hexachlorocyclohexane* (*HCH*), dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane* pada hati marmut setelah 30 hari diperlakukan.

Parameter	Kontrol	*LAS*	*HCH*	*LAS + HCH*
β-Glu (U/mg jaringan)	42,66±2,80	39,50±3,11	53,16±2,95	62,07±3,26
GGT(μm NADH/menit/mg)	11,07±2,17	42,23±4,50	42,56±4,12	42,80±3,86
5 ND (U/mg jaringan	2,08±0,15	2,52±0,12	5,76±0,47	7,05±0,22
SDH(μm NADH/menit/mg)	19,56±1,78	29,00±1,82	47,70±1,92	48,32±3,24
LPO (nmole/jam/g)	26,54±2,54	27,99±1,48	29,61±2,16	50,33±2,58
GSH(μm/g jaringan)	10,45±0,19	9,30±0,65	11,84±0,37	7,11±0,56

Sumber : Mathur, AK *et al*, (1992).

Pada jaringan hati ditemukan bahwa *LAS* menyebabkan adanya perubahan pada globulus lemak yang mencolok, terjadi pembesaran gelembung-gelembung (lobule) dan adanya bentukan sinusoidal yang membesar.

2.3.1.1.2 Kelainan-kelainan pada ginjal marmut

Hasil penelitian setelah selang waktu 30 hari perla kuan, ternyata *LAS*, *hexachlorocyclohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane* berpengaruh secara bermakna terhadap enzim-enzim pada ginjal.

Aktivitas *β-glucuronidase* meningkat secara bermakna dari perlakuan pemberian *LAS*, *hexachlorocyclohexane* dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane*. *Gamma glutamyl trans-peptidase* juga meningkat aktivitasnya setelah perlakuan.

Enzim *5-nucleotidase*, aktivitasnya juga meningkat secara bermakna, hal yang serupa juga terjadi pada aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase*. Paparan tersebut disajikan

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

pada Tabel 2.2 di bawah ini,

Tabel 2.2 Pengaruh *LAS*, *hexachlorocyclohexane* (*HCH*), dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane* terhadap ginjal marmut setelah 30 hari diperlakukan.

Parameter	Kontrol	*LAS*	*HCH*	*LAS + HCH*
β-Glu (U/mg jaringan)	13,42±1,27	17,77±0,73	20,86±0,80	26,16±0,34
GGT(μm NADH/menit/mg)	16,30±1,56	18,80±1,29	23,96±0,86	23,50±0,35
5 ND (U/mg jaringan	4,26±0,54	5,63±0,94	11,27±1,09	17,55±0,34
SDH(μm NADH/menit/mg)	20,33±1,38	32,72±1,68	26,65±3,65	37,47±1,34
LPO (nmole/jam/g)	11,60±0,90	14,25±1,22	20,34±1,47	19,53±1,06
GSH(μm/g jaringan)	17,62±1,10	16,01±1,01	18,92±1,28	17,72±0,91

Sumber : Mathur, AK *et al*, (1992).

Pada jaringan ginjal ditemukan adanya kerusakan-kerusakan akibat *LAS* pada bagian kulit luar ginjal setelah 30 hari pengamatan.

Hexachlorocyclohexane menyebabkan peningkatan terjadinya kerusakan pembuluh darah, termasuk sel-sel darah merah, ada kerusakan sedang pada sel-sel epitel pembuluh darah, dan terjadi akumulasi benda-benda bentuknya tak beraturan (*amorphous*) di dalam lumen pembuluh darah.

LAS dan *hexachlorocyclohexane* menyebabkan perluasan kerusakan bagian epitel pembuluh-pembuluh darah dan jaringan *interstitial*. Pada lokasi tersebut terakumulasi sel-sel mononukleus disekitar kapsul Bowman, sedang di lokasi lain terdapat sejumlah besar sel dan terjadi radang (*inflamation*) secara kronis di dalam jaringan *interstitial*.

2.3.1.1.3 Terjadinya kelainan pada hati dan ginjal marmut

Kelainan-kelainan pada hati dan ginjal marmut yang diperlakukan dengan *LAS*, *hexachlorocyclohexane*, dan kombinasi *LAS* dengan *hexachlorocyclohexane* disebabkan karena pengaruh langsung adanya absorbsi bahan-bahan kimia ke dalam organ sasaran melalui lapisan luarnya.

Temperatur dan kelembaban merupakan penentu terjadinya absorbsi pestisida. Adanya tambahan faktor lain pada deterjen berpengaruh terhadap kecepatan penetrasi bahan tersebut ke dalam kulit organ.

Toksisitas bahan kimia yang diberikan mungkin dipengaruhi oleh kecepatan absorbsi, translokasi, dan metabolisme *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* setelah menjangkau hati dan ginjal.

Perubahan yang terjadi pada enzim *β-glucuronidase* pada lisosom dan enzim *5-nucleotidase* pada membran sitoplasma merupakan tanda terdapatnya kelainan pada jaringan organ sasaran.

Adanya perubahan pada aktivitas enzim *gamma glutamyl transpeptidase*, yang mengkatalisis grup *τ-glutamyl* peptida kepada peptida lain atau reseptor asam amino, menunjukkan adanya indikasi bahwa terjadinya kerusakan sel-sel parenkim hati dan ginjal disebabkan oleh bahan xenobiotik atau metabolitnya.

Bahan xenobiotik juga dapat mengakibatkan terganggunya

aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase* dalam menjalankan proses reaksi oksidasi, reduksi, dan interkonversi *fructose* dan *sorbitol*.

Peningkatan *lipid peroksidation* (*LPO*) pada grup-grup yang diperlakukan dengan *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* menunjukkan bahwa bahan kimia tersebut membentuk radikal bebas yang bersifat toksik terhadap organ sasaran.

Bahan xenobiotik yang diberikan dalam bentuk tunggal me rusak ikatan membran ikatan enzim (*membrane-bound enzymes*), tetapi jika digunakan secara simultan (bersambung) menyebabkan kerusakan jaringan, dan apabila *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* digunakan secara bersamaan menyebabkan kerusakan yang lebih berat pada jaringan hati dan ginjal.

Para peneliti juga membuktikan kebenaran pernyatannya bahwa hasil penelitiannya sangat mendukung terjadinya kerusakan pada hati dan/atau ginjal bagi para pekerja di industri dan/atau pertanian yang dipengaruhi langsung oleh bahan-bahan xenobiotik tersebut (Mathur *et al.*, 1992)

2.3.1.2 Perubahan morfologis dan ultrastruktural pada ikan *Ictalurus*

Zeni *et al.*, (1992) melakukan penelitian terhadap ikan *Ictalurus* sp yang diperoleh di pasaran panjang 15 - 18 cm. Ikan dimasukkan ke dalam akuarium berisi air minum (*tap water*) ditambah ~~*ABS*~~ LAS dengan konsentrasi 3 ppm, kemudian diamati perubahan morfologis dan ultrastruktur organ menyeru

pai kuncup yang peka rasa (*barbel taste buds*) setelah 3, 6, 9, 12 dan 15 hari.

Pada mulanya ikan dikondisikan pada suhu 18-21^{O}C selama 15 hari pada air minum (*tap water*) yang telah dihilangkan kandungan khlornya. Makanan dalam bentuk pelet tetap diberikan setiap hari. Sebagai kontrol digunakan *LAS* bebas pengaruh air minum dengan kadar sama. Air yang digunakan untuk akuarium diganti setiap 24 jam dan kadar *LAS* dipertahankan konstan.

Organ yang diteliti maupun kontrol dianastesi menggunakan *ethyl-m-aminobenzoate* MS-222 SIGMA kemudian dipotong-potong menjadi fragmen kecil-kecil. Selanjutnya difiksasi glutaraldehid 2,5 % dalam bufer fosfat 0,1 M, pH diatur pada 7,4 dan dicuci dengan bufer.

Dicuci lagi menggunakan *osmium tetroxide* dengan bufer yang sama. Setelah dikeringkan dengan campuran alkohol dan propilen oksida fragmen-fragmen ditanam di dalam araldite.

Hasil irisan agak tipis menggunakan mikrotom-ultra kemudian diwarnai dengan toulidin biru (*toulidine blue*), hasilnya diamati dengan mikroskop.

Ikan *Ictalurus* sp yang telah dipelihara pada air minum yang mengandung *LAS* 3 ppm diamati morfologi kulit organ perasa sensitifnya.

Fakta menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke 3 secara umum masih serupa dengan kontrol, jadi belum terjadi

perubahan bagian-bagian badan yang berarti, namun aktivitas kehidupan *light cells* dan *dark cells* mulai terhenti.

Pada hari ke 6 sudah tampak adanya kerusakan-kerusakan yakni adanya pembesaran pembuluh-pembuluh darah yang berarti, yaitu menjadi stasis.

Setelah 9-12 hari dipelihara dalam air minum yang mengandung lapisan *LAS* 3 ppm telah terjadi kerusakan lapisan epidermis yang bersifat germinatif dan tampak ada bekas pembesaran pembuluh darah. Dari 500 organ yang diamati terdapat 30% yang telah rusak.

Pada hari ke 15 sudah terjadi kerusakan 32 %, epidermis menjadi lebih tipis, dan morfologi organ perasa sensitif menjadi sangat sulit diamati.

2.3.1.2 Terjadinya perubahan morfologis dan ultrastruktur pada ikan *Ictalurus*

Pada hari ke 6 mulai terjadinya respons peradangan (*inflamation*) yang bertipe pelebaran pembuluh darah, stasis pembuluh darah, dan peningkatan sirkulasi limfosit. Hal ini benar-benar disebabkan oleh pengaruh *LAS* yang diperlakukan.

Pada hari ke 9-15 terjadi kerusakan ultrastruktur di bagian puncak dan seluruh epidermis organ sensitif.

Bahan aktif deterjen jelas mempunyai hubungan terhadap penipisan lapisan epitelial.

2.3.1.3 Toksisitas *LAS* pada udang *Pinaeus monodon*

Pengujian efek toksik *LAS* pada larva dan juvenil udang *Penaeus monodon* menunjukkan bahwa nilai LC 50 selama 24 jam pada *the zoea 2nd substage*, hasil perbanyakan fase *mysis 2nd substage*, dan *post larva* berturut-turut sebesar 0,06; 0,10; dan 3,11 ppm. Nilai LC_{50} setelah 48 jam pada ketiga jenis larva adalah pada 0,07; 1,03, dan 4,36 ppm. Terbentuknya *hepatopancreatic glutathione* (*GSH*) pada juvenil larva setelah kadar *LAS* melebihi 1,0 ppm.

Setelah kadar *LAS* melebihi 10,0 ppm aktivitas malat dehidrogenase serum juvenil larva meningkat secara bermakna (Hwang, 1993).

2.3.2 Penyakit pada manusia akibat *LAS*

Pada manusia surfaktan *LAS* dapat menyebabkan gangguan-gangguan sebagai berikut

2.3.2.1 Gangguan pada kulit

2.3.2.1.1 Gangguan akibat bekerja di industri tekstil dan produk-produknya

Ganggaun yang sering terjadi pada manusia adalah terjadinya gejala klinis penyakit yang sebagian besar alergi. Hal ini ternyata sering ditemui adalah timbulnya *intoleran atopik* bagi pekerja pada pabrik *wool* dan serat sintetik, dan alergi dermatitis akibat kontak umumnya disebabkan karena proses "penyelesaian" (finishes) dan "pematian" (dyes) pada

pewarnaan

waktu proses pembuatan bahan tekstil, meskipun terjadinya alergi mungkin tidak hanya disebabkan oleh *LAS* tetapi juga dapat disebabkan oleh *wool* dan serat sintetik.

Bahan "pemati" *Disperse Blue 106* dan *124* secara khusus dapat berpotensi sebagai bahan yang sangat sensitif penyebab *"legins dermatitis"*.

Terjadinya penyakit karena tekstil dapat dicegah antara lain bila kondisi suhu dan kelembaban di sekitar mampu mencegah kerusakan dan tidak ada bahan ·karsinogenik, toksik dan penyebab alergi.

Apabila pada bahan tekstil dan kosmetiks digunakan substansi yang secara potensial menyebabkan alergi maka harus ada peraturan yang jelas kadar pemberiannya (Elsner, 1994).

2.3.2.1.2 Gangguan pada pekerja di industri dan di rumah-tangga

Deterjen yang digunakan sebagai pembersih di industri dan di rumah-tangga menyebabkan iritasi dan alergi pada kulit akibat kontak langsung.

Bahan pembersih (*cleaning agents*) yang digunakan di Jerman pernah didata oleh *the Danish Product Register Data Base (PROBAS)* ternyata terdaftar 2350 jenis bahan pencuci dan pembersih yang mengandung 1250 jenis bahan kimia yang pernah dijual di Jerman pada bulan Pebruari tahun 1992.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Di antara 49 jenis alergi kontak di dalam 16 macam produk bahan pencuci dan pembersih yang terdaftar tersebut. Selanjutnya beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa bahan pencuci ada yang menyebabkan eksim (eczema), yang jumlahnya tidak dilaporkan.

Bahan preserfatif dan bahan aktif permukaan (*surface active agents*) merupakan penyebab utama terjadinya alergi akibat kontak. Bahan preservatif dan juga bahan aktif permukaan *iso thiazolinones*, *formaldehide* dan *diethanolamide* terdaftar sebagai bahan penyebab alergi akibat kontak dengan bahan pembersih pada umumnya, pembersih kulit, pembersih rambut (*"hair shampoos"*), pembersih lantai (*"floor polishes"*) (Flyvholm, 1993).

Pada penelitian yang dilakukan terhadap pekerja di rumah sakit menunjukkan bahwa prevalensi iritasi dermatitis karena kontak dapat mencapai 44 %, alergi dermatitis akibat kontak 17 % dan dermatitis atopik 15 % (Flyvholm,1993).

Pada penelitian lain yang dilakukan terhadap pekerja ppmbersih pakaian lainnya menunjukkan bahwa di antara 1237 pekerja dilaporkan 12 % mengalami gejala kerusakan pada kulit, kemudian setelah beberapa bulan meningkat menjadi 30 %. Pada umumnya gejala kerusakan disebabkan karena kontak langsung dengan bahan pencuci berbentuk basah (Flyvholm, 1993).

Jumlah keseluruhan bahan pembersih yang diteliti oleh

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PROBAS pada bulan Pebruari 1992 mencapai 5500 jenis, setengahnya terbukti menyebabkan alergi akibat kontak (Flyvholm, 1993).

Data dan keterangan tersebut di atas diperoleh dari luar negeri karena di dalam negeri belum ada data terinci mengenai penyakit yang timbul akibat *LAS* dan/atau *ABS*, namun demikian data tersebut dapat digunakan sebagai bahan untuk mengantisipasi tentang akan timbulnya akibat yang serupa di Indonesia apabila tidak ada usaha pencegahan penurunan kadar *ABS* di lingkungan khususnya lingkungan perairan yang dilakukan sejak dini.

2.4 Biodegradasi surfaktan dan deterjen

Biodegradasi adalah terjadinya perubahan senyawa kimia menjadi komponen yang lebih sederhana melalui bantuan mikroorganisme.

Adanya perkembangan berbagai konteks pengertian tentang biodegradasi maka *Standard Method Committee-Subcommittee on Biodegradation*, 1967 menentukan dua batasan tentang biodegradasi.

Biodegradasi tahap pertama (*Primary biodegradation*) adalah perubahan sebagian molekul menjadi komponen lain yang lebih sederhana dan **biodegradasi tuntas** (*Ultimate biodegradation*) yaitu perubahan senyawa secara lengkap sampai terbentuk CO_2, H_2O dan senyawa anorganik lain

(Gledhill, 1974).

Terjadinya biodegradasi tahap pertama pada surfaktan dapat diketahui dari reaksi *ABS* dengan *methylene blue* (*Methylene Blue Active Substances, MBAS*). *Methylene blue* dapat bereaksi dengan surfaktan anionik membentuk garam *methylene blue*-surfaktan anionik. Terjadinya oksidasi grup terminal metil pada rantai alkil menjadi karboksil grup karboksil atau berpindahnya gugus *sulfonate* dari cincin benzene dapat mengeliminasi kekuatan reaksi methylene blue dengan *ABS* (Longwell dan Maniece, 1955 *dalam* Perlman 1974).

Di laboratorium, adanya biodegradasi surfaktan ditandai oleh adanya penurunan nilai absorbansi *methylene blue* perlakuan dibandingkan dengan kontrol, sehingga persentase degradasi dapat ditentukan dengan rumus di bawah ini.

Persentasi degradasi = $(A_k - A_p) \times A_k^{-1} \times 100\ \%$

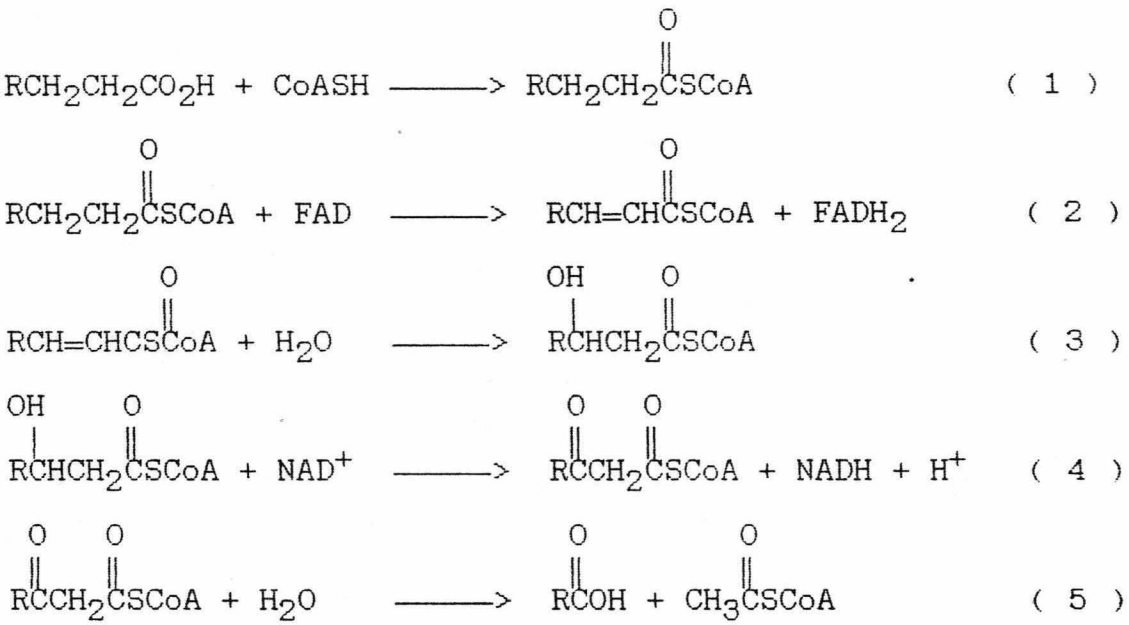
A_k = Absorbansi kontrol

A_p = Absorbansi perlakuan

2.4.1 Model pendekatan biodegradasi *LAS*

Surfaktan *ABS* rantai lurus yang mirip dengan rantai bercabang jelas dapat dibiodegradasi dan mulai dapat diketahui dengan baik metabolisme biodegradasinya, digunakan sebagai model pendekatan karena biodegradasi *ABS* rantai bercabang belum diketahui, sehingga model biodegradasi tersebut dapat digunakan untuk memprediksi metabolisme biodegradasi *ABS* rantai bercabang.

Urut-urutan reaksi oksidasi asam lemak secara garis besar disajikan pada reaksi No. 1 sampai dengan 5. Reaksi-reaksi tersebut dikatalisis oleh ensim,



(1)

(2)

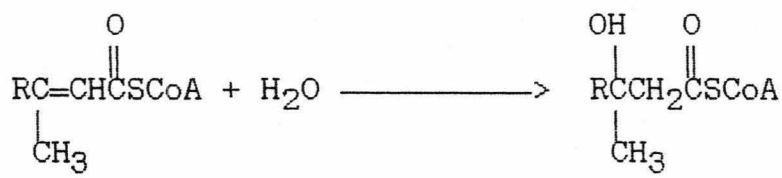
(3)

(4)

(5)

Sumber : Bailey *et al.*, (1989).

Skema tersebut menunjukkan, mengapa *ABS* rantai bercabang sulit sekali terbiodegradasi. Apabila rantai asam teroksidasi akan terbentuk alkohol tersier (persamaan reaksi 6) yang ekivalen dengan persamaan reaksi 1. Alkohol tersier tersebut tidak dapat dioksidasi menjadi keton, karena dihambat oleh sisi-sisi rantai percabangan.



(6)

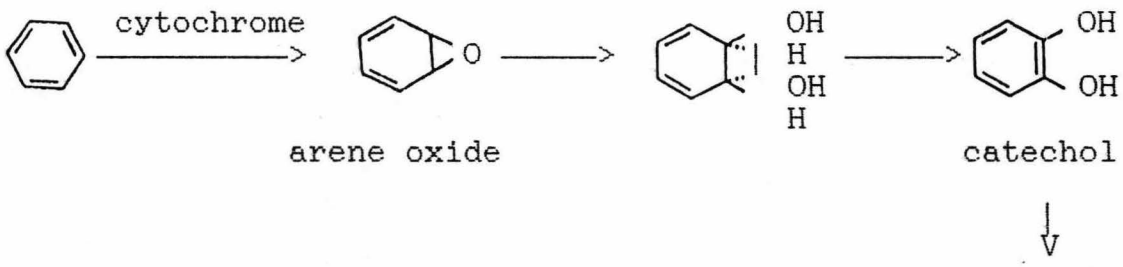
Degradasi deterjen dan minyak bumi pada umumnya dimulai dari ujung rantai hidrokarbon sehingga disebut ω-oksidasi. Oksidasi yang menghasilkan asam karboksilat tersebut dimulai dari rantai karbon β mengikuti jalur β-oksidasi (Cain, 1976 *dalam* Anonim, 1991).

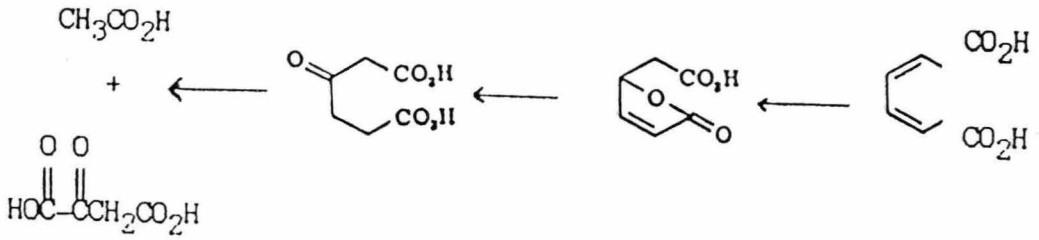
Pada proses tersebut terdapat alkohol dan aldehid sebagai senyawa antara, karenanya dua senyawa disinfektan tersebut tidak akan terlarut sebagai metabolit (Bailey, 1989).

$$RCH_2CH_2CH_3 \longrightarrow RCH_2CH_2CH_2OH \longrightarrow RCH_2CH_2CO_2H \longrightarrow RCO_2H + CH_3CO_2H \qquad (7)$$

Molekul-molekul oksigen sebagai pengoksidasi diaktifkan oleh ensim *cytochrom P-450* yang mengandung Fe.

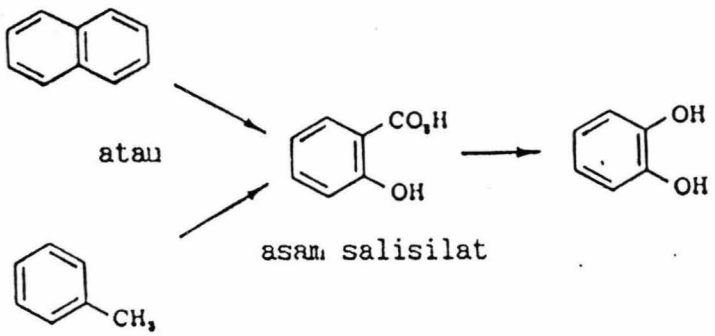
Oksidasi mokrobiologis cincin aromatis deterjen dan minyak juga dikatalisa oleh ensim *cytochrom P-450.* Pada oksidasi cincin aromatik benzene, sebagai senyawa antara adalah arene kemudian dioksidasi lebih lanjut menjadi asam salisilat atau *catechol* dan akhirnya oksaloasetat.





(8)

Residu asam sulfonat yang masih tertinggal merupakan subyek hidrolisis bakteri-bakteri akuatik. Gugus-gugus pada asam sulfonat mudah terdegradasi di alam karena sebagai gugus polar yang mudah larut dalam air (Grayson, 1983 ; Bailey, 1989; Anonim 1991 ; Parker, 1993).



(9)

2.5 Mekanisme masuk-keluarnya molekul deterjen dalam sel bakteri

Molekul deterjen yang telah dapat terabsorbsi pada dinding sel kemudian dengan sistim transport aktif dapat menembus membran sitoplasma.

Di dalam membran sitoplasma molekul-molekul tersebut mengalami oksidasi. Proses oksidasi dan hidrolisa juga dapat dilakukan oleh lisosom, yang kaya dengan ensim-ensim pencerna dan pengoksidasi.

Hasil metabolisme kemudian dikeluarkan dari sel melalui lisosom yang bergerak mendekati plasmolemma. Pada daerah plasmolemma kemudian terbentuk cekungan, akibat reaksi

antara lubang vesikula yang bersatu dengan lubang plasmolemma. Di tempat ini sisa metabolisme dikeluarkan, proses keluarnya zat dari dalam sel disebut *eksositosis* (Davis, *et al.*, 1990).

2.5.1 Membran sel bakteri tempat pengaturan masuk-keluarnya zat

Bakteri memiliki membran sel yang selektip permeabel (*semi permeabel*), artinya hanya dapat ditembus oleh zat tertentu dan tidak tembus oleh zat lain (*impermeabel*).

Zat yang dapat tembus adalah molekul sederhana dan lemak, serta zat yang larut dalam lemak, sedangkan yang tidak tembus adalah molekul kompleks, namun tidak semua molekul sederhana dapat tembus, sebaliknya tidak semua molekul kompleks tidak dapat tembus. Kepermeabelan pada saat tertentu dapat berubah atau ada kekecualian (Finear *et al.*, 1980).

Kekhususan kepermeabelan membran sel ditentukan oleh beberapa faktor, seperti : besar molekul, kelarutan dalam air atau lemak, perbedaan muatan listrik.

Molekul sederhana dan kecil dapat tembus sedangkan molekul besar tidak, karena itu molekul besar harus dirombak terlebih dahulu menjadi molekul kecil, sehingga permeabel bagi membran sel. Kerja membran semacam, juga terjadi pada membran khloropas (Schlegel, 1992).

Membran biologik pada umumnya mengandung 40% lipida selain itu membran mengandung berbagai jenis protein antara

lain : protein struktural untuk membantu mempertahankan stabilitas membran, sebagai ensim yang berfungsi katalis dalam reaksi-reaksi yang berhubungan dengan fungsi membran, protein pengangkut yang berfungsi sebagai perantara dalam pemindahan material menembus penghalang membran (Brock, 1991).

Di dalam sistem cair, lipida polar membran secara spontan terdispersi membentuk *micelle*, dengan ekor hidrokarbon yang hidrofobik lipida tersembunyi dari lingkungan cair sedangkan kepala hidrofilik yang bermuatan listrik terbuka pada permukaan, bersinggungan langsung dengan medium cair. Misel tersebut dapat mengandung ribuan molekul lipida yang membentuk suatu lapisan dengan ketebalan satu molekul yaitu : lapisan tunggal (Schlegel, 1992).

Lipida polar lapis tunggal bila bertemu dengan jenis yang sama, secara spontan dapat membentuk lapisan ganda yang amat tipis yang memisahkan dua kompartemen cair (Atlas, 1990).

Ekor hidrokarbon molekul lipida dapat memanjang ke bagian dalam dari permukaan untuk membentuk suatu inti hidrokarbon yang di bagian dalam secara berkesinambungan, sedangkan kepala hidrofilik menghadap keluar, memanjang ke fase cair (Schlegel, 1992).

Lapisan ganda fosfo-lipida kira-kira 6 sampai dengan 7 nm, tergantung sifat alamiah asam lemak pada lipida. Molekul ini tidak kaku, berbentuk "cair" dan amat lentur (fleksibel) (Davis, *et al.*, 1990).

2.5.2 Protein pembawa molekul deterjen

Beberapa penelitian yang dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida* dan *Proteus mirabilis* menunjukkan adanya bukti yang kuat bahwa molekul surfaktan deterjen termasuk *ABS* dapat masuk ke dalam sel-sel bakteri di atas dengan bantuan *protein pembawa laktosa* (lactose carrier protein) disebut juga lactose permease atau "M-Protein" yang terdapat di dalam membran sel bakteri (Overath dan Wright, 1980 ; Kaback *et al.*, 1983).

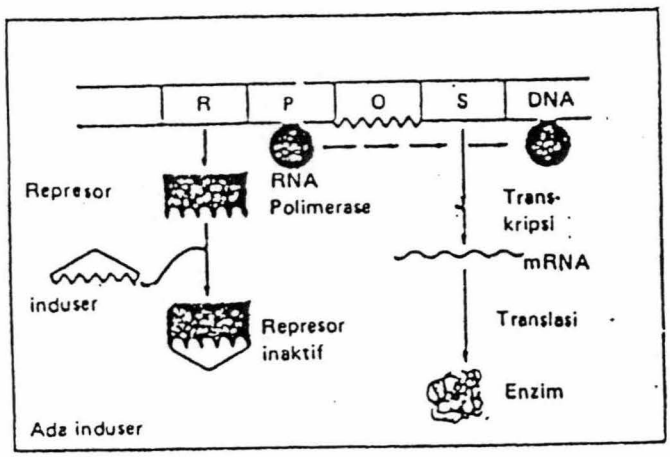
Protein pembawa laktosa ini dapat bekerja berdasarkan prinsip "proton galactoside symporter".

Protein pembawa tersebut dapat membentuk agregat dengan berbagai macam senyawa deterjen, karena dapat berkaitan sangat sensitif dengan bahan tersebut (Overath dan Wright, 1980).

Keberadaan protein pemcawa *lac* dalam sel bakteri disintesis berdasarkan kerja Operon laktosa (*lactose operon*).

Teori operon yang diperkenalkan oleh Jacob dan Monod pada tahun 1961 menerangkan regulasi sintesa berdasarkan sistem represi-induksi. Represi adalah kerja menghambat atau menekan, sedang induksi adalah kerja memacu atau mendorong.

Sistem dalam lac-operon mengandung seperangkat gen yaitu : (1) gen operator, (2) gen promotor, (3) gen regulator dan (4) gen struktur. Tata letak dan peran dan sistem kerjanya dijelaskan pada Gambar 2.1 di bawah ini,



Gambar 2.1 Model Jacob dan Monod untuk sistem enzim dengan induktor (inducer) (Jacob dan Monod, 1961)

Gen operator adalah gen penghasil *zat operator* yang mendorong gen struktur bertranskripsi. Gen operator ini berdekatan dengan gen promotor yang tempat kedudukan ensim RNA-polimerase yang mengawali katalisis transkripsi DNA ke dalam RNA pembawa (Mesenger RNA ; m-RNA) (Watson *et al.*, 1983).

Gen regulator yang menghasilkan *zat represor*. Zat ini berfungsi khas dalam operon laktosa. Jika zat represor aktif akan mengeblok operasi gen operator sehingga zat represor dapat menjadi non aktif, *zat induktor* bersenyawa dengan zat

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

represor, selanjutnya jika zat induktor itu terurai zat represor aktif kembali maka operon dapat beroperasi mensintesis protein pembawa *lac* (Kaback *et al.*, 1983).

Gen struktural adalah gen yang mengkode sintesis satu molekul polipeptida dengan jalan transkripsi.

Sintesis satu jenis protein dikode oleh beberapa gen struktural (3 atau lebih). Tiga gen struktural tersebut adalah (1) gen Z, mengkode β - galaktosidase, (2) gen Y, mengkode lactose - carrier dan (3) gen A, mengkode thiogalaktosida transasetilase (Kaczorowski *et al.*, 1980).

Pada operon laktosa tersebut, yang dapat bertindak sebagai induktor adalah : laktosa, berarti kehadiran laktosa dalam sel mendorong operon untuk bertranskripsi, sehingga terjadi sintesa protein, termasuk juga protein pembawa *lac*. Sebaliknya, jika ada induktor protein pembawa berhenti disintesis (Jacob dan Monod, 1961).

Induktor terbalik bagi Lac-operon adalah isopropil β-D-thiogalaktodida (IPTG). Sel yang telah diinduksi dapat dilepas dalam medium lain yang sesuai untuk memproduksi protein pembawa *lac* (Overath dan Wright, 1980).

2.5.3 Transport zat

Pada metabolisma sel bakteri ada zat yang harus dimasukkan ada pula yang harus dikeluarkan dari sel. Zat yang dimasukkan ke dalam sel meliputi air, ion, metabolit, molekul zat tertentu, oksigen dan zat regulator (sebagai

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

pengatur aktivitas sel jaringan), yang harus dikeluarkan dari sel meliputi sisa dan atau potongan metabolisme butiran yang dikeluarkan badan sisa pasca kerja lisosom.

Ada zat yang disintesis sel perlu dikeluarkan. Pengeluaran zat produksi itu disalurkan lewat lisosom, dikeluarkan dalam bentuk vesikula.

Dalam kehidupannya, sel melakukan transport zat secara terus-menerus baik ke dalam maupun ke luar. Transport yang dilakukan lewat membran sel, melewati dua daerah yaitu cairan intrasel dan cairan ekstrasel. Cairan intra sel adalah cairan sitoplasma, cairan ekstra sel adalah cairan yang berada di luar tubuh individu. Bagi sel bakteri yang terdalam di dalam medium cair adalah lingkungan bakteri itu sendiri.

Kompleksnya struktur membran menyebabkan bagian ini tidak tembus molekul dan ion polar, maka untuk keperluan translokasi atau gerakan khusus menembus halangan membran, harus tersedia mekanisme yang dapat memasukkan zat ke dalam sel (Kaczorowski *et al.*, 1980).

Secara umum ada dua cara proses transport atau pengangkutan zat ke dalam sel yaitu transport aktif dan transport pasif. Transport aktif memerlukan energi untuk mendorong proses yang bersifat endergonik, sedang transport pasif tidak memerlukan energi (Davis *et al.*, 1990).

Pada transport aktif zat yang diangkut terikat pada protein pembawa. Jumlah molekul yang dapat diangkut oleh

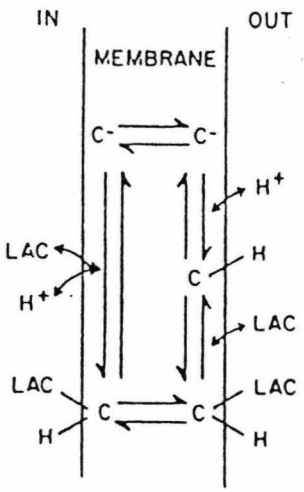
sistem demikian persatuan waktu, bergantung pada kepastian kapasitas sistem, dengan demikian bergantung pada jumlah tempat ikatan dan angka pertukaran dari tiap tempat ikatan. Bila konsentrasi zat dalam sistem transport meningkat terus-menerus akhirnya tercapai suatu titik penunjuk bahwa sistem sudah menjadi jenuh. Jadi laju transport tidak terus-menerus meningkat dengan meningkatnya konsentrasi (Schlegel, 1992).

Bagi beberapa zat yang diangkut secara transport aktif dapat mengalami hambatan dengan zat yang diangkut secara difusi, karena terjadi kompetisi untuk menduduki molekul pembawa.

Transport aktif melawan gradient konsentrasi suatu zat. Berarti zat itu merembes dari ruang yang mengandung zat yang berkonsentrasi rendah ke ruang yang berkonsentrasi tinggi. Jadi melawan proses alamiah, karenanya hanya dimiliki oleh sel hidup. Perembesan zat ke dalam sel secara transport aktif disebut pula *absorbsi* (Brock, 1991).

Protein pembawa tersebut mengikat molekul zat bersama asam amino dan gula, kemudian ikatan dilepaskan lagi di bagian dalam membran (Kaszorowski *et al.*, 1980). Protein pembawa *lac* tersebut bersifat mirip ensim dapat mendorong proses dengan penggunaan enersi yang irit sekali. Enersi yang diperoleh dari pemecahan ATP oleh ATP-ase diaktifkan oleh kehadiran Mg^{2+} yang berada dalam membran sel. Kedinamikaan protein pembawa inilah yang menjadi penentu terciptanya transport aktif (Kaback *et al.*, 1983).

Molekul *ABS* dapat masuk dengan protein pembawa *lac* dengan mekanisme sebagai berikut



Gambar 2.2 Gambaran skematis mekanisme kerja protein pembawa *lac* menembus membran

2.5.4 Biodegradasi *ABS* di dalam sel bakteri

Biodegradasi molekul *ABS* rantai bercabang belum diketahui secara pasti, karena itu didekati dengan model biodegradasi *ABS* rantai lurus.

Molekul surfaktan deterjen yang masuk ke dalam sel bakteri, selanjutnya dikirim ke organel yang melakukan penguraian. Proses hidrolisis dan oksidasi dilakukan di dalam *lisosom.* Lisosom merupakan kantung atau gelembung bulat yang dikelilingi membran, tetapi biasanya tidak lebih besar daripada mitokondria (Kaback *et al.*, 1987).

Lisosom mengandung berbagai jenis enzim pencerna, yakni

enzim yang mengoksidasi dan menghidrolisis senyawa-senyawa : protein, polisakharida, lipid dan kombinasi senyawa tersebut serta metabolit yang tidak dibutuhkan lagi (Kaczorowski *et al.*, 1980 ; Overath dan Wright, 1980 ; Kaback *et al.*, 1987). *ABS* akhirnya terurai menjadi potongan-potongan molekul karbon, natrium, sulfur dengan cincin aromatis yang sudah tercerai-berai sehingga sifat toksiknya menurun atau bahkan tidak ada lagi.

Metabolit tersebut akhirnya dikeluarkan dari sel dari golgi atau lisosom yang bergerak mendekati plasmolemma. Pada plasmolemma kemudian terbentuk cekungan, akibat reaksi antara lubang vesikula yang bersatu dengan lubang plasmolemma. Di tempat ini sisa metabolisme dikeluarkan, proses keluarnya zat dari dalam sel ini disebut *eksositosis.*

Ekskresi sisa metabolisma berlangsung secara difusi, setelah semua hasil pencernaan/penguraian diuraikan pasca lisosom (Swanson dan Webster, 1987).

2.5.4.1 Faktor-faktor yang berpengaruh selama mekanisme penguraian surfaktan deterjen oleh mikroorganisme

2.5.4.1.1 Faktor-faktor abiotik

2.5.4.1.1.1 pH

Penelitian yang dilakukan terhadap bakteri *Eschrichia coli* dengan tujuan mencari kisaran pH pengurai surfaktan deterjen menunjukkan bahwa, kisaran pH yang baik antara 5,5 sampai dengan 7,6 dan optimal pada pH 6,6 (Kaczorowski, *et al.*, 1980).

2.5.4.1.1.2 Potensial listrik

Penelitian yang dilakukan pada *Escherichia coli* menunjukkan bahwa gradient potensial listrik yang baik untuk proses keluar-masuk dan pengurai molekul surfaktan deterjen berkisar 65 sampai dengan 75 mV dan optimal pada 70 mV (Kaczorowski, *et al.*, 1980).

2.5.4.1.1.3 Zat penghambat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa D-laktat ternyata merupakan senyawa penghambat proses masuk-keluarnya zat asing dalam sel bakteri, hal tersebut disebabkan D - laktat dapat mengganggu kerja rantai sitokrom dalam menghasilkan enersi untuk metabolisme (Oxender dan Quay, 1989).

2.5.4.1.1.4 Induktor

Zat induktor adalah zat yang dapat memacu/mendorong proses sintesis protein pembawa molekul yang akan dimasukkan ke dalam sel, dalam hal ini protein pembawa *lac*. Zat ini mutlak perlu karena tanpa protein pembawa surfaktan deterjen tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri untuk selanjutnya diuraikan. Zat induktor yang dapat digunakan antara lain : laktosa, TGD (β-D-galactopyranocyl-1-thio-α -D-galactopyranoside); β-NPG (O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside) ; IPTG(isopropyl-1-thio-β-D-galactopyranoside) α-NPG (p-nitrophenyl-α-D-galactopyranoside) ; $DNS^{2-6}S$ (O-Gal-dan syl-galactosides). Di antara yang disebutkan di atas IPTG

merupakan induktor terbaik (Overath dan Wright, 1980).

2.5.4.1.1.5 Suhu

Penelitian pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa bakteri *euritermik* ini dapat tumbuh pada kisaran suhu yang lebar antara 8-46°C, optimum pada suhu 28-32°C. Bagi *Staphylococcus epidermidis* dan *Eterobacter gergoviae* kisaran pertumbuhan optimalnya hampir sama dengan *Escherichia coli*, namun masih harus diteliti lebih lanjut suhu optimal pertumbuhannya, khususnya untuk proses penguraian deterjennya.

2.5.4.1.1.6 Ion mineral

Seperti halnya makhluk hidup lainnya bakteri mutlak memerlukan mineral sebagai koensim sebagai pembantu kerja ensim pada semua proses metabolisme pada tubuh bakteri.

Besi merupakan unsur kelumit lain yang paling banyak diketahui fungsi biologiknya antara lain untuk membantu kerja protein pembawa elektron *sitokrom-c*, *sitokrom P 450*, pemacu kerja katalase dan perioksidase, besi diperlukan dalam bentuk ion Fe^{2+}. Tembaga juga diperlukan oleh ensim-ensim *sitokrom oksidase* tembaga diperlukan dalam bentuk ion Cu^{2+}. Ion lain yang berkaitan dengan kerja ensim-ensim sitokhrom oksidase adalah Zn^{2+}, Mn^{2+}.

Selain yang disebutkan Ion Mg^{2+} berfungsi pada sintesis klorofil, ion K^{+} untuk memacu kerja ribosom, ion Co^{2+} untuk faktor pertumbuhan, ion Mo^{2+} berfungsi pada sisi aktif

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

dehidrogenasi flavin tertentu untuk memacu kerja reaksi redoks gugus prosterik FAD.

Sebagai faktor pertumbuhan yang penting diberikan dalam medium adalah beberapa vitamin (berdasarkan keperluan dan hanya diperlukan dalam jumlah kecil) serta unsur-unsur Natrium, Kalium, Kalsium, dan lain-lain.

2.5.4.1.2 Faktor biotik

Faktor biotik yang paling menentukan kerja proses pertumbuhan bakteri dan mekanisme mengurai surfaktan *alkylbenzene sulfonate* adalah faktor dalam (genetis) bakteri itu sendiri.

Gen-gen pada *lac operon* harus berada dalam keadaan baik (tidak mengalami mutasi), demikian juga gen-gen pembantunya seperti gen yang mengatur sintesis ribosom, ensim DNA polimerase, proses transkripsi dan replikasi protein, penghenti translasi.

Selain itu penentu yang harus diperhatikan bahwa membran sel bakteri harus dalam keadaan baik, organ lisosom dan golgi juga harus bekerja secara optimal.

Selama mengurai *ABS* tidak boleh terkontaminasi oleh mikroorganisme/organisme lain yang sifatnya antagonis, kompetitif, predator, parasit terhadap bakteri tersebut.

Keberadaan dan kerja yang optimal dari faktor biotik ini tidak dapat dilepaskan dari adanya pengaruh luar yang mendukung, jadi harus ada saling kerja sama yang baik.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

ABS bahan dasar deterjen yang banyak diperdagangkan di Indonesia adalah senyawa organik yang tersusun dari hidrokarbon rantai bercabang, cincin benzene dan sisa asam sulfonate.

Berdasarkan informasi pustaka, sampai dengan tahun 1993 bahan tersebut tidak dapat didegradasi secara biologis (*non-biodegradable*).

Dengan terisolasinya 29 isolat bakteri yang dapat tumbuh pada medium Nutrien Cair dengan *ABS* sebagai sumber karbon, telah memberikan informasi ilmiah baru bahwa mikroorganisme yang berasal dari daerah tropis mampu mendegradasi *ABS* rantai bercabang. Di antara 29 isolat tersebut terdapat 3 isolat yang kemampuan biodegradasinya tinggi dan ketiganya menunjukkan adanya kerja sama.

Berdasarkan prinsip tersebut, maka penggunaan mikroorganisme untuk mendegradasi *ABS* merupakan salah satu cara yang dapat dikembangkan.

Agar biodegradasi *ABS* dapat berlangsung lebih efektif dan efisien maka perlu dilakukan inokulasi bakteri-bakteri yang diketahui lebih efektif dan efisien mendegradasi *ABS*

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

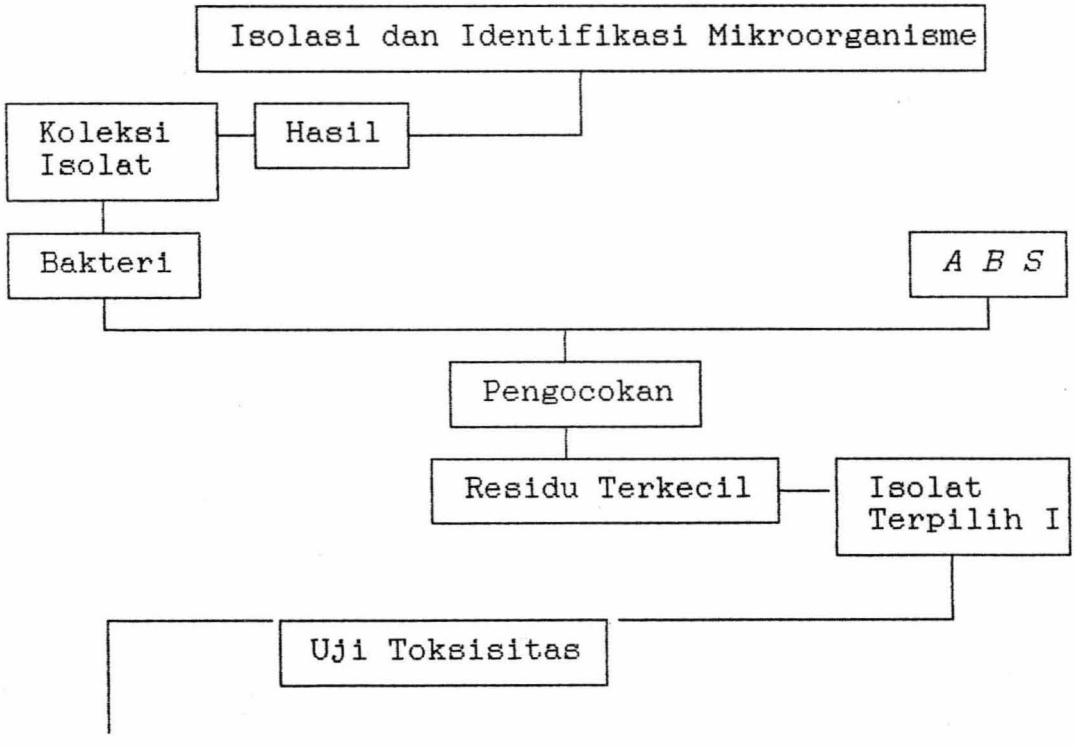
hasil isolasi dan identifikasi peneliti.

Peningkatan efektivitas dan efisiensi kemampuan biodegradasi dilakukan dengan mengatur kondisi lingkungan pertumbuhan bakteri yaitu suhu, pH dan aerasinya.

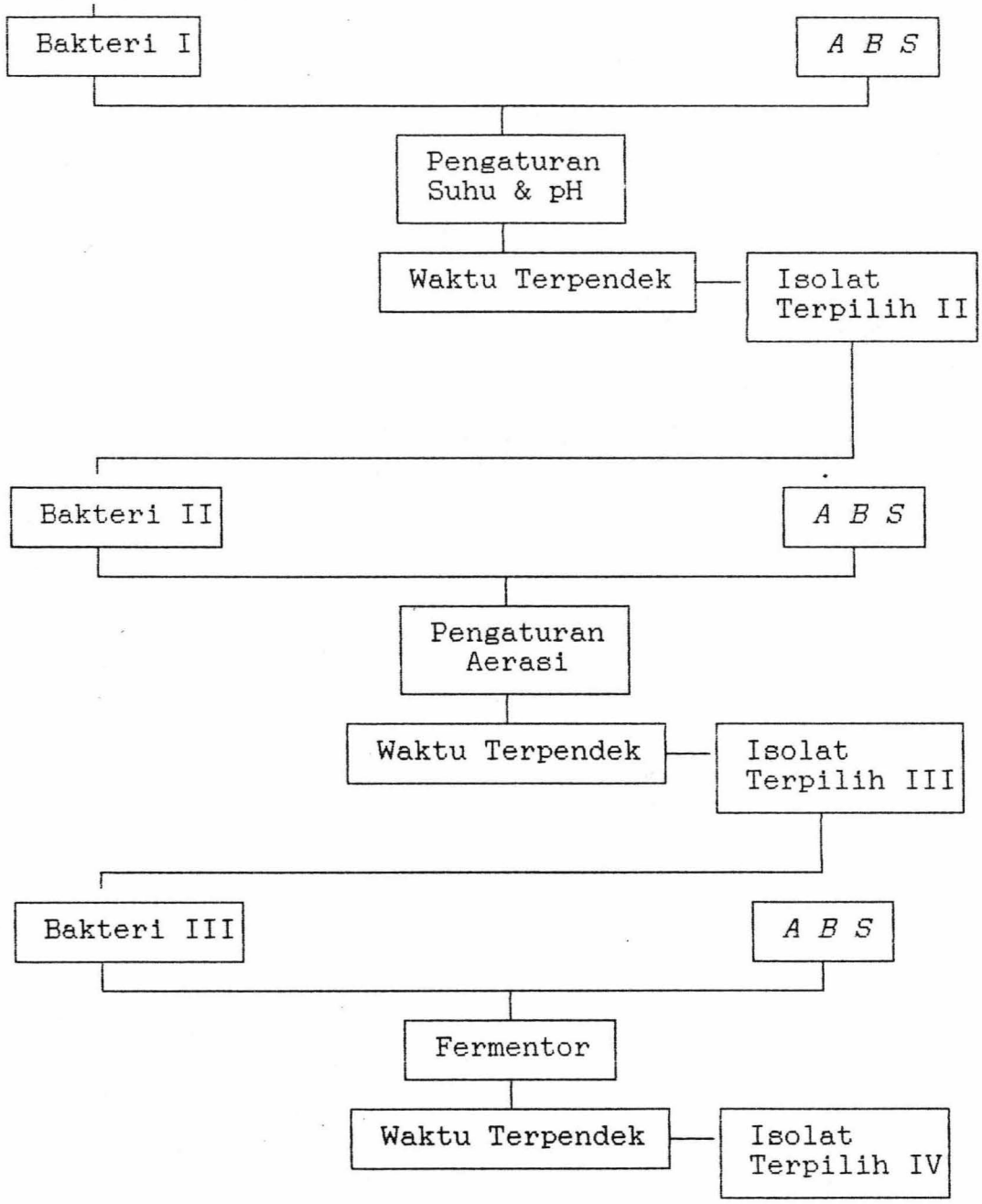
Hasil optimalisasi pengaturan kondisi lingkungan pertumbuhan digunakan untuk menumbuhkan bakteri dalam model pengolah limbah berupa fermentor yang dioperasikan secara kontinyu.

Dengan konsep urutan kerja di atas diharapkan efektivitas dan efisiensi biodegradasi semakin meningkat.

Adapun konsep penelitian digambarkan dalam bentuk diagram alir di bawah ini :



lanjutan halaman 43



Gambar 3.1 Diagram alir kerangka konsep penelitian

3.2 HIPOTESIS

1. Proses degradasi *ABS* dengan pengocokan dari isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* ; Isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae, Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* dan campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae* mampu memperpendek efisiensi degradasi surfaktan *ABS* kadar 1-30 dan 75-100 ppm dibandingkan dengan tanpa pengocokan dan hasil degradasinya tidak toksik.
2. Mikroorganisme yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen selain yang telah ditemukan oleh Ekowati *et al.* (1992) yang bersifat tidak patogen memiliki kemampuan memperpendek waktu degradasi *ABS* dibandingkan dengan isolat yang ditemukan oleh Ekowati *et al.*, (1992).
3. Terjadi pemendekan waktu biodegradasi *ABS* daripada mikroorganisme yang ditemukan dengan pemberian suhu dan pH yang sesuai bagi pertumbuhannya, dibandingkan dengan pemberian pengocokan saja.
4. Terjadi pemendekan waktu degradasi *ABS* dari mikro-organisme yang ditemukan dengan pemberian aerasi dan bahan pengamobil yang sesuai bagi pertumbuhannya di-bandingkan dengan perlakuan pemberian suhu dan pH yang sesuai. Hasilnya dapat dipakai sebagai prediksi dalam proses biodegradasi di model pengolah limbah.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 4
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian yang digunakan

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap ketiga adalah Rancangan Acak Kelompok yang disusun secara faktorial, sedangkan untuk penelitian tahap keempat dan kelima adalah Rancangan Acak Lengkap. Setiap level dalam faktor yang digunakan untuk perlakuan dilakukan tiga ulangan.

4.2 Populasi, sampel dan besarnya sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap kelima adalah semua medium cair yang mengandung *ABS* dengan berbagai kadar awal yaitu : 0,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 20,0 ppm; 25,0 ppm; 30,0 ppm; 75,0 ppm; 100,0 ppm. Medium cair tersebut terdapat di dalam wadah (erlenmeyer dan fermentor) yang tercampur homogen.

4.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap kelima adalah medium cair mengandung *ABS* yang diambil dari medium degradasi pada setiap kadar *ABS* awal yaitu : 0,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 20,0 ppm; 25,0 ppm; 30,0

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

ppm; 75,0 ppm; 100,0 ppm yang tercampur homogen.

Pengambilan sampel dilakukan setiap tujuh hari sekali sampai dengan dua puluh delapan hari pengamatan, kecuali jika *ABS* telah habis sebelum 28 hari, pengambilan sampel dihentikan sejak habisnya *ABS* pada medium degradasi yang diberikan. Habisnya *ABS* dapat diprakirakan dari pengamatan dan/atau perhitungan pada peneltian pendahuluan.

Sampel diambil dengan teknik aseptik agar medium degradasi tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme lain selama pengambilan sampel.

4.2.3 Pengambilan sampel

4.2.3.1 Besar sampel pada penelitian tahap pertama

Pada penelitian tahap pertama medium degradasi yang terdiri dari sepuluh kadar *ABS* dan sembilan perlakuan jenis bakteri sehingga diperoleh sembilan puluh kombinasi perlakuan.

Setiap kombinasi perlakuan diambil sampelnya tiga kali sebagai ulangan sehingga jumlah seluruh sampel dua ratus tujuh puluh.

4.2.3.2 Besar sampel pada penelitian tahap kedua

Pada penelitian tahap kedua hasil degradasi dari kombinasi perlakuan penelitian tahap pertama yang berjumlah dua ratus tujuh puluh digunakan untuk mempengaruhi pertumbuhan

Escherichia coli 10^1 cfu/ml; 10^2 cfu/ml; 10^3 cfu/ml 10^4 cfu/ml; 10^5 cfu/ml; 10^6 cfu/ml masing-masing dengan tiga ulangan maka jumlah sampelnya menjadi lima ribu enam ratus tujuh puluh.

4.2.3.3 Besar sampel pada penelitian tahap ketiga

Pada penelitian tahap ketiga isolat yang telah terbukti paling efektif, efisien dan tidak toksik dan tidak patogen digunakan sebagai inokulum tunggal diperlakukan pada medium degradasi yang waktu retensinya (μ) paling tinggi dengan kombinasi perlakuan pH 7,0; 7,2; 7,4 dan suhu 26 ^oC, 28 ^oC, 30 ^oC.

Kombinasi perlakuan yang dilakukan masing-masing tiga ulangan, diperoleh jumlah sampel dua puluh tujuh.

4.2.3.4 Besar sampel pada penelitian tahap keempat

Pada penelitian tahap keempat kombinasi perlakuan terbaik dari penelitian ketiga bakteri yang paling efektif dan efisien dari penelitian tahap ketiga, kemampuan biodegradasinya ditingkatkan dengan memberikan aerasi 0,5 vvm, 1,0 vvm, 1,5 vvm, 2,0 vvm, 2,5 vvm masing-masing dengan tiga ulangan jadi ada lima belas sampel.

4.2.3.5 Besar sampel pada penelitian tahap kelima

Pada penelitian tahap kelima kombinasi perlakuan ter-

baik ditingkatkan kemampuan biodegradasinya dengan menstabilkan aktivitas kemampuan kerja biodegradasinya dengan cara mengamobilkan bakteri dengan Na-alginate dan karagenen.

Perlakuan masing-masing dengan tiga ulangan terdapat dua belas sampel.

Kombinasi perlakuan yang dilakukan masing-masing tiga ulangan, diperoleh jumlah sampel dua puluh tujuh.

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian pertama sampai dengan kelima:

Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah

(1) Jenis bakteri untuk degradasi *ABS* dan interaksi antar jenis bakteri,

(2) pH,

(3) suhu, dinyatakan dalam ^{O}C,

(4) waktu retensi (μ),

(5) bahan pengamobil sel bakteri.

Variabel tergantung. Variabel tergantung dalam penelitian ini mmeliputi

(1) **Hasil biodegradasi** yang diukur berdasarkan selisih kadar *ABS* dalam medium antara awal dan akhir fermentasi, dalam satuan ppm akhirnya dikonversikan ke dalam %.

(2) **Interaksi**, ialah kerjasama antara dua atau lebih variabel bebas,

(3) **Viabilitas *Escherichia coli***, ialah *Escherichia coli* yang mampu hidup didalam medium Agar Nutrien dalam perhitungan jumlah bakteri dengan cara Pengenceran Penuangan (*Total Plate Count*),

(3) **Waktu retensi**, ialah hasil kecepatan pertumbuhan bakteri pada waktu konsentrasi medium telah mencapai V_{maks}.

Variabel random. Variabel random dalam penelitian ini ialah

(1) **Teknik isolasi**, ialah cara memisahkan mikroorganisme dari habitatnya di alam untuk memperoleh mikroorganisme yang memiliki kemampuan biodegradasi terhadap *ABS*, kemudian menumbuhkannya menjadi piaraan murni di dalam medium buatan.

Isolasi dilakukan dengan menumbuhkan mikroorganisme pada cairan air sawah yang tercemar deterjen yang telah diencerkan ke dalam medium Agar Nutrien yang diperkaya dengan *ABS* 100 ppm. Pemurnian dilakukan secara berulang-ulang sampai diperoleh piaraan murni.

(2) **Teknik identifikasi**, ialah cara mengklasifikasikan mikroorganisme yang belum diketahui namanya sampai diketahui nama spesiesnya.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati mor-

fologi koloni, morfologi sel individual, hasil uji fermentasi gula-gula sederhana, pati, asam-asam amino, protein, lemak dan beberapa medium khusus, selanjutnya dilacak menggunakan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* Edisi IX.

(3) **Teknik inokulasi**, ialah cara memasukkan inokulum ke dalam medium degaradasi. Inokulum dimasukkan ke dalam wadah (erlenmeyer, fermentor) secara aseptik yaitu suatu cara yang diusahakan agar inokulum yang dimasukkan dan medium degradasi yang diinokulasi tidak terkontaminasi segala jenis kehidupan beserta spora maupun bentuk dorman dari kehidupan.

Variabel moderator. Variabel moderator dalam penelitian ini ialah

(1) **Umur bakteri**, ialah umur dalam jam dihitung sejak bakteri dipindahkan dari Medium mineral yang diperkaya dengan *ABS* 100 ppm berumur 24 jam agar ke dalam medium starter medium degradasi.

(2) **Waktu isolasi**, ialah saat bakteri ditumbuhkan di laboratorium setelah waktu yang tidak diketahui lamanya berada di alam,

(3) **Waktu identifikasi**, ialah waktu sejak pelaksanaan pekerjaan pengamatan sifat-sifat morfologi, fisiologi dan uji biokimia piaraan murni isolat mikroorganisme perombak *ABS* sampai diketahui nama jenisnya,

(4) **Waktu inokulasi**, ialah saat inokulum diinokulasikan ke dalam medium degradasi. Inokulasi dilakukan saat jumlah bakteri dalam *starter* telah mencapai 10^7 cfu/ml.

Variabel kendali. Variabel kendali dalam penelitian ini ialah

(1) Medium isolasi, ialah Agar Nutrien yang diperkaya dengan *ABS* berkadar 100 ppm,

(2) Medium untuk degradasi, ialah medium mineral diperkaya dengan *ABS* 100 ppm,

(3) Metode pengukuran *ABS*, merupakan cara pengukuran kadar menurut Cliserry (1987).

4.3.2. Definisi operasional variabel bebas

Inokulum, ialah isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*, dan *Enterobacter gergoviae* dengan *Staphylococcus epidermidis*, serta campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermididis* dan *Enterobacter gergoviae* serta isolat-isolat lain yang diisolasi dari sawah yang tercemar deterjen di Kelurahan Ketawanggede Kotamadya Dati II Malang, sslain yang telah ditenmukan oleh Ekowati *et al.*, (1992) di atas.

Isolat-isolat tersebut disimpan pada medium Agar Nutri-

en miring dengan *ABS* sebagai sumber karbon pada suhu 12°C. Setiap satu bulan dua kali dilakukan peremajaan (untuk Penelitian pertama), sedangkan untuk Penelitian ketiga inokulum merupakan isolat paling efektif , efisien, tidak toksik, dan tidak patogen yang berasal dari Penelitian pertama.

Bakteri jenis *Escherichia coli* ialah strain PH-αKK127707 HVL tidak patogen, koleksi Laboratorium Mikrobiologi Industri, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (untuk Penelitan tahap kedua). Bakteri tersebut digunakan sebagai kuman uji untuk pemeriksaan toksisitas hasil degradasi.

Colony Forming Unit, ialah satuan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium Agar Nutrien, digunakan untuk perhitungan jumlah bakteri dengan metode Pengenceran Penuangan (*Total Plate Count*).

4.4 Bahan penelitian

4.4.1 Bahan kimia untuk identifikasi bakteri

Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri disajikan pada Tabel 4.1 di bawah ini,

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Tabel 4.1 Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri

N a m a	Kemurnian	Merek
Glucose	p.a	Oxoid
Fructose	p.a	Oxoid
Lactose	p.a.	Oxoid
Xylose	p.a.	Oxoid
Manose	p.a.	Oxoid
Adonitol	p.a.	Oxoid
Dulcitol	p.a.	Oxoid
Inositol	p.a.	Oxoid
Manitol	p.a.	Oxoid
Salisin	p.a.	Oxoid
ß-galaktosidase	p.a.	Oxoid
Arginine	p.a.	Oxoid
Lysine	p.a.	Oxoid
Ornithine	p.a.	Merck
Tyrosine	p.a.	Merck
Gelatine	p.a.	Merck
Gliconate	p.a.	Merck
Triple Sugar Iron Agar	p.a.	Oxoid
Potassium Cyanide	p.a.	Oxoid
Malonate	p.a	Oxoid
Casein hidrolisate	p.a.	Oxoid
Phenol red	p.a.	Merck
Bromo thymol blue	p.a.	Merck
Kovaks reagen´s	p.a.	Oxoid
Simmon´s Citrate Agar	p.a.	Oxoid
Propionic acid	p.a.	Oxoid
Nutrient gelatin	p.a.	Difco
H_2O_2	p.a.	Merck
Nutrient Agar	p.a.	Oxoid
Milk agar	p.a.	Oxoid
Palleroni medium	p.a.	Oxoid
Doudoroff medium	p.a.	Oxoid
Luisetti medium	p.a.	Oxoid
King medium	p.a.	Oxoid
Cray medium	p.a	Oxoid
Thornley medium	p.a.	Oxoid
Leifson medium	p.a.	Oxoid
Sierra medium	p.a.	Oxoid
Sodium Chloride	p.a.	Merck
akuabides		Lab.Bio-mol FMIPA Unibraw
Alkohol 70%.	70 %	

4.4.2 Bahan kimia untuk penelitian eksperimental

4.4.2.1 *ABS* dan *LAS*

ABS dan *LAS* merupakan surfaktan tehnis berkadar 95 % diperoleh dari PT Aktif Indonesia Indah Surabaya.

4.4.2.1 Larutan *methylene blue*

Larutan *methylene blue* dibuat dengan melarutkan 100 mg methylene blue ke dalam 100 ml akuabides. Dari larutan tersebut dipindahkan 30 ml ke dalam labu ukur 1000 ml. Ditambah 41 ml H_2SO_4 6N dan 50 g $NaH_2PO_4.H_2O$ selanjutnya ditambah akuabides sampai 1000 ml dan dikocok sampai semua bahan larut.

4.4.2.2 Indikator phenol phtalein 5%

Pembuatan dilakukan dengan cara menimbang 1 g Phenol Phtalein, selanjutnya diencerkan dengan alkohol sampai 100 ml.

4.4.2.3 Pembuatan H_2SO_4 6N

Larutan H_2SO_4 6N dibuat dengan memipet 16,68 ml H_2SO_4 pekat p.a. kemudian diencerkan menjadi 100 ml dan dikocok sampai homogen.

Pekerjaan tersebut dilakukan berdasarkan perhitungan :

Vol = v.m.f.

Keterangan :

vol = volume H_2SO_4 pekat p.a.

v = volume yang akan dibuat

m = molaritas yang akan dibuat

H_2SO_4 6N = H_2SO_4 3M, karena N = 2M

f = 0,556

Vol = 100 ml. 3M. 0,0556

= 16,68 ml

4.4.2.4 Larutan Pencuci (*Wash Solution*)

Larutan pencuci dibuat dengan cara memipet H_2SO_4 6N sebanyak 41 ml kemudian diencerkan dengan akuabides sampai dengan 500 ml. Larutan tersebut ditambah 50 g $NaH_2PO_4.H_2O$ kemudian diencerkan dengan akuabides sampai 1000 ml.

3. Larutan Standar *ABS*

Dibuat dengan memipet larutan stock 1000 ppm sesuai dengan kebutuhan kemudian diencerkan menggunakan akuabides. Perhitungan dilakukan berdasarkan rumus $V_1N_1 = V_2N_2$.

Adapun larutan stock 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 1,0417 g *ABS* bahan dilarutkan dalam akuabides sampai 1000 ml.

4.5 Alat penelitian

4.5.1 Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi

Alat dan bahan yang digunakan disajikan pada Tabel 4.2 di bawah,

Tabel 4.2 Daftar alat yang digunakan dalam penelitian

N a m a	Merek dan Type	Spesifikasi
Mikroskop	Nikon type 102	double beam
Transformer	Nikon model XN	pengatur cahaya
Gelas benda	-	-
Gelas benda *Hanging drop*	Pyrex	-
Gelas penutup	-	-
Kawat inokulasi	-	bermata bundar
Tabung reaksi	Pyrex	berisi 20 ml
Cawan Petri	Steriplan	diameter 15 cm, tinggi 6,3 cm dan tebal 3 mm
pinset	-	-
pipet	-	-
neraca analitis	Sartorius	digital
lampu spiritus	-	-

4.5.2 Alat untuk mengukur kadar *ABS*

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar *ABS* disajikan pada Tabel 4.3. di bawah,

Tabel 4.3 Daftar alat yang digunakan untuk mengukur kadar *ABS*

N a m a	Merek dan Type Buatan Pabrik	Spesifikasi
Autoklaf	SMIC WS-284-64	Kapasitas vol. 5 l
Inkubator	Memmert GTR 0214	digital
	Memmert UM 400	digital
Pengocok	Vortex	-
pH meter	Leybold Didactic	digital

Lanjutan halaman 57

Shaker water-bath	GMBH D 3006 Burg-wedel 1 1083 GMBH West Germany	300 watt, 220 volt
Thermostat	Thermo-rite TR-90 Hirayama Manifac turing Coorpora tion Tokyo Japan	60 watt, 220 volt digital
Termometer	Leybold Didactic GMBH 666187 West Germany	75 watt, 220 volt digital
Pompa vakum	Gast DOA-184-BN S/N 0394	100 watt, 220 volt mampu menghisap, me niup
Seitz filter	Schott Duran 24 316 32	100 watt, 220 volt
Membran filter	Schleicher	diameter 0,45 µm
Sentrifugator	MLW T-5	100 watt, 220 volt
Magnetic stir	SBS A-06 seria A	jumlah tangkai ta-bung empat
Spektrofoto meter	Milton Roy West Germany	Jenis Spektronic 501 u.v. - vis, digital
Mikroskop	Nikon 102 Japan	double beam
Hand counter	Hope No. 8-004 Japan	-
Tabung reaksi	Pyrex	-
Neraca analitis	Sartorius	100 watt, 220 volt
Erlenmeyer 300 ml, 500ml 1000 ml	Pyrex	Volume 300 ml, 500 ml dan 1000 ml
Gelas pengaduk	-	-
Fermentor	-	Kapasitas volume 2 liter. Kondisi fak tor lingkungan dalam tabung dapat diatur konstan

4.6 Lokasi dan waktu penelitian

4.6.1 Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Sumbersari Malang. Sebagai tempat untuk melakukan verifikasi kebenaran hasil identifikasi

digunakan Laboratorium Bakteriologi Jurusan Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor Jl. Taman Kencana 3 Bogor.

4.6.2 Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli 1995 sampai dengan bulan Januari 1997.

4.7 Prosedur pengumpulan data

4.7.1 Prosedur pengumpulan data penelitian awal isolasi dan identifikasi mikroorganisme pengurai *ABS*

4.7.1.1 Prosedur pengumpulan data isolasi mikroorganisme pengurai *ABS*

Isolasi mikroorganisme pengurai *ABS* dilakukan dengan menanamkan suspensi mikroorganisme yang berasal dari air sawah yang tercemar deterjen yang diperoleh dari Kelurahan Ketawanggede Kotamadya dati II Malang ke dalam medium Agar Nutrien diperkaya *ABS* berkadar 100 ppm.

Pemurnian dilakukan dengan menggoreskan koloni-koloni yang tumbuh dalam cawan Petri secara berulang-ulang sampai koloni tampak seragam dan tidak ada koloni lain yang menghimpit koloni yang dimurnikan. Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis sampai sel-sel mikroorganisme tampak seragam.

Piaraan tersebut diujikan mada medium mineral cair yang diperkaya dengan *ABS* berkadar 100 %, jika tampak ada pertum-

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

buhan maka isolat tersebut dikembangkan sebagai bahan penelitian.

4.7.1.2 Prosedur pengumpulan data identifikasi mikroorganisme pengurai *ABS*

Identifikasi mikroorganisme yang diperoleh dari hasil isolasi dilakukan sebagai berikut :

(1) Identifikasi secara mikroskopis meliputi : bentuk dasar, ukuran, adanya spora, adanya flagela, reaksi terhadap pewarnaan-pewarnaan Gram dan ketahanan terhadap asam;

(2) Morfologi Koloni meliputi : bentuk, ukuran, tekstur, warna dan konsistensi,

(3) Sifat-sifat biokimia meliputi : Pemanfaatan beberapa sumber karbon, terjadinya perubahan pH dengan perubahan warna indikator Phenol Red atau Bromo Thymol Blue pada berbagai jenis gula sederhana, pati, asam-asam amino, protein, asam-asam lemak, lemak, yang digunakan untuk identifikasi bakteri, reduksi nitrat, berbagai medium khusus dan lain-lain.

Selanjutnya data yang diperoleh digunakan untuk melakukan identifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* edisi IX. Pengunaan buku ini didasarkan pada kenyataan bahwa buku inilah yang paling lengkap dan dipergunakan secara luas di seluruh dunia.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

4.7.2 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap pertama : pengaruh jenis bakteri dan kadar surfaktan *ABS* terhadap kemampuan biodegradasinya

Pada penelitian pertama ada tiga variabel yang dikumpulkan datanya yaitu persentasae degradasi, waktu degradasi dan laju pertumbuhan spesifik.

4.7.2.1 Prosedur pengumpulan data persentase degradasi

Persentase degradasi diukur dengan mengurangi kadar *ABS* kontrol dengan sisa kadar *ABS* dikalikan 100 %.

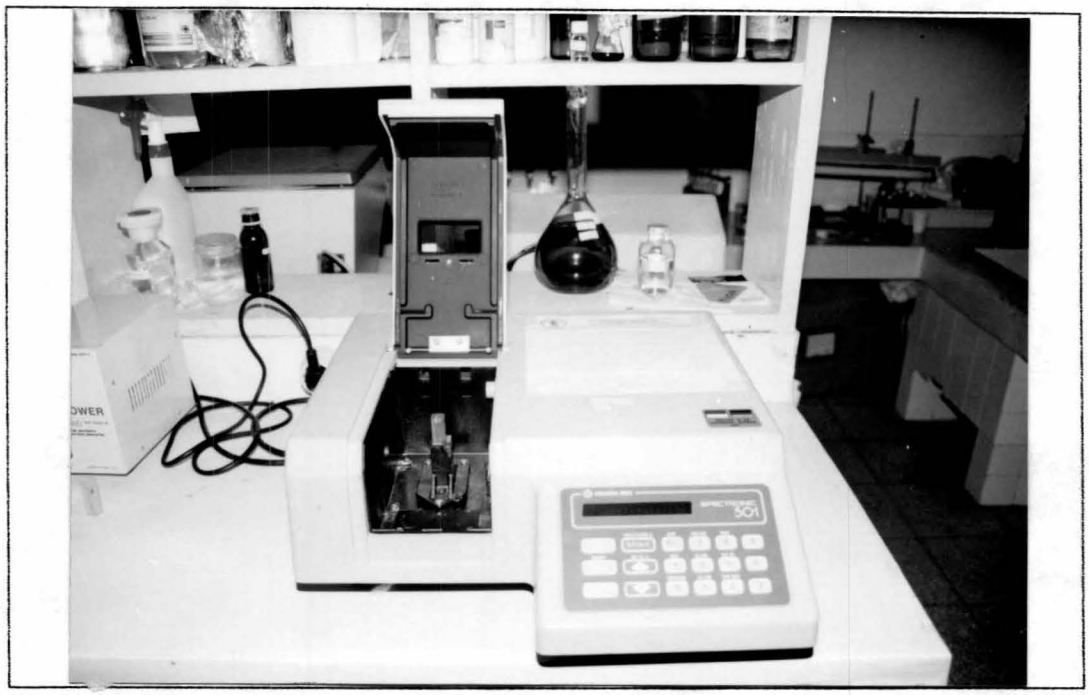
Kadar alkylbenzene sulfonate dalam medium diukur dengan metode *Methylene Blue Active Substance (MBAS)* menurut Cliserry (1987) dengan urut-urutan prosedur kerja sebagai berikut :

Contoh (sudah disaring dengan Seizt Filter beralaskan membran filter) sebanyak 0,25 ml, dihomogenkan dengan Vortex selama 30 detik, selanjutnya diencerkan menjadi 25 ml dengan akuabides menggunakan mikropipet.

Larutan tersebut kemudian ditetesi dengan 1 tetes NaOH 1 N, 1 tetes indikator phenol phtalein dan 1 tetes H_2SO_4 1 N (sampai warna merah muda hilang).

Selanjutnya ditambah 5 ml kloroform dan 10 ml *methylene blue*, dikocok menggunakan *shaker water-bath* pada 30 rpm selama 30 detik. Dipindahkan ke labu pisah, dibiarkan sampai fase terpisah.

Lapisan kloroform dialirkan pada suatu botol. Ekstraksi diulangi 2 kali dengan masing-masing menambahkan 5 ml klo-



Gambar 4.1 Spektronic-501

roform, sehingga hasilnya tercampur dalam botol tersebut.

Hasil ekstraksi ditambah 25 ml larutan pencuci (*wash solution*), kemudian dikocok menggunakan *shaker water-bath* selama 30 detik.

Lapisan kloroform disaring menggunakan *glass-wool*, dikumpulkan pada labu ukur 25 ml. *Glass-wool* dibilas dengan kloroform hingga volume kloroform dalam labu ukur mencapai tanda batas.

Larutan yang sudah dihomogenkan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 652 nm.

Persentase degradasi = $(A_k - A_p) \times A_k^{-1} \times 100\ \%$

Keterangan :

A_k = Absorbansi kontrol

A_p = Absorbansi perlakuan

Absorbansi sudah dikonversikan ke kadar *ABS*.

4.7.2.2 Prosedur pengumpulan data waktu degradasi

Waktu degradasi diukur dalam hari berdasarkan pengamatan langsung habisnya kadar *ABS* selama 28 hari pengamatan.

Kadar *ABS* yang belum habis selama 28 hari waktu degradasi dihitung menggunakan konversi perhitungan yang diperoleh dengan 100 (dari 100 %) dibagi persentase kadar *ABS* dikalikan 28.

4.7.2.2 Prosedur pengumpulan data laju pertumbuhan spesifik mikroorganisme

Laju pertumbuhan spesifik mikroorganisme yang digunakan untuk penelitian dihitung dengan rumus :

$$\mu = \mu_{maks} \frac{S}{K_S + S}$$

μ = laju pertumbuhan spesifik

S = Konsentrasi substrat

K_S = Konstanta yang sebanding pada konsentrasi substrat bila $\mu = \mu_{maks}$

4.7.3 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kedua : uji hasil biodegradasi terhadap viabilitas *Escherichia coli*.

Viabilitas *Escherichia coli* yang digunakan untuk uji toksisitas hasil degradasi diukur dengan cara pengenceran penuangan (*total plate count*).

4.7.4 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap ketiga : pengaruh suhu dan pH terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih dari penelitian tahap pertama dan tahap kedua

Data yang dikumpulkan pada penelitian ketiga adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

4.7.5 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap keempat : pengaruh bakteri dan pemberian aerasi terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih

Data yang dikumpulkan pada penelitian keempat adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

4.7.6 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kelima : pengaruh penggunaan Na-alginat dan karagenen terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih dalam sistem kultur kontinyu

Data yang dikumpulkan pada penelitian kelima adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

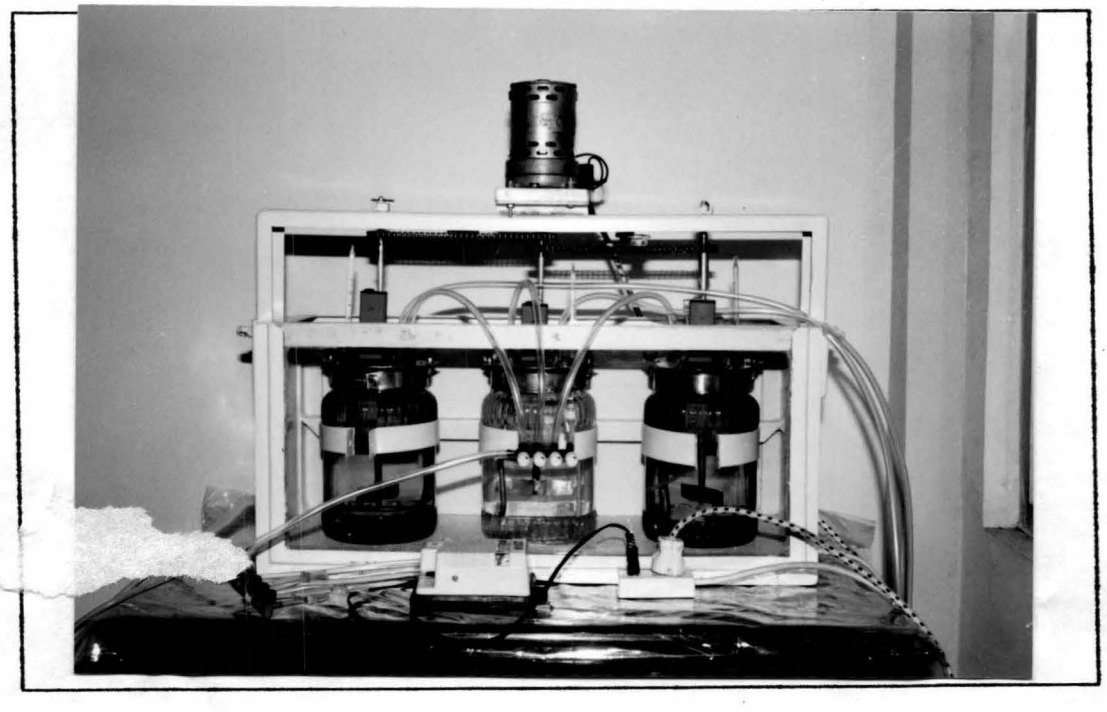
4.8 Cara analisis data

Untuk menguji hipotesis dilakukan analisis varian

percobaan faktorial untuk masing-masing parameter. Jika ada perbedaan perlakuan pengujian dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) 1 % menggunakan *Minitab 9.2 for Window*. Digunakan perangkat tersebut karena pada saat perhitungan statistik hanya *Minitab 9.2 for Window* yang mampu mengeluarkan hasil perhitungan dibandingkan *SPSS* dan *SAS for Window*.

Hasil pengujian statistik tersebut digunakan untuk menentukan ada tidaknya interaksi antara perlakuan-perlakuan pada penelitian pertama, kedua, ketige, keempat dan kelima terhadap sisa kadar *ABS* dalam medium.

Adapun gambar fermentor yang digunakan untuk penelitian 3,4 dan 5 disajikan pada Gambar 4.2 di bawah ini,



Gambar 4.2 Fermentor

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 5
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS
HASIL PENELITIAN

5.1 Peningkatan kemampuan bakteri dalam mendegradasi *ABS*

Pengujian kemampuan ketujuh macam inokulum yaitu : isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, tunggal *Staphylococcus epidermidis*, tunggal *Enterobacter gergoviae*, ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*, ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*, ganda *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*, campuran tiga isolat *Styaphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*, dalam mendegradasi sembilan variasi kadar *ABS* 0,0 ppm, 5,0 ppm, 10,0 ppm, 15,0 ppm, 20,0 ppm, 25,0 ppm, 30,0 ppm, 75,0 ppm, dan 100,0 ppm diperoleh hasil rata-rata seperti disajikan pada lampiran 1.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan dan interaksi secara bermakna dilakukan pengujian statistik. Pengujian analisis Varian Dua Arah dari *Randomized Block Anova* untuk menentukan ada tidaknya perbedaan-perbedaan secara bermakna. Untuk menentukan ada atau tidaknya interaksi antara kombinasi perlakuan jenis bakteri dengan kadar *ABS* digunakan pengujian analisis variansi dua jalur. Perhitungan dilakukan menggunakan *Minitab 9.2 for Window*.

Hasil pengujian analisis regresi menunjukkan adanya bahwa antara kadar dan hasil degradasi menunjukkan hubungan yang linier. Hasil pengujian secara statistik yang disajikan

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

pada Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan-perbedaan antar dan di dala perlakuan pada $p < 0,01$. Ditentukan $p < 0,01$ mengingat materi penelitian adalah bahan berbahaya bagi kesehatan makhluk hidup.

Tabel 5.1 Rerata persentase degradasi hasil perlakuan tujuh jenis inokulum bakteri (B) dengan D sembilan macam kadar ABS (D) pada $p < 0,01$

Inokulum /	Persentase degradasi (%)									
kadar abs	0	5	10	15	20	25	30	75	100	
A	0,00 a 1	11,1 ab 2	12,9 ab 2	13,7 ab 2	14,9 ab 2	19,2 ab 3	25,8 bc 4	53,3 d 5	69,5 e 6	24,4 c
B	0,00 a 1	10,1 a 2	10,8 a 2	10,8 a 2	13,5 a 23	15,6 a 3	17,2 a 3	38,7 a 4	50,1 b 5	18,6 a
C	0,00 a 1	10,6 ab 2	10,9 a 2	11,6 a 23	12,9 a 23	15,3 a 3	20,2 ab 4	43,6 b 5	56,8 c 6	20,2 b
AB	0,00 a 1	15,6 b 2	16,7 b 23	16,9 b 23	17,8 b 23	20,3 b 3	22,4 b 3	49,0 c 4	62,6 d 5	24,6 c
AC	0,00 a 1	13,7 ab 2	13,9 ab 2	14,6 ab 2	14,7 ab 2	15,4 a 2	16,2 a 2	36,4 a 3	45,1 a 4	18,9 a
BC	0,00 a 1	14,8 b 2	15,5 b 23	17,6 b 23	19,6 b 3	22,4 b 4	24,5 b 4	56,2 d 5	72,3 e 6	27,1 d
ABC	0,00 a 1	17,2 b 2	19,2 b 23	22,5 c 3	25,7 c 34	27,4 c 4	28,7 c 4	68,5 e 5	88,1 f 6	33,1 e
Rerata	0,00 1	13,3 2	14,3 3	15,4 4	17,0 5	19,4 6	22,0 6	49,4 7	63,5 8	23,8
Std.Dev.	22,03									

Keterangan :
- Angka rerata yang didampingi huruf yang sama berarti pengaruh bakteri dalam kadar tidak berbeda secara sangat bermakna,
- Angka rerata yang didampingi angka yang sama berarti pengaruh kadar dalam bakteri tidak berbeda secara sangat bermakna,

A : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*.
B : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*,
C : Inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*
AB : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus auureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*,
AC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*,
BC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*,
ABC: Inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*,
Std.Dev.: Standar deviasi.
p : Probabilitas

Dari sajian data pada tabel 5.1 dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

TEMUAN - 1

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 75 ppm dan 100 ppm. Pada kadar *ABS* 30 ppm hanya berbeda secara sangat bermakna dengan isolat tunggal *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan pada medium degradasi berkadar *ABS* berkadar 0 - 25 ppm tidak terdapat perbedaan. Persentase degradasi *ABS* tertinggi sebesar 69,5 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 2

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* saling berbeda secara sangat bermakna dengan di antaranya pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm dengan 20 sampai dengan 100 ppm. Antara perlakuan kadar *ABS* 10 ppm dengan 15 ppm tidak terdapat perbedaan. Persentase degradasi *ABS* tertinggi sebesar 50,1 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 3

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis* saling berbeda secara sangat bermakna dengan di antaranya pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm dengan 20 sampai dengan 100 ppm. Antara perlakuan kadar *ABS* 5, 10 dan 15 ppm tidak terdapat perbedaan. Persentase degradasi *ABS* tertinggi sebesar 50,1 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 4

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* saling berbeda secara sangat bermakna dengan semua kadar *ABS* yang diberikan di dalam medium degradasi *ABS*, kecuali antara kadar 10 ppm dengan 100 tidak terdapat perbedaan. Persentase degradasi *ABS* tertinggi sebesar 56,8 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 5

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degrada si *ABS* pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylo-coccus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermi-dis*, inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* dan isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 75 dan 100 ppm. Dengan isolat ganda bakteri *Staphy-lococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermi-dis* 30 ppm. Pada medium degradasi berkadar 5 sampai dengan 30 ppm, kecuali dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* tidak ada perbedaan secara bermakna. Per-sentase degradasi *ABS* tertinggi dicapai dari perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermi-dis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 72,3 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 6

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidemidis* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* semua pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Dengan pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna pada kadar *ABS* 75 dan 100 ppm. Dengan pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada semua kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi. Dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 - 30 ppm, tidak ada perbedaan secara bermakna. Persentase degradasi *ABS* tertinggi dicapai dari perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 72,3 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 7

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degrada si *ABS* pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylo-coccus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermi-dis*, inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* pada kadar *ABS* 10 sampai dengan 25 ppm dan 75 dan 100 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna hanya pada kadar *ABS* 75 dan 100 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococ-cus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna pada medium degradasi berkadar *ABS*10 sampai dengan 25 ppm, serta 75 dan 100 ppm. Selain pada medium degradasi berkadar tersebut tidak ada perbedaan secara bermakna. Persentase degrada si *ABS* tertinggi dicapai dari perlakuan inokulum iso-lat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 72,3 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 8

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 15 sampai dengan 100 ppm. Pada medium degradasi berkadar 5 dan 10 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Persentase degradasi *ABS* tertinggi dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 88,1 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 9

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada semua kadar *ABS* pada medium degradasi. Persentase degradasi *ABS* terting gi dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 88,1 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 10

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degrada si *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 5,20, dan 100 ppm. Selain medium degradasi kadar tersebut tidak terdapat perbedaan. Persentase degradasi *ABS* terting gi dicapai dari perlakuan inoku-lum campuran tiga isolat sebesar 88,1 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 11

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bak-teri *Staphylococcus epidermidis* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae*, dan *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 75 ppm dan 100 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 25 dan 30 ppm hanya berbeda secara sangat bermakna dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*, sedangkan pada medium degradasi berkadar *ABS* berkadar 0 - 25 ppm tidak ada perbedaan yang bermakna.

TEMUAN - 12

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 15 sampai dengan 100 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 dan 10 tidak ada perbedaan secara bermakna.

TEMUAN - 13

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 15 sampai dengan 100 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 dan 10 tidak ada perbedaansecara bermakna.

TEMUAN - 14

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 15 sampai dengan 100 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 dan 10 tidak ada perbedaan secara bermakna.

TEMUAN - 15

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan medium degradasi berkadar *ABS* 20 sampai dengan 100 ppm. Antara kadar 5 sampai dengan 15 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna.

TEMUAN - 16

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan medium degrada si berkadar *ABS* 10 sampai dengan 100 ppm. Antara kadar 15 dan 20 ppm tidak terdapat perbedaan.

TEMUAN - 17

Rerata persentase degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan medium degradasi berkadar *ABS* 20 sampai dengan 100 ppm. Antara kadar 5 sampai dengan 15 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna.

TEMUAN - 18

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* berbeda sangat bermakna dengan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi degradasi berkadar *ABS* 5, 10, 15, 20, 25, dan 100 ppm. Antara kadar 30 dan 75 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna.

TEMUAN - 19

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna de- ngan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi degradasi berkadar *ABS* 10, 25, 75, dan 100 ppm. Antara kadar 5, 15, 20, dan 30 ppm tidak terdapat perbedaan.

TEMUAN - 20

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna dengan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 15 sampai dengan 100 ppm. Pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 5 dan 10 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna.

Pengujian yang bertuujuan mencari perbedaan pengaruh interaksi antara tujuh jenis inokulum dengan sembilan macam kadar *ABS* diperoleh hasil seperti sajian pada lampiran 1. Dari tabel 5.1 dan lampiran 1 dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

TEMUAN - 21

Interaksi antara tujuh jenis inokulum bakteri dengan sembilan macam kadar ABS yang diberikan dalam medium degradasi berpengaruh sangat bermakna terhadap persentase degradasi *ABS*

TEMUAN - 22

Terdapat pengaruh interaksi secara sangat baermakna antara tujuh jenis inokulum bakteri dengan sembilan macam kadar *ABS* yang diberikan dalam medium terhadap persentase degradasi *ABS*, kecuali kadar *ABS* 0 ppm tidak ada interaksi secara bermakna.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Sebagai akibat meningkatnya aktivitas perombakan *ABS* oleh bakteri-bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* dalam bentuk tunggal, ganda maupun campuran tiga isolat dengan pengocokan dibanding dengan tanpa pengocokan, maka kecepatan degradasi menjadi lebih pendek.

Rerata waktu degradasi yang dilakukan oleh bakteri-bakteri tersebut disajikan pada tabel 5.2. Data yang disajikan pada tabel 5.2 nampak ada atau tidaknya. perbedaan-perbedaan secara bermakna.

Tabel 5.2 Rerata waktu degradasi hasil perlakuan tujuh jenis inokulum bakteri (B) dengan D sembilan macam kadar ABS (D) pada p < 0,01

Inokulum /	Persentase degradasi (%)									
kadar ABS	0	5	10	15	20	25	30	75	100	
A	0,00 a 1	252,2 d 8	217,1 d 7	204,4 d 7	190,9 c 6	162,7 c 5	130,7 bc 4	60,6 b 3	46,6 bc 2	146,5 a
B	0,00 a 1	277,2,a 6	259,2 b 6	173,1 b 56	163,4 b 5	145,9 b 4	134,9 bc 4	60,1 b 3	47,5 bc 2	122,6 a
C	0,00 a 1	264,1 b 8	256,8 bc7	217,1 b 6	161,1 b 5	141,9 b 4	122,4 b 3	51,3 ab 2	39,8 bc 6	122,7 b
AB	0,00 a 1	179,5 b 7	167,6 c 7	165,7 c 67	162,b c 6	161,3 c 5	141,7 c 4	65,4 b 3	51,5 b 2	133,5 d
AC	0,00 a 1	204,3 a 7	201,4 a 6	191,8 a 5	142,6 a 5	117,9 a 4	104,8 a 3	46,4 a 2	36,0 a 2	106,5 a
BC	0,00 a 1	189,2 c 8	180,6 d 7	218,0 d 7	193,6 a 6	163,5 c 5	137,0 c 4	59,8 b 3	45,3 ab 2	142,4 d
ABC	0,00 a 1	162,8 a 7	145,8 b 7	159,1 ab 6	148,2 a 5	136,3 b 4	126,7 bc 4	57,9 f 3	42,7 b 2	116,5 e
Rerata	0,00 1	218,5 9	204,1 8	193,3 7	168,4 6	147,3 5	128,1 4	57,3 7	44,2 8	127,2
Std.Dev.	22,48									

Keterangan :

- Angka rerata hasil degradasi *ABS* yang didampingi huruf yang sama berarti pengaruh bakteri dalam kadar tidak

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

berbeda secara sangat bermakna,,

- Angka rerata hasil degradasi *ABS* yang didampingi angka yang sama berarti pengaruh kadar dalam bakteri tidak berbeda secara sangat bermakna,

A : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*

B : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*

C : Inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*

AB : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus auureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*

AC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*

BC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*

ABC: Inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*

Std.Dev. : Standar deviasi

p : Probabilitas

Berdasarkan hasil konversi perhitungan dari persentase degradasi yang disajikan pada tabel 5.2 dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

TEMUAN - 23

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 sampai dengan 25 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* berkadar 30 sampai dengan 100 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Di antara ketiga inokulum isolat tunggal bakteri waktu degradasi terpendek dicapai oleh aktivitas kerja inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 47,5 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 24

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* saling berbeda secara sangat bermakna dengan di antaranya pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm dengan 20 sampai dengan 100 ppm. Antara perlakuan kadar *ABS* 10 ppm dengan 15 ppm tidak terdapat perbedaan. Waktu degradasi *ABS* terpendek sebesar 46,6 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 25

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis* saling berbeda secara sangat bermakna dengan di antara-nya pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm dengan 20 sampai dengan 100 ppm. Antara perlakuan kadar *ABS* 5, 10 dan 15 ppm tidak terdapat perbedaan. Waktu degradasi *ABS* terpendek sebesar 47,5 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 26

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* saling berbeda secara sangat bermakna dengan semua kadar *ABS* yang diberikan di dalam medium degradasi *ABS*, ke-cuali antara kadar 10 ppm dengan 100 tidak terdapat perbedaan. Waktu degradasi *ABS* terpendek sebesar 39,8 % pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 27

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata waktu degradasi *ABS* pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, pada kadar *ABS* 5, 10, dan 15 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna pada kadar *ABS* 5 sampai dengan 75 ppm. Dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm. Selain antarkombinasi perlakuan tersebut tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari aktivitas kerja inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 28

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidemidis* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata waktu degradasi *ABS* semua pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada kadar *ABS* 20 sampai dengan 75 ppm. Dengan pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna pada kadar *ABS* 10 dan 30 ppm. Dengan pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna pada kadar *ABS* 5 sampai dengan 25 ppm. Selain antarkombinasi perlakuan tersebut tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari aktivitas kerja inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 29

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* pengaruh inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* pada kadar *ABS* 15 sampai dengan 30 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna hanya pada kadar *ABS* 5 sampai dengan 30 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 sampai dengan 30 ppm. Selain pada medium degradasi berkadar tersebut tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 30

Rerata persentase degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 0 sampai dengan 25 ppm. Pada medium degradasi berkadar 30 sampai dengan 100 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 31

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degradasi *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada kadar *ABS* 20 ppm. Pada semua medium degradasi selain berkadar *ABS* 20 ppm satu dengan lainnya saling tidak berbeda secara bermakna. Waktu degradasi terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 32

Rerata waktue degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae* berbeda secara sangat bermakna dengan rerata persentase degrada si *ABS* pengaruh inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 5 dan 20 ppm. Selain medium degradasi kadar tersebut tidak terdapat perbedaan. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 33

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat ganda bakteri *Staphylococcus aurerus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* pada semua medium degradasi, kecuali yang berkadar *ABS* 0 ppm. Dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat secara bermakna pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 sampai dengan 15 ppm. Selain pada medium degradasi berkadar *ABS* tersebut tidak ada perbedaan yang bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

TEMUAN - 34

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* berbeda sangat bermakna dengan inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 10, 15, 25 dan 30 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 5, 20, 75 dan 100 ppm saling tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 35

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 sampai dengan 25 ppm. Pada medium degradasi berkadar *ABS* 30 sampai dengan 100 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum campuran tiga isolat sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 36

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan medium degradasi berkadar *ABS* 20 sampai dengan 100 ppm. Antara kadar 5 sampai dengan 15 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dari inokulum ini sebesar 51,5 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 37

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan semua kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi. Antara kadar *ABS* 10 dan 15 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dari inokulum ini sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 38

Rerata waktu degradasi *ABS* antarperlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi berkadar *ABS* 5 ppm berbeda sangat bermakna dengan semua kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi. Antara kadar 10 dan 15 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dari inokulum ini sebesar 45,3 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 39

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* berbeda sangat bermakna dengan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi degradasi berkadar *ABS* 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Antara kadar 30 , 75, dan 100 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai oleh campuran tiga isolat bakteri sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 40

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna dengan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi degradasi berkadar *ABS* 10, 25, 75, dan 100 ppm. Antara kadar 5, 15, 20, dan 30 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai oleh campuran tiga isolat bakteri sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

TEMUAN - 41

Rerata waktu degradasi *ABS* perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* berbeda sangat bermakna dengan perlakuan inokulum campuran tiga isolat bakteri medium *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 5 sampai dengan 25 ppm. Pada medium degradasi dengan kadar *ABS* 30 dan 100 ppm tidak ada perbedaan secara bermakna. Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai oleh campuran tiga isolat bakteri sebesar 42,7 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

Pengujian yang bertujuan mencari perbedaan pengaruh interaksi antara tujuh jenis inokulum dengan sembilan macam kadar *ABS* pada waktu degradasi disajikan pada tabel 5.2 dan lampiran 2. Dari tabel dan lampiran tersebut dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

TEMUAN - 42

Interaksi antara tujuh jenis inokulum bakteri dengan sembilan macam kadar ABS yang diberikan dalam medium degradasi berpengaruh sangat bermakna terhadap waktu degradasi *ABS*

TEMUAN - 43

Terdapat pengaruh interaksi secara sangat baermakna antara tujuh jenis inokulum bakteri dengan sembilan macam kadar *ABS* yang diberikan dalam medium terhadap waktu degradasi *ABS*, kecuali kadar *ABS* 0 ppm tidak ada interaksi secara bermakna.

Tabel 5.3 di bawah ini disajikan untuk membandingkan lamanya waktu degradasi medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm antara sebelum dan sesudah pengocokan.

Tabel 5.3 Prediksi waktu yang diperlukan untuk mendegradasi habis *ABS* berkadar 100 ppm dalam medium degradasi

Jenis kombinasi perlakuan	Pers. regresi	r	waktu (hari)
A	y = 89,2 - 0,74 x	-0,98	120
B	y = 81,2 - 0,53 x	-0,98	153
C	y = 82,6 - 0,58 x	-0,62	142
AB	y = 83,3 - 0,68 x	-0,82	123
AC	y = 96,0 - 1,01 x	-0,99	95
BC	y = 78,6 - 0,59 x	-0,72	133
ABC	y = 85,6 - 0,83 x	-0,82	103

Keterangan :

A : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*

B : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*

C : Inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*

Sumber : Ekowati *et al.*, (1992).

Dari tabel 5.3 di atas dapat ditarik kesimpulan di bawah ini,

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

UNIVERSITAS AIRLANGGA
JL. AIRLANGGA NO. 4 - 6 SURABAYA 60286 TELP. 5341348, 5321983, 5342557 FAX : (031) 5342557

MEMO

Yth. :
Dari : Rektor

Surabaya,
Rektor,

Prof.dr.H. Soedarto, DTM&H, Ph.D.
NIP. 130350713

Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... DISERTASI Wahyurianto

TEMUAN - 44

Pengocokan medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm mampu memperpendek rerata waktu degradasi 0,38 kalinya dengan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*, 0,31 kalinya dengan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*, 0,28 kalinya dengan inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*, 0,41 kalinya inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, 0,37 kalinya dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae*, 0,27 kalinya dengan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae*, dan 0,41 kalinya dibandingkan dengan campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae*, semuanya dibandingkan dengan tanpa pengocokan.

Waktu degradasi *ABS* terpendek dicapai dari perlakuan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan bakteri *Enterobacter gergoviae* sebesar 36,0 hari pada medium degradasi berkadar *ABS* 100 ppm.

5.1.1. Uji hasil biodegradasi terhadap viabilitas *Escherichia coli*

Untuk mengetahui sampai sejauh mana toksisitas hasil biodegradasi terhadap lingkungan perairan maka dilakukan pengujian terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* tidak

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

patogen dengan asumsi bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri yang umum, terdapat dalam jumlah besar serta mampu bertahan hidup di perairan dalam waktu relatip lama.

Data yang disajikan dala bentuk logarithma jumlah bakteri *Escherichia coli* yang dapat tumbuh dalam cawan Petri dengan medium Agar Nutrien disajikan pada lampiran 3.

Escherihia coli dengan jumlah 10^1 sel / ml sebagai mikroorganisme penguji dapat tumbuh pada semua perlakuan berkisar 9^9 - 10^9 sel / ml pada waktu inkubasi 12 jam, merupakan bukti bahwa hasil degradasi tidak toksik bagi lingkungan.

Ketidak toksikan tersebut juga didukung dengan pernyataan bahwa menurut Cain (1976) *dalam* Anonim (1991) dan Bailey (1978) oksidasi surfaktan *ABS* identik dengan β-oksidasi asam karboksilat memang dapat menghasilkan senyawa antara bersifat disinfektan yaitu **alkohol dan aldehid namun tidak dapat larut sebagai metabolit.** Jadi jika pada waktu lama mikroorganisme perombak *alkylbenzene sulfonate* mati kemudian sel lisis dan alkohol serta aldehid kemudian larut ke dalam medium, namun sampai sejauh ini belum pernah ada laporan penelitian yang menunjukkan bahwa *Escherichia coli* **mampu mengkonsumsi alkohol dan aldehid sebagai sumber karbon.**

Dari lampiran 3 tersebut dapat ditarik kesimpulan di bawah ini,

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

TEMUAN - 45

Hasil degradasi kombinasi perlakuan tujuh jenis bakteri dengan sumbilan macam kadar *ABS* tidak toksik.

5.2 Temuan-temuan isolat baru

Mikroorganisme yang mampu tumbuh pada medium mineral dengan *ABS* sebagai satu-satunya sumber karbon adalah mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk memecah *ABS* kemudian mengubahnya menjadi senyawa lain yang lebih sederhana.

Untuk memastikan mikroorganisme yang memiliki kemampuan tersebut, telah dilakukan isolasi dan identifikasi jenis-jenis mikroorganisme isolat-isolat yang telah terinventarisasi.

Penelitian awal yang telah dilakukan melalui serangkaian kegiatan isolasi dari berbagai kadar *ABS* limbah cair buangan rumah-tangga yaitu 5,7 ppm, 11,2 ppm 22,3 ppm ditemukan 12 isolat. Setelah diidentifikasi, ternyata hanya diperoleh 2 jenis yang tergabung di dalam 2 marga

5.2.1 Mikroorganisme - 1

Ciri koloni : pada medium Agar Nutrient, koloni berwarna krem, tepi bergerigi dengan permukaan halus. Bentuk koloni seperti akar. Tidak terlihat merubah warna medium

tidak dapat mempergunakan sitrat sebagai sumber karbon, fermentatif, dapat mereduksi nitrat. Uji katalase dan oksidase menunjukkan hasil positip.

Tidak dapat menghasilkan *levan* dari *sucrose*, tidak mampu melakukan proses denitrifikasi, menghidrilisa gelatin, tidak menghidrolisis pati.

Reaksi terhadap beberapa jenis gula dan turunannya : *glucose* positip, *trehalose* negatip, *2-ketogluconate* negatip, *meso-innositol* negatip, *geraniol* negatip, *l-valine* negatip, *β-alanine* negatip, *l-arginine* positip, *d-xylose* negatip, *D-ribose* positip, *D-rhamnose* negatip, *saccharate* negatip, *levulinate* negatip, *citraconate* negatip, *mesaconate* negatip, *D-tartrate* negatip, *erycytol* negatip, *adonitol* negatip, *2,3 butylene glycol* negatip, *m-hydrobenzoate* negatip, *tryptamine* negatip, *α-amylamine* negatip, *sucrose* negatip.

Tidak membutuhkan faktor tumbuh berupa bahan organik seperti *panthotenate, methionine, biotine, cyanocobalamine, methionine* atau *cystine*.

Suhu pertumbuhan antara 28 - 32 ^{o}C pH antara 6,5 - 7,2. Tidak bersifat parasit pada manusia, hewan maupun tumbuhan.

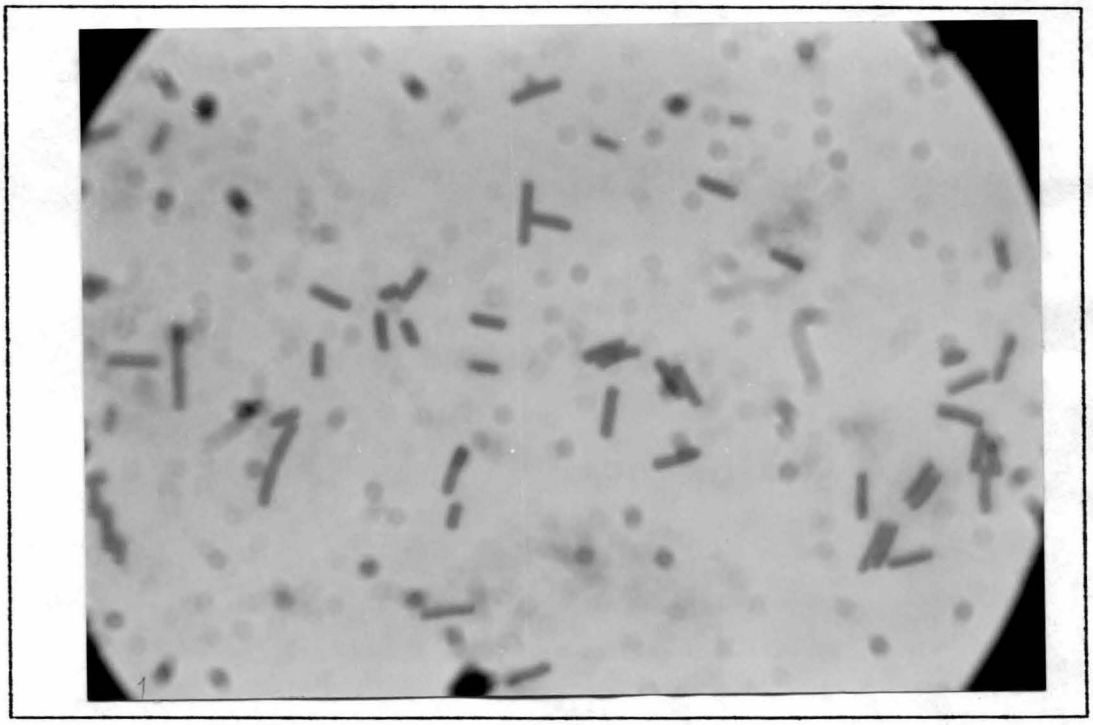
Menurut *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* Edisi IX mikroorganisme tersebut termasuk bakteri *Pseudomonas facilis*.

Berdasarkan fakta di atas maka penelitian berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme dari limbah

cair buangan rumah-tangga yang tercemar deterjen seperti temuan-47 berikut ini,

TEMUAN - 47

Jenis bakteri yang berhasil diidentifikasi adalah sebagai berikut : *Pseudomonas facilis*



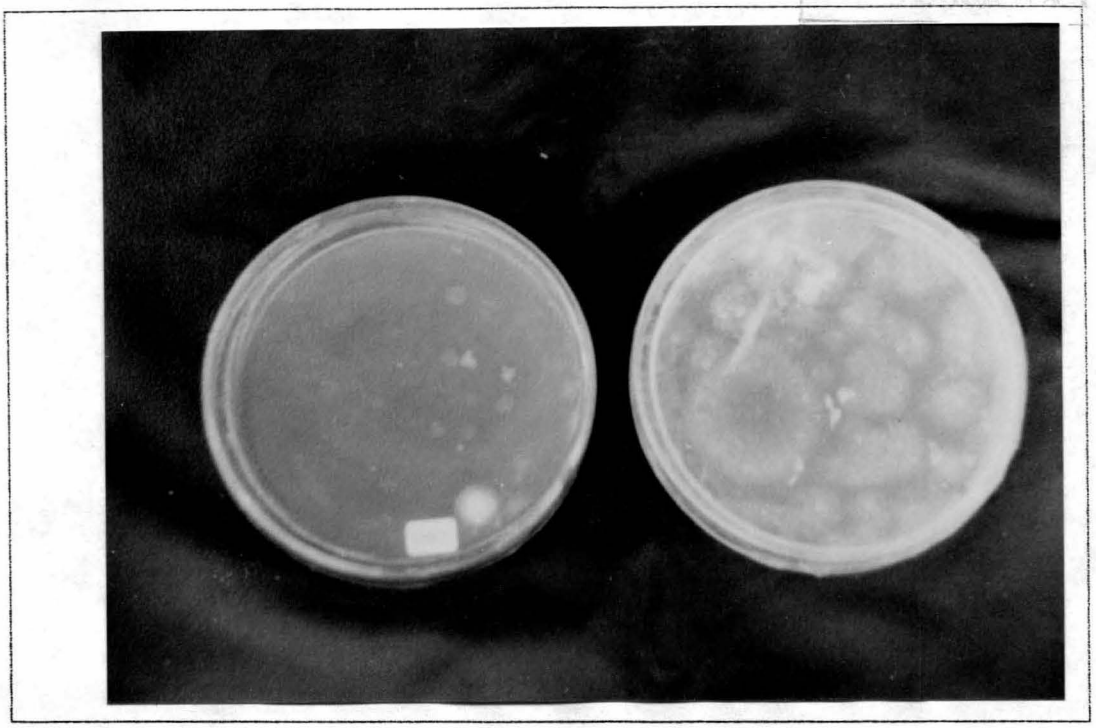
Gambar 5.2 Bakteri *Pseudomonas facilis*

Kedua jenis bakteri setelah diuji pertumbuhannya pada medium Ntrien Cair diperkaya dengan *LAS* berkadar 100 ppm ternyata dapat tumbuh, berarti mampu juga mendegradasi *LAS*.

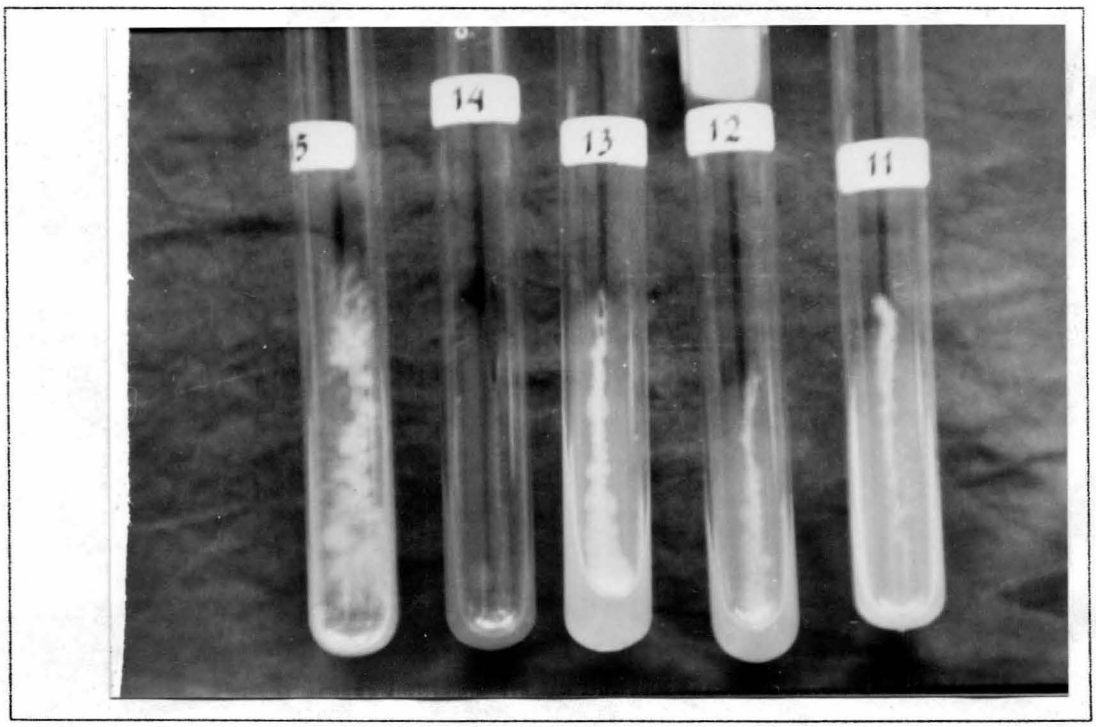
Hasil penelitian terhadap temuan-temuan tersebut didukung oleh hasil kerja di laboratorium yang disajikan pada gambar-gambar di bawah ini,

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

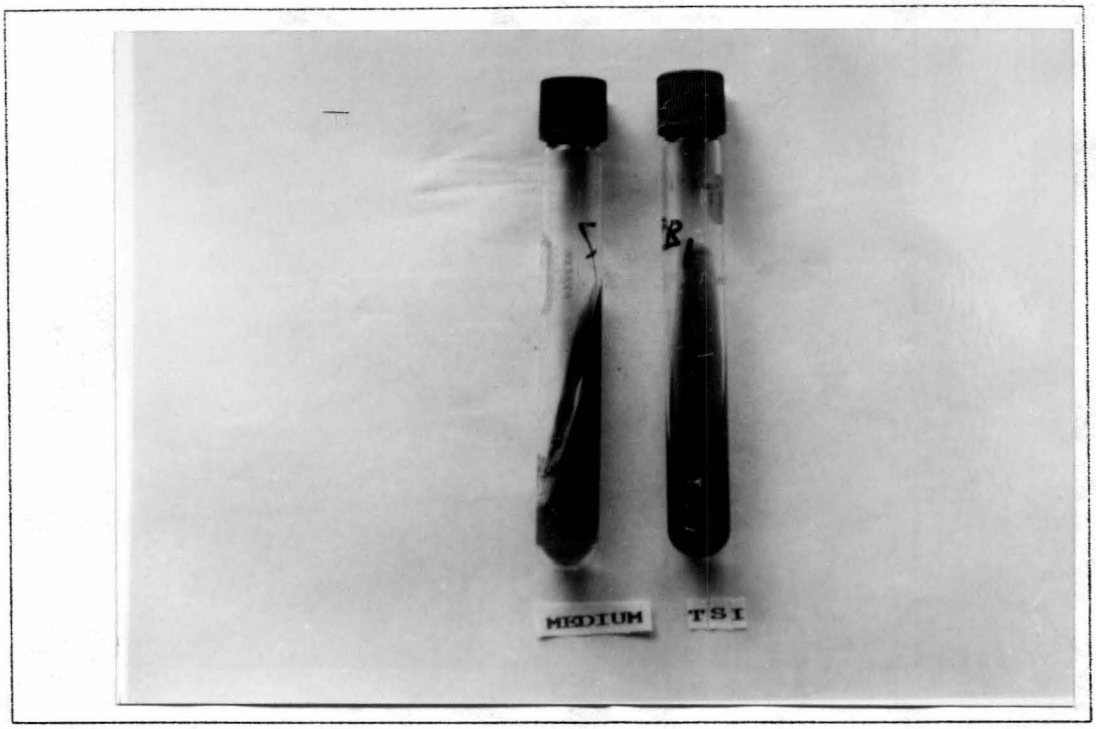
MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



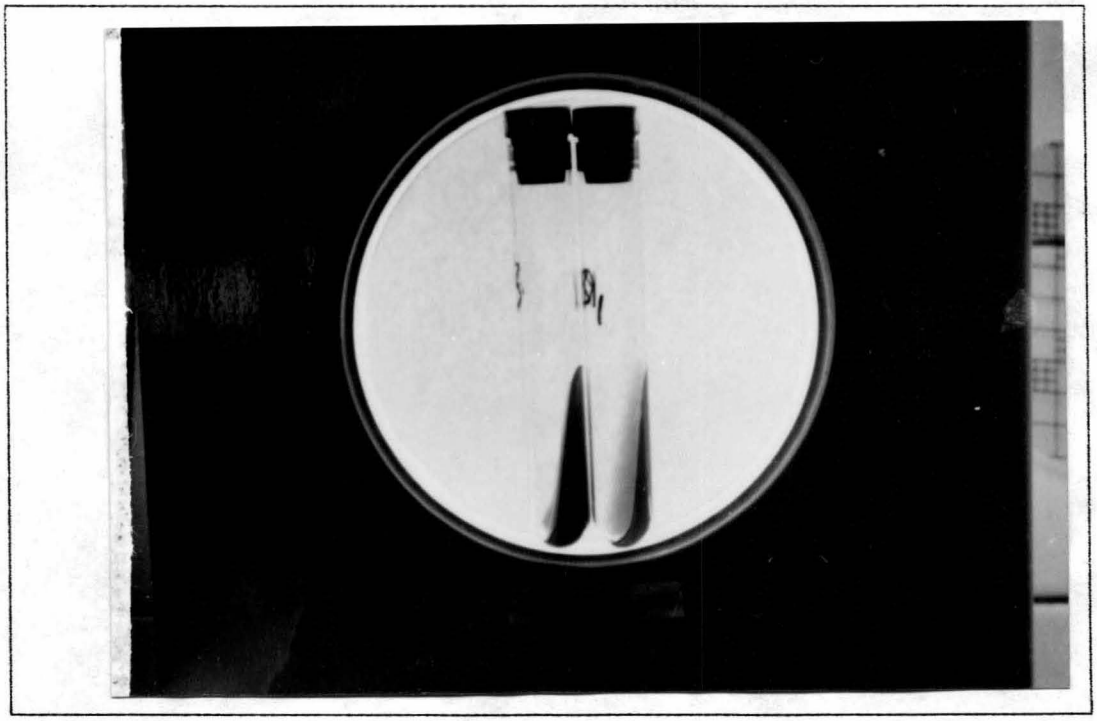
Gambar 5.3 Hasil biakan awal bakteri menggunakan medium Agar Nutrien diperkaya dengan *ABS* 100 ppm.



Gambar 5.4 Biakan murni bakteri menggunakan medium Agar Nutrien diperkaya dengan *ABS* 100 ppm.



Gambar 5.5 Karakteristik isolat-isolat menggunakan medium Triple Sugar iron Agar
Kiri : medium kosong Kanan : warna hitam karena ada pembentukan H_2S



Gambar 5.6 Karakteristik isolat-isolat pada medium Agar Simmon Citrate dalam menggunakan karbohidrat
Kiri : medium kosong berwarna hijau
Kanan: berubah warna menjadi biru karena menggunakan karbohidrat

5.3 Isolat bakteri paling pendek waktu degrasinya

Ada isolat-isolat bakteri yang mampu mendegradasi habis *ABS* dari berbagai kadar, untuk mengetahui isolat yang tertinggi kemampuan biodegradasinya, lebih tepat disajikan data waktu degradasi *ABS* yang paling pendek. Data rerata waktu degradasi dari berbagai perlakuan disajikan pada tabel 5.4 di bawah ini,

Tabel 5.4 Rerata waktu degradasi hasil perlakuan tujuh jenis inokulum bakteri (B) dengan 9 sembilan macam kadar *ABS* (B) pada $p < 0,01$

Inokulum /	Persentase degradasi (%)									
kadar ABS	0	5	10	15	20	25	30	75	100	
A	0,00 a 1	252,2 d 8	217,1 d 7	204,4 d 7	190,9 c 6	162,7 c 5	130,7 bc 4	60,6 b 3	46,6 bc 2	146,5 a
B	0,00 a 1	277,2,a 6	259,2 b 6	173,1 b 56	163,4 b 5	145,9 b 4	134,9 bc 4	60,1 b 3	47,5 bc 2	122,6 a
C	0,00 a 1	264,1 b 8	256,8 bc7	217,1 b 6	161,1 b 5	141,9 b 4	122,4 b 3	51,3 ab 2	39,8 bc 6	122,7 b
AB	0,00 a 1	179,5 b 7	167,6 c 7	165,7 c 67	162,b c 6	161,3 c 5	141,7 c 4	65,4 b 3	51,5 b 2	133,5 d
AC	0,00 a 1	204,3 a 7	201,4 a 6	191,8 a 5	142,6 a 5	117,9 a 4	104,8 a 3	46,4 a 2	36,0 a 2	106,5 a
BC	0,00 a 1	189,2 c 8	180,6 d 7	218,0 d 7	193,6 a 6	163,5 c 5	137,0 c 4	59,8 b 3	45,3 ab 2	142,4 d
ABC	0,00 a 1	162,8 a 7	145,8 b 7	159,1 ab 6	148,2 a 5	136,3 b 4	126,7 bc 4	57,9 f 3	42,7 b 2	116,5 e
D	0,00 a 1	39,1 a 3	38,5 a 3	37,4 a 3	36,0 a 3	33,5 a 3	30,3 a 3	16,3 a 2	10,1 a 12	26,8 c
E	0,00 a 1	45,2 a 3	41,8 a 3	39,3 a 3	37,6 a 3	37,2 a 3	36,1 a 3	22,1 a 2	15,2 a 2	30,5 b
Rerata	0,00 1	275,7 9	163,1 8	153,3 7	139,6 6	122,6 5	107,1 4	48,9 3	37,2 2	105,8
Std.Dev.	18,08									

Keterangan :
- Angka rerata hasil degradasi *ABS* yang didampingi huruf yang sama berarti pengaruh bakteri dalam kadar tidak berbeda secara sangat bermakna,
- Angka rerata hasil degradasi *ABS* yang didampingi angka yang sama berarti pengaruh kadar dalam bakteri tidak berbeda secara sangat bermakna,

A : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus*
B : Inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis*
C : Inokulum isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*
D : Inokulum isolat tunggal bakteri *Kurthia zopfii*

E : Inokulum isolat tunggal bakteri *Pseudomonas facilis*
AB : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus auureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*
AC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*
BC : Inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*
ABC: Inokulum campuran tiga isolat bakteri *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*
Std.Dev. : Standar deviasi
p : Probabilitas

Dari data yang disajikan pada tabel 5.4 dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

TEMUAN - 48

Waktu degradasi pada semua kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi, hasil penggunaan inokulum isolat bakteri tunggal *Kurthia zopfii* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat tunggal dan ganda yang ditemukan sebelumnya, namun tidak berbeda secara bermakna dengan penggunaan inokulum isolat tunggal bakteri *Pseudomonas facilis*. Proses degradasi menggunakan inokulum isolat bakteri tunggal *Kurthia zopfii* pada semua kadar *ABS* menghasilkan waktu degradasi terpendek antara 0,067 sampai dengan 0,106 kali lebih pendek dibandingkan dengan penggunaan inokulum isolat-isolat bakteri yang ditemukan sebelumnya.

Tabel 5.4 menunjukkan bahwa waktu degradasi dari semua perlakuan berbagai jenis bakteri dapat mencapai 10,1 - 252,2

hari. Waktu ini sangat bervariasi antara jenis bakteri satu dengan yang lainnya. Secara umum dari perlakuan jenis bakteri terhadap berbagai kadar *ABS* penggunaan inokulum isolat tunggal bakteri *Kurthia zopfii* hanya membutuhkan waktu 10,1 hari dalam mendegradasi habis *ABS* berkadar 100 ppm. Dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan Ekowati *dkk.* (1992) waktu yang diperlukan oleh isolat-isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* beserta kombinasinya yang memerlukan waktu degradasi sampai *ABS* berkadar 100 ppm habis terdegradasi sekitar 95 - 153 hari, maka *Kurthia zopfii* mampu meningkatkan efisiensi waktu degradasi degradasi 0,067 sampai dengan 0,106 kali lebih pendek.

Didukung oleh sifatnya yang tidak patogen dapat melakukan biodegradasi pada suhu yang tidak tinggi dan pH yang mendekati netral maka pengembangan pada skala selanjutnya lebih efektif dan efisien.

Dari keunggulan sifat-sifat *Kurthia zopfii* masih perlu dipertimbangkan kadar *ABS* yang mampu memberikan waktu retensi (μ) tertinggi dibandingkan dengan kadar-kadar lain yang diperlakukan.

Tabel 5.5 berikut ini adalah berbagai nilai waktu retensi (μ) dari berbagai kadar *ABS* yang diperlakukan dengan *Kurthia zopfii*.

Tabel 5.5 Nilai rerata waktu retensi (μ) berbagai kadar *ABS* yang diperlakukan dengan isolat bakteri *Kurthia zopfii*

Kadar *ABS*	Nilai μ
1,0 ppm	0,11
2,5 ppm	0,19
5,0 ppm	0,23
10,0 ppm	0,37
15,0 ppm	0,53
20,0 ppm	0,60
25,0 ppm	0,52
30,0 ppm	0,47
75,0 ppm	0,28
100,0 ppm	0,36

Dari tabel 5.5 di atas dapat ditunjukkan bahwa dari segi μ, kadar *ABS* 20 ppm merupakan kadar yang dapat memberikan μ tertinggi. Artinya untuk semua kadar yang diperlakukan, kadar 20 ppm memberikan beban yang teringan bagi kerja *Kurthia zopfii* oleh karena itu kadar 20 ppm ini akan digunakan sebagai medium yang digunakan untuk perlakuan pada Penelitian tahap ketiga, keempat, dan kelima.

5.3 Peningkatan efisiensi biodegradasi dengan pengaturan suhu dan pH sesuai untuk pertumbuhan bakteri *Kurthia zopfii*

Bakteri *Kurthia zopfii* yang telah terbukti paling efektif dan efisien melakukan biodegradasi berbagai kadar *ABS* masih harus ditingkatkan kemampuan biodegradasinya. Salah satu cara yang ditempuh adalah mengatur suhu dan pH sesuai dengan kisaran pertumbuhannya.

Hasil penelitian tahap ketiga menunjukkan adanya perbedaan-perbedaan nilai rerata waktu degradasi dari perlakuan

suhu dan pH yang diperlakukan terhadap *Kurthia zopfii*. Data disajikan pada tabel 5.6 di bawah ini,

Tabel 5.6 Rerata waktu degradasi (hari) sampai *ABS* 20 ppm habis terdegradasi ($p < 0,01$)

Kombinasi Perlakuan	Waktu Degradasi	Kombinasi Perlakuan	Waktu Degradasi	Kombinasi Perlakuan	Waktu Degradasi
S_1P_1	27.15 i	S_2P_1	23,48 h	S_3P_1	11,78 b
S_1P_2	20,64 g	S_2P_2	17,59 f	S_3P_2	8.67 a
S_1P_3	15,35 e	S_2P_3	12,51 c	S_3P_3	13,00 d

Keterangan :
Angka yang didampingi huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara sangat bermakna.

Dari sajian data pada tabel 5.6 dapat ditarik kesimpulan ddi bawah ini,

TEMUAN - 49

Terdapat perbedaan secara sangat bermakna antara waktu degradasi yang diperoleh antar kombinasi perlakuan suhu (26^oC, 28^oC, 30^oC) dan pH (7,0; 7,2;7,4) oleh bakteri *Kurthia zopfii* pada kondisi kadar *ABS* 20 ppm. *Kurthia zopfii* memberikan waktu degradasi terpendek sebesar 8,67 hari. Dibandingkan tanpa pengaturan suhu ada pemendekan waktu degradasi 1,43 hari atau 14,05 %.

Pengujian interaksi antar perlakuan disajikan pada lampiran 5. Dari sajian data yang disajikan pada lampiran 5 dapat disimpulkan,

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TEMUAN - 50

Terdapat interaksi secara sangat bermakna antarpengaruh perlakuan suhu dalam pH demikian juga pengaruh perlakuan pH dalam suhu terhadap hasil degradasi *ABS* kadar 20 ppm yang dilakukan oleh bakteri *Kurthia zopfii*.

5.4 Peningkatan kemampuan biodegradasi *Kurthia zopfii* melalui pengaturan kecepatan aerasi yang sesuai

Kemampuan biodegradasi yang telah meningkat melalui pemberian suhu dan pH pertumbuhan yang sesuai perlu ditingkatkan lagi kemampuannya dengan pengaturan pemberian aerasi. Hasil penelitian dari penelitian tahap keempat menunjukkan bahwa di antara lima macam perlakuan aerasi terdapat adanya perbedaan-perbedaan. Data rerata waktu degradasi disajikan pada tabel 5.7 berikut ini,

Tabel 5.7 Rerata waktu degradasi sampai habisnya kadar *ABS* (hari) dari perlakuan *Kurthia zopfii* dan kecepatan aerasi pada kondisi kadar *ABS* 20 ppm, suhu 30^{o}C pH 7,2 ($p < 0,01$).

Kombinasi perlakuan	Rerata waktu degradasi (hari)
Kurthia zopfii, aerasi 0,5 vvm	25,43 c
Kurthia zopfii, aerasi 1,0 vvm	17,51 b
Kurthia zopfii, aerasi 1,5 vvm	7,50 a
Kurthia zopfii, aerasi 2,0 vvm	14,66 b
Kurthia zopfii, aerasi 2,5 vvm	24,33 c

Keterangan :
Angka yang didampingi huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan secara sangat bermakna.

Dari data yang disajikan pada tabel 5.7 di atas dapat

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

ditarik kesimpulan berikut ini,

TEMUAN - 51

Terdapat perbedaan waktu degradasi secara sangat bermakna antarpengaruh kecepatan aerasi 1,5 vvm dengan kecepatan aerasi 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; dan 2,5 vvm yang dilakukan oleh bakteri *Kurthia zopfii* pada kondisi kadar *ABS* 20 ppm, dengan hasil waktu terpendek 7,50 hari. Dibandingkan tanpa pengaturan aerasi yang sesuai terdapat pemendekan waktu degradasi 1,17 hari atau 15,6 %.

Selanjutnya pengujian penggunaan bahan pengamobil bakteri *Kurthia zopfii* menggunakan natrium alginat dan karagenen diperoleh hasil seperti sajian pada tabel 5.8 di bawah ini,

Tabel 5.8 Rerata waktu degradasi *ABS* kadar 20 ppm, suhu 30^{o}C, pH 7,2 aerasi 1,50 vvm oleh bakteri *Kurthia zopfii* yang telah diamobilkan

Perlakuan	Waktu degradasi (hari)
Na-alginat	4,75 a
Karagenen	6,67 a

Keterangan : Angka yang didampingi huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan secara sangat bermakna.

Pengujian adanya perbedaan secara statistik disajikan pada tabel 5.8. Dari sajian data tersebut dapat ditarik kesimpulan,

TEMUAN - 52

Tidak ada perbedaan secara sangat bermakna antarbahan pengamobil terhadap hasil waktu degradasi yang dilakukan oleh bakteri *Kurthia zopfii* pada kondisi kadar *ABS* 20 ppm, suhu 30^{O}C, aerasi 1,5 vvm menghasilkan waktu terpendek 4,75 hari. Dibandingkan tanpa pemberian bahan pengamobil ada pemendekan waktu degradasi 2,75 hari atau 35,48 %.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 6
PEMBAHASAN

Deterjen yang merupakan bahan pembersih alat-alat rumah tangga, rumah sakit, industri dan sebagainya pemakaiannya meningkat terus-menerus.

Pencemaran menjadi sangat membahayakan apabila yang terakumulasi di lingkungan adalah deterjen yang tidak dapat terdegradasi secara mikrobiologis (*non-biodegradable*), apalagi deterjen yang dijual di pasaran Indonesia masih banyak yang menggunakan surfaktan *ABS*. Bahan ini merupakan senyawa yang resisten terhadap biodegradasi (Atlas, 1990; Schlegel, 1992; Parker, 1993) karena adanya percabangan dengan gugus metil, struktur menjadi semakin stabil (Morrison dan Boyd, 1992).

Belum dapat terdegradasinya *ABS* yang menimbulkan bahaya akibat terakumulasinya di lingkungan, mendorong usaha pencarian mikroorganisme baru yang dapat mendegradasi bahan tersebut paling tidak meningkatkan efektivitas dan efiensi kemampuan degradasi *ABS* dari penelitian yang sudah ada sebelumnya.

Usaha di atas benar-benar harus dilakukan mengingat bahan aktif deterjen seperti *LAS* yang rumus molekulnya mirip dengan *ABS* telah diteliti terbukti dapat mengganggu kesehatan hewan dan manusia antara lain gangguan respons imun pada

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

marmut (Ritz *et al.* 1993), pada manusia dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan mata, kerusakan pada hati dan ginjal (Sears dan Stanitski, 1979 ; Sugai *et al.*, 1990; Mathur *et al.*, 1992; Flyvholm, 1993).

Ekowati *et al.* (1992) telah berhasil mengisolasi 29 isolat bakteri pada medium Agar Nutrien dengan *ABS* berkadar 100 ppm sebagai sumber karbon, beberapa di antaranya dari marga-marga *Sarcina* sp, *Enterobacter* sp, *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Klebsiella* sp, dan lain-lain. Peneliti memilih tiga isolat karena berdasarkan penelitian kelanjutan yang dilakukan peneliti, isolat tersebut jelas berkemampuan tinggi dalam menguraikan surfaktan *ABS*.

Hasil identifikasi ternyata isolat-isolat tersebut adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*, dan *Staphylococcus aureus*, akan tetapi kemampuan degradasi isolat-isolat bakteri tersebut baik secara tunggal, ganda maupun dalam bentuk campuran tiga isolat bakteri masih rendah, padahal sebenarnya efektivitas dan efisiensinya masih dapat ditingkatkan dengan cara memberikan kondisi lingkungan yang sesuai kepada isolat-isolat bakteri tersebut.

Dari uraian di atas telah dilakukan penelitian tentang peningkatan efektivitas kemampuan degradasi *ABS* pada berbagai kadar yang diberikan dalam medium degradasi kepada isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter gergoviae*; ganda *Staphylococcus*

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

aureus dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*, *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae* campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* dengan teknik pengocokan.

Selain itu juga telah dicari isolat lain selain yang telah diketemukan sebelumnya dari tanah yang tercemar deterjen dalam menguraikan surfaktan *ABS* yang tidak patogen dan tidak toksik yang lebih efektif kemampuan biodegradasinya.

Larutan hasil degradasi *ABS* juga telah diuji toksisitasnya terhadap viabilitas *Escherichia coli* untuk tujuan mengetahui apakah hasil degradasi menimbulkan masalah baru terhadap lingkungan atau tidak.

Penelitian juga diarahkan untuk mencari kondisi yang sesuai untuk meningkatkan lebih tinggi lagi kemampuan biodegradasi *ABS* bagi bakteri yang telah terbukti paling tinggi efektivitasnya dan dari segi waktu paling efisien untuk diterapkan di model pengolah limbah dengan sistem kultur kontinyu, dengan harapan dapat dikembangkan pada skala yang lebih besar.

6.1 Peningkatan kemampuan isolat-isolat bakteri tunggal, ganda dan campuran tiga isolat mendegradasi *ABS* dengan perlakuan pengocokan

Pembahasan tentang peningkatan kemampuan isolat-isolat

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

bakteri tunggal, ganda dan campuran tiga isolat mendegradasi *ABS* dengan perlakuan pengocokan diawali dengan penjelasan tentang ketahanan sifat patogen bakteri *Staphylococcus aureus* karena hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* ada yang menunjukkan keunggulan hasilnya pada beberapa kadar ABS yang diberikan dalam medium, namun sifat patogennya yang diasumsikan dapat hilang selama 28 hari proses degradasi ternyata tidak terbukti.

Melalui uji patogenitas menggunakan metode uji pemecahan manitol, pemecahan DNA, dan oksidase-katalase, ternyata hanya mengalami penurunan secara kualitatip yang berarti sifat patogenitasnya tidak dapat hilang, oleh sebab itu penggunaan *Staphylococcus aureus* untuk perombakan *ABS* baik di laboratorium maupun di unit pengolah limbah tidak dapat direkomendasikan.

Jadi, pada uraian selanjutnya jika ada kombinasi perlakuan yang menggunakan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk inokulum baik dalam bentuk isolat tunggal, untuk isolat ganda, dan untuk campuran tunggal dipilih hasil degradasi yang lebih rendah namun menggunakan isolat bakteri yang tidak patogen, baik inokulum itu dalam bentuk isolat bakteri tunggal, ganda maupun campuran tiga isolat.

Jika hipotesis yang diajukan bahwa temuan isolat baru perombak *ABS* ada yang tidak patogen, tidak toksik serta kemampuannya mendegradasi *ABS* lebih tinggi daripada isolat-

isolat bakteri yang telah ditemukan sebelumnya terbukti, lebih melemahkan kenyataan ketidak layakan penggunaan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai inokulum untuk mendegradasi *ABS* pada skala laboratorium maupun skala besar di lapangan.

Pada temuan - 1 ternyata hasil persentase degradasi perlakuan inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda secara sangat bermakna dengan isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis,* dan *Enterobacter gergoviae* pada kadar *ABS* 75 dan 100 ppm. Hal tersebut karena adanya aktivitas bakteri secara tunggal memang mempunyai enzim-enzim perombak *ABS* yang berbeda, namun pada kadar rendah antara 5 sampai dengan 25 ppm tidak ada perbedaan yang bermakna, ketiga isolat bakteri dalam bentuk tunggal dapat dianggap sama, oleh sebab itu penggunaannya sebagai perombak *ABS* di alam maupun di laboratorium juga dapat dianggap sama. Salah satu isolat di antara tiga isolat dapat dipilih untuk dipakai sebagai perombak *ABS* tergantung dari kondisi yang ada di tempat penelitian akan dilakukan, kecuali penggunaan isolat bakteri *Satphylococcus aureus* tidak dapat direkomendasikan.

Selanjutnya temuan - 1 menyatakan juga bahwa pada kadar *ABS* 30 ppm aktivitas degradasi inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil degradasi 25,0 % berbeda sangat bermakna dengan aktivitas degradasi

inokulum isolat tunggal bakteri *Staphylococcus epidermidis* memberikan hasil degradasi 17,2 % secara teoritis *Staphylococcus aureus* jauh lebih unggul daripada *Staphylococcus epidermidis*, namun penggunaan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai inokulum tidak direkomendasikan.

Pada temuan - 2 dalam mendegradasi *ABS* berkadar rendah maupun tinggi yaitu 20 sampai dengan 100 ppm saling berbeda secara sangat bermakna dengan kadar *ABS* 5 ppm, yang berarti telah ditemukan aktivitas kerja enzim perombak *ABS* pada setiap kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi, demikian juga penggunaan *ABS* pada kadar 10 dan 15 ppm tidak ada perbedaan, secara teoritis hasil penelitian ini bermakna untuk dikembangkan lebih lanjut di tingkat laboratorium maupun lapangan, namun mengingat *Staphylococcus aureus* tidak kehilangan sifat patogenitasnya selama 28 hari proses degradasi maka temuan - 2 ini tidak dapat direkomendasikan.

Pada temuan - 3 *Staphylococcus epidermidis* mampu memberikan hasil persentase degradasi yang berbeda secara bermakna antara kadar *ABS* 5 ppm dengan kadar *ABS* 20 sampai dengan 100 ppm, berarti telah ditemukan aktivitas kerja enzim perombak *ABS* pada setiap kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi yang berbeda secara bermakna. Untuk kadar *ABS* 5, 10, dan 15 ppm yang tidak berbeda secara bermakna dapat ditarik manfaat bahwa bakteri *Staphylococcus*

epidermidis dapat digunakan sebagai inokulum proses perombakan *ABS* pada kisaran 5 sampai dengan 15 ppm walaupun kisaran kadar *ABS* tersebut berubah-ubah. Keuntungan lainnya dari temuan ini jika *ABS* akan digunakan sebagai bahan penelitian untuk digunakan sebagai sumber karbon nutrisi pertumbuhan bakteri, jika untuk pemberian 15 ppm cukup diberikan 5 ppm saja.

Temuan - 4 menunjukkan bahwa *Enterobacter gergoviae* adanya perbedaan secara sangat bermakna pada setiap kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi telah mempunyai kelebihan bahwa aktivitas enzim perombak *ABS* ternyata berbeda untuk kadar setiap *ABS*, namun terdapat fenomena yang khusus bahwa antara kadar *ABS* 10 dan 100 ppm tidak terdapat perbedaan. Hal ini mungkin disebabkan *Enterobacter gergoviae* kemampuannya mendegradasi *ABS* pada kadar rendah yaitu 10 ppm dan kadar tinggi 100 ppm tidak berbeda, namun fenomena ini masih perlu dikaji lebih lanjut.

Temuan - 5 sampai dengan temuan - 7 menunjukkan bahwa berbeda secara bermakna maupun tidak kemampuan inokulum isolat ganda lebih tinggi daripada kemampuan inokulum isolat tunggal, hal ini sebenarnya telah dibuktikan oleh Ekowati *et al.*, (1992), namun ternyata dengan perlakuan pengocokan karjasama antarbakteri satu dengan lainnya tidak mengalami gangguan yang berarti.

Temuan - 8 juga menunjukkan bahwa rerata hasil degrada-

si *ABS* isolat tunggal *Staphylococcus aureus* pada kadar 30 75, dan 100 ppm berbeda sangat bermakna dengan rerata hasil degradasi campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae* pada kadar rendah 5 sampai dengan 25 ppm tidak terdapat perbedaan. Pada temuan ini bagaimanapun tingginya hasil degradasi, maupun tidak adanya perbedaan hasil degradasi tidak dapat digunakan untuk pengembangan penelitian maupun terapan lebih lanjut karena kedua inokulum mengandung *Staphylococcus aureus*.

Temuan - 9 ternyata isolat ganda *Staphylococcus epidermdis* dengan *Enterobacter gergoviae* memberikan hasil yang lebih tinggi daripada aktivitas inokulum dalam bentuk isolat tunggal *Staphylococcus epidermidis*. Dalam hal ini bakteri-bakteri yang telah di alam dengan sifat *endogenous*-nya telah ada kerjasama kemudian mengalami aklimatisasi secara buatan di laboratorium dengan baik ternyata tetap dapat bertahan dalam jangka waktu cukup lama, yaitu 28 hari.

Temuan - 10 ternyata isolat ganda *Staphylococcus epidermdis* dengan *Enterobacter gergoviae* juga memberikan hasil yang lebih tinggi daripada aktivitas inokulum dalam bentuk isolat tunggal bakteri *Enterobacter gergoviae*.

Selanjutnya temuan 11 sampai dengan 22 juga menunjukkan hal yang hampir serupa, dari keseluruhan temuan dapat disimpulkan bahwa antara inokulum isolat tunggal, ganda, dan

campuran tiga isolat ternyata yang dapat dikembangkan lebih lanjut adalah inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermdis* dengan *Enterobacter gergoviae*.

Terdapatnya pengaruh interaksi secara sangat bermakna antar inokulum isolat tunggal bakteri dan isolat ganda dan campuran tiga isolat bakteri yang digunakan dalam delapan macam kadar *ABS* yang diberikan dan delapan macam kadar *ABS* yang diberikan ke dalam medium degradasi dalam ketujuh jenis bakteri yang digunakan sebagai inokulum, kecuali kadar 0 ppm. Pada temuan - 23, menunjukkan tingginya persentase degradasi *ABS* oleh bakteri dalam bentuk ganda dan campuran tiga isolat dibandingkan dengan bentuk tunggal jelas merupakan sebab adanya kerja sinergistik antar bakteri satu dengan lainnya dalam melakukan degradasi *ABS*.

Sebagai akibat meningkatnya persentase degradasi *ABS* maka waktu degradasi menjadi lebih pendek atau efisiensi kemampuan degradasi menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan proses degradasi tanpa pengocokan.

Temuan-temuan 23 sampai dengan 45 pada dasarnya serupa dengan pembahasan pada temuan 1 sampai dengan 22, karena waktu degradasi merupakan perhitungan hasil konversi dari persentase degradasi. Jadi waktu degradasi terpendek diperoleh dari kombinasi perlakuan penggunaan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 36,0 hari. Hasil perhitungan

memang menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan tersebut menghasilkan waktu degradasi terpendek, namun karena menggunakan *Staphylococcus aureus* sebagai bahan untuk inokulum maka penggunaan inokulum untuk pengembangan lebih lanjut tidak direkomendasikan.

Sebagai pengganti penggunaan inokulum isolat ganda bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* tersebut adalah inokulum yang mampu menghasilkan waktu degradasi lebih pendek namun tidak menggunakan *Staphylococcus aureus* sebagai bahan untuk inokulum. Inokulum yang dimaksud adalah isolat ganda bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae*, kemampuannya menghasilkan waktu degradasi sebesar 45,3 hari.

6.1.1 Uji hasil biodegradasi terhadap viabilitas *Escherichia coli*

Hasil penelitian hasil degradasi yang diuji toksisitasnya menggunakan *Escherichia coli* tidak patogen menunjukkan bahwa logarithma jumlah *Escherichia coli* yang dapat tumbuh di cawan Petri dengan medium Agar Nutrien dengan jumlah awal 10^1 sel / ml pada semua perlakuan berkisar 9^9 - 10^9 sel / ml pada waktu inkubasi 12 jam.

Hasil penelitian merupakan bukti bahwa hasil degradasi tidak toksik bagi *Escherichia coli*, dengan asumsi bahwa *Escherichia coli* merupakan bakteri yang merupakan populasi

terbanyak, paling tahan, dan cepat berkembang di perairan maka dapat dinyatakan bahwa hasil degradasi tidak toksik bagi lingkungan, khususnya lingkungan perairan. Ketidak toksikan tersebut juga didukung oleh pernyataan Bailey (1989) dan Cain (1976) *dalam* Anonim (1991) bahwa oksidasi surfaktan *ABS* identik dengan β-oksidasi asam karboksilat yang dapat menghasilkan senyawa antara bersifat disinfektan yaitu **alkohol dan aldehid namun tidak dapat larut sebagai metabolit.** Jadi jika pada waktu lama mikroorganisme perombak *ABS* mati kemudian sel lisis dan alkohol serta aldehid kemudi an larut ke dalam medium, namun sampai sejauh ini belum pernah ada laporan penelitian yang menunjukkan bahwa *Escheri chia coli* mampu mengkonsumsi alkohol dan aldehid sebagai sumber karbon.

Pada lampiran-1 telah dapat diketahui bahwa *Kurthia zopfii* telah dapat mendegradasi habis *ABS* pada kadar 75 dan 100 ppm yang berarti toksisitas *ABS* telah dapat dihilangkan sama sekali oleh aktivitas kerja degradasi *ABS* yang dilakukan oleh bakteri tersebut.

Dengan toksisitas *ABS* yang telah dapat dihilangkan oleh bakteri, khususnya oleh *Kurthia zopfii* maka dampak negatip keberadaan *ABS* di perairan dapat dihilangkan, setidak-tidaknya dikurangi sekecil mungkin, mengingat akibat yang ditimbulkan sangat membahayakan. Adapun kelainan-kelainan dan gejala penyakit yang dapat ditimbulkan oleh adanya

kontak langsung atau terkonsumsi secara sengaja ataupun tidak sengaja diuraikan pada uraian di bawah ini,

6.1.1 Kelainan-kelainan pada hewan dan manusia akibat surfaktan deterjen

6.1.1.1 Kelainan pada hewan

6.1.1.1.1 Kelainan pada marmut akibat *LAS*

Kelainan yang terjadi pada marmut akibat *LAS* dipakai sebagai salah satu model karena senyawa ini mirip dengan *ABS*, hanya berbeda percabangan rantai karbonnya saja. *LAS* rantai karbonnya lurus sedang pada *ABS* rantai karbonnya bercabang. Jadi kejadian yang timbul dapat diasumsikan sama.

Mathur *et al.*, (1992) melaporkan tentang penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Toksikologi Industri di Lucnow, India (*Industrial Toxicology Research Centre, Lucnow, India*). Penelitian dilakukan pada 40 ekor marmut dengan berat 250 g yang diperlakukan dengan *LAS* (60 mg/kg dilarutkan dalam akuades), *hexachlorocyclohexane* (*HCH*) dilarutkan dengan aseton, dan *LAS* dicampur dengan *HCH* (60 m/kg ditambah 100 mg/kg).

Marmut dipelihara secara terpisah dan dijaga ketat dari pengaruh bahan-bahan kimia lain selain bahan kimia yang diperlakukan. Hati dan ginjalnya akibat perlakuan dan kontrol diamati setelah 30 hari.

Pengamatan dilakukan pada jaringan organ-organ yang

sudah dihomogenkan dalam 0,25 M larutan sukrose (10% w/v) dingin untuk uji-uji biokimia dan larutan 0,15 M KCl untuk uji peroksidase lipida menggunakan *Potter Elvehjem type homogenizer*.

Uji-uji biokimia pada hati dan ginjal meliputi *β-glucoronidase* (*β-Glu*), *gamma glutamyl transpeptidase* (*GGT*), *5-nucleotidase* (*5-ND*), dan *sorbitol dehydrogenase* (*SDH*). Uji lainnya adalah peroksidasi lipida (*lipid peroksidation, LPO*), uji *glutathione*, dan uji histopatologik.

6.1.1.1.1.1 Kelainan-kelainan pada hati marmut

Hasil penelitian setelah selang waktu 30 hari diperlakukan terhadap hati marmut menunjukkan bahwa *LAS*, *hexachlorohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorohexane* berpengaruh secara bermakna terhadap enzim-enzim pada hati.

Aktivitas *β-glucoronidase* meningkat secara bermakna baik pada perlakuan pemberian *hexachlorocyclohexane* demikian juga dengan *LAS* yang dicampur *hexachlorocyclohexane*.

Aktivitas *gamma glutamyl transpeptidase* juga meningkat setelah perlakuan pemberian *LAS*, *hexachlorocyclohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane*.

Enzim *5-nucleotidase*, aktivitasnya juga meningkat secara bermakna, hal yang serupa juga terjadi pada aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase*. Paparan tersebut telah disajikan pada tabel 2.1.

Pada jaringan hati ditemukan bahwa *LAS* menyebabkan adanya perubahan pada globulus lemak yang mencolok, terjadi pembesaran gelembung-gelembung (lobule) dan adanya bentukan sinusoidal yang membesar.

6.1.1.1.1.2 Kelainan-kelainan pada ginjal marmut

Hasil penelitian setelah selang waktu 30 hari perla kuan, ternyata *LAS, hexachlorocyclohexane*, dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane* berpengaruh secara bermakna terhadap enzim-enzim pada ginjal.

Aktivitas *β-glucuronidase* meningkat secara bermakna dari perlakuan pemberian *LAS, hexachlorocyclohexane* dan *LAS* dicampur dengan *hexachlorocyclohexane. Gamma glutamyl trans-peptidase* juga meningkat aktivitasnya setelah perlakuan.

Enzim *5-nucleotidase*, aktivitasnya juga meningkat secara bermakna, hal yang serupa juga terjadi pada aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase*. Paparan tersebut disajikan pada Tabel 2.2.

Pada jaringan ginjal ditemukan adanya kerusakan-kerusakan akibat *LAS* pada bagian kulit luar ginjal setelah 30 hari pengamatan.

Hexachlorocyclohexane menyebabkan peningkatan terjadi-nya kerusakan pembuluh darah, termasuk sel-sel darah merah, ada kerusakan sedang pada sel-sel epitel pembuluh darah, dan terjadi akumulasi benda-benda bentuknya tak beraturan

(*amorphous*) di dalam lumen pembuluh darah.

LAS dan *hexachlorocyclohexane* menyebabkan perluasan kerusakan bagian epitel pembuluh-pembuluh darah dan jaringan *interstitial*. Pada lokasi tersebut terakumulasi sel-sel mononukleus disekitar kapsul Bowman, sedang di lokasi lain terdapat sejumlah besar sel dan terjadi radang (*inflamation*) secara kronis di dalam jaringan *interstitial*.

6.1.1.1.1.3 Terjadinya kelainan pada hati dan ginjal marmut

Kelainan-kelainan pada hati dan ginjal marmut yang diperlakukan dengan *LAS*, *hexachlorocyclohexane*, dan kombinasi *LAS* dengan *hexachlorocyclohexane* disebabkan karena pengaruh langsung adanya absorbsi bahan-bahan kimia ke dalam organ sasaran melalui lapisan luarnya.

Temperatur dan kelembaban merupakan penentu terjadinya absorbsi pestisida. Adanya tambahan faktor lain pada deterjen berpengaruh terhadap kecepatan penetrasi bahan tersebut ke dalam kulit organ.

Toksisitas bahan kimia yang diberikan mungkin dipengaruhi oleh kecepatan absorbsi, translokasi, dan metabolisme *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* setelah menjangkau hati dan ginjal.

Perubahan yang terjadi pada enzim *β-glucuronidase* pada lisosom dan enzim *5-nucleotidase* pada membran sitoplasma merupakan tanda terdapatnya kelainan pada jaringan organ

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

sasaran.

Adanya perubahan pada aktivitas enzim *gamma glutamyl transpeptidase*, yang mengkatalisis grup *γ-glutamyl* peptida kepada peptida lain atau reseptor asam amino, menunjukkan adanya indikasi bahwa terjadinya kerusakan sel-sel parenkim hati dan ginjal disebabkan oleh bahan xenobiotik atau metabolitnya.

Bahan xenobiotik juga dapat mengakibatkan terganggunya aktivitas enzim *sorbitol dehydrogenase* dalam menjalankan proses reaksi oksidasi, reduksi, dan interkonversi *fructose* dan *sorbitol*.

Peningkatan *lipid peroksidation* (*LPO*) pada grup-grup yang diperlakukan dengan *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* menunjukkan bahwa bahan kimia tersebut membentuk radikal bebas yang bersifat toksik terhadap organ sasaran.

Bahan xenobiotik yang diberikan dalam bentuk tunggal merusak ikatan membran ikatan enzim (*membrane - bound enzymes*), tetapi jika digunakan secara simultan (bersambung) menyebabkan kerusakan jaringan, dan apabila *LAS* dan *hexachlorocyclohexane* digunakan secara bersamaan menyebabkan kerusakan yang lebih berat pada jaringan hati dan ginjal.

Para peneliti juga membuktikan kebenaran pernyatannya bahwa hasil penelitiannya sangat mendukung terjadinya kerusakan pada hati dan/atau ginjal bagi para pekerja di industri dan/atau pertanian yang dipengaruhi langsung oleh bahan-

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

bahan xenobiotik tersebut (Mathur *et al.*, 1992)

6.1.1.5 Perubahan morfologis dan ultrastruktural pada ikan *Ictalurus*

Zeni *et al.*, (1992) melakukan penelitian terhadap ikan *Ictalurus* sp yang diperoleh di pasaran panjang 15 - 18 cm. Ikan dimasukkan ke dalam akuarium berisi air minum (*tap water*) ditambah *ABS* dengan konsentrasi 3 ppm, kemudian diamati perubahan morfologis dan ultrastruktur organ menyerupai kuncup yang peka rasa (*barbel taste buds*) setelah 3, 6, 9, 12 dan 15 hari.

Pada mulanya ikan dikondisikan pada suhu 18-21^{o}C selama 15 hari pada air minum (*tap water*) yang telah dihilangkan kandungan khlornya. Makanan dalam bentuk pelet tetap diberikan setiap hari. Sebagai kontrol digunakan *LAS* bebas pengaruh air minum dengan kadar sama. Air yang digunakan untuk akuarium diganti setiap 24 jam dan kadar *LAS* dipertahankan konstan.

Organ yang diteliti maupun kontrol dianastesi menggunakan *ethyl-m-aminobenzoate* MS-222 SIGMA kemudian dipotong-potong menjadi fragmen kecil-kecil. Selanjutnya difiksasi *glutaraldehide* 2,5 % dalam bufer fosfat 0,1 M, pH diatur pada 7,4 dan dicuci dengan bufer.

Dicuci lagi menggunakan *osmium tetroxide* dengan bufer yang sama. Setelah dikeringkan dengan campuran alkohol dan propilen-oksida fragmen-fragmen ditanam di dalam *araldite*.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Hasil irisan agak tipis menggunakan mikrotom-ultra kemudian diwarnai dengan toulidin biru (*toulidine blue*), hasilnya diamati dengan mikroskop.

Ikan *Ictalurus* sp yang telah dipelihara pada air minum yang mengandung *LAS* 3 ppm diamati morfologi kulit organ perasa sensitifnya.

Fakta menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke 3 secara umum masih serupa dengan kontrol, jadi belum terjadi perubahan bagian-bagian badan yang berarti, namun aktivitas kehidupan *light cells* dan *dark cells* mulai terhenti.

Pada hari ke 6 sudah tampak adanya kerusakan-kerusakan yakni adanya pelebaran pembuluh-pembuluh darah yang berarti, yaitu menjadi stasis.

Setelah 9-12 hari dipelihara dalam air minum yang mengandung lapisan *LAS* 3 ppm, ternyata telah terjadi kerusakan lapisan epidermis yang bersifat germinatif dan tampak ada bekas pembesaran pembuluh darah. Dari 500 organ yang diamati terdapat 30% yang telah rusak.

Pada hari ke 15 sudah terjadi kerusakan 32 %, epidermis menjadi lebih tipis, dan morfologi organ perasa sensitif menjadi sangat sulit diamati.

6.1.2 Terjadinya perubahan morfologis dan ultrastruktur pada ikan *Ictalurus*

Pada hari ke 6 mulai terjadinya respons peradangan (*inflamation*) yang bertipe pelebaran pembuluh darah, stasis

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

pembuluh darah, dan peningkatan sirkulasi limfosit. Hal ini benar-benar disebabkan oleh pengaruh *LAS* yang diperlakukan.

Pada hari ke 9-15 terjadi kerusakan ultrastruktur di bagian puncak dan seluruh epidermis organ sensitif.

Bahan aktif deterjen jelas mempunyai hubungan terhadap penipisan lapisan epitelial.

6.1.3 Toksisitas *LAS* pada udang *Pinaeus monodon*

Pengujian efek toksik *LAS* pada larva dan juvenil udang *Penaeus monodon* menunjukkan bahwa nilai LC 50 selama 24 jam pada *the zoea 2nd substage*, hasil perbanyakan fase *mysis 2nd substage*, dan *post larva* berturut-turut sebesar 0,06; 0,10; dan 3,11 ppm. Nilai LC_{50} setelah 48 jam pada ketiga jenis larva adalah pada 0,07; 1,03, dan 4,36 ppm. Terbentuknya *hepatopancreatic glutathione* (*GSH*) pada juvenil larva setelah kadar *LAS* melebihi 1,0 ppm.

Setelah kadar *LAS* melebihi 10,0 ppm aktivitas malat dehidrogenase serum juvenil larva meningkat secara bermakna (Hwang, 1993).

6.1.4 Penyakit pada manusia akibat *LAS*

Pada manusia surfaktan *LAS* dapat menyebabkan gangguan-gangguan sebagai berikut :

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

6.1.4.1 Gangguan pada kulit

6.1.4.1.1 Gangguan akibat bekerja di industri tekstil dan produk-produknya

Ganggaun yang sering terjadi pada manusia adalah terjadinya gejala klinis penyakit yang sebagian besar alergi. Hal ini ternyata sering ditemui adalah timbulnya *intoleran atopik* bagi pekerja pada pabrik *wool* dan serat sintetik, dan alergi dermatitis akibat kontak umum disebabkan karena proses "penyelesaian" (finishes) dan "pematian" (dyes) pada waktu proses pembuatan bahan tekstil, meskipun terjadinya alergi mungkin tidak hanya disebabkan oleh *LAS* tetapi juga dapat disebabkan oleh *wool* dan serat sintetik.

Bahan "pemati" *Disperse Blue 106* dan *124* secara khusus dapat berpotensi sebagai bahan yang sangat sensitif penyebab *"legins dermatitis"*.

Terjadinya penyakit karena tekstil dapat dicegah antara lain bila kondisi suhu dan kelembaban di sekitar mampu mencegah kerusakan dan tidak ada bahan karsinogenik, toksik dan penyebab alergi.

Apabila pada bahan tekstil dan kosmetiks digunakan substansi yang secara potensial menyebabkan alergi maka harus ada peraturan yang jelas kadar pemberiannya (Elsner, 1994).

6.1.4.2 Gangguan pada pekerja di industri dan di rumah-tangga

Deterjen yang digunakan sebagai pembersih di industri

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

dan di rumah-tangga menyebabkan iritasi dan alergi pada kulit akibat kontak langsung.

Bahan pembersih (*cleaning agents*) yang digunakan di Jerman pernah didata oleh *the Danish Product Register Data Base (PROBAS)* ternyata terdaftar 2350 jenis bahan pencuci dan pembersih yang mengandung 1250 jenis bahan kimia yang pernah dijual di Jerman pada bulan Pebruari tahun 1992.

Di antara 49 jenis alergi kontak di dalam 16 macam produk bahan pencuci dan pembersih yang terdaftar tersebut. Selanjutnya beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa bahan pencuci ada yang menyebabkan eksim (eczema), yang jumlahnya tidak dilaporkan.

Bahan preservatif dan bahan aktif permukaan (*surface active agents*) merupakan penyebab utama terjadinya alergi akibat kontak. Bahan preservatif dan juga bahan aktif permukaan *iso thiazolinones, formaldehide* dan *diethanolamide* terdaftar sebagai bahan penyebab alergi akibat kontak dengan bahan pembersih pada umumnya, pembersih kulit, pembersih rambut (*"hair shampoos"*), pembersih lantai (*"floor polishes"*) (Flyvholm, 1993).

Pada penelitian yang dilakukan terhadap pekerja di rumah sakit menunjukkan bahwa prevalensi iritasi dermatitis karena kontak dapat mencapai 44 %, alergi dermatitis akibat kontak 17 % dan dermatitis atopik 15 % (Flyvholm,1993).

Pada penelitian lain yang dilakukan terhadap pekerja

pembersih pakaian lainnya menunjukkan bahwa di antara 1237 pekerja dilaporkan 12 % mengalami gejala kerusakan pada kulit, kemudian setelah beberapa bulan meningkat menjadi 30 %. Pada umumnya gejala kerusakan disebabkan karena kontak langsung dengan bahan pencuci berbentuk basah (Flyvholm, 1993).

Jumlah keseluruhan bahan pembersih yang diteliti oleh *PROBAS* pada bulan Pebruari 1992 mencapai 5500 jenis, setengahnya terbukti menyebabkan alergi akibat kontak (Flyvholm, 1993).

Data dan keterangan tersebut di atas diperoleh dari luar negeri karena di dalam negeri belum ada data terinci mengenai gejala penyakit yang timbul akibat *LAS* dan/atau *ABS*, namun demikian data tersebut dapat digunakan sebagai bahan untuk mengantisipasi tentang akan timbulnya akibat yang serupa di Indonesia antara lain timbulnya hipersensitivitas tipe I yaitu yang dapat menimbulkan alergi dalam waktu cepat setelah kontak dengan surfaktan deterjen dan tipe IV yaitu timbulnya alergi setelah lama kontak langsung dengan deterjen (Roitt, 1990).

Gejala-gejala penyakit di atas apabila tidak ada usaha pencegahan penurunan kadar *ABS* di lingkungan khususnya lingkungan perairan yang dilakukan sejak dini.

Penelitian kelanjutannya yang diupayakan untuk mencari isolat baru tidak patogen, tidak toksik, apalagi bila kemam-

puan degradasi *ABS*-nya lebih tinggi dari isolat-isolat yang telah ditemukan benar-benar sangat diharapkan.

6.2 Isolat-isolat baru yang diisolasi dari limbah cair buangan rumah tangga yang tercemar deterjen

Di antara 12 isolat yang diisolasi dari limbah cair buangan rumah tangga ditemukan 2 jenis bakteri. Kedua jenis bakteri tersebut adalah : *Kurthia zopfii* dan *Pseudomonas facilis*.

Berdasarkan laporan Konsorsia tentang degradasi surfaktan xenobiotik oleh mikroorganisme aerobik tahun 1996, kedua jenis bakteri tersebut memang belum pernah dipublikasi kan sebagai mikroorganisme pendegradasi *ABS* (van Ginkel, 1996).

Secara umum ada beberapa faktor yang mendukung hasil penelitian ini. Limbah cair buangan rumah tangga yang tercemar deterjen dan air permukaan seperti danau, sawah, sungai sangat mudah tercemar oleh bahan-bahan tak hidup (abiotik) maupun oleh benda - benda hidup (biotik). Kebera-daan kedua komponen tersebut dalam limbah cair buangan rumah tangga, seringkali saling mendukung.

Eratnya hubungan tersebut di atas dapat digambarkan dengan rumus sebagai berikut

Air buangan rumah tangga + H_2O ----> H_2O + a

Huruf a mensimbulkan faktor biotik maupun abiotik.

Faktor abiotik meliputi mineral, zat-zat organik, oksigen

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

terlarut. Zat-zat tersebut merupakan substrat yang dapat digunakan sebagai media alami bagi kehidupan faktor biotik yang mendukungnya.

Keberadaan faktor abiotik dalam kondisi optimal menyebabkan limbah cair buangan rumah tangga yang mengandung surfaktan deterjen tidak hanya dihuni oleh bakteri yang secara alami berasal dari air (***autotochnus***), seperti bakteri belerang dan bakteri besi melainkan juga bekteri dan mikroorganisme lainnya yang bersifat ***transien.***

Salle (1988) berpendapat bahwa kandungan zat-zat pada limbah cair buangan rumah tangga dan air yang demikian kompleks menyebabkan air buangan rumah tangga dan air menjadi media yang cocok untuk mikroorganisme baik dari air buangan rumah tangga, air, maupun mikroorganisme transien.

Keberadaan senyawa-senyawa organik di dalam air sebagai akibat pencemaran oleh limbah cair buangan rumah tangga akan mengundang kehadiran bakteri atau mikroorganisme lainnya yang bersifat ***zymogenik***, yaitu mikroorganisme yang kehadirannya di dalam air diakibatkan oleh adanya pengaruh-pengaruh luar yang baru, misalnya penambahan zat organik. Dalam hal ini zat-zat penyusun deterjen termasuk surfaktan *ABS.*

Kurthia zopfii menurut *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* Edisi IX (1994) merupakan mikroorganisme saprofit, tidak patogen, bersifat aerob dan mempunyai kisaran suhu pertumbuhan antara 25 - 30^{o}C dan pH sekitar netral

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

yaitu antara 7,0 - 7,4.

Sifat saprofit dan tidak patogen *Kurthia zopfii* jelas unggul jika dikembangkan sebagai mikroorganisme pengurai *ABS* di laboratorium maupun di unit-pengolah limbah sebab jika selama proses degradasi bakteri tersebut terlepas ke alam bebas kemudian bakteri tersebut dikonsumsi secara langsung maupun tidak langsung dari segi kesehatan lingkungan tidak menimbulkan masalah.

Kurthia zopfii yang dapat tumbuh baik secara aerob juga bermanfaat sebab proses perombakan *ABS* yang harus dilakukan secara aerob sangat sesuai dengan kebutuhan kehidupannya.

Bakteri ini sangat menguntungkan apabila ditinjau dari kisaran suhu dan pH untuk pertumbuhannya. Kisaran suhu pertumbuhannya merupakan suhu harian daerah tropis pada khususnya dan sebagian daerah beriklim sedang, sedangkan pH netral agak basa sesuai dengan kondisi pH air yang tercemar deterjen pada umumnya, sehingga untuk keperluan proses degradasi tidak diperlukan biaya mahal untuk pemanasan dan pengaturan pH.

Kurthia zopfii juga merupakan bakteri yang bersifat aerob sehingga sangat menguntungkan apabila digunakan dalam proses aerobik, karena tidak perlu melakukan penyesuaian untuk kehidupannya pada lingkungan yang bersifat aerobik.

Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada kondisi lingkungan baru yang berbeda dengan kondisi kehidupannya di alam sangat banyak mengalami kegagalan untuk hidup. Jika mungkin dapat

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

berhasil biasanya harus mengalami perlakuan rekayasa genetika, walaupun demikian hasilnya tetap belum dapat terjamin karena sifat-sifat "baru"-nya dapat muncul hanya jika perubahan genetik dapat terekspresi (Prentis, 1990). Bagi negara berkembang seperti Indonesia "penciptaan" mikroorganisme yang memiliki sifat-sifat "baru" dengan teknik rekayasa genetika masih sangat mahal.

Atlas dan Bartha (1990), Gunalan (1993), Suharni (1993) mendukung keberadaan mikroorganisme khususnya bakteri di dalam limbah cair buangan rumah tangga yang telah ditemukan. Mikroorganisme yang secara alami merupakan penghuni tubuh manusia dan hewan seringkali ditemukan secara luas di alam tercampur di dalam limbah buangan rumah tangga. Salah satu mikroorganisme yang dimaksud adalah *Pseudomonas facilis* .

Mikroorganisme tersebut mempunyai sistem genetik yang mampu mensintesis ensim sehingga dapat beradaptasi dan mendegradasi surfaktan deterjen *ABS*. Hal serupa juga terjadi pada *Pseudommonas fluorescens* ANP15 dan *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 dalam mempertahankan kemampuannya untuk hidup pada deterjen anionik dan nonionik sampai 25 hari.

Bahan tersebut dipecah kemudian molekul yang lebih sederhana digunakan sebagai sumber enersi untuk pertumbuhannya (Devliegher, 1995).

Pseudomonas facilis juga memiliki keunggulan lain yaitu tidak membutuhkan faktor tumbuh bahan organik yang mahal harganya seperti : *biotin, cyanocobalamin, panthotenate,*

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

methionine atau *cystein* (Sneath *et al.*, 19888). Bakteri ini juga bersifat aerob sehingga sangat menguntungkan jika digunakan untuk proses degradasi secara aerob (Sneath *et al.*, 1988).

Keunggulan *Pseudomonas facilis* lainnya ialah bahwa dari sifat fisiologisnya yang tidak dapat merubah pati dan sukrose, serta tidak mampu melakukan melakukan proses denitrifikasi (Sneath *et al.*, 1988), jika bakteri tersebut digunakan di unit-unit pengolah limbah di lapangan yang mengakibatkan keluar atau terhamburnya bakteri ke alam bebas tidak akan mengkonsumsi pati maupun sukrosa yang pada umumnya dihasilkan dari tanaman yang dibudidayakan.

Pseudomonas facilis ternyata juga merupakan bakteri tidak bersifat parasit pada manusia, hewan maupun tumbuhan (Sneath *et al.*, 1988) jadi penggunaannya sebagai inokulum pengurai *ABS* di laboratorium maupun jika akan dikembangkan sebagai mikroorganisme pengolah limbah di lapangan dari segi kesehatan lingkungan tidak ada masalah.

Kedua jenis bakteri baru juga dapat tumbuh pada medium Nutrien Cair berkadar *LAS* 100 ppm, berarti bakteri-bakteri tersebut juga dapat mengatasi permasalahan kesehatan lingkungan yang ditimbulkan oleh *LAS*, mengingat di Indonesia telah mulai ada perusahaan deterjen yang menggunakan *LAS* sebagai surfaktan sebagai campuran dalam pembuatan deterjen. Jadi keberadaan bakteri tersebut di atas dapat diterima.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

6.3 Isolat bakteri temuan baru tidak patogen yang berkemampuan mendegradasi *ABS* tertinggi

Data yang disajikan pada tabel 5.4 menunjukkan bahwa pada perlakuan menggunakan isolat tunggal bakteri *Kurthia zopfii* rerata waktu degradasi *ABS*-nya semua berbeda secara sangat bermakna dan memerlukan waktu terpendek dalam melakukan degradasi *ABS* bila dibandingkan dengan kemampuan isolat-isolat tunggal *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae, Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* dan campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae.*

Perbandingannya dengan kemampuan degradasi inokulum isolat bakteri tunggal *Pseudomonas facilis* memang hanya pada beberapa perlakuan kadar *ABS* yang berbeda secara sangat bermakna seluruhnya tidak menunjukkan adanya perbedaan, namun waktu yang diperlukan untuk mendegradasi habis kadar *ABS* yang diberikan oleh *Kurthia zopfii* selalu yang ter pendek.

Dari segi waktu degradasi perlakuan B_8 (*Kurthia zopfii*) telah menerima hipotesis sebagai bakteri terbaik dalam mendegradasi *ABS* dalam berbagai kadar *ABS* yang diperlakukan. Ditunjukkan bahwa waktu degradasi terpendek yang dapat dicapai *Kurthia zopfii* adalah 10,10 hari.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Jadi secara umum inokulum yang menggunakan isolat *Kurthia zopfii* menunjukkan waktu biodegradasi yang paling efisien.

Dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ekowati *dkk*, waktu yang diperlukan oleh isolat-isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* baik secara tunggal, ganda, maupun campuran tiga isolat yang harus memerlukan waktu 95 - 153 hari, dalam penelitian *Kurthia zopfii* dapat meningkatkan efisiensi degradasi sekitar 0,067 sampai dengan 0,106 lebih cepat.

Tinggginya aktivitas bakteri *Kurthia zopfii* secara tunggal disebabkan oleh faktor dalam (genetis) yang dimiliki tersebut didukung oleh faktor lingkungan yang menyertainya, sehingga aktivitas enzimatisnya juga menjadi lebih besar, daripa aktivitas bakteri yang telah ditemukan terdahulu. Walaupun sifat-sifat genetis yang didasari oleh penelitian genetika molekuler tentang hal ini masih perlu dikaji secara mendalam.

Didukung oleh sifatnya yang tidak patogen, aerob, suhu degradasi antara 25-30^{o}C dan pH mendekati netral (Sneath, *et al.*,1988; Holt *et al.*, 1994) maka isolat ini jelas tepat untuk dikembangkan menjadi isolat terpilih dalam penelitian selanjutnya.

Selanjutnya pada tabel 5.5 kadar *ABS* 20 ppm merupakan

kadar yang dapat memberikan waktu retensi (μ) tertinggi di antara berbagai kadar *ABS* yang diperlakukan. Hal ini disebabkan karena *ABS* kadar 20 ppm tersebut merupakan kadar sumber karbon optimal yang dapat dikonsumsi oleh *Kurthia zopfii*.

Terdapat peningkatan nilai μ mulai kadar 1,0 ppm sampai dengan kadar 20 ppm setelah menurun sampai dengan 100 ppm, karena melebihi kadar 20 ppm, bakteri telah mengalami kejenuhan aktivitas enzimatis (Atlas, 1990; Brock dan Madigan, 1991).

Berdasarkan temuan di atas dapat diajukan suatu bahan pertimbangan bahwa untuk melakukan proses biodegradasi *ABS* pada model maupun pengolah limbah kadar 20 ppm dapat digunakan sebagai suatu acuan. Untuk mendegradasi *ABS* dengan kadar yang lebih tinggi daripada 20 ppm sebaiknya diencerkan menjadi 20 ppm.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

6.4 Terjadinya peningkatan kemampuan biodegradasi akibat pemberian suhu, pH, aerasi, bahan pengamobil yang sesuai bagi pertumbuhan *Kurthia zopfii*

Temuan 49 menunjukkan bahwa ada perbedaan secara sangat bermakna antara tiga macam suhu dan tiga macam pH yang diperlakukan terhadap hasil biodegradasi. Hal tersebut disebabkan oleh sensitivitas enzim-enzim bakteri *Kurthia zopfii* yang khas terhadap pengaruh suhu dan pH dari luar tubuhnya (Kackzorowski, 1980) sehingga perubahan suhu selisih $2^{o}C$ dan perubahan pH selisih 0,2 sangat mempengaruhi kemampuan biodegradasinya.

Selanjutnya ditunjukkan bahwa antara suhu dan pH terdapat interaksi yang sangat bermakna. Hal ini disebabkan kedua faktor lingkungan tersebut merupakan faktor penentu yang saling menunjang aktivitas enzimatis enzim-enzim perombak *ABS* (Kaczorowski *et al.*, 1980).

Suhu $30^{o}C$ dan pH 7,2 merupakan suhu dan pH yang sesuai bagi *Kurthia zopfii* untuk melakukan biodegradasi *ABS*. Hal ini didukung oleh pendapat para peneliti yang menyusun buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Edisi IX (1994) yang menyatakan bahwa kisaran aktivitas fisiologis *Kurthia zopfii* pada suhu 25 - $30^{o}C$ dan pH-nya di sekitar netral.

Suhu merupakan faktor penentu kerja enzim perombak *ABS* suhu terlalu tinggi dan terlalu rendah enzim sebagai protein akan mengalami denaturasi. Nilai pH optimal merupakan titik terjadinya aktivitas enzim. Pada kondisi ini tidak terjadi

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

kelebihan muatan NH_3^+ atau OH^- (Foster and Wase, 1987).

Selanjutnya hasil penelitian perlakuan pemberian aerasi yang sesuai di atas digunakan sebagai dasar untuk menjalankan penelitian model pengolahan limbah yang dilakukan pada fermentor berisi medium degradasi 2 liter diberi aerasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 vvm. Hasilnya, untuk melanjutkan penelitian berikutnya yang dioperasikan dengan sistem kultur kontinyu dan bakteri *Kurthia sopfii* digunakan sebagai inokulum dalam bentuk sel amobil.

Temuan - 51 menyatakan bahwa ternyata terdapat perbedaan secara sangat bermakna antara pemberian aerasi 1,5 vvm dengan perlakuan pemberian aerasi lainnya. Waktu degradasi dapat lebih pendek lagi menjadi 7,50 hari dari 8,67 hari sebelumnya. Hal tersebut didukung oleh pendapat para ahli bioteknologi yang menyatakan bahwa kecepatan degradasi ditentukan oleh kecepatan aerasi (Said, 1987; Rosario dan Elegado, 1990; Jimenez, 1993).

Ahli lain yang mendukung pernyataan tersebut adalah Jimenez (1993) yang menyatakan bahwa aerasi rendah akan menyebabkan lambatnya proses biodegradasi demikian juga aerasi yang terlalu tinggi melebihi ambang batas optimalnya.

Pada perlakuan penggunaan bahan pengamobil memberikan hasil seperti dinyatakan pada temuan - 52 bahwa tidak ada perbedaan secara sangat bermakna antara bahan pengamobil bakteri yang digunakan terhadap waktu degradasi yang dipero-

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

leh.

Sajian data menunjukkan bahwa perlakuan amobilisasi sel bakteri *Kurthia zopfii* menggunakan Natrium alginat walaupun hasilnya tidak berbeda secara bermakna dengan penggunaan karagenen namun mampu menghasilkan waktu degradasi yang lebih pendek dibandingan dengan penggunaan karagenen yaitu sebesar 4,75 hari.

Stabilnya natrium-alginat sebagai bahan untuk amobilisasi sel karena natrium-alginat dapat membentuk matriks yang lebih stabil terhadap sel-sel bakteri *Kurthia zopfii* yang dijeratnya sehingga sistem enzimatis dalam bakteri akan menjadi lebih stabil aktivitasnya dalam mendegradasi *ABS* (Abbot, 1976).

Keberhasilan peningkatkan kemampuan biodegradasi *ABS* oleh *Kurthia zopfii* juga ditunjang oleh adanya penggunaan sistem kultur kontinyu. Keberhasilan penggunaan sistem dalam model pengolahan limbah ini didukung oleh teori bahwa pada sistem ini, (1) pertumbuhan sel bakteri dapat dipertahankan untuk periode waktu yang lama, (2) konsentrasi nutrien, produk, konsentrasi bakteri dan kecepatan pertumbuhan spesifik bakteri tidak berubah oleh fungsi waktu (Brock dan Madigan, 1991; Schlegel, 1992).

Keberhasilan penggunaan kultur kontinyu dalam penelitian tidak akan membawa masalah baru jika akan dikembangkan pada skala yang lebih besar di unit-unit pengolah limbah

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

maupun di skala menengah di tingkat pedesaan/kelurahan ataupun kecamatan karena sistem ini sudah dikenal sejak lama di masyarakat untuk sistem pengolahan limbah khususnya dalam produksi gas-bio (*biogas*).

Adapun produksi gas-bio secara singkat dapat dijelaskan sebagai berikut : Produksi gas-bio merupakan proses fermentasi anaerob yang dibagi menjadi tiga tahap, (1) reduksi senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana oleh bakteri-bakteri hidrolitik, (2) bakteri pembentuk asam merubah senyawa sederhana menjadi asam organik mudah menguap seperti asam asetat, asam butirat, asam propionat dan lain-lain, (3) konversi asam organik menjadi gas metan (CH_4), CO_2 dan gas lain oleh bakteri metan yang aktif seperti *Methanobacterium omelianskii, Methanobacterium ruminantium, Methanobacterium suboxydans*, dan lain-lain.

Proses fermentasi gas-bio biasanya dilakukan secara kontinyu, namun mmtode semi-kontinyu (substrat dimasukkan secara bertahap di dalam suatu selang waktu tertentu secara berulang-ulang juga dapat digunakan). Menurut Patel dan Patel dikutip dari Dissanayake (1987) menyatakan bahwa kecepatan produksi gas-bio dalam sistem *batch* (tertutup) mula-mula memang naik hingga mencapai kecepatan maksimum akhirnya turun lagi ketika sejumlah besar bahan organik telah dirombak.

Penerapan hasil penelitian menggunakan metode kultur

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

kontinyu di lapangan dapat dijalankan setelah uji di lapangan dengan menggunakan dasar hasil yang diperoleh dari penelitian, telah dapat diterima oleh teknisi dan/atau masyarakat pengguna hasil penelitian ini.

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Bab 7
KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

Dari uraian temuan-temuan penelitian dan analisis data dapat diajukan kesimpulan sebagai berikut :

1. Pengocokan medium degradasi berisi isolat bakteri tunggal *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae*; Isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus epidermidis* dengan *Enterobacter gergoviae, Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae* dan campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter gergoviae* mampu memperpendek waktu degradasi *ABS* kadar ~~1-30 dan 75~~-100 ppm menjadi 0,27-0,41 kalinya dibandingkan tanpa pengocokan, hasil degradasinya tidak toksik. *Staphylococcus aureus* tidak dapat direkomendasikan sebagai bahan inokulum, karena patogenitas tidak hilang selama 28 hari proses degradasi.
2. Ada mikroorganisme baru yang diisolasi dari tanah yang tercemar deterjen selain yang telah ditemukan oleh Ekowati *et al.* (1992) bersifat tidak patogen yaitu *Kurthia zopfii* dan *Pseudomonas facilis*. *Kurthia zopfii* mampu mendegradasi habis *ABS* berkadar 100 ppm dengan waktu paling pendek selama 10,10 hari. Terdapat peningkatan 0,067 -

DISERTASI Biodegradasi Alkylbenzene Sulfonate Pendekatan Eksperimental Laboratorik... Wignyanto

0,106 kali lebih cepat dibanding waktu degradasi menggunakan isolat terdahulu.

3. Pemberian suhu 30^{o}C dan pH 7,2 yang sesuai bagi pertumbuhan *Kurthia zopfii* mampu mempersingkat waktu degradasi *ABS* kadar 20 ppm menjadi 8,67 hari.
4. Pemberian aerasi 1,5 vvm optimal bagi kecepatan biodegradasi *ABS* 20 ppm dan dapat dipakai sebagai mikroorganisme dalam proses biodegradasi di model pengolah limbah dalam fermentor dengan sistem kultur kontinyu, dengan waktu degradasi 7,50 hari. Penggunaan bahan pengamobil Natrium-alginat llbih baik daripada karagenen dan mampu meperpendek lagi waktu degradasi menjadi 4,75 hari.

7.2 SARAN

1. Hasil penelitian skala laboratorium menggunakan isolat baru *Kurthia zopfii* dengan kultur kontinyu dapat dikembangkan lebih lanjut untuk pengolahan limbah pada skala besar dengan tetap mempertimbangkan faktor lingkungan yang telah ditetapkan dari penelitian ini,
2. Temuan isolat baru lainnya yaitu *Pseudomonas facilis* yang tidak bersifat parasit bagi manusia, hewan dan tumbuhan dapat dugunakan juga sebagai materi penelitian biodegradasi *ABS* selanjutnya.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR PUSTAKA

Abot BJ, 1976. Preparation of Pharmaceutical Compounds by Immobilized Enzymes and Cell. **Adv Appl Microbiol** 20:82-134.

Anonim, 1991. Environmental and Human Savety of major Surfactants Volume. Anionic Surfactants. Part 1. *Linear Alkylbenzene Sulfonates.* **Final Report To : The Soap Detergents Association.** 475 Park Avenue South New York, N.Y. 10016. p. I-1.

Ariens EJ, Mutschler E, Simonis AM, 1986. **Allgemeine Toxikologie, eine eifenfuhrung.** Diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia : Pengantar Toksikologi Umum, oleh Wattimena YR, Widianto MB, E.Y. Sukandar, EY. (Padmawinata, K. Ed.) Gadjah Mada University Press, hal 38-43.

Atlas RD, 1990. **Microbiology Fundamental and Application.** (2 nd ed.) Mac Millan Publishing Company. New York, pp 456-457.

Bailey RA, Clark HM, Ferris JP, Krause S, Strong RL. 1989. **Chemistry of The Environment.** Academic Press, Inc. New York, pp 134-146.

Bourdeau P and Treshow M, 1987. **Principle of Ecotoxicology.** (Butler, G.C.(Ed.)1987) John Wiley and Sons. Chisester.

Brock TD and Madigan MT. 1991. **Biology of Microorganisms.** (6th ed.) Prentice Hall International Edition, Printed in USA, pp 21-127.

Davis BD, ; Dubelco R, Eisen HN, Ginsberg HS. 1990. **Microbiology.** (4th ed.) J.B. Lppincott Company. Philadelphia, pp 21-63.

Degeglielmo MA, George CG, Kloss WE. 1991. Selection of Colony, Plasmid, and Virulence of *Staphylococcus epider midis* NRC853 during Growth in Continuous Cultures Exposed to Erytromycin. **Appl Environt Microbiol** 57(4):1018-1025.

Devliegher W, Arif SMA, Verstraete W. 1995. Survival and Plant Growth Promotion of Detergent-Adapted *Pseudomonas flourescens* ANP15 and *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. **Appl Environt Microbiol** 61(11):3865-3871.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dissanayake, MG. 1987. Biogas Production by Anaerobic Digestion. **Paper, Not publication.** AIT, Bangkok. 25 p.

Egli T, Bally M, Uetz T. 1990. Microbial degradation of chelating agents used in detergents with special reference to nitrilotriacetic acid (NTA). **Biodegradation** 1:121-132.

Ekowati G, Hariyati N, Arisoesilaningsih E. 1992. Respirasi Tanah Sawah dan Kebun yang terkena Deterjen dan Usaha Isolasi Mikroba Tanah Pengurai Deterjen. **Laporan Penelitian DP4M.** Depdikbud. 53 hal.

Elsner P. 1994. Allergic and irritative textile dermetitis. **Schweis Med Wochenschr** 124 (3) : 111-116.

Flyvholm MA. 1993. Contact allergens in registered cleaning agents for industrial and household use. **Br J Ind Med** 50 (11) : 1043-1050

Gledhill WE. 1974. Linear Alkylbenzene Sulfonate : Biodegradation and Aquatic Interactions. **Adv Appl Microbiol** (17):265-293.

Gaspard P, Schwartzbrod J. 1993. Irrigation with waste water : parasitological analysis of soil. **Zentralbl Hyg Umweltmed** 193 (6) : 513-520.

Grayson M. (Ed.). 1983. **Kirk - Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.** (3rd ed.) Volume 22. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley and Sons. New York, pp 1 - 2, 332 - 351.

Gunalan, 1993. Penerapan Bioremidiasi untuk Melenyapkan Polutan Organik dari Lingkungan. **Makalah disampaikan pada Kongres Nasional VI Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.** Tanggal 2-4 Desember 1993 di Surabaya.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** (9th ed.). (William R. H. Ed.) William & Wilkins, 428 East Preston Street. Baltimore, Maryland 21202, USA, pp 1-25.

Hommel RK. 1990. Formation and physiological role of biosurfactants produced by hydrocarbon-utilizing microorganisms. **Biodegradation** 1:107-119.

Hwang DF, Chen MV, Yosidha T, Jeng SS. 1993. Toxic effect of *linear alkylbenzene sulfonate* on the tiger prawn, Pinaeus monodon. **Ecotoxicol Environ Savety** 26 (3) : 285 - 292

Jacob R, and Monod J. 1961. Genetic Regulatory Mechanisms in The Syntesis of Proteins. **J Mol Biol** 3:318 -356.

Jimenez L, Breen A, Thomas N, Federle TW, Sayler GS. 1991. Mineralization of Linear Alkylbenzene sulfonate by a Four-Member Aerobic Bacterial Consor- tium. **Appl Environ Microbiol** 57(5):1566-1569.

Kaback HR, Rudnick G, Schuldiner S, Short SA. 1983. Active Transport in Isolated Bacterial Membrane Vesicles Binding of β-Galactosides to the Lac Carrier Protein. **An New York Acad Sci** p 350 - 357.

Kaczorowski GJ, Robertson DE, Garcia ML, Padan E, Patel I, Le Blanc G, Kaback HR. 1980. Energetics and Mechanisms of Lactose Translocation in Isolated Membrane vesicles of *Escherichia coli* **An New York Acad Sci.** pp 307 - 321.

Kemp W. 1991. **Organic Spectroscopy.** (3rd ed.) Educational Low Priced Books Scheme funded by the Brit Government. Printed in Hongkong. 393 p.

Kimerle RA, and Swisher,RD. 1977. Reduction of Aquatic Toxicty of *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) by Biodegradation. **Water Res.** 11:31-37.

Morrison RT, and Boyd,RN. 1992. **Organic Chemistry.** Allyn & Bacon. Inc., Boston.

Moeliono, AM, Ed. 1988. **Kamus Besar Bahasa Indonesia.** Depertemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta, 1090 p.

Nielsen AM, and Hunddleston RL. 1980. **Ultimate Biodegradation of *Linear Alkylbenzene Sulfonate* Alkyl and Ring Carbon.** Contributed Paper. Research and Development, Conoco Inc., Ponca City, Oklahama 74603, pp 415-424.

Nielsen AM, Meyers JD, Bleckmann CA, Huddleston RL. 1980. LAS Biodegradation : Ultimate Fate of Alkyl and Ring Carbon. **Paper. Presented at the 1980 Annual Soap and Detergent Assocation Meeting.** Jan 31 - Feb. 3. Boca Raton Fla. Household & Personal Products Industry, March 1980, pp 68 - 88.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Noller CR. 1990. **Chemistry of Organic Compounds.** W.B. Sounders Company Maruzen Company Limited, pp 214- 217.

Niven GW, Kerby NWRP, Foster CA, Stewart WDP. 1988. The effect of Detergents on Amino Acids Liberation by the N_2-fixing Cyanobacterium *Anabaena variabilis* and 6-Fluorotryptophan-resistant Mutant Strains. **J Gen Microbiol** 134:689-695.

Overath P, and Wright JK. 1980. Lactose Carrier Protein of *Escherichia coli* studies on Purification. Biosynthesis and Mechanisms. **An New York Acad Sci** pp 292 - 305.

Oxender DL, and Quay S. 1989. Binding Proteins and Membrane Transport **An New York Acad Sci** pp 358 -371.

Parker SP (Ed.). 1993. **McGraw Hill Encyclopedia of Chemistry.** (2nd ed.) Mac Graw Hill, Inc. New York San Fransisco Washington DC, pp 277 - 278, 367, 622 - 623, 638 - 639, 1060, 1065, 1084, 1097.

Prentis S. 1990. **Biotechnology. A New Industrial Revolution.** Diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia Bioteknologi oleh Dr. Ir. Maggy Thenawidjaja. hal 28- 53.

Ritz HL, Evans BLB, Bruce RD, Fletcher ER, Fisher GL, Sarlo K . 1993. Respiratory and Immunological Re sponses of Guinea Pigs to Enzyme-Containing Detergents : A Comparison of Intratrachea and Inhalation Modes of Exposure **Fundament Appl Toxicol** 21 : 31 - 37.

Salle. 1988. **Fundamentals of Microbiology.** New York Mac Graw-Hill Book Company.

Said, E.G. 1987. **Bioindustri - Penerapan Teknologi Fermentasi.** Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, hal

Sawyer CN, and Mac Carty. 1978. **Chemistry for Environmental Engineering.** Mac Graw Hill Co. Inc.

Sax NI, and Lewis RJ. 1987. **Hawley's Condensed Chemical Dictionary.** (11th ed.). Van Nostrand Reinhold. New York, pp 36-37, 355.

Schlegel HG. 1992. **General Microbiology.** (6th ed.) Cambridge University Press, pp 426 - 433.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Sears CT, and Stanitski CL. 1979. **Aspects of Chemistry for Health-Related Sciences.** Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 07632, pp 89 - 91.

Smith MR. 1990. The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bactria. **Biodegradation** 1:191-206.

Sneath, P.H.A.; Mair, N.S.; Sharpe, M.E. and J.G. Holt. 1988. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Volume 2. William and Wilkins,428 East Preston Street, Baltimore, Maryland 21202, USA.

Stringfellow WT, Dassy B, Lieb M, Fournier JM. 1991. *Staphylococcus aureus* Growth and Type 5 Capsular Polysaccharide Production in Syntetic Media **Appl Environt Microbiol** 57(2):618-621.

Sugai S, Murata K, Kitagaki T, Tomita I. 1990. Studies on eye irritation caused by chemicals in rabbits. A quantitative structure-activity relationship approach to primary eye irritation of chemicals in rabbits. **J Toxicol Sci** 15(4):245-262.

Suharni TT, 1993. Pembentukan dan Perkembangan Lumpur Aktif dalam Pengolahan Limbah Penyamakan Kulit. **Makalah disampaikan pada Kongres Nasional VI Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia dan ASEAN Meeting on Microbiology,** Surabaya 2-4 Desember 1993.

van Ginkel CG. 1996. Complete degradation of xenobiotic surfactants by consortia of aerobic microorganisms. **Biodegradation** 7:151-164.

Wignyanto. 1995. Peningkatan Efisiensi Produksi Asam Asetat Menggunakan Fermentor Kolom Bertingkat. **Jurnal Universitas Brawijaya** 7 (2) : 49 -57.

Zeni C, and Calligiury S. 1992. Morphological and Ultrastructural changes induced by sublethal concentrations of an anionic detergent on *Ictalurus* species barbel taste buds. **Microbios** 69 : 41 - 52.

Lampiran 1. Analisis ragam persentase degradasi pengaruh tujuh jenis inokulum dan sembilan macam kadar ABS

Sumber Keragaman	DF	SS	MS	Fratio	Ftabel
Ulangan	2	1040,70	520,08	16,25	3,07
Treat	62	1017347,02	16409,04	512,78	1,42
Bakteri	6	33496,72	5583,26	174,47	2,17
Kadar	8	961896	120237,04	3757,41	2,01
Bakteri * kadar	48	21955,67	457,49	14,28	1,46
Pangaruh bakteri dalam kadar 0	6	0,00	0,00	0,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 5	6	1420,60	2373,45	74,17	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 10	6	10591,90	1765,30	55,17	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 15	6	13922,30	2320,40	72,51	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 20	6	7326,20	1221,10	38,16	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 25	6	5464,88	910,81	28,46	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 30	6	2687,68	447,95	14,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 75	6	736,89	122,81	3,84	2,07
Pangaruh bakteri dalam kadar 100	6	479,76	79,96	2,50	2,17
Pangaruh kadar dalam bakteri A	8	206345,46	25793,45	806,03	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri B	8	114376,67	14297,09	446,78	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri C	8	132487,76	16561,29	517,73	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AB	8	135804,93	16975,49	530,47	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AC	8	102571,65	12821,08	400,06	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri BC	8	185740,69	23218,85	725,56	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri ABC	8	106529,75	13316,08	416,13	2,01
Errror	124	3916,08	32,00		
Total	188	1022302,08			

Lampiran 2. Analisis ragam waktu degradasi pengaruh tujuh jenis inokulum dan sembilan macam kadar ABS

Sumber Keragaman	DF	SS	MS	Fratio	Ftabel
Ulangan	2	6.90	3.40	0,97	3,07
Treat	62	73664,30	1188,104	339,46	1,42
Bakteri	6	43596,42	726,60	207,47	2,17
Kadar	8	65882,96	88235,4	2352,87	2,01
Bakteri * kadar	48	3422,00	71,30	20,37	1,46
Pangaruh bakteri dalam kadar 0	6	0,00	0,00	0,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 5	6	136,01	22,67	6,48	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 10	6	172,62	28,77	8,22	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 15	6	291,83	48,64	13,91	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 20	6	366,35	61,06	17,04	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 25	6	363,43	60,57	60,57	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 30	6	358,59	59,77	17,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 75	6	2233,28	372,21	106,35	2,07
Pangaruh bakteri dalam kadar 100	6	3859,25	643,21	183,77	2,17
Pangaruh kadar dalam bakteri A	8	12025,76	1503,205	429,49	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri B	8	5926,53	740,82	211,66	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri C	8	7876,51	984,56	281,30	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AB	8	8733,90	1091,70	311,91	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AC	8	4363,24	545,40	155,83	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri BC	8	122,47	1531,85	437,56	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri ABC	8	1529,75	116,08	416,13	2,01
Errror	124	3916,08	22,08		
Total	188	1302,08			

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Lampiran 3 Rerata Logarithma Jumlah *E. coli* yang Tumbuh Pada Cairan Hasil Biodegradasi dari Penanaman 10^1 cfu/ml.

Hasil Biodegradasi	Kombinasi Perlakuan	Log.Jumlah *E.coli*
H_1	B_1D_1	8,803 a
H_2	B_1D_2	8,763 a
H_3	B_1D_3	8,720 a
H_4	B_1D_4	8,633 a
H_5	B_1D_5	8,550 a
H_6	B_1D_6	8,383 a
H_7	B_1D_7	8,223 a
H_8	B_1D_8	8,133 a
H_9	B_1D_9	7,903 b
H_{10}	B_1D_{10}	7,503 b
H_{11}	B_2D_1	6,807 c
H_{12}	B_2D_2	6,760 c
H_{13}	B_2D_3	6,707 c
H_{14}	B_2D_4	6,643 c
H_{15}	B_2D_5	6,573 c
H_{16}	B_2D_6	6,490 c
H_{17}	B_2D_7	5,377 d
H_{18}	B_2D_8	6,196 c
H_{19}	B_2D_9	6,060 c
H_{20}	B_2D_{10}	5,907 d
H_{21}	B_3D_1	6,817 c
H_{22}	B_3D_2	6,760 c
H_{23}	B_3D_3	6,703 c
H_{24}	B_3D_4	6,630 c
H_{25}	B_3D_5	6,570 c
H_{26}	B_3D_6	6,500 c
H_{27}	B_3D_7	6,380 c
H_{28}	B_3D_8	6,177 c
H_{29}	B_3D_9	5,940 d
H_{30}	B_3D_{10}	5,737 d
H_{31}	B_4D_1	6,917 c
H_{32}	B_4D_2	6,880 c
H_{33}	B_4D_3	6,837 c
H_{34}	B_4D_4	6,797 c
H_{35}	B_4D_5	6,747 c
H_{36}	B_4D_6	6,647 c
H_{37}	B_4D_7	6,557 c
H_{38}	B_4D_8	6,417 c
H_{39}	B_4D_9	6,127 c
H_{40}	B_4D_{10}	5,900 d

Keterangan : Angka yang didampingi huruf yang sama berarti tidak berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

Lanjutan lampiran 3 halaman 153

Hasil Biodegradasi	Kombinasi Perlakuan	Log.Jumlah *E.coli*	
H_{41}	B_5D_1	6,867	c
H_{42}	B_5D_2	6,833	c
H_{43}	B_5D_3	6,783	c
H_{44}	B_5D_4	6,743	c
H_{45}	B_5D_5	6,690	c
H_{46}	B_5D_6	6,653	c
H_{47}	B_5D_7	6,567	c
H_{48}	B_5D_8	6,433	c
H_{49}	B_5D_9	6,200	c
H_{50}	B_5D_{10}	5,843	d
H_{51}	B_6D_1	7,850	b
H_{52}	B_6D_2	7,810	b
H_{53}	B_6D_3	7,753	b
H_{54}	B_6D_4	7,703	b
H_{55}	B_6D_5	7,617	b
H_{56}	B_6D_6	7,603	b
H_{57}	B_6D_7	7,557	b
H_{58}	B_6D_8	7,383	b
H_{59}	B_6D_9	7,047	b
H_{60}	B_6D_{10}	6,883	c
H_{61}	B_7D_1	10,750	e
H_{62}	B_7D_2	10,680	e
H_{63}	B_7D_3	10,613	e
H_{64}	B_7D_4	10,537	e
H_{65}	B_7D_5	10,437	e
H_{66}	B_7D_6	10,380	e
H_{67}	B_7D_7	10,060	e
H_{68}	B_7D_8	8,810	a
H_{69}	B_7D_9	8,933	a
H_{70}	B_7D_{10}	8,883	a
H_{71}	B_8D_1	9,817	f
H_{72}	B_8D_2	9,773	f
H_{73}	B_8D_3	9.737	f
H_{74}	B_8D_4	9.657	f
H_{75}	B_8D_5	9,453	f
H_{76}	B_8D_6	9,347	f
H_{77}	B_8D_7	9,277	f
H_{78}	B_8D_8	9,133	f
H_{79}	B_8D_9	9,010	f
H_{80}	B_8D_{10}	8,953	a

Keterangan : Angka yang didampingi huruf yang sama berarti tidak berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Lanjutan lampiran 1 halaman 154

Hasil Biodegradasi	Kombinasi Perlakuan	Log.Jumlah *E.coli*	
H_{81}	B_9D_1	9,743	f
H_{82}	B_9D_2	9,673	f
H_{83}	B_9D_3	9,587	f
H_{84}	B_9D_4	9,513	f
H_{85}	B_9D_5	9,447	f
H_{86}	B_9D_6	9,323	f
H_{87}	B_9D_7	9,203	f
H_{88}	B_9D_8	9,090	f
H_{89}	B_9D_9	8,970	f
H_{90}	B_9D_{10}	8,847	a

Keterangan : Angka yang didampingi huruf yang sama berarti tidak berbeda sangat nyata ($p < 0,01$).

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Lampiran 4. Analisis ragam persentase degradasi pengaruh tujuh jenis inokulum dan sembilan macam kadar *ABS*

Sources	DF	SS	MS	Fratio	Ftabel
Ulangan	2	1040,70	520,08	16,25	3,07
Treat	62	1017347,02	16409,04	512,78	1,42
Bakteri	6	33496,72	5583,26	174,47	2,17
Kadar	8	961896	120237,04	3757,41	2,01
Bakteri * kadar	48	21955,67	457,49	14,28	1,46
Pangaruh bakteri dalam kadar 0	6	0,00	0,00	0,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 5	6	1420,60	2373,45	74,17	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 10	6	10591,90	1765,30	55,17	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 15	6	13922,30	2320,40	72,51	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 20	6	7326,20	1221,10	38,16	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 25	6	5464,88	910,81	28,46	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 30	6	2687,68	447,95	14,00	2,17
Pangaruh bakteri dalam kadar 75	6	736,89	122,81	3,84	2,07
Pangaruh bakteri dalam kadar 100	6	479,76	79,96	2,50	2,17
Pangaruh kadar dalam bakteri A	8	206345,46	25793,45	806,03	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri B	8	114376,67	14297,89	446,78	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri C	8	132487,76	16561,29	517,73	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AB	8	135804,93	16975,49	530,47	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri AC	8	102571,65	12821,08	400,06	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri BC	8	185740,69	23218,85	725,56	2,01
Pangaruh kadar dalam bakteri ABC	8	106529,75	13316,08	416,13	2,01
Errror	124	3916,08	32,00		
Total	188	1022302,08			

Lampiran 5. Analisis ragam waktu degradasi dari pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas degradasi *Kurthia zopfii*

Sources	DF	SS	MS	Fratio	Ftabel
Ulangan	2	5,772	2,886	180,375	3,63
Treat	8	879,914	109,989	6874,313	2,59
Suhu	2	459,550	229,775	1463,60	3,63
pH	2	247,232	123,616	77726,00	3,63
Suhu * pH	4	173,131	43,287	2705,188	3,01
Pengaruh suhu dalam pH 7,0	2	396,470	193,230	12076,875	3,63
Pengaruh suhu dalam pH 7,2	2	232,430	116,210	7263,175	3,63
Pengaruh suhu dalam pH 7,4	2	13,784	6,892	430,744	3,63
Pengaruh pH dalam suhu 26	2	209,600	104,800	6550,09	3,63
Pengaruh pH dalam suhu 28	2	180,738	90,369	3648,063	3,63
Pengaruh pH dalam suhu 30	2	30,021	15,011	938,188	3,63
Errror	16	0,255	0,016		
Total	26	885,941			

Lampiran 6. Analisis ragam (analyisis of variance) waktu degradasi dari pengaruh skecepatan aerasi terhadap aktivitas degradasi *Kurthia zopfii*

Source	DF	SS	MS	F	P
Cepat	4	659,43	164,86	46,98	0,00
Errror	10	35,09	3,51		
Total	14	694,53			

Lampiran 7. Uji t-test antarwaktu degradasi dari pengaruh bahan pengamobil terhadap aktivitas degradasi *Kurthia zopfii*

t-test for independent sample for BAHAN

	Number of cases	Mean	SD	SE of Mean
Variable				
BAHAN 1	3	4,7500	0,150	0,087
BAHAN 2	3	6,6700	0,330	0,191

Mean difference = -1,9200

Levene´s test for Equality ov Variance F = 0,986 P = 0,371

t-test for Equality of Means 99 %

Variance	t-value	df	2 tail Sig	SE of Diff	C1 for Diff
Equal	- 9,17	4	0,01	0,209	(-2,501, -1,339)
Unequal	- 9,17	2,79	0,01	0,209	(-2,586, -1,254)

LABORATORIUM BAKTERIOLOGI

Jurusan Penyakit Dalam dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Penanggung Laboratorium : Dr. FACHRIYAN H. PASARIBU

Pemilik Sampel	:	**Ir. Wignyanto, M.S.**
Alamat Pemilik Sam		**Universitas Brawijaya Malang**
Jenis Sampel	:	
Tanggal Pengiriman	:	
Tanggal Pemeriksaan	:	
Jenis Pemeriksaan	:	**Identifikasi Isolat Bakteri**

HASIL PEMERIKSAAN

Kode Isolat	Pertumbuhan pada suhu		Fermentasi Karbon		Uji Urease	Fermentasi gula		
	45 C	55 C	Ethanol	Gliserol		Glukosa	Fruktosa	Maltosa
C 22	tidak tumbuh	tidak tumbuh	positif	negatif	positif	negatif	negatif	positif

Kesimpulan : Berdasarkan hasil uji di atas isolat diidentifikasi sebagai Kurthia zopfii

Bogor, 12 Februari 1996

Pemeriksa,

Drh. Eko Sugeng Pribadi, MS.

LABORATORIUM BAKTERIOLOGI
Jurusan Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan – IPB
Jl. Taman Kencana 3 Bogor 16151
Telp./Faks. 62–251–322057, e–mail : rinaoindo.net.id

Penanggungjawab Laboratorium : Dr. Fachriyan H. Pasaribu

LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN

Pemilik Sampel	: Ir. Wignyanto M.S.
Alamat Pemilik Sampel	: Lab. Mikrobiologi FMIPA – Brawijaya
Jenis Sampel	: Isolat
Tanggal Pengiriman	: 8 Desember 1995
Tanggal Pemeriksaan	: 8 Desember s/d selesai
Pemeriksaaan yang diminta	: Identifikasi Bakteri

Hasil Identifikasi berdasarkan Bergey's manual of Systematic Bacteriology vol. 1

Isolat B2 : Pseudomonas facilis
B3 : Pseudomonas facilis

Penanggungjawab Pemeriksaan

Drh. Eko Sugeng Pribadi, MS