

Pengaruh Penambahan Bakteri *Bacillus subtilis* Terhadap Biodegradasi DDT Oleh Jamur Pelapuk Putih *Pleurotus eryngii*

Dwi Lestari dan Adi Setyo Purnomo

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: adi.spurnomo@gmail.com

Abstrak—Pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Pleurotus eryngii* telah diteliti. *B. subtilis* ditambahkan ke dalam 10 mL kultur *P. eryngii* masing-masing dengan jumlah 1, 3, 5, 7, dan 10 mL ($1 \text{ mL} \approx 1,573 \times 10^8 \text{ sel}$). Recovery DDT dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Analisa jumlah degradasi dan metabolit produk yang terbentuk menggunakan instrumen HPLC dan GC-MS. Degradasi DDT tertinggi ditunjukkan pada penambahan 3 mL *B. subtilis* dengan jumlah degradasi sebesar 88,26%, sedangkan degradasi DDT terendah terjadi pada penambahan 1 mL *B. subtilis* dengan jumlah degradasi sebesar 41,84%. Metabolit produk yang dihasilkan dari proses degradasi ini adalah DDD [*l,l-dikloro-2,2-bis(p-klorofenil) etana*] dan DDE [*l,l-dikloro-2,2-bis(p-klorofenil) etilena*].

Kata Kunci—Biodegradasi; *Pleurotus eryngii*; *Bacillus subtilis*; DDT.

I. PENDAHULUAN

Perkembangan sektor pertanian telah mengakibatkan peningkatan pencemaran lingkungan oleh pestisida sintetik. Diantara pestisida sintetik tersebut, terdapat pestisida organoklorin [26]. Pestisida organoklorin pertama yang ditemukan dan dipergunakan ialah Dikloro Difenil Trikloroetana (DDT). DDT pertama kali disintesis oleh Othmar Zeidler tahun 1873 namun efek insektisidanya baru ditemukan oleh Paul Muller pada tahun 1939 di Swiss [27].

DDT merupakan pestisida sintetik tidak berwarna dan berbentuk kristal [15]. DDT tidak larut dalam air tetapi memiliki kelarutan yang baik sebagian besar pelarut organik, lemak dan minyak. *Lethal Dose 50* (*LD₅₀*) DDT pada tikus dewasa berkisar antara 113-800 mg/kg, 150-300 mg/kg dalam mencit, 500-750 mg/kg dan lebih dari 1.000 mg/kg pada domba dan kambing [22], 300 mg/kg pada babi, 400 mg/kg dalam kelinci [2]. DDT menjadi sangat terkenal dibidang pertanian karena efektifitasnya dalam memberantas hama tanaman. DDT juga menyelamatkan jutaan orang dari penyakit malaria dan tifus dengan mengendalikan serangga penularnya [9].

Disisi lain, DDT juga mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan karena keberadaan dan sifatnya yang tidak cepat terurai (persisten), dapat terakumulasi dalam jaringan tubuh, bersifat estrogenik dan mempunyai efek karsinogenik terhadap fungsi sistem syaraf. Diperkirakan butuh waktu sekitar 10 sampai 20 tahun untuk menghilangkan DDT dari individu jika keberadaannya dihentikan secara total, sedangkan senyawa metabolit utamanya yaitu Dikloro Difenil

Etilena (DDE) kemungkinan masih tetap ada dan juga berbahaya [6]. Sehingga atas rekomendasi EPA (*Environmental Protection Agency*) Amerika Serikat, DDT dilarang digunakan terhitung 1 Januari 1973. Dibeberapa negara maju (khususnya Amerika Utara dan Eropa Barat) DDT telah dilarang penggunaanya karena sifatnya yang cenderung untuk terakumulasi dalam tubuh manusia, hewan, burung dan lingkungan (Marrs, 2004). Banyak negara telah melarang penggunaan DDT kecuali dalam keadaan darurat terutama jika muncul wabah penyakit seperti malaria dan demam berdarah [27].

Cara mengurangi dampak buruk dari penggunaan DDT dalam pestisida dapat dilakukan dengan mendegradasi senyawa tersebut. DDT dapat didegradasi dengan beberapa cara yaitu oksidasi kimiawi, pembakaran termal, pirolisis, fotodegradasi, oksidasi fotokalalitik dan biodegradasi [10]. Namun metode yang paling aman, efisien dan memiliki biaya rendah adalah metode biodegradasi. Biodegradasi didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi senyawa organik oleh mikroorganisme, baik di tanah, perairan atau instalasi pengolahan air limbah [8]. Biodegradasi terjadi karena mikroorganisme dapat melakukan metabolisme zat organik melalui sistem enzim untuk menghasilkan karbondioksida, air dan energi [13].

Beberapa mikroorganisme yang sudah pernah digunakan untuk mendegradasi DDT antara lain *Phanerochaete chrysosporium* [6], *Pleurotus florida* dan *Pleurotus sajor-caju* [3], *Pleurotus ostreatus* [20], *Xerocomus chrysenteron* [12], *Pseudomonas aeruginosa* [4], *Chryseobacterium sp.* [21], *Ganoderma ligzhi* [29], *Phlebia brevispora* [5]. Pada penelitian ini biodegradasi DDT dilakukan dengan memanfaatkan jamur pelapuk putih (*white rot fungus*) *Pleurotus eryngii*. Kemampuan mikroorganisme khususnya jamur pelapuk putih dalam mendegradasi DDT karena mikroorganisme tersebut memiliki sistem enzim ligninolitik yang berperan dalam mendegradasi DDT [18]. Kemampuan jamur pelapuk putih untuk mendegradasi senyawa pencemar organik tergantung pada kemampuannya dalam menghasilkan enzim ligninolitik termasuk lignin peroksidase, mangan peroksidase dan lakase [23].

Jamur *P. eryngii* mampu mendegradasi beberapa polutan dan senyawa pencemar organik seperti piren [28], *bisphenol*; *nonylphenol* dan *tetrabromobisphenol* [7]. Selain itu, Arisoy (1998) melaporkan bahwa *P. eryngii* dapat mendegradasi DDT sebesar 65,98% dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) dengan waktu inkubasi selama 20 hari. Proses degradasi tersebut kurang maksimal karena membutuhkan waktu inkubasi yang

cukup lama. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengoptimasi proses degradasi DDT yakni dengan penambahan bakteri *B. subtilis*.

Bakteri *B. subtilis* merupakan bakteri penghasil biosurfaktan berjenis surfaktin [17]. Biosurfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang mampu menurunkan tegangan permukaan dan tegangan antar muka dua fasa [1]. Konsentrasi 0,005% dari surfaktin mampu menurunkan tegangan permukaan sebesar 27 mN/m sehingga membuat surfaktin menjadi salah satu biosurfaktan terbaik [16]. Sarbini (2012) melaporkan bahwa biodegradasi piren dengan konsentrasi 40 mg/L oleh *B. subtilis* C19 menghasilkan 5,22% produk bioemulsifier yang berperan dalam meningkatkan bioavailabilitas piren dalam substrat sehingga presentase piren yang terdegradasi mencapai 94,10%. Biosurfaktan yang dihasilkan dari metabolisme bakteri mampu meningkatkan kelarutan antara DDT yang bersifat non polar dalam media kultur yang bersifat polar [11]. Pada penelitian lain yang telah dilakukan oleh Hermansyah (2014) penambahan sebanyak 5 mL bakteri *B. subtilis* dapat meningkatkan degradasi DDT oleh *P. ostreatus* sebesar 43%. Oleh karena itu, pada penelitian ini adanya penambahan bakteri *B. subtilis* pada kultur *P. eryngii* diharapkan dapat meningkatkan proses degradasi DDT.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Regenerasi Jamur *Pleurotus eryngii*

Jamur *P. eryngii* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 7 hari [19].

B. Persiapan Kultur Cair Jamur *P. eryngii*

Miselium jamur hasil regenerasi yang berdiameter 1 cm diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB). Selanjutnya, dipre-inkubasi pada suhu 25°C selama 7 hari [19].

C. Regenerasi Bakteri *Bacillus subtilis*

Bakteri *B. subtilis* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [19].

D. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri *B. subtilis*

Sebanyak 1 koloni bakteri hasil regenerasi diinokulasi ke dalam 486 mL media NB. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan dikocok dengan kecepatan 180 rpm selama 27 jam. Kemudian diukur *optical density* (OD) pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis setiap 1 jam sekali. Dibuat kurva dengan absorbansi sebagai fungsi waktu [19].

E. Persiapan Kultur Cair Bakteri *B. subtilis*

Sebanyak satu koloni bakteri hasil regenerasi diinokulasi ke dalam media 90 mL NB, kemudian dipre-inkubasi pada suhu 37°C selama 21 jam dan dikocok dengan kecepatan 180 rpm [19].

F. Pembuatan Kurva Standar DDT

Larutan DDT yang digunakan memiliki konsentrasi 25, 50, 75 dan 100% (100% = 0,25 µmol DDT yang berasal dari 50 µL DDT 5 mM). Larutan standar dibuat dengan mencampurkan DDT dan 50 µL piren. Campuran dilarutkan dengan *ultrasonic cleaner* dan dianalisa

menggunakan HPLC dengan fasa gerak asetonitril 80%. Selanjutnya, dibuat kurva dengan nilai perbandingan luas area puncak DDT/piren sebagai fungsi konsentrasi DDT [19].

G. Biodegradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii*

Sebanyak 10 mL kultur *P. eryngii* yang telah di pre-inkubasi selama 7 hari masing-masing ditambah 50 µL dari DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 µmol). Tiap erlenmeyer ditambah PDB hingga volume total menjadi 20 mL. Kemudian, masing-masing erlenmeyer ditambah oksigen hingga jenuh lalu ditutup dengan penutup kaca dan diberi parafilm untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C [19].

H. Biodegradasi DDT oleh Bakteri *B. subtilis*

Erlenmeyer yang berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) ditambah bakteri hasil pre-inkubasi selama 21 jam masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7, dan 10 mL (1 mL ≈ 1,573 x 10⁸ sel). Tiap erlenmeyer ditambah 50 µL dari DDT dengan konsentrasi 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 µmol) dan ditambah PDB hingga volume total menjadi 20 mL. Tiap erlenmeyer ditambah oksigen hingga jenuh lalu ditutup dengan penutup kaca dan diberi parafilm untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Sebagai kontrol dilakukan degradasi DDT menggunakan kultur bakteri yang telah dinonaktifkan [19].

I. Pengaruh Penambahan Bakteri *B. subtilis* terhadap Biodegradasi DDT oleh *P. eryngii*

Sebanyak 10 mL kultur *P. eryngii* hasil pre-inkubasi ditambah dengan kultur *B. subtilis* masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL ≈ 1,573 x 10⁸ sel). Kemudian, masing-masing kultur ditambah 50 µL dari DDT dengan konsentrasi 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 µmol) dan ditambah PDB hingga volume total masing-masing campuran menjadi 20 mL. Tiap erlenmeyer ditambah oksigen hingga jenuh lalu ditutup dengan penutup kaca dan diberi parafilm untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C [19].

J. Perolehan Kembali (Recovery) DDT

Tiap kultur hasil inkubasi ditambah 20 mL metanol dan 50 µL piren 5mM kemudian dipindahkan ke dalam tabung falkon. Erlenmeyer dicuci menggunakan 5 mL aseton untuk mengambil sampel yang masih menempel pada tabung kemudian dituang ke dalam tabung falkon untuk selanjutnya dihomogenkan menggunakan *homogenizer*. Sampel yang telah homogen kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi berkecepatan 300 rpm selama 7 menit [19].

Sampel yang telah dipisahkan dengan sentrifugasi kemudian disaring menggunakan corong Buchner dalam kondisi vakum dengan kertas saring whatman 41 diameter 90 mm. Filtrat dimasukan ke dalam labu bundar dan residu yang terdapat pada kertas saring dikeringkan dan ditimbang untuk mengetahui berat biomassa [19].

Filtrat ditampung dalam labu bundar dan dievaporasi pada suhu 64°C hingga volume tersisa sebanyak 15 mL. Setelah dievaporasi sampel dipindah ke dalam corong pisah. Labu bundar dicuci dengan 50 mL air dan 50 mL

n-heksan sebanyak 2 kali. Selanjutnya, sampel dikocok biasa dengan tangan dan dikeluarkan uap n-heksan bertekanan yang ada di dalam corong pisah kemudian dikocok menggunakan *shaker* secara konstan berkecepatan sedang selama 10 menit. Fasa organik ditampung dalam erlenmeyer sedangkan fasa aquos diekstrak kembali dengan 20 mL aquades dan 50 mL n-heksan sebanyak 2 kali [19].

Fasa organik dari kedua ekstraksi digabung dalam erlenmeyer yang sama dan ditambah 4 sendok Na₂SO₄ anhidrat ke dalamnya. Fasa organik disaring menggunakan kapas yang telah diberi Na₂SO₄ anhidrat. Filtrat kemudian dievaporasi pada suhu 67°C hingga tersisa sebanyak 5 mL. Ekstrak n-heksan diambil 2 mL untuk analisa GC-MS sedangkan 3 mL sisanya dievaporasi hingga kering kemudian dilarutkan dengan 2 mL metanol. Filtrat disonifikasi dan disimpan dalam botol vial untuk analisa HPLC [19].

Pada analisa HPLC digunakan kolom nonpolar inertsil ODS-3 dan menggunakan pelarut metanol : air (1% TFA) dengan perbandingan 82 : 18 mL. Laju alir yang digunakan 1 mL/menit. Sedangkan untuk analisa GC-MS menggunakan sistem kolom HP-5MS dengan ukuran 30 m X 250 µm X 0,25 µm. Suhu oven diatur pada 80°C selama 3 menit, dinaikkan hingga mencapai 320°C dan ditahan selama 2 menit dengan kenaikan konstan 20°C per menit, kemudian suhu diturunkan menjadi 300°C dan ditahan selama 5 menit [19].

III. HASIL DAN DISKUSI

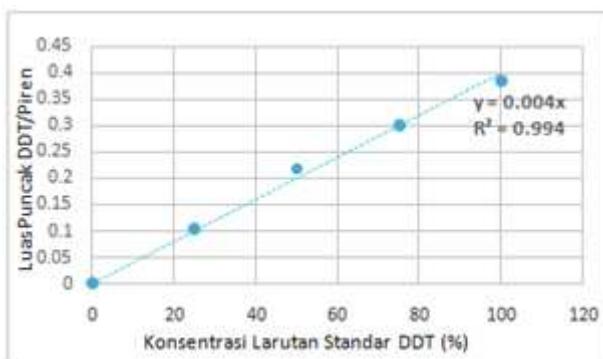
A. Kurva Standar DDT

Kurva standar DDT adalah nilai perbandingan luas puncak DDT/piren terhadap konsentrasi larutan standar yang digambarkan dalam sebuah grafik dengan sumbu x adalah konsentrasi DDT dan sumbu y adalah perbandingan luas puncak DDT/piren. Kurva standar DDT dibuat dengan cara mengukur luas puncak DDT/piren dengan variasi konsentrasi larutan standar 0, 25, 50, 75 dan 100% (100% = 0,25 µmol DDT yang berasal dari DDT 5 mM) menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Fasa gerak yang digunakan adalah metanol dan air dengan perbandingan 82% : 18%. Hasil analisis ditunjukkan pada tabel 3.1 berikut.

TABEL 3.1 DATA KURVA STANDAR DDT

Konsentrasi (%)	Luas Puncak DDT	Luas Puncak Piren	Perbandingan Luas Puncak DDT/Piren
0	0	0	0
25	7894,8	8212,8	0,104
50	79824,9	17472,9	0,219
75	78336,4	23601,5	0,301
100	75547,9	29219,5	0,387

Berdasarkan data pada tabel 3.1 diatas maka dapat dibuat grafik seperti pada gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Kurva Standar DDT

Dari grafik kurva standar diatas maka diperoleh persamaan regresi 0,004x. Persamaan regresi yang diperoleh digunakan sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel. Hubungan konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren dapat diketahui dengan cara mencari nilai koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi (r) adalah bilangan yang menyatakan besar kecilnya hubungan antara dua variabel. Besarnya koefisien korelasi antara +1 s/d -1. Koefisien korelasi menunjukkan kekuatan (*strength*) hubungan linier dan arah hubungan dua variabel. Dari hasil perhitungan pada percobaan ini diketahui nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,994, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren memiliki hubungan linier yang sangat kuat.

Hubungan signifikansi antara larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren diketahui dengan melakukan uji signifikansi koefisien korelasi (uji t). Selain itu uji t juga digunakan untuk mengetahui kelayakan persamaan regresi dari kurva standar. Uji signifikansi koefisien korelasi (uji t) adalah uji untuk memberikan gambaran mengenai kesempatan benar dari hasil suatu riset. Jika angka signifikansi sebesar 0,05 maka tingkat kepercayaan sebesar 95%. Sedangkan, jika angka signifikansi sebesar 0,1 maka tingkat kepercayaan adalah 90%. Pada penelitian ini uji t dilakukan dengan tingkat signifikansi 0,05. H₀ menyatakan tidak ada hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren. Sedangkan, H₁ menyatakan hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren. Dari hasil perhitungan pada lampiran 2 diketahui t_{hitung} > t_{tabel} maka H₀ ditolak dan H₁ diterima. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren. Dari hasil tersebut juga dapat diketahui bahwa persamaan regresi linier kurva standar layak digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

B. Pengaruh Penambahan Bakteri *B. subtilis* terhadap Biodegradasi DDT oleh *P. eryngii*

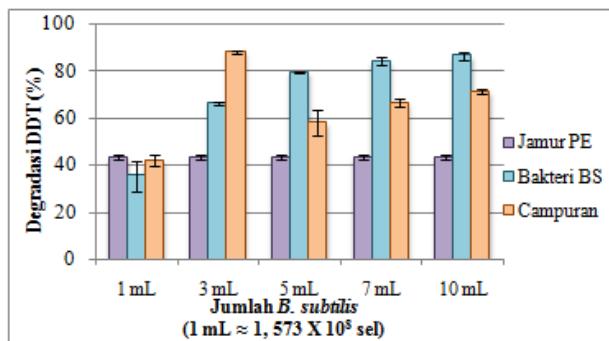
Sebanyak 10 mL Kultur *P. eryngii* yang telah dipreinkubasi selama 7 hari ditambah bakteri *B. subtilis* masing-masing 1, 3, 5, 7 dan 10 mL, kemudian ditambah DDT sebanyak 50 µL 5 mM dalam DMSO dan media PDB hingga volume total 20 mL. Kultur dalam erlenmeyer ditambah oksigen hingga jenuh, ditutup dengan penutup kaca dan diberi parafilm untuk mencegah penguapan DDT dan kontaminan. Erlenmeyer

digoyang perlahan untuk meratakan persebaran DDT dalam kultur. Kultur diinkubasi statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Langkah terakhir pada penelitian ini adalah ekstraksi yang bertujuan untuk mengetahui besarnya DDT yang terdegradasi. Langkah-langkah dalam proses ekstraksi seperti yang telah dijelaskan dalam bab 3 poin J. Hasil analisa degradasi DDT oleh *P. eryngii* dengan penambahan *B. subtilis* menggunakan HPLC ditunjukkan pada tabel 3.2 berikut.

TABEL 3.2 DATA DEGRADASI DDT OLEH *P. ERYNGII* DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI *B. SUBTILIS*

Jumlah Bakteri (mL)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
1	54,86	41,84	2,43
3	8,44	88,26	0,68
5	38,68	58,02	5,61
7	30,13	66,57	1,63
10	25,36	71,33	0,83

Gabungan antara data jumlah degradasi DDT oleh bakteri *B. subtilis* dan jumlah degradasi DDT campuran *B. subtilis* dan *P. eryngii* seperti yang ditunjukkan pada tabel 3.2 maka akan diperoleh data perbandingan keduanya seperti ditunjukkan pada gambar 3.2 berikut.

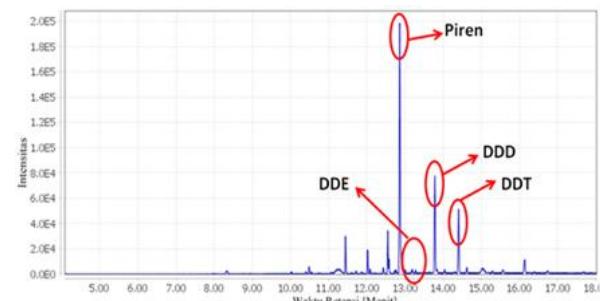


Gambar 3.2 Perbandingan Degradasi DDT oleh *P. eryngii*, *B. subtilis* dan Campuran Keduanya

Berdasarkan grafik pada gambar 3.2 dapat diketahui bahwa penambahan bakteri *B. subtilis* dalam kultur *P. eryngii* memiliki pengaruh terhadap degradasi DDT. Pada penambahan 1 mL *B. subtilis* tidak terjadi peningkatan kemampuan degradasi, hal tersebut terjadi karena penambahan jumlah bakteri yang terlalu kecil menyebabkan produksi metabolit sekunder yang digunakan untuk proses degradasi DDT menurun, akibatnya penambahan bakteri pada jumlah tersebut tidak dapat meningkatkan kemampuan degradasi DDT oleh jamur, sehingga jumlah degradasi jamur saja dan campuran hampir sama. Jumlah optimum *B. subtilis* yang ditambahkan ke dalam kultur *P. eryngii* untuk mendekradasi DDT adalah 3 mL. *B. subtilis* dapat meningkatkan proses degradasi DDT oleh *P. eryngii* karena kemampuannya dalam memproduksi biosurfaktan berupa surfaktin [17]. Namun, pada penambahan 5 mL *B. subtilis* terjadi penurunan degradasi DDT menjadi 58,02%. Penurunan tersebut disebabkan oleh adanya kompetisi antara jamur dan bakteri dalam proses metabolisme sehingga *B. subtilis* menghasilkan beberapa peptida yang berperan sebagai antibiotik dan antifungi seperti *subtilin*, *aterimin*, *iturin*, *serexin*, *basillomicin*, *basillisin*, asam 10 sianida, fengimisin, surfaktin dan basillisosin [25].

Dari kromatogram GC terdeteksi beberapa senyawa antara lain piren pada waktu retensi 12,83 menit, DDE pada waktu retensi 13,20 menit, DDD pada waktu retensi 13,75 menit dan DDT pada waktu retensi 14,43 menit.

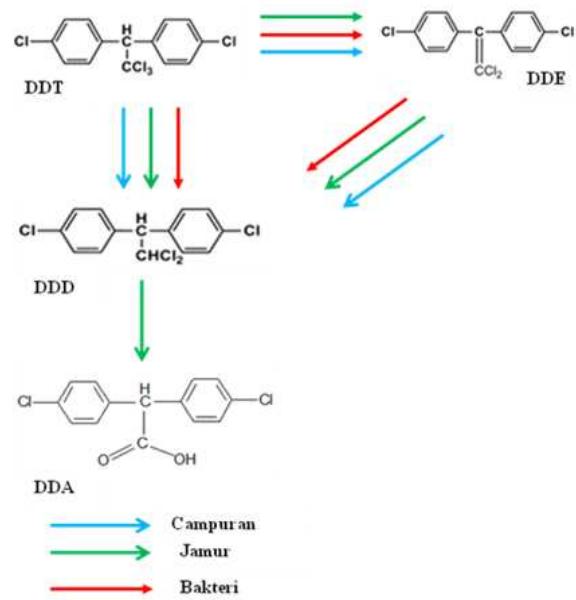
Dari analisa tersebut dapat diketahui bahwa metabolit produk yang terbentuk dari degradasi DDT oleh campuran *P. eryngii* dan *B. subtilis* adalah DDD dan DDE.



Gambar 3.3 Kromatogram GC Hasil Analisa Sampel *P. eryngii* dan *B. subtilis*

C. Perkiraan Jalur Degradasi DDT

Pada penelitian ini diperoleh beberapa metabolit produk hasil degradasi DDT pada tiap-tiap kultur. Pada degradasi DDT oleh jamur *P. eryngii* diperoleh metabolit produk antara lain DDD, DDE dan DDA. Pada degradasi DDT oleh bakteri *B. subtilis* diperoleh metabolit produk berupa DDE dan DDD. Degradasi DDT oleh campuran jamur *P. eryngii* dan bakteri *B. subtilis* diperoleh metabolit produk berupa DDD dan DDE. Dari beberapa metabolit produk yang diperoleh dapat diusulkan jalur yang mungkin terjadi pada proses degradasi DDT (Gambar 3.4).



Gambar 3.4 Jalur Degradasi DDT oleh *P. eryngii*, *B. subtilis* dan Campuran Keduanya

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan bakteri *B. subtilis* dapat meningkatkan kemampuan degradasi *P. eryngii*. Penambahan 3 mL bakteri *B. subtilis* ke dalam 10 mL kultur *P. eryngii* meningkatkan kemampuan degradasi DDT paling optimal dengan jumlah degradasi tertinggi yaitu 88,26%, sedangkan pada penambahan 1 mL memiliki jumlah degradasi terendah yaitu 41,84%.

2. Metabolit produk yang dihasilkan dari penambahan *B. subtilis* pada biodegradasi DDT oleh *P. eryngii* adalah DDD dan DDE.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh dana dari proyek penelitian untuk "Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (BUPT) 2016 No:078/sp2h/lrdrpm/II/2012, dari Direktorat Jendral Penguanan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Abalos, A. dkk., (2001). Physicochemical and Antimicrobial Properties of New Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from Soybean Oil Refinery Wastes. *Langmuir* 17, 1367-1371.
- [2] Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (ATSDR), (1994). *Toxicological profile for 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD (Update)*. Atlanta: US Public Health Service.
- [3] Arisoy, M. (1998). *Biodegradation of Chlorinated Organic Compounds by White-Rot Fungi*. Tukiye: Department of Basic Health Science, Faculty of Health Educatio University of Ankara.
- [4] Ashari, K. (2014). *Pengaruh Penambahan Pseudomonas aeruginosa terhadap Biodegradasi DDT oleh Pleurotus ostreatus*. Surabaya: FMIPA ITS.
- [5] Ayu, D. K. (2016). *Pengaruh Penambahan Bakteri Ralstonia picketti terhadap Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih Phlebia brevispora*. Surabaya: FMIPA ITS.
- [6] Bumpus, A. J., & Steven, D. A. (1987). Biodegradation of DDT by White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 1008-2001.
- [7] Chang, B. V & Chang, Y. M. (2014). Biodegradation of Toxic Chemicals by *Pleurotus eryngii* in Submerged Fermentation and Solid State Fermentation. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 1-7.
- [8] Chereminoff, N. P. (1996). *Safety Management Practices for Hazardous Materials*. New York: Marcel Dekker Publishers.
- [9] Djojosumarto, P. (2008). *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- [10] Guniazurdi, J. (2001). *Fotokatalisis Pada Permukaan TiO₂: Aspek Fundamental dan Aplikasinya*. Jakarta: Seminar Kimia Fisika II Jurusan Kimia Universitas Indonesia.
- [11] Hermansyah, F. T. (2014). *Optimasi Degradasi DDT oleh Pleurotus ostreatus dengan Penambahan Bakteri Bacillus subtilis*. Surabaya: FMIPA ITS.
- [12] Huang, Y & Wang, J. (2013). Degradation and Mineralization of DDT by The Ectomycorrhizal Fungi, *Xerocomus chrysenteron*. *Chemosphere*, 760-764.
- [13] Husin, A. (2008). *Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Dengan Biofiltrasi Anaerob dalam Reaktor Fixed-Bed*. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- [14] Marrs, T. C. dkk., (2004). *Pesticide Toxicology and International Regulation*. New York: J. Wiley.
- [15] Mish, Frederick C. (1985). *Webster's Ninth New Collegiate Dictionary 9th Edition*. Springfield, MA: Merriam-Webster.
- [16] Mulligan, C. N. (2005). Environmental Application for Biosurfactants. *Environmental Journal*, 183-198.
- [17] Mulligan, C. N., & Gibbs, B. F. (1993). Factors Influencing The Economics of Biosurfactants. *Biosurfactants Production, Properties and Application*, 329-371.
- [18] Pointing, S. (2001). Feasibility of Bioremediation by White-Rot Fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 20-23.
- [19] Purnomo, A. S., Kamei, I., dan Kondo, R. (2008). Degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDT) by brown-rot fungi. *Journal of bioscience and bioengineering*, 614-621.
- [20] Purnomo, A. S. et al., (2010). Application of Mushroom Waste Medium from *Pleurotus ostreatus* for Bioremediation of DDT-Contaminated Soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 350-357.
- [21] Qu, J. et al., (2015). Novel *Chryseobacterium* sp. PYR2 Degrades Various Organochlorine Pesticides (OCPs) and Achieves Enhancing Removal and Complete Degradation of DDT in Highly Contaminated Soil. *Journal of Environmental Management*, 350-357.
- [22] Royal Society of Chemistry, (1991). *The Agrochemicals Handbook*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry Information Service.
- [23] Ryu, W. R. dkk., (2000). Biodegradation of Pentachlorophenol by white-rot Fungi Under Ligninolytic and Nonligninolytic Conditions. *Biotechnology Bioprocess Engineering*, 211-214.
- [24] Sarbini, K. (2012). *Biodegradasi Pyrene Menggunakan Bacillus subtilis* C19. Depok: Fakultas Teknik UI.
- [25] Schaechter, M. (2004). *The Desk Encyclopedia of Microbiology*. California USA: Elsevier Academic Press.
- [26] Soemirat, J. (2005). *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- [27] Tarumingkeng, R. C. (1989). *Pengantar Toksikologi Insektisida*. Bogor: IPB Press.
- [28] The, Z. C & Hadibarata Tony. (2014). Enhanced Degradation of Pyrene and Metabolite Identification by *Pleurotus eryngii* F032. *Water Air Soil Pollut*, 225.
- [29] Yuniarti, E. P. (2016). *Pengaruh Penambahan Bakteri Ralstonia picketti terhadap Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih Ganoderma lingzhi*. Surabaya: FMIPA ITS.