

PENGARUH KONSENTRASI NITROGEN DAN FOSFOR TERHADAP POTENSI *Pseudomonas* PENDEGRADASI ALKILBENZEN SULFONAT LINIAR (LAS)

Suharjono J, Subagja L, Sembiring C, Retnaningdyah, dan IKJW Putra

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Science, Brawijaya University, Malang 65145
Faculty of Biology, Gadjah Mada University, Yogyakarta

ABSTRACT

*Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) concentration over 0.5 mg/L has toxic effect on organisms in river ecosystem. Some indigenous Pseudomonas strains on detergent polluted river have capacity to degraded LAS. The objective of the research was to study the effect of increasing of nitrogen (N) and phosphorus (P) concentration in minimum mineral medium on growth and LAS biodegradation potency of Pseudomonas strains using batch culture. The experiment was carried out by Randomized Block Design and three replications. Each three milliliter of strain starter contain 10^8 cell/ml was inoculated into 27 ml of each media formulation. Each culture was incubated aerobically at 30 °C on shaker incubator. Amount of bacteria cell and LAS residue concentration were observed on 0, 3rd, 6th, 9th and 12th day incubation. Data was analyzed using variance analyze and followed by Honesty Significance Difference test on 5% significance level. The result of the research showed that *Pseudomonas putida* FNCC071, *Pseudomonas* sp. strain R, and *Pseudomonas* sp. strain J was capable to degrade LAS about 89.0%, 87.0% and 80.0% respectively in 12 days incubation. The highest increasing of N and P concentration in media gives the highest potency of bacteria strains to degrade LAS ($p > 0.05$).*

Key words: N and P concentration, LAS, *Pseudomonas* strain, Biodegradation potency

PENGANTAR

Surfaktan anionik *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) saat ini dominan digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi deterjen sintetis (Jimenez *et al.*, 1991; Campos-Garcia *et al.*, 1999; Jerabkova *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2000; Schleheck *et al.*, 2000; Sigoillot dan Nguyen 1992). LAS tersebut sejak tahun 1965 secara dominan digunakan dalam formulasi deterjen sintetis karena dapat didegradasi, untuk menggantikan *Alkylbenzene Sulphonate* bercabang (ABS) yang sulit didegradasi (Lee dan Hong, 1980; Anderson *et al.*, 1990; Marchesi *et al.*, 1994; Schleheck *et al.*, 2004). Konsumsi surfaktan tersebut terus meningkat dari 13 juta ton pada tahun 1977 menjadi 18 juta ton pada 1996. Surfaktan anionik LAS dalam jumlah sekitar 1,5 juta ton per tahun saat ini digunakan dalam formulasi deterjen tersebut (Vidali, 2001). Peningkatan penggunaan deterjen oleh masyarakat telah secara nyata menghasilkan limbah cair domestik yang mengandung LAS dan mencemari ekosistem sungai (Jimenez *et al.*, 1991; Kenzaka *et al.*, 2001). Konsentrasi LAS di ekosistem sungai di kota besar-kota besar yang padat penduduknya khususnya di Indonesia sudah melampaui nilai ambang 0,5 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi LAS di air Kali Mas Surabaya pada musim kemarau 2,49–4,65 mg/L (Mitakda *et al.*, 2000), sedangkan pada musim penghujan 0,82–1,43 mg/L (Retnaningdyah *et al.*, 1999).

Konsentrasi LAS di air sungai sekitar pemukiman yang sedikit penduduknya antara 0,37–1,14 mg/L (Arifyanti, 2002) dan di air sungai sekitar pemukiman padat penduduk antara 4,06–8,98 mg/L (Suharjono, 2003). Akumulasi konsentrasi LAS melampaui 0,5 mg/L bersifat toksik bagi berbagai organisme akuatik (Zeni dan Caligiuri, 1992; Lewis, 1990; Retnaningdyah *et al.*, 2001). LAS pada konsentrasi tersebut dapat membentuk busa sehingga dapat menurunkan estetika lingkungan, serta bila busa tersebut tertiuap angin dapat menyebarkan mikrobia patogen (Jimenez *et al.*, 1991; Van Ginkel, 1996). Pencemaran deterjen tersebut merupakan salah satu penyebab punahnya dan turunnya keragaman berbagai organisme di ekosistem sungai serta terganggunya pemanfaatan air sungai untuk berbagai peruntukan bagi manusia.

Bioremediasi merupakan salah satu teknologi yang dapat diterima untuk restorasi lingkungan tercemar dan menurunkan toksisitas polutan tersebut dengan melibatkan aktivitas mikrobia (Halden *et al.*, 1999; Vidali, 2001). Komunitas mikrobia memainkan peran yang sangat penting dalam biodegradasi senyawa pencemar alami maupun yang berasal dari aktivitas manusia, serta mendukung swapurifikasi ekosistem secara alami (Kenzaka *et al.*, 2001). Strain bakteri anggota genus *Pseudomonas* kosmopolitan dan kelimpahan serta keragamannya dominan di ekosistem sungai (Holder-Franklin *et al.*, 1981), di ekosistem air asin

(Del Moral *et al.*, 1988) dan di ekosistem tanah rizosfer (Barraquio *et al.*, 1983). Beberapa strain anggota genus *Pseudomonas* berperan dominan dan berpotensi tinggi dalam menguraikan serta menurunkan toksisitas limbah deterjen yang mengandung bahan aktif LAS (Jimenez *et al.*, 1991; Van Ginkel, 1996; Campos-Garcia *et al.*, 1999; Jerabkova *et al.*, 1999; Schleheck *et al.*, 2000 dan 2004). Beberapa strain bakteri tersebut masing-masing mampu menguraikan LAS sama efektifnya bila dibandingkan dengan biakan campuran berbagai strain anggota genus bakteri yang lain. Oleh karena itu, beberapa strain bakteri tersebut banyak digunakan sebagai agen dalam pengolahan limbah cair domestik yang banyak mengandung deterjen.

Beberapa strain anggota genus *Pseudomonas* indigenous ekosistem sungai tercemar deterjen memiliki potensi yang lebih tinggi dalam mendegradasi LAS dibandingkan strain-strain dari ekosistem yang belum tercemar (Anderson *et al.*, 1990; Suharjo *et al.*, 2004). Beberapa strain anggota *Pseudomonas* indigenous ekosistem sungai tercemar deterjen di Indonesia memiliki potensi sebagai pendegradasi LAS (Mitakda *et al.*, 2000; Arifyanti 2002; Suharjo *et al.*, 1999; Suharjo 2003; Suharjo *et al.*, 2004). Hasil penelitian Suharjo *et al.* (2004) menunjukkan bahwa beberapa strain anggota *Pseudomonas* tersebut memiliki kemampuan pertumbuhan dan potensi biodegradasinya terhadap LAS berkurang setelah inkubasi 72 jam, meskipun residu LAS masih banyak. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan konsentrasi senyawa sumber nitrogen (N) dan fosfor (P) dalam media mineral terhadap pertumbuhan dan potensi strain-strain anggota *Pseudomonas* dalam mendegradasi LAS. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah menemukan suatu usaha alternatif untuk meningkatkan kinerja strain-strain bakteri tersebut dalam mendegradasi dan menurunkan toksisitas LAS, dalam upaya membantu pemerintah mengatasi pencemaran lingkungan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Penelitian

Tiga strain bakteri diuji kemampuan tumbuh dan potensi biodegradasinya terhadap LAS yang diberi perlakuan perbedaan konsentrasi senyawa sumber N dan P. Dua strain yaitu *Pseudomonas* sp. strain J dan R merupakan isolat indigenous ekosistem sungai tercemar deterjen koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Strain acuan yang digunakan yaitu *P. putida* FNCC071 diperoleh dari PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Medium yang digunakan adalah

medium mineral menurut He *et al.* (1998) dengan komposisi senyawa dalam satu liter akuades adalah: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,50 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,40 g; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 9,65 g; KH_2PO_4 2,65; serta *trace element* $\text{FeCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 20,0 g; $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 10,0 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 0,03 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,05 g; dan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,10 g.

Pembuatan Starter

Masing-masing strain bakteri uji dari biakan stok diremajakan dalam tabung reaksi berisi medium miring *Pseudomonas Agar F Base* yang mengandung 10 mg/L LAS. Bakteri tersebut diinkubasikan secara aerobik pada suhu 30 °C selama 24 jam. Setiap strain tersebut diaklimatisasikan empat kali dalam medium mineral menurut He *et al.* (1998) dengan 10 mg/L LAS sebagai satu-satunya sumber karbon. Pada awal aklimatisasi, setiap strain diambil satu ose penuh koloni dari medium agar kemudian diinokulasikan ke dalam 30 ml medium mineral yang mengandung sumber karbon 10 mg/L LAS. Biakan tersebut diinkubasikan secara aerobik pada suhu 30 °C selama tujuh hari. Proses aklimatisasi berikutnya dilakukan dengan cara setiap strain yang sudah diaklimatisasi kemudian diambil tiga mililiter dan diinokulasikan ke dalam 27 mL medium mineral yang sama dan diinkubasikan seperti aklimatisasi pertama (Lee dan Hong, 1980; Anderson *et al.*, 1990).

Strain-strain bakteri yang sudah diaklimatisasi dibuat starter dengan cara diambil lima mililiter kemudian diinokulasikan ke dalam 95 ml medium mineral dengan sumber karbon glukosa lima persen dan diperkaya 0,03% ekstrak khamir. Setiap biakan strain tersebut diinkubasikan secara aerobik dalam inkubator kocok dengan kecepatan 120 rpm. Selama inkubasi setiap satu jam dihitung jumlah sel bakteri menggunakan *Spectronic 501* pada panjang gelombang 500 nm. Biakan setiap strain yang berada dalam fase pertumbuhan logaritmik dengan jumlah sel sekitar 10^8 sel/ml digunakan sebagai biakan starter dalam uji pertumbuhan dan potensinya dalam mendegradasi LAS.

Uji Biodegradasi Surfaktan Anionik LAS

Percobaan pengaruh berbagai konsentrasi N dan P dalam media mineral dengan sumber karbon 35 mg/L LAS terhadap pertumbuhan dan potensi biodegradasi setiap strain uji terhadap LAS dilakukan dengan rancangan acak kelompok dan tiga ulangan. Pengelompokan dalam percobaan ini didasarkan pada ulangan percobaan yang dilakukan dalam waktu yang berbeda. Hal tersebut memungkinkan terjadinya variasi jumlah sel dan konsentrasi LAS setiap ulangan pada awal percobaan. Perlakuan variasi konsentrasi senyawa sumber N dan P dalam media mineral disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi konsentrasi N dan P dalam media mineral

No	Senyawa	Berat Senyawa (g/1000 mL akuades)				
		mms 1	mms 2	mms 3	mms 4	mms 5
1	LAS	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
2	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	1	1,5	0,5	1,5
3	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
4	Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O	9,65	9,65	9,65	12,06	14,48
5	KH ₂ PO ₄	2,65	3,09	2,65	2,83	2,65
6	Trace element (1 ml):					
	a. FeCl ₂ · 6 H ₂ O	20	20	20	20	20
	b. CaCl ₂ · H ₂ O	10	10	10	10	10
	c. CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	d. MnCl ₂ · 4 H ₂ O	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	e. ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

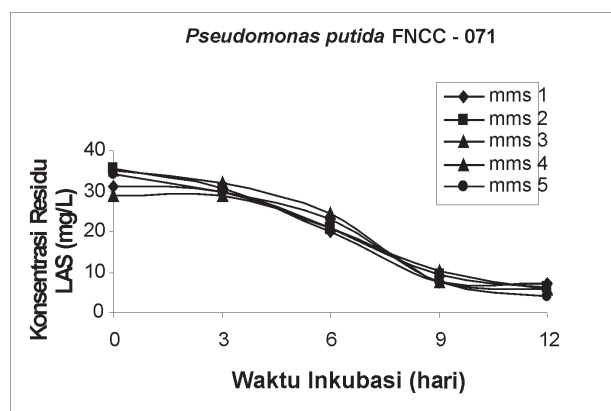
Percobaan ini dilakukan dalam sistem biakan tertutup (*batch culture*). Suspensi starter masing-masing strain bakteri dengan jumlah sekitar 10^8 sel/ml diambil tiga mililiter dan diinokulasikan ke dalam 27 ml setiap media mineral sederhana yang mengandung 35 mg/L LAS. Setiap botol biakan merupakan satu perlakuan dan digunakan untuk satu kali pengamatan. Setiap biakan tersebut kemudian diinkubasikan secara aerobik dalam inkubator kocok kecepatan 120 rpm pada suhu 30 °C. Parameter jumlah sel dan konsentrasi residu LAS diamati pada umur inkubasi 0, 3, 6, 9, dan 12 hari. Jumlah sel dihitung berdasarkan densitas optiknya menggunakan spektrofotometer *spectronic* 501 pada panjang gelombang 500 nm. Konsentrasi residu LAS diukur dengan metode *Methylene Blue Active Substance* (MBAS) (Clesceri *et al.*, 1989). Data jumlah sel dan konsentrasi residu LAS dilakukan analisis ragam dan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi 5% menggunakan program *SPSS for MS Windows Release 10*.

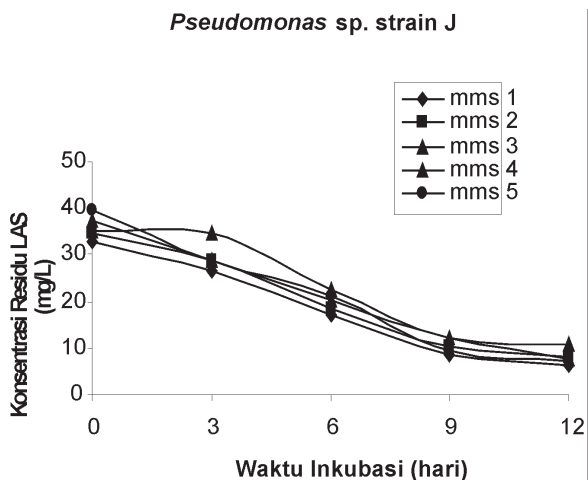
HASIL

Hasil uji potensi biodegradasi LAS masing-masing strain menunjukkan ketiga strain uji memiliki potensi paling tinggi dalam medium mineral dengan penambahan konsentrasi senyawa sumber N dan P yang paling tinggi (mms 5, Tabel 1.). Dalam medium tersebut selama inkubasi 12 hari, *P. putida* FNCC071 mampu mendegradasi LAS paling tinggi 89% yaitu dari 34,20 mg/L menjadi 3,79 mg/L (Gambar 1). Dalam medium dan waktu yang sama *Pseudomonas* sp. strain J mampu mendegradasi LAS sebesar 80% yaitu dari 39 mg/L menjadi 7,15 mg/L (Gambar 2),

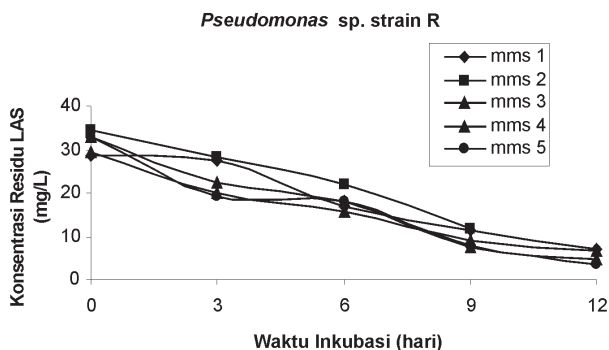
sedangkan *Pseudomonas* sp. strain R mampu mendegradasi LAS sebesar 87% yaitu dari 32,87 mg/L menjadi 3,39 mg/L (Gambar 3). *P. putida* FNCC071, *Pseudomonas* sp. strain J, dan strain R mengalami peningkatan potensi dalam mendegradasi LAS secara berturut-turut sebesar 41%, 26%, dan 25% setelah diberi perlakuan aklimatisasi dan penambahan konsentrasi senyawa sumber N sebesar 100% dan P sebesar 36%.

Semua strain bakteri uji dalam medium mineral dengan sumber karbon 35 mg/L LAS serta variasi konsentrasi N dan P menunjukkan pertumbuhan jumlah sel sampai umur inkubasi 12 hari ($p < 0,05$). *P. Putida* FNCC071 dalam medium mineral dengan konsentrasi 0,1% N dan 1,3% P setelah 12 hari inkubasi mengalami pertumbuhan jumlah sel paling tinggi sebesar 3318%, yaitu dari $0,94 \times 10^8$ sel/mL menjadi $32,07 \times 10^8$ sel/mL (Gambar 4). Dalam

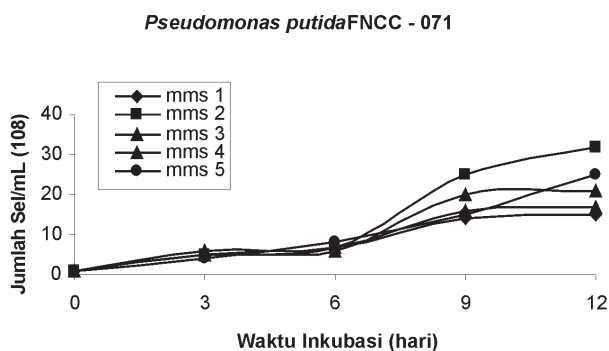
**Gambar 1.** Potensi biodegradasi *P. Putida* FNCC071 terhadap LAS



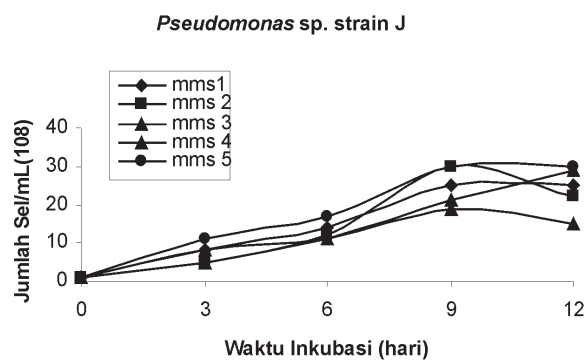
Gambar 2. Potensi biodegradasi *Pseudomonas* sp. Strain J terhadap LAS



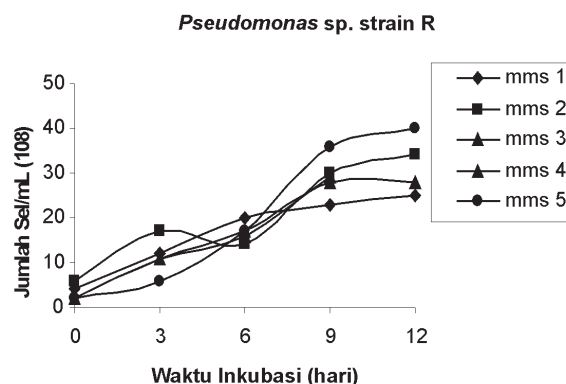
Gambar 3. Potensi biodegradasi *Pseudomonas* sp. Strain R terhadap LAS



Gambar 4. Pertumbuhan sel *P. Putida* FNCC071



Gambar 5. Pertumbuhan sel *Pseudomonas* sp. Strain J



Gambar 6. Pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Strain R

waktu tersebut dan dalam medium dengan konsentrasi 0,15% N dan 1,85% *Pseudomonas* sp. strain J jumlah sel tumbuh paling tinggi sebesar 20,27% yaitu dari $1,42 \times 10^8$ sel/mL menjadi $30,21 \times 10^8$ sel/ml (Gambar 5), sedangkan *Pseudomonas* sp. strain R pertumbuhannya paling tinggi sebesar 1591% yaitu dari $1,99 \times 10^8$ sel/ml menjadi $39,36 \times 10^8$ sel/mL (Gambar 6). Masing-masing bakteri *P. putida* FNCC071, *Pseudomonas* sp. strain J, dan strain R tersebut setelah diberi perlakuan aklimatisasi dan penambahan konsentrasi senyawa sumber N sebesar 100% dan P 36% mengalami peningkatan perumbuhan secara beturut-turut sebesar 3287%, 1926%, dan 1510%. Peningkatan konsentrasi nitrogen saja dapat meningkatkan pertumbuhan strain, tetapi peningkatan konsentrasi P saja tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. Peningkatan konsentrasi kedua unsur tersebut lebih besar pengaruhnya dalam meningkatkan pertumbuhan ketiga strain. Variasi peningkatan konsentrasi N dan P yang tidak besar tersebut juga menyebabkan variasi peningkatan pertumbuhan ketiga strain relatif kecil ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Perlakuan variasi konsentrasi N dan P dalam medium mineral tersebut pengaruhnya tidak besar ($p > 0,05$) terhadap potensi semua strain dalam biodegradasi LAS. Hal ini disebabkan variasi peningkatan konsentrasi N dan P tersebut relatif kecil. Perlakuan yang menyebabkan variasi yang nyata terhadap residu konsentrasi LAS adalah perbedaan strain dan umur inkubasi, meskipun kedua faktor tersebut pengaruhnya sendiri-sendiri. Adanya perlakuan aklimatisasi strain uji sebelum digunakan serta penambahan konsentrasi N dan P dapat meningkatkan potensi biodegradasi strain terhadap LAS bila dibandingkan dengan hasil penelitian Suharjono *et al.* (2004).

Menurut Anderson *et al.* (1990) dan Marchesi *et al.* (1994) strain-strain bakteri yang telah teradaptasi dalam ekosistem tercemar deterjen memiliki potensi biodegradasi terhadap LAS lebih tinggi dibandingkan strain-strain indigenous di ekosistem tidak tercemar. Schleheck *et al.* (2000) menyatakan bahwa oksidasi amonium dapat meningkatkan biodegradasi strain-strain bakteri terhadap LAS. Dijelaskan bahwa proses bioremediasi ekosistem yang tercemar hidrokarbon sangat lambat apabila tidak ada biostimulasi berupa penambahan nutrisi. Ada suatu korelasi yang positif yaitu dengan biostimulasi atau penambahan N dan P dapat meningkatkan laju metabolisme dan pertumbuhan mikrobia indigenous pengurai polutan (Margesin dan Skinner, 1998). Dalam kondisi media dengan sumber karbon yang sesuai dan mencukupi tetapi terjadi keterbatasan suplai nitrogen dan fosfor, kebanyakan bakteri dapat mengakumulasi sejumlah senyawa polimer sebagai cadangan makanan dalam sel, seperti glikogen, lipid atau Polihidroksibutirat (PHB). Bakteri tersebut dalam sistem biakan tertutup pertumbuhannya menjadi lambat (Wanner dan Egli, 1990).

Bila dibandingkan dengan kemampuan *Pseudomonas* C12B (Jerabkova *et al.*, 1999), maka potensi biodegradasi LAS oleh kedua strain hasil isolasi tersebut masih jauh lebih rendah. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: a) perbedaan strain yang digunakan, dan b) sistem uji biodegradasi yang berbeda. Dalam penelitian ini uji biodegradasi LAS dilakukan dalam sistem tertutup sehingga hasil metabolit yang terakumulasi dalam media dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri, sedangkan pada penelitian Jerabkova *et al.* (1999) dilakukan dengan sistem biakan kontinu dan diberi substrat untuk pembentukan biofilm. Menurut hasil penelitian tersebut, *Pseudomonas* C12B mampu mendegradasi secara LAS sebesar 98% sampai konsentrasi 600 mg/L dan kemampuannya lebih

tinggi dalam bioreaktor yang diberi substrat pendukung pembentuk biofilm dibanding tanpa substrat.

Halden *et al.* (1999) menunjukkan bahwa *P. pseudoalcaligenes* POB310 tidak mampu mendegradasi asam phenoksibenzoat bila media tidak ditambah nutrisi lain, bahkan strain tersebut tidak dapat bertahan hidup. Dijelaskan pula bahwa penambahan fosfor saja hanya sedikit meningkatkan pertumbuhan sel, sebaliknya penambahan N dan P secara bersamaan dapat meningkatkan biodegradasi senyawa tersebut seiring dengan peningkatan jumlah sel. Bell *et al.* (1982) juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nitrogen dalam sistem biakan kontinu dapat meningkatkan pertumbuhan sel. Menurut Vidali (2001) nitrogen, fosfor dan karbon merupakan unsur-unsur yang penting sebagai penyusun komponen sel serta memungkinkan mikrobia mampu membentuk enzim-enzim yang diperlukan untuk mendegradasi pencemar.

Pertumbuhan sel dan berkurangnya konsentrasi LAS dalam media mineral menunjukkan bahwa strain-strain bakteri tersebut mampu mendegradasi dan memanfaatkan LAS sebagai sumber karbon, energi atau belerang untuk pertumbuhannya. Beberapa strain anggota *Pseudomonas* diketahui memiliki operon yang berbeda, masing-masing menyandikan sistem enzim yang berbeda dan bekerja dalam metabolisme gugus spesifik surfaktan tersebut. Operon-operon tersebut antara lain operon *alk* yang menyandikan sistem enzim pemecah gugus alkil (Van Beilen *et al.*, 1992), operon pWVO (TOL) menyandikan sistem enzim yang bekerja dalam metabolisme cincin benzen (Horn *et al.*, 1991; Wackett; 2003) serta operon *ssu* yang menyandikan sistem enzim yang terlibat dalam desulfonolisis gugus sulfonat (Kahnert *et al.*, 2000; Schleheck *et al.*, 2003). Menurut Suharjono *et al.* (1999) adanya biodegradasi parsial LAS secara nyata dapat menurunkan toksisitasnya terhadap berbagai organisme akuatik.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi N 100% dan P 36% dalam medium mineral dapat meningkatkan pertumbuhan sel *P. putida* FNCC071 yang paling tinggi sebesar 3318%. *P. putida* FNCC071 juga memiliki potensi paling tinggi sebesar 89% dalam mendegradasi LAS.

KEPUSTAKAAN

- Anderson DJ, Day MJ, Russel NS dan White GF, 1990. Die-Away Kinetic Analysis of the Capacity of Epilithic and Planktonic Bacteria from Clean and Polluted River Water to Biodegrade Sodium Dodecyl Sulfate. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 758–763.

- Arifyanti NT, 2002. Pengaruh Limbah Deterjen Terhadap Kelimpahan Komunitas Bakteri *Pseudomonas* sp. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.
- Barraquio WL, Ladha JK dan Watanabe I, 1983. Isolation and Identification of N₂ Fixing *Pseudomonas* Associated with Wetland Rice. *Can. J. Microbiol.* 29: 867–873.
- Bell CR, Holder-Franklin MA dan Franklin M, 1982. Seasonal Fluctuation in River Bacteria as Measured by Multivariate Statistical Analysis of Continuous Culture. *Can. J. Microbiol.* 28: 959–975.
- Campos-Garcia J, Esteve A, Vasquez R, Ramos JL dan Soberon-Chavez G, 1999. The Branched-Chain Dodecylbenzene Sulfonate Degradation Pathway of *Pseudomonas aeruginosa* W51D Involves a Novel Route for Degradation of the Surfactant Lateral Alkyl Chain. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8): 3730–3734.
- Clesceri LS, Arnold EG, Trussel RR dan Mory AHF, 1989. *Standard Methods for The Examination of Water and Waste Water*. 17th ed. APHA, AWWA and WPLF. Washington.
- Del Moral A, Prado B, Quesada E, Garcia T, Ferrer R dan Ramos-Comenzana, 1988. Numerical Taxonomy of Moderately Halophylic Gram Negative Rods from an Inland Saltern. *J. Gen. Microbiol.* 134: 733–741.
- Halden RU, Tepp SM, Halden BG dan Dwyer DF, 1999. Degradation of 3-Phenoxybenzoic Acid in Soil by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* POB310(pPOB) and Two Modified *Pseudomonas* Strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8): 3354–3359.
- He W, Weidong T, Guang Z, Gup-Qiang C dan Zengming Z, 1998. Production of Novel Polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas stutzeri* 1317 from Glucose and Soybean Oil. *FEMS Microbiol Lett.* 169: 45–49.
- Holder-Franklin MA, Thorpe A dan Carmier CJ, 1981. Comparison of Numerical Taxonomy and DNA-DNA Hybridization in Diurnal Studies of River Bacteria. *Can. J. Microbiol.* 27: 1165–1183.
- Horn JM, Harayama S. dan Timmis KH, 1991. DNA Sequence Determination of the TOL Plasmid (pWWO) xyl *GFS* genes of *Pseudomonas putida*: Implications for the Evolution of Aromatic Catabolism. *Mol. Microbiol.* 5(10): 2459–2474.
- Huang H, Ellis TG dan Kaiser SK, 2000. Extant Biodegradation Testing with Linear Alkylbenzene Sulfonate in Laboratory and Field Activated Sludge Systems. *WEFTEC, Water Environmental Federation*.
- Jerabkova H, Kralova B dan Nahlik J, 1999. Biofilm of *Pseudomonas* C12B on Glass Support as Catalytic Agent for Continuous SDS Removal. *Int. Biodet. Biodeg.* 44: 233–241.
- Jimenez L, Breen A, Thomas N, Federle TW dan Saylor GS, 1991. Mineralization of Linear Alkylbenzene Sulfonate by a Four-member Aerobic Bacterial Consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(5): 1566–1569.
- Kahnert A, Vermeij P, Wietek C, James P, Leisinger T dan Kertesz MA, 2000. The *ssu* Locus Plays a Key Role in Organosulphure Metabolism in *Pseudomonas putida* S-313. *J. Bacteriol.* 182(10): 2869–2878.
- Kenzaka T, Yamaguchi N, Prapagde B, Mikami E dan M Nasu, 2001. Bacterial Community Composition and Activity in Urban Rivers in Thailand and Malaysia. *J. Health Sci.* 47(4): 353–361.
- Lee HJ dan Hong SW, 1980. Biodegradation of and Comparison of Adaptability to Detergents. *Kor. J. Microbiol.* 18(4): 153–160.
- Lewis MA, 1990. Chronic Toxicity of Surfactants and Detergent Builders to Algae, A Review and Risk Assessment. *Ecotox. Environ. Saf* 20: 123–140.
- Marchesi SR, Owen SA, White GF, House WA dan Russel NJ, 1994. SDS-Degrading Bacteria Attach to Riverine Sediment in Response to the Surfactant or its Primary Biodegradation Product Dodecan-1-ol. *Microbiology* 140: 2999–3006.
- Margesin R dan Schinner F, 1998. Low Temperature Bioremediation of a Wastewater Contaminated with Anionic Surfactants and Fuel Oil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 482–486.
- Mitakda B, Prayitno, Suharjo dan Retnaningdyah C, 2000. Perancangan dan Pemodelan Usaha Peningkatan Purifikasi Sungai Brantas Hilir. *Natural* 4(2): 38–49.
- Retnaningdyah C, Samino S, Suharjo, Doddy I dan Prayitno, 1999. Uji Toksisitas Akut Surfaktan Deterjen LAS dan ABS terhadap beberapa Gastropoda Sungai. *Natural* 3(2): 63–74.
- Retnaningdyah C, S. Samino, Suharjo, M. Hadi dan Prayitno, 2001. Pengaruh Surfaktan Deterjen (ABS dan LAS) terhadap Kemampuan Regenerasi Planaria (*Dugesia trigrina*). *Natural* 5: 21–26.
- Schleheck D, Dong W, Denger K, Heinze E dan Cook AM, 2000. An Alfa Proteobacterium Converts Linear Alkylbenzenesulfonate Surfactants into Sulphophenylcarboxylates and Linear Alkylbiphenyletherdisulfonate Surfactants into Sulfodiphenylethercarboxylates. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(5): 1911–1916.
- Schleheck D, Lechner M, Schonemberger R, Suter MJF dan Cook AM, 2003. Desulfonation and Degradation of the Disulfodiphenylethercarboxylates from Linear Alkyldiphenyletherdisulfonate Surfactant. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(2): 928–944.
- Schleheck D, Knepper TP, Fischer K dan Cook AM, 2004. Mineralization of Individual Congeners of Linear Alkylbenzenesulfonate by Defined Pairs of Heterotrophic Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (7): 4053–4063.
- Sigoillot J dan Nguyen M, 1992. Complete Oxidation of Linear Alkylbenzene Sulfonate by Bacteria Communities Selected from Coastal Seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 1308–1312.
- Suharjo B, Mitakda, Retnaningdyah C, Prayitno dan Harlin M, 1999. Biodegradasi dan Reduksi Toksisitas Surfaktan Deterjen dalam Media Air Kali Mas Surabaya. Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
- Suharjo. 2003. Distribusi Vertikal dan Keragaman *Pseudomonas* Pengurai LAS di Ekosistem Sungai Perumahan Sawojajar

- I Malang. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
- Suharjono T, Ardyati U, Marwati, 2004. Seleksi Strain Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* Pengurai LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate) Berdasarkan Uji Potensi dan Analisis DNA Plasmid. Research Grant TPSDP Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang.
- Van Beilen, JB, Eggink G, Enesquist H, Boss R dan Witholt B, 1992. DNA Sequence Determination and Functional Characterization of the OCT-plasmid-encoded *alk JKL* genes of *Pseudomonas oleovorans*. *Mol. Microbiol.* 6(21): 3121–3136.
- Van Ginkel CG, 1996. Complete Degradation of Xenobiotic Surfactants by Consortia of Aerobic Microorganism. *Biodegradation* 7: 151–164.
- Vidali M, 2001. Bioremediation. An Overview. *Pure Appl. Chem.* 73(7): 1163–1172.
- Wackett L, 2003. *Pseudomonas putida* a Versatile Biocatalyst. *Nat. Biotechnol.* 21 (2): 136–138.
- Wanner U dan T Egli, 1990. Dynamics of Microbial Growth and Cell Composition in Batch Culture. *FEMS Microbiol. Rev.* 75: 19–44.
- Zeni C dan Caligiuri AS, 1992. Morphological and Ultrastructural Change Induced by sub Lethal Concentration of an Anionic Detergent on *Ictalurus* sp. Barbel Taste Buds. *Microbios* 69: 1–52.

Reviewer: **Dr. Tini Surtiningsih, DEA.**