

BIODEGRADASI 2,4-DIKLOROFENOL OLEH BAKTERI *ALCALIGENES* sp DAN *BACILLUS* sp

¹⁾ Edison Effendy, ²⁾ Rudy Laksmono Widajatno

¹⁾ The Edison Foundation – Jakarta

²⁾ Jurusan Teknik Lingkungan, U P N “Veteran” Jawa Timur, Surabaya

E-mail : rlwidyatno@yahoo.com

Abstract

2,4-dichlorophenol compound may be present in the wastewater from the process of the bleaching of pulp using chlorine. In domestic activity, 2,4-dichlorophenol is also generated during the combustion of organic material in the presence of chloride. The ability of microorganism to degrade chemical absolutely depends on the toxicity of the compound. The halogen in 2,4-dichlorophenol will have a deactivating effect in microorganism. To isolate the microorganism which can degrade 2,4-dichlorophenol, the source of the microorganism used was coming from the wastewater of the Indorayon pulp plant using chlorine as the bleaching agent. This microorganism should be acclimatized with 2,4-dichlorophenol, and then be isolated and identified. Based on identified bacteria using biochemical method, reported that 2 species bacteria which are able to degrade 2,4-dichlorophenol is *Acaligenes* sp (gram negative), and *Bacillus* sp (gram positive). The biodegradation of 2,4-dichlorophenol is started from day of 3 after processing, until 21 days which the final concentration of 2,4-dichlorophenol is 0,2 mg/l from initial 40 mg/l for *Alcaligenes* sp bacteria

Key words : *Alcaligenes* sp, *Bacillus* sp, biodegradation of 2,4-dichlorophenol

Abstrak

Senyawa 2,4-diklorofenol dapat diperoleh dalam air limbah proses pemutihan bubur kertas yang menggunakan klorin. Pada kegiatan domestik, 2,4-diklorofenol dapat juga dihasilkan dari pembakaran sampah-sampah domestik yang mengandung senyawa klorida organik. Kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi suatu senyawa sangat dipengaruhi oleh tingkat keracunan senyawa itu sendiri. Adanya halogen pada 2,4-diklorofenol yang menimbulkan proses deaktivasi pada mikroorganisme. Sumber mikroorganisme yang digunakan diperoleh dari pengolahan air limbah pabrik bubur kertas PT. Indorayon yang menggunakan klorin sebagai pemutih, kemudian mikroorganisme ini diaklimatisasi dengan senyawa 2,4-diklorofenol. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan uji secara biokimia diperoleh dua jenis bakteri yaitu *Acaligenes* sp, dan *Bacillus* sp. Biodegradasi 2,4-diklorofenol terjadi mulai hari ke 3 (tiga) hingga hari ke 21, hal ini ditunjukkan oleh berkurangnya konsentrasi 2,4-diklorofenol hingga sebesar 0,2 mg/l dari konsentrasi mula-mula 40 mg/l untuk bakteri *Alcaligenes* sp.

Kata kunci : biodegradasi, 2,4-diklorofenol, *Alcaligenes* sp, *Bacillus* sp

BAB 1 PENDAHULUAN

Kontaminasi senyawa-senyawa kimia beracun telah menimbulkan masalah besar dalam lingkungan. Senyawa kimia ini pada umumnya adalah hasil produksi yang tidak alami (senobiotik). Untuk itu perlu dilakukan penanganan yang serius agar senyawa-senyawa kimia ini tidak menimbulkan gangguan pada ekosistem. Ada beberapa alternatif yang telah banyak digunakan untuk menangani masalah ini seperti melakukan pembakaran dan pengolahan secara kimia. Metode ini memerlukan biaya yang relatif tinggi dan dapat menimbulkan masalah baru yang lebih sulit untuk diatasi. Penggunaan mikroorganisme untuk proses biodegradasi merupakan suatu alternatif yang menjanjikan untuk dikaji lebih mendalam.

Senyawa 2,4-diklorofenol merupakan derivat klorofenol. Senyawa ini lebih besar jumlahnya yang dibuang ke lingkungan dibandingkan diklorofenol lainnya. Sumber terbesar 2,4-diklorofenol adalah dari hasil antara penggunaan herbisida asam 2,4-diklorofenoksiasetat. Herbisida ini sangat banyak digunakan saat ini. Senyawa 2,4-diklorofenol ini juga dibuang ke lingkungan bersama limbah cair hasil proses pemutihan bubur kertas yang menggunakan klorin.

Dengan menggunakan mikroorganisme, 2,4-diklorofenol dapat didegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan tingkat keracunan yang lebih rendah. Mikroorganisme yang lebih efektif untuk degradasi ini kemungkinan besar adalah bakteri dan fungi. Menurut laporan Haggblom dan Valo (1995), ada beberapa jenis mikroorganisme yang dapat mendegradasi 2,4-diklorofenol antara lain; *Pseudomonas* sp. strain NCB 9340 (Evans dkk 1971), *Flavobacterium* sp. strain MH (Horvath dkk 1980), *Acinobacter* sp. (Beadle dan Smith 1982), *Arthrobacter* sp. (Bollag dkk 1988, Engelhardt dkk 1979, Spain dan Gibson 1988), *Flavobacterium* sp. strain 50001 (Chaudry dan Huang 1988), *Rhodococcus erythropolis* ICP (Gorlatov dkk 1989), *Xanthobacter* sp. strain CP (Ditzelmuller dkk 1989).

Degradasi 2,4-diklorofenol oleh mikroorganisme menjadi senyawa yang lebih sederhana akan mengikuti suatu mekanisme dan kinetika degradasi serta model kinetika tertentu. Hal ini disebabkan karena toksisitas senyawa ini lebih besar dari pada senyawa diklorofenol lainnya (Chakrabarty dkk 1983). Pada penelitian ini, senyawa diklorofenol yang digunakan adalah senyawa 2,4-diklorofenol. Disamping hal-hal di atas, senyawa ini dapat memberikan beberapa kemungkinan hasil biodegradasi. Hasil biodegradasi biasanya berbeda oleh mikroorganisme yang berbeda. Hal ini disebabkan karakteristik dan kemampuan mikroorganisme itu sendiri dalam mendegradasi 2,4-diklorofenol.

Untuk mengetahui mikroorganisme aerob yang mendegradasi senyawa 2,4-diklorofenol, isolasi mikroorganisme dilakukan dari limbah pabrik bubur kertas yang menggunakan klorin sebagai pemutih. Mikroorganisme ini diaklimatisasi dengan senyawa 2,4-diklorofenol, dan selanjutnya diisolasi serta diidentifikasi.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Senyawa klorofenol merupakan kloroaromatik yang banyak dibuang ke lingkungan. Pada kegiatan pertanian, klorofenol digunakan sebagai biosida, seperti herbisida dan fungisida. Pada kegiatan industri klorofenol biasanya digunakan sebagai fungisida. Fungisida ini biasanya digunakan pada industri pengawetan kayu seperti bantalan rel kereta api dan kayu hasil olahan. Klorofenol juga digunakan sebagai biosida pada industri cat dan minyak (Kobayashi dan Rittman 1982).

Ada beberapa sumber klorofenol yang sangat potensial dalam lingkungan. Pada kegiatan pertanian, di samping penggunaan sebagai biosida, klorofenol dapat dihasilkan dari hasil antara sintesa biosida di dalam lingkungan. Hal seperti ini dapat dilihat pada sintesa herbisida 2,4-diklorofenoksi asetat (2,4-D) yang menghasilkan 2,4-diklorofenol dan sintesa 2,4,5-triklorofenoksi asetat (2,4,5-T) yang menghasilkan 2,4,5-triklorofenol (Nillson dkk 1978). Pada kegiatan industri, klorofenol dapat dihasilkan dalam air limbah pabrik bubur kertas yang menggunakan klorin sebagai pemutih. Pabrik bubur kertas dapat menghasilkan 100-300 g klorofenol per ton bubur kertas (Jokela dan Salkinoja Salonen 1993). Pada kegiatan domestik, klorofenol dapat dihasilkan dari pembakaran sampah-sampah domestik yang mengandung senyawa klorida organik.

Klorofenol adalah racun bagi semua organisme (Kozak 1979). Pentaklorofenol (PCP) adalah senyawa klorofenol yang paling beracun. Senyawa ini dapat mematikan ikan, tikus, dan manusia jika terdapat konsentrasi 100 mg/kg pada jaringan (Nillson dkk 1978, Kobayashi dan Rittman 1982). Hasil penelitian Huber dkk (1982) melaporkan bahwa konsentrasi 1 $\mu\text{g/l}$ dalam air dapat menghambat sintesa klorofil dan produksi oksigen oleh algae. Pada pertumbuhan bakteri, klorofenol dapat berfungsi sebagai anti bakteri.

Pada studi pengolahan air limbah ada beberapa tipe bioreaktor yang digunakan untuk mempelajari penyisihan konsentrasi klorofenol yang dikandung oleh air limbah. Beberapa studi telah melaporkan adanya penyisihan atau degradasi klorofenol pada air limbah dengan menggunakan sistem Lumpur aktif. Pada studi ini diperoleh efisiensi penyisihan antara 20% hingga 90% (Puhakka dkk 1992, Edgehill dan Finn 1983, Ettala dkk 1993, Hikman dan Novak 1984). Puhakka dan pembantunya (1994, 1993, 1992) telah mempelajari penyisihan senyawa klorofenol dengan reactor fluidisasi pada kondisi aerob. Penyisihan klorofenol yang diperoleh adalah 90% dengan waktu tinggal = 5 jam selama 12 hari percobaan. Pada percobaan Jarvinen (1992) dengan menggunakan reactor yang sama diperoleh penyisihan klorofenol sebesar 90%. Percobaan ini juga melaporkan adanya pelepasan atom klorida yang sebanding dengan konsentrasi klorofenol dan Karbon Organik Total (TOC) yang disisihkan. Jarvinen (1994) melaporkan, dengan menggunakan reaktor fluidisasi pada kondisi aerob dan temperatur dibawah 10⁰C diperoleh penyisihan klorofenol sebesar 90%.

Biodegradasi klorofenol

Adanya kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa-senyawa kloroaromatik, maka diperoleh suatu anggapan bahwa mikroorganisme dapat digunakan untuk degradasi senyawa-senyawa klorofenol. Senyawa klorofenol ini dapat didegradasi oleh mikroorganisme menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Peristiwa metabolisa pada degradasi ini juga diikuti oleh mineralisasi dari senyawa tersebut. Mineralisasi merupakan konversi dari senyawa klorofenol menjadi senyawa anorganik. Dalam hal ini klorofenol digunakan sebagai sumber karbon dan energi oleh mikroorganisme.

Senyawa klorofenol adalah senyawa siklis aromatic yang resisten. Klorofenol ini dapat didegradasi oleh beberapa mikroorganisme menjadi molekul yang toksisitasnya lebih rendah. Adanya halogen pada siklis aromatic biasanya menimbulkan proses deaktivasi pada mikroorganisme dalam biodegradasi. Pengaruh deaktivasi bertambah dengan bertambahnya jumlah substitusi halogen pada aromatic. Klorofenol dengan substitusi halogen yang besar dapat menjadi resisten dalam biodegradasi mikroorganisme.

Dehalogenasi klorofenol.

Ada beberapa bakteri yang dapat tumbuh dan melakukan mineralisasi pada senyawa klorofenol. Pada peristiwa mineralisasi atau penyisihan halogen dari senyawa organik oleh mikroorganisme ada dua tipe reaksi yang sering terjadi yaitu reaksi oksidasi dan reduksi. Reaksi oksidasi dan reduksi adalah peristiwa perpindahan elektron dari senyawa halogenasi atau ke senyawa halogenasi itu sendiri.

Reaksi oksidasi pada umumnya tidak secara langsung menghilangkan halogen kecuali jika diikuti oleh suatu dehalogenasi hidrolitik. Pada kasus ini posisi halogen digantikan oleh group hidroksi dari air dengan melalui substitusi nukloofilik. Senyawa-senyawa kloroaromatik pada umumnya melakukan oksidasi sebagai tahap awal sebelum deklorinasi

(Dorn & Knackmuss 1978, Nillson 1990, Haggblom 1993). Pada kondisi anaerobik reduksi dehalogenasi lebih dominan dalam penyisihan halogen (Mohn & Tiedje 1992). Reduksi diikuti oleh perpindahan antara halogen dengan atom hidrogen. Dalam senyawa-senyawa kloroaromatik, reduksi deklorinasi biasanya sebanding dengan derajat klorinasi. Senyawa klorofenol dengan substitusi klor tingi seperti pentaklorofenol lebih cenderung melakukan reduksi sebagai tahap awal dehalogenasi, yaitu dengan terjadinya perpindahan antara atom klor dengan atom hidrogen. Reduksi ini biasanya terjadi pada dehalogenasi aerob dan anaerob. Dan yang paling sering ditemui pada peristiwa anaerob.

Mikroorganisme pendegradasi klorofenol

Secara alami mikroorganisme mempunyai kemampuan untuk mendegradasi senyawa klorofenol. Kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi klorofenol biasanya dipengaruhi oleh toksisitas klorofenol tersebut. Walaupun klorofenol sangat toksik, ada beberapa mikroorganisme yang dapat mendegradasi senyawa klorofenol yang telah diisolasi. Pada isolasi ini, klorofenol digunakan sebagai sumber karbon dan energi oleh mikroorganisme.

Berdasarkan sifat substrat dan mekanisme mikroorganisme pendegradasi klorofenol dibagi tiga, yaitu :

1. Strain yang dapat mendegradasi mono dan diklorofenol. Mekanisme yang terjadi adalah terjadinya peristiwa hidrosilasi klorofenol menjadi klorokatekol kemudian terjadi deklorinasi sesudah terjadi pemecahan pada posisi orto katekol.
2. Strain yang dapat mendegradasi trikloro dan poliklorofenol. Mekanisme yang terjadi adalah didahului peristiwa deklorinasi, kemudian terjadi hidrosilasi dan terbentuk para hidrokuinon.
3. Strain yang dapat mendegradasi klorofenol (mono hingga pentaklorofenol). Mekanisme yang terjadi adalah deklorinasi, kemudian diikuti pecahnya rantai benzen.

Degradasi mono dan diklorofenol dengan cara aerobik

Menurut laporan Hale dan Reineke (1995), ada beberapa mikroorganisme yang dapat tumbuh pada mono dan diklorofenol. Dalam hal ini mono dan diklorofenol digunakan sebagai sumber karbon dan energi (Bollag 1968; Knackmus dkk 1978; Schwien dkk 1988; Tyler dkk 1974). Diklorofenol dapat dihasilkan dari biodegradasi klorida fenoksi asetat. Degradasi klorofenol dapat merupakan bagian dari lintasan (pathway) degradasi klorida fenoksi asetat (Bollag 1968; Dtmuller 1989; Evans 1977; Horvath 1990; Sharpee 1973). Bakteri *Pseudomonas* sp. strain B.13 (Dorn dkk 1978) yang dapat mendegradasi 3-klorobenzoat juga berfungsi untuk mendegradasi monoklorofenol (Knackmus 1978; Schwien 1982). Senyawa 2,4-diklorofenol merupakan lintasan degradasi 2,4-diklorofenoksi asetat dengan menggunakan *Arthrobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. (Bollag dkk 1968, Evans WC dkk 1977, Sharpee 1973). *Pseudomonas* sp. strain B.13 dapat tumbuh pada 3-klorobenzoat, 4-klorofenol dan mendegradasi 3-kloro, 4-kloro dan 3,5-diklorokatekol (Dorn dkk 1974 & 1978, Schmidt dkk 1980, Schwien dkk 1988). Degradasi mono dan diklorofenol didahului oleh hidrosilasi sebagai tahap awal sehingga terbentuk klorokatekol; 3-klorokatekol hasil hidrosilasi dari 2-kloro dan 3-klorofenol, dan 4-klorokatekol hasil dari 3-kloro dan 4-klorofenol sedangkan 3,5-diklorokatekol hasil dari 2,4-diklorofenol (Bollag dkk 1968, Evans WC dkk 1977, Knackmus dkk 1978, Schwien dkk 1982).

BAB 3 METODE PENELITIAN

Isolasi dan identifikasi mikroorganisme

Sumber mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pengolahan air limbah pabrik bubur kertas PT. Indrayon, yang menggunakan klorin sebagai pemutih. Dengan demikian air limbah ini akan mengandung senyawa-senyawa kloroaromatik seperti klorofenol. Dengan adanya senyawa klorofenol, diharapkan adanya bakteri yang menggunakan senyawa klorofenol sebagai sumber karbon dan energi.

Mikroorganisme dalam air limbah diberi nutrisi dan senyawa 2,4-diklorofenol kemudian diaerasi selama 6 bulan, hingga warna air limbah menjadi bening. Tahap berikutnya air limbah diberi nutrisi dan senyawa 2,4-diklorofenol dan diaerasi selama 6 bulan, sehingga air limbah menjadi tidak berwarna. Mikroorganisme dari perlakuan ini dikembangkan pada medium yang telah diberi senyawa 2,4-diklorofenol dengan konsentrasi yang bervariasi, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi, selanjutnya mikroorganisme yang diperoleh diseleksi dan diisolasi.

Mikroorganisme hasil isolasi kemudian diaklimatisasi dengan senyawa 2,4-diklorofenol dengan konsentrasi yang bervariasi. Aklimatisasi ini menggunakan medium cair.

Mikroorganisme hasil aklimatisasi kemudian diidentifikasi. Metode yang digunakan adalah metode uji biokimia. Untuk uji keabsahan mikroorganisme hasil isolasi dari air limbah ini dilakukan identifikasi oleh laboratorium yang dapat mengidentifikasi mikroorganisme. Mikroorganisme hasil isolasi ini digunakan dalam penelitian untuk biodegradasi senyawa 2,4-diklorofenol. Untuk mengetahui bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri yang sama, maka dilakukan identifikasi terhadap setiap perlakuan (percobaan).

Bahan

Dalam pelaksanaan penelitian ini ada beberapa bahan dan peralatan utama yang digunakan agar hasil penelitian diperoleh dengan hasil yang baik. Adapun bahan dan peralatan yang digunakan sebagai berikut :

a. Bahan

1. Air limbah pabrik bubur kertas sebagai sumber isolat bakteri
2. Senyawa 2,4-diklorofenol
3. Kloroform sebagai pelarut
4. K_2CO_3 .
5. H_2SO_4 .
6. $MgSO_4$.
7. Larutan sintesis sebagai nutrisi atau trace mineral dalam pertumbuhan bakteri, antara lain : $NaHCO_3$, $(NH_4)_2PO_4$, KH_2PO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCO_3$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, yeast extract.
8. Reagen test API20E, untuk identifikasi bakteri.

b. Peralatan

Ada beberapa peralatan utama yang digunakan agar penelitian ini tercapai dengan baik.

1. Spektrofotometer.
2. Penganalisa TOC (TOC Analyzer).
3. Kromatografi Gas (GC).
4. Pemanas (Oven).
5. Pengocok (Shaker).

Isolasi mikroorganisme

1. 200 liter air limbah pabrik bubur kertas yang diputihkan dengan klorin diberi senyawa 2,4-diklorofenol sebanyak 10 g, diaerasi selama 6 bulan konsentrasi biomassa dan senyawa 2,4-diklorofenol dianalisa dengan interval waktu 7 hari, kemudian ditambahkan 20 g senyawa 2,4-diklorofenol dan diaerasi selama 6 bulan, konsentrasi biomassa dan senyawa 2,4-diklorofenol dianalisa dengan interval waktu 7 hari.
2. 1 ml sampel limbah bubur kertas yang telah diberi senyawa 2,4-diklorofenol diencerkan ke dalam 10 ml air steril.
3. 1 ml sampel hasil pengenceran diberikan pada medium yang telah diberi senyawa 2,4-diklorofenol (konsentrasi 40, 60, 80, 100 mg/l), kemudian dimasukkan pada cawan petri dan diinkubasi, selanjutnya diseleksi.

Komposisi medium :

- | | |
|---------------------------|----------------------|
| 1. Ekstrak beef = 3,0 g/l | 4. Glukosa = 15 g/l |
| 2. Pepton = 5,0 g/l | 5. Agar = 15 g/l |
| 3. NaCl = 5,0 g/l | 6. Aquades = 1000 ml |

Aklimatisasi mikroorganisme

1. Hasil seleksi pada perlakuan ini diaklimatisasi sesuai dengan konsentrasi pada waktu seleksi, yaitu 40, 60, 80, 100 mg/l dalam medium cair (volume 2 l).
2. Penambahan 2,4-diklorofenol dilakukan setiap 21 hari dengan konsentrasi masing-masing 60, 80, 100 mg/l hingga konsentrasi 2,4-diklorofenol setiap perlakuan mencapai 100 mg/l.
3. Pertumbuhan mikroorganisme diamati setiap penambahan senyawa 2,4-diklorofenol dan ditentukan pertumbuhan yang terbaik dari semua perlakuan.
4. Pertumbuhan yang terbaik digunakan sebagai isolate dalam penelitian.

Identifikasi mikroorganisme.

- a. Hasil seleksi mikroorganisme diidentifikasi.
- b. Mikroorganisme diidentifikasi berdasarkan uji biokimia.

Untuk uji keabsahan identifikasi mikroorganisme dikirim ke beberapa lembaga penelitian untuk identifikasi ulang, antara lain :

1. Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi – ITB Bandung.
2. Analisis sekuens 16S RNA di PAU ITB.

Uji degradasi.

Uji kemampuan degradasi dilakukan pada tiap bakteri dan kultur campuran bakteri. Penentuan pertumbuhan biomassa pada tiap bakteri :

1. Isolat bakteri murni yang telah ditumbuhkan 400 mg/l (berat kering) diberikan nutrisi dan 2,4-diklorofenol.
 2. Konsentrasi 2,4-diklorofenol bervariasi : 40, 60, 80, 100 mg/l.
 3. Perlakuan diberikan dalam Erlenmeyer yang diletakkan pada shaker dengan revolusi 100 rpm pada suhu kamar, pH=7.
 4. Sampling dilakukan dengan interval waktu = 2 hari, selama 21 hari
- Volume sampel = 100 ml, kemudian dianalisa untuk menentukan konsentrasi 2,4-diklorofenol, klorida serta konsentrasi biomassa.

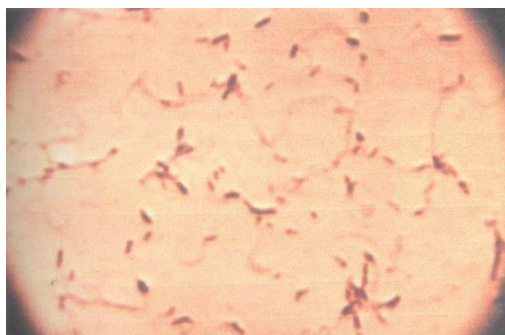
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi dan identifikasi mikroorganisme terhadap isolate, maka diperoleh bakteri gram negative dan gram positif. Kedua bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada senyawa 2,4-diklorofenol. Senyawa 2,4-diklorofenol digunakan sebagai sumber karbon dan energy. Bentuk fisik bakteri *Alcaligenes* sp ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 : Hasil isolasi Bakteri *Alcaligenes* sp

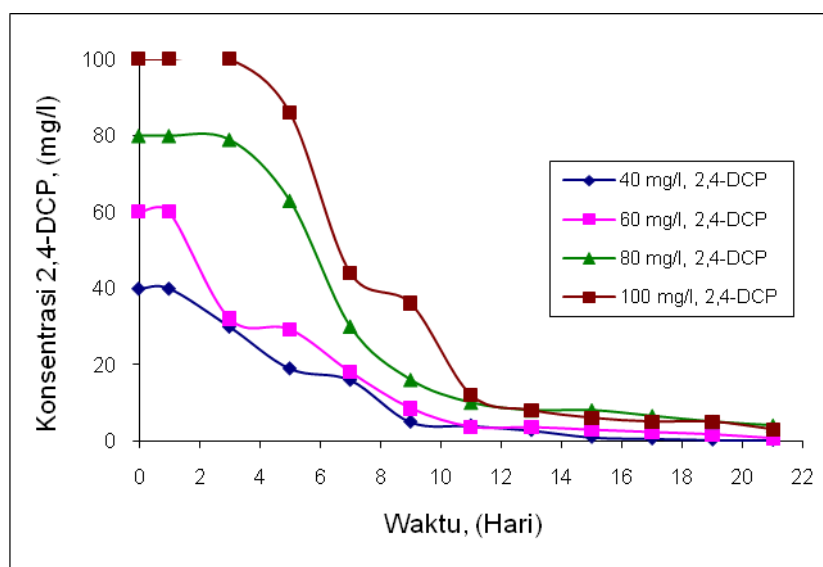
Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode uji biokimia dan analisis sekuens 16S rRNA, kemudian diuji ulang di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITB. Berdasarkan hasil identifikasi dengan metode di atas menyatakan bahwa spesies bakteri yang diperoleh adalah *Alcaligenes* sp dan *Bacillus* sp. Hasil identifikasi subspecies kedua bakteri ini dengan semua metode yang dilakukan oleh laboratorium tersebut menyatakan bahwa subspecies yang diperoleh adalah subspecies baru. Hal ini disebabkan tidak diperoleh informasi karakteristik subspecies bakteri yang sama dengan subspecies bakteri yang telah diidentifikasi sebelumnya.



Gambar 2 : Hasil isolasi Bakteri *Bacillus* sp

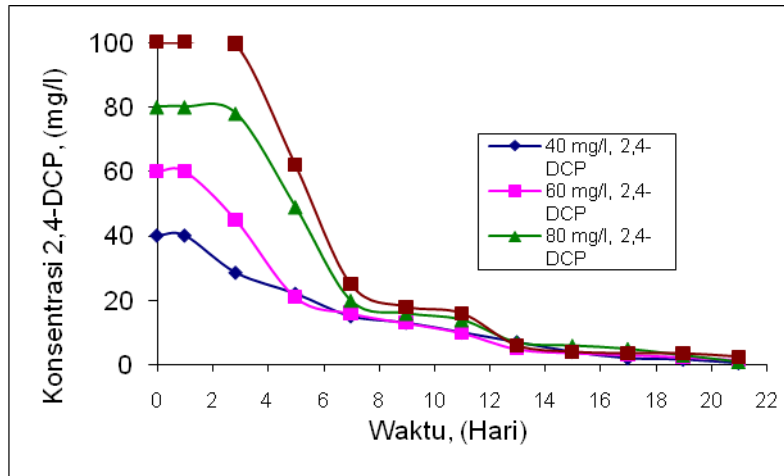
Pada penelitian ini bakteri hasil aklimatisasi yang diperoleh adalah 2 (dua) jenis. Hal ini disebabkan oleh sifat anti mikroorganismenya 2,4-diklorofenol. Dengan adanya sifat meracuni senyawa 2,4-diklorofenol terhadap mikroorganismenya, sehingga hanya bakteri yang mampu bertahan pada konsentrasi 2,4-diklorofenol tertentu dapat hidup. Seperti telah diutarakan sebelumnya, aklimatisasi berlangsung selama 12 bulan dengan konsentrasi 2,4-diklorofenol 100 mg/l (0,6134 M). konsentrasi ini dapat menjadi anti bakteri dan anti fungi atau anti mikroorganismenya dalam air limbah. Hasil penelitian Apajalahati (1987) melaporkan bahwa konsentrasi inhibitor klorofenol terhadap *Rhodococcus chlorophenolicus* adalah 4 μ M 2,3,4,5-tetraklorofenol, 17 μ M 2,3,5-triklorofenol, 20 μ M pentaklorofenol.

Pada isolate bakteri *Alcaligenes* sp, penggunaan senyawa 2,4-diklorofenol sebagai sumber karbon tidak terjadi hingga hari ke 1 (satu).



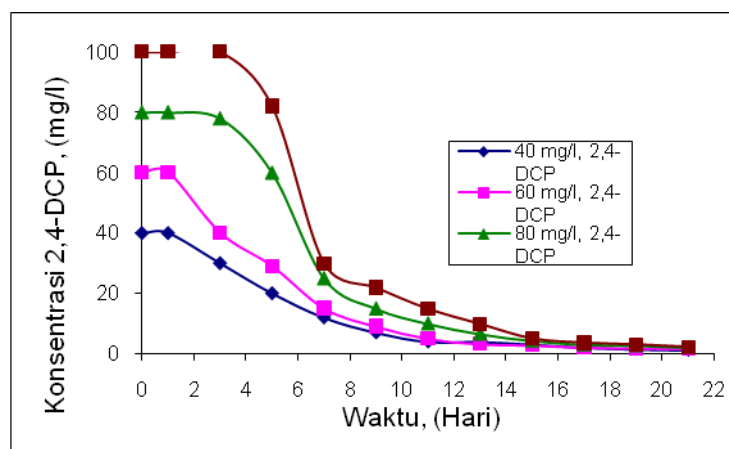
Gambar3 : Biodegradasi 2,4-DCP menggunakan bakteri *Alcaligenes* sp

Dalam hal ini peristiwa biodegradasi tidak terjadi, bakteri hanya beradaptasi terhadap senyawa 2,4-diklorofenol pada konsentrasi awal perlakuan. Penggunaan substrat 2,4-diklorofenol sebagai sumber karbon terjadi mulai hari ke 3 (tiga). Pada saat ini peristiwa biodegradasi telah terjadi, hal ini dapat dilihat dari konsentrasi senyawa 2,4-diklorofenol sisa sebesar 30 mg/l, 32 mg/l, 79 mg/l, sedangkan pada hari ke 21, sisa 2,4-diklorofenol menjadi 0,2 mg/l, 0,6 mg/l, 4 mg/l dan 3 mg/l dari konsentrasi awal. Kondisi ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar4 : Biodegradasi 2,4-DCP menggunakan bakteri *Bacillus* sp

Demikian halnya untuk biodegradasi 2,4-diklorofenol menggunakan bakteri *Bacillus* sp, Pada awalnya tidak menunjukkan proses biodegradasi hingga pada hari pertama. Namun pada hari ke 3 (tiga) sudah nampak penggunaan substrat 2,4-diklorofenol sebagai sumber karbon. Pada saat ini peristiwa biodegradasi telah terjadi, hal ini dapat dilihat dari konsentrasi senyawa 2,4-diklorofenol sisa sebesar 28,5 mg/l, 45 mg/l, 78 mg/l dan 99,5 mg/l. Pada hari ke 21, sisa 2,4-diklorofenol menjadi 0,15 mg/l, 1,6 mg/l, 1 mg/l dan 2,5 mg/l dari konsentrasi awal. Kondisi ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar5 : Biodegradasi 2,4-DCP menggunakan bakteri campuran *Alcaligenes* sp dan bakteri *Bacillus* sp

Untuk bakteri campuran antara *Alcaligenes* sp dan *Bacillus* sp, pada awalnya tidak menunjukkan proses biodegradasi hingga pada hari pertama. Sehingga dapat dikatakan bahwa awalnya kedua bakteri campuran hanya adaptasi terhadap senyawa 2,4-diklorofenol. Namun pada hari ke 3 (tiga) sudah nampak penggunaan substrat 2,4-diklorofenol oleh bakteri sebagai sumber karbon. Pada saat ini peristiwa biodegradasi telah terjadi, hal ini dapat dilihat dari konsentrasi senyawa 2,4-diklorofenol sisa yang terukur sebesar 30 mg/l, 40 mg/l dan 78. Biodegradasi terus berlangsung hingga pada hari ke 21 yang ditunjukkan oleh sisa 2,4-diklorofenol menjadi 0,15 mg/l, 1,6 mg/l, 1 mg/l dan 2,5 mg/l dari konsentrasi awal. Kondisi seperti ini dapat dilihat pada Gambar 5.

KESIMPULAN

1. Isolasi mikroorganisme yang diambil dari air limbah pabrik bubur kertas, diperoleh 2 (dua) jenis bakteri yang dapat mendegradasi 2,4-diklorofenol
2. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan metode uji biokimia dan hasil uji di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi ITB, diperoleh bakteri :
 - a. *Alcaligenes* sp (gram negatif)
 - b. *Bacillus* sp (gram positif)
3. Biodegradasi 2,4-diklorofenol terjadi mulai hari ke 3 (tiga), hal ini ditunjukkan oleh berkurangnya konsentrasi 2,4-diklorofenol yang dipergunakan sebagai sumber karbon oleh kedua bakteri tersebut.
4. Kedua bakteri mampu mendegradasi senyawa 2,4-diklorofenol, hal ini ditunjukkan oleh hasil pengukuran konsentrasi 2,4-diklorofenol sisa pada hari ke 21 sebesar 0,2 mg/l dari konsentrasi mula-mula 40 mg/l jika menggunakan bakteri *Alcaligenes* sp, 0,15 mg/l untuk bakteri *Bacillus* sp dan 1,2 mg/l untuk bakteri campuran keduanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brigman, G., R. Kuhn (1977); Grenzwerte der Schadwirkung wassergefahrdender Stoffe gegen Bakterien (*Pseudomonas putida*) and Grunalgen (*Scenedesmus quadricauda*) in Zellvermehrung shemm test, *Z. Wasser Abwasser Forsch* **10**, 87-98.
2. Christiansen, N., H.V. Hendriksen (1995); Degradation of Chlorinated Aromatic Compounds in UASB Reactors, *Wat.Sci.Tech.* **31**, 249-259.
3. Evans C.W., W. Smith, P. Moss (1971); Bacterial Metabolism of 4-chlorophenoxy acetate, *Biochem J.*, **122**, 509-517.
4. Haggblom, M. (1993); Microbial breakdown of halogenated aromatic pesticides and related compounds, *FEMS. Microbiol Rev.* **103**, 29-72.
5. Huber, W., V. Schubert (1982); Effects of pentachlorophenol on the metabolism of aquatic macrophyte Lemnaminor L., *Environmental Pollution (Series A)* **29**, 215-223.
6. Leuenberger, C., W., Giger, R., Conry (1985); Persistent Chemicals in Pulp Mill Effluents, *Water.Res.* **19**, 885-894.
7. Nillson, A.H. (1990); The biodegradation of halogenated organic compounds, *Journal of Applied Bacteriology* **69**, 445-470.