



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI BIODEGRADASI SURFAKTAN *LINEAR*
ALKYLBENZENE SULFONATES (LAS) MENGGUNAKAN
ISOLAT BAKTERI DARI SITU UNIVERSITAS INDONESIA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**RASTI YUNITA
0806315502**

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Rasti Yunita

NPM : 0806315502

Tanda Tangan :



Tanggal : 14 Juni 2012

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Rasti Yunita

NPM : 0806315502

Program Studi : Sarjana

Judul Penelitian : Studi Biodegradasi Surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS) Menggunakan Isolat Bakteri dari Situ Universitas Indonesia

Telah berhasil dipertahankan di depan 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 : Dr. rer. nat. Budiawan

Penguji : Prof. Dr. Usman S. F. Tambunan

Penguji : Prof. Dr. Sumi Hudyono P. W. S

Penguji : Dr. Ir. Antonius Herri Cahyana

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6 Juli 2012

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

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

Nama : Rasti Yunita
NPM : 0806315502
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : MIPA
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 :

Studi Biodegradasi Surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS) Menggunakan Isolat Bakteri dari Situ Universitas Indonesia

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan 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 : 14 Juni 2012
Yang menyatakan



(Rasti Yunita)

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan semua rahmat dan karunia-Nya sehingga atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sesuai dengan yang diharapkan. Sholawat serta salam semoga tercurah kepada Rasulullah SAW.

Skripsi yang berjudul “Studi Biodegradasi Surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS) Menggunakan Isolat Bakteri dari Situ Universitas Indonesia “ ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program sarjana di Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Ucapan terima kasih yang sangat mendalam ditujukan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya selama ini.

Penulis juga menyadari tanpa adanya bantuan banyak pihak baik sejak masa perkuliahan hingga proses penyusunan skripsi ini akan sangat sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih atas segala bantuan yang telah diberikan selama ini terutama kepada :

1. Bapak Dr.rer.nat Budiawan selaku pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, pikiran serta kesabaran dalam membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat selesai.
2. Mbak Neera Khairani S.si,M.si yang turut menyediakan waktu,tenaga, dan pikiran dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ridla Bakri selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia, Ibu Dra.Tresye Utari selaku koordinator penelitian, dan seluruh staf pengajar Departemen Kimia UI yang telah memberikan kesempatan serta bimbingan, wawasan, dan ilmu yang bermanfaat.
4. Ibunda Hj. Sri Lestari dan Ayahanda H. Rachmat Suandi yang telah memberikan perhatian dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini. Kakanda Nurmadita Rahayu, Adinda Budi Kurniawan, dan seluruh keluarga besar penulis, terima kasih karena telah memberikan dukungan dan bantuan selama ini.

5. Bu Emi di IPBCC yang telah membantu dalam mengisolasi bakteri dari Situ Universitas Indonesia
6. Pak Hedi, Pak Heri Cahyana, Mbak Ema, Mbak Tri, Mbak Ina, Mbak Cucu, Pak Trisno perpus, Pak Min, Pak Kiri, Pak Mardji, dan Pak Hadi, terima kasih atas bantuannya selama ini.
7. Seluruh staf Afiliasi Departemen Kimia Universitas Indonesia, terutama kak Rasyid, kak Puji, kak Dio, dan kak Rispa yang telah memberikan bimbingan dan bantuan dalam penggunaan instrument.
8. Kak Sabil, Kak Zetri, Jessica Elfrida, Kak Widi, Yogi, Kak Wahyu, Kak Ikor, Deagita, serta teman-teman penelitian yang telah berjuang bersama-sama dan saling *sharing* bahan serta ilmu untuk penyelesaian skripsi ini.
9. Vina Yusrika Utami, Budi Setiawan, Syarifah Hasna, Amalia Hapsari dan Vina Kartika yang turut membantu dalam pengambilan sampel dan memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Inna Husna, Yunita Nindyasary, Helen Pratiwi, Esti Wijayanti, Bimo Budi Utomo yang memeriahkan penelitian semester kedua ini.
11. Bu Djoko, Kak Tiara, Mbak Aci, Kak Febri, Kak Nungky, Kak Hani, Indah, Yossi dan teman-teman Carnesia yang berbagi suka duka selama masa perkuliahan.
12. Adik-adik angkatan 2009, 2010, dan 2011 semoga skripsi dapat bermanfaat dan mampu memberikan tambahan wawasan kepada kalian
13. Dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Depok, Juni 2012

Penulis

ABSTRAK

Nama : Rasti Yunita
Program Studi : Kimia
Judul : Studi Biodegradasi Surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS) Menggunakan Isolat Bakteri dari Situ Universitas Indonesia

Universitas Indonesia memiliki enam situ yakni Situ Kenanga, Agathis, Mahoni, Puspa, Ulin, dan Salam. Keenam situ tersebut merupakan daerah resapan air untuk wilayah sekitar. Namun, dengan adanya banyak aktivitas masyarakat di sekitar wilayah UI, Situ UI berpotensi tercemar oleh limbah domestik. Limbah domestik dapat mengandung deterjen dengan surfaktan *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) sebagai salah satu komponennya. LAS dapat bersifat toksik terhadap organisme akuatik sehingga dilakukan penelitian untuk menguji kemampuan mikroorganisme dari Situ Universitas Indonesia dalam mendegradasi LAS. Hasil uji pendahuluan memperlihatkan bahwa konsentrasi LAS tertinggi terdapat pada Situ Agathis yaitu 4,410 mg LAS/L. Hasil isolasi terhadap sedimen Situ Agathis diperoleh isolat A dan B yang teridentifikasi masing-masing sebagai bakteri *Pseudomonas* sp. A dan *Pseudomonas* sp. B serta isolat bakteri C (belum teridentifikasi). Berdasarkan waktu adaptasi dan pertumbuhan dalam medium yang digunakan (2 mg/L), bakteri *Pseudomonas* sp. A menunjukkan kemampuan biodegradasi yang lebih baik dibandingkan dua jenis bakteri lainnya, sehingga bakteri tersebut digunakan untuk penelitian lebih lanjut terhadap biodegradasi LAS. Hasil uji biodegradasi LAS menggunakan kultur bakteri campuran (terdiri dari *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp. B, dan bakteri C) dan kultur bakteri tunggal (*Pseudomonas* sp. A) memperlihatkan bahwa LAS terdegradasi masing-masing sebanyak $\pm 89,6\%$ dan $\pm 86,5\%$ dalam waktu 10 hari. Disimpulkan LAS dapat didegradasi oleh bakteri dari Situ UI. Namun, hasil identifikasi produk biodegradasi LAS pada hari ke-28 menggunakan spektrofotometer infra merah dan uji karbon organik total menunjukkan seluruh komponen LAS belum terdegradasi secara total.

Kata Kunci : Universitas Indonesia, deterjen, *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS), biodegradasi, *Pseudomonas* spp.
xi+60 halaman : 26 gambar + 11 tabel
Daftar Pustaka : 40 (1991-2012)

ABSTRACT

Name : Rasti Yunita
Study Program : Chemistry
Tittle : Biodegradation Studies of *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS) Surfactant Using Bacteria Isolates from Lakes of University of Indonesia

University of Indonesia (UI) has six lakes, namely Kenanga Lake, Agathis Lake, Mahoni Lake, Puspa Lake, Ulin Lake, and Salam Lake. Each plays a role as water catchment for the surrounding area. However, UI lakes has the risks of contamination from domestic wastewater from the community activities nearby. The domestic wastewater could consists of detergent which is has linear alkylbenzene sulfonates (LAS) as one of its component. LAS has toxic effect to aquatic organisms, thus in this research the capability of microorganism from UI Lakes to degrade LAS is studied. Preliminary test results shows, the highest LAS concentration detected in Agathis Lake (4,410 mg/L). Isolation result from the lakes's sediment obtained isolates A and B which was identified as *Pseudomonas* sp.A, *Pseudomonas* sp.B., and isolate C (not identified yet). Based on the adaptation time and growth with LAS concentration (2 mg/L) in medium, *Pseudomonas* sp.A showed better biodegradation ability than the two other bacteria used. Thus, *Pseudomonas* sp.A is used further for LAS biodegradation. LAS biodegradation test results shows that mixed cultures (consists of *Pseudomonas* sp.A, *Pseudomonas* sp.B, and isolate C) and *Pseudomonas* sp.A could reach 89,6% and 86,5% respectively in 10 (ten) days. Thus, LAS could be degraded by UI lakes bacteria. Identification product of LAS biodegradation in day-28 using infra red spectrophotometer and total organic compound test shows that LAS has not undergo an ultimate biodegradation.

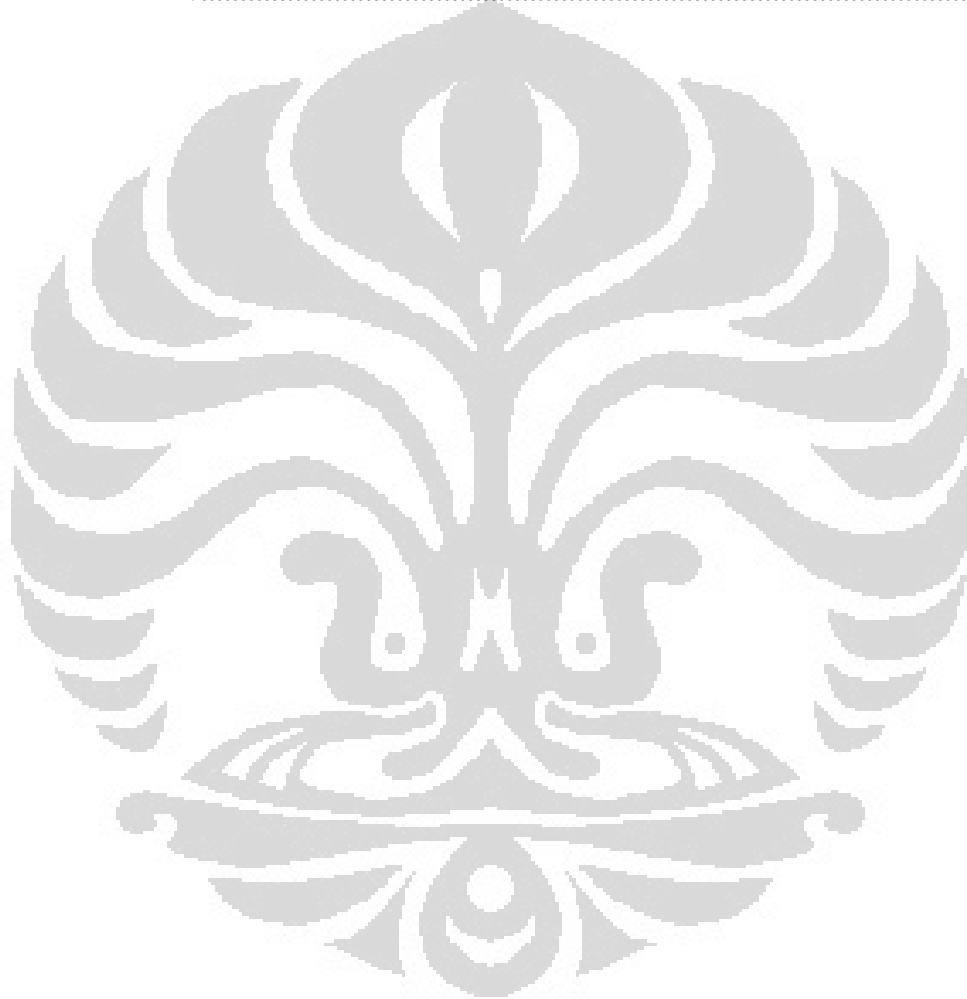
Keywords : University of Indonesia, detergent, linear alkylbenzene sulfonates (LAS), biodegradation, *Pseudomonas* spp.
xi+60 pages : 26 pictures + 11 tables
Bibliography : 40 (1991-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Universitas Indonesia	6
2.2 Ekosistem Perairan UI.....	7
2.3 Surfaktan	9
2.2.1 Tinjauan Umum Surfaktan.....	9
2.3.1 Jenis Surfaktan	11
2.4 <i>Linear Alkylbenzene Sulfonates</i> (LAS)	13
2.4.1 Identitas LAS.....	13

2.4.2	Tingkat Produksi dan Proses Pembuatan LAS.....	14
2.4.3	Pencemaran LAS di Lingkungan.....	16
2.4.4	Efek Toksisitas LAS	18
2.5	Biodegradasi	20
2.5.1	Metode Uji Biodegradasi	23
2.5.2	Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi.....	24
2.5.3	Parameter Analisis Hasil Biodegradasi.....	25
2.5.4	Biodegradasi <i>Linear Alkylbenzene Sulfonates</i> (LAS).....	26
BAB 3	METODE PENELITIAN	29
3.1	Lokasi Penelitian.....	29
3.2	Peralatan	29
3.3	Bahan.....	29
3.3.1	Bahan Kimia.....	29
3.3.2	Bahan Biologi.....	30
3.3.3	Contoh Uji.....	30
3.4	Prosedur Kerja	30
3.4.1	Verifikasi Metode MBAS (<i>Methylen Blue Active Substances</i>).....	30
3.4.2	Pengambilan Contoh Air dari Situ Universitas Indonesia .	31
3.4.3	Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi LAS	32
3.4.4	Kultivasi Mikroorganisme	32
3.4.5	Pengujian Kemampuan Isolat untuk Perlakuan Biodegradasi LAS.....	32
3.4.6	Identifikasi Senyawa Intermediet Hasil Degradasi	36
3.4.7	Penentuan besar TOC (Total Organic Carbon) pada Contoh Uji Hari ke-28 (Metode Permanganometri).....	36
3.5	Skematik Prosedur Kerja.....	38
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1	Verifikasi Metode	40
4.2	Pengambilan Contoh Air dari Situ UI.....	41
4.3	Uji Pendahuluan Bakteri Pendegradasi LAS.....	45
4.4	Penentuan Biodegradasi LAS	50
4.4.1	Pengukuran Pertumbuhan (Turbiditas) Bakteri.....	50
4.4.2	Pengukuran Konsentrasi LAS	52

4.5 Identifikasi Produk Intermediet Hasil Degradasi LAS	57
4.6 Penentuan Nilai Karbon Organik Total.....	60
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
DAFTAR REFERENSI	62
LAMPIRAN	65



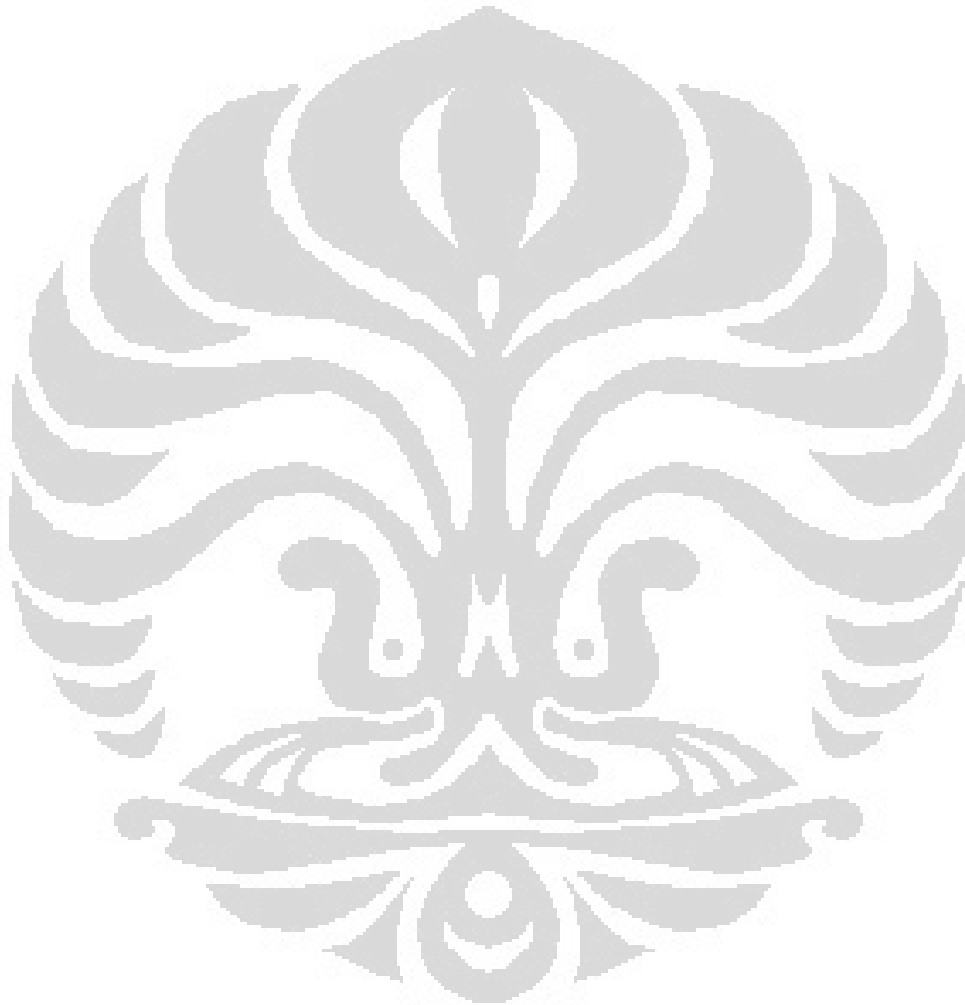
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik LAS yang Digunakan dalam Detergen Pembersih	16
Tabel 2.2 Beberapa Senyawa Kimia yang Sesuai untuk Bioremediasi	21
Tabel 2.3 Kemampuan Bioremediasi Surfaktan di Lingkungan	22
Tabel 3.1 Tabel Uji Biodegradasi	34
Tabel 4.1 Optikal Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 2 mg/L	46
Tabel 4.2 Optikal Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 5 mg/L	47
Tabel 4.3 Optikal Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 10 mg/L	48
Tabel 4.4 Optikal Densitas yang Sebanding Dengan Jumlah Bakteri	50
Tabel 4.5 Perbandingan Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Secara Biotik dan Abiotik	54
Tabel 4.6 Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Selama Waktu Inkubasi	55
Tabel 4.7 Hasil Penentuan Nilai TOC	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 (a) pertumbuhan eceng gondok di Situ Agathis, (b) penumpukan busa di Situ Mahoni, (c) penumpukan busa di Situ Agathis.....	2
Gambar 2.1 Situ Kenanga UI	7
Gambar 2.2 Situ Agathis UI.....	7
Gambar 2.3 Situ Mahoni UI.....	7
Gambar 2.4 Situ Puspa UI.....	8
Gambar 2.5 Situ Ulin UI.....	8
Gambar 2.6 Situ Salam UI	8
Gambar 2.7 Asam Sulfonat.....	10
Gambar 2.8 Surfaktan Anionik.....	12
Gambar 2.9 Surfaktan Kationik.....	12
Gambar 2.10 Surfaktan Non-ionik	13
Gambar 2.11 Proses Produksi LAS	15
Gambar 2.12 Reaksi Kimia Pembuatan LAS.....	16
Gambar 2.13 Jalur LAS di Lingkungan.....	18
Gambar 2.14 Jalur Biodegradasi Aerobik LAS.....	27
Gambar 4.1 Spektrum Kompleks MB-LAS.....	40
Gambar 4.2 Lokasi Pengambilan Contoh Air di Situ Kenanga UI	42
Gambar 4.3 Grafik Konsentrasi LAS di Situ UI	42
Gambar 4.4 Isolat Bakteri dari Situ Agathis (a) <i>Pseudomonas</i> sp. A, (b) <i>Pseudomonas</i> sp. B, (c) Bakteri C	45
Gambar 4.5 Kurva Optikal Densitas Bakteri pada 2 mg LAS/L.....	47
Gambar 4.6 Kurva Optikal Densitas Bakteri pada 5 mg LAS /L.....	48
Gambar 4.7 Kurva Optikal Densitas Bakteri pada 10 mg LAS /L.....	49
Gambar 4.8 Kurva Optikal Densitas yang Sebanding dengan Jumlah Bakteri (LAS 2 mg/L).....	51
Gambar 4.9 Kurva Perbandingan Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Secara Biotik dan Abiotik.....	54

Gambar 4.10 Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Selama Waktu Inkubasi . 55
Gambar 4.11 Jalur Reaksi dari ω - dan β - Oksidasi dari Rantai Alkil Selama Biodegradasi Surfaktan..... 59



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Peta Kampus Universitas Indonesia Depok	66
Lampiran 2 Data Penggunaan dan Produksi Surfaktan di Indonesia	67
Lampiran 3 Metode OECD 301 A.....	68
Lampiran 4 Kurva Standar LAS.....	74
Lampiran 5 Lokasi Pengambilan Contoh Air	76
Lampiran 6 Data Hasil Uji Contoh Air Situ Universitas Indonesia	77
Lampiran 7 Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4161	79
Lampiran 8 Laporan Hasil Isolasi Bakteri IPBCC	82
Lampiran 9 Spektrum Infra Merah untuk Standar (LAS).....	84
Lampiran 10 Spektrum Infra Merah Bahan <i>Pseudomonas</i> sp. A (Hari ke -28)....	85
Lampiran 11 Spektrum Infra Merah Bahan <i>Pseudomonas</i> sp. A (Hari ke -7, 10, dan 14)	86
Lampiran 12 Spektrum Infra Merah Bahan Bakteri Campuran (Hari ke -28).....	87
Lampiran 13 Spektrum Infra Merah Bahan Bakteri Campuran (Hari ke -7, 10, dan 14).....	88

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Universitas Indonesia (UI) yang secara geografis berada di dua wilayah berbeda yaitu Salemba dan Depok, sejak tahun 2008 memiliki visi tata kelola *world class university, enterprising, eco-sustainable, dan integrasi*. Mayoritas fakultas UI berada di wilayah Depok dengan luas lahan mencapai 320 hektar, memiliki atmosfer *green campus* karena hanya 25 % dari total lahan yang digunakan sebagai sarana akademik, riset dan kemahasiswaan. Sementara itu, 75% lahan dapat dikatakan sebagai area hijau yang berwujud hutan kota dimana di dalamnya terdapat enam situ yaitu Situ Kenanga, Agathis, Mahoni, Puspa, Ulin, dan Salam.

Keenam Situ UI tersebut memiliki fungsi sebagai resapan air untuk wilayah sekitarnya. Namun, kondisinya memprihatinkan dan jauh dari konsep '*green campus*'. Hal ini dapat diamati secara visual pada beberapa situ, dimana terdapat busa serta pertumbuhan eceng gondok secara berlebihan di permukaan situ. Pengamatan secara visual dari kondisi Situ UI dapat dilihat pada Gambar 1.1.

Adanya busa dan pertumbuhan eceng gondok yang berlebihan dapat diakibatkan oleh kelebihan kadar surfaktan dan fosfat di perairan. Kedua senyawa ini merupakan bagian dari komposisi deterjen. Salah satu sumber dari deterjen pada Situ UI ialah limbah domestik yang berasal dari aktivitas masyarakat sekitar. Berdasarkan hal tersebut, maka situ di UI berpotensi mengalami pencemaran dari deterjen.



(a)



(b)



(c)

Gambar 1.1 (a) pertumbuhan eceng gondok di Situ Agathis, (b) penumpukan busa di Situ Mahoni, (c) penumpukan busa di Situ Agathis

(sumber : dokumentasi pribadi)

Deterjen umumnya menggunakan *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) sebagai surfaktan. Setelah deterjen digunakan, senyawa ini akan terbawa bersama air ke pembuangan limbah cair. LAS bersifat toksik terhadap hewan air dan manusia, serta dapat mencemari tanah yang kemudian berakibat tercemarnya sumber air bagi makhluk hidup. Berdasarkan penelitian, air buangan tanpa sistem pengolahan limbah memiliki konsentrasi LAS sekitar 1-15 mg/L dan setelah pengolahan limbah, konsentrasi berkurang menjadi sekitar 0,008 – 0,027 mg/L (HERA, 2009). Bahkan pada sedimen terdapat LAS dengan konsentrasi sekitar 10.000 – 100.000 µg/ kg berat sedimen kering (Hampel *et al.*, 2009).

Konsentrasi LAS tersebut dapat menimbulkan efek toksik pada organisme akuatik. Pada efek akut jangka pendek, rerata konsentrasi pada LAS berkisar antara 1,7 hingga 49 mg LAS/L untuk 400 uji yang berbeda, menggunakan 11 tipe yang berbeda dari jenis udang dan ikan. Sedangkan untuk uji kronik jangka panjang, dengan tingkat yang sangat sensitif seperti reproduksi, pada konsentrasi yang sangat tinggi tidak memberikan beberapa efek (NOEC- tidak mendapat efek konsentrasi). Sebanyak 60 uji menggunakan organisme air segar termasuk alga, udang, serangga dan ikan dengan nilai NOEC 0,25-15 mg LAS/L (Joan & Lars, 2000).

Dalam menanggulangi bahaya LAS tersebut, pengolahan limbah cair dapat dilakukan dengan menyingkirkan, mengurangi, atau mengubah senyawa LAS menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya, salah satunya dengan metode biodegradasi. Mikroorganisme diketahui memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa berbahaya dalam proses metabolismenya. Pemanfaatan mikroorganisme dalam pengolahan limbah cair sangat sederhana dan ekonomis. Hasil degradasi senyawa LAS oleh mikroorganisme juga diharapkan tidak berbahaya bagi lingkungan.

Penelitian sebelumnya melaporkan hasil biodegradasi LAS dengan konsentrasi 20 mg/L pada hari keempat pada kultur *Acinotobacter* dan kultur bakteri campuran yang diisolasi dari Waduk Setia Budi, Jakarta, secara berurutan mencapai ± 51,32% dan ± 46,82% (Fatisa, 2003). Sementara biodegradasi LAS dengan menggunakan kultur bakteri lain seperti *Spirulina platensis* dapat dicapai selama lima hari dengan biodegradasi sebesar 87%, 80%, dan 70,5% pada

konsentrasi 0,5; 1; dan 2 mg LAS/L (Meng *et al.*,2012). Pada penelitian lain juga dilaporkan melalui analisis LAS dengan MBAS (*Methylen Blue Active Substances*) biodegradasi LAS 100 % dengan konsentrasi sebesar 5 mg/L dapat dicapai dalam waktu 10 hari (Jurado *et al.*, 2006).

Kemampuan biodegradasi (biodegradabilitas) alami LAS bervariasi pada masing-masing tempat sesuai dengan lingkungan mikroorganisme alami yang ada. Oleh karena itu, penelitian mengenai kemampuan mikroorganisme di Situ UI dalam mendegradasi LAS sangat penting untuk mengetahui daya tampung dari Situ UI. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi UI untuk menetapkan kebijakan manajemen limbah cair pada situ yang dimilikinya.

1.2 Perumusan Masalah

Universitas Indonesia memiliki enam situ yang berfungsi sebagai resapan air dan penampungan limbah domestik. Namun, berdasarkan pengamatan secara visual diduga telah terjadi pencemaran deterjen di situ-situ tersebut. Surfaktan yang umumnya digunakan pada deterjen adalah *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) dan senyawa ini bersifat toksik terhadap lingkungan. Salah satu cara pengurangan konsentrasi LAS pada Situ UI adalah dengan biodegradasi. Namun, kemampuan biodegradasi setiap tempat berbeda sesuai dengan lingkungan mikroorganisme alami yang ada. Untuk itu perlu diamati kemampuan mikroorganisme yang terdapat pada Situ UI dalam mendegradasi surfaktan LAS. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi mikroorganisme di Situ UI yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi surfaktan LAS berikut dengan tingkat biodegradasinya, serta waktu proses degradasi yang diperlukan. Selain itu, juga dilakukan identifikasi produk intermediet hasil biodegradasi LAS oleh mikroorganisme yang berasal dari Situ UI.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a) Mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme dari Situ UI yang mampu mendegradasi surfaktan LAS,

- b) Mengetahui waktu dan kemampuan biodegradasi (biodegradabilitas) mikroorganisme dari Situ UI terhadap surfaktan LAS,
- c) Mengidentifikasi senyawa hasil biodegradasi LAS oleh mikroorganisme dari Situ UI,
- d) Sebagai informasi ilmiah untuk mendukung visi tata kelola Universitas Indonesia berupa *world class university, enterprising, eco-sustainable* dan integrasi.

1.4 Hipotesis

- a) Situ Universitas Indonesia tercemar oleh deterjen (surfaktan *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS)),
- b) Jenis bakteri yang mampu mendegradasi LAS adalah *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* spp., an *Acinetobacter* sp. (Hosseini *et al.*, 2007),
- c) LAS adalah senyawa yang mudah terdegradasi secara aerobik.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk melihat kondisi Situ UI khususnya terhadap surfaktan LAS. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi UI untuk menerapkan kebijakan pengolahan limbah, khususnya limbah cair di UI, kebijakan tersebut mendukung visi tata kelola UI untuk menjadi *world class university, enterprising, eco-sustainable* dan integrasi.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Universitas Indonesia

Universitas Indonesia (UI) merupakan universitas yang berdiri pada tahun 1849 dan merupakan representasi institusi pendidikan dengan sejarah paling tua di Asia. UI saat ini secara simultan selalu berusaha menjadi salah satu universitas riset atau institusi akademik terkemuka di dunia. Sebagai universitas riset, upaya-upaya pencapaian tertinggi dalam hal penemuan, pengembangan dan difusi pengetahuan secara regional dan global selalu dilakukan. Sementara itu, UI juga memperdalam komitmen dalam upayanya di bidang pengembangan akademik dan aktivitas penelitian melalui sejumlah disiplin ilmu yang ada dilingkupnya.

UI memiliki visi "Menjadi Universitas Riset Kelas Dunia". Hal ini didukung dengan misinya untuk menyelenggarakan pendidikan tinggi berbasis riset untuk pengembangan ilmu, teknologi, seni dan budaya serta mengupayakan penggunaannya untuk meningkatkan taraf dan kualitas kehidupan masyarakat Indonesia serta kemanusiaan.

Di samping itu, UI juga memiliki visi tata kelola yaitu *world class university, entreprising, eco-sustainable* dan integrasi. Semenjak tahun 2008, UI memiliki obsesi untuk menciptakan lingkungan kampus hijau atau *green campus* untuk mendukung visinya tersebut. Hal ini di wujudkan pada dua kampus UI yaitu Kampus UI Salemba dan Kampus UI Depok. Karena mayoritas fakultas berada di Depok, maka tata kelola tersebut lebih difokuskan pada Kampus UI Depok. Kampus UI Depok memiliki lahan seluas 320 hektar dan berdasarkan alokasi rencana tata ruang kawasan kampus, terdapat empat komponen ekosistem di lingkungan Kampus UI Depok ("Universitas Indonesia", n.d.) yaitu:

- 1) Bangunan fisik gedung dan penyangga hijauan lansekap, 170 ha,
- 2) Kawasan hutan kota, 100 ha,
- 3) Ekosistem perairan, 30 ha, dan
- 4) Sarana prasarana penunjang termasuk penyangga lingkungan, 12 ha.

2.2 Ekosistem Perairan UI

Ekosistem perairan di UI dengan luas total 30 ha meliputi enam situ yang memiliki fungsi sebagai resapan air dari daerah sekitarnya. Keenam situ tersebut antara lain :

1) Situ Kenanga UI

Lokasi diantara Gedung Rektorat Balairung dan Masjid UI, dibangun tahun 1992 dengan luas 28.000 m² (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Situ Kenanga UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

2) Situ Aghatis UI

Lokasi diantara FMIPA dan Politeknik Negeri Jakarta dibangun tahun 1995 dengan luas 20.000 m² (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Situ Agathis UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

3) Situ Mahoni UI

Lokasi terletak disebelah Utara dan Selatan Kampus dibatasi oleh jalan utama lingkaran selatan (Sebelah timur FIB & PSI, sebelah Barat FE). Situ ini dibangun pada tahun 1996 dengan luas 45.000 m² (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Situ Mahoni UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

Universitas Indonesia

4) Situ Puspa UI

Lokasi terletak diantara Situ Ulin UI dan Situ Mahoni UI, dibangun pada tahun 1995 dengan luas 20.000 m² (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Situ Puspa UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

5) Situ Ulin UI

Lokasi terletak diantara Situ Puspa UI dan Situ Salam UI, dibangun pada tahun 1998 dengan luas 72.000 m² (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Situ Ulin UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

6) Situ Salam UI

Lokasi bersejajar sesuai aliran dari selatan ke utara sebagai bagian rangkaian Situ Ulin UI dan Situ Puspa UI, dibangun pada tahun 1998 dengan luas 42.000 m² (Gambar 2.6).



Gambar 2.6 Situ Salam UI
(sumber : dokumentasi pribadi)

Peta lokasi keenam Situ UI tercakup dalam peta wilayah Kampus UI Depok yang dapat dilihat pada Lampiran 1.

2.3 Surfaktan

2.2.1 Tinjauan Umum Surfaktan

Surfaktan (*surface active agent*) merupakan senyawa yang memiliki sifat permukaan aktif dan terdiri dari satu atau lebih gugus hidrofilik (polar) dan satu atau lebih gugus hidrofobik (non polar) yang mampu menurunkan tegangan permukaan air. Sifat rangkap ini menyebabkan surfaktan dapat diadsorpsi pada antar muka udara-air, minyak-air, dan zat padat-air, membentuk lapisan tunggal dimana gugus hidrofilik berada pada fase air dan rantai hidrokarbon ke udara, dalam kontak dengan zat padat ataupun terendam dalam fase minyak (EC, 2004). Gugus hidrofolik pada surfaktan berupa senyawaan seperti hidroksilat, sulfonat, fosfat dan garam ammonium kuartener. Jumlah hidrokarbon dari suatu molekul surfaktan harus mengandung 12 atom karbon agar efektif (Fatisa , 2003).

Surfaktan dapat ditemukan di dalam deterjen, kosmetik, farmasi dan tekstil. Produk pangan seperti es krim juga menggunakan surfaktan sebagai bahannya. Karena sifatnya yang menurunkan tegangan permukaan, surfaktan dapat digunakan sebagai bahan pembasah (*wetting agent*), bahan pengemulsi (*emulsion agent*) dan sebagai bahan pelarut (*solubilizing agent*).

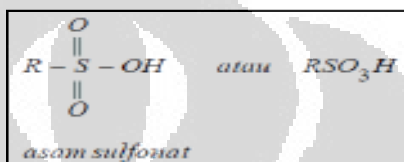
Salah satu surfaktan yang pertama kali dibuat adalah sabun, dimana sabun merupakan hasil dari reaksi suatu ester dengan alkohol. Namun, reaksinya dengan garam-garam runutan di air menghilangkan kereaktifannya. Sabun kemudian digantikan oleh surfaktan sintetis yang dibuat dalam rumusan komersial berupa deterjen.

Deterjen sendiri merupakan campuran berbagai bahan, yang digunakan untuk membantu pembersihan dan terbuat dari bahan-bahan turunan minyak bumi. Dibanding dengan sabun, deterjen mempunyai keunggulan antara lain mempunyai daya cuci yang lebih baik serta tidak terpengaruh oleh kesadahan air.

Universitas Indonesia

Deterjen merupakan berbagai bahan yang mengandung sabun dan atau surfaktan lain yang digunakan untuk proses pencucian dan pembersihan. Deterjen dapat ditemukan dalam berbagai bentuk (cairan, bubuk, pasta, batang, dll) dan dipasarkan atau digunakan untuk tujuan rumah tangga, institusi, atau industri (EC, 2004).

Pada saat ini, kebanyakan surfaktan yang digunakan dalam deterjen adalah garam dari asam sulfonat.



Gambar 2.7 Asam Sulfonat

Kandungan yang terdapat dalam deterjen pencuci untuk rumah tangga antara lain berupa :

- 1) surfaktan (zat aktif permukaan- *surface active agents*)
- 2) *builders* (bahan pendukung)
- 3) bahan alkali
- 4) bahan anti-mikroba
- 5) bahan anti-redoposisi
- 6) bahan pengelantang/pemutih
- 7) pewarna
- 8) bahan penghambat korosi
- 9) enzim
- 10) bahan pelembut kain
- 11) bahan pemutih fluoresens
- 12) bahan pewangi

(*Ecolabelling*, 2003)

Komposisi deterjen seperti di atas menyebabkan deterjen menjadi efektif dalam membersihkan kotoran yang menempel pada suatu bahan. Hal ini kemudian berakibat pada penggunaan deterjen yang luas sehingga

Universitas Indonesia

berdampak pada lingkungan. Sisa deterjen ataupun bahan aktif yang berupa surfaktan memasuki jalan air melalui sampah yang diberi perlakuan serta yang tidak diberi perlakuan dari limbah cair rumah tangga atau industri serta aliran buangan permukaan. Pengaruh lingkungan yang dapat dilihat secara kasat mata adalah dengan adanya busa pada sungai atau danau. Selain itu juga terdapat pencemaran air tanah yang digunakan sebagai pasokan rumah tangga.

Surfaktan dan residu senyawa kimia dari deterjen mempunyai efek merugikan bagi kehidupan akuatik dan bisa menjadi sangat toksik bagi lingkungan. Beberapa di antaranya dapat mengalami biodegradasi di lingkungan dalam kondisi aerobik. Namun, banyak pula yang tidak dapat dibiodegradasi pada kondisi anaerobik seperti pada sedimen situ atau sungai dan lumpur (Ying, 2006).

2.3.1 Jenis Surfaktan

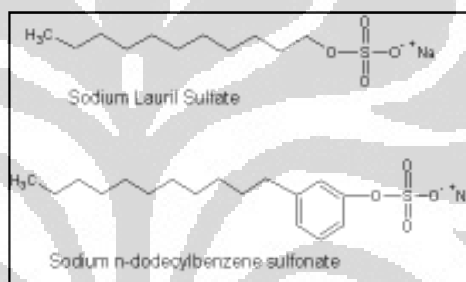
Surfaktan diklasifikasikan berdasarkan sifat muatan ioniknya di dalam air, dimana pembagian tersebut berupa surfaktan anionik, kationik, dan netral. Penggolongan ini dibuat bergantung pada sifat dasar gugus hidrofiliknya.

a. Surfaktan anionik

Surfaktan ini merupakan surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu anion atau di dalam air bagian hidrofiliknya membawa muatan negatif. Hal ini menyebabkan surfaktan anionik dapat bereaksi dengan muatan air yang memiliki kesadahan air tinggi (kalsium dan magnesium). Surfaktan ini efektif pada pembersihan noda berminyak dan tanah lempung. Contoh dari surfaktan anionik adalah garam alkana sulfonat (*Alkylbenzene Sulfonate* (ABS)), garam olefin sulfonat (*Alpha Olefin Sulfonate* (AOS)), garam sulfonat asam lemak rantai panjang (*Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS)).

Pada deterjen, surfaktan yang umumnya digunakan adalah surfaktan anionik-garam dari sulfonat atau sulfat berantai panjang dari

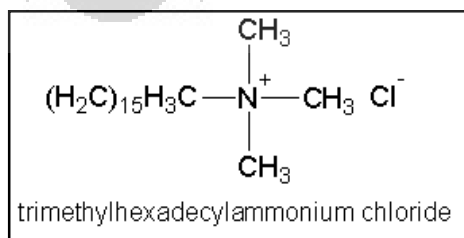
natrium (RSO_3Na^+ dan RSO_4Na^+). Salah satu surfaktan yang digunakan dalam deterjen adalah *p*-alkilbenzena sulfonat (ABS) dengan gugus alkil yang sangat bercabang. Namun, selanjutnya diketahui bahwa mikroorganisme tidak dapat menguraikan rantai hidrokarbon yang bercabang tersebut. Deterjen dengan jenis surfaktan ini lolos lewat instalasi pengolahan limbah tanpa berubah, sehingga menyebabkan sungai berbusa bahkan air PAM berbusa. Pada tahun 1965, industri kemudian mengubah surfaktan dalam deterjen menjadi surfaktan yang biodegradable yaitu surfaktan dengan alkil rantai lurus berupa *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS).



Gambar 2.8 Surfaktan Anionik

b. Surfaktan kationik

Merupakan surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu kation atau bagian hidrofilnya membawa muatan positif dalam air. Contohnya garam alkil trimetil amonium, garam dialkil-dimetil amonium, dan garam alkil dimetil benzil amonium. Surfaktan jenis ini umumnya digunakan dalam pewangi dan pelembut cucian seperti softener dan kombinasi pelembab deterjen.

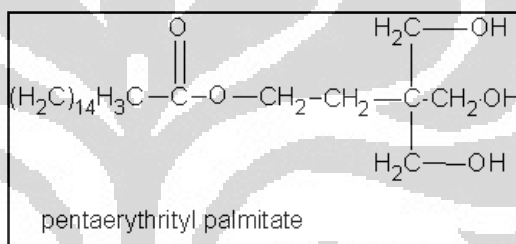


Gambar 2.9 Surfaktan Kationik

Universitas Indonesia

c. Surfaktan non-ionik

Surfaktan non-ionik adalah surfaktan yang bagian alkilnya tidak bermuatan sehingga tidak terionisasi dalam air. Contohnya ester gliserin asam lemak, ester sorbitan asam lemak, ester sukrosa asam lemak, polietilena alkil amina, glukamina, alkil poliglukosida, mono alkanol amina, dialkanol amina, dan alkil amina oksida. Ketiadaan muatan memungkinkan surfaktan jenis ini mencegah deaktivasi air keras. Khususnya pada penghilangan minyak oleh pelarutan dan emulsifikasi. Surfaktan jenis ini umumnya digunakan dalam bubuk deterjen berbusa sedikit dan deterjen cair.



Gambar 2.10 Surfaktan Non-ionik

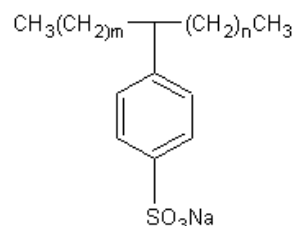
2.4 *Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS)*

2.4.1 Identitas LAS

Linear alkylbenzene sulfonates (LAS) adalah senyawa yang dihasilkan dari sulfonasi dari *linear alkylbenzene (LAB)* yang merupakan senyawa turunan dari minyak bumi. Adapun sifat-sifat fisika dan kimia dari LAS adalah sebagai berikut :

Formula kimia : $C_nH_{(2n-1)}O_3SNa$ (n:16-20)(untuk produk komersial)

Struktur kimia :



Nama umum : *Sodium linear alkylbenzene sulfonates*
(berdasarkan IPCS dan tatanama IUPAC)

Nomor Register CAS : 68411-30-3 (garam LAS sodium, C10-13 alkil)

Massa Molekul Relatif : 342 g/mol

Kelarutan dalam air : 250 g/l

Titik lebur : 276,8 °C

Titik Didih : 637,4 °C

Densitas : 1,06g/cm³

Tekanan uap : 1,28 x10⁻¹⁴ Pa

Nama Dagang : Ablusol DBC, Agrilan Wp, Alksurf CA, Arilan, Atlas G-3300B, Atlox, dll.

(Folke dan Landner,2000)

2.4.2 Tingkat Produksi dan Proses Pembuatan LAS

LAS telah digunakan kurang lebih 40 tahun dengan perkiraan konsumsi global mencapai 18,2 juta ton pada 2003 dibandingkan dengan 9; 4,5; 1,7; 0,5; 0,1; dan 2,4 juta ton secara berurutan dari sabun, surfaktan anionik, surfaktan non-ionik, surfaktan kationik, surfaktan amfoterik, dan surfaktan lainnya (Mungray & Kumar, 2009).

Produksi deterjen untuk Indonesia pada tahun 2009 menurut Badan Pusat Statistik Indonesia mencapai 191 ribu ton, dan pada tahun yang sama produksi LAS adalah seribu ton, data dapat dilihat pada Lampiran 2.

Adapun komposisi LAS dalam beberapa deterjen dan agen pembersih lainnya adalah sebagai berikut :

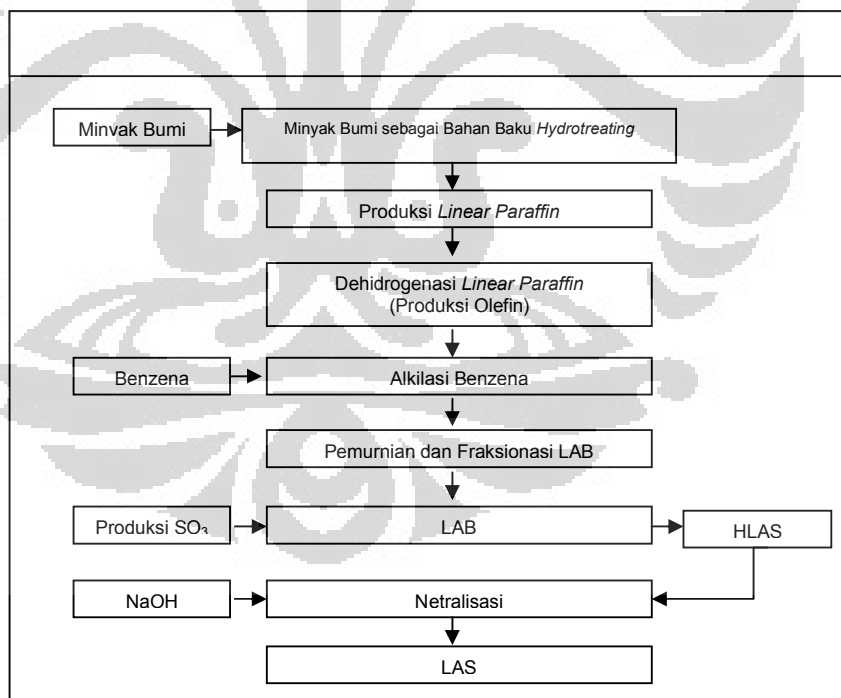
Universitas Indonesia

% proporsi LAS dalam agent

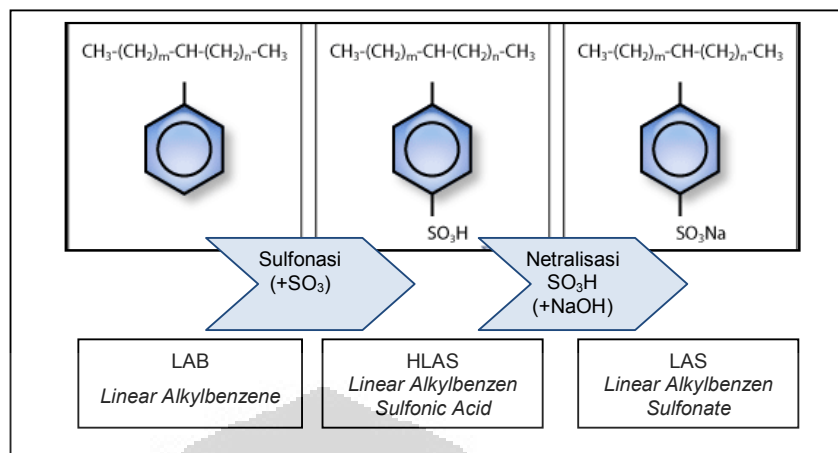
- Deterjen konvensional 5–15 %
- Deterjen padat 0-15 %
- Deterjen tablet 2-10 %
- Deterjen pabrik tekstil 10-20 %
- Cairan Pembersih 5-25 %

(Fatisa, 2003)

Linear alkylbenzene (LAB) merupakan senyawa turunan minyak bumi dari benzena dan parafin linier yang digunakan untuk memproduksi LAS. Proses pembuatan LAS yang disebut proses sulfonasi ditunjukkan pada Gambar 2.11 dan Gambar 2.12 berikut :



Gambar 2.11 Proses Produksi LAS
(“ecosol”, n.d.)



Gambar 2.12 Reaksi Kimia Pembuatan LAS
(“ecosol”, n.d.)

Tabel 2.1 Karakteristik LAS yang Digunakan dalam Detergen Pembersih

Penampilan (Produk Komersial)		Pasta putih (mengandung air)	
Panjang rantai karbon alkil		11,8	
Massa Relatif Molekul		342	
Bahan-bahan bukan sulfonat		1-2 %	
Distribusi panjang rantai	C10	10-15%	
	C11	25-35%	
	C12	25-35%	
	C13	15-30%	
	C14	0-5%	
Posisi Cincin Fenil	LAS (LAB-HFa)	LAS (LAB-AlCl ₃ b)	
	2-fenil	18	28
	3-fenil	16	19
	4-fenil	17	17
	5-fenil	24	18
	6-fenil	25	18

^aProses asam hidrofluorik-katalis

^bProses aluminium klorida-katalis

(Cavalli *et al.*,1993)

2.4.3 Pencemaran LAS di Lingkungan

LAS merupakan salah satu jenis surfaktan anionik, dan seperti sabun, berfungsi untuk menghilangkan kotoran berminyak dan berlemak yang terdapat

Universitas Indonesia

pada pakaian, piring, dan material lain. Surfaktan memiliki sifat menurunkan tegangan permukaan air sehingga pakaian menjadi basah. Selain itu juga untuk menjaga agar kotoran yang telah terangkat tetap berada dalam keadaan suspensi selama proses pencucian sehingga dapat terbuang bersama busa.

LAS dapat digunakan dalam kombinasi dengan surfaktan lain untuk meningkatkan daya gunanya dalam proses pencucian. Jumlah LAS dalam deterjen dapat mencapai 30% dari total berat produk. LAS merupakan surfaktan yang paling banyak digunakan saat ini karena lebih efisien (rasio biaya-daya guna) dan serbaguna, serta merupakan jenis yang paling aman dibandingkan jenis surfaktan lain karena laju biodegradabilitasnya tinggi.

Sejak 1990, LAS menjadi perhatian ahli lingkungan karena terbukti residu LAS ditemukan pada limbah lumpur yang digunakan untuk lahan pertanian. Hasil menunjukkan bahwa LAS terdistribusi predominan dalam air (97,5%), tanah (0,5%) dan sedimen(2%).

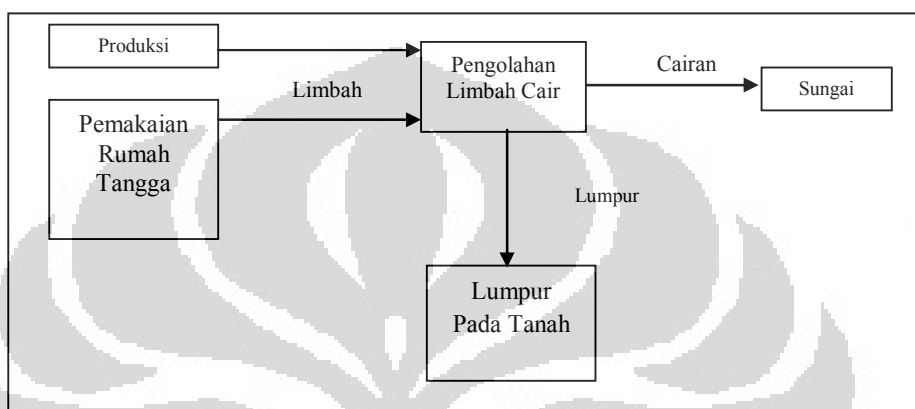
Konsentrasi LAS menurun dengan urutan limbah cair > limbah yang telah diolah > air permukaan > laut. Pada wilayah dimana LAS digunakan sebagai surfaktan konsentrasi LAS sekitar 1-10 mg/L pada limbah cair; 0,05-0,1 mg/L pada limbah yang diolah secara biologi; 0,065-0,6 mg/L pada limbah yang diolah dengan penyaringan; 0,005-0,05 mg/L pada air permukaan di bawah saluran pembuangan (konsentrasi menurun secara cepat untuk 0,01 mg/liter dari aliran saluran pembuangan); <1-10 mg/kg pada sedimen sungai (≤ 100 mg/kg pada sedimen yang sangat tercemar); 1-10 g/kg pada lumpur saluran pembuangan dan < 1-5 mg/kg pada lumpur (umumnya 5-10 mg/kg; - 50 mg/kg telah dilaporkan setelah aplikasi tingkat tinggi dari lumpur). Konsentrasi dari LAS pada air muara adalah 0,001-0,01 mg/L; walaupun tingkat yang lebih tinggi terjadi ketika air limbah dibuang secara langsung. Konsentrasi pada air laut <0,001-0,003 mg/L (EHC,1996).

Konsentrasi LAS di lingkungan bervariasi secara luas. Variasi ini disebabkan adanya perbedaan metoda analitik yang digunakan, karakteristik daerah pengambilan sampel, perbedaan musim/iklim, dan konsumsi LAS. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, dimana pengukuran LAS

Universitas Indonesia

menggunakan metode MBAS di sepanjang pesisir Mediterania menunjukkan konsentrasi LAS bervariasi pada setiap musim, dimana konsentrasi LAS tertinggi terjadi pada musim panas dan musim dingin (Becagli *et al.*, 2011).

Adapun jalur yang dilalui oleh LAS di lingkungan dapat dilihat pada Gambar 2.13 berikut :



Gambar 2.13 Jalur LAS di Lingkungan
(Mungray & Kumar, 2009)

2.4.4 Efek Toksisitas LAS

2.4.4.1 Toksisitas terhadap Kehidupan Akuatik

LAS dengan konsentrasi kurang lebih 0,02-1,0 mg/L pada lingkungan akuatik dilaporkan dapat merusak insang ikan, menyebabkan sekresi lendir yang berlebihan, serta mengganggu pola renang pada larva kepah biru dan pada konsentrasi 40-60 mg/kg berat kering pada lumpur dapat mengganggu reproduksi dan pertumbuhan dari invertebrata tanah dan cacing tanah (Venhuis & Mehrvar, 2004).

Berbagai penelitian dalam ekotoksikologi juga membuktikan bahwa LAS dapat memberikan efek akut maupun kronis pada organisme akuatik. Pada mikroorganisme nilai dapat bervariasi tergantung pada sistem uji yang digunakan (misal inhibisi lumpur aktif, kultur campuran, dan spesies individu). Efek toksisitas akut pada *Daphnia magna* meningkat seiring dengan panjang rantai alkil atau berat molekular

Universitas Indonesia

homolog yang kemungkinan disebabkan besarnya interaksi antara homolog yang lebih berat dengan membran sel (Verge *et al.*, 2000). Selain itu juga dilaporkan, efek toksisitas akut pada alga berdasarkan IC₅₀ adalah 9,1 mg/L, pada *Daphnia magna* (EC₅₀) sebesar 4,1 mg/L, ikan *Lepomis m.* (LC₅₀) adalah 4,1 mg/L dan ikan *Pimephales p.* (LC₅₀) sebesar 3,2 mg/L (HERA, 2009). Selain itu, dilaporkan pula nilai IC₅₀ LAS pada lima spesies fitoplankton di air laut (*T. levis*, *D. tertiolecta*, *T. pseudonana*, *S. costatum*, *P. minimum*) adalah sekitar 0,5 hingga 2 mgLAS/L (Renaud *et al.*, 2011).

Pada tingkat kesadahan air tinggi (> 200 mg/L sebagai CaCO₃) dapat menjadi faktor penekan yang memberikan LC₅₀-48 jam lebih rendah dibandingkan pada kesadahan air rendah pada konsentrasi LAS yang sama. Walaupun pada 0,2 mg/L tidak memberikan efek (NOEC-tidak mendapatkan efek konsentrasi) pada ikan trout pelangi dan kemampuan berenang berkurang setelah 54 hari terpapar (Hofer *et al.*, 1995).

Berdasarkan beberapa penelitian, nilai BCF (*Bioconcentration Factor*) LAS pada *Cyprinus carpio* (ikan kakap) dan *Concorhychus mykiss* (ikan trout) mencapai 90-98 (Dyer *et al.*, 2008), *Pimephale promelas* sekitar 138-222 (Tolls *et al.*, 2000), serta pada *Ictalurus punctatus* sekitar 42-104 setelah 32 hari terpapar LAS (Varsseeg & Rawling, 2003). Nilai BCF yang lebih besar dari 100 tersebut mengindikasikan potensi efek yang merugikan jangka panjang pada lingkungan perairan (Pederson, 1994).

2.4.4.2 Efek LAS terhadap Kesehatan

Beberapa efek LAS terhadap kesehatan antara lain adalah LAS dapat memberikan efek iritasi ringan apabila terpapar LAS selama 24 jam dengan konsentrasi LAS sebesar 1%. Iritasi ringan yang dimaksud berupa delipidasi (penghilangan lemak) pada permukaan kulit, denaturasi protein pada lapisan epidermis luar, dan peningkatan lapisan luar kulit. Dilaporkan

tidak ada luka atau kematian yang terjadi setelah penelanan surfaktan secara tidak sengaja oleh manusia (EHC, 1996).

2.5 Biodegradasi

Biodegradasi yaitu pemecahan senyawa kimia melalui aktifitas metabolik mikroorganisme (Scott & Jones, 2000). Umumnya terjadi karena senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai sumber makanan (substrat). Biodegradasi yang lengkap disebut juga sebagai mineralisasi, dengan produk akhirnya berupa karbon dioksida dan air. Proses ini dipakai dalam pengolahan limbah untuk menjadi CO₂ dan air. Bahan yang mampu dibiodegradasi umumnya memiliki jenis ikatan asetal, amida, atau ester, serta hidrofilitas tinggi.

Sebenarnya lingkungan memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa-senyawa pencemar yang masuk ke dalamnya melalui proses biologis dan kimiawi. Namun, seringkali pencemaran di lingkungan lebih besar dibandingkan dengan kecepatan proses degradasi zat pencemar tersebut secara alami. Akibatnya, zat pencemar akan terakumulasi, apalagi jika kondisi lingkungan tidak menunjang proses degradasi tersebut (sehingga senyawa organik tersebut resisten terhadap biodegradasi).

Terdapat 2 macam biodegradasi, yaitu:

- *Primary biodegradation*, yaitu perubahan struktur (transformasi) surfaktan oleh mikroorganisme berakibat pada penurunan sifat permukaan aktif karena adanya degradasi senyawa induk. Transformasi ini terjadi dengan pembentukan *Sulphophenyl Carboxylates* (SPCs) sebagai senyawa intermediet biodegradasi.
- *Ultimate aerobic biodegradation* (mineralisasi), yaitu tingkatan biodegradasi yang dicapai ketika surfaktan secara total digunakan oleh mikroorganisme dalam kehadiran oksigen yang menyebabkan pemutusan cincin aromatik dan pemecahan surfaktan tersebut menjadi karbon dioksida, air, dan garam mineral dari elemen lain yang terkandung (mineralisasi), serta unsur pokok sel mikrobial baru (biomassa).

Proses biodegradasi dimana limbah organik didegradasi menggunakan organisme hidup pada kondisi yang dikontrol dikenal juga dengan istilah bioremediasi (Vidali, 2001). Umumnya organisme yang digunakan berupa bakteri dan jamur (fungi) atau tanaman untuk mendegradasi atau mendetoksifikasi senyawa berbahaya bagi kesehatan atau lingkungan. Agar bioremediasi menjadi efektif, mikroorganisme harus menyerang polutan secara enzimatik dan mengubahnya menjadi senyawa yang tidak berbahaya. Selain itu, lingkungan harus mendukung pertumbuhan dan aktivitas dari mikroorganisme yang digunakan untuk bioremediasi.

Adapun beberapa kontaminan yang sesuai untuk bioremediasi dapat dilihat dari Tabel 2.2 berikut :

Tabel 2.2 Beberapa Senyawa Kimia yang Sesuai untuk Bioremediasi

Kelas Kontaminan	Contoh Spesifik	Aerobik	Anaerobik	Sumber Potensial Lainnya
Pelarut klorin	Trikloroetilen Perkloroetilen		+	<i>Drycleaner</i> , pabrik kimia
PCBs	4-Klorobifenil 4,4-diklorobifenil		+	Pabrik listrik, pusat listrik, rel kereta api
Fenol Klorin	Pentaklorofenol		+	Pengolahan kayu
BTEX	Benzena Toluena Etilbenzena Xylena	+	+	Produksi dan penyimpanan BBM, pengisian BBM, bandara, pabrik cat, pelabuhan, pabrik kimia
PAHs (<i>Polyaromatic Hydrocarbons</i>)	Naftalena Antrasen Fluoren Pyren Benzo(a)pyren	+		Produksi dan penyimpanan BBM, pengisian BBM, produksi dan penyimpanan tar, pusat listrik

Universitas Indonesia

Pestisida	Atrazine Carbaryl Carbofuran Coumpos Diazinon Glikofosfat Parathion Propham 2,4-D	+	+	Pertanian, pabrik pengolahan kayu, pabrik pestisida, wilayah rekreasi
-----------	---	---	---	---

(Vidali,2001)

Kontrol dan optimisasi dari proses bioremediasi merupakan suatu sistem kompleks dari berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut meliputi: (i) keberadaan populasi mikroorganisme yang mampu mendegradasi polutan, (ii) keberadaan kontaminan pada populasi mikroorganisme, (iii) faktor-faktor lingkungan lainnya seperti tipe tanah, suhu, pH, ketersediaan oksigen atau penerima elektron lainnya, dan nutrisi (Vidali,2001).

Sementara itu pada surfaktan, bioremediasi merupakan transformasi primer yang terjadi di lingkungan (Ying,2006). Tahapan ini adalah tahapan penting dalam proses pengolahan air limbah yang mengandung surfaktan dan untuk mengurangi pengaruh surfaktan yang ada di lingkungan. Selain faktor-faktor dari proses bioremediasi yang telah dijelaskan sebelumnya, pada bioremediasi surfaktan juga terdapat faktor tambahan berupa jenis dari surfaktan yang akan dibioremediasi. Pada Tabel 2.3 berikut ini terdapat kemampuan bioremediasi dari beberapa surfaktan di lingkungan.

Tabel 2.3 Kemampuan Bioremediasi Surfaktan di Lingkungan

Surfaktan	Kondisi Aerobik	Kondisi Anaerobik
LAS (<i>Linear Alkylbenzene Sulfonates</i>)	Dapat terdegradasi	Tetap
SAS (<i>Secondary Alkane Sulfonates</i>)	Mampu didegradasi	Tetap
Sabun	Mampu didegradasi	Mampu didegradasi
Ester Asam Lemak (<i>Fatty Acid Esters/FES</i>)	Mampu didegradasi	Tetap
AS (<i>Alcohol Sulphates</i>)	Mampu didegradasi	Dapat terdegradasi
AES (<i>Alcohol Ether Sulphates</i>)	Mampu didegradasi	Dapat terdegradasi
Surfaktan Kationik	Dapat terdegradasi	Tetap

Universitas Indonesia

APE (<i>Alkylphenol Ethoxylates</i>)	Dapat terdegradasi	Terdegradasi Sebagian
AE (<i>Alcohol Ethoxylates</i>)	Mampu didegradasi	Dapat terdegradasi

(Ying,2006)

2.5.1 Metode Uji Biodegradasi

Uji biodegradasi merupakan dasar perkiraan keadaan senyawa-senyawa kimia di lingkungan. Uji yang telah terstandarisasi digunakan oleh industri, peneliti, dan institusi pendidikan selama bertahun-tahun untuk memperoleh karakteristik senyawa organik sehubungan dengan kemampuan mikroorganisme dalam mendegrasi senyawa organik tersebut di lingkungan. Salah satu metode uji yang dapat digunakan dalam uji biodegradasi secara aerobik adalah *Extension Toxicology Network*, dimana pada metode uji ini pengambilan produk intermediet dibatasi pada waktu tercapai *Degradation Time 50%* (DT_{50}) (Fatisa, 2003).

Selain itu, juga terdapat metode uji *Organization for Economics Cooperation and Development* (OECD) untuk uji bahan kimia yang siap dibiodegradasi (*ready-biodegradability*) berupa seri OECD 301 (OECD, 1992). Uji ini mewakili kelompok internasional yang menggunakan uji biodegradasi, serta memainkan peran penting dalam klasifikasi bahan kimia di Uni-Eropa, dan penilaian paparan dalam proses penilaian resiko lingkungan (Guhl & Steber, 2005).

Salah satu metode uji dalam seri OECD 301 adalah metode OECD 301A. Metode OECD 301A menggambarkan senyawa kimia yang siap dibiodegradasi pada media air aerobik dengan pengukuran karbon organik terlarut (*DOC Die-away*) dalam waktu uji selama 28 hari (OECD, 1992). Karena pengukuran dilakukan pada sisa karbon organik terlarut selama waktu inkubasi, maka metode ini hanya dapat mengukur persentase biodegradasi hingga tingkat biodegradasi primer. Senyawa kimia dapat dikatakan mudah dibiodegradasi apabila 70% senyawa uji telah terdegradasi dalam waktu 10 hari (*10 days window*) selama 28 hari periode uji. Sementara itu, senyawa uji yang

terdegradasi lebih dari 28 hari digolongkan sebagai senyawa yang tidak mudah dibiodegradasi. Metode OECD 301A dapat dilihat pada Lampiran 3.

2.5.2 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi degradasi diantaranya adalah :

- pH
Degradasi xenobiotik di laboratorium umumnya terjadi pada pH sekitar netral. Kecepatan yang bervariasi dan meningkatnya toksisitas pada nilai pH yang berbeda diamati pada proses degradasi pentaklorofenol (PCP).
- Suhu
Kecepatan biodegradasi LAS bergantung pada suhu. Untuk populasi mikrobial yang tidak teraklimasi, kurang dari 25% biodegradasi pada 5°C adalah selama 28 hari uji, sedangkan pada 15, 25, dan 35°C degradasi meningkat kira-kira 90% selama 14 hari. Pada 45°C degradasi hanya 70% yang kemungkinan dikarenakan hilangnya aklimatisasi akibat suhu tinggi. Efek suhu lebih jelas diamati apabila mikroorganisme diaklimatisasikan terlebih dahulu. Di bawah kondisi tersebut tingkat biodegradasi naik dari suhu 15 sampai 35°C. (EHC,1996).
- Ketersediaan Substrat
Ketersediaan substrat dalam media degradasi dipengaruhi beberapa faktor di antaranya: kelarutan senyawa dalam air, interaksi mineral-mineral tanah dengan senyawa organik tanah yang dapat mempengaruhi derajat penyerapan dalam tanah, dan lainnya.
- Nutrisi
Medium tempat dimana organisme hidup harus menyediakan berbagai macam kebutuhan yang diperlukan untuk pertumbuhannya.

Universitas Indonesia

Tidak semua bakteri membutuhkan zat makanan yang sama. Kebanyakan bakteri membutuhkan zat-zat anorganik seperti garam-garam yang mengandung Na, K, Ca, Mg, dan lain-lain. Kecuali zat-zat di atas, bakteri memerlukan juga sumber-sumber makanan yang mengandung C, H, O, N, yang berguna untuk menyusun protoplasma. Di samping itu bakteri masih memerlukan zat-zat tambahan seperti vitamin, asam amino, sel-sel darah merah, dan lainnya.

- **Ketersediaan Oksigen**
Telah diketahui bahwa polutan-polutan organik dapat terdegradasi pada kondisi aerob dan anaerob. LAS mudah didegradasi pada kondisi aerobik, berbagai penelitian menggunakan MBAS maupun metode analisis lainnya seperti HPLC menunjukkan pada berbagai uji OECD, LAS dapat terdegradasi > 99% (HERA,2009). LAS sangat sedikit terdegradasi di bawah kondisi anaerobik. Hal ini dikarenakan rantai alifatik tidak dapat direduksi lebih lanjut dan bakteri anaerobik ditekan pada konsentrasi sulfonat 15g/kg dalam kondisi uji. Dalam reaktor pada konsentrasi tinggi (> 30 g/kg) sodium sulfonat sulit dilarutkan, sehingga mengurangi bioaktivitas. Yang berarti senyawa ini sangat keras (AISE & CESIO,1999).

2.5.3 Parameter Analisis Hasil Biodegradasi

- **pH**
Walaupun medium tertentu cocok untuk permulaan pertumbuhan, perkembangan berikut suatu populasi bakteri mungkin amat dibatasi oleh perubahan kimiawi yang disebabkan oleh pertumbuhan dan metabolisme organisme-organisme itu sendiri. Sebagai contoh, penguraian mikroba atau pemakaian anionik suatu media cenderung membuat media tersebut lebih bersifat basa.

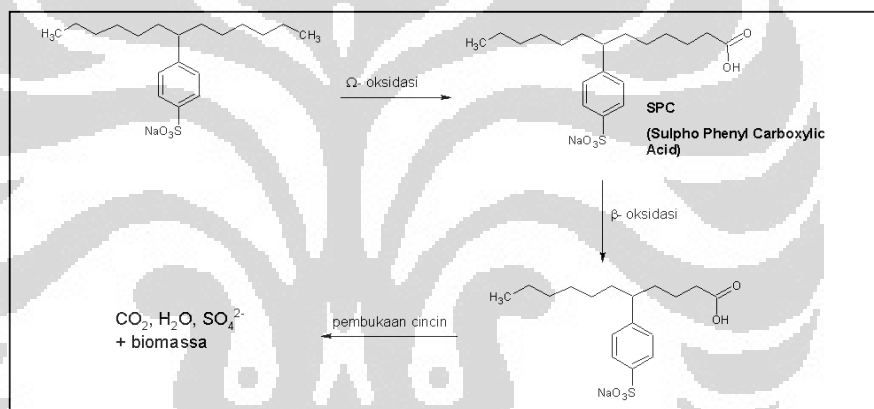
- **Pengukuran Biomassa**
Penurunan kadar limbah yang dapat terdegradasi, biasanya sesuai dengan kenaikan jumlah bakteri yang mampu hidup. Pengukuran biomassa sel bakteri dapat dilakukan dengan mengukur optikal densitas kultur pada panjang gelombang tertentu dengan spektrofotometer UV-Vis. Makin banyak sel bakteri yang tumbuh, makin besar serapan yang terukur.
- **Kadar Konsentrasi Substrat**
Perubahan konsentrasi substrat selama masa inkubasi menunjukkan bahwa telah terjadi metabolisme substrat tersebut oleh inokulum bakteri yang digunakan. Karena biodegradasi merupakan proses alami dimana senyawa dipecah atau dikonversikan ke bentuk senyawa yang lebih sederhana di lingkungan, maka dalam proses ini terjadi penurunan konsentrasi senyawa induk menjadi produk lain.

2.5.4 Biodegradasi *Linear Alkylbenzene Sulfonates* (LAS)

Pada surfaktan anionik, gugus alkil mengandung banyak jenis struktur yang berbeda. Hal ini mempengaruhi proses biodegradasi. Hadirnya sebuah atom karbon kuarterner dalam rantai alkil dapat menghambat proses biodegradasi karena sebuah atom hidrogen tidak tersedia bagi β - oksidasi. Selain itu, juga ditemukan bahwa percabangan rantai alkil menghasilkan penambahan ketahanan terhadap biodegradasi. Salah satu contohnya adalah *alkylbenzene sulfonates* (ABS) dimana surfaktan ini memiliki gugus alkil bercabang yang sulit didegradasi oleh mikroorganisme sehingga digolongkan sebagai “senyawa keras”. Oleh karena itu surfaktan pada deterjen kemudian digantikan dengan *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) yang memiliki rantai lurus dan digolongkan sebagai “senyawa lunak”.

Pada kondisi aerobik mekanisme pemecahan LAS melibatkan degradasi dari rantai alkil lurus, gugus fungsi sulfonat dan cincin benzena. Pemecahan rantai alkil dimulai dengan oksidasi dari gugus metil terminal

(ω -oksidasi) menjadi alkohol, aldehid, dan asam karboksilat. Enzim yang mengkatalisis proses ini adalah alkana monooksigenase dan dua dehidrogenase. Asam karboksilat kemudian mengalami β -oksidasi dan pecahan dua karbon memasuki siklus asam lemak menjadi asetil Ko-A. Pada proses ini muncul masalah dengan biodegradasi rantai alkil bercabang karena sisi rantai yang mengandung gugus metil atau rantai cabang dimetil tidak dapat mengalami β -oksidasi oleh mikroorganisme dan harus didegradasi dengan menghilangkan satu atom karbon (α -oksidasi). Gugus sulfonat pada LAS dipecah menjadi sulfit yang kemudian dioksidasi menjadi sulfat di lingkungan. Sementara oksidasi oleh mikroorganisme untuk asam fenilasetat menghasilkan asam fumarat dan asetoasetat. Selain itu, benzena dapat dikonversi menjadi katekol (Scott & Jones, 2000).



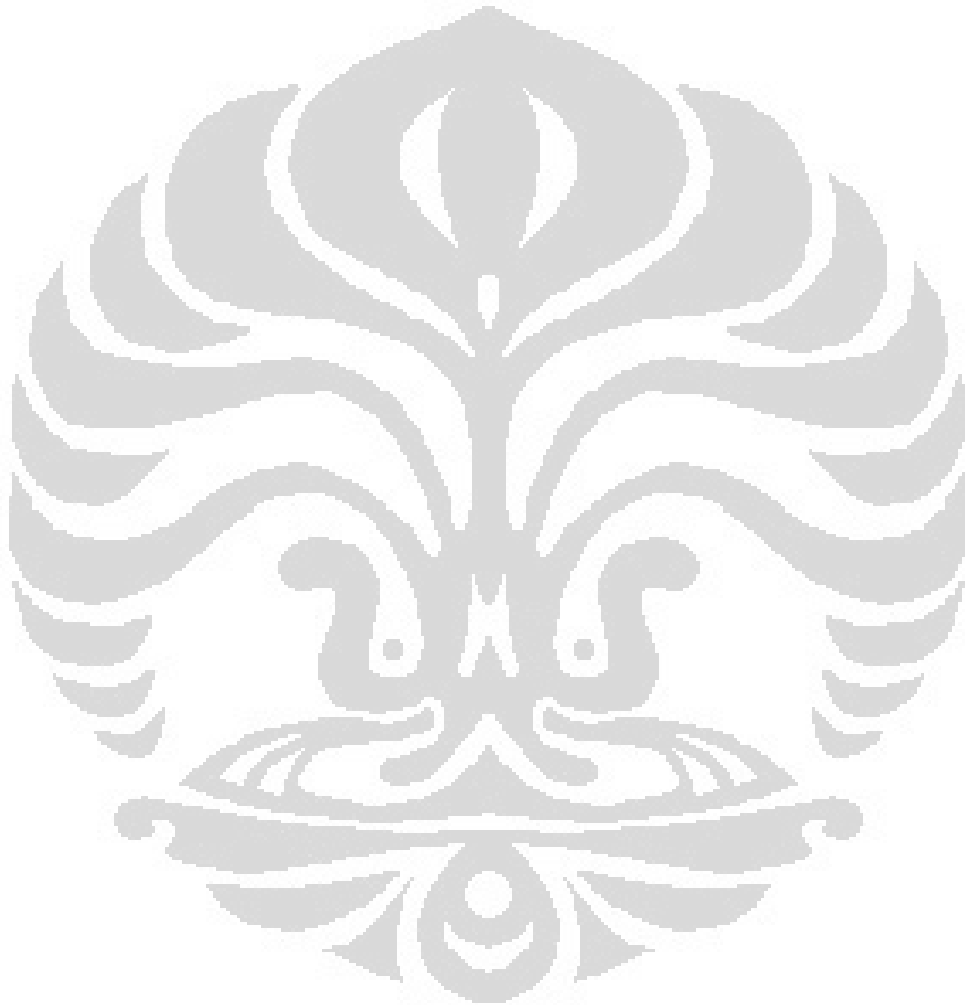
Gambar 2.14 Jalur Biodegradasi Aerobik LAS

[Mungray & Kumar, 2009]

Waktu paruh biodegradasi LAS adalah 1-8 hari pada air sungai, 1-2 hari pada sedimen, dan 5-10 hari pada air laut. Laju biodegradasi dipengaruhi oleh suhu dimana biodegradasi berlangsung dengan cepat pada suhu antara 10-25°C, pada suhu yang lebih rendah kinetika biodegradasi menurun yang berhubungan dengan aktivitas mikroorganisme. LAS tidak hilang selama proses anaerobik tetapi dapat hilang dengan pengolahan secara aerobik dengan waktu paruh sekitar 10 hari. Aplikasi pada lumpur hingga tanah secara umum menghasilkan sekitar 90 % degradasi selama tiga bulan dengan waktu paruh sekitar 5-30 hari (Jensen, 1998).

Universitas Indonesia

Dalam biodegradasi, LAS membutuhkan keberadaan komunitas beberapa spesies bakteri termasuk *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* spp., an *Acinetobacter* sp.(Hosseini *et al.*,2007) dengan hasil degradasi utama mencapai 90% pada hari ketujuh (EHC,1996). Serangan awal yang membuka cincin aromatik merupakan langkah pembatas untuk biodegradasi akhir; setelah cincin terbuka, proses degradasi menjadi cepat.



Universitas Indonesia

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

- a. Pengambilan contoh uji dilakukan di Situ Universitas Indonesia (UI), Kampus UI Depok, Depok,
- b. Isolasi dan identifikasi bakteri dari contoh uji sedimen Situ UI dilakukan di Laboratorium Institut Pertanian Bogor *Culture Collection* (IPBCC), Bogor,
- c. Pengukuran konsentrasi dan uji biodegradasi *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) dilakukan di Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Universitas Indonesia.

3.2 Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : spektrofotometer *Infra Red* (IR), spektrofotometer UV-Vis, alat sentrifugasi, *shaking machine* (*shaker*), autoklaf, jarum ose, corong pisah 100 mL, pH meter dan peralatan gelas lainnya.

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Kimia

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS), digunakan pula bahan-bahan kimia yang berkualitas pro analis dari Merck, yaitu KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NH_4Cl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, garam dinatrium EDTA, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, larutan indikator fenolftalin 0,5 % , NaOH , H_2SO_4 , biru metilen (*methylen blue*) , kloroform , KMnO_4 , $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, AgNO_3 , serta bahan berkualitas pro analis dari Oxion berupa nutrient agar (NA).

3.3.2 Bahan Biologi

Bakteri *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp. B, dan bakteri C (kultur bakteri dengan koloni terbanyak dalam contoh sedimen) (bakteri diperoleh dalam bentuk terinokulasi dari IPBCC yang merupakan hasil isolasi dari sedimen Situ Agathis Universitas Indonesia).

3.3.3 Contoh Uji

Contoh uji untuk uji pendahuluan adalah contoh air Situ Kenanga, Agathis, Mahoni, Puspa, Ulin, dan Salam di Universitas Indonesia. Selain itu, untuk proses isolasi bakteri diambil contoh sedimen Situ Agathis.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Verifikasi Metode MBAS (*Methylen Blue Active Substances*)

Sebelum metode MBAS digunakan untuk analisis kadar LAS pada contoh uji perlu dilakukan verifikasi metode. Verifikasi metode ini dilakukan dengan cara membuat kurva standar dengan konsentrasi LAS 0,05 ; 0,1; 0,5 ; 1; 2,5 ; 3; 4; dan 5 mg/L. Berdasarkan kurva standar tersebut dapat ditentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dari metode MBAS. Selanjutnya ditentukan koefisien variasi dari alat yang digunakan yaitu Spektrofotometer UV-Vis *Genesys* 20 dengan pengulangan pengukuran pada konsentrasi LAS yang sama sebanyak empat kali.

3.3.1.1 Analisis MBAS

a. Persiapan Pengujian

a.1. Pembuatan larutan biru metilen

100 mg biru metilen dilarutkan dalam 100 mL aquades dan dihomogenkan. 30 mL larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL, kemudian ditambahkan 500 mL aquades, 41 mL H₂SO₄ 6N dan 50 g natrium fosfat monohidrat (NaH₂PO₄.H₂O) dikocok hingga larut sempurna lalu ditambahkan aquades hingga tepat tanda tara dan dihomogenkan.

Universitas Indonesia

a.2. Pembuatan larutan pencuci

41 mL H_2SO_4 6 N diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL yang berisi 500 mL aquades. 50 g natrium dihidrogen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ditambahkan dan dikocok hingga larut sempurna kemudian ditambahkan aquades hingga tepat tanda tara dan dihomogenkan.

b. Metode MBAS

Sebanyak 2,5 mL larutan LAS standar dan contoh uji dipipet masing-masing ke dalam labu ekstraksi yang berbeda. pH larutan diatur dengan penambahan NaOH 0,02 N ditambah dengan indikator phenoftalein (PP) hingga timbul warna lembayung, kemudian ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 0,02N hingga warna lembayung hilang. Ditambahkan 1 mL kloroform dan 1 mL reagen biru metilen ke dalam labu ekstraksi dan diekstrak selama 2 menit. Setiap fase dibiarkan terpisah, kemudian pindahkan fasa organik ke labu ekstraksi lain. Fasa air diekstraksi kembali sebanyak 2 kali menggunakan 1 mL kloroform setiap pengulangan. Lalu, ditambahkan 5 mL larutan pencuci pada fasa organik di labu ekstraksi kedua dan diekstraksi selama 2 menit. Fasa air diekstraksi kembali sebanyak 2 kali menggunakan 2 mL kloroform setiap pengulangan. Fasa organik akhir diukur absorbansinya pada panjang gelombang 652 nm.

3.4.2 Pengambilan Contoh Air dari Situ Universitas Indonesia

Contoh air diambil pada Situ Kenanga, Situ Agathis, Situ Mahoni, Situ Puspa, Situ Ulin, dan Situ Salam di Universitas Indonesia. Lokasi pengambilan contoh uji berjumlah empat titik yaitu satu titik di hulu, dua titik di tengah, dan satu titik di hilir situ. Contoh uji yang diambil

kemudian disimpan pada suhu 4°C dengan waktu simpan maksimum \pm 2 hari. Uji konsentrasi LAS dilakukan dengan menggunakan metode MBAS.

3.4.3 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi LAS

Sedimen untuk isolasi bakteri diambil dari titik dengan konsentrasi LAS tertinggi pada pengambilan contoh air. Bakteri pada contoh sedimen yang diambil, diisolasi dan dikarakterisasi oleh IPBCC. Kultur bakteri yang diambil adalah bakteri *Pseudomonas* spp. dan kultur bakteri dengan koloni terbanyak pada contoh sedimen. Kemudian, kultur tersebut digunakan pada langkah selanjutnya.

3.4.4 Kultivasi Mikroorganisme

Ke dalam labu erlenmeyer yang telah berisi medium uji + LAS (konsentrasi 2, 5, dan 10 mg LAS/L) dan larutan blanko, masing-masing ditambahkan bakteri *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp.B, dan bakteri dengan koloni terbesar (bakteri C). Kemudian semua larutan diinkubasi pada suhu kamar dengan laju pengocokan 200 rpm. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri dengan mengukur nilai optikal densitasnya menggunakan spektroskopi sinar tampak pada panjang gelombang 600 nm.

3.4.5 Pengujian Kemampuan Isolat untuk Perlakuan Biodegradasi LAS

Pengujian kemampuan isolat untuk perlakuan biodegradasi selanjutnya adalah terhadap media mineral yang mengandung konsentrasi LAS dengan pertumbuhan bakteri yang paling optimum dari hasil kultivasi mikroorganisme.

3.3.5.1 Penentuan Biomassa Bakteri

Pertumbuhan bakteri diamati dengan mengukur optikal densitas menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang, $\lambda=600$ nm. Selanjutnya biomassa dan sampel dipisahkan dari supernatannya dengan cara sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 16.000 rpm.

Universitas Indonesia

3.3.5.2 Penentuan Biodegradasi LAS

a. Pembuatan larutan *stock*

a) Pembuatan 100 mL larutan *stock* A

Sebanyak 0,85 g KH_2PO_4 ; 0,1 g K_2HPO_4 ; 3,34 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; 0,05 g NH_4Cl dicampur dan dilarutkan dalam aquades, pH diatur hingga $7,4 \pm 0,1$ dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda tara.

b) Pembuatan 100 mL larutan *stock* B

Sebanyak 2,75 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda tara.

c) Pembuatan 100 mL larutan *stock* C

Sebanyak 2,25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda tara.

d) Pembuatan 100 mL larutan *stock* D

Sebanyak 0,025 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda tara.

Catatan: untuk mencegah pembuatan larutan sesaat sebelum digunakan, ditambahkan satu tetes HCl pekat atau 0,4 g garam dinatrium EDTA per liter

b. Pembuatan media mineral sebagai media pertumbuhan bakteri

10 mL larutan *stock* A dicampurkan dengan 800 mL aquades, larutan tersebut ditambahkan dengan 1 mL larutan *stock* B, C, dan D kemudian ditambahkan aquades hingga volume mencapai 1 L.

c. Inkubasi bakteri dalam larutan uji

Sebanyak 6 erlenmeyer disterilkan, kemudian kepada masing-masing erlenmeyer disiapkan larutan uji yang terdiri atas larutan standar, media mineral dan inokulum bakteri sebagaimana dideskripsikan pada Tabel 3.1 di bawah ini :

Tabel 3.1 Tabel Uji Biodegradasi

Nomor Sampel	Isi
1	100 mL larutan yang mengandung media mineral dan larutan standar LAS hingga mencapai konsentrasi LAS 2 mg/L kemudian ditambahkan dengan 1 mL inokulum mikroba
2	100 mL larutan yang mengandung media mineral dan larutan standar LAS hingga mencapai konsentrasi LAS 2 mg/L kemudian ditambahkan dengan 1 mL inokulum mikroba
3 (blanko inokulum)	100 mL media mineral ditambahkan dengan 1 mL inokulum mikroba
4 (kontrol steril abiotik)	100 mL larutan yang mengandung media mineral dan larutan standar LAS hingga mencapai konsentrasi LAS 2 mg/L kemudian ditambahkan dengan toluena.
5 (kontrol steril abiotik)	100 mL larutan yang mengandung media mineral dan larutan standar LAS hingga mencapai konsentrasi LAS 2 mg/L kemudian ditambahkan dengan toluena.

Ket : semua larutan yang digunakan disterilisasi

d. Pengambilan contoh uji untuk Analisis MBAS (*Methylene Blue Active Substances*)

Pengujian konsentrasi karbon organik terlarut dilakukan dengan mengambil aliquot sebanyak ± 6 mL dari setiap tabung erlenmeyer untuk pengukuran karbon organik terlarut untuk pengujian masa inkubasi ke-0. Pengambilan larutan uji dilakukan pada hari inkubasi ke-0, 3, 7, 14, 21, dan 28.

Analisis MBAS (*Methylene Blue Active Substances*) dilakukan segera setelah pengambilan contoh uji. Bila contoh uji tidak segera dianalisis, dapat disimpan pada suhu 4°C untuk waktu simpan selama 2 hari, untuk waktu yang lebih lama contoh uji dapat disimpan pada suhu -18°C.

- e. Perhitungan persentase pengurangan kadar karbon organik terlarut

Perhitungan persentase pengurangan kadar karbon organik terlarut pada setiap sample uji dilakukan dengan persamaan:

$$D_t = \left[1 - \frac{(C_t - C_{b(t)})}{(C_o - C_{b(o)})} \right] \times 100 \dots\dots\dots (3.1)$$

dimana :

D_t = % degradasi pada waktu t

C_o = rerata tingkat karbon organik terlarut waktu 0 di tabung Erlenmeyer No. 1 dan 2

C_t = rerata tingkat karbon organik terlarut pada waktu t di tabung Erlenmeyer No. 1 dan 2

$C_{b(0)}$ = tingkat karbon organik pada blanko atau di tabung Erlenmeyer No.3 pada waktu 0

$C_{b(t)}$ = tingkat karbon organik pada blanko atau di tabung Erlenmeyer No.3 pada waktu t

Tingkat biodegradasi adalah persentase pengurangan kadar karbon organik.

Setelah perhitungan dibuat tabel biodegradasi sebagai fungsi dari waktu dan kurva kemudian digambarkan berdasarkan tabel tersebut.

- f. Perhitungan persentase kontrol steril abiotik dan kontrol adsorpsi

$$\% \text{ Degradasi Abiotik} = \left[\frac{C_{a(0)} - C_{a(t)}}{C_{a(0)}} \right] \times 100 \dots\dots\dots(3.2)$$

dimana :

$C_{a(0)}$ = tingkat karbon organik terlarut waktu 0 di tabung Erlenmeyer No. 4, 5, & 6

$C_{a(t)}$ = tingkat karbon organik terlarut waktu t di tabung Erlenmeyer No. 4, 5 & 6

3.4.6 Identifikasi Senyawa Intermediet Hasil Degradasi

Identifikasi produk intermediet hasil degradasi LAS dilakukan dengan spektrofotometer infra merah pada hari ke-7, 10, 14, dan 28.

3.4.7 Penentuan besar TOC (Total Organic Carbon) pada Contoh Uji Hari ke-28 (Metode Permanganometri)

3.3.7.1 Persiapan Pengujian

- a. Pembuatan larutan KMnO_4 0,025 N
0,79 g KMnO_4 dilarutkan didalam aquades dan ditepatkan pada labu ukur 1000 mL.
- b. Pembuatan larutan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,025 N
1,675 g $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ dilarutkan didalam aquades dan ditepatkan pada labu ukur 1000 mL.

3.3.7.2 Pengujian

- a. Penetapan Faktor Permanganat
Sebanyak 25 mL larutan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,025N dipipet ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan 100 mL aquades, 10 mL H_2SO_4 : air (1 : 2), dan 22 mL larutan

Universitas Indonesia

KMnO₄ 0,025 N. Lalu Erlenmeyer tersebut dipanaskan pada suhu 60°-70°C selama 10 menit dan dititrasi dengan larutan KMnO₄ hingga berwarna merah jambu.

b. Penetapan TOC dalam Contoh Uji

Sebanyak 10 mL sampel dan blanko dipipet ke Erlenmeyer 250 mL yang berbeda. Lalu ditambahkan dengan 100 mL aquades, 10 mL H₂SO₄ : air (1 : 2), 5 mL AgNO₃ 0,2 N dan 10 mL KMnO₄ 0,025 N. Kemudian dipanaskan pada suhu 60°-70°C selama 30 menit. Setelah pemanasan ditambahkan dengan 10 mL Na₂C₂O₄ 0,025N dan dititrasi dengan larutan KMnO₄ 0,025 N hingga berwarna merah jambu.

3.3.7.3 Penentuan Nilai TOC (Total Organic Carbon)

a. Penetapan Faktor Permanganat

$$F = a \times \frac{25}{250} \times \frac{b}{100} \times \frac{1}{v \times 0,001675} \dots \dots \dots (3.3)$$

dimana :

- a = massa dari Na₂C₂O₄ (g)
- b = purity/ kemurnian dari Na₂C₂O₄
- v = volume dari KMnO₄ 0,025 N (mL)

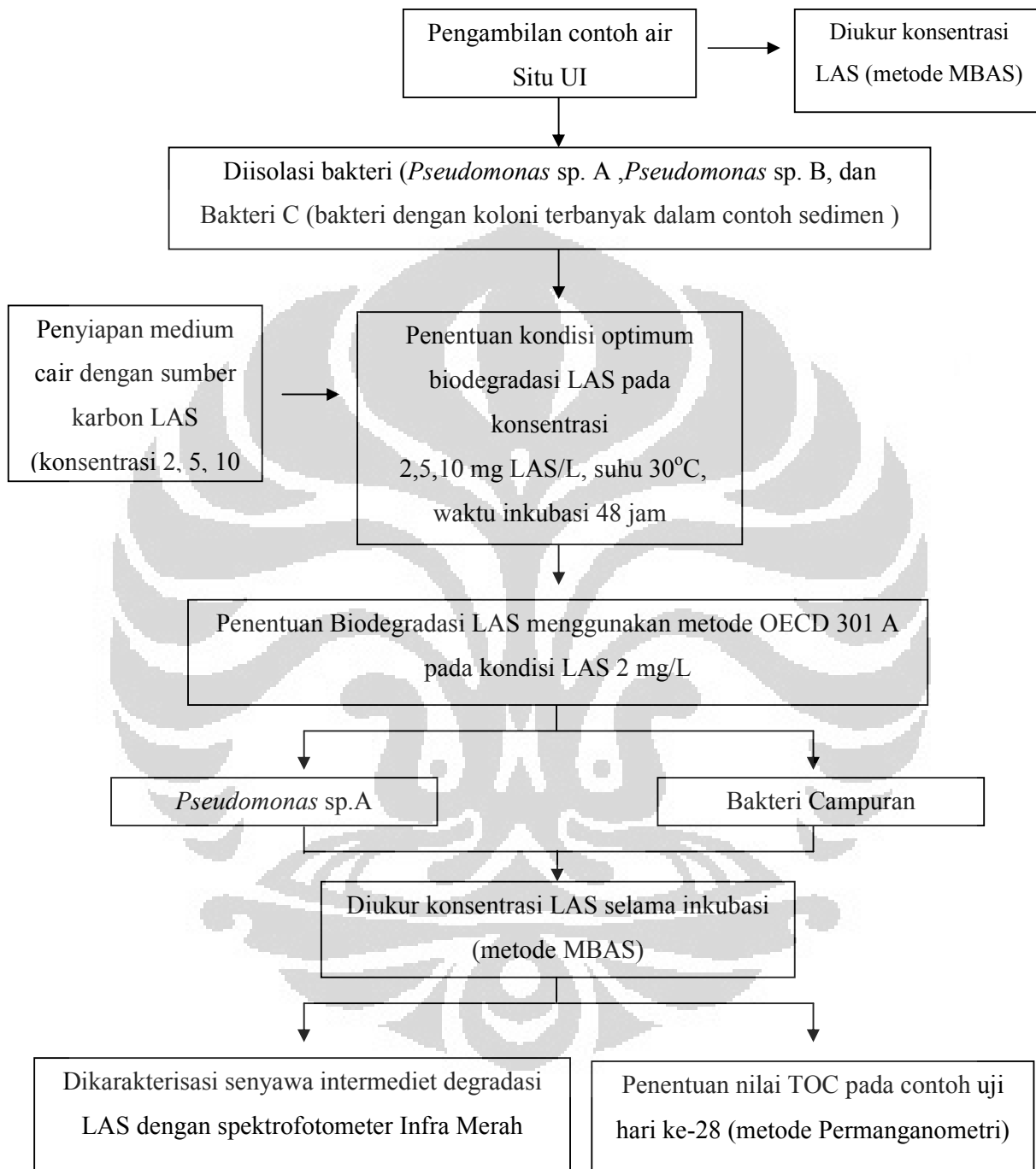
b. Penetapan TOC dalam Contoh Uji

$$TOC (mg/L) = (a - b) \times f \times \frac{1000}{v} \times 0,2 \dots \dots \dots (3.4)$$

dimana :

- a = volume KMnO₄ yang digunakan untuk contoh uji (mL)
- b = volume KMnO₄ yang digunakan untuk blanko (mL)
- v = volume larutan sampel (mL)
- f = faktor dari larutan KMnO₄

3.5 Skematik Prosedur Kerja



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui waktu dan kemampuan biodegradasi (biodegradabilitas) mikroorganisme dari situ Universitas Indonesia (UI) terhadap surfaktan *linear alkylbenzene sulfonates* (LAS) serta mengidentifikasi senyawa hasil biodegradasi LAS secara kualitatif dan kuantitatif. Untuk itu dilakukan pengukuran perubahan konsentrasi LAS selama proses degradasi. Pengukuran perubahan konsentrasi LAS didasari oleh adanya konsumsi substrat oleh bakteri, sehingga LAS sebagai substrat akan mengalami penurunan konsentrasi selama masa inkubasi.

Bakteri yang akan digunakan dalam biodegradasi LAS diperoleh dari situ UI yang memiliki kadar LAS tertinggi. Oleh karena itu, dilakukan analisis kadar LAS terhadap enam situ di UI yaitu Situ Kenanga, Agathis, Mahoni, Puspa, Ulin, dan Salam.

Pengambilan produk intermediet dan pengukuran konsentrasi LAS dibatasi selama 28 hari uji. Hal ini mengikuti metode *Organization for Economic Cooperation and Development 301 A* (OECD, 1992), yang menggambarkan senyawa kimia yang mudah dibiodegradasi pada media air aerobik dengan pengukuran karbon organik terlarut (*DOC Die-away*). Karbon organik terlarut yang digunakan pada penelitian ini berupa *linear alkylbenzene sulfonate* (LAS). Karena pengukuran dilakukan pada sisa LAS selama waktu inkubasi maka metode ini hanya dapat mengukur persentase biodegradasi hingga tingkat biodegradasi primer. Senyawa kimia dapat dikatakan mudah dibiodegradasi apabila 70% senyawa uji telah terdegradasi dalam waktu 10 hari (*10 days window*) selama 28 hari periode uji. Sementara itu, senyawa uji yang terdegradasi lebih dari 28 hari digolongkan sebagai senyawa yang tidak mudah dibiodegradasi.

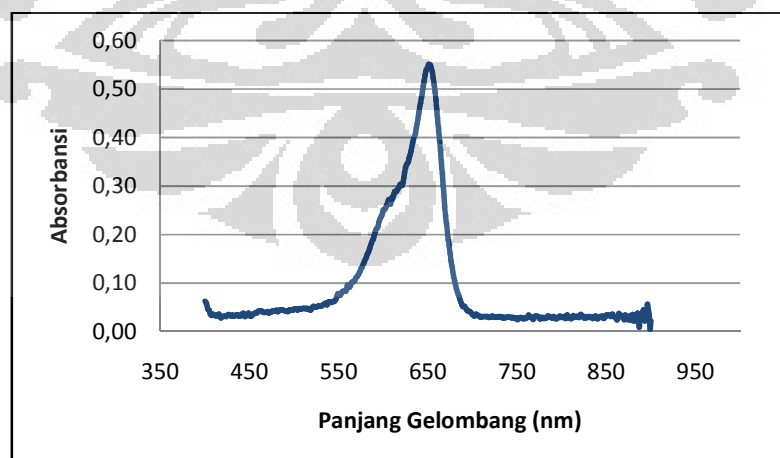
Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan di atas, maka penelitian ini dibagi menjadi lima tahapan, tahap pertama adalah verifikasi metode MBAS yang akan digunakan untuk pengukuran konsentrasi LAS pada contoh air di Situ UI. Tahap kedua berupa pengambilan contoh air di Situ UI yang dilakukan dengan tujuan

untuk memperoleh lokasi pengambilan isolasi bakteri, tahap ketiga adalah uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri hasil isolasi yang paling optimal dalam mendegradasi LAS serta kondisi optimumnya, tahap keempat adalah penentuan biodegradasi LAS selama 28 hari dengan jendela 10 hari (*10-days window*), dan tahap kelima adalah identifikasi produk intermediet hasil biodegradasi. Selain itu juga ditentukan besar karbon organik total (TOC/ *Total Organic Carbon*) di dalam contoh uji pada hari ke-28 untuk mengetahui apakah LAS telah terbiodegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana.

4.1 Verifikasi Metode

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan dalam pengukuran kadar LAS dalam contoh air, salah satunya adalah dengan menggunakan metode *Methylen Blue Active Substances* (MBAS). Prinsip dasar dari metode ini adalah pembentukan kompleks *Methylen Blue-LAS* (MB-LAS) yang dapat terdistribusi ke fasa organik berupa kloroform. Selanjutnya fasa organik yang mengandung kompleks MB-LAS tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang sinar tampak.

Pada metode ini, ditentukan terlebih dahulu panjang gelombang maksimum dari kompleks *Methylen Blue-LAS* (MB-LAS). Sehingga diperoleh spektrum pada Gambar 4.1 berikut :



Gambar 4.1 Spektrum Kompleks MB-LAS

Berdasarkan Gambar 4.1 di atas, ditentukan panjang gelombang maksimum dari kompleks MB-LAS adalah 652 nm. Sehingga, untuk analisis selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi untuk penentuan konsentrasi LAS pada panjang gelombang 652 nm. Kemudian, pada panjang gelombang yang sama dibuat kurva standar dari konsentrasi LAS yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Kurva standar yang diperoleh memiliki regresi linear sebesar 0,995.

Berdasarkan kurva standar tersebut, dilakukan penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dari metode MBAS yang menggunakan spektrofotometer UV-Vis Genesys 20 sebagai instrumennya. Dari pengolahan data yang dapat dilihat pada Lampiran 4, diperoleh batas deteksi sebesar 0,010 mg/L dan batas kuantifikasi sebesar 0,040 mg/L. Selain itu, untuk mengetahui kestabilan dari instrumen yang digunakan, maka dilakukan perhitungan koefisien variasi (KV) dimana dilakukan empat kali pengulangan pada konsentrasi LAS yang sama. Presisi dari data yang diperoleh sangat baik karena KV yang diperoleh kurang dari 2 %, sehingga dapat disimpulkan bahwa instrumen yang digunakan stabil.

4.2 Pengambilan Contoh Air dari Situ UI

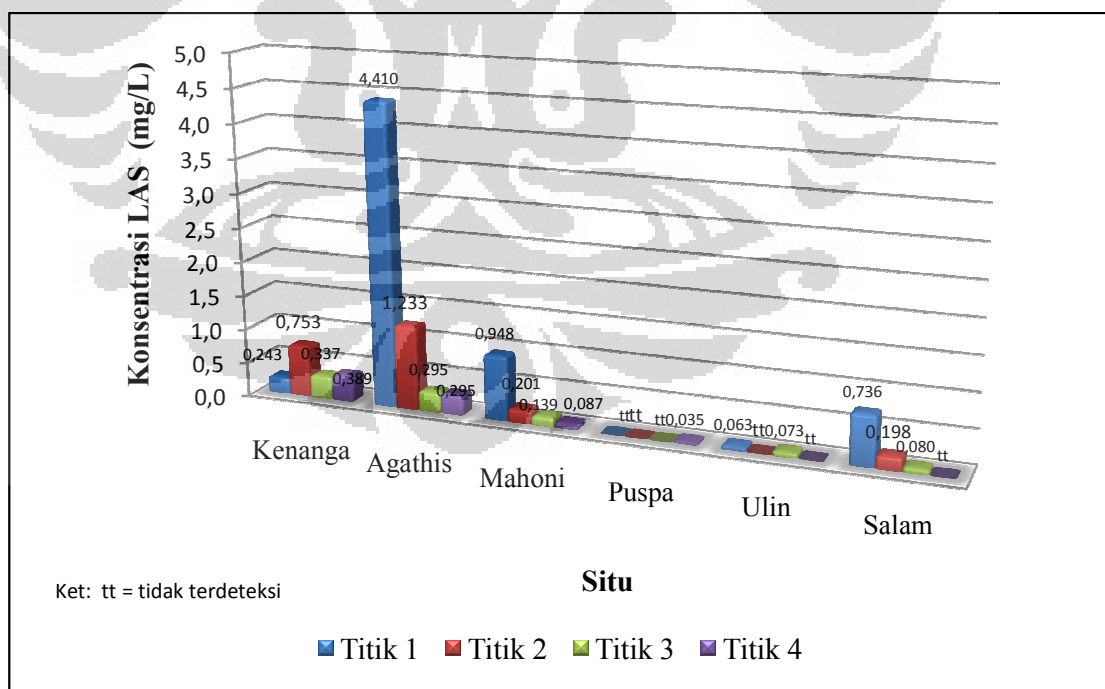
Analisa kadar LAS pada contoh air dari Situ UI dilakukan untuk mengetahui lokasi pengambilan sedimen pada situ yang akan diisolasi bakterinya. UI memiliki enam situ yaitu Situ Kenanga, Agathis, Mahoni, Puspa, Ulin dan Salam. Lokasi dari keenam situ tersebut dapat dilihat di Lampiran 1.

Pengambilan contoh air pada setiap situ dilakukan pada empat titik yaitu satu titik di hulu situ (titik 1), dua titik di tengah situ (titik 2 dan titik 3), dan satu titik di hilir situ (titik 4). Contoh air kemudian dianalisa kadar LAS-nya dengan menggunakan metode *Methylen Blue Active Substances* (MBAS). Lokasi pengambilan contoh air di Situ Kenanga UI dapat dilihat dari Gambar 4.2, untuk lokasi pengambilan contoh air pada kelima situ lainnya dapat dilihat pada Lampiran 5 .



Gambar 4.2 Lokasi Pengambilan Contoh Air di Situ Kenanga UI

Setelah dilakukan analisis pada setiap titik, contoh air dengan kadar LAS paling tinggi diperoleh di dua titik di Situ Agathis dengan konsentrasi sebesar 4,410 mg/L dan 1,233 mg/L. Oleh karena itu, pada titik yang sama dilakukan pengujian kembali kadar LAS dalam contoh air dan isolasi bakteri dari cuplikan sedimen. Sehingga diperoleh konsentrasi LAS sebesar 3,257 mg/L dan 1,229 mg/L pada saat pengambilan contoh sedimen. Gambar 4.3 menunjukkan perbandingan konsentrasi LAS pada keenam Situ UI. Data keseluruhan hasil uji contoh air di Situ UI dapat dilihat di Lampiran 6.



Gambar 4.3 Grafik Konsentrasi LAS di Situ UI

Konsentrasi LAS di lingkungan dapat bervariasi secara luas. Variasi ini disebabkan adanya perbedaan metoda analitik yang digunakan, karakteristik daerah pengambilan sampel, perbedaan musim/iklim, dan konsumsi LAS. Berdasarkan Gambar 4.3, dapat diamati bahwa terdapat perbedaan kadar LAS di setiap titik pada keenam situ di UI. Hal ini disebabkan adanya perbedaan keadaan lingkungan pada setiap contoh uji yang diambil di titik-titik tertentu. Kondisi lokasi dengan konsentrasi LAS tertinggi yaitu di Situ Agathis UI menunjukkan laju alir yang rendah dan berada paling dekat dengan pemukiman penduduk yang merupakan sumber dari limbah domestik seperti deterjen. Oleh karena itu, LAS cenderung terakumulasi di titik tersebut, sementara pada lokasi pengambilan contoh air lainnya laju alir lebih tinggi dan berada lebih jauh dari pemukiman penduduk.

Situ Agathis termasuk ke dalam air permukaan dimana LAS yang terdapat di dalamnya merupakan limbah cair yang belum diolah. Berdasarkan data pengambilan contoh air di Situ UI diketahui sebagian besar air pada lokasi pengambilan contoh uji mengandung LAS dan konsentrasi LAS tertinggi adalah 4,410 mg/L serta 1,233 mg/L pada Situ Agathis. Nilai tersebut melebihi kriteria mutu air kelas II pada PP No.82 Tahun 2001 dimana kadar surfaktan dalam MBAS maksimum 200 µg/L atau setara dengan 0,200 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar situ di UI tidak memenuhi kriteria mutu air dan melebihi batas maksimum kadar surfaktan. Namun, untuk memperoleh analisis yang lebih baik dalam penilaian kualitas air di keenam Situ UI sebaiknya dilakukan uji yang bersifat berkelanjutan (*continous*) bukan hanya uji sesaat seperti yang dilakukan pada penelitian ini. Adapun kriteria mutu air berdasarkan kelas pada PP No.82 Tahun 2001 dapat dilihat pada lampiran 7.

LAS merupakan salah satu komponen pada deterjen, sehingga hasil uji konsentrasi LAS pada Situ Agathis mengindikasikan bahwa terdapat limbah cair berupa deterjen. Namun, selain LAS pada deterjen juga terdapat beberapa komponen lain diantaranya adalah fosfat yang berfungsi sebagai *builder* (bahan pendukung). Oleh karena itu, konsentrasi deterjen juga dapat dilihat dari konsentrasi fosfat. Salah satu indikasi adanya konsentrasi fosfat yang tinggi adalah dengan pertumbuhan eceng gondok secara cepat di permukaan situ. Hal

inilah yang terjadi di Situ Agathis, sehingga dapat menguatkan fakta bahwa terdapat konsentrasi deterjen dengan kata lain LAS yang cukup besar di situ tersebut.

Contoh sedimen dari Situ Agathis kemudian diisolasi bakterinya oleh IPBCC dan bakteri yang diisolasi diprioritaskan berupa bakteri *Pseudomonas* spp. dan bakteri dengan koloni terbanyak dalam contoh sedimen. Pemilihan ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa dalam biodegradasi, LAS membutuhkan keberadaan komunitas beberapa spesies bakteri termasuk *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* spp., and *Acinetobacter* sp. (Hosseini *et al.*, 2007) dengan hasil degradasi utama mencapai 90% pada hari ketujuh (EHC, 1996). Selain itu, *Pseudomonas* spp. merupakan salah satu bakteri yang umum digunakan dalam bioremediasi hidrokarbon karena bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk mendegradasi rantai alifatik maupun aromatik (Kardena dan Suhardi, 2001). Hal ini sesuai dengan struktur LAS yang memiliki rantai alkil lurus, gugus fungsi sulfonat dan cincin benzena dan degradasi LAS secara aerobik melibatkan pemecahan struktur tersebut.

Akan tetapi, pada lingkungan tidak hanya terdapat satu jenis bakteri saja melainkan terdiri dari berbagai jenis bakteri. Oleh sebab itu, akan terjadi interaksi simbiosis, amensialisme dan predasi di dalamnya (Diswanto & Kardena, 2010). Keberadaan bakteri dengan koloni terbanyak menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam beradaptasi pada lingkungan yang ada dibandingkan dengan koloni bakteri lain di dalam contoh uji. Karena di dalam contoh uji terdapat konsentrasi LAS yang cukup besar, maka ada kemungkinan bakteri dengan koloni terbanyak tersebut mampu memanfaatkan LAS sebagai sumber karbon dibandingkan bakteri lainnya sehingga dapat bertahan. Dengan alasan tersebut, maka selain bakteri *Pseudomonas* spp., isolasi bakteri pada contoh uji juga diprioritaskan pada bakteri dengan koloni terbanyak dalam contoh sedimen (dominan).

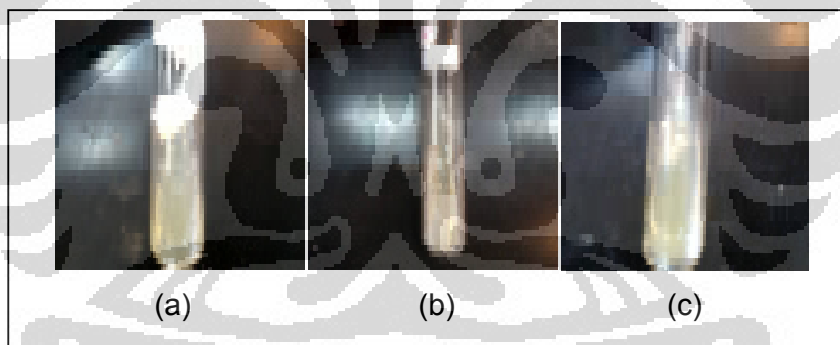
Hasil isolasi menunjukkan pada contoh uji terdapat bakteri-bakteri yang diinginkan yaitu berupa *Pseudomonas* spp. dan bakteri dominan. Dimana pada setiap gram sedimen terdapat $8,40 \times 10^4$ sel bakteri *Pseudomonas* spp./gram

sedimen dan $4,87 \times 10^5$ sel bakteri koloni terbanyak/gram sedimen dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Laporan hasil isolasi dapat dilihat pada Lampiran 8.

Bakteri-bakteri hasil isolasi tersebut terdiri dari dua isolat bakteri *Pseudomonas* spp. dan satu isolat bakteri dominan. Perbedaan antara kedua jenis bakteri *Pseudomonas* spp. dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi dari koloni yang terbentuk. Sehingga untuk selanjutnya diberikan label kepada ketiga bakteri tersebut dengan label sebagai berikut :

1. Bakteri *Pseudomonas* yang membentuk koloni berwarna kuning disebut bakteri *Pseudomonas* sp. A
2. Bakteri *Pseudomonas* yang membentuk koloni berwarna putih disebut *Pseudomonas* sp. B
3. Bakteri koloni terbanyak dalam contoh sedimen yang membentuk koloni berwarna putih disebut bakteri C

Ketiga bakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan selanjutnya digunakan sebagai bakteri pendegradasi LAS dalam uji biodegradasi LAS.



Gambar 4.4 Isolat Bakteri dari Situ Agathis (a) *Pseudomonas* sp. A, (b) *Pseudomonas* sp. B, (c) Bakteri C

4.3 Uji Pendahuluan Bakteri Pendegradasi LAS

Untuk melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi LAS maka dapat dilakukan dengan mengamati kenaikan biomassa terhadap pertumbuhan koloni-koloni pada media uji dengan konsentrasi 2, 5, dan 10 mg/L. Kenaikan biomassa diamati melalui pengukuran absorbansi terhadap nilai optikal densitas bakteri

pada setiap waktu *sampling*. Analisis dilakukan pada panjang gelombang maksimum 600 nm.

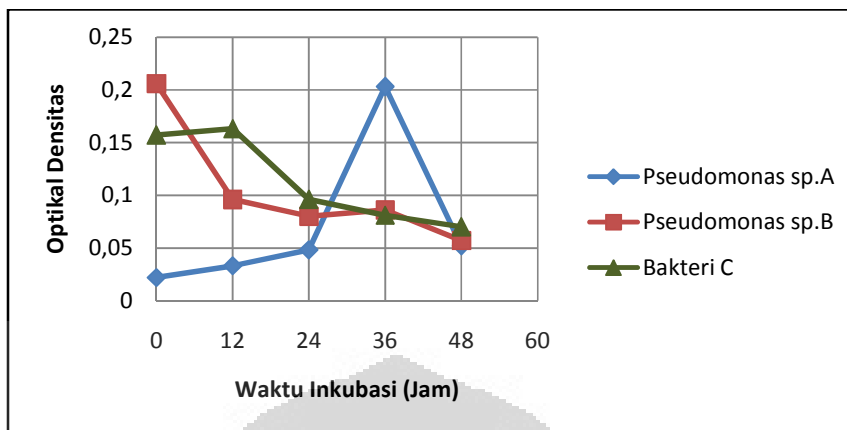
Adanya kenaikan nilai optikal densitas (absorbansi) mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mampu memanfaatkan substrat sebagai makanannya untuk digunakan pada proses perkembangbiakannya. Metode ini merupakan metode yang umum digunakan dalam penentuan nilai pertumbuhan bakteri. Pada uji pendahuluan bakteri pendegradasi LAS ini digunakan konsentrasi LAS sebesar 2 mg/L, 5 mg/L, dan 10 mg/L agar sesuai dengan hasil pengambilan contoh air di Situ UI sebelumnya yaitu sekitar 1,2 – 4,3 mg/L.

Hasil pertumbuhan bakteri uji yang dapat mendegradasi LAS pada media uji dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut :

Tabel 4.1 Optikal Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 2 mg/L

Bakteri	Optikal Densitas				
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	48 Jam
<i>Pseudomonas</i> sp. A	0,022	0,033	0,0480	0,203	0,0520
<i>Pseudomonas</i> sp.B	0,206	0,096	0,080	0,086	0,057
Bakteri C	0,157	0,163	0,096	0,081	0,070

Pada konsentrasi LAS 2 mg/L ini, dapat dilihat bahwa bakteri *Pseudomonas* A mengalami kenaikan nilai optikal densitas optimum secara signifikan pada waktu 36 jam kemudian mengalami penurunan pada waktu 48 jam. Kenaikan optikal densitas optimum yang melebihi nilai optikal densitas pada waktu awal (0 jam) ini membuktikan bahwa bakteri *Pseudomonas* sp. A dapat memanfaatkan LAS sebagai sumber karbon sehingga mampu tumbuh melebihi populasi awalnya. Sementara pada bakteri *Pseudomonas* sp.B nilai optikal densitas optimum dicapai pada waktu 36 jam. Hal ini juga terjadi pada bakteri C, namun pada bakteri C pada awalnya mampu memanfaatkan LAS sebagai sumber karbon kemudian mengalami penurunan nilai optikal densitas hingga waktu 48 jam. Hal ini dapat dijelaskan bahwa konsentrasi LAS 2 mg/L terlalu rendah untuk mendukung pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp.B dan bakteri C. Bentuk kurva pertumbuhan dari ketiga bakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.5 .



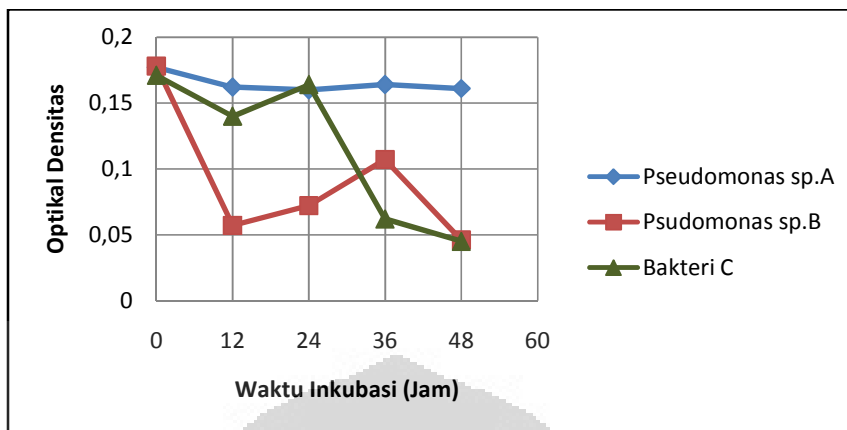
Gambar 4.5 Kurva Optikal Densitas Bakteri pada 2 mg LAS/L

Untuk pertumbuhan bakteri pada konsentrasi LAS 5 mg/L dapat dilihat dari Tabel 4.2 dan Gambar 4.6.

Tabel 4.2 Optikal Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 5 mg/L

Bakteri	Optikal Densitas				
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	48 Jam
<i>Pseudomonas sp. A</i>	0,177	0,162	0,160	0,164	0,161
<i>Pseudomonas sp.B</i>	0,178	0,057	0,072	0,107	0,046
Bakteri C	0,171	0,140	0,164	0,062	0,045

Bakteri *Pseudomonas sp. A* di konsentrasi LAS 5 mg/L menunjukkan laju pertumbuhan yang lambat. Hal ini terjadi karena konsentrasi LAS 5 mg/L untuk bakteri *Pseudomonas sp. A* merupakan konsentrasi yang cukup besar hingga menjadi racun atau bersifat toksik sebelum dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Namun, bertolak belakang dengan bakteri *Pseudomonas sp. A*, pada konsentrasi LAS 5 mg/L ini, bakteri C mengalami kenaikan nilai optikal densitas yang cukup signifikan pada waktu 24 jam. Kenaikan nilai optikal densitas juga dialami bakteri *Pseudomonas sp.B*, bahkan bakteri *Pseudomonas sp.B* menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan bakteri C. Sehingga, dapat disimpulkan konsentrasi LAS 5 mg/L merupakan konsentrasi yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp. B* dan bakteri C.



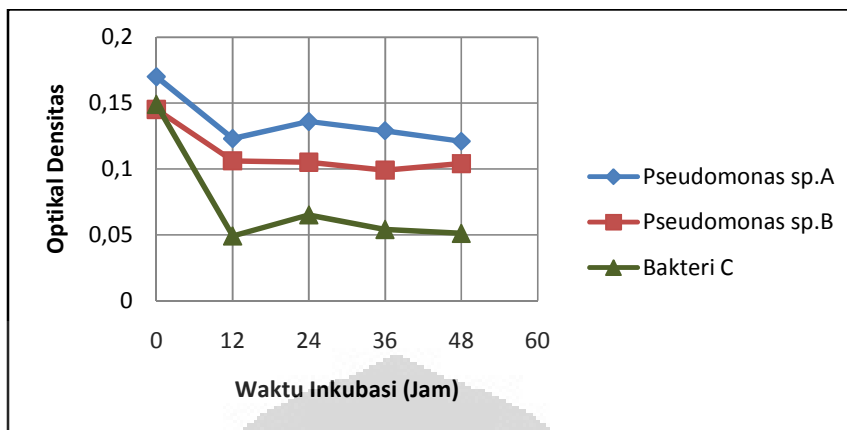
Gambar 4.6 Kurva Optikl Densitas Bakteri pada 5 mg LAS /L

Pertumbuhan pada konsentrasi LAS 10 mg/L dapat diamati pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.7.

Tabel 4.3 Optikl Densitas Bakteri pada Konsentrasi LAS 10 mg/L

Bakteri	Optikal Densitas				
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	48 Jam
<i>Pseudomonas sp. A</i>	0,170	0,123	0,136	0,129	0,121
<i>Pseudomonas sp.B</i>	0,145	0,106	0,105	0,099	0,105
Bakteri C	0,149	0,049	0,065	0,054	0,051

Pertumbuhan ketiga bakteri pada konsentrasi LAS 10 mg/L menunjukkan pertumbuhan bakteri yang lebih lambat dibandingkan pada dua konsentrasi sebelumnya. Nilai optikal densitas optimum ketiga bakteri diperoleh pada waktu inkubasi 24 jam dan setelahnya mengalami penurunan. Pertumbuhan yang lambat di ketiga bakteri tersebut disebabkan konsentrasi LAS dalam medium terlalu tinggi sehingga menjadi senyawa racun yang dapat menghambat proses adaptasi atau pertumbuhan bakteri.



Gambar 4.7 Kurva Optikl Densitas Bakteri pada 10 mg LAS /L

Hasil pertumbuhan bakteri ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa konsentrasi senyawa kimia yang akan didegradasi memiliki pengaruh besar terhadap proses bioremediasi, karena pada konsentrasi senyawa kimia yang tinggi dapat menjadi penghambat atau menjadi racun bagi mikroorganisme pendegradasi. Namun, pada konsentrasi yang rendah, senyawa kimia tersebut tidak mencukupi untuk mendukung aktivitas mikroorganisme (Balba *et al.*, 1998)

Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp. A*, *Pseudomonas sp. B* dan bakteri C pada konsentrasi LAS 2, 5, dan 10 mg/L mengalami penurunan di 12 jam pertama waktu uji. Hal ini disebabkan bakteri mengalami masa adaptasi terhadap medium dan substrat sehingga populasinya berkurang. Namun, setelah masa adaptasi ketiga bakteri uji cenderung mengalami kenaikan optikal densitas yang membuktikan bahwa ketiga bakteri uji yaitu *Pseudomonas sp. A*, *Pseudomonas sp.B* dan bakteri C mampu memanfaatkan LAS sebagai sumber karbonnya. Bahkan pada konsentrasi LAS 5 mg/L bakteri *Pseudomonas sp. B* dan bakteri C mengalami kenaikan nilai optikal densitas yang signifikan walaupun tidak sebesar nilai optikal densitas awal. Sedangkan bakteri *Pseudomonas sp. A* pada konsentrasi LAS 2 mg/L mengalami nilai kenaikan optikal densitas hingga melebihi nilai optikal densitas awal. Oleh sebab itu, dapat ditentukan bakteri yang mampu mendegradasi LAS paling optimum adalah bakteri *Pseudomonas sp. A* dengan konsentrasi LAS sebesar 2 mg/L.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan ini, maka untuk pengujian selanjutnya konsentrasi substrat yang digunakan adalah 2 mg/L dan bakteri optimum yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas* sp. A. Sebagai pembanding juga digunakan kultur campuran dari ketiga bakteri awal yaitu *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp. B dan bakteri C. Hal ini dilakukan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi LAS sebagai bakteri tunggal dan sebagai bakteri simbiosisnya. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa biodegradasi LAS membutuhkan beberapa bakteri dengan sebagian besar bakteri mengoksidasi rantai alkil dan simbiosis dari bakteri mendegradasi cincin aromatik (Jiminez, *et al.*, 1991).

4.4 Penentuan Biodegradasi LAS

Penentuan biodegradasi LAS dilakukan sesuai dengan metode OECD 301A. Bakteri yang digunakan pada tahap ini berupa kultur bakteri tunggal (*Pseudomonas* sp. A) dan kultur campuran (terdiri dari bakteri *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp. B, dan bakteri C). Pengujian dilakukan pada konsentrasi 2 mg/L dalam media mineral. Pengukuran kenaikan nilai optikal densitas bakteri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 600 nm. Sedangkan konsentrasi LAS yang tersisa selama waktu inkubasi dianalisis dengan metode MBAS.

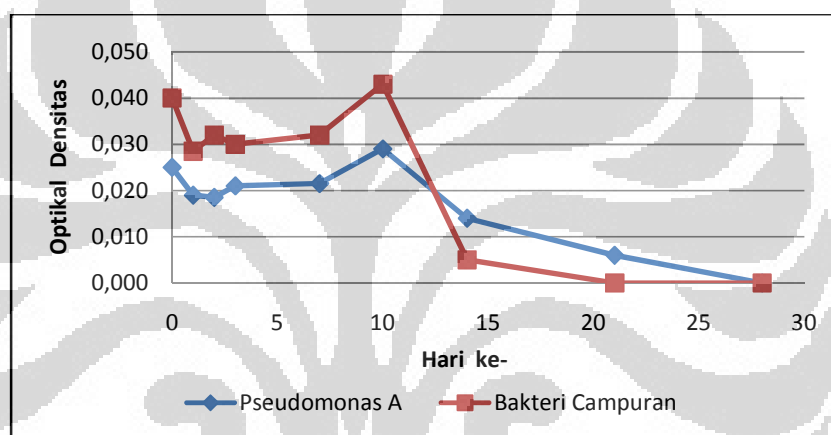
4.4.1 Pengukuran Pertumbuhan (Turbiditas) Bakteri

Pertumbuhan bakteri selama proses biodegradasi LAS dapat dilihat dalam Tabel 4.4 dan Gambar 4.8, dimana bakteri mengalami masa adaptasi pada hari pertama dan kemudian mengalami penambahan jumlah sel. Hal ini membuktikan bahwa bakteri dapat tumbuh dalam medium yang ada.

Tabel 4.4 Optikal Densitas yang Sebanding Dengan Jumlah Bakteri

Bakteri	Optikal Densitas (Hari)								
	0	1	2	3	7	10	14	21	28
<i>Pseudomonas</i> sp. A	0,025	0,019	0,019	0,021	0,022	0,029	0,014	0,006	0
Campuran	0,040	0,029	0,032	0,030	0,032	0,043	0,005	0	0

Hasil pengamatan menunjukkan pada hari pertama terjadi penurunan nilai optikal densitas dari absorbansi awal. Hal ini dikarenakan bakteri mengalami masa adaptasi terhadap medium dan substrat. Pada hari ke-2 hingga hari ke-10 terjadi kenaikan nilai absorbansi yang menunjukkan bahwa bakteri telah mampu memanfaatkan LAS sebagai substrat dan mencapai kondisi optimum. Setelah hari ke-10 yaitu pada hari ke-14, nilai absorbansi mengalami penurunan drastis, hal ini dikarenakan pada hari ke-14, 21 dan 28 LAS di dalam media mineral telah berkurang sehingga bakteri mulai memasuki fase kematian dalam pertumbuhannya.



Gambar 4.8 Kurva Optikal Densitas yang Sebanding dengan Jumlah Bakteri (LAS 2 mg/L)

Kurva pertumbuhan dan biodegradasi akan menunjukkan bentuk yang saling berlawanan. Dimana kurva pertumbuhan akan menunjukkan fasa pertumbuhan eksponensial maksimum pada saat tahap degradasi surfaktan berakhir. Kemudian akan diikuti dengan penurunan pertumbuhan secara cepat ketika konsentrasi surfaktan sudah habis atau degradasi sudah mencapai 100 %. Keadaan yang demikian mengindikasikan bahwa surfaktan yang berada di dalam media adalah satu-satunya sumber karbon yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme (Jurado *et al.*, 2006). Hal ini dapat menjelaskan adanya penurunan nilai optikal densitas bakteri pada hari ke-14 yang menunjukkan bahwa konsentrasi LAS sebagai sumber

karbon sudah berkurang sehingga tidak mampu mendukung pertumbuhan baik pada kultur bakteri tunggal maupun kultur bakteri campuran.

Selain itu, berdasarkan kurva dapat dilihat bahwa kultur tunggal *Pseudomonas* sp. A, menunjukkan laju pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan kultur bakteri campuran dalam medium. Hal ini dapat menggambarkan bahwa kultur bakteri campuran dapat memanfaatkan substrat lebih baik dibandingkan pada kultur tunggal. Oleh karena itu, setelah mencapai pertumbuhan maksimum pada hari ke-14 bakteri pada kultur bakteri campuran mengalami penurunan nilai optikal densitas drastis menjadi 0 pada hari ke-21. Sementara pada waktu uji yang sama (21 hari), kultur tunggal *Pseudomonas* sp. A masih mampu memanfaatkan substrat yang mengindikasikan pada kultur tunggal belum semua LAS terdegradasi.

Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kombinasi minimal dua kultur bakteri memiliki efisiensi degradasi dan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan pada kultur tunggal (Khleifat, 2006). Keadaan tersebut terjadi karena adanya simbiosis dari bakteri campuran dalam mengoksidasi LAS dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon. Selain itu, pemanfaatan LAS sebagai sumber karbon juga membutuhkan kemampuan metabolisme bakteri campuran dibandingkan bakteri dengan kultur tunggal yang memiliki keterbatasan dalam metabolismenya (Ginkel, 1996)

Pada persiapan kultur untuk proses biodegradasi ini, ditambahkan 1 mL inokulum pada masing-masing erlenmeyer uji. Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC) maka diketahui bahwa terdapat $1,5 \times 10^{11}$ dan $6,5 \times 10^{12}$ sel bakteri per mL pada kultur *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran secara berurutan.

4.4.2 Pengukuran Konsentrasi LAS

Selain melihat dari parameter nilai optikal densitas pada bakteri, parameter lain yang penting untuk membuktikan terjadinya proses degradasi adalah pengukuran konsentrasi LAS yang tersisa selama waktu inkubasi. Penurunan konsentrasi substrat dapat menjadi indikasi bahwa substrat

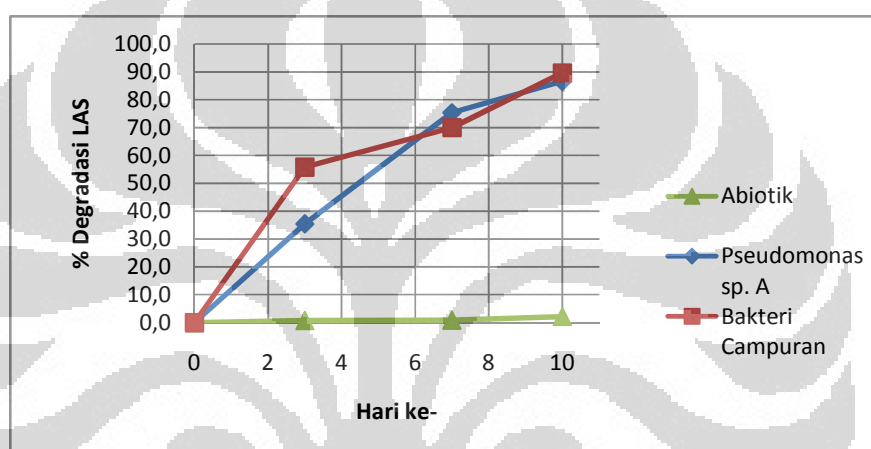
tersebut telah dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui proses metabolisme oleh mikroorganisme. Mekanisme biodegradasi LAS adalah dengan pemecahan LAS yang dimulai dari rantai lurus alkil, dilanjutkan dengan gugus sulfonat dan akhirnya pemecahan cincin benzena (Scott & Jones, 2000). Pemecahan ini menyebabkan senyawa tersebut tidak lagi terdeteksi sebagai surfaktan anionik sehingga dapat dideteksi pengurangan konsentrasinya melalui metode MBAS (*Methylene Blue Active Substances*) (Jurado, *et al.*, 2006).

Salah satu cara penentuan tingkat biodegradasi senyawa kimia adalah dengan menggunakan metode OECD 301 A (1992). Metode ini merupakan metode yang menggambarkan senyawa kimia yang mudah dibiodegradasi pada media air aerobik dengan pengukuran karbon organik terlarut (*DOC Die-away*). Karbon organik terlarut yang digunakan pada penelitian ini berupa LAS. Karena pengukuran dilakukan pada sisa karbon organik terlarut selama waktu inkubasi maka metode ini hanya dapat mengukur persentase biodegradasi hingga tingkat biodegradasi primer. Senyawa kimia dapat dikatakan mudah dibiodegradasi apabila 70 % senyawa uji telah terbiodegradasi dalam waktu 10 hari (*10 days window*) selama 28 hari periode uji. Senyawa uji yang terbiodegradasi lebih dari 28 hari periode uji merupakan senyawa yang tidak mudah terbiodegradasi.

Selain itu, pada metode OECD 301 A ini dapat diamati pula pengaruh adanya bakteri pada degradasi LAS dengan cara membandingkan nilai biodegradasi (berdasarkan persamaan 3.1 pada halaman 35) dengan nilai degradasi LAS secara abiotik atau tanpa bakteri (berdasarkan persamaan 3.2 pada halaman 36). Dimana pada erlenmeyer uji abiotik tidak diberikan inokulum bakteri namun ditambahkan toluena sebagai desinfektan untuk mencegah adanya bakteri dari luar tumbuh di dalam medium uji. Uji ini dilakukan berdasarkan nilai pada 10 hari pertama sesuai dengan jendela 10 hari (*10 days window*) pada metode OECD 301 A. Pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.9.

Tabel 4.5 Perbandingan Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Secara Biotik dan Abiotik

Bakteri	% Penurunan Konsentrasi LAS			
	0	3	7	10
<i>Pseudomonas</i> sp. A	0	35,4	75,4	86,5
Campuran	0	55,8	70	89,6
Tanpa Bakteri (Abiotik)	0	0,7	0,9	2,2



Gambar 4.9 Kurva Perbandingan Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Secara Biotik dan Abiotik

Pada 10 hari pertama, erlenmeyer di uji abiotik relatif tidak mengalami penurunan konsentrasi LAS dibandingkan dengan kultur *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran dimana telah terjadi penurunan konsentrasi LAS sebanyak >80% pada hari ke-10. Hal ini menunjukkan tanpa adanya bakteri, LAS tidak mengalami penurunan konsentrasi atau degradasi. Selain itu, juga dilaporkan bahwa selain dengan biodegradasi, LAS juga dapat terdegradasi melalui proses hidrolisis (HERA, 2009). Dekomposisi LAS mencapai 60-70% melalui proses hidrolisis dengan keberadaan asam anorganik pada suhu 150-200°C. Sementara proses degradasi dengan fotolitik dilakukan menggunakan lampu merkuri (panjang

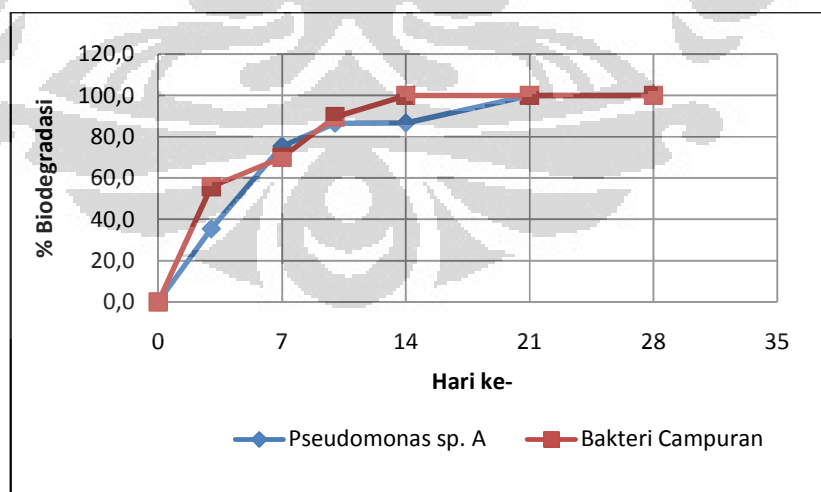
gelombang 200-450 nm) dan tercapai degradasi sebesar 80-95 %. Namun, kedua proses degradasi tersebut tidak terjadi secara alami di lingkungan.

Uji biodegradasi LAS pada kultur *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran dilanjutkan selama 28 hari. Tabel 4.6 dan Gambar 4.10 menunjukkan persentase penurunan konsentrasi LAS selama waktu inkubasi yang diperoleh berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan 3.1 pada halaman 35.

Tabel 4.6 Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Selama Waktu Inkubasi

Bakteri	% Penurunan Konsentrasi LAS						
	0	3	7	10	14	21	28
<i>Pseudomonas</i> sp. A	0	35,4	75,4	86,5	86,7	100	100
Campuran	0	55,8	70	89,6	100	100	100

Hasil pengamatan dari kedua kultur menunjukkan bahwa pada hari ke-3 degradasi sudah mulai berlangsung. Penurunan ini terus berlangsung hingga mencapai penurunan konsentrasi LAS sebesar 100% yang terjadi pada hari ke-14 untuk bakteri campuran dan hari ke-21 untuk kultur bakteri tunggal *Pseudomonas* sp. A.



Gambar 4.10 Persentase Penurunan Konsentrasi LAS Selama Waktu Inkubasi

Berdasarkan klasifikasi OECD 301 A maka dapat diamati, bahwa tingkat biodegradasi LAS pada kultur bakteri campuran mencapai $\pm 89,6\%$ dan kultur *Pseudomonas* sp. A mencapai $\pm 86,5\%$ pada hari ke-10 selama 28 hari periode uji. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa LAS merupakan senyawa kimia yang mudah dibiodegradasi oleh kultur bakteri *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran karena lebih dari 70% LAS telah terbiodegradasi dalam waktu 10 hari (10 *days window*). Pada 10 hari pertama, kultur bakteri campuran mampu mendegradasi LAS lebih baik dibandingkan kultur *Pseudomonas* sp. A. Fenomena ini dapat dijelaskan bahwa terdapat perbedaan masa adaptasi dan kemampuan bakteri yang digunakan sebagai inokulum dalam mendegradasi senyawa LAS.

Apabila diamati dari kecepatan biodegradasi untuk mencapai nilai biodegradasi sebesar 100 %, kultur bakteri campuran juga mampu mendegradasi LAS lebih cepat dibandingkan kultur tunggal. Setelah hari ke-10, kultur tunggal *Pseudomonas* sp. A menunjukkan penurunan kemampuan mendegradasi. Sementara pada kultur bakteri campuran yang memiliki beberapa bakteri di dalamnya mampu mendegradasi LAS dengan lebih baik dan mencapai nilai biodegradasi sebesar 100% pada hari ke-14 dimana nilai tersebut juga dicapai oleh *Pseudomonas* sp. A pada hari ke-21. Hal ini disebabkan pada kultur bakteri campuran terdapat bakteri yang sinergis mengoksidasi LAS dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon. Disamping itu, adanya campuran berbagai jenis bakteri menyebabkan kemampuan metabolisme menjadi lebih besar dibandingkan kemampuan metabolisme kultur tunggal yang terbatas (Ginkel, 1996).

Pada penelitian sebelumnya juga diketahui bahwa dalam biodegradasi, LAS membutuhkan keberadaan komunitas beberapa spesies bakteri termasuk *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* spp., an *Acinetobacter* sp. (Hosseini *et al.*, 2007) dengan hasil degradasi utama mencapai 90% pada hari ketujuh (EHC, 1996). Beberapa mikroorganisme memiliki kemampuan spesifik dalam bioremediasi. Salah satunya adalah *Acinetobacter* yang mampu mendegradasi senyawa alifatik. Selain itu juga terdapat beberapa bakteri lain yang dapat mendegradasi senyawa aromatik seperti

Achromobacter, *Nocardia*, dan *Flavobacterium*. Namun, terdapat juga bakteri yang dapat mendegradasi senyawa alifatik maupun aromatik seperti *Pseudomonas* (Kardena dan Suhardi, 2001). Kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam mendegradasi senyawa tersebut, menyebabkan kultur bakteri campuran yang mengandung dua jenis bakteri *Pseudomonas* spp. mampu mendegradasi LAS lebih baik dibandingkan kultur tunggal *Pseudomonas* sp. A.

Selain adanya perbedaan kemampuan dari bakteri pendegradasi, hasil dari biodegradasi LAS yang diperoleh yaitu mencapai >80 % pada hari kesepuluh juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain yaitu berupa pH, suhu, ketersediaan substrat, nutrisi dan ketersediaan oksigen .

4.5 Identifikasi Produk Intermediet Hasil Degradasi LAS

Analisis produk intermediet hasil degradasi LAS dengan spektrum *Infra Red* (IR) memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν , (dalam cm^{-1}), yaitu :

- **Bahan *Pseudomonas* A (hari ke-28)**
 3450,65- 3560,59 menunjukkan serapan yang lebar dari gugus OH dimana berasal dari air yang terkandung dalam contoh uji
 3172,9 merupakan pita serapan vibrasi ulur yang sangat lebar dari asam karboksilat
 1641,42 merupakan pita serapan vibrasi dari gugus C-C aril
 642,3-684,73 merupakan pita serapan dari benzena tersubstitusi
- **Bahan Bakteri Campuran (hari ke-28)**
 3468,01 menunjukkan serapan yang lebar dari gugus OH dimana berasal dari air yang terkandung dalam contoh uji
 3211, 48 merupakan pita serapan vibrasi ulur yang sangat lebar dari asam karboksilat
 1637, 56 merupakan pita serapan vibrasi dari gugus C-C aril
 671,23 merupakan pita serapan dari benzena tersubstitusi.

Identifikasi produk intermediet dengan menggunakan analisis IR menunjukkan bahwa pada di dalam produk intermediet tersebut masih terdapat

senyawa benzena. Apabila dibandingkan spektrum dari bahan *Pseudomonas* sp. A dan bahan bakteri campuran pada hari ke-7, 10, 14 dan 28, spektrum yang terbentuk identik dimana pita serapan dari benzena tersubstitusi selalu muncul. Hal ini disebabkan pemecahan LAS belum mencapai pembukaan cincin aromatik. Spektrum IR dari bahan *Pseudomonas* sp. A dan bahan bakteri campuran dapat dilihat pada Lampiran 10, 11, 12, dan 14.

Proses pembukaan cincin harusnya terjadi pada proses *ultimate biodegradation* (mineralisasi) dan menghasilkan hasil akhir berupa CO₂, H₂O, serta biomassa. Pemutusan rantai alkil linear dalam proses degradasi LAS reaksi yang terjadi dikatalisis oleh enzim alkana monooksigenase dan dua enzim dehidrogenase. Asam karbosiklat dapat mengalami β-oksidasi dan dua pecahan karbon masuk ke siklus asam trikarboksilat sebagai asetil Ko-A. Hal inilah yang kemudian menimbulkan masalah apabila terdapat cabang rantai alkil seperti metil atau dimetil. Rantai cabang dari alkil tidak dapat mengalami β-oksidasi oleh mikroorganisme dan harus didegradasi dengan menghilangkan satu atom karbon dalam satu waktu (α-oksidasi) (Scott & Jones, 2000). Adapun proses lebih detail dapat dilihat pada Gambar 4.11.

Tahapan kedua dalam biodegradasi LAS adalah pemecahan gugus sulfonat, terdapat tiga mekanisme yang sesuai dalam proses desulfonasi (Scott & Jones, 2000) berdasarkan reaksi sebagai berikut :

- (1) Desulfonasi hidroksiatif



- (2) Katalisis monooksigenase dalam suasana asam

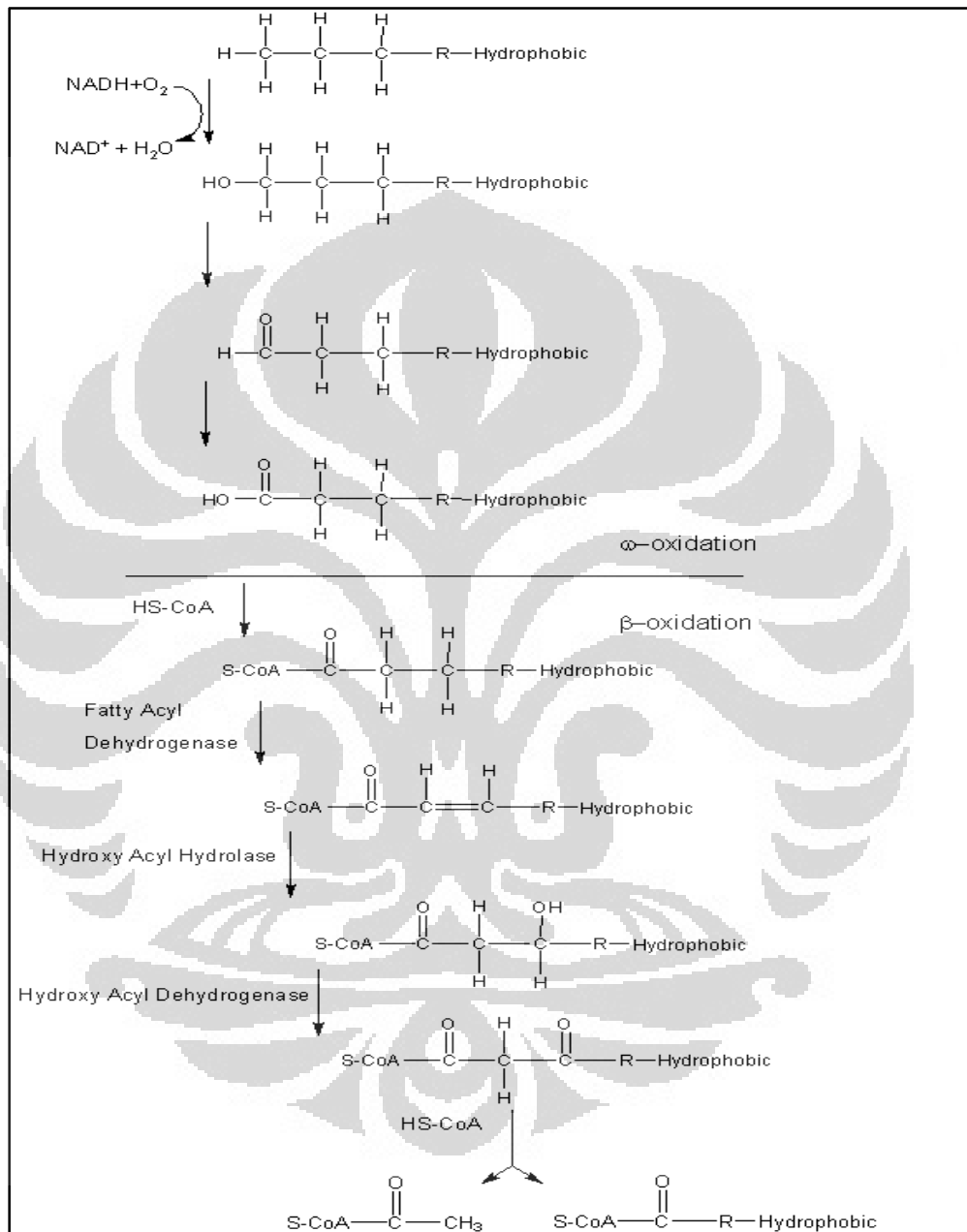


- (3) Desulfonasi reduktif



Dapat diamati bahwa pada mekanisme di atas menghasilkan hasil akhir berupa sulfit yang kemudian mengalami proses oksidasi menjadi sulfat pada lingkungan. Sisa akhir dari biodegradasi yang terbentuk kemudian adalah fenilasetat atau asam benzoat. Oksidasi mikroorganisme pada kedua senyawa tersebut akan menghasilkan asam fumarat dan asam asetoasetat serta benzena yang dapat dirubah menjadi katekol. Proses inilah yang tidak dicapai pada waktu

inkubasi LAS selama 28 hari dengan menggunakan kultur bakteri *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran.



Gambar 4.11 Jalur Reaksi dari ω- dan β- Oksidasi dari Rantai Alkil Selama Biodegradasi Surfaktan
(Scott & Jones, 2000)

4.6 Penentuan Nilai Karbon Organik Total

Pengukuran kandungan senyawa organik di dalam air secara langsung dapat dilakukan dengan metode karbon organik total (KOT/ *Total Organic Carbon* (TOC)). Analisis ini dilakukan untuk mengukur semua bahan yang termasuk kategori senyawa organik. Karbon organik total tersebut diukur dengan konversi karbon organik di dalam air yang dioksidasi sempurna menjadi CO_2 dan H_2O . Penentuan karbon organik total ini dilakukan untuk mendukung hasil dari spektrum infra merah yang menunjukkan tidak adanya pemecahan senyawa aromatik. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan nilai permanganat (TOC) antara standar LAS dengan contoh uji pada hari ke-28. Adapun hasil pengamatan yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.7 .

Tabel 4.7 Hasil Penentuan Nilai TOC

Contoh Uji	TOC (mg/L)	Uji MBAS
Standar LAS 2 mg/L	0,83	+
Kultur <i>Pseudomonas</i> sp. A hari ke-28	0,65	-
Kultur bakteri campuran hari ke-28	0,56	-

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa TOC pada standar LAS dengan konsentrasi 2 mg/L tidak berbeda jauh dengan TOC kultur *Pseudomonas* A dan kultur bakteri campuran pada hari ke-28. Hal ini membuktikan bahwa senyawa hasil biodegradasi selama periode masa uji 28 hari masih membentuk senyawa yang kompleks. LAS akan mengalami ω -oksidasi dan β -oksidasi menjadi senyawa sulfofenil karboksilat (SPC) dan sulfofenil dikarboksilat (SPdC). Senyawa intermediet ini kemudian mengalami pembukaan cincin hingga akhirnya menghasilkan senyawa lebih sederhana CO_2 , H_2O , SO_4^{2-} , dan biomassa (Fromel & Knepper, 2008).

Oleh karena itu, hasil uji TOC menunjukkan senyawa LAS pada kultur *Pseudomonas* sp. A dan kultur bakteri campuran pada hari ke-28, belum membentuk senyawa yang sangat sederhana berupa CO_2 & H_2O . Karena apabila senyawa tersebut telah terbentuk, maka pada saat penentuan nilai TOC, senyawa karbon yang mengalami oksidasi akan berjumlah lebih sedikit dibandingkan standar LAS sehingga nilai TOC yang diperoleh juga lebih rendah.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Hasil isolasi dan identifikasi mikroorganisme dari Situ Agathis diperoleh bakteri *Pseudomonas* sp. A, *Pseudomonas* sp. B, dan bakteri C (dengan koloni terbanyak pada contoh sedimen) untuk perlakuan biodegradasi.
2. Dengan membandingkan pengukuran kenaikan optikal densitas bakteri dan penurunan konsentrasi LAS dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diisolasi dari Situ Agathis Universitas Indonesia mampu mendegradasi LAS dengan memanfaatkan LAS sebagai sumber karbonnya.
3. Berdasarkan uji biodegradasi LAS dengan metode OECD 301A, maka kultur bakteri campuran menunjukkan persentase penurunan konsentrasi LAS lebih besar dibandingkan kultur *Pseudomonas* sp. A yaitu mencapai >80% dalam waktu 10 hari.
4. Berdasarkan persentase penurunan konsentrasi LAS pada 10 hari pertama (10 *days window*), LAS merupakan senyawa yang mudah terbiodegradasi (OECD 301 A).
5. Identifikasi produk intermediet menggunakan analisis IR yang didukung dengan hasil uji total senyawa organik menunjukkan bahwa di dalam bahan *Pseudomonas* sp. A dan bahan bakteri campuran LAS masih belum terdegradasi dengan sempurna.

5.2 Saran

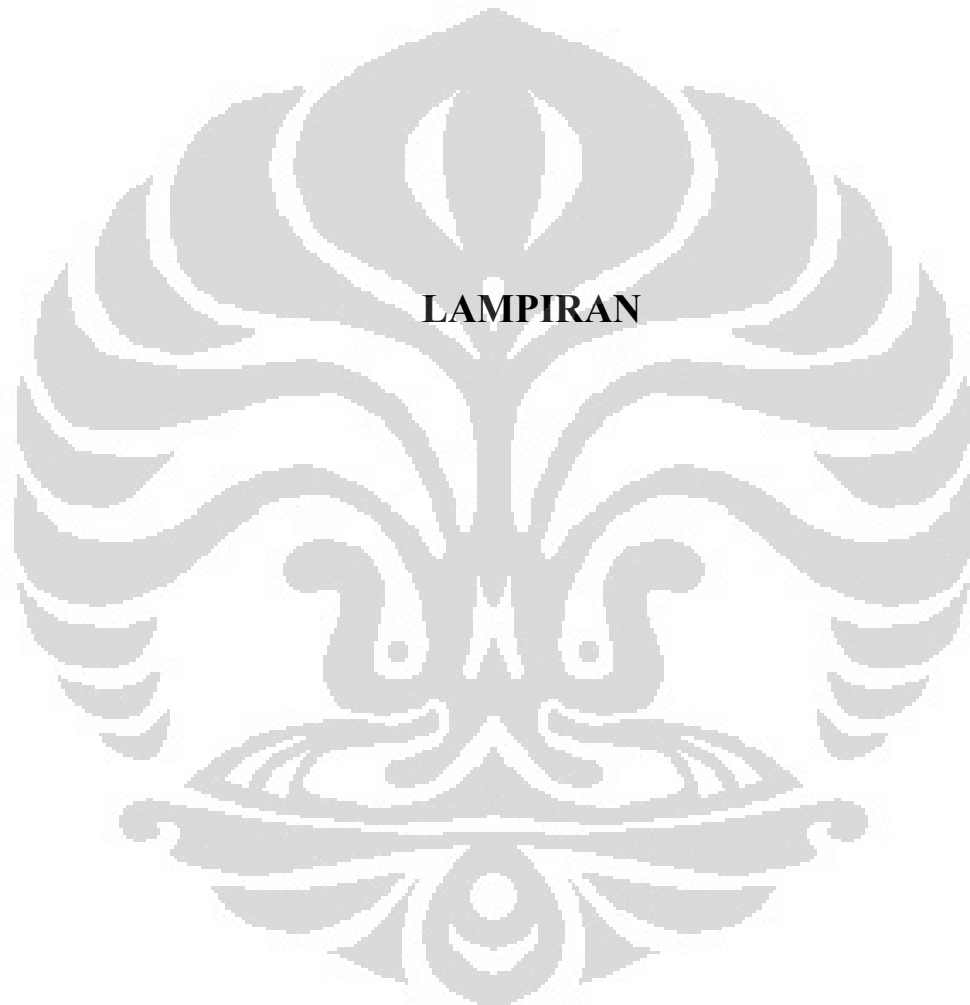
Berdasarkan hasil penelitian, untuk mendapatkan informasi yang lebih jelas tentang kemampuan bakteri Situ Universitas Indonesia dalam mendegradasi senyawa LAS maka perlu dilakukan isolasi jenis bakteri lainnya serta variasi kondisi optimum biodegradasi, selanjutnya dilakukan karakteristik senyawa yang dihasilkan setelah 28 hari masa uji dengan analisis LC-MS, LC-MS² dan NMR.

DAFTAR REFERENSI

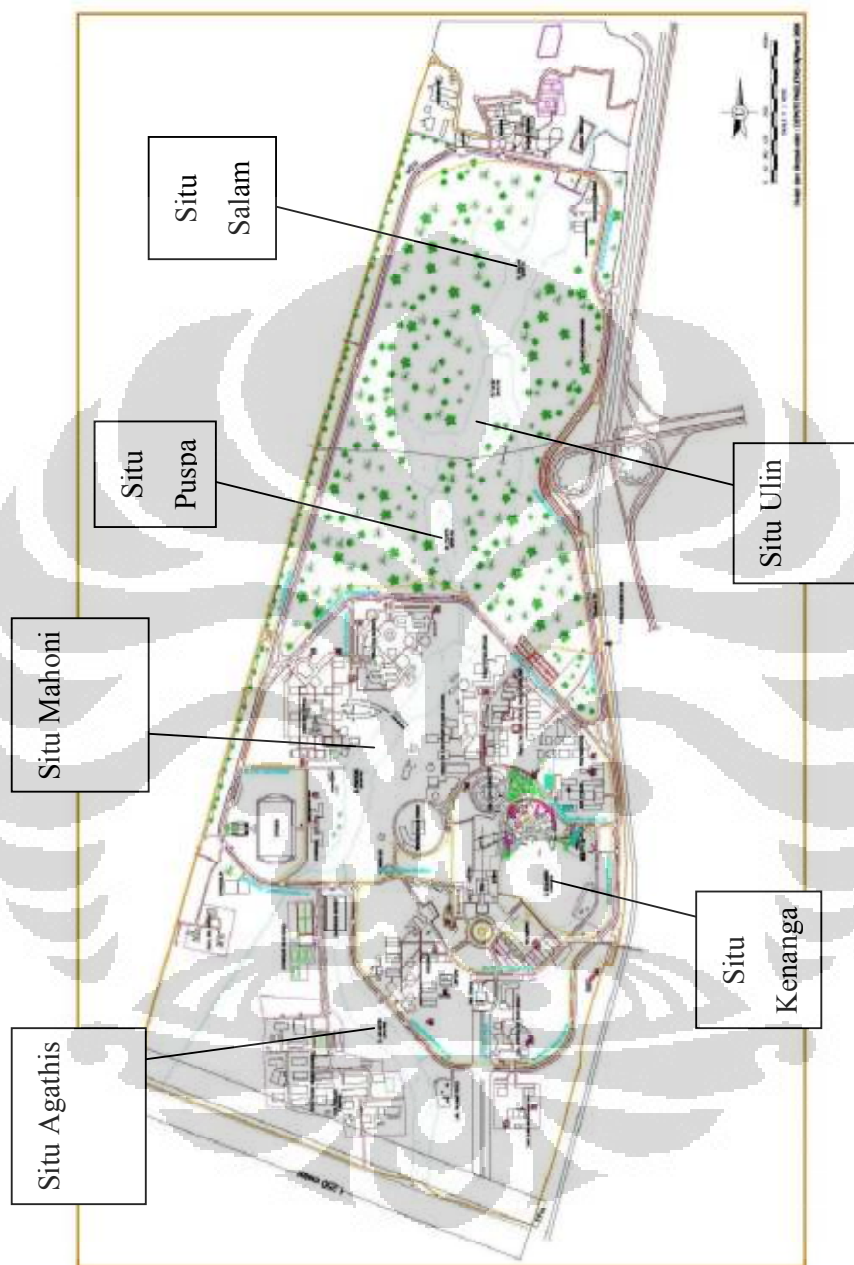
- (EHC), E. H. (1996). *Linear alkylbenzene sulfonates and related compounds*. Geneva: International Programme on Chemical Safety (IPCS).
- (OECD), & Development, O. f. (1992). *OECD guidelines for the testing of chemicals/ section 3 : Modified AFNOR test No.301 A : Ready biodegradability*.
- AISE, & CESIO. (1999). *Anaerobik biodegradation of surfactant*. Brussel: Review of Scientific Information, CEFIC.
- Becaglia, S., Ghedinia, Peetersb, S., A.R.Traversia, Udisting, R., Chiaric, M., et al. (2011). MBAS (Methylene Blue Active Substances) and LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonates) in Mediterranean coastal aerosols: Sources and transport processes. *Atmospheric Environment* , 6788-6801.
- D.Dyer, S., Bernhard, M. J., Cowan-Ellsberry, C., Perdu-Durand, E., Demmerle, S., & Cravedi, J.-P. (2008). In vitro biotransformation of surfactants in fish : Part 1 : liniear alkylbenzene sulfonates (C-12 LAS) and alcohol ethoxylate (C13EO8). *Chemosphere* 72 , 850-862.
- Diswanto, E., & Kardena, E. (2010). *Isolasi dan karakterisasi Pseudomonas sp. dari tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi Sumatera dan Jawa*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Ecolabelling, T. N. (2003). *Trust license criteria for laundry detergents EC-02-03*.
- ecosol (European Council on Studies on LAB/LAS)*. (n.d.). April 17, 2012. www.lasinfo.org/ff_pro.html
- Edser, C. (2006). *Latest market analysis, focus surfactans*.
- Fatisa, Y. (2003). *Studi biodegradasi liniear alkilbenzena sulfonat (LAS) dan identifikasi serta uji toksisitas hasil biodegradasi terhadap bakteri Rhizobium melitoti*. Depok: Universitas Indonesia.
- Folke, J., & Landner, L. (2000). Risk assesment of LAS in sewage and soil. *European Environmental Research Group Inc. ed.3,5 do no 20002* .
- Fromel, T., & Knepper, T. (2008). Mass spectrometry as an indispensable tools for studies of biodegradation of surfactans. *Trends in Analytical Chemistry, Vol.27, No.11* , 1091-1106.
- Ginkel, G. v. (1996). Complete degradation of xenobiotic surfactants by consortia of aerobic microorganism. *Biodegradation vol.7* , 151-164.
- Guhl, W., & Steber, J. (2006). The value of biodegradation screening test results for predicting the elimination of chemicals organic carbon in waste water treatment Plants. *Chemosphere* 63 , 9-16.
- Hampel, M., Canário, J., Branco, V., Vale, C., & Blasco, J. (2009). Environmental levels of alkylbenzene sulfonate in sediments from the Tagus Estuary (Portugal) : Environmental implications. *Environmental Monitoring Assesment* 149 , 151-161.
- HERA. (2009). *Human & environmental risk assessment on ingredients of European household cleaning products liniear alkylbenzene sulphonate (LAS)*. Human and Environmental Risk Assesment.

- Hofer, R., & Jeney, Z. B. (1995). Chronic effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and ammonia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry at water criteria limits. *Water Research* 29 , 2725-2729.
- Hosseini, F., Malekzadeh, F., Amirmozafari, N., & Ghaemi, N. (2007). Biodegradation of anionic surfactant by isolated bacteria from activated sludge. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* , 127-132.
- Jensen, J. (1998). Fate & Effects of Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS) in The Terrestrial Environment. *The Science of The Total Environment* 226 , 93-111.
- Jiménez, L., Breen, A., Thomas, N., Federle, T. W., & S., S. G. (1991). Mineralization of Linear Alkylbenzene Sulphonate by A Four Member Bacterial Consortium. *Application Environmental Microbiology* 57 , 1566-1569.
- Joans, F., & Lars, L. (2000). Risk Assesment of LAS in Sewage Sludge and Soil. *European Environmental Research Group* .
- Jurado, E., Fernande-Serrano, M., Nunez-Olea, J., Luzon, G., & M., L. (2006). Simplified Spectrophotometric Method Using Methylene Blue for Determining Anionic Surfactants : Applications to The Study of Primary Biodegration in Aerobic Screening Test. *Chemosphere* , 278-285.
- Kardena, E., & Suhardi, S. (2001). *Bioremediation Course*. Jakarta: Kinanti Training & Confrence Training.
- Khleifat, K. M. (2006). Biodegradation of Linear Alkylbenzene Sulfonate by A Two-Member Facultative Anaerobic Bacterial Consortium. *Enzyme and Microbial Technology* , 1030-1035.
- Meng, H., Xia, Y., & Chen, H. (2012). Bioremediation of surface water co-contaminated with zinc (II) and linear alkylbenzene sulfonates by *Spirulina platensis*. *Physics and Chemistry of the Earth* .
- Mungray, K., & Kumar, P. (2009). Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment : A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63 , 981-987.
- (2004). *Official Journal of The European Union , Regulation (EC) No. 648/2004 of The European Parliament and of The Council of 31 March 2004 on Detergents*.
- Pederson, F., Tyle, H., Niemala, J. R., Guttman, B., Lander, L., & Wedebrand, A. (1994). Environmental hazard classification, data collection , and interpretation guide for substances to be evaluated for classification as dangerous for the environment. *Nordic Council of Ministers* (p. 589). Copenhagen: Temanord.
- Penteado, J., & Seoud, O. C. (2006). Linear alkylbenzene sulfonates : Chemistry, environmental impacts and analysis. *Quim. Nova* 29 , 1038-1046.
- Renau, F., Oberhansli, F., Teyssié, J.-L., Miramand, P., & Temara, A. (2011). Sorption-desorption kinetics and toxic cell concentration in marine phytoplankton. *Marine Pollution Bulletin* , 942-947.
- Scott, M. J., & Jones, M. N. (2000). Review the biodegradation of surfactants in the environment. *Biochemica et Biophysica Acta* 1508 , 235-251.
- Temara, A., G., C., Webb, S., D., V., & T., F. (2001). Marine risk assesment : Linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in The North Sea. *Marine Pollutant Bulletin* 42 , 635-642.

- Tolls, J., Lehman, M., & Sijm, D. T. (2000). Quantification of in vivo biotransformation of the anionic surfactant C-12 linear alkylbenzene sulfonates in fathead minnow. *Environmental Toxicology Chem.* 19 , 2394-2400.
- Universitas Indonesia. (n.d.). April 17, 2012. <http://www.ui.ac.id/id/campus/page/green-campus>.
- Venhuis, S. H., & Mehrvar, M. (2004). Health effects, environmental impacts and photochemical degradation of selected surfactants in water. *International Journal of Photoenergy* 6 , 115-125.
- Verge, C., Moreno, A., Bravo, J., & Berna, J. (2001). Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulphonate (LAS). *Chemosphere* , 1749-1757.
- Versteeg, D., & Rowlings, J. (2003). Bioconcentration and toxicity of dodecylbenzene sulfonates (C-12 LAS) to aquatic organisms exposed in experimental streams. *Arch. Environ. Conum. Toxicol.* 44 , 237-247.
- Vidali, M. (2001). Bioremediation :An overview. *Pure Application Chemistry* , 1163-1172.
- Xiaobing, T., Sun-Young, Y., Prasanna, U., & Kleinow, K. (2010). Enhanced bioaccumulation of dietary contaminants in catfish with exposure to the waterborne surfactant linear alkylbenzene sulfonate. *Aquatic Toxicology* , 300-308.
- Ying, G.-G. (2006). Fate, behavior, and effects of surfactants and their degradation product in environment. *Environment International* 32 , 417-431.



Lampiran 1 Peta Kampus Universitas Indonesia Depok



Sumber : Direktorat Umum dan Fasilitas Universitas Indonesia

Lampiran 2 Data Penggunaan dan Produksi Surfaktan di Indonesia

Produksi Surfaktan di Indonesia, Tahun 2009

No.	Deskripsi	Satuan	Banyak	Nilai (000 Rp)
1	Surfaktan	Drum	16	72.000
2	Surfaktan	*	800	18.125
2	<i>Alkyl Sulphonate/ Liniear alkylate sulfonate (LAS)</i>	Kg	1.092.340	7.259.315
3	<i>Alkyl Benzene Sulphonate (ABS)/ Alkyl Aril Sulphonate</i>	Kg	195.280.994	327.938.792
4	Deterjen	Kg	191.423.000	664.563.599
5	<i>Alkyl Benzene</i>	Kg	195.280.994	327.938.792

Sumber: Badan Pusat Statistik

Large and Medium Manufacturing Statistics, 2009

Lampiran 3 Metode OECD 301 A

OCDE / OECD

301

301 A "DOC DIE-AWAY TEST"

INTRODUCTION

1. Matters of general interest concerning the assessment of biodegradability are discussed in "General Procedures and Preparations" and it is advisable to read this before proceeding. For this method, the test substance should be non-volatile and have a solubility in water of at least 100 mg/l. Also the carbon content and, preferably, the purity or relative proportions of major components should be known. This test is virtually the same as the ISO Standard 7827-1984. It is similar to the Modified OECD Screening test (301 E) but allows the use of much higher microbial cell densities.

PRINCIPLE OF THE TEST

2. A measured volume of inoculated mineral medium, containing a known concentration of the test substance (10-40 mg DOC/l) as the nominal sole source of organic carbon, is aerated in the dark or diffuse light at $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Degradation is followed by DOC analysis at frequent intervals over a 28-day period. The degree of biodegradation is calculated by expressing the concentration of DOC removed (corrected for that in the blank inoculum control) as a percentage of the concentration initially present. Primary biodegradation may also be calculated from supplemental chemical analysis for parent compound made at the beginning and end of incubation.

DESCRIPTION OF THE METHOD

Apparatus

3. Normal laboratory apparatus and:
- (a) Conical flasks, e.g. 250 ml to 2 litre, depending on the volume needed for DOC analysis. The flasks must be carefully cleaned with, for example, alcoholic hydrochloric acid, rinsed and dried before each test;
 - (b) Shaking machine - to accommodate the conical flasks, either with automatic temperature control or used in a constant temperature room, and of sufficient power to maintain aerobic conditions in all flasks;
 - (c) Filtration apparatus, with suitable membranes;
 - (d) DOC analyser;
 - (e) Apparatus for determining dissolved oxygen, to check that the flask contents are aerobic;
 - (f) Centrifuge.

Water

4. A description of the water to be used is given in the "General Procedures and Preparations" (p. 5).

Stock solutions for mineral medium

5. Prepare the following stock solutions using analytical grade reagents:

(a)	Potassium dihydrogen orthophosphate, KH_2PO_4	8.50 g
	Dipotassium hydrogen orthophosphate, K_2HPO_4	21.73 g
	Disodium hydrogen orthophosphate dihydrate, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	33.40 g
	Ammonium chloride, NH_4Cl	0.50 g

Dissolve in water and make up to 1 litre.
The pH of the solution should be 7.4.

(b)	Calcium chloride, anhydrous, CaCl_2	27.50 g
	Calcium chloride dihydrate, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	36.40 g

Dissolve in water and make up to 1 litre.

(c)	Magnesium sulphate heptahydrate, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22.50 g
-----	--	---------

Dissolve in water and make up to 1 litre.

(d)	Iron (III) chloride hexahydrate, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25 g
-----	--	--------

Dissolve in water and make up to 1 litre.

Note: In order to avoid having to prepare this solution immediately before use, add one drop of concentrated HCl or 0.4 g ethylene-diaminetetra-acetic acid (EDTA disodium salt) per litre.

If a precipitate forms in a stock solution replace with a freshly made solution.

Preparation of mineral medium

6. Mix 10 ml of solution (a) with 800 ml water, then add 1 ml of solutions (b), (c) and (d) and make up to 1 litre with water.

Stock solutions of test substances

7. When the solubility of the substance exceeds 1 g/l, dissolve 1-10 g, as appropriate, of test or reference substance in water and make up to 1 litre. Otherwise, prepare stock solutions in mineral medium or add the chemical directly to the mineral medium, making sure it dissolves.

Inoculum

8. The inoculum may be derived from a variety of sources: activated sludge; sewage effluents; surface waters; soils; or from a mixture of these.

Inoculum from activated sludge

9. Collect a fresh sample of activated sludge from the aeration tank of a sewage treatment plant or laboratory-scale unit treating predominantly domestic sewage. Remove coarse particles if necessary by filtration through a fine sieve and keep the sludge aerobic thereafter.

10. Alternatively, after removal of any coarse particles, settle or centrifuge (e.g. at 1100 g for 10 minutes). Discard the supernatant. The sludge may be washed in the mineral medium. Suspend the concentrated sludge in mineral medium to yield a concentration of 3-5 g suspended solids/l. Thereafter aerate until required.

11. Sludge should be taken from a properly working conventional treatment plant. If sludge has to be taken from a high rate treatment plant, or is thought to contain inhibitors, it should be washed. Settle or centrifuge the re-suspended sludge after thorough mixing, discard the supernatant and again re-suspend the washed sludge in a further volume of mineral medium. Repeat this procedure until the sludge is considered to be free from excess substrate or inhibitor.

12. After complete re-suspension is achieved, or with untreated sludge, withdraw a sample just before use for the determination of the dry weight of the suspended solids.

13. A further alternative is to homogenise activated sludge (3-5 g suspended solids/l). Treat the sludge in a Waring blender for 2 minutes at medium speed. Settle the blended sludge for 30 minutes or longer if required and decant liquid for use as inoculum at the rate of about 10 ml/l of mineral medium.

Other sources of inoculum

14. Alternatively, the inoculum can be derived from the secondary effluent of a treatment plant or laboratory-scale unit receiving predominantly domestic sewage. Collect a fresh sample and keep it aerobic during transport. Allow to settle for 1 hour or filter through a coarse filter paper and keep the decanted effluent or filtrate aerobic until required. Up to 100 ml of this type of inoculum may be used per litre of medium.

15. A further source for the inoculum is surface water. In this case, collect a sample of an appropriate surface water, e.g. river, lake, and keep aerobic until required. If necessary, concentrate the inoculum by filtration or centrifugation.

Pre-conditioning of inoculum

16. Inoculum may be pre-conditioned to the experimental conditions, but not pre-adapted to the test substance. Pre-conditioning consists of aerating activated sludge (in mineral medium) or secondary effluent for 5-7 days at the test temperature. Pre conditioning sometimes improves the precision of the test method by reducing blank values.

Preparation of flasks

17. As an example, introduce 800 ml portions of mineral medium into 2-litre conical flasks and add sufficient volumes of stock solutions of the test and reference substances to separate flasks to give a concentration of chemical equivalent to 10-40 mg DOC/l. Check the pH values and adjust, if necessary, to 7.4. Inoculate the flasks with activated sludge or other source of inoculum to give a final concentration not greater than 30 mg suspended solids/l. Also prepare inoculum controls in the mineral medium but without test or reference substance.

18. If needed, use one vessel to check the possible inhibitory effect of the test substance by inoculating a solution containing comparable concentrations of both the test and a reference substance in the mineral medium.

19. Also, if required, check whether the test substance is degraded abiotically by setting up a flask containing a sterilised uninoculated solution of the substance. Sterilise by filtering through a membrane (0.2-0.45 μm) or by the addition of a suitable toxic substance at an appropriate concentration.

20. Additionally, if the test substance is suspected of being significantly adsorbed onto glass, sludge, etc., make a preliminary assessment to determine the likely extent of adsorption and thus the suitability of the test for the chemical (see Table 1, p. 4). Set up a flask containing the test substance, inoculum and sterilising agent.

21. Make up the volumes in all flasks to 1 litre with mineral medium and, after mixing, take a sample from each flask to determine the initial concentration of DOC in duplicate (see Annex IV.4). Cover the openings of the flasks, e.g. with aluminium foil, in such a way as to allow free exchange of air between the flask and the surrounding atmosphere. To start the test, insert the vessels into the shaking machine.

Number of flasks

22. In a typical run, the following flasks are used:

Flasks 1 & 2	-	containing test substance and inoculum (test suspension);
Flasks 3 & 4	-	containing only inoculum (inoculum blank);
Flask 5	-	containing reference compound and inoculum (procedure control); and, preferably and when necessary, also
Flask 6	-	containing test substance and sterilising agent (abiotic sterile control);
Flask 7	-	containing test substance, inoculum and sterilising agent (adsorption control);
Flask 8	-	containing test substance, reference compound and inoculum (toxicity control).

PROCEDURE

DOC determinations

23. Throughout the test, determine the concentrations of DOC in samples from each flask in duplicate at known time intervals. It is mandatory to follow DOC in the test suspension and inoculum blanks in parallel. It is advisable to follow DOC in the other flasks in parallel as well. This may, however, not always be possible.

Sampling

24. Take only the minimal volume of test suspension necessary for each determination. Before sampling make good any evaporation losses from the flasks by adding water in the required amount. Mix the culture medium thoroughly before withdrawing a sample and ensure that material adhering to the walls of the vessels is re-dissolved or re-suspended before sampling. Membrane-filter or centrifuge the sample (see Annex IV.4) immediately after it has been taken. Analyse the filtered or centrifuged samples on the same day, otherwise store at 2-4°C for a maximum of 48 h or below -18°C for a longer period.

Frequency of sampling

25. Ensure that a sufficient number of samples are taken to allow the percentage removal in the 10-d window to be assessed. No precise sampling pattern can be described. If analyses are performed on the day of sampling, assess the next sampling time by considering the result of the analysis. If the samples are preserved, take samples daily or every two days. Analyse the last samples (28 d) first and, by a stepwise "backwards" selection of appropriate samples for analysis, it is possible to obtain a good description of the biodegradation curve with a relatively small number of determinations. Of course, if the last samples (28 d) show no degradation, no further samples need be analysed.

DATA AND REPORTING**Treatment of results**

26. Data from the test should be entered onto the attached data sheet.

27. The percentage degradation (Dt) at each time a sample was taken should be calculated separately for both flasks containing test substance (i.e. Flasks 1 and 2) using mean values of duplicate DOC measurements (see data sheet) in order that the validity of the test can be assessed (see "Data and Reporting", p. 7). It is calculated using the following equation:

$$D_t = \left[1 - \frac{C_t - C_{bl(0)}}{C_0 - C_{bl(0)}} \right] \times 100$$

where:

- D_t = % degradation at time t,
 C_0 = mean starting concentration of DOC in the inoculated culture medium containing the test substance (mg DOC/l),
 C_t = mean concentration of DOC in the inoculated culture medium containing test substance at time t (mg DOC/l),
 $C_{bl(0)}$ = mean starting concentration of DOC in blank inoculated mineral medium (mg DOC/l),
 $C_{bl(t)}$ = mean concentration of DOC blank inoculated mineral medium at time t (mg DOC/l).

All concentrations are measured experimentally.

28. If the test has complied with the validity criteria, display the course of degradation graphically using the mean of both flasks containing test substance. Indicate the 10-d window. Calculate and report the percentage removal achieved at the plateau, at the end of the test and/or at the end of the 10-d window, whichever are appropriate.

29. When specific chemical analytical data are available, calculate primary biodegradation (see "Data and Reporting", p. 7).

30. When a abiotic sterile control is used calculate the percentage abiotic degradation using:

$$\% \text{ abiotic degradation} = \frac{C_{st(t)} - C_{st(0)}}{C_{st(0)}} \times 100$$

where,

- $C_{st(0)}$ = DOC concentration in sterile control at day 0,
 $C_{st(t)}$ = DOC concentration in sterile control at day t.

Validity of tests

31. The validity criteria apply given in "Data and Reporting" (p. 7).

301**Test report**

32. The test report should include the information described in "Data and Reporting" (p. 8).

6. EVALUATION OF RAW DATA:

Flask no.	Calculation of results	% Degradation after n days				
		0	n ₁	n ₂	n ₃	n _c
1	$D_1 = \left[1 - \frac{C_{a(t)} - C_{b(t)}}{C_{a(0)} - C_{b(0)}} \right] \times 100$	0				
2	$D_2 = \left[1 - \frac{C_{a(t)} - C_{b(t)}}{C_{a(0)} - C_{b(0)}} \right] \times 100$	0				
Mean*	$D_i = \frac{D_1 + D_2}{2}$	0				

* D₁ and D₂ should not be averaged if there is a considerable difference.

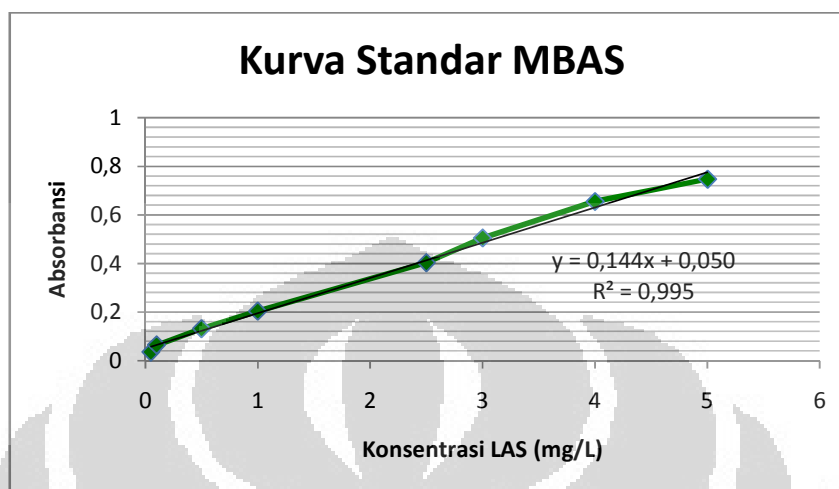
Note: Similar formats may be used for the reference compound and toxicity controls.

7. ABIOTIC DEGRADATION (optional)

	Time (days)	
	0	t
DOC conc. (mg/l) in sterile control	C _{s(0)}	C _{s(t)}

$$\% \text{ abiotic degradation} = \frac{C_{s(0)} - C_{s(t)}}{C_{s(0)}} \times 100$$

Lampiran 4 Kurva Standar LAS

a. *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)*

No	x	y	x ²	(x-x ²) ²	y ²	x*y	\hat{y}	y- \hat{y}
1	0,05	0,036	0,003	0,002	0,001	0,002	0,057	4 x 10 ⁻⁴
2	0,1	0,065	0,010	0,008	0,004	0,007	0,064	4 x 10 ⁻⁷
3	0,5	0,132	0,250	0,063	0,017	0,066	0,122	1 x 10 ⁻⁷
4	1	0,204	1	0	0,042	0,204	0,194	1 x 10 ⁻⁴
5	2,5	0,403	6,250	14,063	0,162	1,008	0,410	5x 10 ⁻⁵
6	3	0,505	9	36	0,255	1,515	0,482	5 x 10 ⁻⁴
7	4	0,655	16	144	0,429	2,620	0,626	8 x 10 ⁻⁴
8	5	0,747	25	400	0,558	3,735	0,770	5 x 10 ⁻⁴
Total	16,15	2,747	57,513	594,140	1,469	9,156	2,726	2,6 x 10 ⁻³

$$a = 0,144 ; b = 0,050$$

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum(y - \hat{y})^2}{n - 2}} = 1,86 \times 10^{-4}$$

$$LOD = \frac{3 \times s_y}{b} = 0,010 \text{ mg/L}$$

$$LOQ = \frac{10 \times s_y}{b} = 0,040 \text{ mg/L}$$

b. Koefisien Variasi

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi (y)	Rerata (y')	y-y'	(y-y') ²	∑(y-y') ²	sd	%KV
0,1	0,065	0,064	2×10^{-3}	$2,3 \times 10^{-6}$	3×10^{-6}	5×10^{-7}	$7,9 \times 10^{-4} \%$
	0,063		-5×10^{-4}	$2,5 \times 10^{-7}$			
	0,063		-5×10^{-4}	$2,5 \times 10^{-7}$			
	0,063		-5×10^{-4}	$2,5 \times 10^{-7}$			
0,5	0,133	0,132	8×10^{-4}	$5,6 \times 10^{-7}$	$7,5 \times 10^{-7}$	1×10^{-7}	$9,0 \times 10^{-5} \%$
	0,132		-3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			
	0,132		-3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			
	0,132		-3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			
1	0,204	0,205	-8×10^{-4}	$5,6 \times 10^{-7}$	$7,5 \times 10^{-7}$	1×10^{-7}	$6,0 \times 10^{-5} \%$
	0,205		3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			
	0,205		3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			
	0,205		3×10^{-4}	$6,3 \times 10^{-8}$			

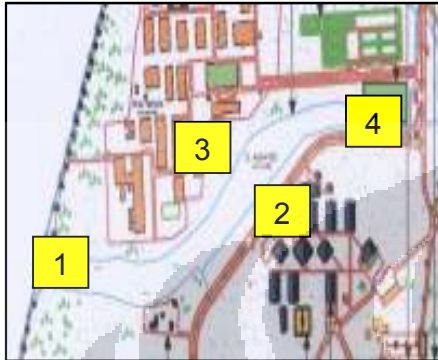
Dimana :

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{n - 1}}$$

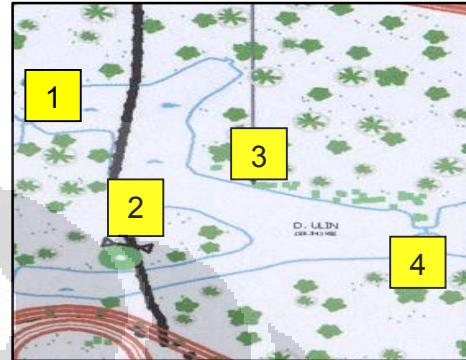
$$\%KV = \frac{s_d}{y'} \times 100\%$$

Lampiran 5 Lokasi Pengambilan Contoh Air

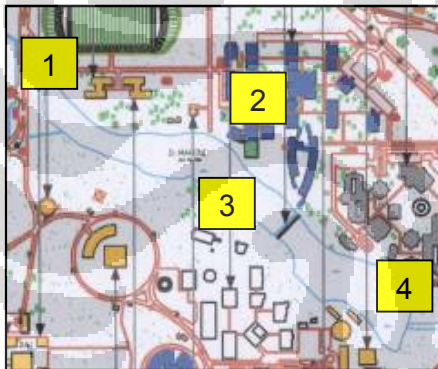
a. Situ Agathis UI



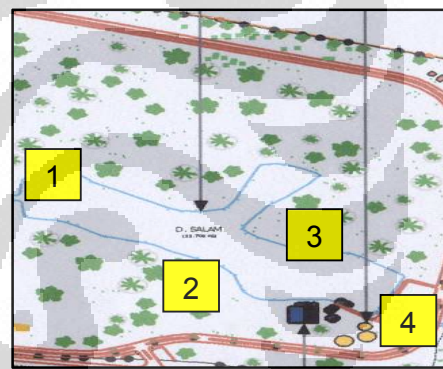
d. Situ Ulin UI



b. Situ Mahoni UI



e. Situ Salam UI



c. Situ Puspa UI



Ket :

Titik 1 : Hulu

Titik 2 & 3 : Pinggir Situ

Titik 4 : Hilir

Lampiran 6 Data Hasil Uji Contoh Air Situ Universitas Indonesia

a. Uji Pendahuluan

No.	Nama Situ	Titik	pH	Suhu (°C)	Absorbansi *	Konsentrasi LAS (mg/L)**	Tanggal Pengambilan Contoh Uji
1	Kenanga	1	7	29	0,085	0,243	13-Okt-11
2		2	7	29	0,159	0,753	
3		3	7	29,5	0,099	0,337	
4		4	7	28,5	0,106	0,389	
5	Agathis	1	6	28	0,685	4,410	13-Okt-11
6		2	6	29,5	0,228	1,233	
7		3	6	29,5	0,093	0,295	
8		4	6	30	0,093	0,295	
9	Mahoni	1	6	28	0,187	0,948	13-Okt-11
10		2	6	30,5	0,079	0,201	
11		3	6	30	0,070	0,139	
12		4	6	29,5	0,063	0,087	
13	Puspa	1	7	31,5	0	Tidak Terdeteksi	14-Okt-11
14		2	6	31	0	Tidak Terdeteksi	
15		3	6	31	0	Tidak Terdeteksi	
16		4	6	31	0,055	0,035	
17	Ulin	1	6	28,5	0,059	0,063	20-Okt-11
18		2	6	29	0	Tidak Terdeteksi	
19		3	6	29	0,061	0,073	
20		4	6	32	0	Tidak Terdeteksi	
21	Salam	1	6	27	0,156	0,736	20-Okt-11
22		2	6	28,5	0,079	0,198	
23		3	6	29	0,062	0,080	
24		4	6	29	0	Tidak Terdeteksi	

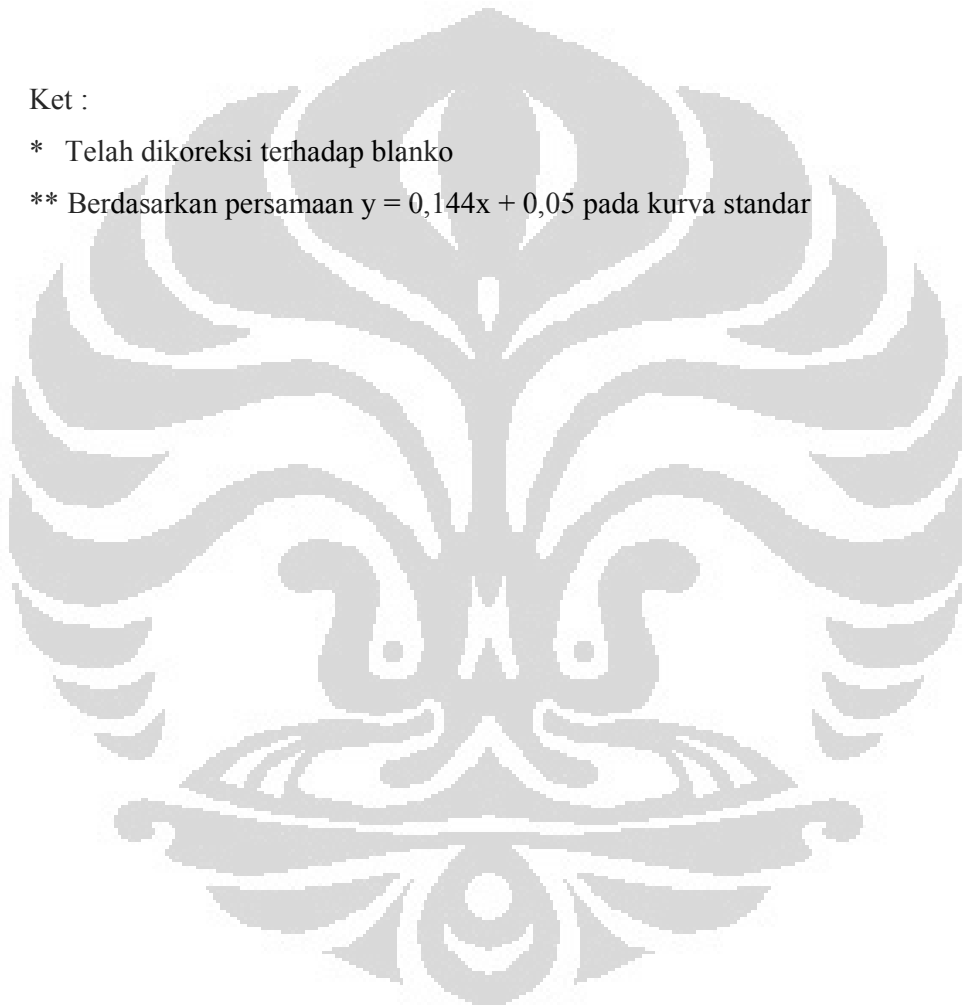
b. Pada Saat Pengambilan Contoh Sedimen

No.	Nama Situ	Titik	pH	Suhu (°C)	Absorbansi *	Konsentrasi LAS (mg/L)**	Tanggal Pengambilan Contoh Uji
1	Agathis	1	6	30	0,519	3,257	26-Okt-11
2		2	6	31	0,227	1,229	

Ket :

* Telah dikoreksi terhadap blanko

** Berdasarkan persamaan $y = 0,144x + 0,05$ pada kurva standar



Lampiran 7 Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4161

LAMPIRAN
PERATURAN PEMERINTAH
NOMOR 82 TAHUN 2001
TANGGAL 14 DESEMBER 2001
TENTANG
PENGELOLAAN KUALITAS AIR DAN PENGENDALIAN PENCEMARAN AIR

Kriteria Mutu Air Berdasarkan Kelas

PARAMETER	SATUAN	KELAS				KETERANGAN
		I	II	III	IV	
FISIKA						
Temperatur	°C	deviasi 3	deviasi 3	deviasi 3	deviasi 5	Deviasi temperature dari keadaan alamiahnya
Residu Terlarut	mg/L	1000	1000	1000	2000	
Residu Tersuspensi	mg/L	50	50	400	400	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, residu tersuspensi ≤ 5000 mg/L
KIMIA ANORGANIK						
pH		6-9	6-9	6-9	5-9	Apabila secara alamiah di luar rentang tersebut, maka ditentukan berdasarkan kondisi alamiah
BOD	mg/L	2	3	6	12	
COD	mg/L	10	25	50	100	
DO	mg/L	6	4	3	0	Angka batas minimum
Total Fosfat sebagai P	mg/L	0,2	0,2	1	5	
NO ₃ sebagai N	mg/L	10	10	20	20	
NH ₃ -N	mg/L	0,5	(-)	(-)	(-)	Bagi perikanan, kandungan ammonia bebas untuk ikan yang peka ≤ 0,02 mg/L sebagai NH ₃
Arsen	mg/L	0,05	1	1	1	
Kobalt	mg/L	0,2	0,2	0,2	0,2	
Barium	mg/L	1	(-)	(-)	(-)	
Boron	mg/L	1	1	1	1	
Selenium	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	
Kadmium	mg/L	0,01	0,01	0,01	0,01	
Khrom (IV)	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,01	
Tembaga	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,2	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Cu ≤ 1

						mg/L
Besi	mg/L	0,3	(-)	(-)	(-)	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Fe ≤ 5 mg/L
Timbal	mg/L	0,03	0,03	0,03	1	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Pb ≤ 0,1 mg/L
Mangan	mg/L	0,1	(-)	(-)	(-)	
Air Raksa	mg/L	0,001	0,002	0,002	0,005	
Seng	mg/L	0,05	0,05	0,05	2	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Zn ≤ 5 mg/L
Khlorida	mg/L	600	(-)	(-)	(-)	
Sianida	mg/L	0,02	0,02	0,02	(-)	
Fluorida	mg/L	0,5	1,5	1,5	(-)	
Nitrit sebagai N	mg/L	0,06	0,06	0,06	(-)	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, NO ₂ _N ≤ 1 mg/L
Sulfat	mg/L	400	(-)	(-)	(-)	
Khlorin bebas	mg/L	0,03	0,03	0,03		Bagi ABAM tidak dipersyaratkan
Belerang sebagai H ₂ S	mg/L	0,002	0,002	0,002		Bagi pengolahan air minum secara konvensional, S sebagai H ₂ S < 0,1 mg/L
MIKROBIOLOGI						
Fecal coliform	jmL/100 mL	100	1000	2000	2000	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, fecal coliform ≤ 2000 jmL/100 mL dan total coliform ≤ 10000 jmL/100mL
-Total coliform	jmL/100 mL	1000	5000	10000	10000	
-RADIOAKTIVITAS						
-Gross-A	Bq/L	0,1	0,1	0,1	0,1	
-Gross-B	Bq/L	1	1	1	1	
KIMIA ORGANIK						
Minyak dan Lemak	µg/L	1000	1000	1000	(-)	
Deterjen sebagai MBAS	µg/L	200	200	200	(-)	
Senyawa Fenol sebagai Fenol	µg/L	1	1	1	(-)	
BHC	µg/L	210	210	210	(-)	
Aldrin/Dieldrin	µg/L	17	(-)	(-)	(-)	
Chlordane	µg/L	3	(-)	(-)	(-)	
DDT	µg/L	2	2	2	2	
Heptachlor dan heptachlor epoxide	µg/L	18	(-)	(-)	(-)	

Lindane	µg/L	56	(-)	(-)	(-)	
Methoxyclor	µg/L	35	(-)	(-)	(-)	
Endrin	µg/L	1	4	4	(-)	
Toxaphan	µg/L	5	(-)	(-)	(-)	

Keterangan :

mg = milligram

µg = microgram

mL = milimeter

L = liter

Bq = Bequerel

MBAS = *Methylene Blue Active Substances*

ABAM = Air Baku untuk Air Minum

Logam berat merupakan logam terlarut

Nilai di atas merupakan batas maksimum, kecuali untuk pH dan DO.

Bagi pH merupakan nilai rentang yang tidak boleh kurang atau lebih dari nilai yang tercantum.

Nilai DO merupakan batas minimum

Arti (-) di atas menyatakan bahwa untuk kelas termasuk, parameter tersebut tidak dipersyaratkan

Tanda \leq adalah lebih kecil atau sama dengan

Tanda $<$ adalah lebih kecil

PRESIDEN REPUBLIK INDONESIA

ttd.

MEGAWATI SOEKARNO PUTRI



IPB Culture Collection
Departemen Biologi Fakultas Matematika dan IPA
 Jls. Agribis, Gedung Perikanan Lt. 5/Wing 3
 Kampus IPB Darmaga, Bogor 16830
 Tel./Fax : (0251) 8627378
 E-mail: ipbcc@ipb.ac.id, ipbcc@biologi.ipb.com
 http://www.mikrobiologi.ipb.com



LAPORAN HASIL UJI
TEST RESULT

No. Order/Request Number : 044/IPBCC/An.Mik/11/11
 No. Contoh/Sampel Number : 147

HASIL ANALISIS PENGUJIAN MIKROBIOLOGI

No.Ccontoh	Parameter Analisis	Hasil (sel/gram)	Metode Uji
117	<i>Proteusomonas</i> sp.	$8,40 \times 10^7$	TPC
	Bakteri kumputan	$4,87 \times 10^7$	TPC

Manajer Teknik
 Technical Manager



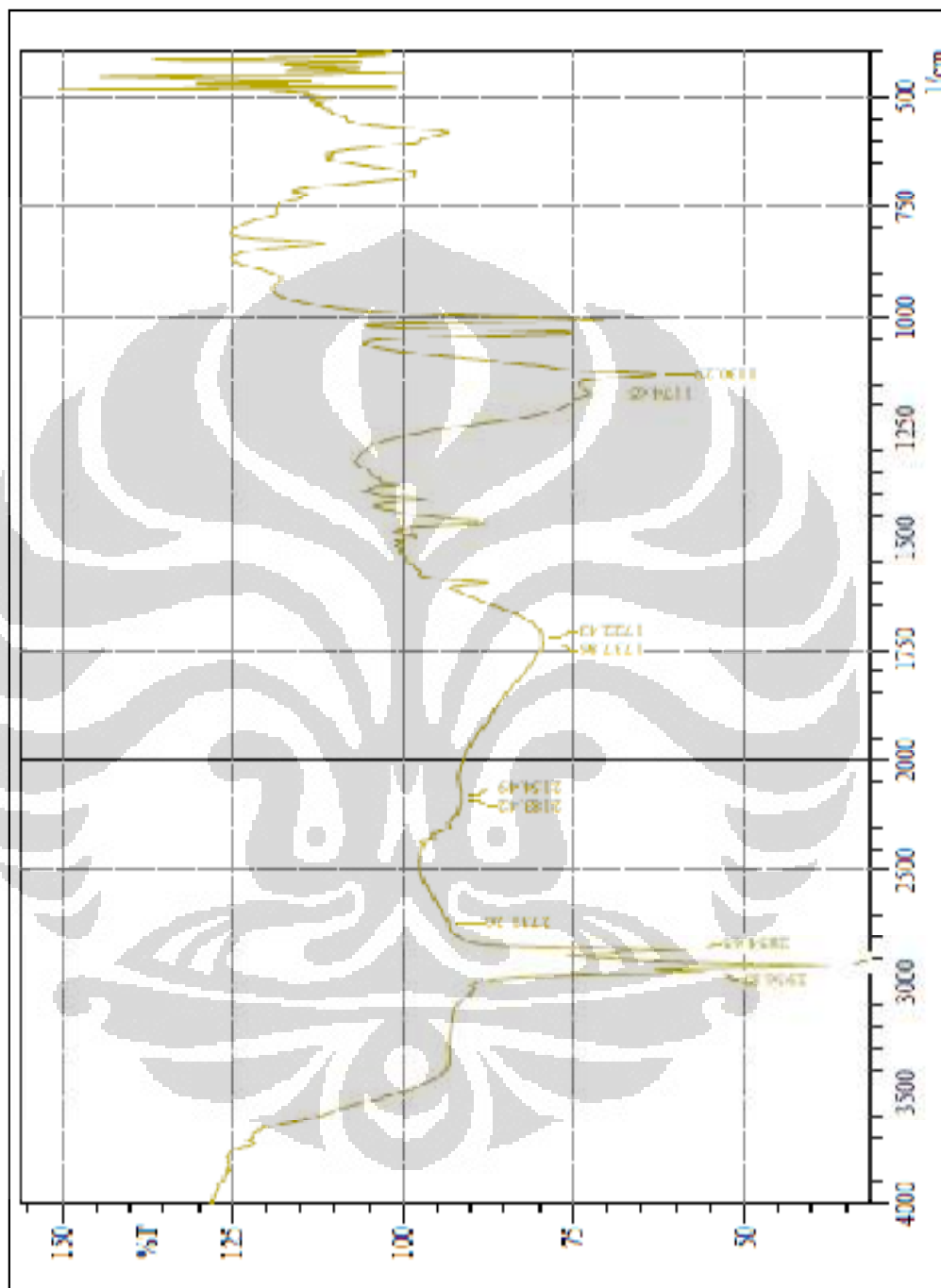

(Dr. Nisa Rachmania MSc, MSi)

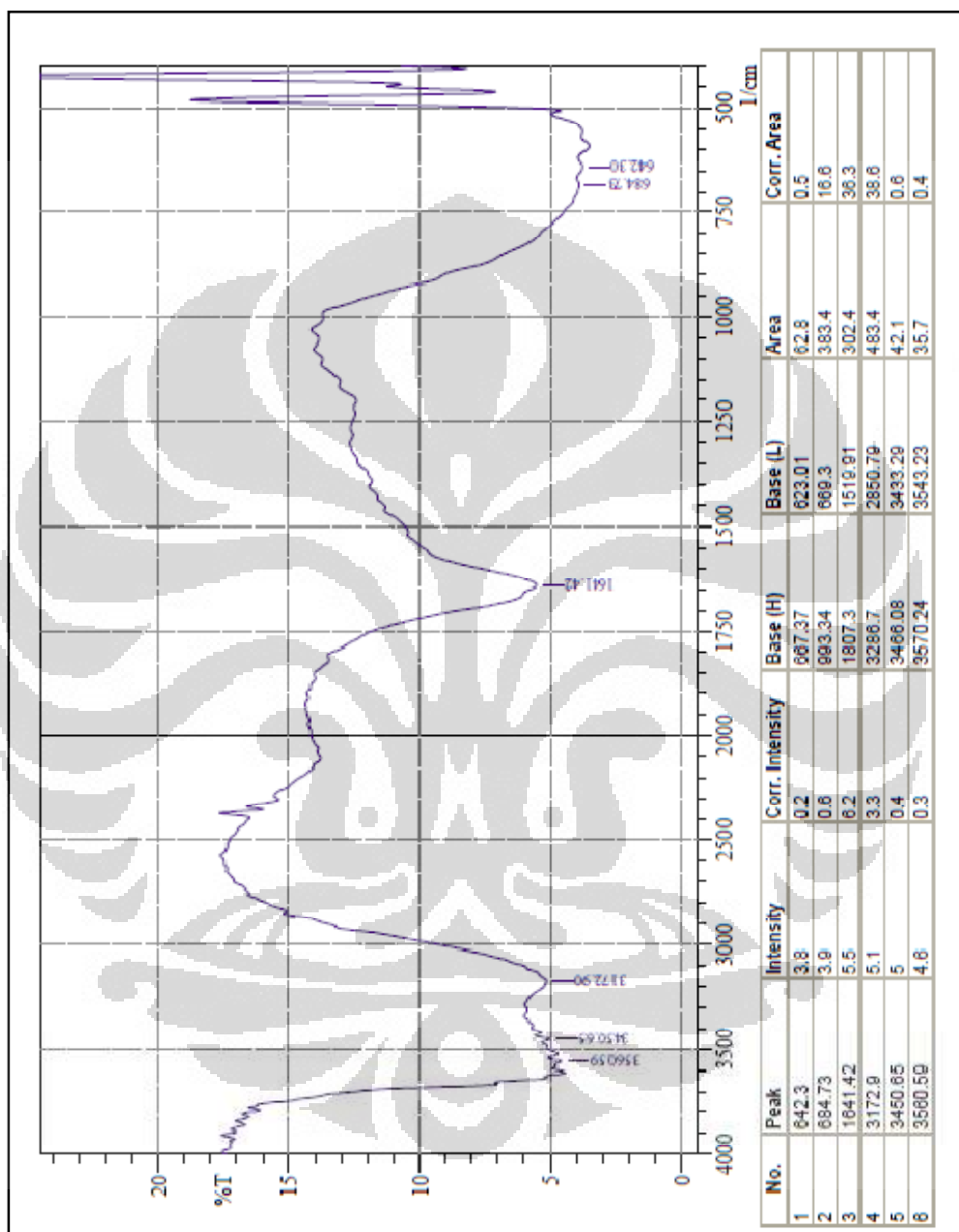
IPBCC HANYA BERTANGGUNG JAWAB ATAS HASIL CONTOH YANG DIUJI DI IPBCC
 DAN TIDAK BERTANGGUNG JAWAB ATAS UJI BANDING CONTOH

Halaman 2 dari 2

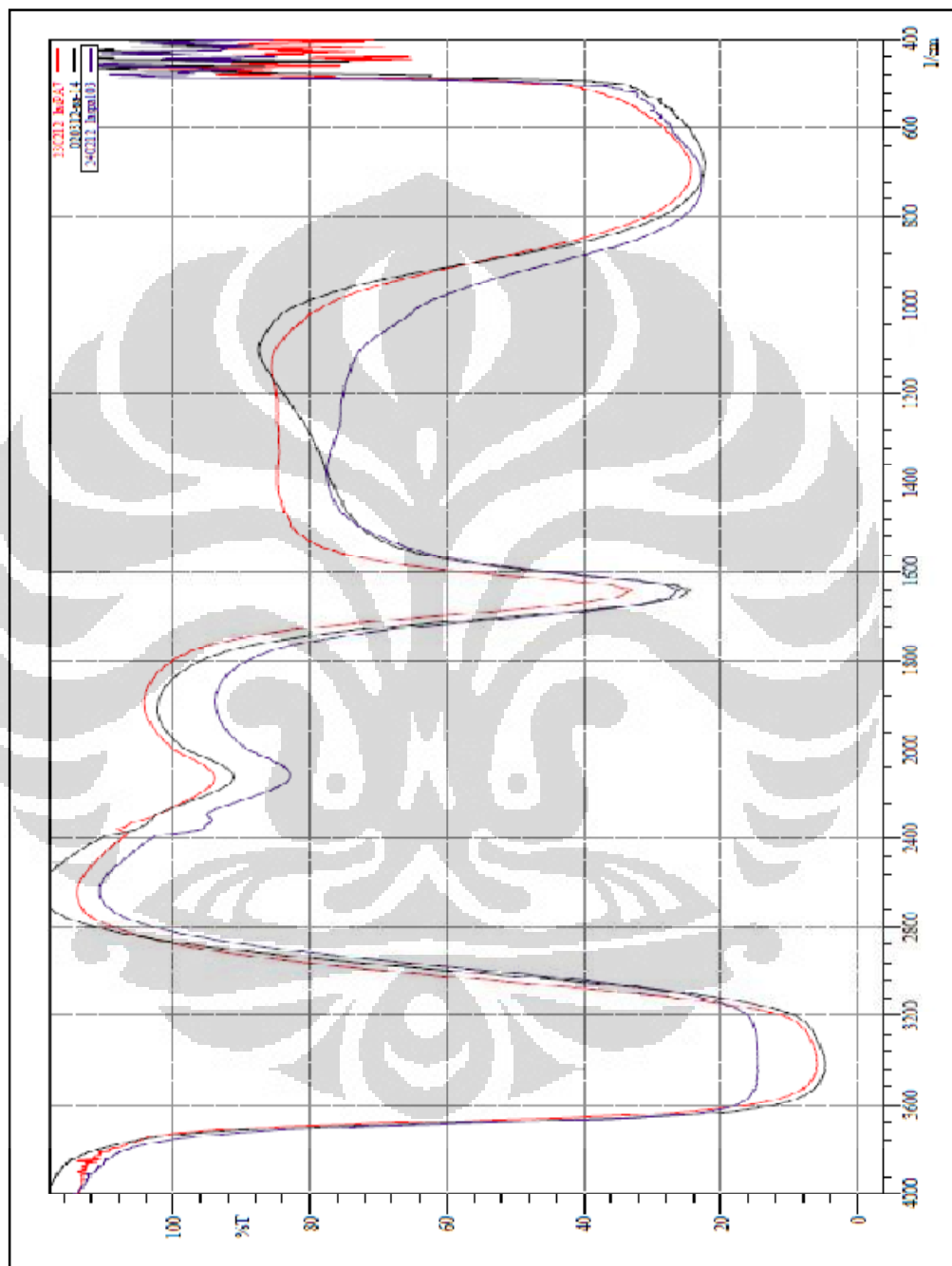
FT.5.10 Laporan Hasil Uji (LHC) 044

Lampiran 9 Spektrum Infra Merah untuk Standar (LAS)

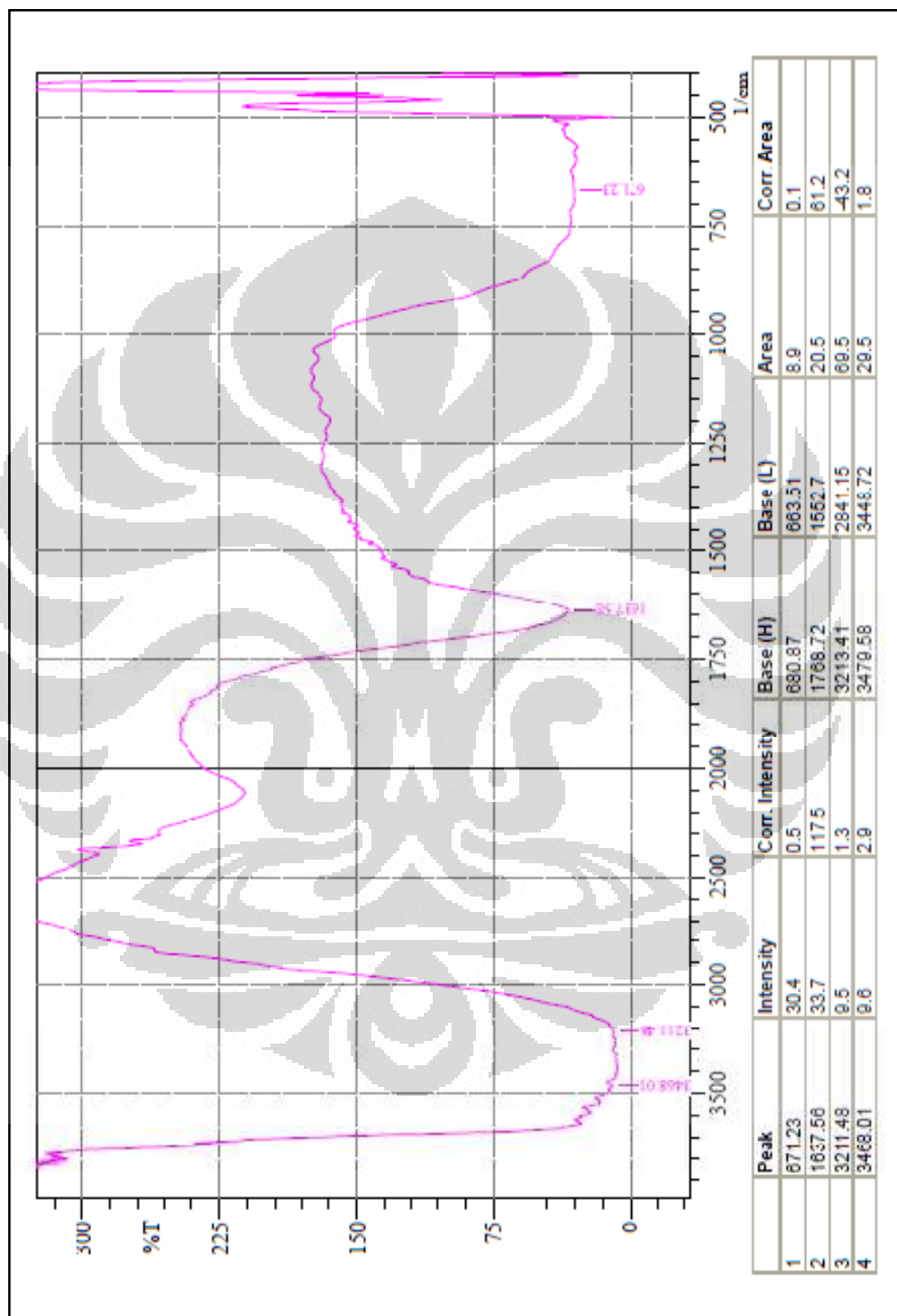


Lampiran 10 Spektrum Infra Merah Bahan *Pseudomonas* sp. A (Hari ke -28)

Lampiran 11 Spektrum Infra Merah Bahan *Pseudomonas* sp. A (Hari ke -7, 10, dan 14)



Lampiran 12 Spektrum Infra Merah Bahan Bakteri Campuran (Hari ke -28)



Lampiran 13 Spektrum Infra Merah Bahan Bakteri Campuran (Hari ke -7, 10, dan 14)

