

Pengaruh Penambahan *Bacillus subtilis* Pada Biodegradasi DDT Oleh *Phlebia brevispora*

Purnomo, AS^(*); Fajriah

¹Jurusan Kimia, FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

*e-mail: adi_setyo@chem.its.ac.id

Abstract-- DDT is a pesticide that persistent in the environment and has risk to human health. In this study, the effect of addition of *Bacillus subtilis* on biodegradation of DDT by *Phlebia brevispora* was investigated. *B. subtilis* was added at 1, 3, 5, 7, and 10 mL (1 ml $\approx 6,7 \times 10^8$ bacteria cell/ml culture). The highest degradation of DDT was shown in the addition of 10 mL of bacteria about 75% during 7-day incubation, and compared the results of that by *P. brevispora* without the addition of bacteria was 64%. DDD, DDE and DDMU were detected as metabolic products. This study indicated that addition of *B. subtilis* can enhance DDT degradation by *P. brevispora*.

Keywords : Biodegradation, DDT, *Phlebia brevispora*, *Bacillus subtilis*

Abstract-- DDT merupakan pestisida yang bersifat persisten di lingkungan, dan memiliki resiko kesehatan bagi manusia. Pada penelitian ini, pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada biodegradasi DDT oleh jamur *Phlebia brevispora* telah diteliti. *B. subtilis* ditambahkan pada volume 1, 3, 5, 7, dan 10 mL (1 ml $\approx 6,7 \times 10^8$ sel bakteri / ml kultur). Hasil degradasi DDT oleh *P. brevispora* tanpa penambahan bakteri adalah 64%. Degradasi tertinggi DDT diperoleh pada penambahan 10 mL bakteri sekitar 75% selama masa inkubasi 7 hari. DDD, DDE and DDMU terdeteksi sebagai produk metabolit. Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan *B. subtilis* dapat meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora*.

Katakunci : Biodegradasi, DDT, *Phlebia brevispora*, *Bacillus subtilis*

I. Pendahuluan

Dikloro-difenil-trikloroetana (DDT) merupakan insektisida sintetik pertama yang memiliki peranan penting dalam membasmi nyamuk malaria selama Perang Dunia ke II. Efek DDT sebagai pestisida ditemukan oleh Paul Muller pada tahun 1939, dimana DDT dijuluki bahan kimia ajaib (the wonder chemical), yang menyelamatkan ribuan hektar tanaman dari serangan hama serangga. Akan tetapi, DDT memiliki sifat larut dalam lemak, sehingga residunya terus terbawa dalam rantai makanan dan menumpuk dalam jaringan lemak [1]. Residu DDT dapat menimbulkan masalah kesehatan seperti kanker payudara, gangguan metabolisme

hormon, gangguan imunologi, kerusakan DNA dalam sel, dan mampu menurunkan kemampuan reproduksi atau menyebabkan cacat pada janin [2]. Residu DDT hingga kini masih ditemukan di lingkungan terutama di lokasi yang dekat dengan aktivitas manusia seperti pelabuhan, dan area pertanian. Mengingat dampak negatif yang ditimbulkan dari DDT, diperlukan suatu metode yang dapat menghilangkan atau mengurangi residu DDT dan produk metabolitnya.

Beberapa metode untuk proses degradasi DDT telah diterapkan, termasuk secara fisikokimia dan biologi. Pada umumnya, proses kimia dan fisika lebih cepat dibandingkan dengan biologi, akan tetapi berdampak pada kondisi tanah dan memerlukan biaya yang relatif tinggi [3,4].

Biodegradasi merupakan metode paling aman, efisien dan lebih murah dalam mendegradasi beberapa polutan organik dengan menggunakan mikroorganisme (jamur atau bakteri) sebagai agen pendegradasi dengan cara mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa yang kurang toksik atau senyawa tidak toksik yang ramah lingkungan [5,6]. Salah satu jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi DDT adalah *Phlebia brevispora* [7]. *P. brevispora* hanya mampu mendegradasi 30% DDT selama 21 hari masa inkubasi [7], dimana hasil ini relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga perlu dilakukan modifikasi kultur yang tepat untuk meningkatkan kemampuan *P. brevispora* dalam mendegradasi DDT.

Salah satu metode untuk mengoptimalkan degradasi DDT oleh jamur adalah dengan penambahan bakteri. Bakteri mampu hidup pada berbagai habitat dan mampu menguraikan senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana untuk memperoleh zat-zat tertentu yang dibutuhkan dalam rangka mempertahankan hidupnya. Beberapa bakteri tanah telah diketahui mampu mendegradasi senyawa-senyawa polutan dimana salah satunya adalah *Bacillus subtilis*. *B. subtilis* dapat mendegradasi DDT sebesar 65% selama 14 hari masa inkubasi dalam kondisi anaerob [8]. Selain itu, *B. subtilis* juga pernah dilaporkan dapat memproduksi biosurfaktan surfactin [9,10] yang dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan polutan organik. Berdasarkan hal tersebut, penambahan bakteri *B. subtilis* pada kultur jamur *P. brevispora* diharapkan dapat meningkatkan biodegradasi DDT, dimana *B. subtilis* akan memproduksi biosurfaktan untuk meningkatkan kelarutan DDT yang bersifat nonpolar sehingga dapat lebih mudah diakses oleh jamur untuk didegradasi. Selain itu *B. subtilis* dapat membantu mendegradasi DDT dan produk metabolit yang dihasilkan oleh jamur.

Penggunaan kultur campuran jamur dan bakteri untuk meningkatkan kemampuan degradasi DDT telah dilaporkan sebelumnya. Optimasi degradasi DDT oleh jamur dengan penambahan bakteri telah dilakukan oleh Hermansyah [11], dimana kultur bakteri *B. subtilis* ditambahkan pada kultur jamur *Pleurotus ostreatus* pada biodegradasi DDT dan diperoleh peningkatan degradasi sebesar 42% selama 7 hari inkubasi. Peningkatan degradasi DDT oleh jamur *Pleurotus eryngii* dengan

penambahan bakteri *B. subtilis* juga pernah dilaporkan dapat meningkatkan degradasi sebesar 88% [12]. Selain itu, bakteri *B. subtilis* juga dapat meningkatkan degradasi DDT oleh jamur pelapuk coklat *Daedalea dickinsii* dan *Fomitopsis pinicola* masing-masing sebesar 74% dan 86% [13,14]. Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian ini diteliti pengaruh penambahan *B. subtilis* pada degradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*.

II. Metodologi

2.1 Alat dan Bahan

Alat dan instrumentasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu: erlenmeyer berpenutup, gelas beker, neraca digital, corong pisah, labu bundar, corong kaca, jarum ose, cawan steril, botol ampul, suntikan (*syringe*), pompa penyedot, *ultrasonic cleaner*, evaporator, *autoclave*, *autosacker*, kertas saring Whatman 0,2 μm diameter 110 mm, HPLC terdiri dari pompa Integral PU-1500 (Jasco, Jepang) dan detector UV-Vis MD-1510 (Jasco, Jepang) dilengkapi dengan kolom Inertsil ODS-3 (150 mm) dengan diameter dalam 4,6 mm (GL Science, Jepang). GC/MS dengan system GC HP 6890 (HP, USA) terhubung dengan detektor *mass-selective* HP 5973 (HP, USA) dengan kolom DB-5MS (30 m, J & W Scientific, CA, USA).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: jamur *P. brevispora* TMIC34596 dan bakteri *B. subtilis* NBRC 3009 yang diperoleh dari koleksi jamur Laboratorium Kimia Mikroorganisme Jurusan Kimia FMIPA ITS, DDT, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Nutrient Borth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), aseton, Aqua DM, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, *n*-heksana, dimethyl sulfoxide (DMSO), metanol, *trifluoro acid* (TFA), pirena, DDE, DDD, dan DDMU. Semua bahan-bahan kimia adalah PA grade (99%) yang didapatkan secara komersil dari PT Mitra Gemilang Surabaya

2.2 Regenerasi Jamur *Phlebia brevispora*

Jamur pelapuk putih dari spesies *P. brevispora* merupakan jamur yang digunakan dalam penelitian ini. Miselium jamur *P. brevispora* diinokulasikan pada medium PDA dalam cawan petri berdiameter 9 cm, dan di pre-inkubasi secara statis pada suhu 30 °C selama 7 hari.

2.3 Persiapan Kultur Cair Jamur

Miselium jamur *P. brevispora* hasil regenerasi (diameter 1 cm) diinokulasikan ke dalam labu

erlenmeyer 100 mL, yang berisi media 10 mL medium PDB, dengan menggunakan jarum ose secara aseptis, kemudian dipre-inkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C [15-20].

2.4 Regenerasi Bakteri

Pada penelitian ini digunakan bakteri *B. subtilis* yang diperoleh dari NITE Biological Resource Center (NBRC, Jepang). Masing-masing bakteri diregenerasi dengan cara diinokulasi ke dalam cawan petri yang berisi medium NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [21].

2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri

Sebanyak 1 koloni bakteri diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer (100 mL) yang berisi 60 mL medium NB. Kultur bakteri diinkubasi ke dalam inkubator dengan shaker pada kecepatan 180 rpm dan suhu 37 °C selama 20 jam.

2.6 Biodegradasi DDT oleh Jamur pelapuk putih *Phlebia brevispora*

Setelah pre-inkubasi selama 7 hari, sebanyak 10 mL PDB medium ditambahkan ke dalam kultur Jamur *P. brevispora* (volume akhir 20 mL), dan kemudian ditambahkan 50 µL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/labu). Tiap labu diberi oksigen dan ditutup dengan sumbat kaca serta diselotip untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Sebagai kontrol, kultur dinonaktifkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 10 menit sebelum ditambah DDT.

2.7 Biodegradasi DDT oleh Bakteri *Bacillus subtilis*

Setelah pre-inkubasi selama 20 jam, kultur bakteri dengan variasi volume 1, 3, 5, 7, dan 10 mL ($1 \text{ ml} \approx 6,7 \times 10^8$ sel bakteri / ml kultur) dinokulasikan ke dalam PDB medium (volume total 20 mL), dan kemudian ditambahkan 50 µL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/labu). Tiap labu diberi oksigen dan ditutup dengan sumbat kaca serta diselotip untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Sebagai kontrol, kultur dinonaktifkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 10 menit sebelum ditambah DDT.

2.8 Penambahan Bakteri *Bacillus subtilis* pada Biodegradasi DDT oleh *Phlebia brevispora*

Setelah pre-inkubasi, *B. subtilis* diinokulasi pada variasi volume 1, 3, 5, 7 dan 10 mL secara terpisah ke dalam 10 mL kultur *P. brevispora*,

kemudian ditambahkan PDB sampai didapatkan volume akhir 20 mL. Pada masing-masing labu yang berisi kultur campuran jamur dan bakteri ditambahkan 50 mL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/labu). Tiap labu diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip untuk mencegah penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Sebagai kontrol negatif, kultur dinonaktifkan dengan *autoclave* terlebih dahulu pada suhu 121°C selama 10 menit sebelum ditambah DDT.

2.9 Perolehan Ulang (Recovery) DDT dan Identifikasi Produk Metabolit

Masing-masing kultur hasil inkubasi ditambah 20 mL metanol dan 50 µL pirena 5 mM. Sampel dicuci dengan 5 mL aseton. Kultur disaring menggunakan kertas saring Whatman 41 (GE healthcare life Science, UK) 0,2 µm diameter 110 mm. Filtrat dievaporasi pada suhu 64°C dan diekstrak dengan 200 mL n-heksana. Fasa organik dipisahkan, lalu dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat, dan kemudian dievaporasi pada suhu 68°C hingga tersisa sekitar 1 mL. Konsentrat sampel dianalisis menggunakan GCMS dengan gas pembawa Helium, volume injeksi 1 µL, aliran split 54 mL/menit, dan suhu oven diatur 80°C selama 3 menit, dinaikkan hingga 320°C, ditahan selama 2 menit dengan kenaikan konstan 20°C per menit, kemudian suhu diturunkan menjadi 300°C dan ditahan selama 5 menit. Sisa sampel dievaporasi kembali hingga kering dan ditambah 1 mL metanol. Sampel dihomogenkan dengan *ultrasonic cleaner*, kemudian dianalisis menggunakan HPLC, dan dielusi dengan 82% metanol dan 18% air (1% TFA) dengan laju alir 1 ml/min [15,22,23].

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Kalibrasi

P. brevispora telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk mendegradasi DDT masing-masing sekitar 9% dan 30% selama inkubasi 7 dan 21 hari pada media *low nitrogen* (LN) [7]. Akan tetapi, hasil degradasi tersebut relatif rendah dan membutuhkan waktu inkubasi yang panjang. Oleh karena itu, kemampuan *P. brevispora* dalam mendegradasi DDT perlu ditingkatkan dengan penambahan bakteri *B. subtilis*. Bakteri ini telah dilaporkan sebagai bakteri yang dapat memproduksi biosurfaktan, yang dapat digunakan

untuk meningkatkan kelarutan zat organik hidrofobik termasuk DDT, untuk mengoptimalkan akses penyerapan oleh jamur [24-26].

Dalam penelitian ini, *P. brevispora* memiliki kemampuan untuk mendegradasi DDT sekitar 64% selama inkubasi 7 hari dalam media PDB. Dalam penelitian ini, hasil degradasi (64%) lebih tinggi dibandingkan dengan hasil degradasi yang telah dilaporkan sebelumnya (9%) oleh Xiao et al. [7], pada konsentrasi DDT (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/labu) dan waktu inkubasi (7 hari) yang sama. Dalam penelitian ini, media PDB digunakan sebagai media *P. brevispora*, dimana media PDB ini mengandung nutrisi yang lebih lengkap dibandingkan dengan media LN, sehingga *P. brevispora* lebih cocok untuk tumbuh dan dapat mendegradasi DDT yang lebih tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa komposisi media pertumbuhan berpengaruh dalam meningkatkan kemampuan *P. brevispora* untuk mendegradasi DDT.

Hasil dari degradasi DDT oleh *B. subtilis* ditunjukkan dalam Tabel 1. Bakteri mendegradasi DDT masing-masing sekitar 35%, 66%, 80%, 84% dan 86% pada volume 1, 3, 5, 7, dan 10 mL bakteri dalam media PDB. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah bakteri *B. subtilis* pada media PDB, semakin tinggi juga jumlah DDT yang terdegradasi. Kantachote et al. [27] telah melaporkan bahwa *Bacillus* sp. mampu menurunkan DDT oleh 51% dalam kultur cair selama masa inkubasi 7 hari. *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *B. subtilis*, *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes* juga dapat mendegradasi DDT [28]. Selain itu, *B. subtilis* juga telah dilaporkan mampu mendegradasi beberapa polutan organik yang persisten (POPs), termasuk DDT [8,28,29]. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *B. subtilis* memiliki kemampuan untuk mendegradasi DDT selain menghasilkan biosurfaktan.

Kemampuan jamur *P. brevispora* mendegradasi DDT dengan penambahan bakteri *B. subtilis* ditunjukkan dalam Tabel 1. Setelah inkubasi selama 7 hari, masing-masing sekitar 56%, 58%, 60%, 66% dan 75% dari DDT terdegradasi oleh campuran kultur jamur dan bakteri dengan penambahan bakteri pada 1, 3, 5, 7, dan 10 mL (Tabel. 1). Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan bakteri *B. subtilis* dapat meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora*. Hai et al. [30] melaporkan bahwa kultur campuran bakteri dari

lumpur dan jamur pelapuk putih *Coriolus versicolor* bisa menghilangkan pestisida aldicarb, atrazin, dan alachlor masing-masing sebesar 82%, 77%, dan 67% setelah diinkuasi selama 7 hari. Selain itu, kultur campuran jamur-bakteri juga dapat menghilangkan pirena lebih tinggi (67%), dibandingkan dengan kultur campuran jamur-jamur (39%) dan campuran bakteri-bakteri (56%) selama inkubasi 28 hari, serta dalam degradasi fenantrena dan fluorantena [31]. Data ini menunjukkan bahwa kultur campuran jamur-bakteri bisa menurunkan polutan organik secara efektif.

Penambahan *B. subtilis* dalam kultur jamur *P. brevispora* memiliki pengaruh yang berbeda-beda pada proses degradasi DDT. Degradasi DDT oleh *P. brevispora* meningkat pada penambahan 7 dan 10 mL bakteri *B. subtilis*, sedangkan pada penambahan 1, 3 dan 5 mL, mengakibatkan penurunan jumlah degradasi DDT karena bakteri tidak cukup untuk menghasilkan biosurfaktan. Penambahan 10 ml bakteri *B. subtilis* pada kultur jamur *P. brevispora* menghasilkan degradasi paling tinggi sekitar 75%. *B. subtilis* menghasilkan biosurfaktan lipopeptida yang meningkatkan kelarutan zat non-polar [24,32].

3.2 Identifikasi Produk Metabolit

Identifikasi produk metabolit dari DDT oleh *P. brevispora*, *B. subtilis* dan kultur campuran, dianalisa menggunakan GCMC dengan membandingkan waktu retensi dan spektrum massa. Pada *P. brevispora*, produk metabolit dari DDT teridentifikasi antara lain DDD (1,1-dikloro 2,2-bis (4-klorofenil) etana), DDE (1,1-dikloro 2,2-bis (4-klorofenil) etilen) dan DDMU (1-chloro 2,2-bis (4-klorofenil) etana) (data tidak ditampilkan). Xiao et al. [7] telah melaporkan bahwa *P. brevispora* mendegradasi DDT menjadi DDD, dan kemudian mengkonversi DDD menjadi 2,2-bis (4-klorofenil) asam asetat (DDA) dan kemudian diikuti menjadi 4,4-diklorobenzofenon (DBP) dan 4,4 -diklorobenzihidrol (DBH) selama masa inkubasi 21 hari. Dalam studi ini, DDD juga terdeteksi sebagai metabolit utama, selain DDE dan DDMU. Metabolit ini mungkin dihasilkan selama degradasi awal, yang kemudian diubah menjadi metabolit seperti dilaporkan oleh Xiao et al. [7]. DDMU dihasilkan dari reduktif deklorinasi reduktif DDD atau dehidroklorinasi dari DDE. Dalam kasus *B. subtilis*, metabolit DDT diidentifikasi seperti DDD dan DDMU (data tidak ditampilkan). DDD juga terdeteksi sebagai

metabolit utama, dimana DDMU dihasilkan dari redukti deklorinasi dari DDD.

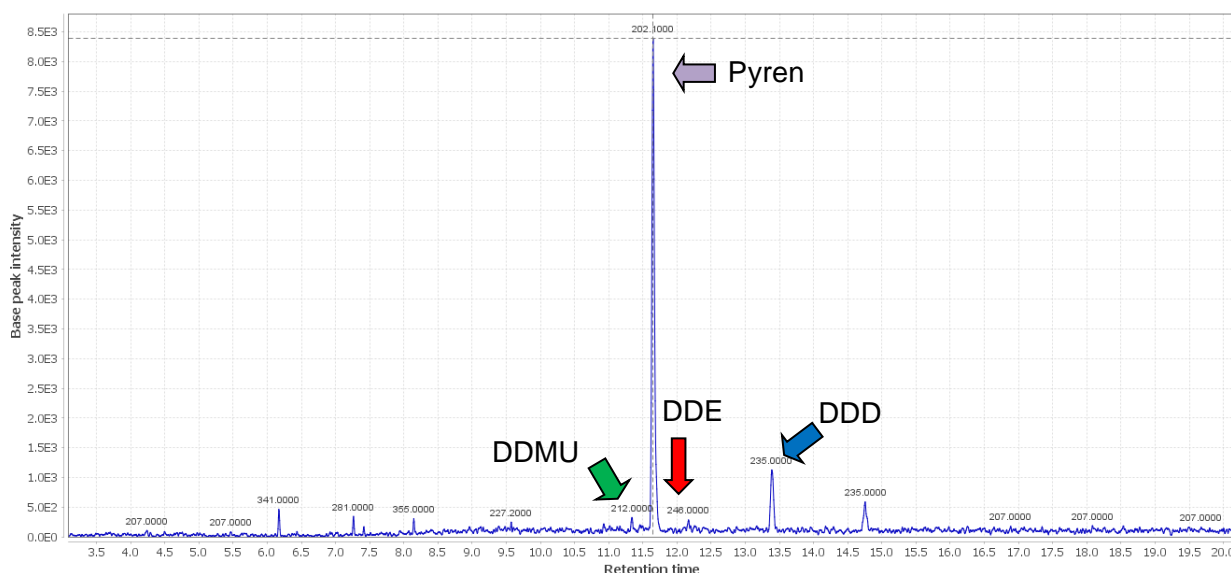
Pada kultur campuran *P. brevispora* dengan penambahan *B. subtilis*, metabolit DDT teridentifikasi seperti DDD, DDE dan DDMU. Kromatogram produk metabolit DDT ditunjukkan pada Gambar. 1, dimana pirena digunakan sebagai standar internal. Puncak dari pirena, DDD, DDE, dan DDMU memiliki waktu retensi masing-masing 11,7, 13,4, 12,2 dan 11,3 menit, yang memiliki m/z masing-masing 202, 235, 246, 212. Hasil ini menunjukkan bahwa produk metabolit

dari DDT oleh kultur campuran adalah produk metabolit DDT oleh *P. brevispora* tanpa penambahan bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa *P. brevispora* merupakan biota utama pada degradasi DDT oleh kultur campuran jamur-bakteri. *B. subtilis* mungkin mendukung pada produksi biosurfaktan untuk meningkatkan degradasi DDT bukan untuk mendegradasi DDT itu sendiri. Akan tetapi, penyelidikan tentang jalur degradasi DDT oleh kultur campuran jamur-bakteri memerlukan penyelidikan lebih lanjut.

Tabel 1. Degradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*, bakteri *B. subtilis* dan kultur campuran dalam media PDB selama inkubasi 7 hari.

Volume <i>B. subtilis</i> (mL)	Degradasi DDT (%)	
	<i>B. subtilis</i>	Kultur Campuran
(hanya <i>P. brevispora</i>)	64.25 ± 3.86	
1	35.38 ± 6.36	55.73 ± 0.19
3	66.21 ± 0.64	57.84 ± 0.98
5	79.51 ± 0.04	59.89 ± 0.27
7	84.06 ± 1.76	66.35 ± 1.31
10	86.44 ± 1.64	75.00 ± 0.01

Analisa dilakukan menggunakan HPLC. Data merupakan rata-rata ± standard deviasi (n = 3). 1 mL bakteri setara dengan 6.7×10^8 sel bakteri /mL kultur.



Gambar 1. Kromatogram hasil degradasi DDT oleh kultur campuran *P. brevispora* dan *B. subtilis*

Jamur pelapuk putih termasuk beberapa spesies *Phlebia* merupakan jamur yang dapat menghasilkan ekstraselular enzim lignolitik seperti lakase, MnP dan LiP, yang bertanggung jawab untuk mendegradasi lignin serta polutan [33-36]. Namun, keterlibatan enzim ini dalam degradasi DDT belum diketahui. Selain itu, enzim intraseluler mungkin terlibat dalam degradasi DDT, yang salah satunya adalah sitokrom P450 monooksigenase (P450). Enzim P450 mengkatalisis berbagai reaksi seperti hidrosilasi, oksidasi, reduksi, dehalogenasi, dan dehidrogenasi. P450 terlibat dalam degradasi beberapa polutan [37-43]. Dalam kondisi aerobik, DDT dimetabolisme menjadi DDD, dicofol dan 2,2-bis (4-klorofenil) asam asetat (DDA) oleh P450 [44,45], dimana DDT monohydroxylation dari cincin aromatik dengan P450 diusulkan sebagai jalur metabolisme baru DDT biodegradasi [46]. Hal ini diasumsikan bahwa baik enzim ekstraselular lignolitik dan enzim intraselular P450 memiliki peran penting dalam metabolisme DDT.

IV. Kesimpulan

Penambahan bakteri *B. subtilis* dapat meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora* selama masa inkubasi 7 hari, dimana penambahan 10 mL *B. subtilis* menunjukkan degradasi DDT tertinggi (75%). DDD, DDE dan DDMU terdeteksi sebagai produk metabolik. Penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* dapat digunakan untuk meningkatkan degradasi DDT oleh *P. brevispora*.

V. Ucapan Terimakasih

Penulis berterima kasih kepada Prof. Ichiro Kamei, dari University of Miyazaki yang telah membantu dalam penyediaan instrumen HPLC dan GCMS. Penelitian ini dibiayai dari hibah penelitian skem Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) 2016 No: 01714 / IT2.11 / PN.08 / 2016, dari Direktorat Jenderal Penguatan Penelitian dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Indonesia.

Daftar Pustaka

- [1] World Health Organization, "Environmental Health Criteria 9: DDT and its derivatives," WHO, Geneva, 1979.
- [2] M. A. Dalvie, "DDT: Health Effects. University of Cape Town, Cape Town, South Africa." Elsevier, 2011.
- [3] R. Boussahel, D. Harik, M. Mammam and S. Lamara-Mohamed, "Degradation of obsoletes DDT by Fenton oxidation with zero-valent iron." Desalination, vol. 206(1), 2007, pp. 369-372.
- [4] R. Borello, C. Minero, E. Pramauro, E. Pelizzetti, N. Serpone, and H. Hidaka, "Photocatalytic degradation of DDT mediated in aqueous semiconductor slurries by simulated sunlight." Environ. Toxicol. Chem., vol. 8(11), 1989. pp. 997-1002.
- [5] J. Bumpus, D. D. Focht, M. Alexander, and S. D. Aust, "Biodegradation of DDT (1,1,1 trikloro-2,2-bis (4-klorofenil) etane) by "*Phanerochaete chrysosporium*." Chemosphere, vol. 19, 1985, Issues 8-9.
- [6] J. M. Aislabie, N. K. Richards, and H. L. Boul, "Microbial degradation of DDT and its residues—a review." NZJ. Agricul. Res., vol. 40(2), 1997, pp. 269-282.
- [7] P. Xiao, T. Mori, I. Kamei, and R. Kondo, "A novel metabolic pathway for biodegradation of DDT by the white rot fungi, *Phlebia lindtneri* and *Phlebia brevispora*." Biodegradation, vol. 22(5), 2011, pp. 859-867.
- [8] B. T. Johnson, and J. O. Kennedy, "Biomagnification of p,p'-DDT and methoxychlor by bacteria." Appl. Microbiol., vol. 26, 1973, pp. 66-71.
- [9] N. Awasthi, A. Kumar, R. Makkar, and S. Cameotra, "Enhanced biodegradation of endosulfan, a chlorinated pesticide in presence of a biosurfactant." J. Environ. Sci. Health B, vol. 34, 1999, pp. 793-803.
- [10] C. N. Mulligan, "Environmental application for biosurfactants." Environ. J., vol. 133(2), 2005, pp. 183-198.
- [11] F. T. Hermansyah, "Optimasi degradasi DDT oleh *Pleurotus ostreatus* dengan penambahan bakteri *Bacillus subtilis*", Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya, 2014.
- [12] D. Lestari, "Pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Pleurotus eryngii*", Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya, 2016.
- [13] H. D. Rizqi, "Pengaruh penambahan bakteri terhadap biodegradasi DDT oleh *Daedalea dickinsii*", Tesis, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya, 2016.
- [14] A. Sariwati, "Pengaruh penambahan bakteri terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk coklat *Fomitopsis pinicola*", Tesis, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya, 2016.
- [15] A. S. Purnomo, I. Kamei, and R. Kondo, "Degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-

- chlorophenyl) ethane (DDT) by brown-rot fungi." J. Biosci. Bioeng., vol. 105 (6), 2008, pp. 614-621.
- [16] A. S. Purnomo, F. Koyama, T. Mori, and R. Kondo, "DDT degradation potential of cattle manure compost." Chemosphere, vol. 80 (6), 2010, pp. 619-624.
- [17] A. S. Purnomo, T. Mori, I. Kamei, T. Nishii, and R. Kondo, "Application of mushroom waste medium from *Pleurotus ostreatus* for bioremediation of DDT-contaminated soil." Inter. Biodet. Biodeg., vol. 64 (5), 2010, pp. 397-402.
- [18] A. S. Purnomo, T. Mori, and R. Kondo, "Involvement of Fenton reaction in DDT degradation by brown-rot fungi." Inter. Biodet. Biodeg., vol. 64 (7), 2010, pp. 560-565.
- [19] A. S. Purnomo, T. Mori, K. Takagi, and R. Kondo, "Bioremediation of DDT contaminated soil using brown-rot fungi." Inter. Biodet. Biodeg., vol. 65 (5), 2011, pp. 691-695.
- [20] A. S. Purnomo, T. Mori, I. Kamei, and R. Kondo, "Basic studies and applications on bioremediation of DDT: A review." Inter. Biodet. Biodeg., vol. 65 (7), 2011, pp. 921-930.
- [21] S. Wahyuni, M. T. Suhartono, A. Khaeruni, A. S. Purnomo, Asranudin, Holilah, P. A. Riupassa, "Purification and Characterization of Thermostable Chitinase from *Bacillus* SW41 for Chitin Oligomer Production." Asian J. Chem., vol. 28(12), 2016, pp. 2731-2736.
- [22] A. S. Purnomo, T. Mori, S. R. Putra, and R. Kondo, R. "Biotransformation of heptachlor and heptachlor epoxide by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*." Inter. Biodet. Biodeg., vol. 82, 2013, pp. 40-44.
- [23] A. S. Purnomo, S. R. Putra, K. Shimizu, and R. Kondo, "Biodegradation of heptachlor and heptachlor epoxide-contaminated soils by white-rot fungal inocula." Environ. Sci. Poll. Res., vol. 21, 2014, pp. 11305-11312.
- [24] N. Pornsunthorntawe, N. Arttaweeporn, S. Paisanjit, P. Somboonthanate, M. Abe, R. Rujiravanit, and S. Chavadej, "Isolation and comparison of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* Pt2 and *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for microbial surfactant-enhanced oil recovery." Biochem. Eng. J., vol. 42, 2008, pp. 172-179.
- [25] E. J. Gudiña, V. Rangarajan, R. Sen, and L. R. Rodrigues, "Potential therapeutic applications of biosurfactants." Trends Pharmac. Sci., vol. 34, 2013, pp. 667-675.
- [26] R. Zouari, S. E. Chaabouni, and D. G. Aydi, "Optimization of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant production under solid-state fermentation using by-products of a traditional olive mill factory." Achiev. Life Sci., vol. 8, 2014, pp. 162-169.
- [27] D. Kantachote, I. Singleton, N. McClure, R. Naidu, M. Megharaj, and B. D. Harch, "DDT resistance and transformation by different microbial strains isolated from DDT-contaminated soils and compost materials." Compost Sci. Utiliz., vol. 11 (4), 2003, pp. 300-310.
- [28] B. E. Langlois, J. A. Collins, and K. G. Sides, "Some factors affecting degradation of organochlorine pesticide by bacteria." J. Dairy Sci., vol. 53, 1970, pp. 1671-1675.
- [29] R. Bidlan, "Studies on DDT degradation by bacterial strains." PhD Thesis, Central Food Technological Research Institute, University of Mysore, India, 2003.
- [30] F. I. Hai, O. Modin, K. Yamamoto, K. Fukushi, F. Nakajima, and L. D. Nghiem, "Pesticide removal by a mixed culture of bacteria and white-rot fungi." J. Taiwan Inst. Chem. Eng., vol. 43, 2012, pp. 459-462.
- [31] S. Wang, N. Nomura, T. Nakajima, and H. Uchiyama, "Case study of the relationship between fungi and bacteria associated with high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation." J. Biosci. Bioeng., vol. 113 (5), 2012, pp. 624-630.
- [32] F. A. Bezza, and E. M. N. Chirwa, "Production and applications of lipopeptide biosurfactant for bioremediation and oil recovery by *Bacillus subtilis* CN2." Biochem. Eng. J., vol. 101, 2015, pp. 168-178.
- [33] J. A. Buswell, Y. J. Cai, and S. T. Chang, "Fungal-and substrate-associated factors affecting the ability of individual mushroom species to utilize different lignocellulosic growth substrates." In: S. Chang, J. A. Buswell, and S. Chiu, (Eds.), Mushroom Biology and Mushroom Products. The Chinese Univ. Press, Hong Kong, 1993, pp. 141-150.
- [34] M. Hofrichter, T. Lundell, and A. Hatakka, "Conversion of milled pine wood by manganese peroxidase from *Phlebia radiata*." Appl. Environ. Microbiol., vol. 67, 2001, pp. 4588-4593.
- [35] T. Vares, M. Kalsi, and A. Hatakka, "Lignin peroxidases, manganese peroxidases, and other ligninolytic enzymes produced by *Phlebia radiata* during solid-state fermentation of wheat straw." Appl. Environ. Microbiol., vol. 61, 1995, pp. 3515-3520.
- [36] A. A. Leontievsky, T. Vares, P. Lankinen, J. K. Shergill, N. N. Pozdnyakova, N. M. Myasoedova, N. Kalkkinen, L. A. Golovleva, R. Cammack, C. F. Thurston, and A. Hatakka, "Blue and yellow laccases of ligninolytic fungi." FEMS Microb. Lett., vol. 156, 1997, pp. 9-14.
- [37] S. Masaphy, D. Levanon, Y. Henis, K. Venkateswarlu, and S. L. Kelly, "Evidence for cytochrome P-450 and P-450-mediated

- benzo(a)pyrene hydroxylation in the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*." FEMS Microbiol. Lett., vol. 135, 1996, pp. 51-55.
- [38] L. Bezalel, Y. Hadar, P. P. Fu, J. P. Freeman, and C. E. Cerniglia, "Initial oxidation products in the metabolism of pyrene, anthracene, fluorene, and dibenzothiophene by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*." Appl. Environ. Microbiol., vol. 62, 1996, pp. 2554-2559.
- [39] I. Kamei, and R. Kondo, "Biotransformation of dichloro-, trichloro-, and tetrachlorodibenzo-p-dioxin by the white-rot fungus *Phlebia lindtneri*." Appl. Microbiol. Biotech., vol. 68, 2005, pp. 560-566.
- [40] I. Kamei, S. Sonoki, K. Haraguchi, and R. Kondo, "Fungal bioconversion of toxic polychlorinated biphenyls by white-rot fungus," *Phlebia brevispora*. Appl. Microbiol. Biotech., vol. 73, 2006, pp. 932-940.
- [41] T. Mori, and R. Kondo, "Oxidation of chlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran by white-rot fungus, *Phlebia lindtneri*." FEMS Microbiol. Lett., vol. 216, 2002, pp. 223-227.
- [42] T. Mori, K. Nakamura, and R. Kondo, "Fungal hydroxylation of polychlorinated naphthalenes with chlorine migration by wood rotting fungi." Chemosphere, vol. 77, 2009, pp. 1230-1235.
- [43] N. Hiratsuka, H. Wariishi, and H. Tanaka, "Degradation of diphenyl ether herbicides by the lignin-degrading basidiomycete *Coriolus Versicolor*." Appl. Microbiol. Biotech., vol. 57, 2001, pp. 563-571.
- [44] A. Cùany, M. Pralavorio, D. Pauron, J. B. Berge, D. Fournier, and C. Blais, "Characterization of microsomal oxidative activities in a wild-type and in a DDT resistant strain of *Drosophila melanogaster*." Pestic. Biochem. Physiol., vol. 37, 1990, pp. 293-302.
- [45] N. Joußen, D. G. Heckel, M. Haas, I. Schuphan, and B. Schmidt, "Metabolism of imidacloprid and DDT by P450 CYP6G1 expressed in cell cultures of *Nicotiana tabacum* suggests detoxification of these insecticides in Cyp6g1-overexpressing strains of *Drosophila melanogaster*, leading to resistance." Pest Manag. Sci., vol. 64, 2008, pp. 65-73.
- [46] H. Suhara, A. Adachi, I. Kamei, and N. Maekawa, "Degradation of chlorinated pesticide DDT by litter-decomposing *basidiomycetes*." Biodegradation, vol. 22, pp. 1075-1086.