



UNIVERSITAS INDONESIA

**Perbandingan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa*
UICC Y-181 dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247**

SKRIPSI

**Harmesa
0806315465**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
JANUARI 2012**

Universitas Indonesia



UNIVERSITAS INDONESIA

**Perbandingan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa*
UICC Y-181 dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains

**Harmesa
0806315465**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI KIMIA
DEPOK
JANUARI 2012**

Universitas Indonesia

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan
benar.

Nama : Harmesa

NPM : 086315465

Tanda Tangan :



Tanggal : 9 Januari 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Harmesa
NPM : 0806315465
Program Studi : Kimia
Judul Skripsi : Perbandingan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa*
UICC Y-181 dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.


DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Ivandini Tribidasari S.Si., M.Si. ()

Pembimbing II : Dr. Endang Saepudin ()

Penguji : Dr. Asep Saefumillah ()

Penguji : Dra. Siswati S. Apt., M.S ()

Penguji : Dr. Yoki Yulizar, M.Sc ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 9 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya. Salawat serta salam semoga senantiasa terlimpahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang merupakan suri tauladan bagi kita semua.

Dalam penulisan skripsi ini penulis tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih penulis sampaikan kepada kedua orang tua tersayang dan saudara-saudara penulis yang selama ini selalu mendukung dan memberi semangat kepada penulis hingga penelitian dan penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan baik dan lancar.

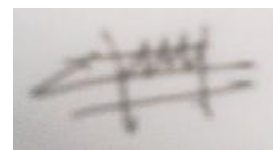
Ucapan terima kasih yang secara khusus juga penulis sampaikan :

1. Kepada Dr. Ivandini Tribidasari selaku pembimbing I dan Dr. Endang Saepudin selaku pembimbing II atas bantuannya selama penelitian dan penyusunan skripsi yang sangat berarti bagi penulis
2. Kepada Dr. Ridla Bakri selaku ketua Departemen Kimia FMIPA UI
3. Kepada Dr. Asep Saefumillah selaku pembimbing akademis atas segala bantuannya sehingga memperlancar proses penelitian dan penyusunan skripsi
4. Kepada Dra. Tresye Utari, M.Si. selaku koordinator penelitian yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dalam penelitian
5. Kepada Da Zif sekeluarga dan Om Young Happy sekeluarga atas bantuannya kepada penulis baik berupa moril maupun materil
6. Kepada Yayasan Tanoto Foundation yang telah memberikan beasiswa kepada penulis semenjak semester III sampai penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini
7. Kepada seluruh dosen-dosen kimia UI yang selama ini telah mengajarkan ilmu-ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis

8. Kepada Pak Hedi S., Pak Marji, Pak Hadi, Pak Sutrisno (Babeh), Mbak Ema, Mba Sri, Mbak Ina, Mbak Cucu, Pak Min, Pak Kiri serta seluruh staf departemen Kimia yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian
9. Kepada sahabat baikku, Regi, yang selalu memberikan semangat kepada penulis
10. Kepada sahabat-sahabatku: Prilia, Nia, Ozi dan semua teman-teman keluarga besar Kimia 2008 yang sudah penulis anggap sebagai keluarga. Terima kasih atas masa-masa indah yang telah diberikan.
11. Kepada Kak Dante, Ochi, Umar, Mumu, Sania, Deagita, Fadlina, Rasti, Vivi, Dinda, Laras, Bu Nurlita, Kak Sonia, Ka Rohman, Kak Reka, Kak Riri, Kak Rosa, Kak Widi, Kak Widia dan Kak Santi atas bantuan dan diskusinya selama penelitian.
12. Kepada rekan-rekan seperjuangan penelitian : Kakak-kakak angkatan 05, 06, 07 dan teman-teman angkatan 08
13. Kepada teman-teman Jurusan Kimia FMIPA UI khususnya angkatan 2008 baik paralel maupun reguler serta berbagai pihak yang telah membantu namun belum tercantumkan dalam laporan ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna, sehingga skripsi ini pun kiranya masih perlu evaluasi untuk penyempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Penulis juga berharap penelitian dan skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak yang membaca terlebih bagi pembaca yang akan melaksanakan dan membuat penelitian terkait judul dan tema berikut.

Depok, 9 Januari 2012



Penulis

Universitas Indonesia

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Harmesa
NPM : 0806315465
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :
Perbandingan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

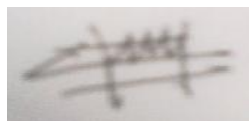
Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 9 Januari 2012

Yang menyatakan



(Harmesa)

Universitas Indonesia

ABSTRAK

Nama : Harmesa
Program Studi : Kimia
Judul : Perbandingan Sensor BOD Berbasis *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dengan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Pengaruh ion Cu^{2+} diuji untuk sensor BOD yang sedang dikembangkan. Sensor BOD dibuat dengan menggunakan sistem sel khamir bebas untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan khamir *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 pada elektroda emas. Penentuan nilai reduksi oksigen pada -600 mV (vs Ag/AgCl) ditentukan dengan *cyclic voltametri*. Sedangkan deteksi oksigen sisa yang tidak digunakan oleh mikroorganisme dilakukan dengan teknik *multi pulse amperometry* (MPA). Hasil pengukuran kalibrasi linier pada keadaan free cell untuk kedua jenis khamir menunjukkan nilai daerah kelinieran yang baik dengan nilai regresi 0,994 dan 0,987 berturut-turut untuk keadaan *free cell Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dengan waktu optimum pengukuran 20 menit dan untuk keadaan *free cell Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dengan waktu optimum pengukuran 25 menit. Presisi yang lebih baik ditunjukkan dengan 15 kali pengukuran untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dengan nilai RSD 0,9 %, sedangkan untuk khamir *Candida fukuyamaensis* dengan nilai RSD 5,01%. Pengaruh keberadaan logam berat pada sistem pengukuran dilakukan dengan bervariasi konsentrasi ion Cu^{2+} . Sensor BOD dengan *Rhodotorula mucilaginosa* menunjukkan ketahanan yang lebih baik terhadap kehadiran ion Cu^{2+} seperti ditunjukkan oleh sedikitnya kenaikan arus oksigen dibandingkan dengan kenaikan arus oksigen pada sensor BOD dengan *Candida fukuyamaensis*.

Kata Kunci : sensor BOD, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181, *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247, elektroda emas, oksigen.

ABSTRACT

Name : Harmesa
Program Study : Chemistry
Title : Comparison of BOD Sensors Based on *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 with *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247.

Influence of copper ions was examined on developed microbial BOD sensors. The BOD sensors carried out in a system consisted of free cell yeast and gold electrode. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 and *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 were used as the microbial yeasts. Oxygen reduction potential of -600 mV (vs Ag/AgCl) was determined by using cyclic voltametry, whereas the excess oxygen concentration, which not used by microorganism, was determined by multy pulse amperometry (MPA). Optimum waiting times of 20 and 25 min were obtained for BOD sensors of *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 and *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247, respectively. Linear calibration curves showed good linearity with linear regressions of 0.994 and 0.987 for those of *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 and *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247, respectively. However, better precision of measurement (n=15) was shown by an RSD of 0.90% for *Rhodotorula mucilaginosa*, whereas it was 5.01% for *Candida fukuyamaensis*. Influence of copper ions was examined in various concentrations of Cu ions. BOD sensor of *Rhodotorula mucilaginosa* shows better resistance against Cu ions than that of *Candida fukuyamaensis*, as it is shown by less increasing of oxygen current at *Rhodotorula mucilaginosa* than that at *Candida fukuyamaensis*.

Keywords : BOD sensor, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181, *Candida fukuyamaensis* UICCY-247, gold electrode, oxygen.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Biosensor.....	4
2.2 Elektrokimia.....	5
2.3 Cyclic voltametry.....	10
2.4 Amperometric biosensor.....	11
2.5 Oksigen.....	13
2.6 Tembaga	15
2.7 BOD.....	16
2.8 Khamir.....	17
2.8.1 <i>Candida fukuyamaensis</i> UICCY-247.....	17
2.8.2 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-181.....	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Alat.....	20
3.2 Bahan.....	20
3.3 Prosedur kerja.....	20
3.3.1 Sterilisasi alat.....	20
3.3.2 Pembuatan medium dan penyiapan inokulum	21
3.3.3 Penentuan kurva pertumbuhan	23

3.3.4 Penentuan jumlah sel khamir yang digunakan dengan metode kamar hitung (<i>Counting Chamber</i>) dan <i>optical density</i> dengan <i>UV spectronic 20</i>	23
3.3.5 Elektroda Au.....	23
3.3.6 Pembuatan larutan buffer fosfat.....	23
3.3.7 Aplikasi sensor BOD	24
3.3.7.1 Perancangan sel elektrokimia	24
3.3.7.2 Penentuan potensial reduksi oksigen	24
3.3.7.3 Penentuan waktu optimum pengukuran BOD.....	24
3.3.7.4 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan sel khamir bebas.....	24
3.3.7.5 Pengukuran reproducibility elektroda Emas (Au) murni dalam keadaan sel khamir bebas.....	25
3.3.7.6 Penentuan <i>Limit Of Detection</i> (LOD) untuk keadaan sel khamir bebas.....	25
3.3.7.7 Pengaruh keberadaan logam Cu pada pengukuran sensor BOD	25
3.3.8 Penentuan kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi winkler	26
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Penentuan kurva pertumbuhan <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-181 dan <i>Candida fukuyamaensis</i> UICC Y-247	27
4.2 Penentuan jumlah sel khamir yang digunakan dengan metode kamar hitung (<i>counting chamber</i>) dan <i>optical density</i> dengan <i>UV spectronic 20</i>	29
4.3 Preparasi dan perancangan sel elektrokimia	30
4.4 Penentuan potensial reduksi oksigen	31
4.5 Aplikasi sensor BOD	33
4.5.1 Penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD.....	33
4.5.2 Penentuan kurva kalibrasi linier keadaan sel khamir bebas.....	35
4.5.3 <i>Reproducibility</i> elektroda Emas (Au) murni dalam keadaan sel khamir bebas	37
4.5.4 Penentuan <i>Limit of Detection</i> untuk keadaan sel khamir bebas....	39
4.5.5 Pengaruh keberadaan logam berat pada pengukuran sensor BOD.....	40
4.6 Penentuan kadar oksigen dengan metode titrasi winkler	45
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema sensor kimia	5
Gambar 2.2 Rancangan sel elektrokimia pada potensiostat	6
Gambar 2.3 Lapis rangkap listrik pada permukaan elektroda	8
Gambar 2.4 Siklik voltamogram	11
Gambar 2.5 Kurva kelarutan oksigen vs temperatur	13
Gambar 2.6 Alat DO meter.....	14
Gambar 2.7 Sel khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	18
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	28
Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan <i>Candida fukuyamaensis</i>	28
Gambar 4.3 Plot hubungan nilai <i>optical density</i> dengan jumlah sel khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	29
Gambar 4.4 Plot hubungan nilai <i>optical density</i> dengan jumlah sel khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	30
Gambar 4.5 Perancangan sel elektrokimia.....	31
Gambar 4.6 <i>Cyclic Voltamogram</i> larutan oksigen dengan menggunakan elektroda emas.....	32
Gambar 4.7 Plot grafik antara konsentrasi oksigen terhadap arus reduksi.....	33
Gambar 4.8 Amperogram penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	34
Gambar 4.9 Amperogram penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	34
Gambar 4.10 Amperogram kalibrasi linier pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	35
Gambar 4.11 Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	36
Gambar 4.12 Amperogram kalibrasi linier pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	36
Gambar 4.13 Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	36
Gambar 4.14 Reproducibility elektroda emas untuk keadaan sel kamir bebas untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	37
Gambar 4.15 Plot arus reduksi terhadap pengukuran keadaan sel kamir bebas untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	38

Gambar 4.16 Reproducibility elektroda emas untuk keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	38
Gambar 4.17 Plot arus reduksi terhadap pengukuran keadaan sel khamir bebas untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	39
Gambar 4.18 Plot arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	40
Gambar 4.19 Plot arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	40
Gambar 4.20 Amperogram untuk <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> dengan penambahan larutan Cu berbagai konsentrasi.....	41
Gambar 4.21 Plot konsentrasi Cu terhadap arus reduksi untuk khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	41
Gambar 4.22 Amperogram untuk <i>Candida fukuyamaensis</i> dengan penambahan larutan Cu berbagai konsentrasi.....	42
Gambar 4.23 Plot konsentrasi Cu terhadap arus reduksi untuk khamir <i>Candida fukuyamaensis</i>	42
Gambar 4.24 Penambahan larutan Cu ²⁺ terhadap arus reduksi dari jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi senyawa organik dalam larutan.....	43
Gambar 4.25 Plot larutan Cu ²⁺ terhadap kadar oksigen yang digunakan untuk mengoksidasi senyawa organik	44
Gambar 4.26 Pengaruh ion Cu ²⁺ pada mikroorganisme <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> dan <i>Candida fukuyamaensis</i>	45

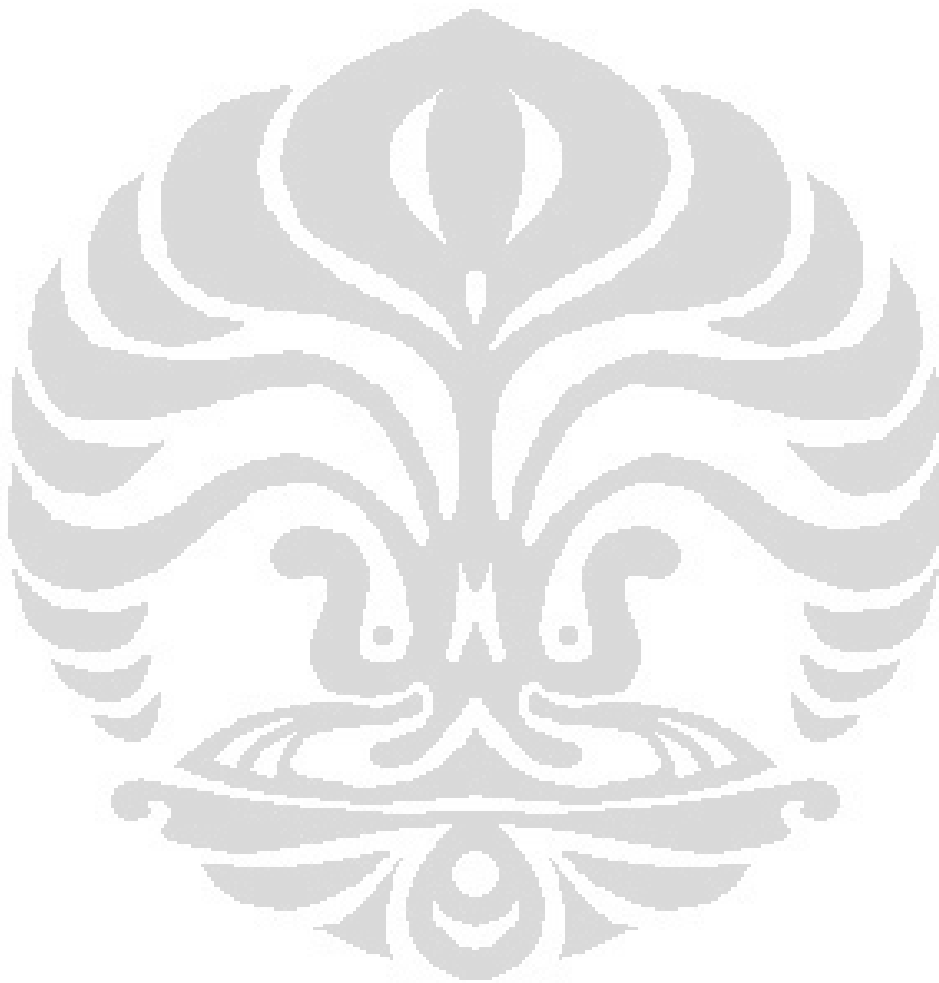
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja.....	53
Lampiran 2. Penyiapan Suspensi Sel.....	54
Lampiran 3. Elektroda yang Digunakan dalam Sel Elektrokimia.....	54
Lampiran 4. Pencucian Elektroda dan Perancangan Sel Elektrokimia.....	55
Lampiran 5. Penentuan Jumlah Mikroba.....	55
Lampiran 6. Data Waktu Pertumbuhan Mikroba dan Nilai <i>Optical Density</i>	56
Lampiran 7. Data Arus Kalibrasi Linier untuk Keadaan <i>Free Cell</i>	57
Lampiran 8. Data Arus Reduksi Pengaruh Ion Cu^{2+}	57
Lampiran 9. Penentuan <i>Reproducibility</i>	58
Lampiran 10. Penentuan <i>Limit of Detection</i>	60
Lampiran 11. Data Kalibrasi Waktu Aerasi Gas O_2 Terhadap Kadar O_2	61
Lampiran 12. Kelarutan oksigen dalam air.....	63



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hubungan konsentrasi oksigen terlarut dan arus reduksi.....	32
Tabel 4.2 Kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi.....	46



BAB 1

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Air adalah materi esensial karena sangat dibutuhkan oleh makhluk hidup sehingga kebutuhan air bersih yang bebas dari kontaminan merupakan kebutuhan yang amat penting. Namun keadaan berbagai sumber pencemar menyebabkan menurunnya kualitas air. Sumber pencemaran dapat berupa logam-logam berat ataupun polutan-polutan organik. Oleh karena itu, kontrol kualitas air sangat diperlukan, baik dari parameter kelayakan untuk dikonsumsi maupun untuk keperluan aktivitas lainnya.

Salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menentukan kualitas air adalah *biochemical oxygen demands* (BOD) yang menyatakan kebutuhan oksigen untuk penguraian zat organik oleh mikroorganisme. Penentuan BOD yang biasa membutuhkan waktu 5 hari untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam sampel (Yu Lei, 2011). Untuk itu dibutuhkan pengembangan metode sensor kimia yang membutuhkan waktu pengukuran jauh lebih singkat dengan hasil yang dapat di-*analog*-kan dengan metode konvensional. Penelitian ini mengembangkan sensor BOD berbasis mikroorganisme. Pada prinsipnya sensor ini langsung menggunakan sejumlah mikroorganisme untuk menguraikan zat polutan organik dalam air. Sehingga laju konsumsi oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk menguraikan zat polutan organik dalam air dalam selang waktu tertentu dapat dianggap sebagai nilai BOD. Metode ini telah dilaporkan dapat mempercepat proses pengukuran BOD yang awalnya didapat dalam waktu 5 hari dapat disingkat hingga 20 menit (Nathanael, 2011).

Sementara itu metode deteksi oksigen yang digunakan adalah sensor elektrokimia yang dikembangkan pertama kali oleh Clark. Sel Clark ini kemudian berkembang penggunaannya untuk mendeteksi glukosa, sehingga sampai pada penggunaan untuk sensor BOD atau disebut biosensor BOD. Sistem ini dirancang

dengan menggunakan elektroda kerja yang sensitif untuk mendeteksi oksigen seperti platina, emas, dan perak.

Pada pengembangan sensor BOD berbasis mikroorganisme, spesies khamir maupun bakteri dapat digunakan sebagai sensor. Khamir merupakan jenis mikroba yang relatif mudah dipelihara, aman serta stabil secara genetic. Selain itu, khamir mudah tumbuh pada medium yang murah (tidak memerlukan kondisi yang khusus untuk tumbuh) dan dapat dipanen dalam waktu singkat dan dalam jumlah besar (Mumtahinah, 2007).

Penggalian potensi khamir sangat penting dilakukan karena khamir merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan menyerap logam, baik secara aktif (bioakumulasi) maupun secara pasif (biosorpsi). Zulfia (2009) dan Ivandini et. al. (2011) telah melaporkan pengembangan sensor BOD dengan menggunakan khamir *Candida fukuyamaensis* UICC-248. Selain itu Dewangga (2010) juga melaporkan penggunaan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC-181 sebagai sensor BOD. Sebelumnya dari penelitian Rianasari (2004) diketahui bahwa biomassa khamir *Rhodotorula mucilaginosa* memiliki kemampuan yang baik dalam biosorpsi logam berat Cr, Cu, Hg dan Pb. Sementara dari penelitian Nathanael D. (2011) diketahui bahwa *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dapat digunakan sebagai sensor BOD namun sensitif terhadap keberadaan spesi logam Cu.

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti lebih lanjut pengaruh ion Cu^{2+} pada sensor BOD yang dikembangkan dari *Rhodotorula mucilaginosa* UICC-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC-247. Sehingga sensor yang dikembangkan dapat dimanfaatkan secara lebih optimal.

I.2. Perumusan masalah

1. Apakah BOD sensor yang dibuat menggunakan mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dengan elektroda Au sebagai sensor oksigen memiliki sensitifitas yang sama?

2. Seberapa jauh ion Cu^{2+} memberikan pengaruh pada mikroorganisme terhadap arus yang dihasilkan oleh sensor BOD berbasis mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247?

I.3. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan suatu sensor BOD berbasis mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 yang mampu mengukur BOD secara langsung melalui pengukuran terhadap kadar oksigen terlarut dalam air dan mengetahui pengaruh keberadaan ion Cu^{2+} terhadap arus yang dihasilkan oleh sensor BOD

I.4. Hipotesis

1. BOD sensor yang dibuat menggunakan mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dengan elektroda Au sebagai sensor oksigen memiliki sensitifitas yang tidak sama.
2. Adanya ion Cu^{2+} memberikan pengaruh pada mikroorganisme terhadap arus yang dihasilkan oleh sensor BOD berbasis mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 tetapi pengaruhnya tidak sebesar pada *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

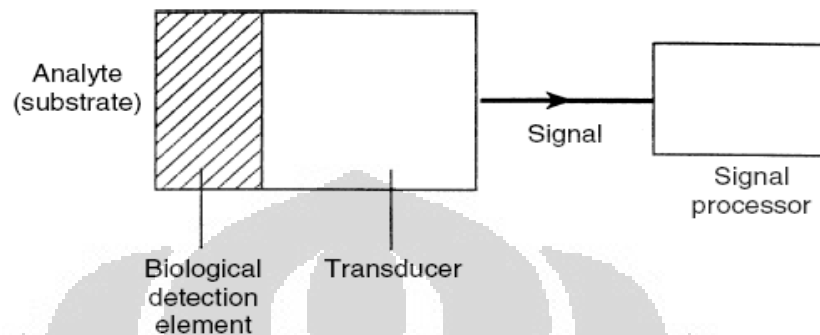
2.1. Biosensor

Sensor adalah alat yang dapat mendeteksi atau mengukur sifat fisik dan mencatat, menunjuk atau meresponnya. Sensor dapat dibagi ke dalam tiga tipe yaitu sensor fisika, sensor kimia dan biosensor. Sensor fisika berperan dalam pengukuran sifat-sifat fisik atau mendeteksi besaran fisika seperti temperature, tekanan, dan sebagainya. Sensor kimia adalah alat yang mampu menangkap fenomena berupa zat kimia (baik gas maupun cairan) untuk kemudian diubah menjadi sinyal elektrik. Sensor kimia berperan untuk mendeteksi dan mengukur zat kimia secara spesifik baik untuk penentuan kualitatif maupun kuantitatif. Sedangkan biosensor adalah perangkat analisis yang dilengkapi suatu molekul pengenalan berupa material biologis dan respon yang terdeteksi secara langsung diubah menjadi sinyal elektrik oleh suatu pengubah sinyal (*transducer*) (Eggins, 2007).

Biosensor terdiri atas tiga bagian penting yaitu elemen biologi, *transducer* elektronik dan alat prosesor sinyal. Elemen biologi merupakan bagian yang berfungsi sebagai pengenalan (*sensor*) analit. Elemen biologi yang digunakan dalam perangkat biosensor dapat berupa enzim, DNA, antibodi, reseptor, organel, jaringan hewan dan tumbuhan serta sel mikroorganisme (Nakamura & Karube, 2003). Sedangkan *transducer* elektronik adalah bagian yang dapat mengubah sinyal biokimia dari suatu analit menjadi data elektrik yang dapat diukur oleh sistem elektronik pemroses sinyal. Data elektrik yang terukur bisa berupa arus listrik, potensial, hambatan, absorbansi dan lain sebagainya (Lei, Yu, 2001) sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis dan jumlah analit. Sinyal yang terbentuk selanjutnya dihubungkan dengan konsentrasi analit tersebut. Secara umum gambaran mengenai sensor kimia dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Penggunaan biosensor saat ini telah banyak diterapkan dalam bidang pemantauan lingkungan, produksi makanan dan bidang kesehatan. Biosensor dalam bidang lingkungan contohnya adalah sensor *biological oxygen demand*

(BOD), sensor deterjen, sensor ion fosfat dan sensor pestisida. Penggunaan biosensor dalam bidang kesehatan contohnya adalah sensor glukosa dan immunosensor (Nakamura & Karube, 2003).



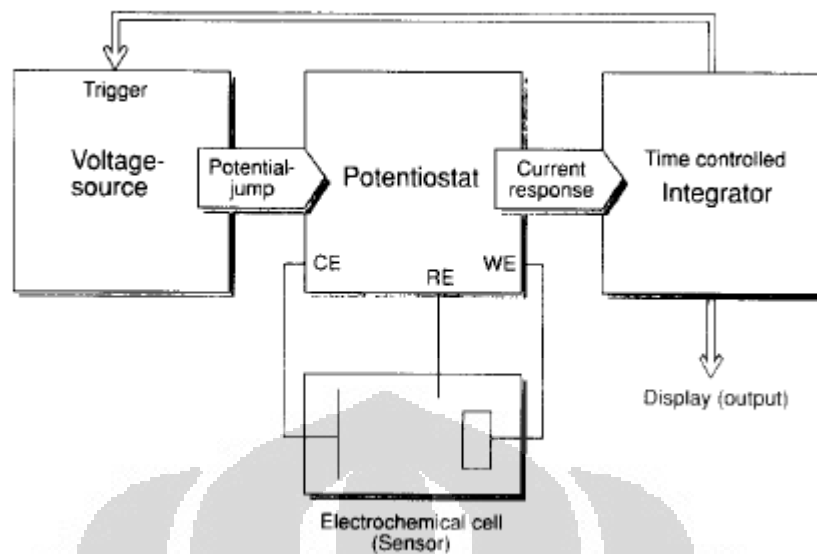
Gambar 2.1 Skema sensor kimia

[Sumber: Eggins, 2007]

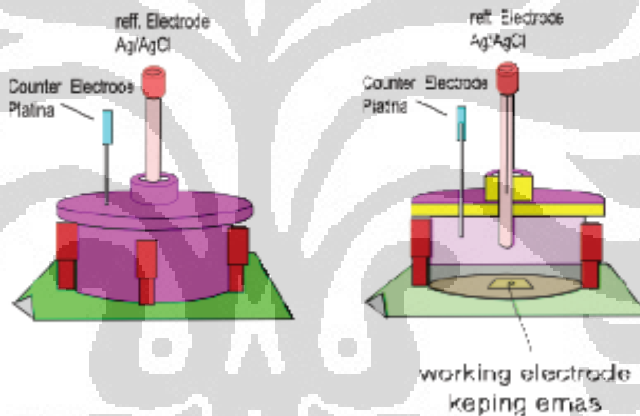
2.2. Elektrokimia

Elektrokimia adalah ilmu yang mempelajari hubungan antara perubahan (reaksi) kimia dengan kerja listrik, biasanya melibatkan sel elektrokimia yang menerapkan prinsip reaksi redoks dalam aplikasinya. Ada dua jenis sel elektrokimia yaitu sel elektrokimia yang melakukan kerja dengan melepaskan energi dari reaksi spontan yang disebut sel galvani dan sel elektrokimia yang menyerap energi dari sumber listrik untuk menggerakkan reaksi non spontan yang disebut sel elektrolisis. Dalam sel elektrolisis, terdapat suatu gaya dorongan pada elektron sehingga mampu berpindah dari anoda ke arah katoda. Gaya dorongan ini disebabkan adanya perbedaan potensial listrik antara katoda dengan anoda. Kerja maksimum yang didapat dalam suatu sel elektrokimia tergantung dari perbedaan potensial sel yang terjadi pada elektroda kerja.

Instrumen yang biasa digunakan dalam elektrokimia adalah potensiostat. Potensiostat merupakan alat elektronik yang mengontrol beda potensial antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dalam suatu sel elektrokimia. Sel elektrokimia umumnya terdiri dari tiga elektroda yaitu elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pendukung (*counter electrode*) dan elektroda pembanding (*reference electrode*).



[Sumber : Preidel, et. al. 1995]



Gambar 2.2 Rancangan sel elektrokimia pada potensiostat

[Sumber : Dewangga, N. 2010]

a. Elektroda kerja (working electrode)

Elektroda kerja adalah elektroda tempat reaksi reduksi-oksidasi analit berlangsung. Elektroda ini umumnya terbuat dari logam, bahan semikonduktor, dan juga karbon. Elektroda logam yang sering digunakan adalah platina (Pt), emas (Au), dan perak (Ag). Sedangkan elektroda semikonduktor yang umum digunakan adalah Silikon (Si) dan Galium (Ga). Untuk elektroda karbon terdapat beberapa jenis, yaitu pasta, glassy carbon, dan juga pyrolytic graphite.

b. Elektroda pendukung (*counter electrode*)

Elektroda pendukung adalah elektroda yang berperan sebagai sumber atau tempat masuknya elektron sehingga arus dapat dilewatkan melalui sel.

Elektroda pendukung yang biasa digunakan adalah platina (Pt) yang dapat berupa kawat lurus, kawat spiral, atau cakram (*disk*). Zat lain yang bersifat inert seperti karbon grafit pun dapat juga digunakan sebagai elektroda pendukung.

c. Elektroda pembanding (*reference electrode*)

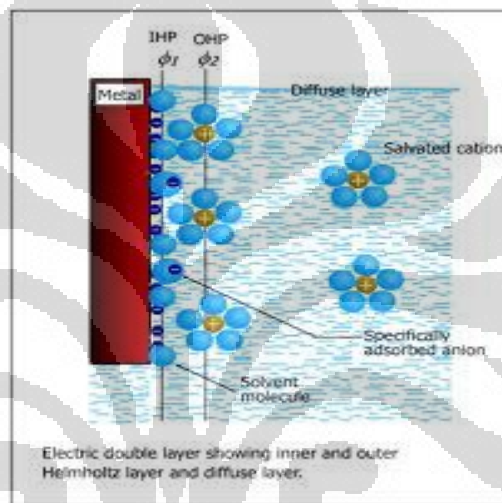
Elektroda pembanding adalah elektroda yang potensialnya dibuat konstan sehingga dapat digunakan sebagai pembanding terhadap perubahan yang terjadi pada elektroda kerja. Fungsi elektroda pembanding adalah sebagai penstabil beda potensial pada elektroda kerja dalam sel elektrokimia. Elektroda pembanding yang biasa digunakan adalah elektroda kalomel dan Ag/AgCl. Elektroda Ag/AgCl ini dapat dibuat dengan mudah melalui elektrolisis larutan klorida menggunakan anoda perak, sehingga membentuk lapisan elektrolit AgCl pada permukaan kawat perak.

2.2.1 Fenomena Permukaan pada Metode Elektrokimia

Sistem elektrokimia menyajikan data berupa arus, beda potensial dan hambatan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif suatu analit. Timbulnya arus disebabkan oleh adanya reaksi oksidasi dan reduksi pada permukaan elektroda. Proses yang terjadi dijelaskan menggunakan teori lapis rangkap listrik atau permukaan Helmholtz. Teori lapis rangkap listrik menjelaskan bahwa ketika elektroda kerja dihubungkan dengan suatu sumber listrik, permukaan elektroda akan memiliki muatan listrik. Besar dan jenis muatan listrik pada permukaan elektroda sangat bergantung pada potensial listrik yang diberikan. Jika potensial yang diberikan negatif maka permukaan elektroda akan bermuatan negatif dan sebaliknya. Untuk mengimbangi muatan yang terdapat pada permukaan elektroda tersebut, ion-ion dalam larutan yang memiliki muatan berlawanan dengan muatan elektroda akan tertarik ke permukaan elektroda dan membentuk permukaan

Helmholtz. Pasangan muatan pada permukaan elektroda dan permukaan Helmholtz ini akan membentuk suatu lapisan yang disebut lapis rangkap listrik.

Ketika potensial elektroda mencapai potensial dekomposisi dari ion analit, maka ion-ion analit yang terdapat pada permukaan Helmholtz akan tereduksi. Akibatnya konsentrasi ion-ion analit pada permukaan Helmholtz akan berkurang. Untuk menutupi kekurangan ion-ion analit pada permukaan Helmholtz ini, maka ion-ion analit yang terdapat dalam larutan akan berdifusi menuju permukaan elektroda. Aliran ion-ion akan menghasilkan arus difusi, arus migrasi dan arus konveksi.



Gambar 2.3 Lapis rangkap listrik pada permukaan elektroda

Arus difusi sangat bergantung pada konsentrasi ion-ion analit yang terdapat dalam larutan. Arus difusi adalah arus yang disebabkan akibat perubahan gradient konsentrasi pada lapisan difusi dan besarnya sebanding dengan konsentrasi analit dalam larutan. Arus migrasi adalah arus yang timbul akibat gaya tarik elektrostatis antara elektroda dengan ion-ion dalam larutan. Sedangkan arus konveksi adalah arus yang timbul akibat gerakan fisik, seperti rotasi atau vibrasi elektroda dan perbedaan rapat massa. Karena informasi yang dibutuhkan dalam pengukuran dengan potensiostat adalah informasi mengenai konsentrasi analit, maka keberadaan arus migrasi dan arus konveksi harus diminimalisir agar tidak menimbulkan gangguan dalam pengukuran. Arus konveksi diminimalisir dengan cara tidak melakukan pengadukan sesaat sebelum pengukuran untuk mempertahankan kebolehan pengukuran dan menjaga agar temperatur

larutan yang diukur tetap. Sedangkan arus migrasi diminimalisir dengan cara penambahan larutan elektrolit pendukung (Lukmanto, A. 2010).

2.2.2 Teknik Elektrokimia

Teknik Elektrokimia berkembang luas penggunaannya dalam bidang biosensor mikroorganisme. Dalam metode analisis, terdapat beberapa metode elektrokimia yang biasa digunakan pada transducer untuk aplikasi perangkat sensor yaitu metode amperometri, potensiometri, konduktometri dan voltametri (Yu Lei, 2011).

a. Amperometri

Amperometri diaplikasikan pada potensial tertentu antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dan sinyal arus yang dideteksi bisa dikorelasikan terhadap konsentrasi analit. Sinyal arus yang dihasilkan bisa diukur apabila terjadi reaksi reduksi atau reaksi oksidasi secara keseluruhan atau membentuk intermediet dari analit dan berada pada permukaan elektroda kerja.

b. Konduktometri

Konduktometri adalah teknik yang bergantung pada perubahan hantaran listrik dalam larutan karena menghasilkan ataupun menggunakan spesi ion, seperti aktivitas metabolisme dari mikroorganisme. Pengukuran dengan teknik konduktometri berlangsung cepat dan sensitive dalam teknik analisis modern. Selain itu, teknik ini tidak membutuhkan elektroda pembanding tetapi hanya mengukur perubahan hantaran listrik yang timbul antara dua elektroda. Hal ini menyebabkan selektivitas untuk aplikasi biosensor dengan teknik ini kurang bagus.

c. Potensiometri

Potensiometri melibatkan pengukuran dari perbedaan potensial antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dan sinyal potensial yang diukur menunjukkan jumlah konsentrasi analit. Transduser yang biasa digunakan dalam potensiostat adalah elektroda *gas-sensing* atau elektroda *ion-selective*. Sensitifitas dan selektifitas untuk potensiometri biosensor sangat bagus karena

elektroda kerja yang digunakan dalam system dapat membedakan berbagai spesies. Namun dibutuhkan elektroda pembanding dengan kestabilan dan keakuratan yang tinggi.

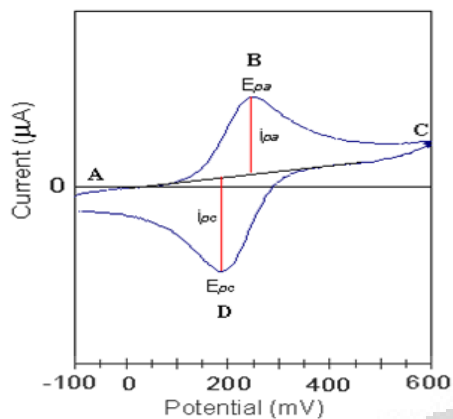
d. Voltametri

Voltametri adalah teknik yang sangat serba guna dalam analisis elektrokimia. Hasil pengukuran berupa nilai arus dan potensial dari reaksi reduksi atau oksidasi dari analit. Puncak dari arus bisa dihubungkan dengan sifat kimia yang spesifik untuk spesies tertentu. Keuntungan dari voltametri adalah noise yang dihasilkan lebih kecil dan sensitifitasnya lebih tinggi. Selain itu, voltametri mampu mendeteksi banyak spesi dalam pengukuran karena akan menghasilkan pucak potensial yang berbeda-beda sesuai yang sesuai untuk masing-masing spesi. (Yu Lei, 2011).

2.3. Cyclic Voltametry

Voltametri merupakan metoda elektrokimia yang mengamati perubahan arus dan potensial. Potensial divariasikan secara sistematis sehingga zat kimia tersebut, mengalami oksidasi dan reduksi dipermukaan elektroda. Dalam voltametri, salah satu elektroda pada sel elektrolitnya terpolarisasi. Penelahan pada sistem tersebut diikuti dengan kurva arus tegangan. Metode ini umum digunakan untuk menentukan komposisi dan analisis kuantitatif larutan. Sel voltametri, terdiri dari 3 elektroda yaitu elektroda pembanding, elektroda kerja, dan elektroda pembantu. Elektroda kerja pada voltametri tidak bereaksi, akan tetapi merespon elektroda aktif apa saja yang ada dalam sampel. Dalam sistem voltametri ada yang disebut dengan *Cyclic Voltametry*.

Cyclic Voltametry adalah salah satu metode elektroanalisis yang digunakan dalam mempelajari mekanisme reaksi redoks yang terjadi pada elektroda. Metode ini mampu mendeteksi secara cepat potensial yang dimiliki elektroda baik dalam keadaan reduksi maupun oksidasi. Jika salah satu puncak telah terdeteksi, maka puncak pasangannya akan mudah dikarakterisasi berdasarkan potensial dari puncak pada voltamogram *cyclic* dan dari perubahan variasi *scan rate*.



Keterangan

E_{pa} = Potensial pada saat terbentuknya *peak anodic*

E_{pc} = Potensial pada saat terbentuknya *peak cathodic*

I_{pa} = Arus pada saat terbentuknya *peak anodic*

I_{pc} = Arus pada saat terbentuknya *peak cathodic*

Gambar 2.4 Siklik voltamogram

Cyclic voltametry ini merupakan teknik voltametri dimana arus diukur selama penyapuan potensial dari potensial awal ke potensial akhir dan kembali lagi ke potensial awal setelah reduksi berlangsung. Dengan demikian arus katodik maupun anodik dapat terukur. Arus katodik adalah arus yang digunakan pada saat penyapuan dari arus yang paling besar menuju arus yang paling kecil dan arus anodik adalah sebaliknya.

Cyclic voltametry sendiri merupakan metode yang sangat menarik untuk mempelajari berbagai konsep dalam elektrokimia. Sistem ini digambarkan sebagai teknik yang aktif dalam metode elektrokimia karena mengemudikan langsung reaksi elektrokimia dengan menggabungkan kimia ke dalam suatu rangkaian listrik. Kemudian mengontrol reaksinya dengan suatu parameter rangkaian listrik seperti voltase.

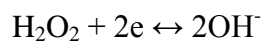
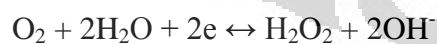
2.4 Amperometrik biosensor

Amperometrik biosensor berfungsi saat potensial diberikan antara dua elektroda dan menghasilkan arus. Umumnya memiliki respon terhadap waktu, range yang dinamis dan sensitifitas yang sama dengan potensiometrik biosensor. Sistem sensor oksigen digunakan dengan respon yang berasal dari elektroda emas

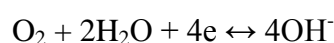
yang berperan sebagai katoda dimana merupakan tempat terjadinya reduksi oksigen dan Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding serta dengan platina spiral sebagai elektroda counter yang berfungsi menangkap elektron.

Elektroda kerja yang digunakan dalam uji sensor BOD adalah elektroda emas. Penggunaan elektrolit di dalam sel elektrokimia juga merupakan hal yang penting di samping elektroda. Elektrolit berfungsi sebagai medium penghantar dimana transfer muatan terjadi melalui pergerakan ion-ion elektrolit tersebut. Larutan elektrolit yang digunakan harus menghantarkan arus listrik dan tidak mengganggu reaksi kimia yang terjadi. Elektrolit dapat berupa larutan garam yang memiliki ion yang dapat bergerak. Untuk menambah konduktivitas dari elektrolit kadang perlu ditambahkan suatu elektrolit pendukung seperti larutan garam anorganik, asam, atau basa

Proses reduksi oksigen yang efisien terjadi pada bagian permukaan katoda dengan mengakibatkan konsentrasi oksigen berkurang hingga mendekati nol. Laju dari pengukuran reduksi oksigen ini sangat bergantung dari proses difusi oksigen ke bulk larutan yang bergantung pada gradient konsentrasi dan konsentrasi bulk oksigen. Sehingga banyaknya oksigen terlarut tersebut dikonsumsi dalam sistem ini. Dalam sistem ini digunakan larutan glukosa sebagai sumber karbon untuk khamir, sehingga terjadi proses biologis khamir yang juga menggunakan oksigen untuk bernafas. Proses perubahan oksigen yang terjadi diamati melalui proses reduksi oksigen yang terjadi pada permukaan elektroda. Reduksi oksigen di katoda terjadi dalam dua mekanisme. Mekanisme pertama mengikuti hydrogen peroksida sebagai intermediet dan memerlukan 2 elektron dengan persamaan berikut :



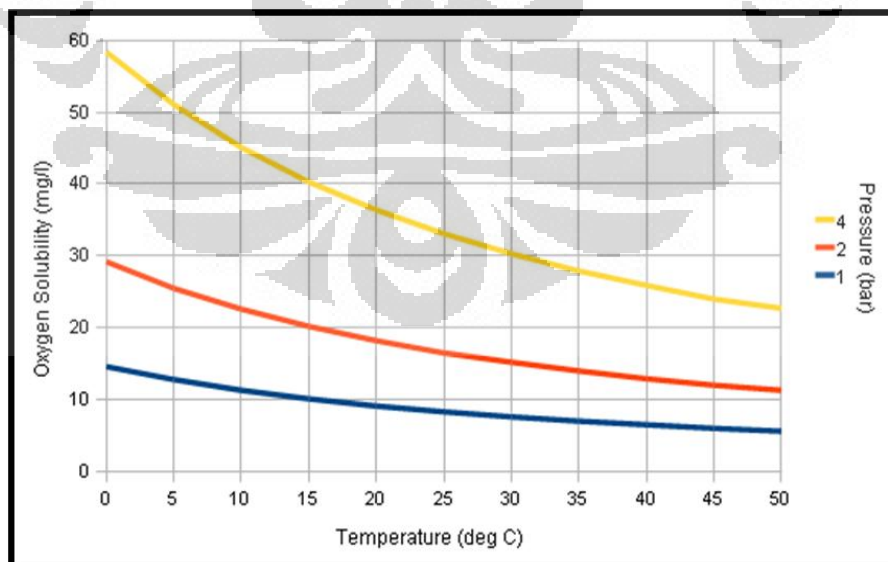
Mekanisme kedua merupakan reduksi oksigen secara langsung yang melibatkan 4 elektron yaitu:



2.5 Oksigen

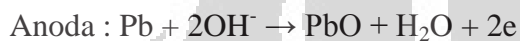
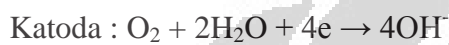
Oksigen adalah unsur kimia dalam sistem tabel periodik yang menempati golongan VI A dan periode 2 serta mempunyai konfigurasi elektron $1s^2 2s^2 2p^4$. Oksigen mempunyai lambang O dan nomor atom 8. Oksigen merupakan unsur kimia paling melimpah ketiga di alam semesta, setelah hidrogen dan helium. Oksigen dapat dengan mudah bereaksi dengan hampir semua unsur lainnya (utamanya menjadi oksida). Pada tekanan dan temperatur standar, dua unsur oksigen berikatan membentuk senyawa gas diatomik O_2 yang tidak berasa, tidak berbau, dan tidak berwarna. Gas oksigen diatomik mengisi 20,9% volume atmosfer bumi. Adanya oksigen di atmosfer bumi merupakan akibat dari siklus oksigen. Faktor utama yang mendorong siklus oksigen ini adalah fotosintesis.

Oksigen mempunyai kemampuan larut dalam air. Kadar oksigen yang terlarut dalam air tergantung pada tekanan, temperatur, pH dan zat terlarut yang terdapat dalam air. Semakin besar tekanan gas oksigen terhadap permukaan air semakin besar oksigen yang dapat larut dalam air. Semakin banyak jumlah zat terlarut baik mineral maupun zat organik dalam air maka semakin kecil oksigen yang terlarut dalam air. Sedangkan semakin meningkat temperatur air maka semakin menurun kadar oksigen yang dapat larut dalam air seperti yang terdapat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Kurva kelarutan oksigen vs temperatur

Salah satu parameter kimia yang dapat digunakan untuk mengetahui kualitas air dalam suatu perairan adalah penentuan oksigen terlarut. Semakin banyak jumlah oksigen terlarut maka kualitas air semakin baik. Penentuan oksigen terlarut dapat dilakukan secara langsung dengan metoda elektrokimia dengan alat DO meter. Prinsip kerjanya adalah menggunakan probe oksigen yang terdiri dari katoda dan anoda yang direndam dalam larutan elektrolit. Pada alat DO meter, probe ini biasanya menggunakan katoda perak (Ag) dan anoda timbal (Pb). Secara keseluruhan, elektroda ini dilapisi dengan membran plastik yang bersifat semi permeable terhadap oksigen. Reaksi kimia yang akan terjadi adalah :

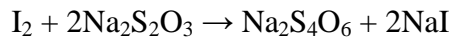
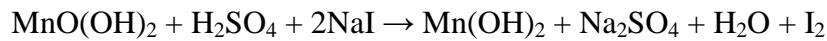
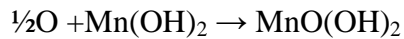


Gambar 2.5 Alat DO meter

Penentuan oksigen terlarut dengan cara DO meter harus diperhatikan suhu dan salinitas sampel yang akan diperiksa. Peranan suhu dan salinitas ini sangat vital terhadap akurasi penentuan oksigen terlarut dengan cara DO meter.

Selain dengan alat DO meter, penentuan oksigen terlarut juga dapat dilakukan dengan metode titrasi dengan cara Winkler. Metoda titrasi dengan cara Winkler secara umum banyak digunakan untuk menentukan kadar oksigen terlarut. Prinsipnya dengan menggunakan titrasi iodometri. Sampel yang akan dianalisis terlebih dahulu ditambahkan dengan larutan MnCl_2 dan NaOH - KI , sehingga akan terjadi endapan $\text{Mn}(\text{OH})_2$. Dengan menambahkan H_2SO_4 atau HCl maka endapan yang terbentuk akan larut kembali dan juga akan membebaskan molekul iodium (I_2) yang ekuivalen dengan oksigen terlarut. Iodium yang dibebaskan ini selanjutnya dititrasi dengan larutan standar natrium tiosulfat

(Na₂S₂O₃) dan menggunakan indikator larutan amilum (kanji). Reaksi kimia yang terjadi dapat dirumuskan sebagai berikut :



(Salmin, 2005).

2.6 Tembaga (Cu)

Tembaga atau cuprum merupakan unsur logam yang terletak pada golongan transisi IB dan periode 4 dalam tabel periodik. Unsur tersebut memiliki nomor atom 29 dengan berat atom 63,54 dengan kristal berbentuk kubus, bersifat lunak dan halus, berwarna kemerahan dan memiliki daya hantar listrik yang baik. Logam Cu banyak digunakan dalam bidang pertambangan, pertanian dan industri. Namun keberadaan logam Cu di lingkungan perlu diperhatikan karena Cu merupakan salah satu jenis logam yang paling banyak mencemari perairan. Pada konsentrasi rendah, logam Cu berperan sebagai mikronutrien yang penting untuk pertumbuhan mikroorganisme. Tetapi logam Cu bisa bersifat toksik dan dapat membahayakan manusia dan organisme lain apabila konsentrasinya melebihi ambang batas yang telah ditetapkan atau melebihi standar baku mutu.

Batas maksimal logam Cu yang diizinkan di dalam air lingkungan berdasarkan keputusan menteri negara Kementrian Lingkungan Hidup Kep.02/Men.KLH/1998 adalah 1 ppm. Meningkatnya pencemaran logam Cu di lingkungan mendorong kebutuhan akan alat deteksi yang dapat mengukur konsentrasi Cu dengan cepat, akurat dan murah. Metode yang umum digunakan untuk mendeteksi keberadaan logam berat adalah atomic absorption spectroscopy (AAS), inductively coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS) dan atomic emission spectroscopy (AES). Metode tersebut membutuhkan peralatan yang mahal, proses yang rumit, waktu yang lama dan tidak dapat digunakan secara langsung. Salah satu alat alternatif yang sedang dikembangkan untuk dijadikan sebagai pengukur konsentrasi logam yang dapat mengukur dengan cepat dan akurat adalah biosensor.

2.7 Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Biochemical Oxygen Demand (BOD) didefinisikan sebagai banyaknya oksigen yang diperlukan oleh organisme pada saat metabolisme bahan organik pada kondisi aerobik. Pemecahan bahan organik diartikan bahwa bahan organik ini digunakan oleh organisme sebagai bahan makanan dan energinya diperoleh dari proses oksidasi. Penentuan nilai BOD adalah suatu analisis empiris yang mencoba mendekati secara global proses mikrobiologis yang benar-benar terjadi di dalam air. Nilai BOD menunjukkan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk menguraikan (mengoksidasi) zat organik yang terlarut maupun yang tersuspensi dalam air.

Pengukuran BOD sangat penting sebagai parameter kualitas dari air. Untuk menentukan tingkat penurunan kualitas air dapat dilihat dari penurunan kadar oksigen terlarut. Berkurangnya kadar oksigen dalam air dapat dipengaruhi oleh masuknya zat-zat pencemar dari luar sehingga secara tidak langsung nilai BOD bisa menunjukkan beban pencemaran dalam air. Pengukuran nilai BOD pada dasarnya dilakukan dengan memanfaatkan aktivitas biooksidasi dari mikroorganisme melalui pengukuran jumlah oksigen yang dikonsumsi oleh mikroorganisme. Metode penentuan BOD biasanya dilakukan dengan metode konvensional. Metode ini dilakukan dengan membiarkan mikroorganisme berkembang biak dalam sistem yang diamati selama 5 hari pada saat pertumbuhannya di dalam air dianggap mencapai konstan dan mengukur konsentrasi oksigen yang digunakan selama jangka waktu tersebut. Oleh karenanya dibutuhkan waktu selama 5 hari untuk pengukuran BOD sehingga disebut BOD₅.

2.8 Khamir

Khamir adalah fungi ekasel (uniselular) yang beberapa jenis spesiesnya umum digunakan untuk membuat roti, fermentasi minuman beralkohol, dan bahkan digunakan percobaan sel bahan bakar. Kebanyakan khamir merupakan

anggota divisi Ascomycota, walaupun ada juga yang digolongkan dalam Basidiomycota. Khamir umumnya merupakan mikroorganisme aerob yaitu mikroorganisme yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu, khamir dapat digunakan dalam pengukuran parameter BOD.

Khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang berpotensi sebagai elemen biologi dalam biosensor. Penggunaan khamir sebagai elemen biologi memiliki kelebihan dibandingkan materi biologi lainnya. Biomassa khamir dapat diperoleh dengan mudah karena dapat ditumbuhkan pada medium yang murah, dapat dipanen dalam waktu singkat, kemampuan tumbuh pada berbagai variasi sumber karbon, dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga biomassa dapat diperoleh dalam jumlah yang besar (Mumtahinah, 2007).

2.8.1 *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Candida fukuyamaensis UICC Y-247 merupakan khamir yang didapat dari UCC (UI Culture Collection). Khamir ini ditumbuhkan pada suhu ruang dalam medium Yeast Malt Agar(YMA). Kolon berwarna putih agak krem, permukaan dan tekstur koloni licin, mengkilap seperti mentega, profil dan tepi koloni menggunung, dan lurus. Khamir ini dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologisnya dalam air karena bersifat anaerob fakultatif yaitu dapat hidup dengan atau tanpa oksigen. Dengan sifat anaerob fakultatif ini, *Candida fukuyamaensis* memiliki kelebihan ketika dilakukan proses imobilisasi. Dalam proses imobilisasi, *Candida fukuyamaensis* memanfaatkan sifat anaerobnya sehingga bisa bertahan dan tetap melakukan metabolisme. Proses elektrokimia yang digunakan dalam pengukuran memanfaatkan khamir yang sudah memasuki fase pertumbuhan yang maksimum dan konstan.

Taksonomi *Candida* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycotina
Sub divisi	: Saccharomycotina
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*
Contoh Spesies : *C.Fukuyamaensis* ; *C.Boidinii* ; *C.albican* ; *C.utilis*
C.parapsilosis *C.Tropicalis* ; *C.krusei* ; *C.oleophila*

2.8.2 *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181 adalah khamir koleksi milik laboratorium mikrobiologi UI yang diisolasi dari perairan Teluk Jakarta. Khamir jenis ini dilaporkan pada penelitian sebelumnya dapat digunakan sebagai elemen biosensing dan memiliki kemampuan biosorpsi logam berat (Rianasari, 2004).

Rhodotorula mucilaginosa adalah khamir kelompok basidiomycetes yang memiliki koloni berwarna jingga sampai merah, bertekstur mengkilat dan berlendir, tepi koloni rata, permukaan licin dan menggunung serta bersifat aerob atau memerlukan oksigen untuk melakukan metabolisme. Dinding sel *Rhodotorula mucilaginosa* terdiri dari banyak lapis yang tersusun atas manan, kitin dan sedikit glukukan. Selain itu, mikroorganisme ini diketahui mengandung fukogalaktan, yaitu suatu polimer yang terdiri dari fukosa dan galaktosa yang memiliki kemampuan biosorpsi logam berat. Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* juga mampu menghasilkan EPS yang memiliki kemampuan biosorpsi logam yang tinggi karena struktur gula penyusunnya memiliki banyak percabangan (Mumtahinah, 2007).

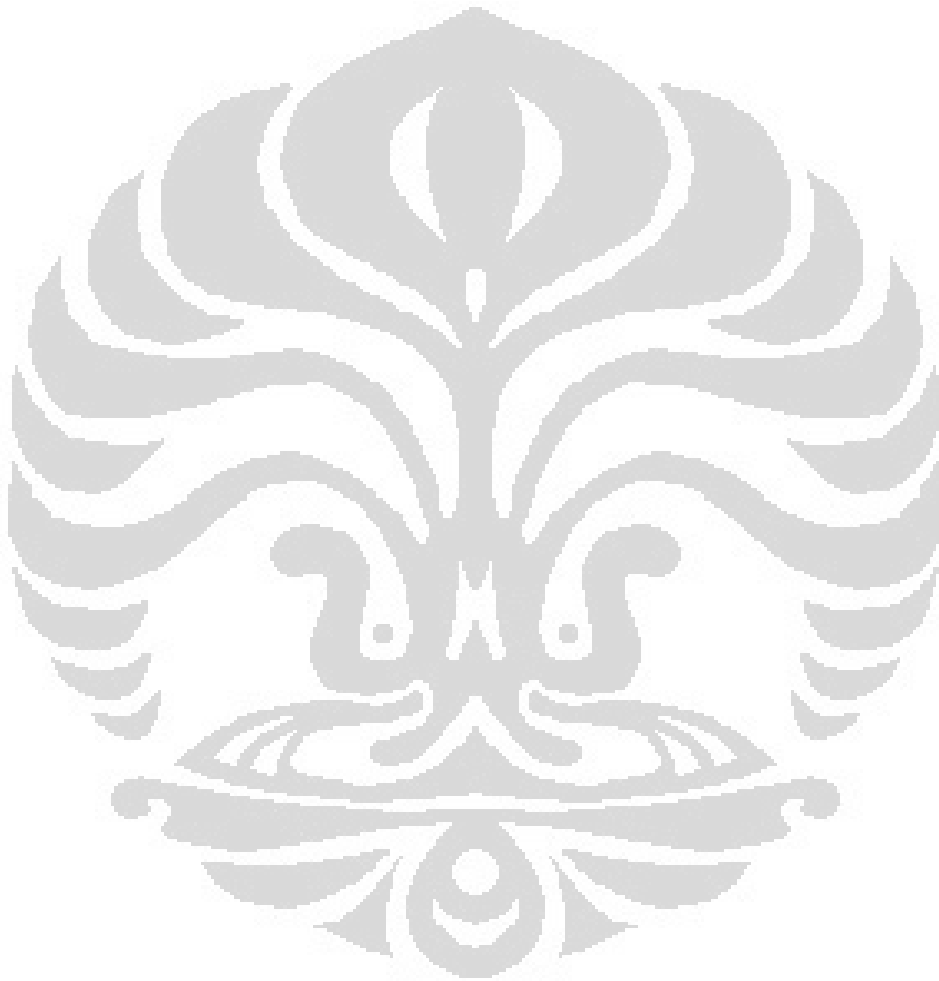


Gambar 2.7 Sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

Berikut adalah taksonomi dari *Rhodotorula mucilaginosa* :

Scientific name : *Rhodotorula rubra*
Synonym : *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula pilimanae*,
Sporobolomyce albo-rubescens
Kingdom : Fungi

Sub Kingdom : Dikarya
Phylum : Basidiomycota
Sub Phylum : Pucciniomycotina
Sub Kelas : Microbotryomycetes
Ordo : Sporidiobolales
No rank : mitosporic sporidiobolales
Genus : Rhodotorula



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat-alat yang digunakan

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, botol timbang, batang pengaduk, kaca preparat, labu ukur, pipet tetes dan pipet ukur, beaker glass, dan alat-alat besi seperti spatula, crucible tong, jarum ose, sel elektrokimia yang terdiri dari, lempeng kuningan, platina spiral, tutup botol, penyangga yang terbuat dari skrub dan mur, dan elektroda emas (Au).

Selain itu juga digunakan alat-alat instrumen seperti autoklaf, inkubator shaker, oven, potensiostat, *UV spectronic 20*, alat timbang analitis, DO meter dan alat sentrifuge.

3.2 Bahan – bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah glukosa, yeast ekstrak, malt ekstrak, pepton, agar, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , aquademin, aquademin steril, kapas berlemak., dan 2-propanol.

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA UI. Jenis khamir *Candida fukuyamaensis* diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat. Sedangkan *Rhodotorula mucilaginosa* berasal dari perairan Teluk Jakarta.

3.3 Prosedur kerja

3.3.1 Sterilisasi alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan untuk media pertumbuhan khamir dan yang digunakan untuk regenerasi khamir seperti, tabung reaksi, pipet, cawan petri, erlenmeyer, disterilisasi terlebih dahulu dalam oven $160^{\circ}C$ 2 jam. Media untuk

pertumbuhan khamir seperti YMA (*Yeast Malt Agar*), YMB (*Yeast Malt Broth*) dan aquademin dilakukan sterilisasi didalam autoklaf 121°C selama 15 menit.

3.3.2 Pembuatan Medium dan Penyiapan Inokulum

1. Pemeliharaan biakan khamir

Stock culture biakan murni dalam medium PDA berasal dari UICC Lab. Mikrobiologi Departemen Biologi UI. Biakan *stock culture* disimpan pada suhu 4°C. Dari *stock culture* dibuat biakan *working culture* dalam medium YMA.

2. Peremajaan biakan khamir

Fungsi peremajaan biakan adalah untuk memperoleh sel khamir pada fase logaritmik (Mumtahinah,2007). Strain khamir yang berasal dari *working culture* dipindahkan secara aseptik dengan jarum ose ke dalam medium YMA miring, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 48 jam. Biakan khamir berumur 48 jam digunakan untuk persiapan biomassa khamir.

3. Penyiapan Biomassa khamir

- Kultur murni *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis* didapatkan dari UICC
- Sebelum kultur dimurnikan, dibuat terlebih dahulu media YMA(*Yeast Malt Agar*) sebagai media tumbuh untuk khamir. Media YMA dibuat dengan cara mencampurkan glukosa 10g/L, *yeast* ekstrak 3g/L, *malt* ekstrak 3g/L, pepton 5g/L, dan agar 15 g/L, kemudian dilarutkan dalam aquademin
- Selanjutnya memanaskan campuran YMA hingga mendidih dan larut sempurna
- Media yang telah larut sempurna dipindahkan ke dalam tabung reaksi hingga volumenya 10 mL dan pada tabung reaksi lain volumenya 5 mL
- Media tersebut disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

- 5 mL media dalam tabung reaksi dibuat menjadi agar miring supaya permukaannya lebih luas.
- Sementara itu, 10 mL media dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis dan kultur dimurnikan dengan cara digoreskan kemudian diinkubasi selama 48 jam dalam suhu 30°C
- Setelah itu biakan yang berasal dari sel tunggal kemudian dipindahkan ke dalam agar miring. Kemudian diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 48 jam
- Membuat suspensi sel dengan cara menambahkan 5 mL aquades steril ke dalam agar miring yang berisi biakan murni
- Jarum ose digoreskan secara aseptik ke dalam tabung reaksi hingga biakan larut sempurna
- Suspensi yang didapatkan kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer steril kemudian diaduk dengan vortex.
- Sebanyak 5 mL suspensi sel dipindahkan dalam media fermentasi YMB (*Yeast Malt Broth* = YMA tanpa agar) steril sebanyak 100 mL
- Campuran suspensi dan YMB diinkubasi dengan inkubator *shaker* selama 24 jam dalam suhu 30°C dengan guncangan 110 rpm untuk *Candida fukuyamaensis* dan 120 rpm untuk *Rhodotorula mucilaginosa*
- Kemudian disentrifugasi selama 10 menit untuk memisahkan biomassa dari medium.
- Biomassa yang diperoleh dicuci dengan akuades dan disentrifugasi kembali
- Biomassa berupa suspensi sel dalam larutan buffer fosfat diperoleh sebanyak 8 mL

3.3.3 Penentuan Kurva Pertumbuhan

Sejumlah erlenmeyer disiapkan dan diurutkan sesuai dengan waktu pengamatan yaitu 0, 6, 12, 24, 30, 36, 42, dan 48 jam. Masing-masing erlenmeyer diisi dengan 25 mL media fermentasi cair YMB (YMA tanpa agar) dan 1,25 mL suspensi sel. Fermentasi dilakukan menggunakan inkubator *shaker* pada suhu 30°C selama 48 jam dengan guncangan 110 rpm untuk *Candida fukuyamaensis* dan 120 rpm untuk *Rhodotorula mucilaginosa*. Jumlah sel kemudian diamati sesuai dengan waktu yang ditentukan, Jumlah sel bertambah sesuai dengan perubahan kekeruhan larutan. Selanjutnya masing-masing larutan diamati tingkat kekeruhannya menggunakan alat *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm. Kemudian dibuat kurva pertumbuhan untuk menentukan pertumbuhan optimumnya.

3.3.4 Penentuan Jumlah sel khamir yang digunakan dengan kamar hitung (*Counting Chamber*)

Metode ini dilakukan dengan mengencerkan 1 mL suspensi sel yang didapat dari biakan agar miring dengan variasi pengenceran 50 kali, 100 kali, 200 kali, dan 500 kali. Masing-masing pengenceran dihitung jumlah sel khamir yang terdapat di dalamnya dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x pada wadah *counting chamber*. Sementara itu, nilai *optical density* di ukur dengan *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm

3.3.5 Pencucian Elektroda

Cara pencucian elektroda Au dan elektroda Pt adalah dengan melakukan ultrasonikasi dengan larutan organik 2-propanol dan air, masing-masing selama 20 menit.

3.3.6 Pembuatan larutan buffer fosfat

Larutan buffer fosfat pH 7 dibuat dengan cara menimbang K_2HPO_4 sebanyak 0,4355 g dan KH_2PO_4 sebanyak 0,3402 g kemudian dilarutkan dengan akuademin dalam labu ukur 50 mL.

3.3.7 Aplikasi sebagai sensor BOD

3.3.7.1 Perancangan sel elektrokimia

Rancangan sel elektrokimia terdiri dari elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pendukung (*counter electrode*) dan elektroda pembanding (*reference electrode*). Sebagai elektroda kerja digunakan keping emas berukuran 1 cm x 1 cm dengan ketebalan 1 mm. Diameter elektroda kerja yang kontak dengan larutan sebesar 3 mm. Sebagai elektroda pembanding digunakan Ag/AgCl (saturated KCl). Sedangkan elektroda pendukung digunakan kawat platina berbentuk spiral.

3.3.7.2 Penentuan potensial reduksi oksigen

Potensial reduksi dari oksigen ditentukan dengan *cyclic voltametry* dengan scan rate 100 mV/s menggunakan elektroda emas terhadap Ag/AgCl dalam 4,5 mL larutan buffer fosfat pH 7 yang dialiri dengan oksigen. Variasi waktu *bubling* oksigen dilakukan setiap dua detik. Sebelum dialiri dengan oksigen, larutan buffer fosfat pH 7 dialiri dengan nitrogen selama 30 detik untuk mengusir oksigen yang sebelumnya sudah ada dalam larutan.

3.3.7.3 Penentuan waktu optimum pengukuran BOD

Elektroda emas diaplikasikan untuk sensor BOD dengan mendeteksi waktu optimum nilai BOD dapat dihitung. Dilakukan dengan menggunakan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) dengan memvariasikan waktu pengukuran selama 0 menit, 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit dan 25 menit, dengan potensial yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.7.2 terhadap Ag/AgCl. Scan rate yang digunakan adalah 100 mV/s pada oksigen terlarut dalam 4,5 mL buffer fosfat dan 0,5 mL glukosa 1 ppm dalam keadaan sel khamir bebas.

3.3.7.4 Pengukuran kurva kalibrasi linier untuk keadaan sel khamir bebas

Sel elektrokimia disiapkan dengan mencampurkan 4,5 mL larutan buffer fosfat dan 0,5 mL larutan glukosa 1 ppm didalam kontainer. Larutan tersebut terlebih dahulu dibebaskan dari oksigen dengan menjenuhkan larutan dengan gas nitrogen selama 30 detik. Kemudian larutan dialiri dengan oksigen murni dengan memvariasikan waktu *bubling* setiap dua detik. Setelah larutan siap, 1 mL suspensi khamir ditambahkan. Sistem elektrokimia diukur dengan menggunakan

teknik MPA pada potensial tertentu terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum waktu optimum kedua khamir yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.7.3. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s. Kadar oksigen pada setiap waktu *bubling* diukur dengan DO meter secara terpisah.

3.3.7.5 Pengukuran reproducibility elektroda Emas (Au) murni dalam keadaan sel khamir bebas

Elektroda emas di uji dalam oksigen terlarut yang memberikan respon maksimum (12 detik) dalam buffer fosfat pH 7 dengan 0,5 mL glukosa 1 ppm pada keadaan sel khamir bebas sebanyak lima belas kali. Pengukuran dilakukan dengan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) pada potensial reduksi yang diperoleh pada point 3.3.7.2 terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum kedua khamir yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.7.3. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

3.3.7.6 Penentuan *Limit of Detection* (LOD) untuk keadaan sel khamir bebas

Penentuan batas deteksi untuk elektroda kerja emas dilakukan menggunakan oksigen terlarut pada variasi waktu *bubling* 2, 4, 6, 8 dan 12 detik dalam larutan buffer fosfat yang mengandung 0,5 mL glukosa 1 ppm. Pengukuran dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA pada potensial reduksi yang diperoleh pada point 3.3.7.2 terhadap Ag/AgCl dengan waktu optimum kedua khamir yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.7.3. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

3.3.7.7 Pengaruh keberadaan logam berat pada pengukuran BOD sensor

Pengaruh logam berat dilakukan dengan menambahkan 1 mL larutan ion Cu^{2+} pada larutan oksigen 12 detik dalam 4,5 mL buffer fosfat pH 7 dan 0,5 mL glukosa 1 ppm. Larutan ion Cu^{2+} yang divariasikan adalah 0,005 ppm, 0,01 ppm, 0,05 ppm, dan 0,1 ppm. Pengukuran dilakukan dengan teknik MPA pada potensial reduksi yang diperoleh pada point 3.3.7.2 dalam keadaan sel khamir bebas dengan waktu optimum kedua khamir yang diperoleh dari percobaan sebelumnya pada point 3.3.7.3. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s.

3.3.8 Penentuan kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi winkler

Hubungan antara waktu aerasi gas O_2 terhadap kadar gas O_2 terlarut diidentifikasi dengan melakukan aerasi larutan buffer fosfat dengan gas N_2 selama ± 30 detik. Kemudian larutan buffer fosfat yang telah diaerasi dengan gas N_2 dilakukan aerasi dengan gas O_2 dengan variasi waktu aerasi 2, 4, 6, 8, 10, 12 s. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar gas O_2 terlarut dengan metode titrasi winkler. Larutan buffer fosfat dalam botol yang telah diaerasi dengan gas O_2 ditambahkan 1 mL $MnSO_4$ dan 1 mL NaOH - KI, kemudian botol dikocok dan dibiarkan selama 15 menit. Terjadi endapan, kemudian ditambahkan 1 mL H_2SO_4 pekat dan dikocok sampai endapan tersebut larut. Sebanyak 25 mL larutan dari botol diambil dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, larutan dititrasi dengan larutan $Na_2S_2O_3$ 0,01 N sampai berwarna kuning bening. Indikator amilum 1% sebanyak 1 mL ditambahkan sampai terjadi perubahan warna dari kuning bening ke biru (karena ditambahkan indikator) lalu dititrasi kembali dengan larutan $Na_2S_2O_3$ 0,01 N hingga berubah warna larutan menjadi jernih.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan suatu sensor BOD berbasis mikroorganisme *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 dan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 yang mampu mengukur BOD secara langsung melalui pengukuran terhadap kadar oksigen terlarut dalam air dan mengetahui pengaruh keberadaan ion Cu^{2+} terhadap arus yang dihasilkan oleh sensor BOD. Pada penelitian ini dilakukan variasi kadar oksigen yang terdapat dalam larutan uji dengan cara mengaliri larutan dengan oksigen murni. Pengukuran arus reduksi oksigen sisa yang tidak digunakan oleh mikroorganisme dilakukan dengan multi pulse amperometrik pada potensial -600 mV.

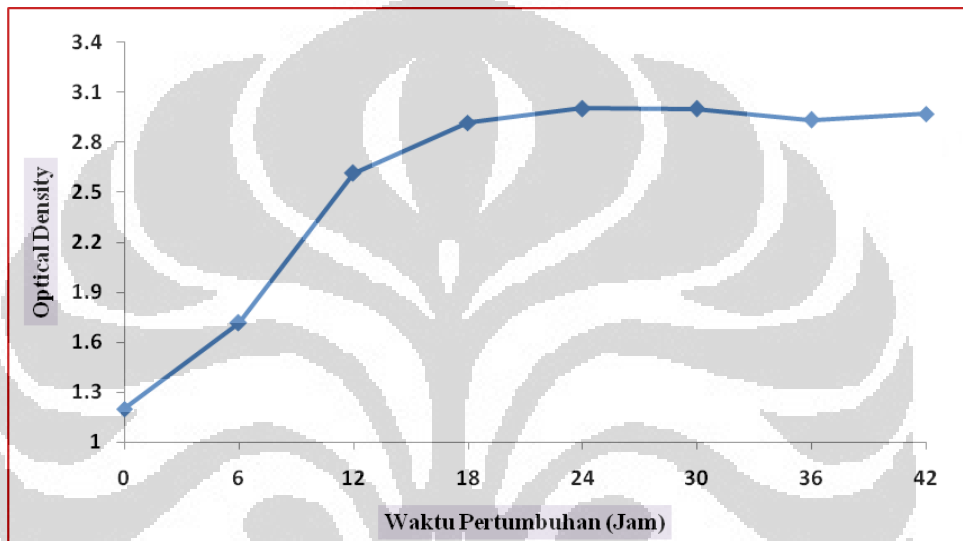
4.1. Penentuan Kurva Pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Pada penelitian ini, waktu maksimum pertumbuhan masing-masing mikroorganisme ditentukan dengan metode *optical density* (OD) dengan *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm. Hasil dari kurva pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181 dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan kurva pertumbuhan *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 pada Gambar 4.2.

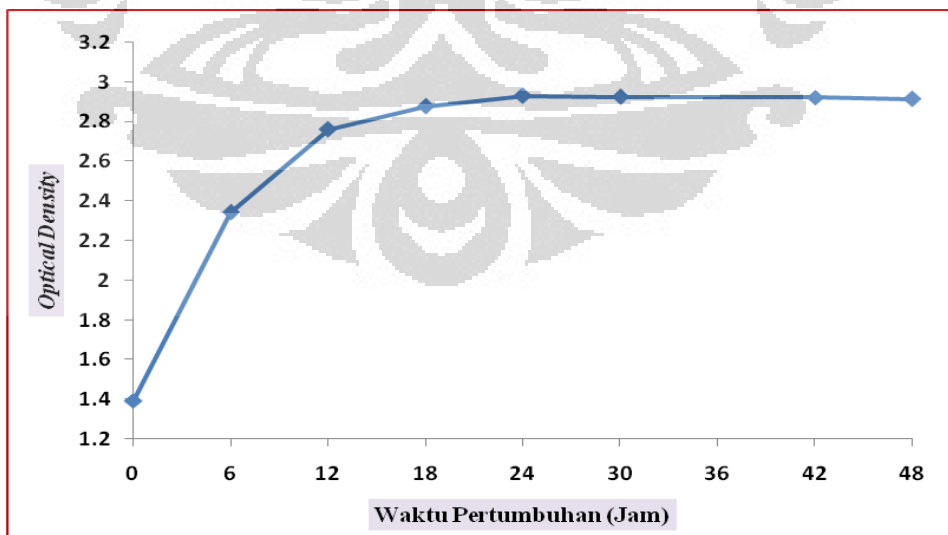
Pertumbuhan mikroorganisme dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian.

Pada awal pertumbuhan, mikroorganisme memasuki fase lag atau fase adaptasi. Pada fase ini mikroorganisme menggunakan cadangan energi untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan barunya. Selanjutnya mikroorganisme memasuki fase eksponensial, dimana terjadi penambahan mikroorganisme seiring bertambahnya waktu. Kemudian mikroorganisme memasuki fase stasioner dimana jumlah mikroorganisme yang hidup sama dengan jumlah mikroorganisme yang mati atau jumlah sel tetap dan cenderung tidak

mengalami perubahan. Sebelum memasuki fase stasioner, mikroorganismenya mengalami pertumbuhan yang optimum sehingga waktu untuk fase ini digunakan dalam penumbuhan mikroorganismenya dalam penelitian. Sementara fase kematian merupakan fase berkurangnya mikroorganismenya karena nutrisi dalam lingkungan mulai menurun. Dari kurva pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis* pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2, pertumbuhan optimum terjadi pada saat memasuki waktu 24 jam.



Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa*

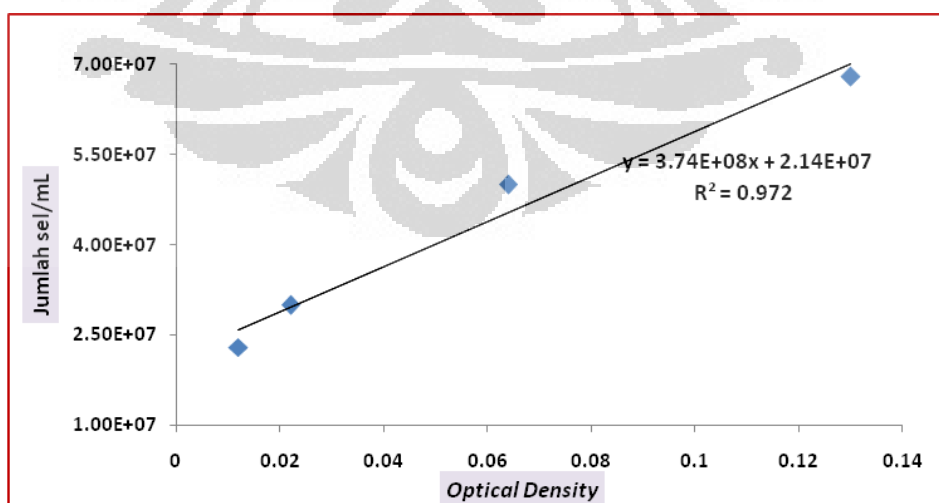


Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan *Candida fukuyamaensis*

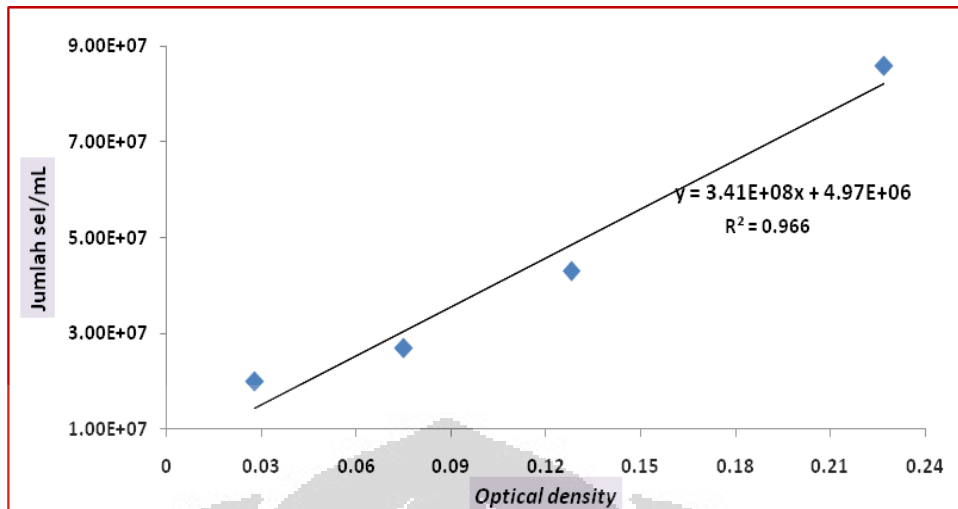
4.2 Penentuan jumlah sel khamir yang digunakan dengan metode kamar hitung (*counting chamber*) dan *optical density* dengan *UV spectronic 20*

Pada penelitian ini, penentuan jumlah sel khamir dilakukan dengan metode kamar hitung atau *counting chamber*. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan 1 mL suspensi sel yang didapat dari biakan agar miring dengan variasi pengenceran 50 kali, 100 kali, 200 kali, dan 500 kali. Jumlah sel khamir yang terdapat di dalam masing-masing pengenceran dihitung menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x pada wadah *counting chamber*. Selanjutnya nilai *optical density* dari masing-masing pengenceran diukur dengan *UV spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm. Plot hubungan antara *optical density* dan jumlah sel khamir per milliliter dapat dilihat pada Gambar 4.3 untuk *Rhodotorula mucilaginosa* dan Gambar 4.4 untuk *Candida fukuyamaensis*.

Sel khamir yang digunakan dalam sensor BOD merupakan sel khamir yang telah mencapai pertumbuhan optimum. Pada pertumbuhan optimum, nilai *optical density* dari sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* adalah 2,860 dan sel khamir *Candida fukuyamaensis* adalah 3,231. Dengan memasukkan masing-masing nilai *optical density* tersebut ke dalam persamaan yang didapat dari hubungan *optical density* dan jumlah sel khamir per mL maka diperoleh jumlah sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* sebanyak $1,091 \times 10^9$ sel/mL dan jumlah sel khamir *Candida fukuyamaensis* sebanyak $1,107 \times 10^9$ sel/mL.



Gambar 4.3 Plot hubungan nilai *optical density* dengan jumlah sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa*



Gambar 4.4 Plot hubungan nilai *optical density* dengan jumlah sel khamir *Candida fukuyamaensis*

4.3 Preparasi dan Perancangan Sel Elektrokimia

Preparasi elektroda Au dan elektroda Pt bertujuan untuk membersihkan elektroda dari pengotor sebelum digunakan karena pengotor dapat mempengaruhi data yang dihasilkan. Elektroda Au dan Pt disonikasi dalam sonikator menggunakan pelarut 2-propanol dan akuademin masing-masing selama dua puluh menit. Fungsi dari sonikasi adalah membuat molekul dari pengotor dapat bervibrasi sehingga dapat terlepas dari permukaan elektroda. Pemilihan 2-propanol dan akuademin sebagai pelarut didasarkan sifat kepolarannya. 2-propanol memiliki sifat nonpolar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan pengotor yang sifatnya nonpolar, sedangkan akuademin memiliki sifat polar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan pengotor yang memiliki sifat polar.

Sel elektrokimia terdiri dari elektroda Au sebagai elektroda kerja, elektroda Pt sebagai elektroda pendukung dan elektroda Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding. Ketiga elektroda tersebut dihubungkan ke alat potensiostat. Potensiostat merupakan alat elektronik yang mengontrol beda potensial antara elektroda kerja dan elektroda pembanding dalam suatu sel elektrokimia. Perancangan sel elektrokimia dan alat potensiostat dilakukan seperti rangkaian berikut :

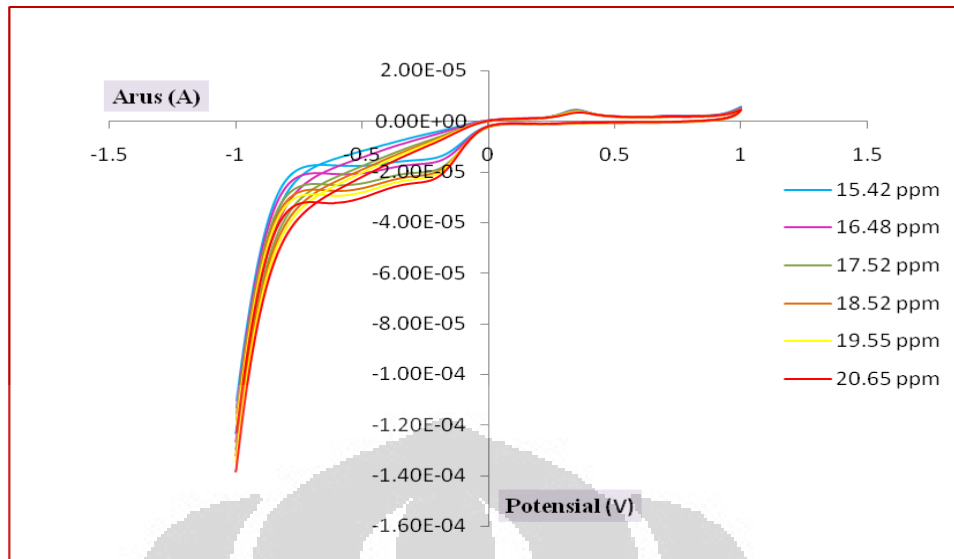


Gambar 4.5 Perancangan sel elektrokimia

4.4 Penentuan Potensial Reduksi Oksigen

Potensial reduksi oksigen ditentukan dengan metode *cyclic voltametry* dengan elektroda kerja Au. Pada metode diamati perubahan arus yang terjadi pada perubahan potensial. Potensial divariasikan secara sistematis sehingga zat kimia tersebut mengalami oksidasi dan reduksi di permukaan elektroda. Arus diukur selama *scanning* (penyapuan) dari potensial awal (-1000 mV) ke potensial akhir (1000 mV) untuk mendapatkan arus anodik dan kembali ke potensial awal lagi untuk mendapatkan arus katodik. Potensial yang akan ditentukan adalah nilai potensial reduksi dari O₂ sehingga arus yang diamati adalah arus katodik. Potensial reduksi dari O₂ dapat ditentukan dari nilai puncak katodik. Puncak katodik merupakan puncak yang terbentuk saat terjadi arus reduksi paling negatif.

Penentuan potensial reduksi oksigen dilakukan pada larutan buffer fosfat dengan oksigen terlarut pada berbagai variasi konsentrasi. *Scan rate* yang digunakan adalah 100 mV/s. Hasil dari *cyclic voltametry* dapat dilihat pada Gambar 4.6. Dari gambar tersebut terlihat bahwa *cyclic voltamogram* memiliki puncak katodik sekitar -150 mV dan -600 mV. *Cyclic voltamogram* menunjukkan bahwa oksigen mengalami reaksi reduksi dalam dua tahap dimana hidrogen peroksida terbentuk sebagai intermediet (Wang, 2000). Selanjutnya potensial reduksi yang digunakan pada penentuan arus reduksi oksigen dengan teknik *Multi Pulse Amperometry* (MPA) adalah 600 mV. Pada teknik MPA, amperogram yang dihasilkan merupakan fungsi dari waktu terhadap kuat arus, sedangkan nilai potensial dibuat tetap.

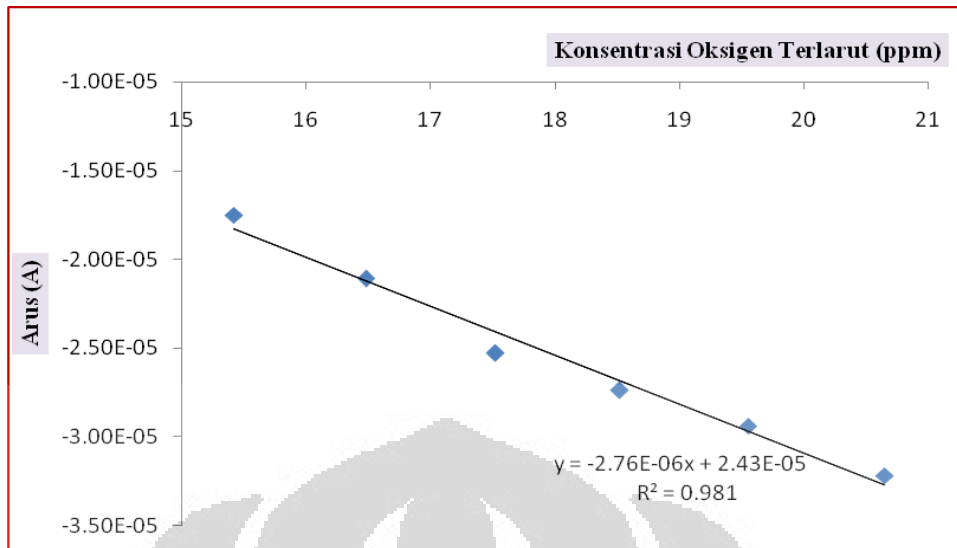


Gambar 4.6 *Cyclic voltammogram* larutan oksigen menggunakan elektroda emas

Dari *cyclic voltammogram* dapat dibuat hubungan antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen terlarut dengan membuat plot grafik. Variasi konsentrasi oksigen terlarut dilakukan dengan mengaliri 4,5 mL larutan buffer fosfat dalam sel dengan gas oksigen setiap selang waktu dua detik. Sementara itu nilai konsentrasi oksigen setiap larutan ditentukan menggunakan DO meter.

Tabel 4.1 Hubungan konsentrasi oksigen terlarut dan arus reduksi

Konsentrasi Oksigen Terlarut	Arus Reduksi Oksigen
15,42 ppm	$-1,75 \times 10^{-5}$ A
16,48 ppm	$-2,11 \times 10^{-5}$ A
17,52 ppm	$-2,53 \times 10^{-5}$ A
18,52 ppm	$-2,74 \times 10^{-5}$ A
19,55 ppm	$-2,94 \times 10^{-5}$ A
20,65 ppm	$-3,22 \times 10^{-5}$ A



Gambar 4.7 Plot grafik antara konsentrasi oksigen terhadap arus reduksi

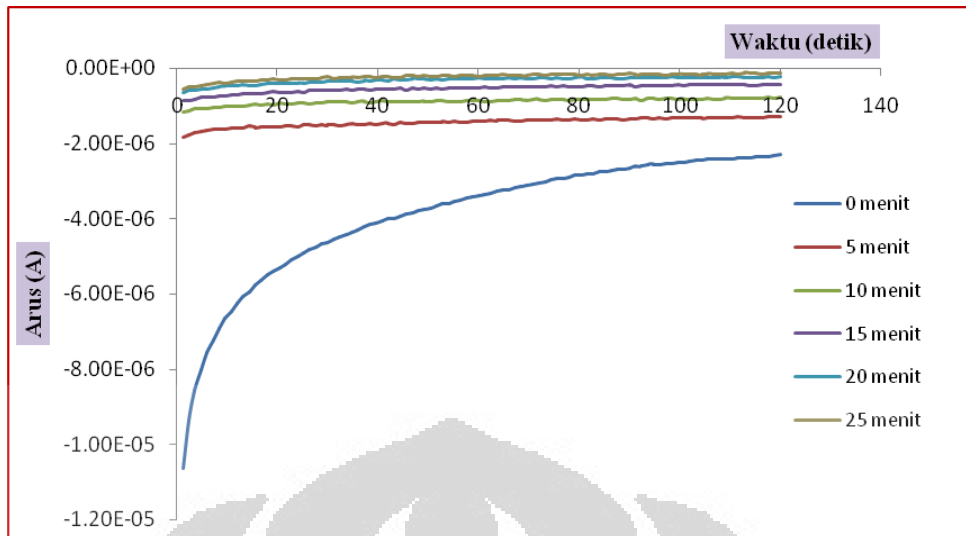
Dari Gambar 4.6 dan Gambar 4.7 diperoleh hubungan bahwa semakin besar konsentrasi oksigen terlarut maka semakin negatif nilai arus reduksinya.

4.5 Aplikasi Sensor BOD

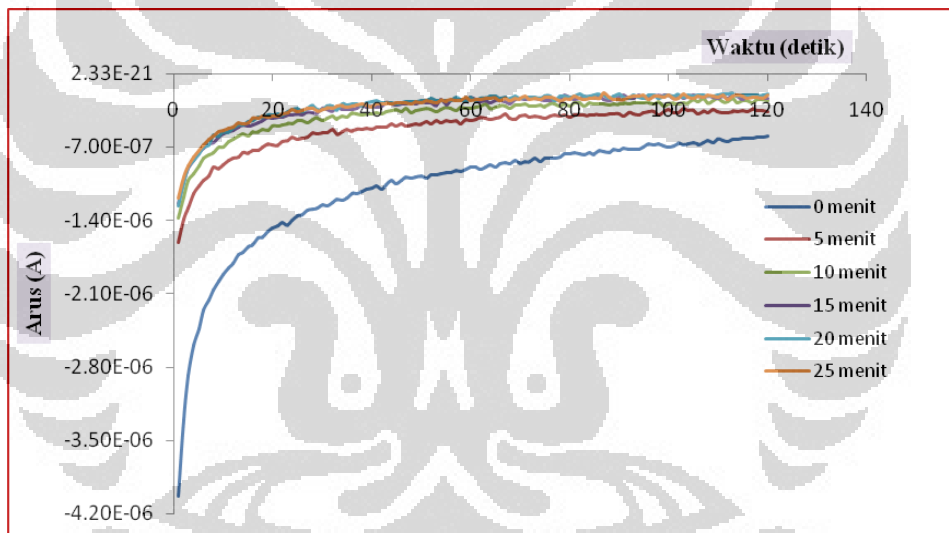
4.5.1 Penentuan waktu optimum sensor BOD

Sensor BOD tidak dapat digunakan secara langsung karena mikroorganisme yang digunakan sebagai elemen biologi dalam biosensor memerlukan waktu untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya dan membutuhkan waktu untuk mengkonsumsi oksigen yang terlarut dalam sistem. Semakin lama konsentrasi oksigen dalam larutan semakin berkurang dan sistem elektrokimia akan mendeteksi penurunan konsentrasi oksigen terlarut. Sehingga diperlukan penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD. Hal ini dilakukan karena pada waktu ini khamir telah optimum menggunakan oksigen untuk mendegradasi senyawa organik dalam larutan.

Penentuan waktu optimum sensor BOD dilakukan dengan memvariasikan waktu pengukuran yaitu 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 menit. Waktu 0 menit merupakan saat sel khamir belum bereaksi, sedangkan waktu 5 menit sampai 25 menit adalah waktu saat sel khamir menggunakan oksigen untuk bernafas. Pengukuran dilakukan dengan teknik *multi pulse amperometry* pada potensial -600mV selang waktu 5 menit..



Gambar 4.8 Amperogram penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*



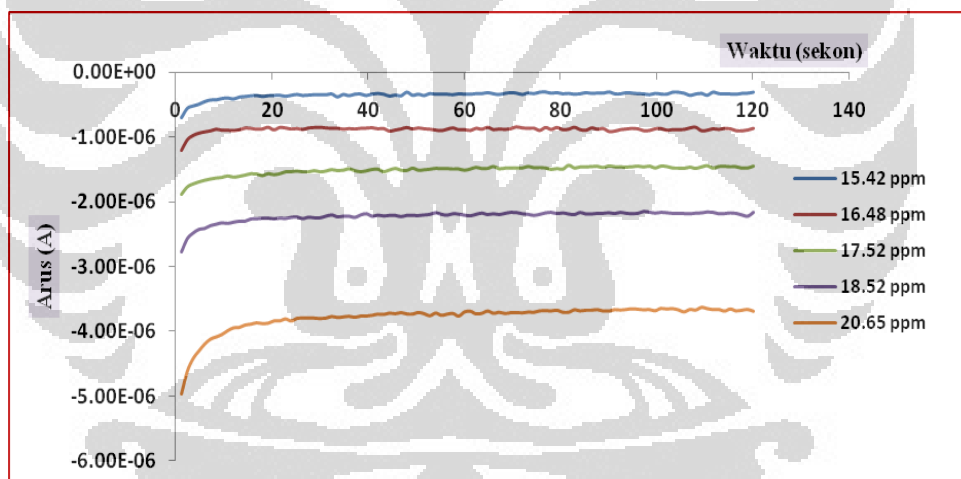
Gambar 4.9 Amperogram penentuan waktu optimum pengukuran sensor BOD untuk khamir *Candida fukuyamaensis*

Gambar 4.8 menunjukkan waktu pengukuran sensor BOD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan didapat waktu optimum pengukuran sensor BOD pada waktu 20 menit. Sedangkan Gambar 4.9 menunjukkan waktu pengukuran sensor BOD untuk khamir *Candida fukuyamaensis* dengan waktu optimum pengukuran sensor BOD pada waktu 25 menit. Waktu optimum pengukuran sensor BOD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* lebih cepat dibandingkan untuk khamir *Candida fukuyamaensis*. Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* bersifat aerob sedangkan khamir *Candida fukuyamaensis* bersifat anaerob fakultatif. Hal

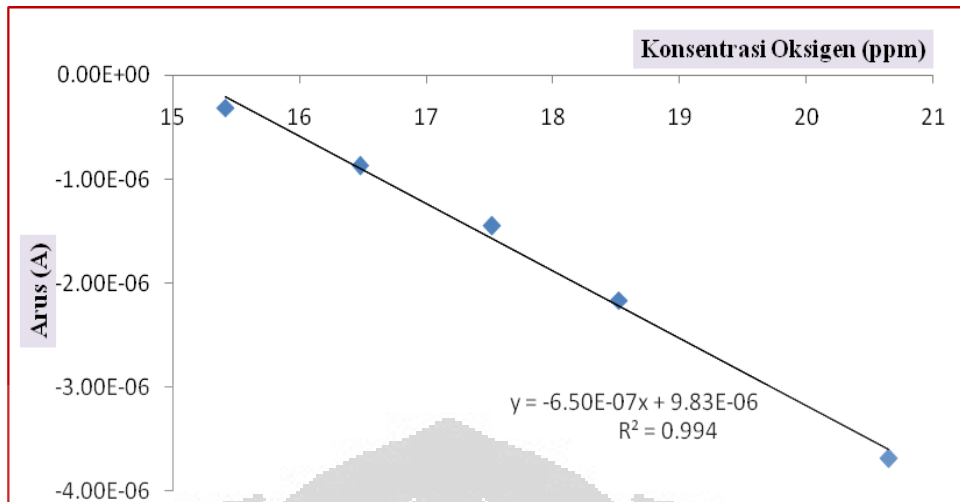
ini menyebabkan khamir *Rhodotorula mucilaginosa* lebih stabil dalam larutan oksigen dibandingkan khamir *Candida fukuyamaensis*.

4.5.2 Penentuan Kurva Kalibrasi linier keadaan free cell

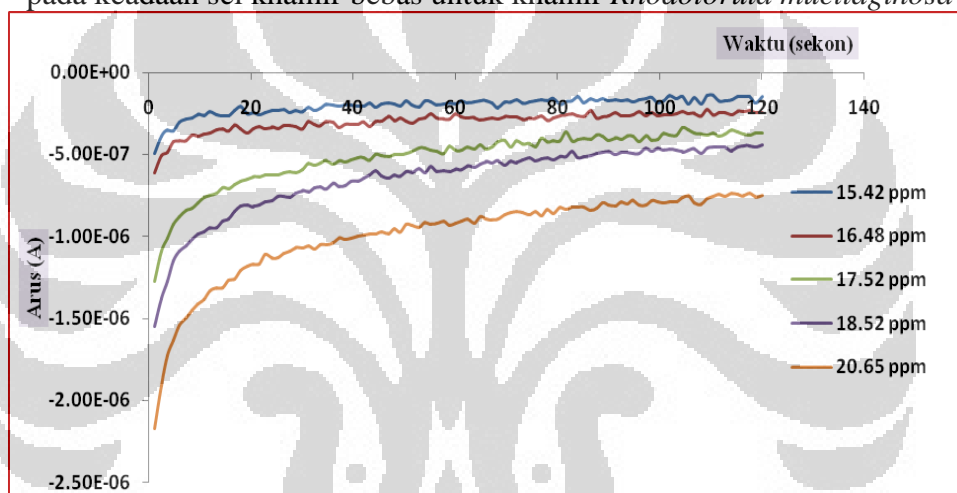
Kurva kalibrasi linear ditentukan dengan mengukur konsentrasi oksigen dalam larutan buffer fosfat pH 7. Oksigen terlarut dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi melalui *bubling* oksigen dengan variasi waktu *bubling* 2, 4, 6, 8 dan 12 detik dalam larutan buffer fosfat pH 7. Selain itu digunakan juga glukosa sebagai sumber karbon bagi mikroorganismenya. Konsentrasi glukosa yang digunakan adalah 1 ppm sebanyak 0,5 mL. Pengukuran sensor BOD pada kondisi *free cell* dilakukan dengan metode *Multi Pulse Amperometry* dengan potensial -600 mV dengan waktu optimum pengukuran 20 menit untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan waktu optimum pengukuran 25 menit untuk khamir *Candida fukuyamaensis*.



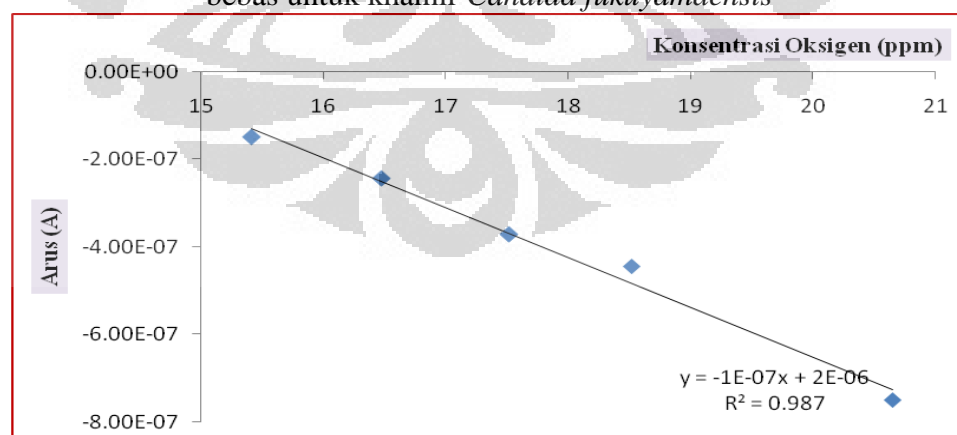
Gambar 4.10 Amperogram kalibrasi linier pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*



Gambar 4.11 Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*



Gambar 4.12 Amperogram kalibrasi linier pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Candida fukuyamaensis*



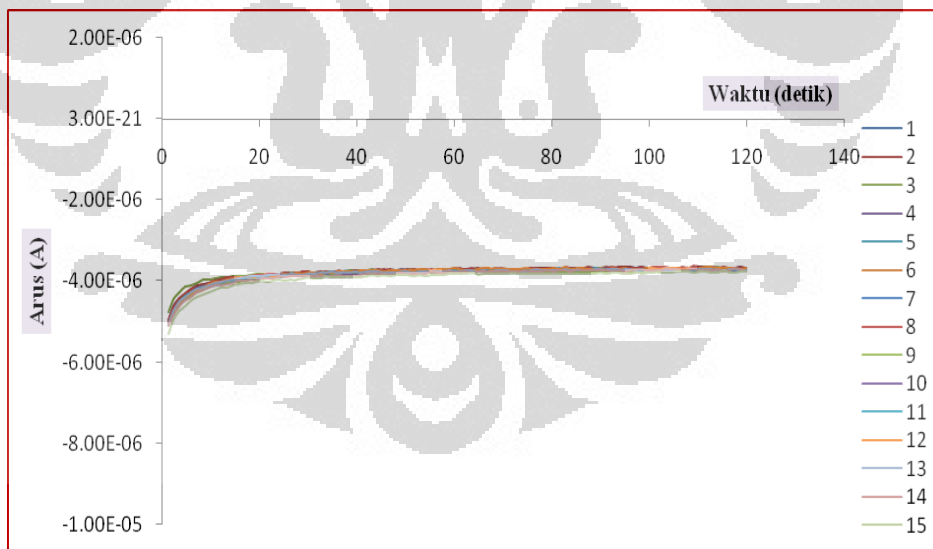
Gambar 4.13 Plot grafik antara arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen pada keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Candida fukuyamaensis*

Dari hasil amperogram free cell atau pengukuran dalam keadaan sel khamir bebas dan plot arus reduksi terhadap konsentrasi oksigen diketahui bahwa respon

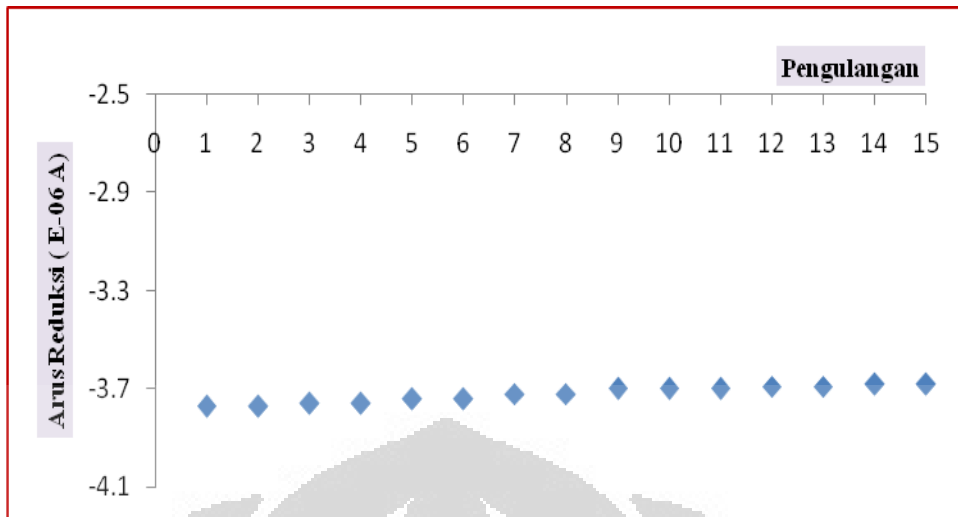
arus reduksi semakin bernilai negatif seiring dengan penambahan konsentrasi oksigen dalam larutan. Jumlah sel khamir yang digunakan pada setiap larutan adalah sama sehingga jumlah oksigen sisa atau oksigen yang tidak dikonsumsi oleh mikroorganisme semakin banyak seiring dengan bertambahnya kadar oksigen terlarut dalam larutan. Linieritas dari sistem menunjukkan aktifitas yang baik dengan nilai regresi $R^2 = 0,994$ untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan $0,987$ untuk khamir *Candida fukuyamaensis*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pengukuran memberikan nilai yang baik untuk rentang konsentrasi oksigen antara $15,42 - 20,65$ ppm.

4.5.3 *Reproducibility* elektroda Au murni dalam keadaan sel khamir bebas

Pengukuran *reproducibility* elektroda emas dilakukan dalam keadaan free cell pada 4,5 mL larutan buffer fosfat pH 7 yang mengandung oksigen terlarut 20,65 ppm dan 0,5 mL glukosa 1 ppm. Pengukuran *reproducibility* dilakukan dengan metode *Multi Pulse Amperometry*. Amperogram hasil pengukuran menunjukkan presisi data yang dihasilkan selama 15 kali pengukuran.

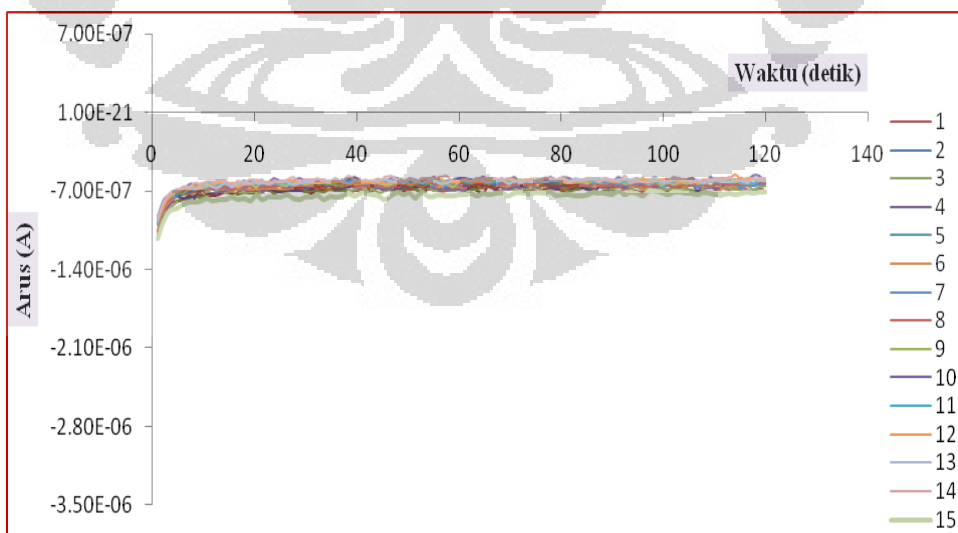


Gambar 4.14 *Reproducibility* elektroda emas untuk keadaan sel kamir bebas untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

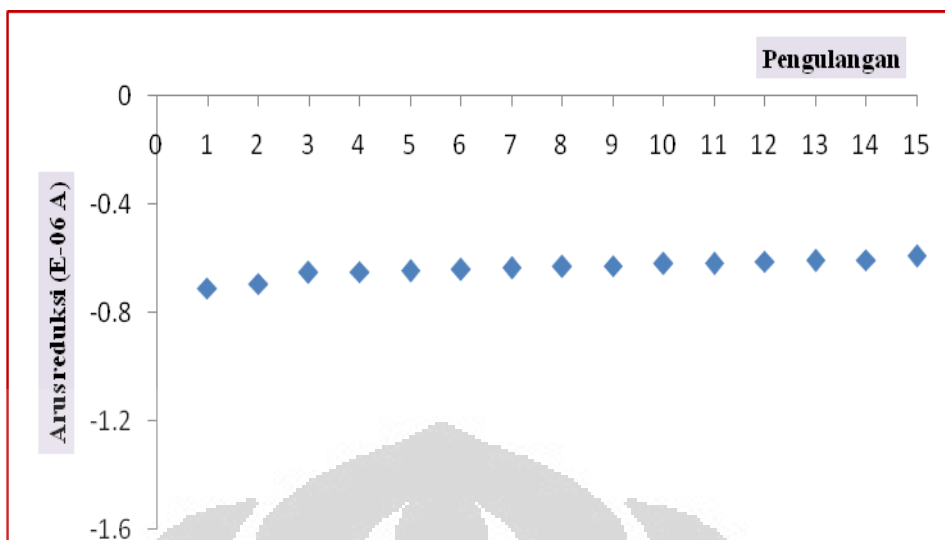


Gambar 4.15 Plot arus reduksi terhadap pengukuran keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* bersifat aerob sehingga sangat bergantung pada ketersediaan oksigen dalam larutan. Sedangkan khamir *Candida fukuyamaensis* bersifat anaerob fakultatif dan tetap bisa bertahan dalam lingkungan yang kekurangan oksigen. Perbedaan sifat dari kedua khamir ini memberikan respon yang berbeda terhadap presisi dari *reproducibility* hasil pengukuran.



Gambar 4.16 Reproducibility elektroda emas untuk keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Candida fukuyamaensis*

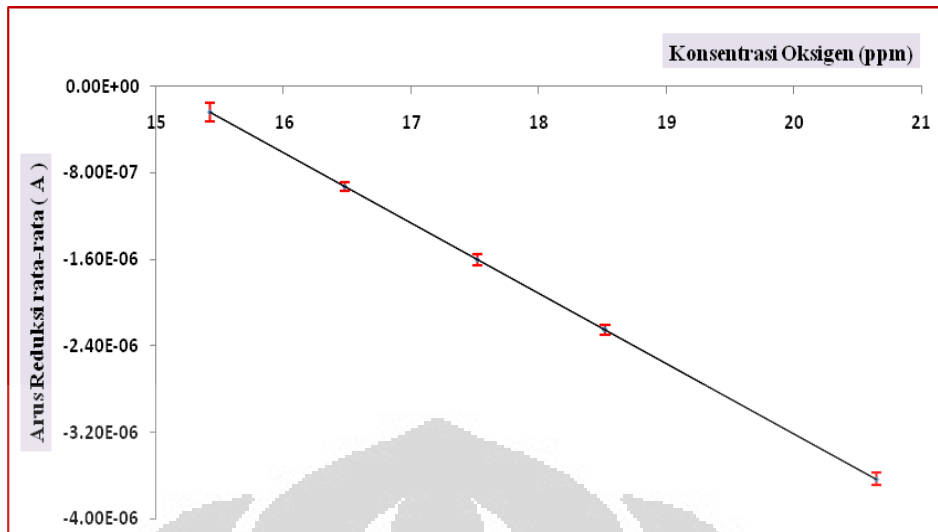


Gambar 4.17 Plot arus reduksi terhadap pengukuran keadaan sel khamir bebas untuk khamir *Candida fukuyamaensis*

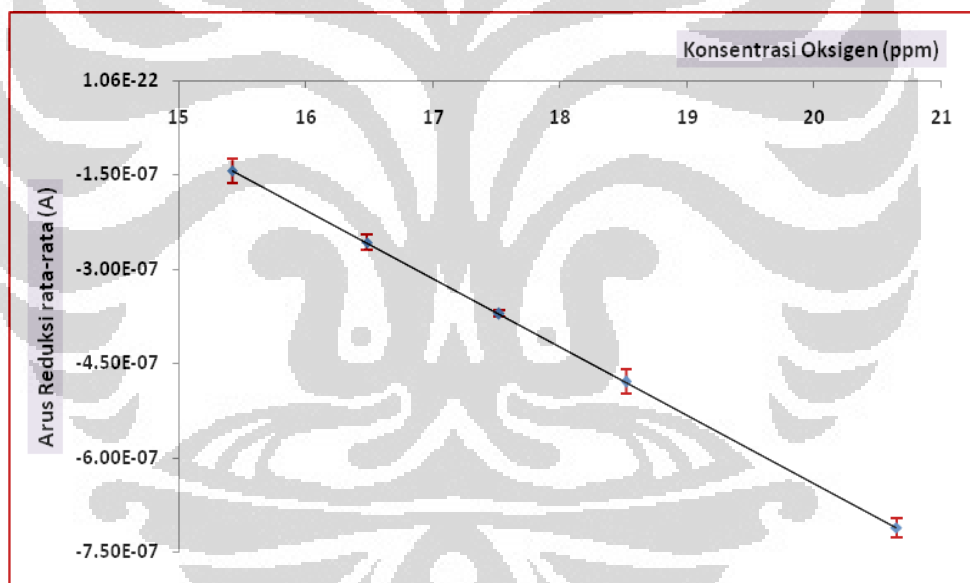
Masing-masing data *reproducibility* di atas dilakukan perhitungan nilai RSD (Standar Deviasi Relatif) terhadap amperogram yang dihasilkan. Nilai RSD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* adalah 0,90% sedangkan untuk khamir *Candida fukuyamaensis* adalah 5,01%. Jadi presisi pengukuran arus reduksi untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* lebih baik dibandingkan khamir *Candida fukuyamaensis*.

4.5.4 Penentuan *Limit of Detection* untuk keadaan sel khamir bebas

Penentuan nilai LOD atau *Limit of Detection* diperlukan untuk mengetahui batas minimum deteksi alat terhadap konsentrasi oksigen yang dapat diuji pada sensor BOD. Penentuan nilai LOD dilakukan dengan pengukuran sebanyak tiga kali menggunakan teknik *multi pulse amperometry* pada potensial -600 mV, dengan waktu optimum pengukuran 20 menit dan 25 menit untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis* berturut-turut. Arus yang memberikan respon linier kemudian dirata-ratakan dan dicari persamaan dari plot data arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan diperoleh nilai batas minimum deteksi kadar oksigen dalam larutan untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* adalah sebesar 6,025 ppm dan untuk khamir *Candida fukuyamaensis* adalah sebesar 6,035 ppm.



Gambar 4.18 Plot arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

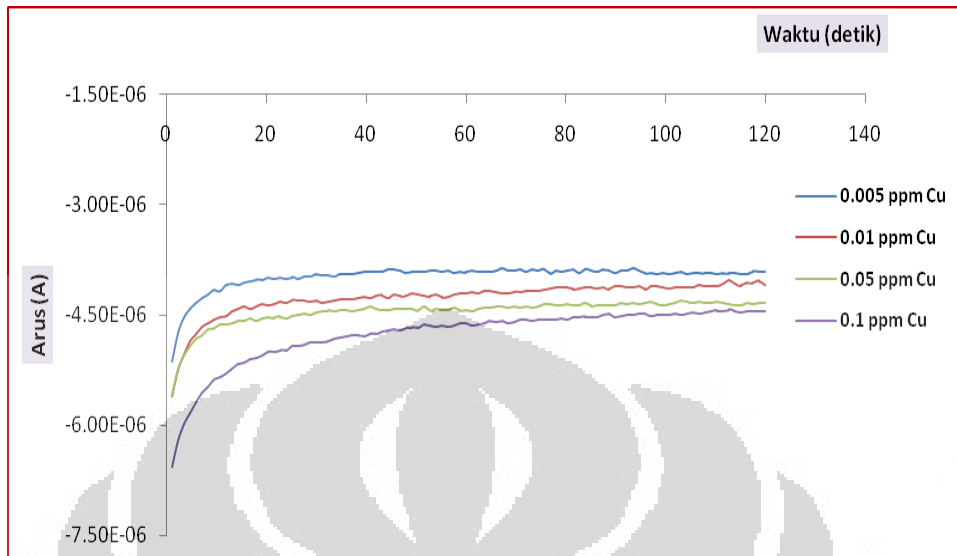


Gambar 4.19 Plot arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut untuk khamir *Candida fukuyamaensis*

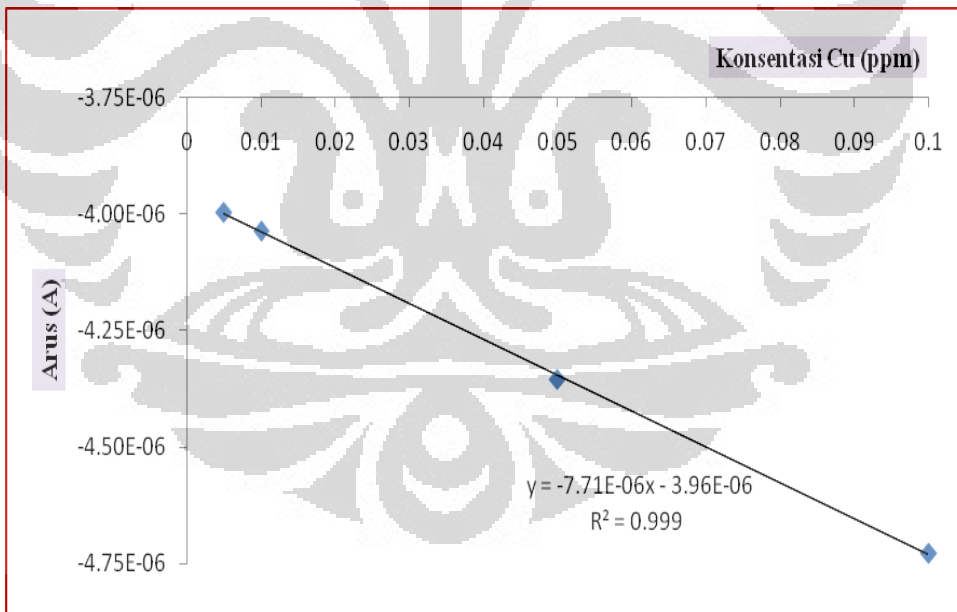
4.5.4 Pengaruh keberadaan ion Cu^{2+} pada pengukuran sensor BOD

Untuk mengetahui pengaruh keberadaan logam berat khususnya ion Cu^{2+} dalam pengukuran sel khamir dilakukan dengan menambahkan larutan Cu^{2+} berbagai konsentrasi ke dalam sistem pengukuran sensor BOD. Sementara itu,

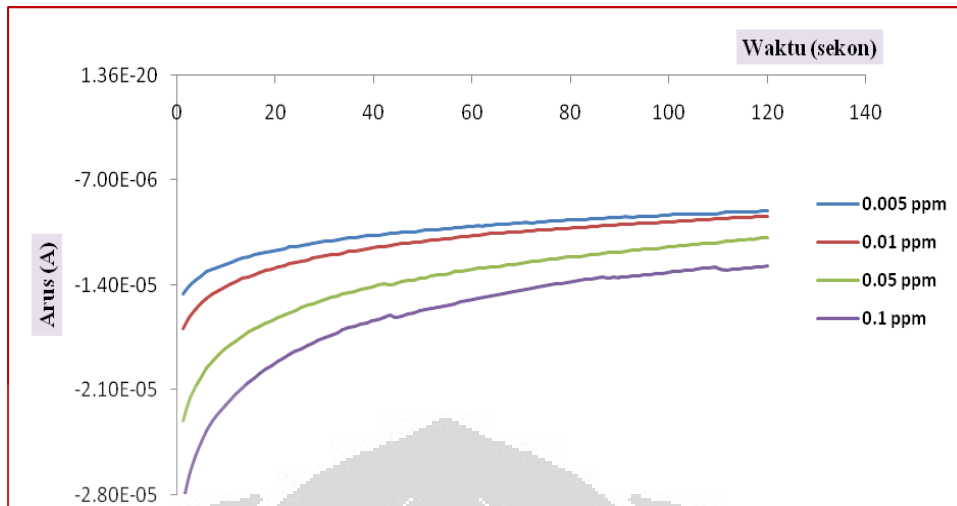
konsentrasi oksigen untuk semua larutan adalah sama yaitu dialiri dengan oksigen selama 12 detik.



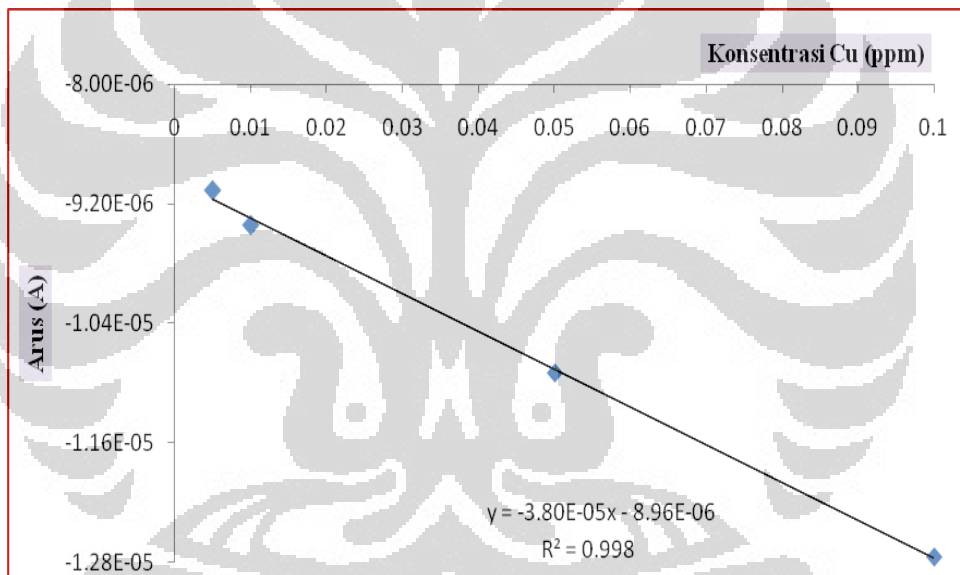
Gambar 4.20 Amperogram untuk *Rhodotorula mucilaginosa* dengan penambahan larutan Cu²⁺ berbagai konsentrasi



Gambar 4.21 Plot konsentrasi Cu²⁺ terhadap arus reduksi *Rhodotorula mucilaginosa*



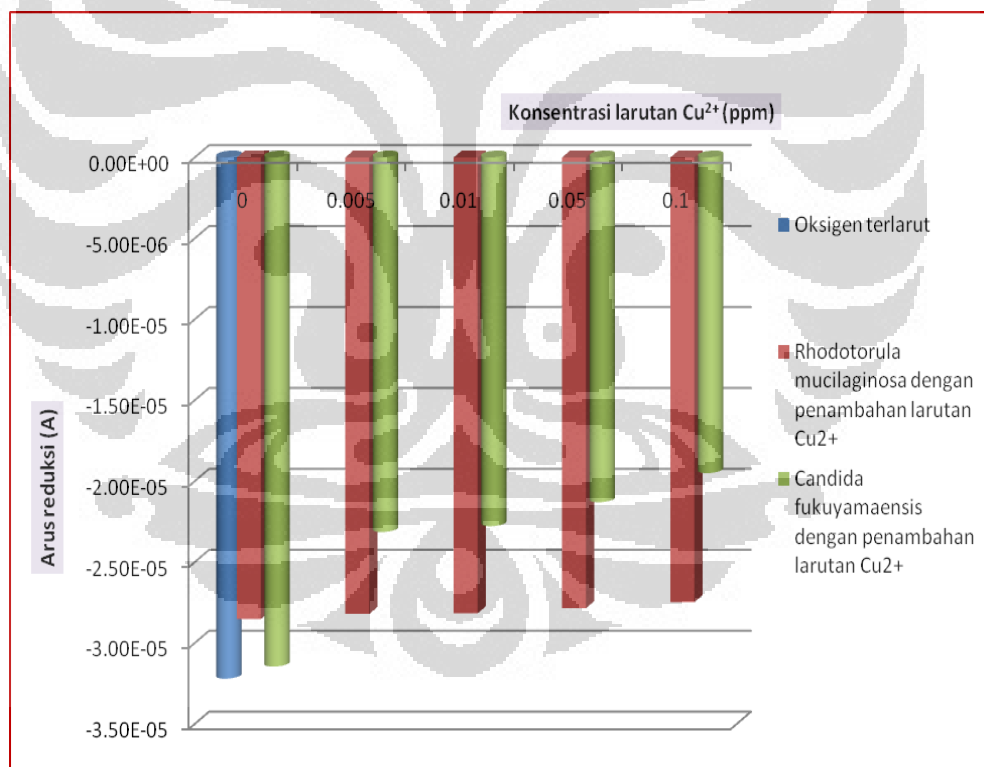
Gambar 4.22 Amperogram untuk *Candida fukuyamaensis* dengan penambahan larutan Cu^{2+} berbagai konsentrasi



Gambar 4.23 Plot konsentrasi Cu^{2+} terhadap arus reduksi *Candida fukuyamaensis*

Hasil dari amperogram menunjukkan terjadinya kenaikan arus reduksi seiring penambahan konsentrasi ion Cu^{2+} . Hal ini disebabkan karena semakin banyak penambahan konsentrasi ion Cu^{2+} maka akan semakin banyak mikroorganisme yang tidak efektif sehingga jumlah oksigen yang dikonsumsi oleh mikroorganisme akan menjadi semakin kecil. Dengan demikian jumlah oksigen yang direduksi dalam sistem akan semakin besar sehingga arus reduksi semakin bernilai negatif.

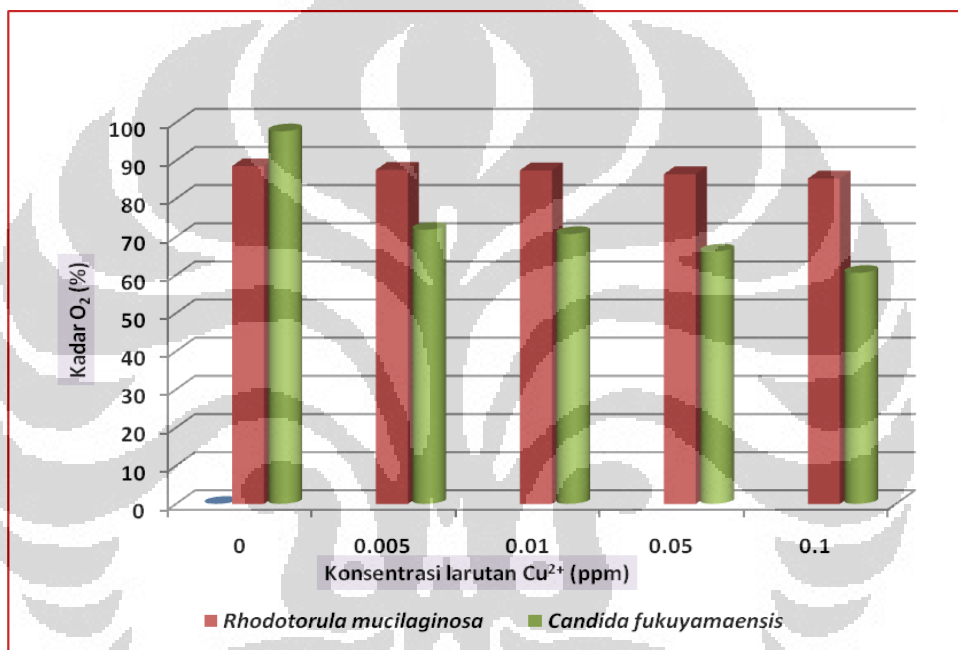
Keberadaan ion Cu^{2+} memberikan pengaruh pada mikroorganisme. Besar tidaknya pengaruh ion Cu^{2+} dapat dilihat dari kemampuan mikroorganisme tersebut menggunakan oksigen untuk mengoksidasi senyawa organik dalam larutan. Untuk melihat besarnya pengaruh penambahan larutan Cu^{2+} pada *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis*, maka ditentukan berapa besarnya arus reduksi dari oksigen yang digunakan oleh mikroorganisme sampai waktu optimum pengukuran. Jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme merupakan selisih dari jumlah total oksigen terlarut terhadap jumlah oksigen sisa yang direduksi. Gambar 4.24 memperlihatkan selisih arus reduksi dari oksigen terlarut terhadap arus reduksi dari oksigen sisa yang tidak digunakan mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis* baik sebelum penambahan larutan Cu^{2+} maupun setelah penambahan larutan Cu^{2+} .



Gambar 4.24 Plot penambahan larutan Cu^{2+} terhadap arus reduksi dari jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi senyawa organik dalam larutan.

Masing-masing mikroorganisme memiliki kemampuan yang berbeda untuk menyerap logam. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa khamir *Rhodotorula mucilaginosa* memiliki kemampuan biosorpsi logam berat, salah satunya adalah ion Cu^{2+} . Sehingga penambahan larutan Cu^{2+} tidak memberikan

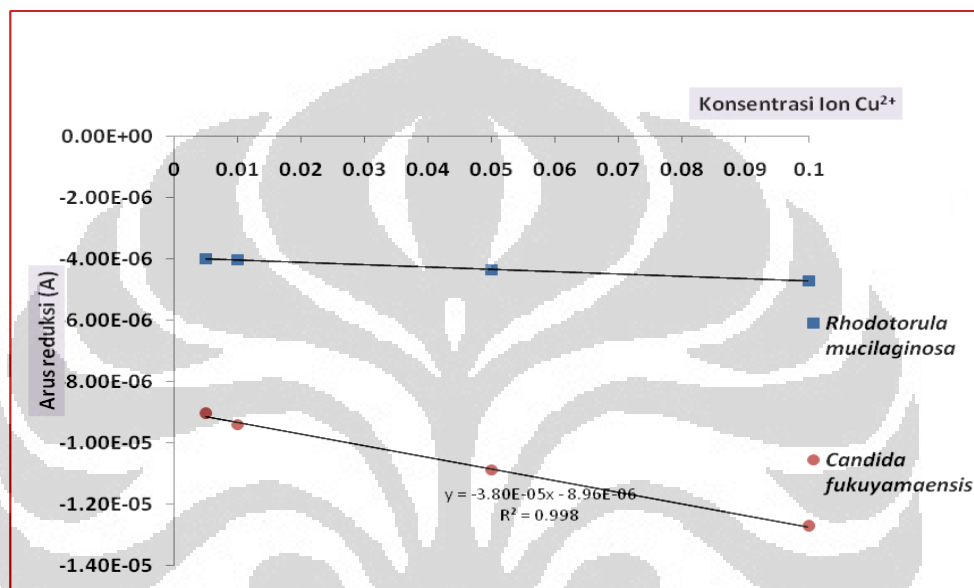
pengaruh yang signifikan pada mikroorganisme ini. Hal ini dapat diketahui dari hasil pengukuran bahwa arus reduksi dari oksigen sisa tanpa penambahan larutan Cu^{2+} tidak jauh berbeda dari arus reduksi pada penambahan larutan Cu^{2+} . Untuk khamir *Candida fukuyamaensis*, penambahan larutan Cu^{2+} memberikan pengaruh yang besar terhadap proses metabolismenya. Hal ini dapat diketahui dari hasil pengukuran bahwa arus reduksi dari oksigen sisa yang tidak ditambahkan larutan Cu^{2+} jauh berbeda dari arus reduksi pada penambahan larutan Cu^{2+} . Khamir jenis ini belum diketahui kemampuannya dalam menyerap logam berat.



Gambar 4.25 Plot larutan Cu^{2+} terhadap kadar oksigen yang digunakan untuk mengoksidasi senyawa organik

Dari Gambar 4.25 terlihat bahwa kadar oksigen yang digunakan oleh khamir *Rhodotorula mucilaginosa* untuk mengoksidasi senyawa organik dalam larutan sekitar 88,5% dan setelah penambahan larutan Cu^{2+} kadar oksigen berada sekitar 85 – 87,5 %. Untuk khamir *Candida fukuyamaensis*, kadar oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi senyawa organik tanpa penambahan larutan Cu^{2+} sekitar 97,7%, sedangkan setelah penambahan larutan Cu^{2+} kadar oksigen jauh lebih kecil yaitu sekitar 60 – 72 %. Jadi ion Cu^{2+} memberikan pengaruh yang lebih besar kepada *Candida fukuyamaensis* dibandingkan *Rhodotorula mucilaginosa* pada proses oksidasi senyawa organik dalam larutan. Selain itu, dari Gambar 4.26 terlihat bahwa slope yang dihasilkan oleh garis dari khamir

Rhodotorula mucilaginosa lebih landai dibandingkan slope oleh garis dari khamir *Candida fukuyamaensis*. Hal ini menunjukkan bahwa BOD sensor dengan *Rhodotorula mucilaginosa* memberikan ketahanan yang lebih baik terhadap kehadiran ion Cu^{2+} , seperti ditunjukkan oleh sedikitnya kenaikan arus oksigen dibandingkan dengan kenaikan arus oksigen pada BOD sensor dengan *Candida fukuyamaensis*.



Gambar 4.26 Pengaruh ion Cu^{2+} pada mikroorganismenya *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida fukuyamaensis*

4.6 Penentuan kadar oksigen dengan metode titrasi winkler

Pengukuran kadar oksigen terlarut dalam buffer fosfat telah dilakukan dengan metode elektrokimia yaitu menggunakan alat DO meter. Larutan yang diukur sebelumnya diaerasi dengan oksigen murni dengan variasi waktu aerasi setiap dua detik. Kadar oksigen terlarut yang diperoleh adalah 15,42 – 20,65 ppm. Kadar ini terlalu tinggi jika dibandingkan dengan kadar maksimum oksigen terlarut dari literatur, yaitu pada tekanan 1 atm dan suhu sekitar 27°C kadar oksigen terlarut adalah 7,9 ppm. Oleh karena itu dilakukan pengukuran kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi winkler.

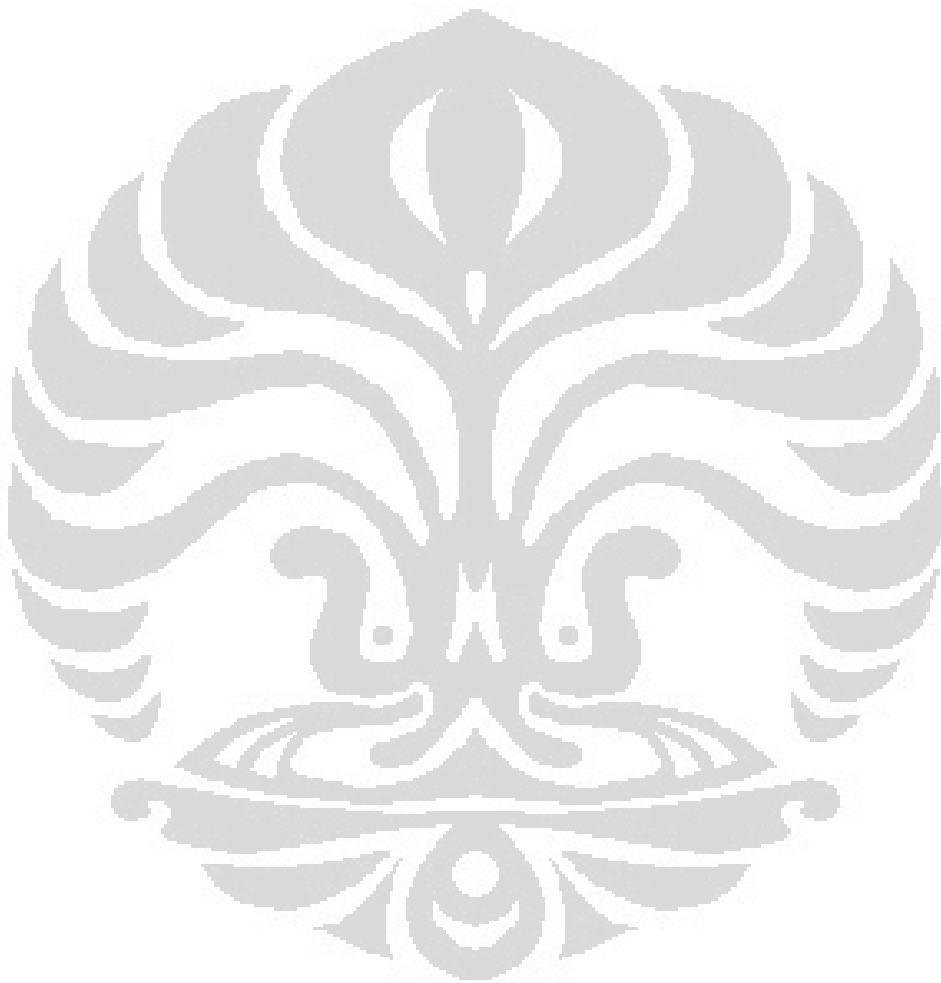
Prinsip penentuan kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi winkler adalah titrasi iodometri. Pada metode ini, volume yang akan ditentukan adalah volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan untuk titrasi iodium (I_2) yang dibebaskan. Sebelumnya, larutan buffer fosfat yang telah diaerasi dengan oksigen ditambahkan dengan larutan MnSO_4 dan NaOH - KI , sehingga akan terjadi endapan $\text{Mn}(\text{OH})_2$. Dengan menambahkan H_2SO_4 maka endapan yang terbentuk akan larut kembali dan membebaskan molekul iodium (I_2). Molekul I_2 tersebut ekuivalen dengan oksigen terlarut. Volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan dikonversi menjadi kadar oksigen terlarut. Hasil pengukuran kadar oksigen terlarut terdapat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kadar oksigen terlarut dengan metode elektrokimia dan metode winkler

Waktu aerasi (s)	Kadar O_2 dengan metode elektrokimia (ppm)	Kadar O_2 dengan metode winkler (ppm)
2	15,42	2,08
4	16,48	2,24
6	17,52	2,56
8	18,52	2,88
10	19,55	2,96
12	20,65	3,2

Kadar oksigen terlarut yang diperoleh dengan metode titrasi winkler adalah 2,08 – 3,2 ppm. Kadar oksigen terlarut ini berada di bawah kadar maksimum oksigen terlarut dari literatur yaitu 7,9 ppm. Dari Tabel 4.2 terlihat bahwa penentuan kadar oksigen terlarut dengan metode elektrokimia memiliki nilai yang jauh berbeda dengan metode titrasi winkler. Kadar oksigen yang ditentukan dengan metode elektrokimia 6 – 7 kali lebih besar dibandingkan hasil pengukuran dengan metode titrasi winkler. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kalibrasi alat DO meter yang digunakan kurang tepat sehingga hasil pengukuran berada di atas kadar maksimal oksigen terlarut. Jika data hasil pengukuran kadar oksigen terlarut dengan metode titrasi winkler dialurkan

terhadap hasil pengukuran arus reduksi oksigen sisa pada percobaan sebelumnya, maka diperoleh batas deteksi alat sekitar 1 ppm oksigen.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengembangkan sensor BOD berbasis khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICCY-181 dan *Candida fukuyamaensis* UICCY-247. Elektroda yang digunakan adalah elektroda emas yang memberikan sensitifitas yang baik untuk mendeteksi oksigen. Hasil amperogram menunjukkan adanya konsumsi oksigen oleh mikroorganisme khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan *Candida Fukuyamaensis*. Hal ini ditandai dengan semakin negatifnya nilai arus reduksi yang terdeteksi karena semakin banyaknya oksigen yang tidak dikonsumsi oleh mikroorganisme seiring dengan penambahan konsentrasi oksigen.

Waktu pengukuran optimum menunjukkan waktu 20 menit untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan 25 menit untuk khamir *Candida Fukuyamaensis*. Kalibrasi pengukuran sensor dilakukan menggunakan mikroorganisme dalam keadaan *free cell* pada rentang konsentrasi oksigen 15,42 ppm – 20,65 ppm. Pengukuran kalibrasi *free cell* memberikan linearitas regresi $R^2 = 0,994$ untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dan $R^2 = 0,987$ untuk khamir *Candida Fukuyamaensis*.

Presisi elektroda Au yang digunakan ditentukan dengan pengukuran larutan oksigen 12 detik (20,65 ppm) dalam system sel khamir menggunakan *multi pulse amperometry* sebanyak 15 kali. Hasil pengukuran menunjukkan nilai %RSD untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* sebesar adalah 0,9% sedangkan untuk khamir *Candida fukuyamaensis* adalah 5,01%. Penentuan limit of detection dilakukan dalam sistem sel khamir bebas dan diperoleh diperoleh nilai batas minimum deteksi kadar oksigen dalam larutan untuk khamir *Rhodotorula mucilaginosa* adalah sebesar 6,025 ppm dan untuk khamir *Candida fukuyamaensis* adalah sebesar 6,035 ppm.

Pengaruh logam berat pada sensor melalui variasi konsentrasri ion Cu^{2+} dalam sistem menunjukkan semakin banyak konsentrasi Cu^{2+} maka semakin negatif nilai arus reduksi yang terukur. Hal ini menunjukkan semakin banyak oksigen sisa yang tereduksi karena semakin sedikit jumlah mikroorganisme yang

efektif mengkonsumsi oksigen akibat adanya ion Cu^{2+} . Ion Cu^{2+} memberikan pengaruh yang lebih besar kepada *Candida fukuyamaensis* dibandingkan *Rhodotorula mucilaginosa* pada proses oksidasi senyawa organik dalam larutan.

5.2 Saran

Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut mengingat masih banyaknya keterbatasan pada penelitian ini. Pengukuran sensor BOD yang mengandung konsentrasi ion Cu^{2+} pada konsentrasi yang lebih rendah masih perlu dikembangkan. Selain itu, masih perlu dikembangkan pengukuran sensor BOD terhadap logam-logam lain.



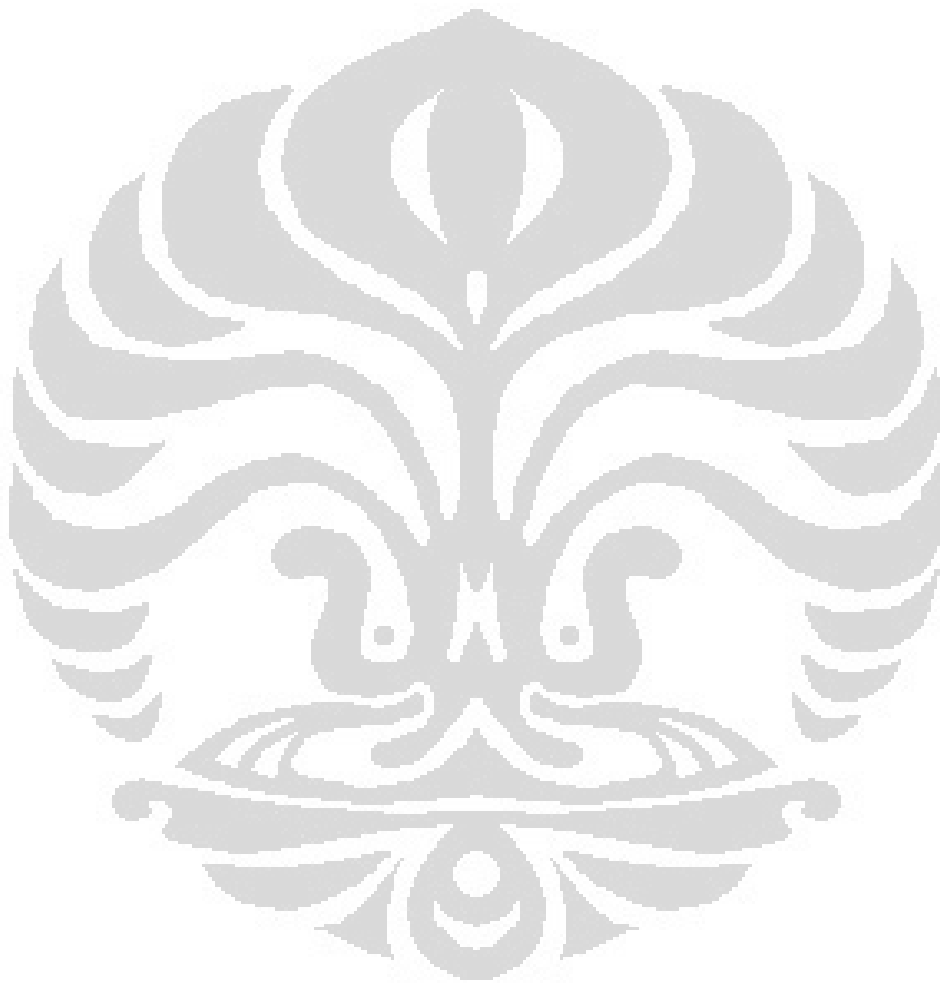
DAFTAR PUSTAKA

- Adam, V., J. Zenhalek, J. Petrlova, D. Potesil, B. Sures, L. Trnkova, F. Jelen, J. Vitecek & Kizek. 2005. *Phytochelatin modified electrode surface as a sensitive heavy metal ion Biosensor*. *Sensors*. 5 : 570 – 578
- Bard, A., & Faulkner, L. (2001). *Electrochemical methods: fundamentals and applications* (2nd ed.). John Wiley and Sons Inc.
- Bontidean, I. , J. Ahlqvist, A. Mulchandani, W. Chen, W. Bae, R.K. Mehra, A. Mortari & E. Csoregi. 2003. *Novel Synthetic Phytochelatin-Based Capacitive Biosensor for Heavy Metal Ion Detection*. *Biosensor and Bioelectronics*. 18 : 547 – 553.
- Dewangga, Netra. 2010. *Studi Pengembangan Sensor BOD Berbasis Rhodotorula Mucilaginosa UICCY-181*. Departemen Kimia FMIPA UI
- Duffus, J.H. 2002. *Heavy Metals : A meaningless term?* *Pure Applied Chemistry*. 74 (5) : 793 – 807
- Eggins, B.R. 2007. *Chemical Sensor and Biosensor*. Chichester, England : John Wiley and Sons.
- Falck, D. 1997. *Amperometric Oxygen Electrodes*. *Bioanalytical Systems West Lafayette, IN*. *Current Separations* 16:1
- Gupta, R., P. Ahuja, S. Khan, R.K. Saxena & H. Mohapatra. 2000. *Microbial Biosorbent : Meeting Chalanges of Heavy Metal Pollution in Aqueous Solution*. *Current Science*. 78 (8) : 967 – 973
- Lei, Yu., L. Su & W. Jia. 2011. *Microbial Biosensor : A review*. *Biosensors and Bioelectronics*. 26 : 1788 – 1799
- Mal-Nam Kim. 1999. *Biochemical Oxygen demands Sensor Using Serratia Marcesens LSY 4*. Department of biology Samyung University. *Biosensors & Bioelectronics* 14 (1999) 1–7.
- Mal-Nam Kim. 2001. *Klebsiella BOD Sensor*. Department of Biology, Sangmyung University. *Sensor and Actuator B* 80 (2001) 9-14.

- Mumtahinah, N. 2007. Potensi Biomassa Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* (Jorgensen) F.C. Harrison UICC Y-235 sebagai Elemen Biologi pada Biosensor Logam Berat Cuprum (II). Departemen Biologi FMIPA UI Depok
- Nakamura, H. & I. Krube. 2003. *Current Research Activity in Biosensors*. *Analytica Bioanalytical Chemistry*. 337 : 446 – 468
- Nathanael, D. 2011. Studi Pengembangan Sensor BOD dengan Elektroda Glassy Carbon Terdeposisi Partikel Emas dan Terimobilisasi Mikroba *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247 Berbasis Sensor Oksigen. Departemen Kimia FMIPA UI
- Preidel, W., J. R. Rao, K. Mund, O. Schunck, E. David. 1995. *A New Principle for an Electrochemical Oxygen Sensor*. *Sensors and Actuator B*. 28 : 71 – 74
- Rianasari, S. 2004. *Penapisan Kemampuan biosorpsi Cr, Cu, Hg dan Pb oleh Strain-Strain Khamir Toleran Logam Berat dari Perairan Teluk Jakarta, Jakarta Utara*. Departemen Biologi FMIPA UI Depok.
- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Air. *Oseana*. XXX (3) : 21 – 26
- Skoog, West. 2004. *Fundamental of Analytical Chemistry Eight Edition*. Thomson Learning Academic Resource Center, USA.
- Tribidasari, Ivandini A., Fenny T. Z. & Endang S. 2011. *The Development of Biochemical Oxygen Demand Sensor Using Local Yeast : Candida fukuyamaensis UICC Y-247*. *Makara Sains*. 15 (1) : 33 – 37
- Wang, Joseph. 2000. *Analytical Electrochemistry* (2nd ed). John Wiley and Sons Inc.
- Yuce, M., H. Nazir, G. Donmez. 2010. *A voltammetric Rhodotorula mucilaginosa modified microbial biosensor for Cu(II) determination*. *Bioelectrochemistry*. 79 : 66–70

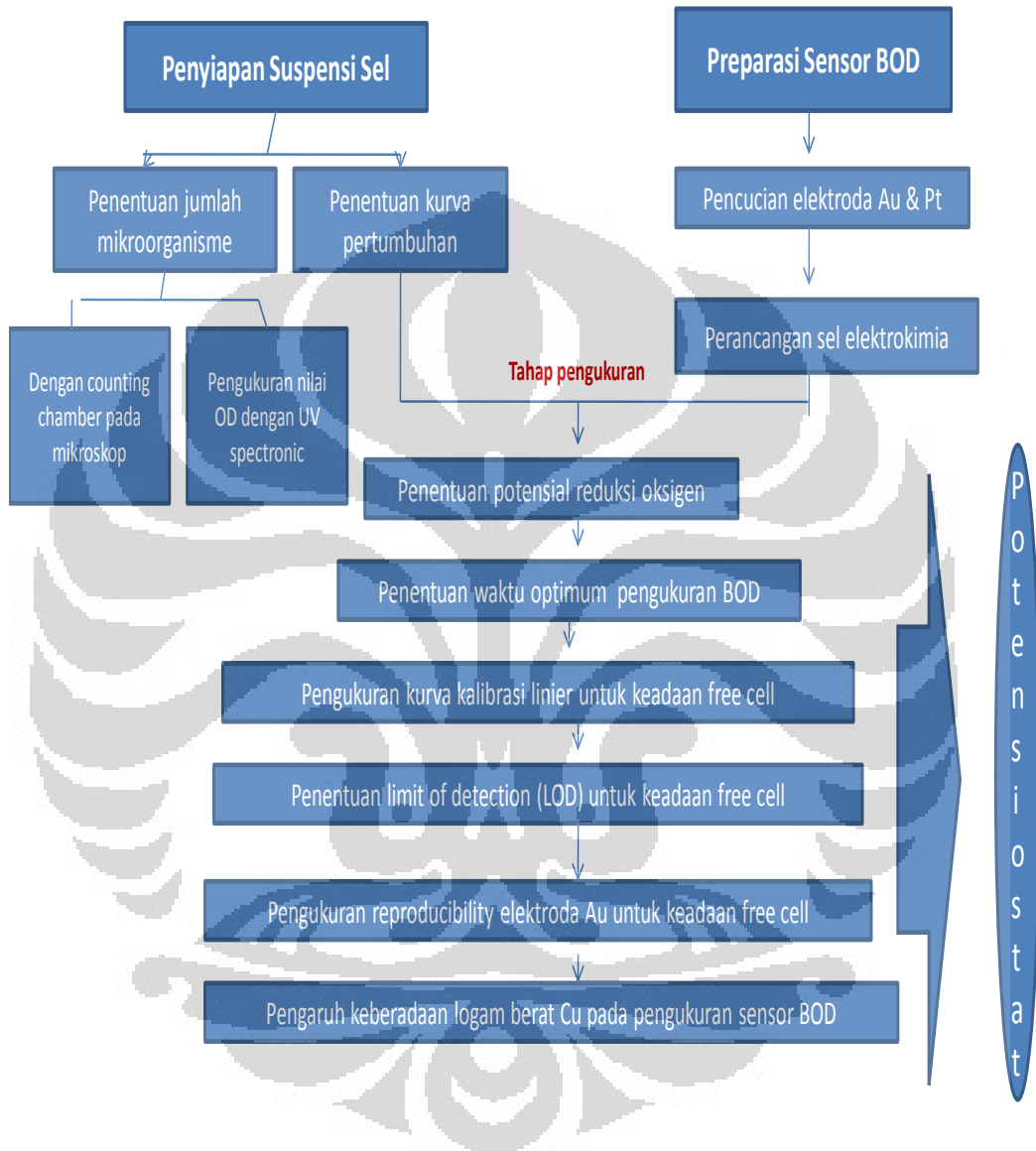
Zulfia, Feni Triana. 2010. *Pengembangan lapisan Tipis Imobilisasi Khamir Candida Fukuyamaensis UICCY-247 dan Aplikasinya Sebagai Sensor BOD*. Karya Utama Sarjana Kimia : Departemen Kimia FMIPA UI.

\

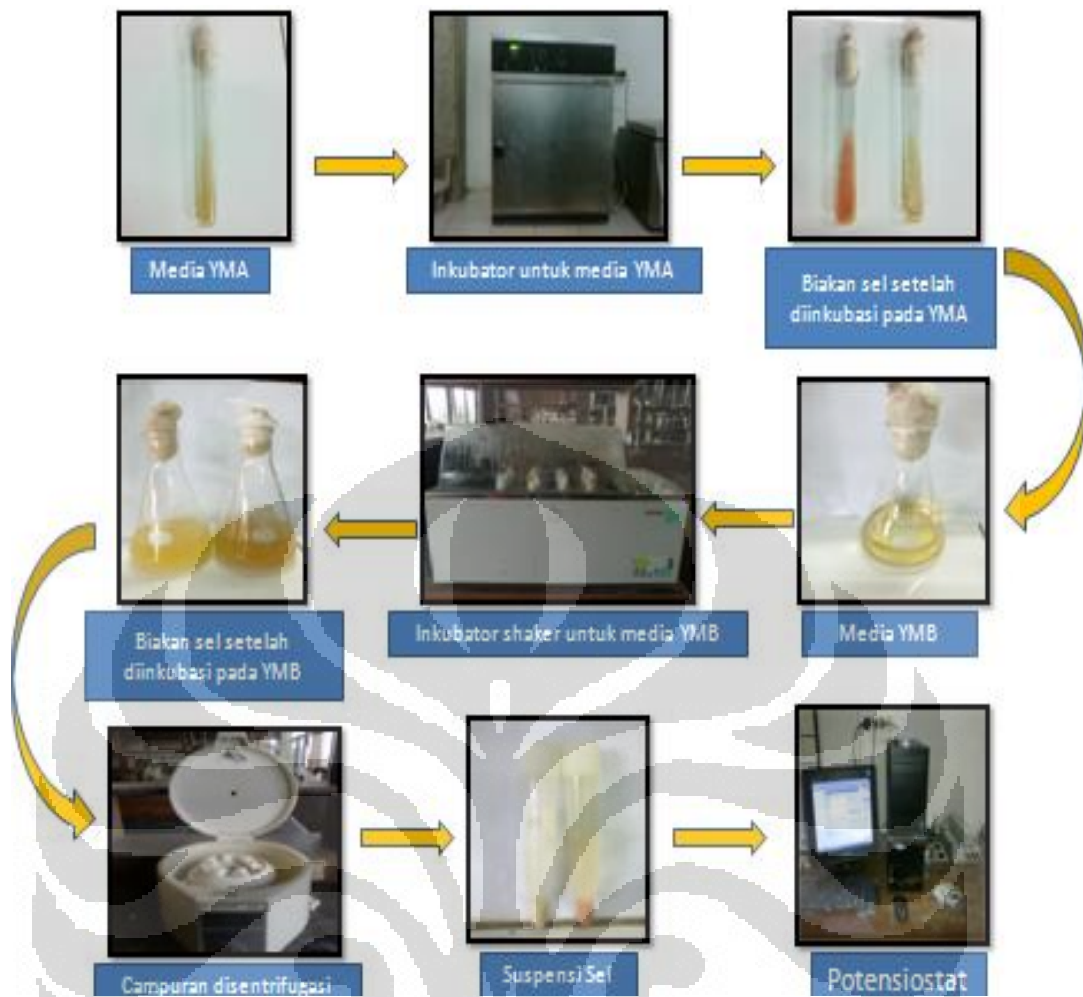


Lampiran

Lampiran 1. Bagan Kerja



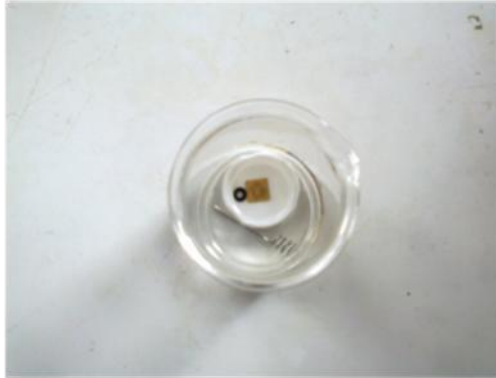
Lampiran 2. Penyiapan Suspensi Sel



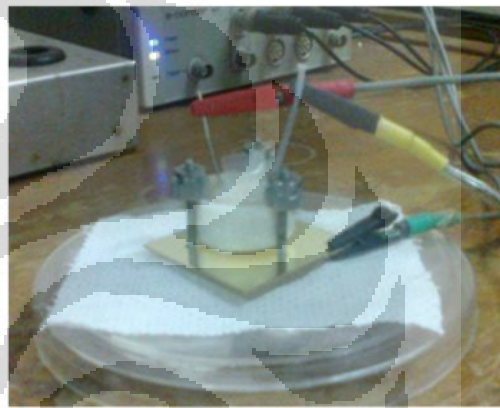
Lampiran 3. Elektroda yang Digunakan dalam Sel Elektrokimia



Lampiran 4. Pencucian Elektroda dan Perancangan Sel Elektrokimia



Pencucian elektroda Au dan Pt pada alat ultrasonikasi



Perancangan Sel Elektrokimia

Lampiran 5. Penentuan Jumlah Mikroba



Counting Chamber



Metode Counting Chamber dengan Mikroskop



Penentuan nilai Optical Dencity dengan UV Spectronic 20

Lampiran 6. Data Waktu Pertumbuhan Mikroba dan Nilai *Optical Density*

a. Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-181

Waktu Pertumbuhan (jam)	Nilai <i>Optical Density</i>
0	1,351
6	1,816
12	2,776
18	2,966
24	3,106
30	3,092
42	2,969

b. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Waktu Pertumbuhan (jam)	Nilai <i>Optical Density</i>
0	1,394
6	2,342
12	2,761
18	2,876
24	2,930
30	2,924
42	2,922
48	2,915

Lampiran 7. Data Arus Kalibrasi Linier untuk Keadaan *Free Cell*

a. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Konsentrasi Oksigen (ppm)	Arus Reduksi (A)
15,42	-3,13E-07

16,48	-8,72E-07
17,52	-1,45E-06
18,52	-2,17E-06
20,65	-3,69E-06

b. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Konsentrasi Oksigen (ppm)	Arus Reduksi (A)
15,42	-1,50E-07
16,48	-2,44E-07
17,52	-3,72E-07
18,52	-4,44E-07
20,65	-7,50E-07

Lampiran 8. Data Arus Reduksi Pengaruh Ion Cu²⁺

a. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Konsentrasi Cu ²⁺ (ppm)	Arus Reduksi (A)
0,005	-4,00E-06
0,01	-4,04E-06
0,05	-4,36E-06
0,1	-4,73E-06

b. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Konsentrasi Cu ²⁺ (ppm)	Arus Reduksi (A)
0,005	-9,06E-06
0,01	-9,42E-06
0,05	-1,09E-05

0,1	-1,27E-05
-----	-----------

Lampiran 9. Penentuan *Reproducibility*

a. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Pengukuran ke	Arus Reduksi (A)
1	-3,77E-06
2	-3,77E-06
3	-3,76E-06
4	-3,76E-06
5	-3,74E-06
6	-3,74E-06
7	-3,72E-06
8	-3,72E-06
9	-3,70E-06
10	-3,70E-06
11	-3,70E-06
12	-3,69E-06
13	-3,69E-06
14	-3,68E-06
15	-3,68E-06

Rata-rata arus reduksi = -3,72E-06 dengan standar deviasi = 3,36E-08

% RSD = (Standar deviasi / arus rata-rata) x 100%

$$= (3,36E-08/3,72E-06) \times 100\%$$

$$= 0,9\%$$

Jadi nilai %RSD untuk mikroorganisme *Rhodotorula mucilaginosa* pada keadaan sel khamir bebas adalah 0,9%

b. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Pengukuran ke	Arus Reduksi (A)
1	-7,09E-07
2	-6,94E-07
3	-6,53E-07
4	-6,50E-07
5	-6,47E-07
6	-6,41E-07
7	-6,37E-07
8	-6,31E-07
9	-6,28E-07
10	-6,19E-07
11	-6,19E-07
12	-6,12E-07
13	-6,09E-07
14	-6,06E-07
15	-5,91E-07

Rata-rata arus reduksi = -6,36E-06 dengan standar deviasi = 3,188E-08

% RSD = (Standar deviasi / arus rata-rata) x 100%

$$= (3,188E-08/6,36E-06) \times 100\%$$

$$= 5,01\%$$

Jadi nilai %RSD untuk mikroorganisme *Candida fukuyamaensis* pada keadaan sel khamir bebas adalah 5,01%

Lampiran 10. Penentuan *Limit of Detection*

c. *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-181

Konsentrasi Oksigen	Arus Reduksi rata-rata	Standar deviasi

(ppm)	(A)	
15,42	-3,24E-07	1,10E-08
16,48	-8,80E-07	3,51E-08
17,52	-1,55E-06	9,65E-08
18,52	-2,20E-06	2,60E-08
20,65	-3,69E-06	5,41E-09

Plot hubungan arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut memberikan respon linier dengan persamaan $y = -6,489E-07x + 9,769E-06$

Standar deviasi kurva adalah $S_o = 1,303 E-06$

$$LOD = a + 3S_o$$

$$LOD = 9,769E-06 + 3(1,303 E-06) \\ = 1,367E-05$$

Dengan memasukkan nilai $LOD = 1,367E-05$ sebagai nilai y ke persamaan $y = -6,489E-07x + 9,769E-06$, maka di peroleh nilai $LOD = 6,025$ ppm oksigen.

d. *Candida fukuyamaensis* UICC Y-247

Konsentrasi Oksigen (ppm)	Arus Reduksi rata-rata (A)	Standar deviasi
15,42	-1,62E-07	1,68E-08
16,48	-2,46E-07	9,61E-09
17,52	-3,66E-07	2,22E-08
18,52	-4,59E-07	1,42E-08
20,65	-7,26E-07	2,14E-08

Plot hubungan arus reduksi rata-rata terhadap konsentrasi oksigen terlarut memberikan respon linier dengan persamaan $y = 1,086E-07x + 1,532E-06$

Standar deviasi kurva adalah $S_o = 2,185E-07$

$$LOD = a + 3S_o$$

$$LOD = 1,532E-06 + 3(2,185 E-07)$$

$$= 2,187\text{E-}06$$

Dengan memasukkan nilai LOD = 2,187E-06 sebagai nilai y ke persamaan $y = 1,086\text{E-}07x + 1,532\text{E-}06$, maka di peroleh nilai LOD = 6,035 ppm oksigen.

Lampiran 11. Data Kalibrasi Waktu Aerasi Gas O₂ Terhadap Kadar O₂

a) cara elektrokimia menggunakan alat DO meter

Waktu aerasi O ₂ (s)	Kadar O ₂ (ppm)
2	15,42
4	16,48
6	17,52
8	18,52
10	19,55
12	20,65

b) cara titrasi winkler

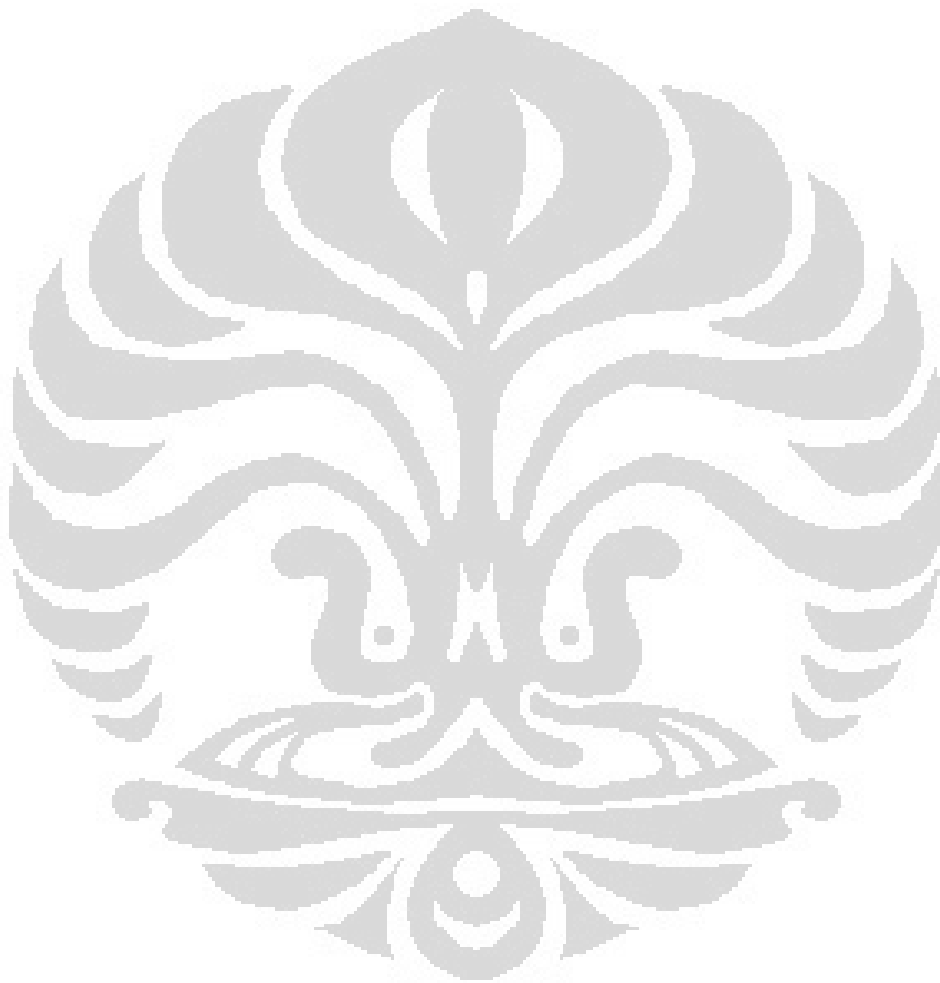
$$O_2 = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times \text{vol } S_2O_3^{2-}}{25 \text{ ml}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$O_2 = \frac{\frac{1 \text{ mol } O_2}{4 \text{ mol } S_2O_3^{2-}} \times \frac{0,01 \text{ mol } S_2O_3^{2-}}{1 \text{ L}} \times 0,65 \text{ ml } S_2O_3^{2-}}{25 \text{ ml}} \times \frac{32 \text{ g}}{1 \text{ mol } O_2}$$

$$O_2 = 0,00208 \text{ g/L} = 2,08 \text{ mg/L} = 2,08 \text{ ppm}$$

Waktu aerasi O ₂ (s)	Volume S ₂ O ₃ ²⁻	Kadar O ₂ (ppm)
2	0,65	2,08
4	0,7	2,24
6	0,8	2,56
8	0,9	2,88

10	0,925	2,96
12	1	3,2



Lampiran 12. Kelarutan oksigen dalam air

Table 6.2-6. Solubility of oxygen in water at various temperatures and pressures
 [From R.F. Weiss (1970). Temp °C, temperature in degrees Celsius; atmospheric pressures from 695 to 600 millimeters mercury begin after 40°C]

Temp °C	Atmospheric pressure, in millimeters of mercury																			
	795	790	785	780	775	770	765	760	755	750	745	740	735	730	725	720	715	710	705	700
0.0	15.3	15.2	15.1	15.0	14.9	14.8	14.7	14.6	14.5	14.4	14.3	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4
0.5	15.1	15.0	14.9	14.8	14.7	14.6	14.5	14.4	14.3	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2
1.0	14.8	14.7	14.7	14.6	14.5	14.4	14.3	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0
1.5	14.6	14.5	14.5	14.4	14.3	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.9
2.0	14.4	14.3	14.3	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.9	12.8	12.7
2.5	14.2	14.2	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.5
3.0	14.1	14.0	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2
3.5	13.9	13.8	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0
4.0	13.7	13.6	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.9
4.5	13.5	13.4	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6
5.0	13.3	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4
5.5	13.2	13.1	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3
6.0	13.0	12.9	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1
6.5	12.8	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9
7.0	12.7	12.6	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8
7.5	12.5	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6
8.0	12.4	12.3	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5
8.5	12.2	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3
9.0	12.1	12.0	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2
9.5	11.9	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0
10.0	11.8	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9
10.5	11.7	11.6	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8
11.0	11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6
11.5	11.4	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5
12.0	11.3	11.2	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4
12.5	11.1	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2
13.0	11.0	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1
13.5	10.9	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0
14.0	10.8	10.7	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0	8.9
14.5	10.6	10.6	10.5	10.4	10.4	10.3	10.2	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0	8.9

Table 6.2-6. Solubility of oxygen in water at various temperatures and pressures—Continued

Temp °C	Atmospheric pressure, in millimeters of mercury																			
	795	790	785	780	775	770	765	760	755	750	745	740	735	730	725	720	715	710	705	700
15.0	10.5	10.5	10.4	10.3	10.2	10.3	10.2	10.1	10.1	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.6	9.5	9.5	9.4	9.3	9.3
15.5	10.4	10.4	10.3	10.2	10.1	10.2	10.1	10.0	10.0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.5	9.4	9.4	9.3	9.2	9.2
16.0	10.3	10.2	10.2	10.1	10.0	10.0	9.9	9.8	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.4	9.3	9.3	9.2	9.1	9.0	9.0
16.5	10.2	10.1	10.1	10.0	9.9	9.9	9.8	9.7	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.3	9.2	9.2	9.1	9.0	8.9	8.9
17.0	10.1	10.0	10.0	9.9	9.8	9.8	9.7	9.6	9.6	9.5	9.4	9.4	9.3	9.3	9.2	9.1	9.0	8.9	8.9	8.9
17.5	10.0	9.9	9.9	9.8	9.7	9.7	9.6	9.5	9.5	9.4	9.3	9.3	9.2	9.2	9.1	9.0	8.9	8.8	8.8	8.8
18.0	9.9	9.8	9.8	9.7	9.6	9.6	9.5	9.4	9.4	9.3	9.3	9.2	9.1	9.1	9.0	8.9	8.8	8.7	8.7	8.7
18.5	9.8	9.7	9.7	9.6	9.5	9.5	9.4	9.3	9.3	9.2	9.2	9.1	9.0	9.0	8.9	8.8	8.7	8.6	8.6	8.6
19.0	9.7	9.6	9.6	9.5	9.4	9.4	9.3	9.2	9.2	9.1	9.1	9.0	8.9	8.9	8.8	8.7	8.6	8.5	8.5	8.5
19.5	9.6	9.5	9.5	9.4	9.3	9.3	9.2	9.1	9.1	9.0	9.0	8.9	8.8	8.8	8.7	8.6	8.5	8.4	8.4	8.4
20.0	9.5	9.4	9.4	9.3	9.2	9.2	9.1	9.1	9.0	8.9	8.9	8.8	8.7	8.7	8.6	8.5	8.4	8.3	8.3	8.3
20.5	9.4	9.3	9.3	9.2	9.1	9.1	9.0	9.0	8.9	8.8	8.8	8.7	8.6	8.6	8.5	8.4	8.3	8.2	8.2	8.2
21.0	9.3	9.2	9.2	9.1	9.0	9.0	8.9	8.8	8.8	8.7	8.7	8.6	8.5	8.5	8.4	8.3	8.2	8.1	8.1	8.1
21.5	9.2	9.1	9.1	9.0	8.9	8.9	8.8	8.7	8.7	8.6	8.6	8.5	8.4	8.4	8.3	8.2	8.1	8.0	8.0	8.0
22.0	9.1	9.0	9.0	8.9	8.8	8.8	8.7	8.6	8.6	8.5	8.5	8.4	8.3	8.3	8.2	8.1	8.0	7.9	7.9	7.9
22.5	9.0	8.9	8.9	8.8	8.7	8.7	8.6	8.5	8.5	8.4	8.4	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	7.9	7.8	7.8	7.8
23.0	8.9	8.8	8.8	8.7	8.6	8.6	8.5	8.4	8.4	8.3	8.3	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.8	7.7	7.7	7.7
23.5	8.9	8.8	8.8	8.7	8.6	8.6	8.5	8.4	8.4	8.3	8.3	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.8	7.7	7.7	7.7
24.0	8.8	8.7	8.7	8.6	8.5	8.5	8.4	8.3	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8	7.7	7.6	7.6	7.6
24.5	8.7	8.6	8.6	8.5	8.4	8.4	8.3	8.2	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5
25.0	8.6	8.5	8.5	8.4	8.3	8.3	8.2	8.1	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8	7.8	7.7	7.6	7.5	7.4	7.4	7.4
25.5	8.5	8.4	8.4	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.5	7.4	7.3	7.3	7.3
26.0	8.5	8.4	8.4	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.5	7.4	7.3	7.3	7.3
26.5	8.4	8.3	8.3	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8	7.8	7.7	7.6	7.6	7.5	7.4	7.3	7.2	7.2	7.2
27.0	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8	7.8	7.7	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.3	7.2	7.1	7.1	7.1
27.5	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.1	7.0	7.0	7.0
28.0	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.1	7.0	7.0	7.0
28.5	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8	7.8	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.3	7.3	7.2	7.1	7.0	6.9	6.9	6.9
29.0	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.2	7.1	7.0	6.9	6.8	6.8	6.8
29.5	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.2	7.1	7.0	6.9	6.8	6.8	6.8

Table 6.2-6. Solubility of oxygen in water at various temperatures and pressures—Continued

Temp °C	Atmospheric pressure, in millimeters of mercury																				
	795	790	785	780	775	770	765	760	755	750	745	740	735	730	725	720	715	710	705	700	
30.0	7.9	7.8	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9
30.5	7.8	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.9
31.0	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.8
31.5	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7
32.0	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.7
32.5	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6
33.0	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.6
33.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5
34.0	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.5	6.5
34.5	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.5	6.4	6.4
35.0	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3
35.5	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.3
36.0	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.3	6.2
36.5	7.1	7.0	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.2
37.0	7.0	7.0	6.9	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.2	6.1
37.5	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.1
38.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.0	6.0	6.0
38.5	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.0	6.0	6.0	6.0
39.0	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
39.5	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	5.9
40.0	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	6.1	6.0	6.0	5.9	5.9	5.9	5.9