

LAPORAN TEKNIS 2017

72/AIR 2/OT 02 02/02/2018

**DOKUMEN TEKNIS SEDIMEN BUDGET DAS, PREDIKSI
PERUBAHAN IKLIM MELALUI CORAL REEF DAN
BIOREMEDIASI LAHAN**

**Ali Arman, Barokah Aliyanta, Tri Retno Diah L., Nana Mulyana,
Dadang Sudrajat, Nita Suhartini, Tommy Hutabarat, Untung
Sugiharto, Arief Adhari, Marwadi dan Darman**



**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
2018**

LAPORAN TEKNIS 2017

72/AIR 2/OT 02 02/02/2018

**DOKUMEN TEKNIS SEDIMEN BUDGET DAS, PREDIKSI
PERUBAHAN IKLIM MELALUI CORAL REEF DAN
BIOREMEDIASI LAHAN**

Ali Arman, Barokah Aliyanta, Tri Retno Diah L., Nana Mulyana,
Dadang Sudrajat, Nita Suhartini, Tommy Hutabarat, Untung
Sugiharto, Arief Adhari, Marwadi dan Darman

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Industri dan Lingkungan


Dr. Sugiharto, MT
NIP. 19620705 198510 1 002

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi


Totti Tjiptosumirat
NIP. 19630830 198803 1 002

DOKUMEN TEKNIS SEDIMEN BUDGET DAS, PREDIKSI PERUBAHAN IKLIM MELALUI CORAL REEF DAN BIOREMEDIASI LAHAN

Ali Arman, Barokah Aliyanta, Tri Retno Diah L., Nana Mulyana, Dadang Sudrajat, Nita Suhartini, Tommy Hutabarat, Untung Sugiharto, Arief Adhari, Marwadi dan Darman.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian aplikasi teknik nuklir tentang sedimen budget, perubahan iklim dan bioremediasi lahan masing-masing untuk mendapatkan data parameter tata guna lahan pada suatu daerah aliran sungai, suhu permukaan laut kaitannya dengan perubahan iklim dan meningkatkan kemampuan inokulan mikroba fungsional sebagai agent remediasi. Penelitian sedimen budget dilakukan dengan pengambilan sampel tanah permukaan dan tanah hingga kedalaman 20 cm dari sub-DAS Ciujung tengah. Pengukuran Pb-210 excess dan Cs-137 didapatkan pada tanah permukaan dan tanah coring transek bervariasi dari 0,83 Bq/kg sampai 26,6 Bq/kg dan dari 0,34 Bq/kg sampai 90 Bq/kg; untuk Cs-137 bervariasi dari tidak terdeteksi sampai 1,58 Bq/kg dan dari tak terdeteksi sampai 1,25 Bq/kg. Tidak ada korelasi antara Pb-210 dengan Cs-137 yang ditunjukkan dengan koefisien determinasi yang cukup kecil ($r^2=0,14$). sub-DAS Ciujung Tengah ini mengalami erosi yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan sub-DAS lain di DAS Ciujung. Penelitian perubahan iklim dilakukan di daerah pesisir Makassar, Sulawesi Selatan dengan cara mengambil sampel karang *Porites* spp menggunakan alat bor pneumatic. Digital radiografi sinar-x digunakan untuk menentukan annual banding dan arah pertumbuhan dan selanjutnya di milling setiap 1 mm dan dianalisis dengan ICP-OES. Korelasi rasio Sr/Ca dan suhu permukaan laut diperoleh $Sr/Ca(mmol/mol)=-0,058SPL(^{\circ}C)+12,407$ dengan koefisien regresi $r = 0,89$. Penelitian bioremediasi lahan dilakukan analisis polimorfisme DNA akibat iradiasi sinar gamma pada fungi pendegradasi senyawa BTEX (*Benzene*, *Toluene*, *Etyl-Benzene* dan *Xylene*) dan agen remediasi lahan menggunakan marka RAPD. Variasi dosis yang digunakan adalah 0, 250, 500, 1000, 1500 dan 2000 Gy dengan laju dosis 63,42 kGy/jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi dapat menurunkan pertumbuhan ketiga isolat fungi *T. reesei*, *T. harzianum*, dan *P. chrysosporium* dengan nilai D50 masing-masing 500; 750 dan 1000 Gy. Profil DNA-RAPD menunjukkan variasi genetik yang tinggi antara isolat yang diradiasi pada dosis 250, 500, 750; 1000 Gy dengan isolat kontrol 0 Gy. Kondisi optimal untuk degradasi benzena dan toluena oleh *Phanerochaete chrysosporium* berada pada pH 7 dengan konsentrasi nutrisi sebesar 25%, sedangkan *Aspergillus niger* berada pada pH 6 dengan konsentrasi nutrisi 75%. *Aspergillus niger* cenderung lebih baik dalam mendegradasi benzena dan toluena dibandingkan *Phanerochaete chrysosporium* dengan presentase degradasi sebesar 64,8% benzena dan 70,9% toluena. Selanjutnya dilakukan reformulasi inokulan konsorsium mikroba agen remediasi lahan dan delignifikasi biomassa tanaman dengan mengevaluasi 11 formulasi. Berdasarkan hasil pengujian tersebut telah diperoleh kapang agen pengendali hayati (*T.harzianum*) dan agen biodelignifikasi (*T.reesei*, *P.chrysosporium*). Tahap awal kaji terap biodelignifikasi dengan inokulan konsorsium mengandung *P.chrysosporium* dan *T.reesei* telah dilakukan di Ngaglik, Sleman, Yogyakarta. Inokulan ini menggunakan bahan pembawa (*carrier*) terpilih berbasis talk. Peningkatan kemampuan bio-delignifikasi dilakukan melalui penggunaan formulasi konsorsium mikroorganisme terpilih dengan evaluasi meliputi perubahan aktivitas LiP, selulase dan karakteristik lignoselulosa (ekstraktif, hemiselulosa, selulosa, lignin). Kaji terap bioremediasi lahan bermasalah fitopatogen dilakukan di 10 lokasi (desa) di Kabupaten Bangka Tengah.

Kata kunci: Pb-210 excess, Cs-137, Perubahan iklim, digital radiografi sinar-X, ICP-OES, terumbu karang *Porites* spp, polimorfisme DNA, sinar gamma, fungi.

The research has been conducted on the application of nuclear technologies for sediment budget, climate change and land remedial related to getting parameter data of land use in river flow, sea surface temperature for climate change and the capabilities of agent of functional microbial. Research on sediment budget was conducted through the collecting of soil surface and soil profile up to 20 cm from sub-catchment of Ciujung Tengah. The concentration of Pb-210 excess in surface soil and soil profile varied from 0.83 Bq/kg to 26.6 Bq/kg and 0.34 Bq/kg to 90 Bq/kg, respectively, meanwhile Cs-137 varied from undetectable to 1.58 Bq/kg and from undetectable to 1.25 Bq/kg. There is no correlation between Pb-210 and Cs-137 as the determination coefficient is very small ($r^2=0,14$). Sub-catchment Ciujung Tengah is less erosion than other sub-catchments in Ciujung. The research on climate change was conducted in Makassar Strait, South Sulawesi by sampled *Porites* spp using pneumatic driller. By using digital x-ray radiography, the annual banding and the growth direction was determined and continued with milling every 1 mm and analyzed by ICP-OES. The correlation of ratio Sr/Ca and SST is $Sr/Ca(\text{mmol/mol})=-0.058SPL(^{\circ}C)+12.407$ with the regression coefficient $r = 0,89$. The research of land bioremediation was conducted through the analysis of polymorfism DNA due to the gamma irradiation on fungi degradable BTEX compound and land remediation using RAPD marking. Dose variation was 0, 250, 500, 1000, 1500 dan 2000 Gy with dose rate was 63,42 kGy/h. The result shows that the irradiation can reduce the growth rate of three fungus *T. reesei*, *T. harzianum*, dan *P. Chrysosporium* with the D50 was 500; 750 dan 1000 Gy, respectively. DNA-RAPD profile shows that high genetic variation between irradiated isolate with the dose rate 250, 500, 750; 1000 Gy and control 0 Gy. Optimal condition for Benzene and toluene by *Phanerochaete chrysosporium* was at pH 7 with the nutrition concentration 25%, meanwhile *Aspergillus niger* at pH 6 and nutrition concentration was 75%. *Aspergillus niger* was more effective in degrading benzene and toluene than *Phanerochaete chrysosporium* with the percentage of degradation was 64.8% for benzene and 70.9% for toluene. The process was continued with re-formulation of consortium microba inoculant of land remediation and delignification of plant biomass using 11 formulas. Based on the test, it has been get fungi agent *T.harzianum* for biological control and *T.reesei*, *P.chrysosporium* for biodelignification. First assessment in applying biodelignification with consortium inoculant containing *P.chrysosporium* and *T.reesei* has been done in Ngaglik, Sleman, Yogyakarta. This inoculant using carrier of talc base. To increase the capabilities of biodelignification was conducted through the using of consortium formula of selected micro-organism by evaluate of the change in LiP activities, cellulose and lignocellulose characteristic (extractive, hemicellulose, cellulose, lignin). The application of bioremediation in the land of impacted fatogene was done in 10 locations (districts) in Bangka Tengah.

Keywords; Pb-210 excess, Cs-137, climate change, digital x-ray radiograph, ICP-OES, coral reef *porites* spp, DNA polimorfs, gamma radiation, fungi.

PENDAHULUAN

Perubahan iklim global sebagai implikasi dari pemanasan global disebabkan oleh ketidakstabilan atmosfer di lapisan bawah terutama yang dekat dengan permukaan bumi. Pemanasan global ini disebabkan oleh meningkatnya gas-gas rumah kaca terutama karbondioksida (CO₂) dan metana (CH₄) yang dominan ditimbulkan oleh industri-industri. Gas-gas rumah kaca yang meningkat ini menimbulkan efek pemantulan dan penyerapan terhadap gelombang panjang yang bersifat panas (infra merah) yang diemisikan oleh permukaan bumi dan kembali ke permukaan bumi.

Pengamatan suhu global sejak abad 19 menunjukkan adanya perubahan rata-rata suhu yang menjadi indikator adanya perubahan iklim. Perubahan suhu global ini ditunjukkan dengan naiknya rata-rata suhu hingga 0,74°C antara tahun 1906 hingga tahun 2005. Suhu rata-rata global ini diproyeksikan akan terus meningkat sekitar 1,8-4,0°C di abad sekarang ini, dan bahkan menurut kajian lain dalam IPCC diproyeksikan berkisar antara 1,1-6,4°C.

Daerah Aliran Sungai (DAS) merupakan pembagian wilayah yang didasarkan atas pendekatan ekosistem sungai/hidrologis yang diintegrasikan berdasarkan karakteristik cekungan geologis (daerah tangkapan air). Kondisi dan karakteristik DAS, terkait erat dengan karakteristik komponen di dalamnya baik aspek biofisik maupun non biofisik. Kondisi ini menunjukkan bahwa DAS memiliki wilayah Hulu dan Hilir. Aktivitas di wilayah hulu DAS akan berdampak pada wilayah Hilir, seperti banjir dan sedimentasi. Oleh karenanya, pengelolaan Daerah Aliran Sungai (DAS) merupakan hal penting sebagai bagian dari pembangunan wilayah. Namun demikian, sampai saat ini masih menghadapi berbagai masalah yang kompleks dan saling terkait. Permasalahan tersebut antara lain terjadinya erosi, banjir, kekeringan, masih belum adanya paradigma yang sama antar instansi dan masyarakat dalam memmandang pemanfaatan sumber daya alam.

Penelitian mengenai penggunaan iradiasi gamma untuk meningkatkan kemampuan mikroba dalam bioremediasi dan bioproses telah banyak dilakukan. Hasil penelitian Abo-State dkk, telah melakukan iradiasi *Aspergillus niger* penghasil enzim selulase dengan sinar gamma dengan maksud meningkatkan aktivitas enzim. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa beberapa jenis kapang teriradiasi mampu meningkatkan kualitas lingkungan. Oleh karena itu dilakukan uji kemampuan terhadap isolat *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei* dan *Phanerochaete chrysosporium* dalam mendelignifikasi serta sebagai agent pengendali biohayati. Oleh karenanya akan dilakukan penelitian tentang informasi perubahan genetik mikroba tersebut melalui pendekatan marka RAPD-PCR. RAPD-PCR merupakan salah satu teknik molekuler berupa pengguna penanda tertentu untuk mempelajari keanekaragaman genetik. Dasar analisis RAPD adalah menggunakan mesin PCR yang mampu mengamplifikasi sekuen DNA secara *in vitro*. Teknik ini melibatkan penempelan primer tertentu yang dirancang sesuai dengan kebutuhan. Tiap primer boleh jadi berbeda untuk menelaah keanekaragaman genetik kelompok yang berbeda. Penggunaan teknik RAPD memang memungkinkan untuk mendeteksi

polimorfisme fragmen DNA yang diseleksi dengan menggunakan satu primer arbitrase, terutama karena amplifikasi DNA secara *in vitro* dapat dilakukan dengan baik dan cepat dengan adanya PCR. Penggunaan penanda RAPD relatif sederhana dan mudah dalam hal preparasi. Teknik RAPD memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan teknik molekuler lainnya. Keuntungan utama penerapan marka *RAPD* ialah karena marka ini menghasilkan polimorfisme yang cukup tinggi. *Random sampling* dalam genom total dan secara teknis juga cukup cepat dan mudah dilakukan. Teknik ini juga mampu menghasilkan jumlah karakter yang relatif tidak terbatas, sehingga sangat membantu untuk keperluan analisis keanekaragaman organisme yang tidak diketahui latar belakang genomnya. Penanda RAPD adalah alat penting untuk evaluasi dari variabilitas antara isolat yang berbeda dari spesies, tingkat hubungan genetik di antara isolat, dan juga berguna untuk membantu mendeteksi adanya mutasi dalam isolat mikroba akibat iradiasi sinar gamma. Keragaman genetik yang tinggi dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi genetik akibat iradiasi.

Pemanfaatan teknologi nuklir untuk penelitian dalam kegiatan ini telah dilakukan secara bertahap di PAIR-BATAN dalam rangka implementasi kegiatan IAEA TC-INS 7006 "*Applying Nuclear Technologies to Enhance Climate Change Research and an Observation for Corals*", Regional Asia Pasifik IAEA-RCA RAS/7/024 "*Supporting Nuclear and Isotopic Techniques to Assess Climate Change Impact for Sustainable Marine Ecosystem Management*" dan Riset kontrak RC-IAEA CRP K41015-"*Radioanalytical and Isotopic Studies of Climate Trends and Variability in Marine Paleo-records*".

Kegiatan penerapan teknik nuklir dan radiasi mencakup 3 penelitian besar dengan tujuan sebagai berikut;

1. Memperoleh inokulan mikroorganisme sebagai agen hayati pada remediasi lahan bermasalah fitopatogen dan delignifikasi residu biomassa tanaman. Agen delignifikasi diharapkan mampu meningkatkan manfaat residu biomassa tanaman sebagai sumber bahan organik tanah sehingga dapat bersinergi dengan populasi dan aktivitas mikroorganisme bermanfaat di daerah perakaran tanaman.
2. Kajian perubahan iklim daerah pesisir Makassar, Sulawesi Selatan yang merupakan daerah *Coral Triangle Initiative (CTI)* dan *Indonesian Through Flow (ITF)* melalui analisis rasio Sr/Ca untuk suhu permukaan laut.
3. Pemanfaatan teknik radionuklida jatuhnya untuk mempelajari dan mendapatkan parameter/komponen yang diperlukan dalam membangun model sedimen budget daerah aliran sungai (DAS).

BAHAN DAN METODE

1. Aplikasi Teknik Radiasi Untuk meningkatkan Kemampuan Inokulan Mikroba Fungsional Sebagai Agent Remediasi.

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan adalah media *Potatoes Dextrose Agar* - PDA (Difco), Agarose (*Invitrogen*), Larutan buffer esktraksi (0.1M Tris-HCl, pH 8; 2.5 M NaCl; 3,5% CTAB), larutan bufer TE(10mM Tris-HCl pH 8, 1 mM EDTA), Larutan bufer TBE (Tris-Borate-EDTA), Proteinase-K (20mg/ml)(*Invitrogen*), larutan RNase A (*Sigma*), Larutan PCI (phenol:chloroform: isoamylalcohol (25:24:1), Larutan chloroform-isoamylalcohol (24:1), isopropanol (Merck), ethanol absolut (Merck), dNTP mix (*Invitrogen*), enzim *Taq DNA polymerase* (*Qiagen*), Oligonucleotide primer (*Invitrogen*). Peralatan yang digunakan antara lain, Alat PCR model *Mastercycler Gradient* (Effendorf-Germany), Pipet mikro (Gilson-USA), UV Transilluminator (Vilber Lourmat-France), Alat pemanas/*waterbath* (OHAEUS), Microcentrifuge (Sorvall, USA), Vortex (Kimax), Neraca Analitik (Acculab BL 210), dan peralatan gelas.

Iradiasi Kapang. Isolat kapang yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei*, dan *Trichoderma harzianum* B. koleksi kelompok Lingkungan PAIR-BATAN. Masing-masing isolat fungi yang telah diremajakan, diinokulasikan pada medium PDA dalam cawan petri dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Biakan berumur 3 hari tersebut kemudian diiradiasi sinar Gamma dalam Iradiator Gamma Cell 220 Upgraded di Pusat Aplikasi Isotop Radiasi – BATAN, Pasar Jumat Jakarta dengan laju dosis 63, 42 kGy/jam. Dosis iradiasi yang digunakan adalah 0 kGy (kontrol, tanpa iradiasi); 250 Gy; 500 Gy; 1000 Gy; 1500 Gy dan 2000 Gy.

Seleksi Fungi Hasil Iradiasi. Ketiga isolat fungi hasil iradiasi ditumbuhkan dalam 25 ml medium cair *PDB* selama 7 hari dalam kondisi goyang pada suhu 30°C. Spora teriradiasi kemudian ditanam dalam medium padat PDA untuk dilakukan perhitungan jumlah koloni yang bertahan hidup setelah 3 hari.

Pengujian Isolat Terseleksi dengan Cekaman Senyawa BTEX. Isolat *P. chrysosporium* yang diiradiasi pada dosis 500 dan 1000 Gy hasil seleksi ditumbuhkan dalam medium *PDB* cair yang mengandung 2000 ppm senyawa polutan benzen. Sel yang bertahan hidup dalam cekaman benzen kemudian diseleksi.

Penyiapan Inokulum Isolat Fungi Iradiasi Hasil Seleksi . Fungi iradiasi hasil seleksi ditumbuhkan dalam 50 ml medium cair *PDB* selama 7 hari dalam kondisi goyang pada suhu 30°C. Pada akhir inkubasi, miselia sel kemudian dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA fungi Iradiasi Hasil Seleksi. Isolasi dan ekstraksi DNA dari miselia *T. reesei*, *T. harzianum*, *P. chrysosporium* iradiasi dilakukakn menggunakan metode Iti-Gontia [8]. Miselia dari isolat fungi (\pm 200 g)

dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifuse steril dan ditambahkan 800 μ l larutan bufer ekstraksi dan 150 μ l larutan proteinase K (20 mg/ml). Campuran divortex selama 5 menit, dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 60^oC, selama 30 menit. Campuran disentrifuse 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar, supernatan dipindahkan pada tabung sentrifuse baru dan ditambahkan volume sama larutan phenol: khloroform : isoamilalkohol (25:24:1) dan divortex. Campuran disentrifuse 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar. Supernatan dipindahkan lagi pada tabung sentrifuse stril baru dan ditambahkan volume sama larutan khloroform : isoamilalkohol (24:1) dan divorteks sperti perlakuan diatas. Supernatan dipindahkan pada tabung sentrifuse steril baru dan ditambahkan volume sama larutan isopropanol dingin dan divorteks. Campuran disentrifuse 13.000 rpm selama 15 menit sampai terbentuk endapan DNA didasar tabung. Pelet DNA dicuci dengan 800 μ l etanol 70%. Pelet DNA dikeringkan dalam desikator. Dan dilarutkan dala 100 μ l larutan TE bufer. DNA divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa 0.8% dalam bufer Larutan bufer TBE (Tris-Borate-EDTA) dengan pewarna etidium bromida (0.5 μ g mL⁻¹). Elektroforesis DNA dilakukan pada 100 V selama 45 menit dan DNA diamati dengan UV Transilluminator. Konsentrasi DNA ditentukan dengan cara membandingkan tingkat perpendaran band DNA hasil ekstraksi dengan DNA standar (SIGMA), yang sudah ditentukan konsentrasinya.

Analisis Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) Kapang Iradiasi.

Hasil ekstraksi DNA diamplifikasi dengan teknik RAPD-PCR menggunakan 3 jenis primer yaitu untuk *T. reesei* (5 buah), *T. harzianum* (5 buah), dan *P. chrysosporium* (4 buah) dengan urutan basa seperti terlihat pada Tabel 1, 2 dan 3.

Tabel 1. Urutan Basa primer untuk Amplifikasi DNA *T. reesei* iradiasi.

Nama Primer	Urutan Basa (5'----- 3')
1. AA-04	AATCGGGCTG
2. OPA-1	AGGGGTCTTG
3. OPA-4	AATCGGGCTG
4. OPH-7	CTGCATCGTG
5. OPH-16	TCTCAGCTGG

Tabel 2. Urutan Basa primer untuk Amplifikasi DNA *T. harzianum* B iradiasi.

Nama Primer	Urutan Basa (5'----- 3')
1. OPA-1	CAGGCCCTTC
2. OPA-4	AATCGGGCTG
3. OPH-16	TCTCAGCTGG
4. A-11	AGGGGTCTTG
5. OPH-7	TCTCAGCTGG

Tabel 3. Urutan Basa primer untuk Amplifikasi DNA *Phanerochaete chrysosporium* iradiasi.

Nama Primer	Urutan Basa (5'----- 3')
1. OPA-1	CAGGCCCTTC
2. OPA-4	AATCGGGCTG
3. A-11	AGGGGTCTTG
4. OPH-7	TCTCAGCTGG

Analisis RAPD dilakukan dengan menggunakan random primer dari Life Technologies- Invitrogen (Tabel 1), Reaksi PCR menggunakan HotStarTaq™ Master Mix kit (Qiagen, Clifton Hill, Vic.). Volume reaksi yang digunakan dalam analisa RAPD ini adalah 25 µl yang terdiri dari cetakan DNA (dengan konsentrasi 10ng), 12.5 µL HotStarTaq™ Master Mix (1× buffer PCR, 1.25 unit HotStarTaq™ polymerase, 200 mM untuk tiap-tiap dNTP), MgCl₂ (2.5 mM), dan primer (5 pmol). Program siklus termal adalah : aktivasi awal pada 95°C selama 15 menit diikuti dengan 30, 40 atau 45 siklus yang terdiri dari 1 menit pada 94°C, 1 menit pada 36°C dan 2 menit pada 72°C. Selanjutnya diikuti dengan 1 siklus pemanjangan final pada 72°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi diamati dengan elektroforesis pada 1% gel agarose dalam buffer TBE dan diwarnai dengan etidium bromide.

Alat yang akan digunakan saat penelitian adalah GC-MS Shimadzu GC-14B, inkubator, oven, autoclave, pH meter, timbangan digital, sealer, cawan petri, tabung reaksi, plastic bag, gelas piala, Batang L, magnetstirrer, Erlenmeyer, mikropipet, jarum ose, tissue, alumunium foil, botol kecil, rak tabung, tips, microtube, shaker mekanis, stirrer, dan Laminar Air Flow (LAF). Adapun bahan yang akan digunakan adalah fungi *P.chrysosporium* dan *A. Niger* koleksi subkelompok Lingkungan Bidang Industri dan Lingkungan, Benzena, Toluena, Etanol, Potatoes Dextrose Agar (PDA), Potatoes Dextrose Broth (PDB), Aquades, Alkohol, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, dan serbuk gergaji.

Tata Kerja

Preparasi Kultur Kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan *Aspergillus niger*. Strain fungi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Aspergillus niger* diperoleh dari koleksi kultur terseleksi yang dipelihara dalam cawan dengan media PDA pada 4°C di bidang Industri dan Lingkungan, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. Strain fungi ini dikultivasi dalam media PDB dengan shaker mekanis pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 4 hari, kemudian disebarkan pada permukaan media PDA di dalam cawan petri dan diinkubasi pada 32°C selama 4 hari.

Satu ose kultur *Phanerochaete chrysosporium* dan *Aspergillus niger* masing-masing dipindahkan kedalam 50 ml media PDB, kemudian diinkubasi dalam shaker mekanis pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 4 hari. Kultur cair *P.chrysosporium* ini dipindah tanam pada permukaan media PDA dalam cawan petri dengan Ø 10 cm dengan pengenceran sebanyak 7 kali sedangkan *A.niger* pengenceran sebanyak 6 kali. Kedua jenis kapang tersebut kemudian diinkubasi selama 4-5 hari. Kedua strain dilakukan subkultur masing-masing sebanyak triplo (3 ulangan).

Preparasi dan Pembuatan matriks. Serbuk gergaji yang akan digunakan ditimbang sebanyak 1g kemudian dimasukkan kedalam plastik yang sudah disiapkan. Media cair PDB dibuat dengan mencampurkan 4.8g PDB, (NH₄)₂SO₄

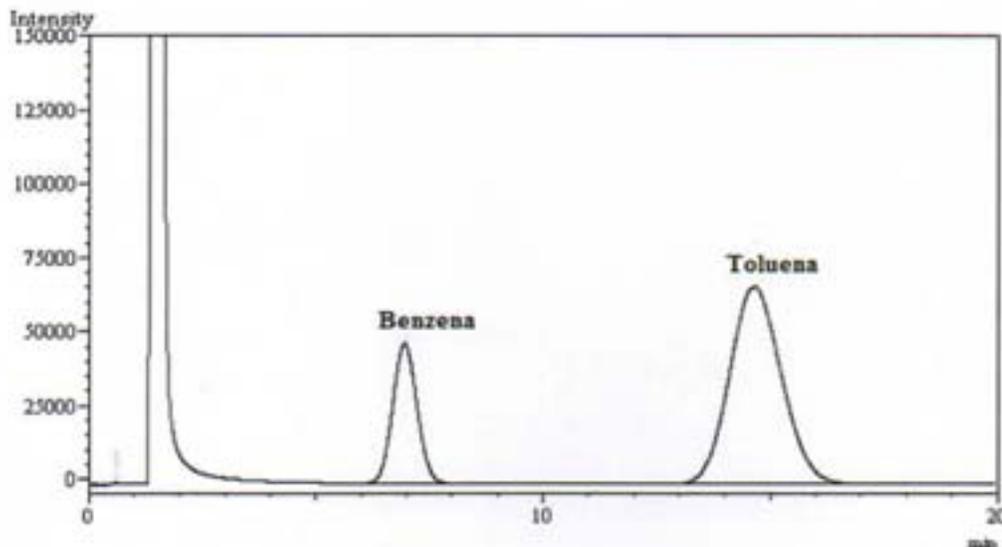
1g, KH_2PO_4 0.2g, K_2HPO_4 0.2g, dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04g kedalam erlen meyer dan dilarutkan dalam 200 ml aquades .Penambahan nutrisi berupa sukrosa dilakukan dengan variasi 1%, 5%, dan 10%. Sebanyak 1ml media cair yang sudah dibuat ditambahkan pada serbuk gergaji. Plastik yang sudah berisi serbuk gergaji dan media cair kemudian di *seal* dan disterilisasi menggunakan autoclave. Selesai disterilisasi, starter *P.chrysosporium* dan *A.niger* yang masing-masing memiliki 5 kali ulangan ditambahkan sebanyak 1ml kedalam serbuk gergaji dan media cair. Plastik kemudian disegel kembali dengan menambahkan kertas saring pada ujung plastic sebagai filter dan sirkulasi udara. Media serbuk gergaji tersebut didiamkan selama 4-7 hari.

Proses Degradasi Polutan Benzena dan Toluena. Media serbuk gergaji yang sudah diinokulasikan dengan starter dan diinkubasi dipindahkan kedalam botol kecil dan dipadatkan. Polutan benzena dan toluena dibuat dengan perbandingan 1:3. Masing-masing media serbuk gergaji ditetesi campuran polutan tersebut sedikit demi sedikit sampai mengenai seluruh bagian dari media. Media serbuk gergaji kemudian didiamkan selama 24 jam, suhu dan pH media dikontrol dalam masa proses degradasi.

Pembuatan Kurva Standar menggunakan GC (*Gas Chromatography*). Benzena dan toluena diencerkan dengan menggunakan pelarut etanol. Masing-masing konsentrasi dari senyawa benzena dan toluena yang dibuat yaitu dengan konsentrasi 4000, 6000, 8000 dan 10000 ppm. Larutan tersebut digunakan sebagai larutan standar dan diuji menggunakan GC Shimadzu GC 14-B. Prinsip kerja GC adalah proses pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya dengan menggunakan gas sebagai fase bergerak yang melewati suatu lapisan serapan (sorben) yang diam.

Analisis Polutan Benzena dan Toluena. Polutan yang sudah didiamkan selama 24 jam lalu ditambahkan 5 mL etanol sebagai pelarut. Sejumlah 1,5 mL campuran tersebut dimasukkan ke dalam tabung mikro dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit sampai terbentuk 2 fase/ lapisan. Supernatan (lapisan atas) diambil sebanyak 500 μL untuk dianalisis menggunakan GC.

Alat GC dikondisikan dengan pengaturan suhu pada injektor sebesar 50°C , kolom 190°C , detektor 280°C dengan waktu 20 menit. Supernatan sebanyak 1 μL diambil untuk disuntikkan pada *inject area* pada alat GC. Hasil pembacaan detektor dari sampel yang diinjeksikan pada GC akan terekam dalam rekorder setelah 20 menit. Pembacaan pada rekorder kemudian ditampilkan pada layar komputer berupa peak-peak untuk menunjukkan senyawa yang diperoleh (Gambar 1). Luas area (Tabel 4) digunakan sebagai sisa jumlah senyawa yang diperoleh dari tiap sampel. Waktu retensi menentukan jenis senyawa yang diperoleh yaitu munculnya peak benzena pada menit 6 – 7 dan toluena pada menit 14 – 15.



Gambar 1. Hasil Kromatografi Peak Benzena dan Toluena

Tabel 4. Data waktu retensi, luas area dan tinggi kromatografi peak benzena dan toluena

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc	Unit	Mark ID#	Compd Name
1	0.609	3266	456	0.000	V		
2	6.961	1751684	47111	0.000			Benzena
3	14.673	5317169	66686	0.000			Toluena
Total		7072119	114253				

Analisis Aktivasi Lignin Peroksidase (LiP). Sampel pada matriks dalam botol yang sudah diinkubasi selama 24 jam lalu ditambahkan 5 mL buffer asetat sebagai pelarut. Sampel campuran tersebut sebanyak 1.5 mL dimasukkan dalam tabung mikro untuk disentrifugasi selama 10 menit dengan suhu 4 °C dan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan atau fase atas dalam tabung mikro tersebut digunakan sebagai analisis aktivitas LiP. Tabung reaksi 20 mL ditambahkan veratril alkohol sebanyak 0,4 mL, buffer asetat sebesar 0,8 mL dan akuades sebanyak 1,8 mL. Aktivitas LiP dianalisis berdasarkan reaksi dengan veratril alkohol menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 310 nm. Sebelum dianalisis, pada tabung reaksi ditambahkan 800 µL sampel dan 100 µL H₂O₂, lalu tabung reaksi tersebut dihomogenkan sebelum dituang ke dalam cuvet dan diukur dengan spektrofotometer (t = 0). Seluruh sampel dimasukkan kembali ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 28 – 32°C sebelum kembali diukur dengan spektrofotometer (t = 1). Satu Unit (U) aktivitas enzim LiP didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan perubahan 1 µmol veratril alkohol per menit. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD}_{310} \times V_{\text{total}} \text{ (ml)} \times 10^9}{\epsilon_{\text{max}} \times d \times V_{\text{enzim}} \text{ (ml)} \times t}$$

Keterangan :

ΔOD = selisih absorbansi pada 10 dan 0 menit

V_{total} = 1 ml

V_{enzim} = 0,2 ml

ϵ_{max} = absorpsivitas molar veratryl-alkohol 9300/M.cm

d = tebal bagian dalam kuvet (cm)

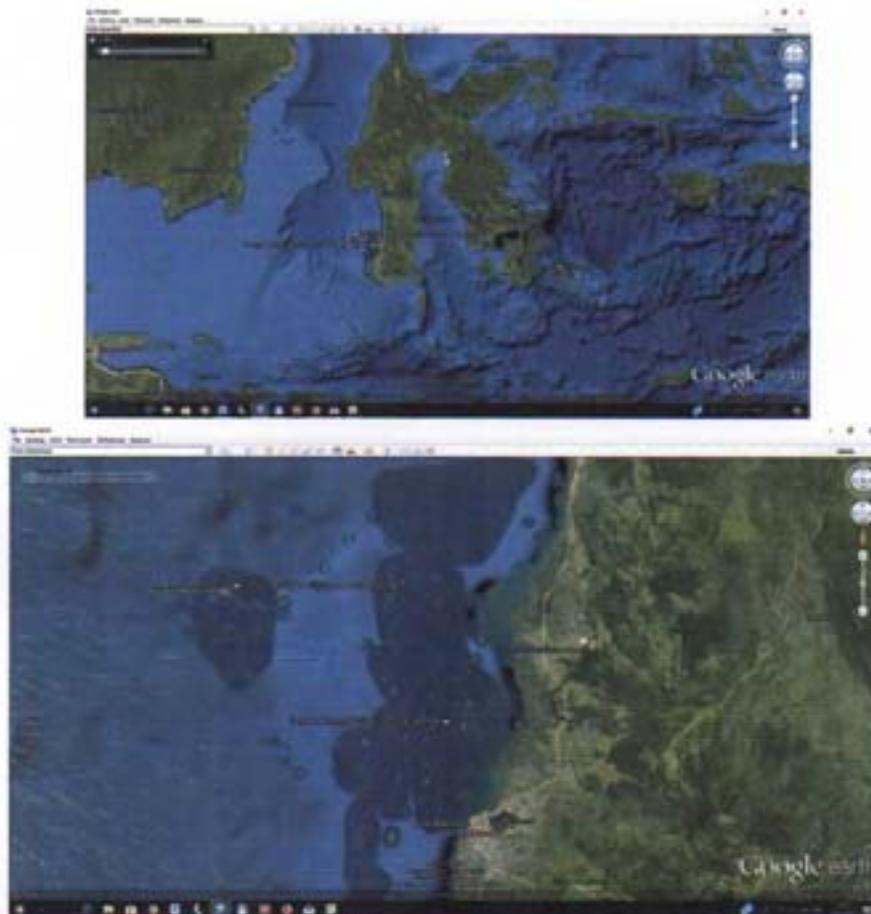
2. Aplikasi Teknik Nuklir untuk rekonstruksi perubahan iklim menggunakan terumbu karang *Porites spp* daerah Indonesian Through Flow (ITF) pesisir Makassar, Sulawesi Selatan.

Pengambilan sampel core karang dilakukan di 2 lokasi penelitian di Kepulauan Seribu yaitu Pulau Kapoposang dan Pulau Langkadea (Gambar 2) dengan kordinat seperti tercantum dalam Tabel 5. Pengambilan sampel melalui proses pemboran dilakukan di dalam air. Alat bor yang digunakan adalah pneumatic dengan diameter pipa 3 cm, panjang 50 cm dan dapat diperpanjang hingga 3 m. Pengeboran dilakukan secara vertikal dari permukaan hingga dasar karang. Panjang sampel yang diperoleh adalah 136 cm dari Pulau Kapoposang dan 60 cm dari Pulau Langkadea. Sampel karang dibelah membentuk lempeng searah panjang dengan ketebalan 5 mm. Selanjutnya dibersihkan dengan *ultrasonic bath* dan dikeringkan. Lempeng disinari menggunakan digital radiografi sinar-X 30 keV selama 1 detik di laboratorium klinik layanan kesehatan.

Sampel lempeng dibelah mengikuti arah pertumbuhan karang dan dijadikan bentuk *ledge* dengan tebal 2 mm dan lebar 2,5 mm. Kemudian dibersihkan dengan air suling di dalam *ultrasonic bath* untuk menghilangkan sisa potongan karang yang menempel dipermukaan *ledge* dan dikeringkan di dalam oven selama 24 jam pada suhu 40°C. Selanjutnya sampel yang telah kering dijadikan serbuk dengan alat CNC (*Computer Numerical Control*) *Milling machine* MM-250S3 yang dioperasikan dengan menggunakan computer. Interval milling adalah 1 mm untuk mendapatkan resolusi bulanan. Sampel serbuk dari setiap interval dimasukkan ke dalam vial plastik untuk analisis unsur Sr dan Ca.

Tabel 5. Data sampel karang *Porites spp* dari Taman Nasional Makassar, Sulawesi Selatan.

No	Kode sampel	Kordinat	Panjang sampel	Kedalaman airlaut hingga permukaan karang
1.	Coring I (Pulau Kapoposang)	4°42'6.79"S 118°58'12.30"T	136 cm	10 m
2.	Coring II (Pulau Langkadea)	4°57'14.97"S 119°21'45.83"T	60 cm	8 m



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel terumbu karang *Porites spp* di pesisir Taman Nasional Makassar, Sulawesi Selatan. Diperoleh 2 coring sampel yaitu Pulau Kaposang dan Pulau Langkadea. Sumber *google earth*.

Sampel serbuk hasil milling ditimbang masing-masing dengan berat antara 300 – 350 mikro gram (μg) dan dilarutkan menjadi 3 mL dengan 4 mol/L HNO_3 dan air suling Milli-Q. Konsentrasi unsur Sr dan Ca diperoleh dengan membandingkan dengan larutan seri standar Sr dan Ca dengan konsentrasi yang bervariasi mengikuti kandungan konsentrasi Sr dan Ca yang ada di standar kontrol *Porites Jcp-1*.

Data suhu permukaan laut bulanan untuk rentang waktu yang sama dengan karang diperoleh dari data satelit *Integrated Global Ocean Services System-National Oceanic and Atmospheric Administration (IGOSS-NOAA)* Amerika. Data suhu tersebut akan dibandingkan dengan hasil analisis rasio Sr/Ca dan akan diperoleh korelasinya.

3. Pengembangan Aplikasi Perunut dan Isotop Alam untuk Membangun Sedimen Budget Daerah Aliran Sungai (DAS) Ciujung: sub-DAS Ciujung Tengah.

Lokasi Penelitian (umum). Luas DAS Ciujung secara keseluruhan adalah sebesar 214.844,93 Ha yang terbagi atas empat Sub DAS yaitu Sub DAS Ciberang, Sub DAS Ciujung Hulu, Sub DAS Ciujung Tengah, dan Sub DAS Ciujung Hilir. Luas masing-masing Sub DAS dapat dilihat pada **Tabel .6**. Wilayah

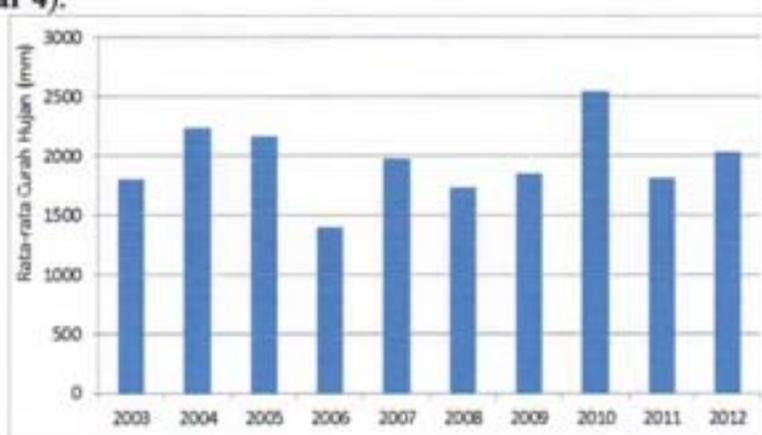
sub-DAS Ciujung Tengah, mencakup sebagian besar kabupaten Serang, sebagian kecil kabupaten Pandeglang dan sebagian kecil kabupaten Lebak.

Tabel 6. Luas DAS Ciujung

DAS	Sub DAS	Luas	
		(Ha)	%
Ciujung	Ciberang	78.296,14	36,44
	Ciujung Hulu	59.245,96	27,58
	Ciujung Tengah	53.907,07	25,09
	Ciujung Hilir	23.395,76	10,89
Luas Total		214.844,93	100,00%

Kondisi Iklim dan Curah Hujan. Hujan merupakan unsur fisik lingkungan yang paling beragam kuantitasnya menurut waktu atau pun tempatnya, sehingga hujan dapat menjadi faktor penentu atau faktor pembatas bagi kegiatan manusia di atas permukaan bumi, baik untuk pertanian atau pun untuk keperluan yang lain. Kuantitas hujan dicerminkan oleh curah hujan, sehingga curah hujan menggambarkan volume air yang jatuh pada suatu areal tertentu. Secara teknis curah hujan digambarkan sebagai ketinggian air hujan yang terkumpul dalam tempat yang datar, tidak menguap, tidak meresap, dan tidak mengalir. Ketinggian air hujan tersebut dihitung dalam satuan curah hujan yang biasanya dinyatakan dalam millimeter (mm). Jika curah hujan dinyatakan mempunyai nilai 1 (satu) milimeter berarti dalam luasan satu meter persegi pada tempat yang datar tertampung air setinggi satu milimeter, atau tertampung air sebanyak satu liter air.

Data curah hujan DAS Ciujung diperoleh dari 12 stasiun pengukur curah hujan yang tersebar di seluruh wilayah DAS Ciujung yang meliputi Stasiun Babadan, Banjar Irigasi, Baros, Batu Bantar, Cimarga, Citeureup, Gunung Tunggul, Gardu Tanjak, Kalen Petung, Panancangan, Petir dan Sajira. Data curah hujan tahunan dari seluruh stasiun untuk periode tahun 2003 sampai 2012 yang paling rendah yaitu sebesar 564 mm dan terbesar sebesar 5.357 mm dengan curah hujan rata-rata tahunan wilayah berkisar antara 1.398 hingga 2.538 mm (**Gambar 3**) dan curah hujan rata-rata bulanan berkisar antara 50 hingga 287 mm (**Gambar 4**).



Gambar 3. Curah Hujan Rata-rata Tahunan DAS Ciujung



Gambar 4. Curah Hujan Rata-rata Bulanan DAS Ciujung

Pengambilan sampel. Pengambilan sampel tanah pada tahun ini difokuskan pada sub DAS Ciujung Tengah. Pemilihan titik pengambilan sampel didasarkan pada sampling design dengan mengoverlappingkan peta jenis tanah, peta tataguna lahan, dan peta topografi. Pengambilan sampel dilakukan secara transek dari tataguna lahan yang ada baik untuk tanah permukaan maupun sampel tanah coring (20 cm), sehingga diharapkan mewakili keseluruhan area di sub-DAS Ciujung Tengah. Pengambilan sampel coring (20 cm) dilakukan masing-masing sebanyak 2 tempat dan dicampur, kemudian dibagi 2 bagian, bagian satu untuk analisis parameter kualitas tanah dan bagian lain untuk analisis aktivitas radionuklida jatuhan (Pb-210 excess dan Cs-137).

Untuk melakukan kajian sumber sedimen telah diambil sampel komposit tanah permukaan dengan kedalaman 0-2 cm pada tata guna lahan yang ada dari sejumlah 6 sampai sepuluh tempat, kemudian dicampur dan sedimen suspensi di sungai terkait. Disamping itu juga dilakukan pengambilan sedimen suspensi di daerah sub-DAS Ciujung Hulu.

Mengingat profil radionuklida dalam tanah yang diperoleh di kawasan DAS Ciujung tidak menggambarkan profil referensi, maka untuk melakukan analisis laju erosi dilakukan berdasarkan referen inventori Cs-137 dengan alasan bahwa radionuklida jatuhan ini merupakan radionuklida jatuhan global, sehingga untuk lintang yang relatif sama dapat diambil nilai yang sama dengan referen inventori daerah DAS Cisadane yaitu 197 Bq/m^2 .

Preparasi dan Pengukuran sampel. Sampel tanah yang didapat dengan cara transek sedalam 20 cm merupakan komposit sampel (2 cores) agar dapat menjamin kecukupan sampel untuk analisis radionuklida jatuhan dan analisis parameter kualitas tanah. Sampel komposit dihomogenisasi dengan dikocok-kocok dalam wadah, diambil sebanyak kurang lebih 300 gr untuk analisis parameter kualitas tanah dan sisanya diperlakukan lebih lanjut untuk analisis radionuklida jatuhan.

Sampel tanah sisa ini, dikeringanginkan, diagregasi butirannya, diayak lolos 1 mm ayakan, ditimbang sebanyak 400 gr dan ditempatkan di tabung merrineli dan ditutup rapat dan dibiarkan kurang lebih 1 bulan agar tercapai keseimbangan sekuler antara Ra-226 dan anak luruhnya. Masing-masing sampel diukur aktivitas Cs-137 dan Pb-210 excess menggunakan gamma MCA dengan relatif efisiensi 30 %.

Khusus sampel sedimen suspensi dilakukan pengeringan dengan cara dioven dengan suhu 40⁰ C selama 3 sampai 4 hari. Sampel kering ditumbuk atau diaggregasi dan diayak lolos 1 mm ayakan, ditimbang sebanyak 400 gr dan ditempatkan di tabung merrineli dan ditutup rapat dan dibiarkan kurang lebih 1 bulan.

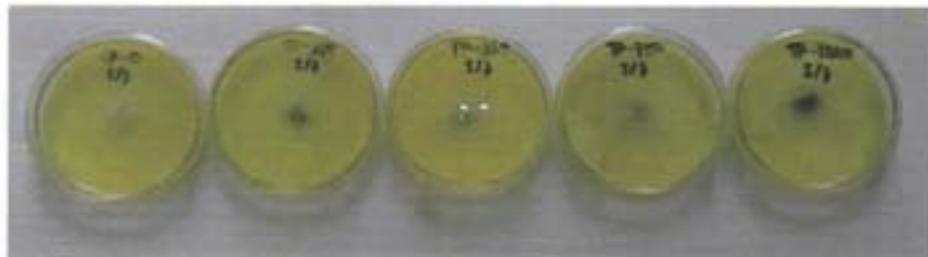
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Aplikasi Teknik Radiasi Untuk meningkatkan Kemampuan Inokulan Mikroba Fungsional Sebagai Agent Remediasi.

- a. Analisis Polimorfisme DNA akibat Iradiasi Sinar Gamma Pada Fungi Pendegradasi Senyawa BTEX dan Agen Remediasi Lahan Menggunakan Marka RAPD. Isolat kapang *Trichoderma reesei* (Tr) yang diiradiasi pada dosis 0- 1000 Gy terlihat mampu tumbuh pada medium PDA setelah inkubasi pada 30⁰C (Gambar 1). Terdapat perbedaan morfologi dari isolat *T. reesei* antara Kontrol (0 Gy) terutama pada dosis iradiasi 750 Gy. Hasil pengamatan karakterisasi *Trichoderma reesei*, secara makroskopis meliputi warna koloni dan bentuk koloni yang dapat dilihat pada Gambar 5, menunjukkan bahwa dari 5 isolat *T. reesei* hasil iradiasi berdasarkan morfologinya terjadi perkembangan warna koloni yang berbeda dari hari ke-1 sampai hari ke-7. Perkembangan warna koloni diawali dengan warna putih, kemudian kuning setelah setelah umur 7 hari. Isolat *T. reesei* pada dosis iradiasi 0-500 Gy memiliki morfologi yang sama kecuali pada dosis 750 Gy warna koloni menjadi agak pucat.

Sementara itu koloni *Trichoderma harzianum* B (Th B) pada dosis iradiasi 0 - 1000 Gy perkembangan koloninya diawali warna putih, putih agak kehijauan, hijau muda, hijau dan hijau tua setelah umur 7 hari, namun pada isolat *T. harzianum* B dengan dosis iradiasi 500 Gy warna koloni yang terlihat dari hari ke-3 hingga ke-7 terdapat warna putih kehijauan (Gambar 6).

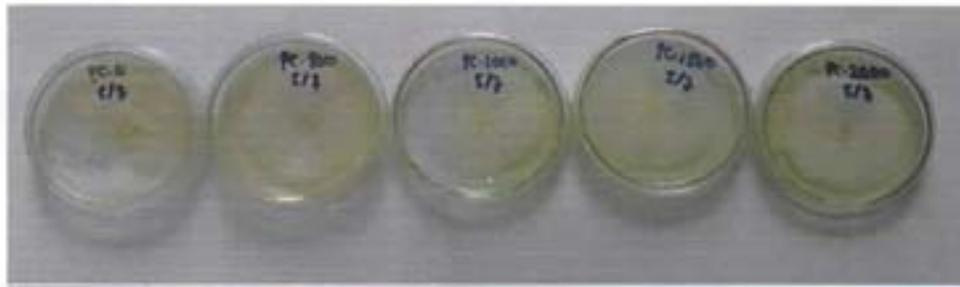
Isolat fungi *Phanerochaete chrysosporium* (Pc) yang diiradiasi pada dosis 0-2000 Gy juga terlihat mampu tumbuh pada medium PDA setelah inkubasi pada 30⁰C .



Gambar 5. Morfologi isolat *Trichoderma reesei* iradiasi dalam media Padat PDA yang diiradiasi sinar gamma pada dosis 0, 250; 500; 750; dan 1000 Gy.



Gambar 6. Morfologi isolat *Trichoderma harzianum* B asal Bangka yang diiradiasi sinar gamma pada dosis 0, 250; 500; 750; dan 1000 Gy.



Gambar 7. Morfologi isolat *Phanerochaete chrysosporium* yang diiradiasi sinar gamma pada dosis 0; 500; 750; 1000; 1500; dan 2000 Gy.

Hasil pengamatan karakterisasi *Phanerochaete chrysosporium*, secara makroskopis meliputi warna dan bentuk miselia yang dapat dilihat pada Gambar.7, menunjukkan bahwa dari isolat kontrol (tanpa radiasi) dan isolat *P. chrysosporium* iradiasi berdasarkan morfologinya tidak menunjukkan adanya perbedaan karakteristik.

Pengaruh dosis iradiasi pada pertumbuhan sel *T. reesei* menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni mulai dari dosis iradiasi 250; 500; 750; dan 1000 Gy masing –masing sebesar 12,13; 43,90; 46,00; dan 72,46%. Penurunan pertumbuhan sel isolat *T. reesei* mulai dosis iradiasi 250 Gy sampai dengan dosis 1000 Gy. Nilai D_{50} pada dosis radiasi 500 Gy (Tabel 7).

Tabel 7. Data Pengaruh dosis Iradiasi Sinar Gamma terhadap pertumbuhan isolat *Trichoderma reesei*.

Dosis Radiasi (Gy)	Jumlah Koloni (cfu/ml)	Log cfu
0	$7,4 \times 10^8$	8,57
250	$3,4 \times 10^7$	7,53
500	$6,4 \times 10^4$	4,80
750	$4,2 \times 10^4$	4,62
1000	$2,3 \times 10^2$	2,36

Sedangkan data hasil iradiasi pada isolat *T. harzianum* menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni mulai dari dosis iradiasi 250; 500; 750; dan 1000 Gy masing –masing sebesar 13,5; 41,02; 53,2; dan 78,2%. Penurunan pertumbuhan sel Isolat *T. harzianum* mulai dosis

iradiasi 250 Gy sampai dengan dosis 1000 Gy. Nilai D_{50} pada dosis radiasi 750 Gy. (Tabel 8.).

Tabel 8. Data Pengaruh dosis Iradiasi Sinar Gamma terhadap pertumbuhan isolat *Trichoderma harzianum* B .

Dosis Radiasi (Gy)	Jumlah Koloni (cfu/ml)	Log cfu
0	$6,4 \times 10^7$	7,80
250	$5,5 \times 10^6$	6,74
500	$4,3 \times 10^4$	4,60
750	$4,5 \times 10^3$	3,65
1000	$6,0 \times 10^1$	1,70

Pertumbuhan sel *Phanerochaete chrysosporium* akibat pengaruh dosis iradiasi terlihat pada Tabel 9. Mulai dari dosis iradiasi 250; 500; 750; 1000; 1500; dan 2000 Gy terjadi penurunan jumlah koloni masing-masing sebesar 9,5; 28,6; 39,0; 59,0; 73,5; dan 84,1%. Nilai D_{50} untuk *P. chrysosporium* pada dosis 1000 Gy.

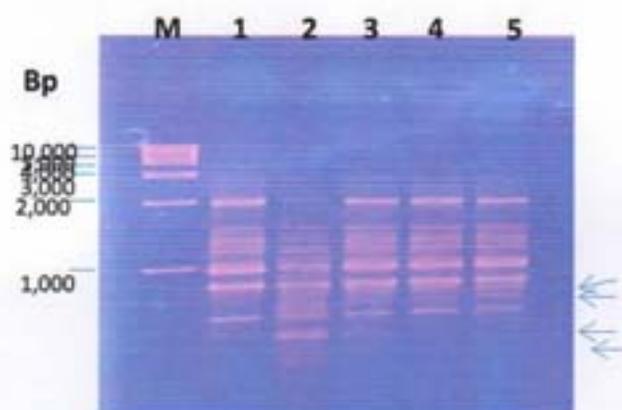
Dari hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya pada isolat *Aspergillus niger* [9], menyatakan bahwa dosis iradiasi yang dapat menurunkan pertumbuhan sel sebesar 50- 90% adalah dosis optimum yang dapat menyebabkan mutasi radiasi pada kapang tersebut. Dari hasil penelitian ini kemungkinan dosis optimum terjadinya mutasi isolat *T. reesei*, *T. harzianum* B, dan *P. chrysosporium* adalah antara dosis 500 dan 2000 Gy.

Tabel 9. Data Pengaruh dosis Iradiasi Sinar Gamma terhadap pertumbuhan isolat *Phanerochaete chrysosporium*.

Dosis Radiasi (Gy)	Jumlah Koloni (cfu/ml)	Log cfu
0	$3,7 \times 10^7$	7,57
250	$7,1 \times 10^6$	6,85
500	$2,5 \times 10^5$	5,40
750	$4,3 \times 10^4$	4,63
1000	$1,3 \times 10^3$	3,11
1500	$1,0 \times 10^2$	2,00
2000	$0,5 \times 10^2$	1,70

Hasil analisis keragaman genetik dari isolat *Trichoderma reesei* radiasi berdasarkan amplifikasi RAPD-PCR, dari 5 primer yang digunakan hanya primer OPA-1, OPH-16 dan AA-04 yang menunjukkan pola pita DNA yang berbeda (polimorfik) mulai dari dosis iradiasi 250; 500; 750 dan 1000 Gy (Gambar 4, 5 dan 6) . Primer OPA-1 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 2000, 1500, 1250, 1200, 1000 dan 500 bp (Tabel. 9). Pita polimorfik terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy; 500 Gy; 750 dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 3, 3, 2,

dan 2 buah. Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy dengan ukuran 1250; dan 2000 Gy. Primer OPH-16 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 1000; 800; 700; dan 600 bp (Tabel. 8). Pita polimorfik terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy; 500 Gy; 750 Gy dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 2, 1, 3, dan 1 buah. Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 500 dan 1000 Gy dengan ukuran 2800 dan 2600 bp. Primer AA-04 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 2000; 1600; 1400; 1200, 1000 dan 800 bp (Tabel. 9). Pita polimorfik terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy; 500 Gy; 750; dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 1, 2, 2, dan 2 buah.



Gambar 8. Profil DNA RAPD *Trichoderma reesei* iradiasi produk amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-1 . Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (250 Gy); Lajur 3 (500 Gy); Lajur 4 (750 Gy); Lajur 5 (1000 Gy); M (Marker, 1Kb Plus ladder (Qiagen)).

Tabel. 10. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Trichoderma reesei* iradiasi dengan primer OPA-1.

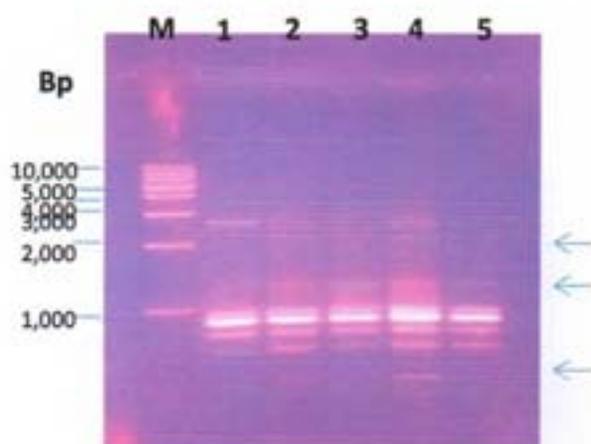
Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)				
	0 (kontrol)	250	500	750	1000
2000	---	*	---	---	---
1500	---	---	---	---	---
1250	---	*	---	---	---
1200	---	---	---	---	---
1000	---	---	---	---	---
800	---	---	---	---	---
700	---	---	---	---	---
600	---	---	---	---	---
400	---	---	---	---	---
300	---	---	---	---	---
250	---	---	---	---	---

Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).



Gambar 9. Profil DNA RAPD *Trichoderma reesei* iradiasi produk amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPH-16 . Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (250 Gy); Lajur 3 (500 Gy); Lajur 4 (750 Gy); Lajur 5 (1000 Gy); M (*Marker, 1Kb Plus ladder* (Qiagen)).

Tabel. 11. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Trichoderma reesei* iradiasi dengan primer OPH-16

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)				
	0 (kontrol)	250	500	750	1000
2800	---	---	*	---	*
2600	---	---*	*	---*	*
1300	---	---*	---*	---*	---*
1000	---	---	---	---	---
800	---	---	---	---	---
700	---	---	---	---	---
600	---	---	---	---	---
400	---	---	---	---	---

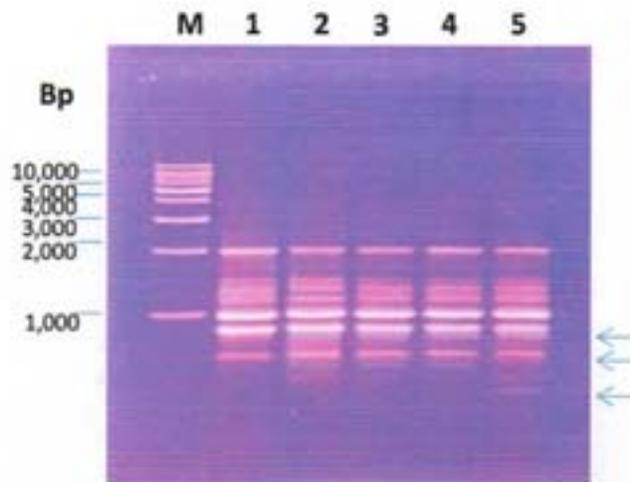
Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).

Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy dengan ukuran 1250; dan 2000 Gy.



Gambar 10. Profil DNA RAPD *Trichoderma reesei* iradiasi produk amplifikasi dengan PCR menggunakan primer AA-04. Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (250 Gy); Lajur 3 (500 Gy); Lajur 4 (750 Gy); Lajur 5 (1000 Gy); M (*Marker, 1Kb Plus ladder* (Qiagen)).

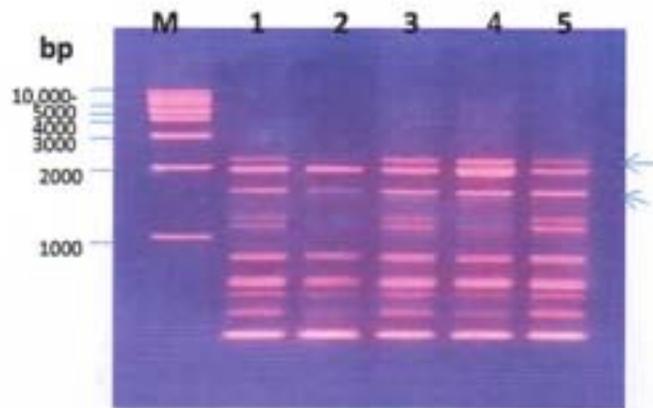
Tabel. 12. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Trichoderma reesei* iradiasi dengan primer AA-04

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)				
	0 (kontrol)	250	500	750	1000
2000	---	---	---	---	---
1600	---	---	---	---	---
1400	---	---	---	---	---
1200	---	---	---	---	---
1000	---	---	---	---	---
800	---	---	---	---	---
750	---	---	---*	---*	---*
600	---	---	---	---	---
500	---	---*	---*	---*	---
400	---	---	---	---	---*

Keterangan :

- : pita yang muncul pada gel agarose
- * : pita polimorfik.
- * : pita yang tidak muncul (delesi).

Hasil analisis keragaman genetik dari isolat *Trichoderma harzianum* B (Th B) iradiasi berdasarkan amplifikasi RAPD-PCR menggunakan primer OPA1 dan OPA-4 juga menunjukkan pola pita DNA yang berbeda (polimorfik) mulai dari dosis iradiasi 250;



Gambar 11. Profil DNA RAPD *Trichoderma harzianum* B iradiasi produk amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-1 . Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (250 Gy); Lajur 3 (500 Gy); Lajur 4 (750 Gy); Lajur 5 (1000 Gy); M (Marker, 1Kb Plus ladder (Qiagen)).

Tabel 13. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Trichoderma harzianum* B iradiasi dengan primer OPA-1

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)				
	0 (kontrol)	250	500	750	1000
2200	---	*	---	---	---
2000	---	---	---	---	---
1600	---	---	---	---	---
1550	---	---	---	---	---
1300	---	---	---	---	---
1200	---	---	---	---	---
800	---	---	---	---	---
600	---	---	---	---	---
500	---	---	---	---	---
300	---	---	---	---	---
200	---	---	---	---	---

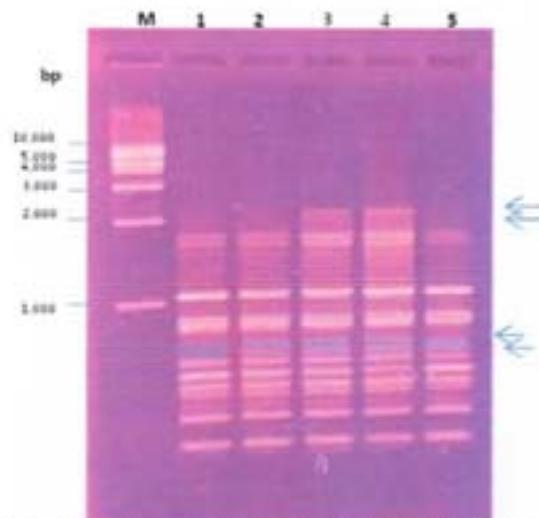
Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).

500; 750; dan 1000 Gy (Gambar 7 dan 8). Dari 5 primer yang digunakan hanya dua buah primer yang menghasilkan pita polimorfik . Primer OPA-1 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 2000; 1600; 1300; 1200; 800; 600; 500; 300; dan 200 bp (Tabel. 7). Sedangkan pita polimorfik terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy; 500 Gy; 750; dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 1 buah. Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy dengan ukuran 2200 bp.



Gambar 12. Profil DNA RAPD *Trichoderma harzianum* B iradiasi produk amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-4 . Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (250 Gy); Lajur 3 (500 Gy); Lajur 4 (750 Gy); Lajur 5 (1000 Gy); M (Marker, 1Kb Plus ladder (Qiagen)).

Tabel. 14. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Trichoderma harzianum* B iradiasi dengan primer OPA-4

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)				
	0 (kontrol)	250	500	750	1000
2600	---	---	---	---	---
1800	---	---	---	---	---
1600	---	---	---	---	---
1100	---	---	---	---	---
800	---	---	---	---	---
700	---	---	---	---	---
600	---	---	---	---	---
550	---	---	---	---	---
500	---	---	---	---	---
450	---	---	---	---	---
400	---	---	---	---	---
300	---	---	---	---	---
200	---	---	---	---	---

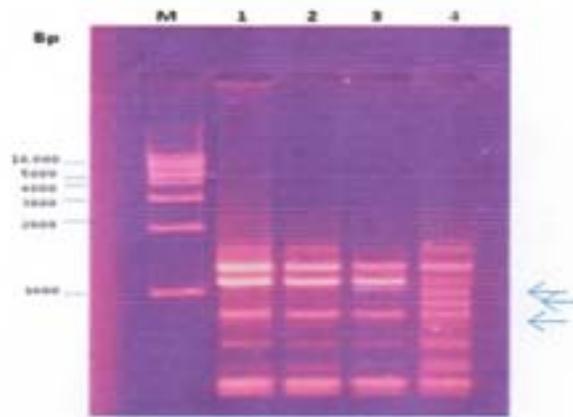
Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).

Primer OPA-4 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 2000; 1600; 1400; 1200; 1000; dan 800 bp (Tabel. 7). Sedangkan pita polimorfik terdapat pada isolat hasil iradiasi 250 Gy; 500 Gy; 750 Gy; dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 1, 2, 1, dan 1 buah. Tidak ada pita yang mengalami delesi.



Gambar 13. Profil DNA RAPD *Phanerochaete chrysosporium* teriradiasi yang dicekam dengan polutan benzen hasil amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-1. Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (0 Gy tercekam benzen); lajur 3 (500 Gy tercekam benzen); lajur 4 (1000 Gy tercekam benzen); M (*Marker*, 1 Kb *DNA ladder*).

Tabel 15. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Phanerochaete chrysosporium* teriradiasi yang dicekam dengan polutan benzen hasil amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-1.

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)			
	0 (kontrol)	0 (dicekam benzen)	500 (dicekam benzen)	1000 (dicekam benzen)
1600	---	---	*	---
1400	---	---	---	---
1200	---	---	---	---
1100	---	---	---	---
1000	---	---	---*	---*
900	---	---	---	---*
800	---	---	---	---
700	---	---	---	---*
650	---	---	---	---
600	---	---	---	---
400	---	---	---	---
300	---	---	---	---

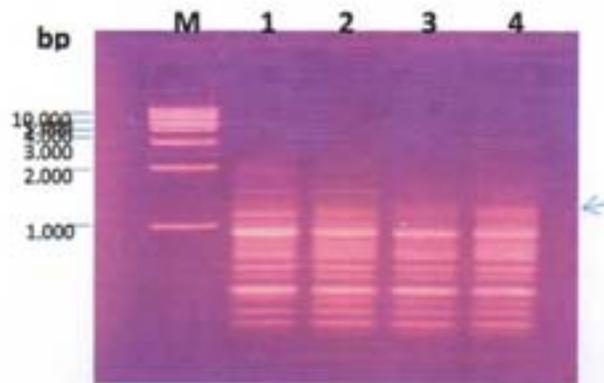
Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).

Analisis keragaman genetik dari isolat *Phanerochaete chrysosporium* radiasi yang dicekam dengan polutan benzen berdasarkan amplifikasi RAPD-PCR menggunakan 5 buah primer, menunjukkan tidak semua primer yang digunakan menghasilkan pita DNA polimorfik, hanya dua primer yaitu OPA1 dan OPA-4 yang menunjukkan adanya pita polimorfik (Gambar 12 dan 13). Primer OPA-1



Gambar 14. Profil DNA RAPD *Phanerochaete chrysosporium* teriradiasi yang dicekam dengan polutan benzen hasil amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-4. Lajur 1 (0 Gy); Lajur 2 (0 Gy tercekam benzen), lajur 3 (500 Gy tercekam benzen); Lajur 4 (1000 Gy tercekam benzen); M (Marker, 1 Kb DNA ladder).

Tabel 16. Pita monomorfik dan polimorfik dari *Phanerochaete chrysosporium* teriradiasi yang dicekam dengan polutan benzen hasil amplifikasi dengan PCR menggunakan primer OPA-4.

Ukuran pasangan basa (bp)	Dosis Radiasi (Gy)			
	0 (kontrol)	0 (dicekam benzen)	500 (dicekam benzen)	1000 (dicekam benzen)
1600	---	---	*	*
1500	---	---	---*	---*
1200	---	---	---	---
900	---	---	---	---
800	---	---	---	---
700	---	---	---	---
500	---	---	---	---
400	---	---	---	---
300	---	---	---	---
200	---	---	---	---

Keterangan :

--- : pita yang muncul pada gel agarose

---* : pita polimorfik.

* : pita yang tidak muncul (delesi).

mempunyai pita monomorfik pada ukuran 1400;1200; 800; 700; 600; 400; dan 300 bp (Tabel. 15). Sedangkan pita polimorfik terdapat hasil iradiasi 500 Gy; dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 1 dan 3 buah. Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 500 Gy dengan ukuran 1600 bp. Primer OPA-4 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 1400;1200; 900; 800; 700; 500; 400; 300 dan 200 bp (Tabel. 16). Sedangkan pita polimorfik terdapat pada hasil iradiasi 500 Gy; dan 1000 Gy masing-masing berjumlah 1 buah.

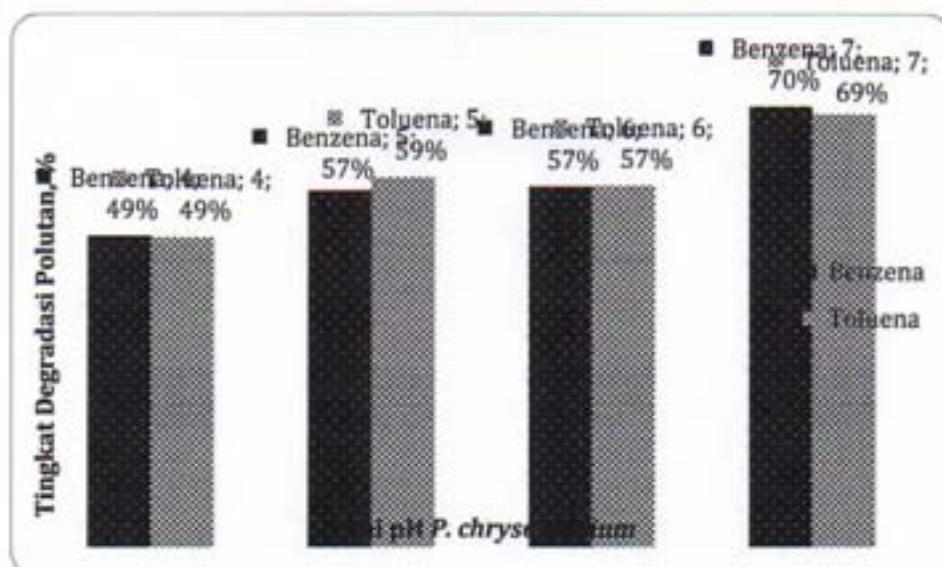
Sedangkan pita yang tidak muncul (delesi) terdapat pada isolat hasil iradiasi 500 Gy dengan ukuran 1600 bp.

Dari hasil pengamatan diatas, maka mutasi radiasi dari isolat kapang terjadi *Trichoderma reesei* dan *Trichoderma harzianum* mulai dari dosis iradiasi 500 – 1000 Gy. Sedangkan pada isolat *Phanerochaete chrysosporium* mutasi radiasi terjadi pada dosis 1000 Gy. Suatu genotip dikategorikan sebagai mutan apabila profil DNA-nya berbeda dari profil DNA kontrol dan profil tersebut konsisten berbeda pada semua primer yang digunakan [10].

Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan urutan nukleotida pada jenis primer yang digunakan, sehingga menyebabkan perlekatan primer di sepanjang DNA genom sampel juga berbeda. Pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat bergantung pada bagaimana primer mengenal daerah komplemennya pada cetakan (*template*) DNA yang digunakan. Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan, maka semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan [11].

b. Efektivitas Fungi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Aspergillus niger* dalam Degradasi senyawa Benzena dan Toluena

Optimasi pH Fungi *Phanerochaete chrysosporium* Terhadap Degradasi Polutan. Salah faktor yang menentukan efektivitas kinerja fungi adalah pH medium. Pengaturan pH serbuk gergaji sebagai substrat dengan pH 4, 5, 6 dan 7 untuk menentukan kondisi optimal degradasi polutan benzena dan toluena oleh fungi *P.chrysosporium* dan *A.niger*. Pada Gambar 15 ditunjukkan pengaruh nilai pH terhadap tingkat degradasi benzena dan toluena oleh fungi *P.chrysosporium*. Persentase degradasi benzena dan toluena tertinggi



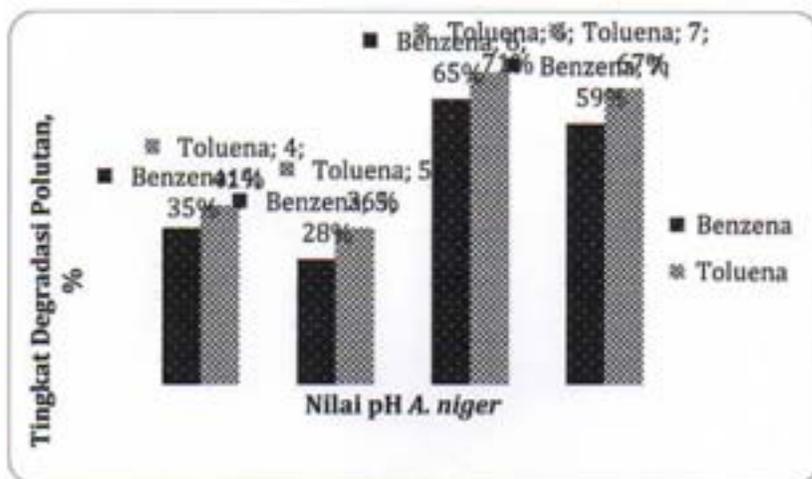
Gambar 15. Tingkat Degradasi Polutan berdasarkan pH *Phanerochaete chrysosporium*

Berada pada pH 7, yakni untuk benzena sebesar 69,9% dan toluena sebesar 68,7%. Pada nilai pH semakin rendah, tingkat degradasi polutan juga menurun. Pada penelitian sebelumnya ditunjukkan bahwa fungi *P.chrysosporium* masih mengalami pertumbuhan pada pH 4 -7. Pada penelitian lain oleh Bishnoi et al (2008) ditunjukkan bahwa fungi *P.chrysosporium* mampu mendegradasi polutan PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) secara optimal pada pH 7 dan suhu 30 0C.

Faktor yang mempengaruhi nilai pH ialah ketersediaan ion logam tertentu dan permeabilitas membran sel yang berhubungan dengan pertukaran ion, produksi CO₂ dan asam organik. Nilai pH yang terlalu asam menyebabkan permeabilitas membran sel menjadi jenuh oleh ion hidrogen, sehingga transport melalui membran akan dibatasi. Hal ini mengakibatkan proses transportasi asam-asam amoni melalui membran ke dalam sel terganggu dan metabolisme sel untuk pertumbuhan menjadi terhambat.

Proses degradasi senyawa hidrokarbon menghasilkan produk berupa CO₂, H₂O dan biomassa. Peningkatan konsentrasi CO₂ yang dihasilkan menunjukkan aktivitas biodegradasi juga semakin meningkat. Interaksi senyawa benzena dan toluena untuk didegradasi dapat menghasilkan jumlah produksi CO₂ dan konsumsi O₂ yang lebih besar. Pada sa'at proses degradasi, toluena akan dimanfaatkan oleh fungi sebagai sumber karbon, sedangkan benzena terdegradasi sa'at digunakan sebagai substrat.

Optimasi pH Fungi *Aspergillus niger* Terhadap Degradasi Polutan. Pada Gambar 16 ditunjukkan ditunjukkan pengaruh nilai pH terhadap tingkat degradasi benzena dan toluena oleh fungi *A.niger*. Persentase degradasi benzena dan toluena tertinggi berada pada pH 6, yakni 65% untuk benzena dan 71% untuk toluena. Toluena lebih mudah didegradasi dibandingkan benzena. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Jung dan park (2004), yang menunjukkan bahwa pada campuran BTX (Benzena, Toluena dan m-Xilena), senyawa yang lebih sulit didegradasi oleh fungi adalah benzena, diikuti m-xilena dan toluena. Gugus cincin benzena memiliki resonansi (delokalisasi elektron) yang tinggi sehingga energi yang dibutuhkan untuk memecah cincin benzena tersebut lebih besar. Sifat molekul yang cenderung stabil menyebabkan benzena bersifat rekalsitran terhadap degradasi. Gugus metil yang dimiliki toluena dan xilena berfungsi mengaktifkan substitusi elektrofilik cincin benzena, sehingga toluena dan xilena lebih reaktif dibandingkan benzena dan menyebabkan daya degradasinya lebih mudah.

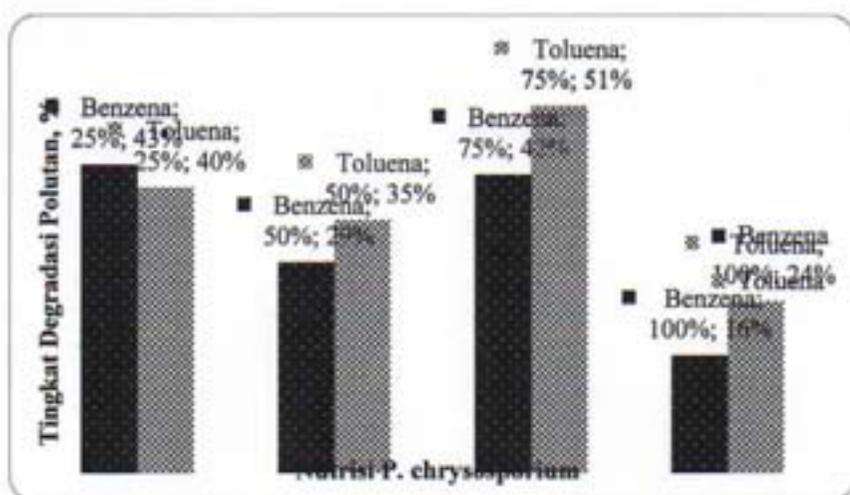


Gambar 16. Tingkat Degradasi Polutan berdasarkan pH *Aspergillus niger*

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa variasi perlakuan pH pada fungi *A.niger* memiliki perbedaan yang signifikan (p value benzena , $0,003 < 0,05$ dan toluena $0,001, 0,05$), artinya terdapat perbedaan nyata pengaruh antara penentuan derajat keasman fungi *A.niger* terhadap tingkat degradasi polutan. Menurut Kantir (2007), fungi *A.niger* memiliki pH optimal 6 -7 pada suhu 30 0C. Hasil ini sesuai dengan hasil yang diperoleh dengan tingkat degradasi tertinggi pada pH 6 dan dilanjutkan oleh pH 7.

Optimasi Nutrisi Fungi *Phanerochaete chrysosporium* Terhadap Degradasi Polutan. Faktor lain yang mempengaruhi kinerja fungi adalah nutrisi sebagai sumber energi. Variasi nutrisi dengan penambahan larutan nutrisi dan garam mineral berupa: PDB, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 dan $MgSO_4.7H_2O$ dengan konsentrasi sebesar 25%, 50%, 75% dan 100%.

Pada Gambar 17 ditunjukkan tingkat degradasi benzena dan toluena oleh *P.chrysosporium*.

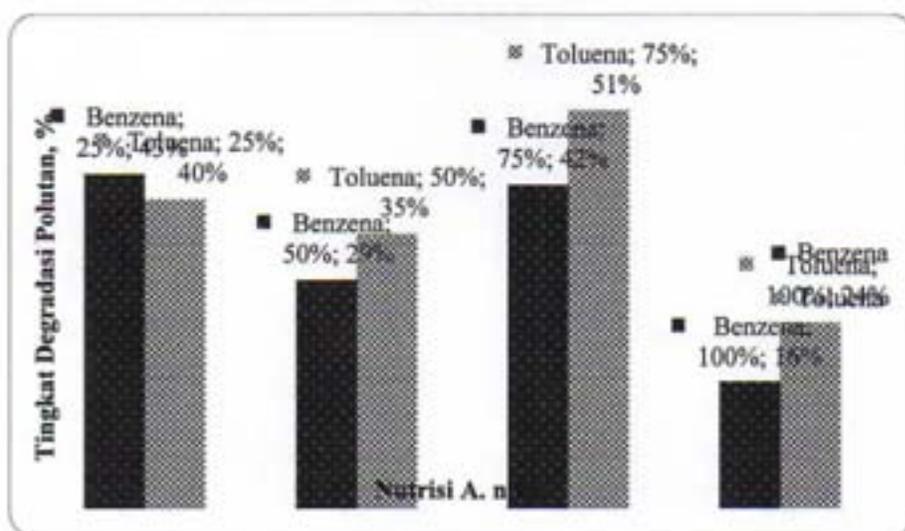


Gambar 17. Tingkat Degradasi Polutan berdasarkan nutrisi *Phanerochaete chrysosporium*

Persentase degradasi benzena tertinggi diperoleh pada nutrisi 25% yakni sebesar 43,1% dan degradasi toluena tertinggi diperoleh pada nutrisi 75% sebesar 48,7%. Hasil analisis statistik semua variasi nutrisi pada fungi *P.chrysosporium* memiliki perbedaan signifikan (*p value* benzena $0,006 < 0,05$ dan toluena $0,026 < 0,05$), artinya terdapat perbedaan nyata pengaruh antara penentuan variasi nutrisi *P.chrysosporium* terhadap tingkat degradasi polutan. Hasil yang diperoleh dapat dinyatakan bahwa konsentrasi nutrisi 25% dapat digunakan sebagai nutrisi optimal *P.chrysosporium* untuk mendegradasi benzena dan toluena.

Nutrien yang ditambahkan dalam medium dimanfaatkan oleh fungi untuk pertumbuhan dan mengeluarkan produk-produk metabolit. Ketersediaan Mg^{2+} dalam media nutrisi diperoleh dari $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dibutuhkan untuk menstabilkan ribosom, membran dan sintesis protein. Magnesium juga berfungsi sebagai aktivator berbagai jenis enzim maupun membantu pertumbuhan sel (Pramita et al. 2015). Nutrisi untuk sel fungi diperoleh dari kandungan kalium dan fosfat pada KH_2PO_4 yang berfungsi sebagai pengendali metabolisme sel serta berbagai proses transport melalui membran sel. Unsur kalium yang tinggi diperoleh dari K_2HPO_4 dibutuhkan untuk menstabilkan pH medium.

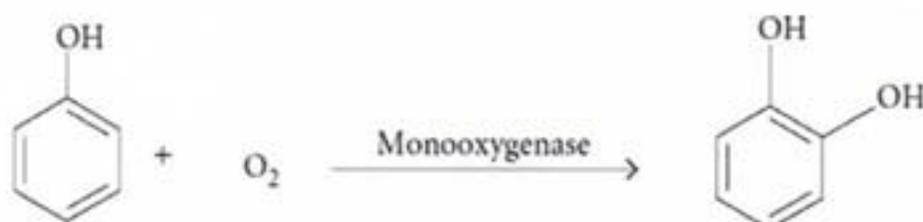
Optimasi Nutrisi Fungi *Aspergillus niger* Terhadap Degradasi Polutan. Perlakuan variasi nutrisi bertujuan menentukan konsentrasi optimal pada fungi dalam membantu pertumbuhan dan berbagai aktivitas metabolisme, sehingga degradasi polutan optimal. Tingkat degradasi benzena dan toluena berdasarkan nutrisi *A.niger* ditunjukkan pada Gambar 5. Persentase degradasi benzena dan toluena tertinggi diperoleh pada nutrisi 75% yakni sebesar 55,3% untuk benzena dan sebesar 61,2% untuk toluena. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi nutrisi 75% merupakan nutrisi optimal bagi *A.niger* untuk mendegradasi benzena dan toluena.



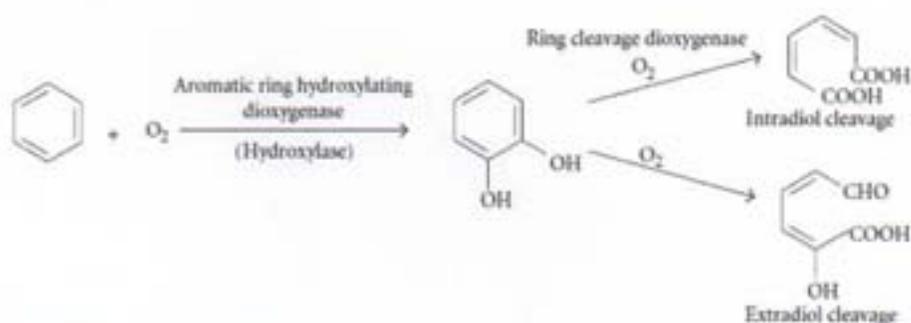
Gambar 18. Tingkat Degradasi Polutan berdasarkan nutrisi *Aspergillus niger*

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari optimasi pH dan nutrisi pada *Phanerochaete chrysosporium* dan *Aspergillus niger* dapat dinyatakan bahwa *Aspergillus niger* lebih baik dalam mendegradasi polutan benzena dan toluena. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh Bhuvaneswari *et al.* (2012), yang menunjukkan bahwa toluena dapat terdegradasi dengan baik oleh *Aspergillus niger* hingga 92% setelah inkubasi selama 2 minggu di dalam reaktor *batch*.

Mauti *et al.* (2016) melaporkan bahwa *A.niger* dapat memetabolisme polutan minyak mentah menjadi CO₂ atau menjadi metabolit sekunder. Mikroba aerobik seperti fungi memiliki 2 tahap dalam mendegradasi polutan. Tahap pertama adalah oksidasi gugus fungsional keton dengan oksigen molekuler dan kedua yang yaitu pemecahan molekul energi menjadi CO₂ dan H₂O. Penambahan gugus oksigen pada tahap awal oleh enzim oksigenase yang termasuk dalam kelompok enzim oksidoreduktase. Oksigenase dikelompokkan menjadi dua kategori berdasarkan jumlah atom oksigen yang digunakan untuk oksigenasi, yaitu monooksigenasi (Gambar 19) dan dioksigenasi (Gambar 20). Kedua enzim tersebut berperan penting dalam metabolisme senyawa organik dengan meningkatkan reaktivitas atau kelarutan airnya sehingga menyebabkan pembelahan cincin aromatik.



Gambar 19. Proses degradasi kelompok aromatik dengan proses monooksigenase



Gambar 20. Proses degradasi kelompok aromatik dengan proses dioksigenase

Hasil dari pemecahan cincin aromatik oleh oksigenase disebut senyawa katekol, yaitu senyawa intermediet hasil degradasi hidrokarbon aromatik. Berbagai perubahan senyawa yang terjadi pada jalur metabolisme intermediet yang diakibatkan transformasi intramolekul menyebabkan lepasnya ikatan antar karbon (C – C). Ikatan antar karbon yang terlepas akan membentuk asam-asam organik atau senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat di metabolisme sel mikroorganisme pada jalur siklus Krebs. Hasil perubahan senyawa tersebut selanjutnya

dikonversi lebih lanjut menjadi CO₂. Penelitian sebelumnya ditunjukkan bahwa mikroba terlibat dalam transformasi prekursor aromatik menjadi produk alifatik. Mikroba mengekstrak energi melalui media penghasil energi biokimiawi untuk membantu transfer elektron dari reduksi substrat organik (donor) ke senyawa lain (akseptor). Selama reaksi reduksi oksidasi tersebut, polutan hidrokarbon akan teroksidasi menjadi senyawa yang tidak berbahaya atau kurang berbahaya.

Keterkaitan Aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) dengan Degradasi Polutan. Parameter lain yang diukur adalah aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) selama proses degradasi benzena dan toluena. Pengujian sampel pH (4,5,6 dan 7) dan nutrisi (25%,50%, 75% dan 100%) pada fungi *P.chrysosporium* dan *A.niger* setelah tercekam polutan tidak menghasilkan enzim LiP di semua sampel (Tabel 17). Namun dalam kondisi tanpa cekaman polutan, terdapat aktivitas LiP kedua fungi, yakni sebesar 0,275 U/ml pada fungi *P.chrysosporium* dan sebesar 0,528 U/ml pada fungi *A.niger*.

Tabel 17. Aktivitas LiP Fungi pada kondisi tanpa cekaman dan tercekam polutan

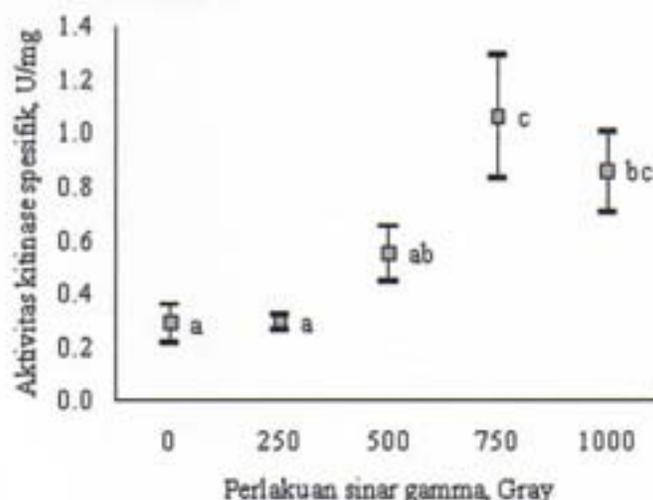
Galur Fungi	Aktivitas LiP (U/mL)	
	Tanpa Cekaman	Tercekam Polutan
<i>P. chrysosporium</i>	0,275	0
<i>A.niger</i>	0,528	0

Jumlah LiP tanpa cekaman polutan pada *P. chrysosporium* cenderung lebih kecil dibanding LiP yang dihasilkan pada fungi *A.niger*. Hasil penelitian Zacchi *et al.* (2000) menunjukkan bahwa LiP yang dihasilkan *P. chrysosporium* sebesar 0,2 – 0,4 U/ml yang diinkubasi 4 hari menggunakan selulosa sebagai substrat karbon dalam kultur cair terendang dengan agitasi terus-menerus. Jumlah tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini sebesar 0,275 U/mL setelah diinkubasi 3 hari. Fungi *A.niger* yang ditumbuhkan dalam media broth Czapek-Dox menghasilkan LiP sebesar 3,6 U/mL setelah diinkubasi 7 hari pada suhu 30°C. Hal ini menunjukkan bahwa masa inkubasi dan substrat yang digunakan mempengaruhi jumlah LiP yang dihasilkan, selain itu kemampuan setiap fungi juga berpengaruh dalam mendegradasi polutan. Penelitian ini menggunakan serbuk gergaji sebagai substrat bagi fungi selama proses degradasi. Menurut Levin *et al.* (2003), penggunaan substrat seperti gergaji, tongkol jagung dan jerami dapat meningkatkan degradasi yang dilakukan *P. chrysosporium*. Mekanisme biodegradasi pada fungi lignolitik ini adalah sistem degradasi lignin. *Extracellular Lignin Modifying Enzymes* (LMEs) memiliki spesifitas substrat yang sangat rendah sehingga fungi dapat memineralsasi berbagai organopolutan dan secara struktural mirip lignin yang sangat sulit terdegradasi. Fungi *P. chrysosporium* bahkan toleran terhadap tingkat senyawa polutan yang sangat tinggi (250 - 500 ppm) dan mampu menderadasi senyawa

antrasena dan nitrobenzena hingga 90 - 97%. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa fungi *P. chrysosporium* dapat mensekresi enzim LiP namun bekerja secara tidak spesifik hanya memineralsasi senyawa lignin. Enzim LiP juga mampu mendegradasi berbagai jenis polutan organik yang memiliki struktur menyerupai lignin seperti fenol terklorinasi, bifenil poliklorinat, dikenzodioksin terklorinasi, nitroaromatik dan hidrokarbon aromatik polinuklear. Biodegradasi polutan telah dilaporkan berkaitan dengan ketersediaan lignin peroksidase (LiP) yang terjadi dalam kondisi lignolitik. Namun dalam penelitian ini, aktivitas LiP yang dibuat dalam kondisi lignolitik menggunakan serbuk gergaji tidak tersedia saat mendegradasi benzena dan toluena setelah inkubasi 24 jam. Hasil tersebut didukung oleh pernyataan Yadav & Reddy (1993) bahwa degradasi benzena dan toluena terjadi pada 2 hari pertama ketika fungi mengalami metabolisme primer. Enzim ekstraselular seperti LiP disekresikan saat fungi mengalami metabolisme sekunder yang didahului oleh periode lag dan bereaksi pada 3 - 4 hari. Benzena dan toluena tidak menjadi substrat untuk LiP karena potensi ionisasi benzena dan toluena lebih tinggi yaitu 9,24 eV untuk benzena dan 8,82 eV untuk toluena, daripada yang dibutuhkan untuk aktivitas LiP yaitu 7,55 eV.

c. Agen Remediasi Lahan Bermasalah Fitopatogen

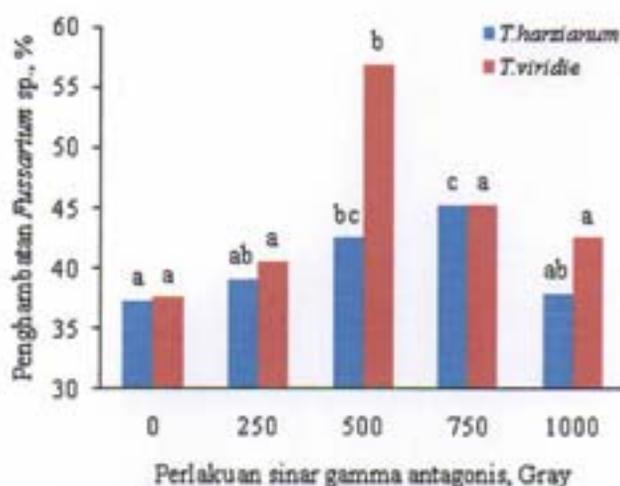
Perlakuan sinar gamma berpengaruh nyata terhadap aktivitas kitinase spesifik kapang *T.harzianum* seperti ditunjukkan pada Gambar 18. Kapang *T.harzianum* wild-type (tanpa perlakuan sinar gamma) memiliki aktivitas kitinase spesifik sekitar 0,29 U/mg dan kapang *T.harzianum* yang dipapari sinar gamma pada dosis 750 Gray sekitar 1,06 U/mg. Hasil ini mengindikasikan bahwa perlakuan sinar gamma dapat meningkatkan kemampuan kapang *T.harzianum* sebagai agen pengendali mikroorganisme patogen dengan dinding sel mengandung kitin.



Gambar 21. Pengaruh perlakuan sinar gamma terhadap aktivitas kitinase spesifik kapang *T.harzianum*

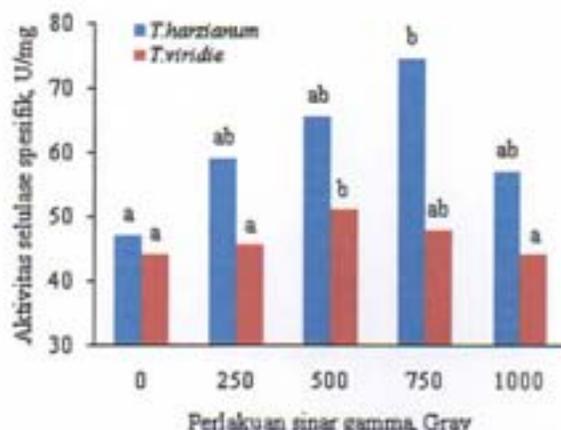
Pada ujiantang *dual-cultures* dengan waktu inkubasi selama 48 jam, perlakuan sinar gamma berpengaruh terhadap peningkatan kemampuan

kapang *T.harzianum* dan *T.viridie* dalam menghambat pertumbuhan patogen *Fussarium* spp. Kedua kapang antagonis tersebut memiliki kemampuan penghambatan patogen *Fussarium* spp. sekitar 37,23-37,50% dan setelah perlakuan sinar gamma menunjukkan kemampuan yang relatif berbeda seperti disajikan pada Gambar 21. Penghambatan patogen *Fussarium* spp. yang optimum diperoleh pada inokulasi kapang antagonis *T.harzianum* 750 Gray dan *T.viridie* 500 Gray sekitar 45,23% dan 56,82%. Berdasarkan hasil uji aktivitas kitinase spesifik dan *dual-culture* mengindikasikan bahwa kapang *T.harzianum* yang dipapari sinar gamma 750 Gray berpotensi untuk digunakan sebagai agen hayati penghambah pertumbuhan fitopatogen terutama *Fussarium* spp.



Gambar 22. Pengaruh perlakuan sinar gamma terhadap kemampuan kapang antagonis *T.harzianum* dan *T.viridie* dalam menghambat pertumbuhan pathogen *Fussarium* sp.

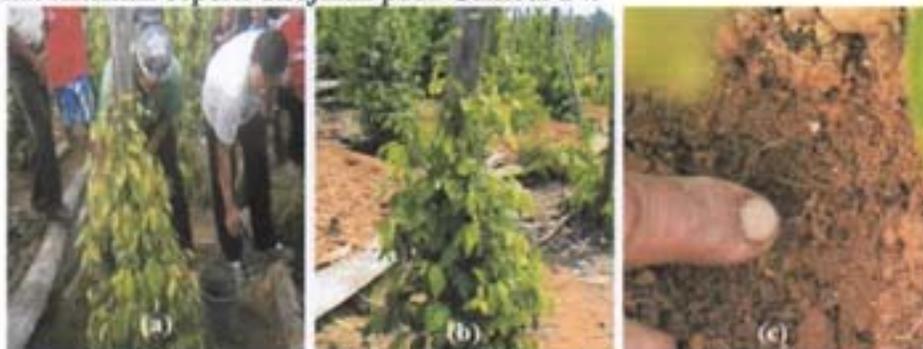
Selain perubahan aktivitas kitinase spesifik, perlakuan sinar gamma juga berpengaruh terhadap aktivitas selulase spesifik kapang *T.harzianum* dan *T.viridie* seperti disajikan pada Gambar 22. Kapang *T.harzianum* dan *T.viridie* wild-types (tanpa perlakuan sinar gamma) memiliki aktivitas selulase spesifik sekitar 47,11 U/mg dan 44,00 U/mg. Aktivitas selulase spesifik *T.harzianum* dan *T.viridie* diperoleh pada perlakuan sinar gamma 750 dan 500 Gray sekitar 74,60 U/mg dan 50,94 U/mg. Aktivitas selulase memiliki peran penting dalam ekosistem di rizosfer (daerah perakaran tanaman) karena dapat mengkonversikan eksudat akar dan bahan organik lain yang mengandung selulosa menjadi glukosa. Glukosa sangat diperlukan oleh beragam organism di rizosfer sehingga akan memacu pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme bermanfaat untuk tanaman pokok atau revegetasi di lokasi remediasi lahan.



Gambar 23. Pengaruh perlakuan sinar gamma terhadap aktivitas selulase spesifik kapang *T.harzianum* dan *T.viridie*

Kemampuan kapang *T.harzianum* dan *T.viridie* dalam menghasilkan enzim kitinase dan selulase menjadi kerangka dasar formulasi agen remediasi lahan bermasalah fitopatogen terutama *Fusarium* spp. Untuk meningkatkan kemampuan agen hayati ini, ditambahkan bakteri rizosfer *Pseudomonas fluorescens* dengan kemampuan menghasilkan enzim kininase dan melarutkan fosfat yang baik. Konsorsium *T.harzianum*, *T.viridie* dan *P.fluorescens* digunakan sebagai bahan bioaktif pada pembuatan agen remediasi lahan bermasalah fitopagen. Agen hayati dengan bahan pembawa berbasis talk-CMC yang disterilkan dengan sinar gamma pada 25 kGray.

Agen hayati ini kami sebut sebagai Trichomix yang selanjutnya digunakan pada kaji terap di lahan perkebunan tanaman lada (*Piper nigrum*) di Kabupaten Bangka (Desa Kemuja, Cit, Riau Silip, Banyu Asin, Saing, Dalil), Bangka Tengah (Desa Simpang Katis) dan Bangka Selatan (Desa Airgegas, Sidoarjo, Jaya Permai). Berdasarkan hasil evaluasi kaji terap di 10 desa tersebut diperoleh informasi bahwa aplikasi Trichomix mampu menekan kejadian penyakit busuk pangkal batang (*Fusarium* spp.) sampai 95%. Kondisi ini diperoleh karena kemampuan konsorsium agen hayati (*T.harzianum*, *T.viridie*, *P.fluorescens*) diduga berperan penting dalam menghambat pertumbuhan fitopatogen *Fusarium* spp. Agen hayati Trichomix berpengaruh terhadap kesehatan akat tanaman seperti disajikan pada Gambar 24.



Gambar 24. Pengaruh aplikasi Trichomix terhadap tampilan tanaman lada di Desa Kemuja : (a) tanaman awal, (b) tanaman pada 21 hari setelah aplikasi Trichomix dan (c) akan tanaman kembali sehat

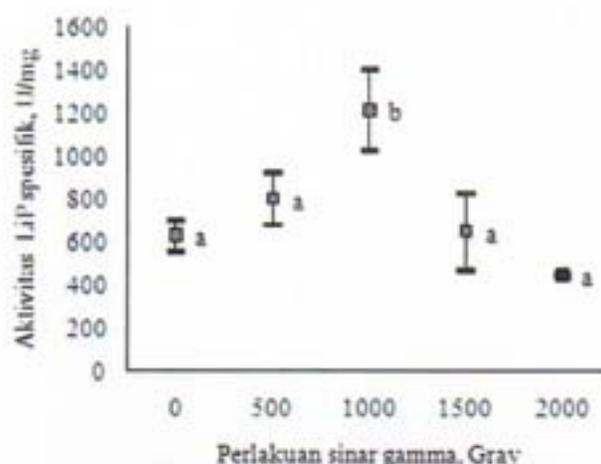
Berdasarkan evaluasi tanaman lada di Desa Simpang Katis (Bangka Selatan) menunjukkan bahwa aplikasi 2 ton kompos yang diperkaya 2 kg Trichomix dapat menekan kejadian penyakit dan meningkatkan tampilan pertumbuhan tanaman lada seperti disajikan pada Gambar 25. Pada pengamatan bulir biji muda diperoleh informasi peluang perbaikan potensi hasil tanaman lada. Hasil evaluasi kaji terap aplikasi Trichomix ini telah disampaikan pada forum “Temu Lapang” kepada pekebun lada di Kabupaten Bangka Tengah. Pada forum tersebut diperoleh umpan balik yang secara umum menyoal kesulitan memperoleh bahan kompos berupa pupuk kandang. Dengan demikian, diperlukan upaya untuk mengembangkan bahan organik alternatif pengganti pupuk kandang melalui pemanfaatan bahan lignoselulosa berupa residu biomasa tanaman.



Gambar 25. Hasil aplikasi Trichomix di Desa Simpang Katis Kabupaten Bangka Tengah

Agen Delignifikasi Residu Biomassa Tanaman. Pemanfaatan bahan lignoselulosa sebagai sumber bahan organik tanah (remediasi) atau keperluan lain seperti pakan ternak, bioetanol atau industri kertas dibatasi oleh kandungan lignin yang secara alamiah berfungsi sebagai penguat struktur tanaman. Upaya menurunkan kadar lignin atau delignifikasi dapat dilakukan secara fisik, kimia dan biologi. Delignifikasi secara biologi atau bio-delignifikasi dipandang lebih ramah lingkungan karena tidak memerlukan energi panas dan tidak menghasilkan substansi toksik bagi lingkungan.

Kapang *Phanerochaete chrysosporium* adalah kapang lignoselulolitik yang paling umum digunakan pada proses bio-delignifikasi. Salah satu upaya yang dilakukan untuk meningkatkan kemampuan kapang *P. chrysosporium* adalah stimulasi iradiasi sinar gamma. Perlakuan sinar gamma pada dosis 500, 1000, 1500 dan 2000 Gray berpengaruh terhadap aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) spesifik kapang *P. chrysosporium* seperti disajikan pada Gambar 26. Aktivitas LiP spesifik yang optimum diperoleh pada perlakuan sinar gamma 1000 Gray sekitar 1209 U/mg sedangkan kapang *P. chrysosporium wild-types* (tanpa perlakuan sinar gamma) sekitar 625 U/mg atau meningkat sekitar 1,93 kali. Kapang *P. chrysosporium* 1000 Gray ini berpotensi untuk proses delignifikasi residu tanaman dalam rangka memperoleh bahan baku dengan kadar lignin rendah dan selulosa tinggi.



Gambar 26 Pengaruh perlakuan sinar gamma terhadap aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) spesifik kapang *P. chrysosporium*

Pemanfaatan hasil biodelignifikasi residu tanaman sebagai agen remediasi lahan juga diperlukan kadar glukosa dan protein yang tinggi untuk meningkatkan keragaman, populasi dan aktivitas mikroorganisme rizosfer. Upaya untuk memperoleh hasil tersebut dilakukan melalui formulasi konsorsium mikroorganisme fungsional yang terseleksi. Tabel 18 menunjukkan aktivitas LiP dan selulase mikroorganisme dalam medium fermentasi padat substrat rumput gajah pada 4 hari setelah inokulasi mikroorganisme. Aktivitas LiP tertinggi diperoleh pada perlakuan inokulasi konsorsium mikroorganisme C, E dan F sekitar 11843,77; 11395,97 dan 11461,14 U/g. Dari ketiga konsorsium tersebut perlakuan E memiliki aktivitas selulase terendah sekitar 7,00 U/g dibandingkan C dan F. Aktivitas selulase konsorsium mikroorganisme C dan F sekitar 8,54 dan 10,29 U/g. Kemampuan konsorsium mikroorganisme terpilih M1 = C dan M2 = F dievaluasi dalam medium fermentasi padat substrat rumput gajah selama 16 hari.

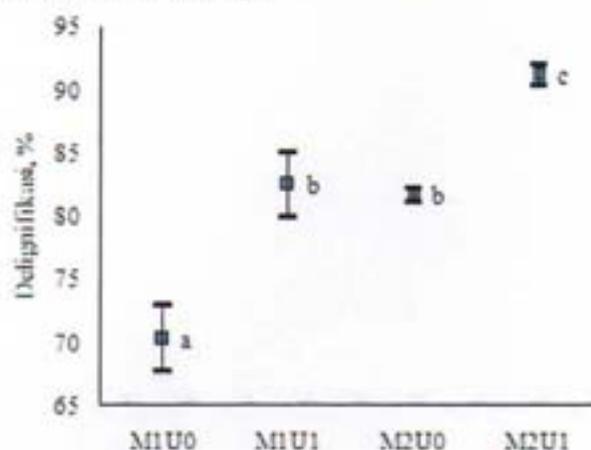
Tabel 18. Aktivitas LiP dan selulase mikroorganisme di dalam medium fermentasi substrat rumput gajah

No	Mikroorganisme	Aktivitas LiP, U/g	Aktivitas selulase, U/g
1	A = PC	7746,88 ^b	8,13 ^{bc}
2	B = PC+TR	7664,19 ^b	8,48 ^c
3	C = PC+BC	11843,77 ^d	8,54 ^c
4	D = PC+SC	6057,18 ^b	6,27 ^a
5	E = PC+TR+BC	11395,97 ^{cd}	7,00 ^{ab}
6	F = PC+TR+SC	11461,14 ^{cd}	10,29 ^d
7	G = PC+BC+SC	2978,25 ^a	9,33 ^{cd}
8	H = PC+TR+BC+SC	8340,55 ^{bc}	7,89 ^{bc}

Keterangan : PC = *P. chrysosporium*, TR = *T. risei*, BC = *B. circulans* dan SC = *S. cerevice*.

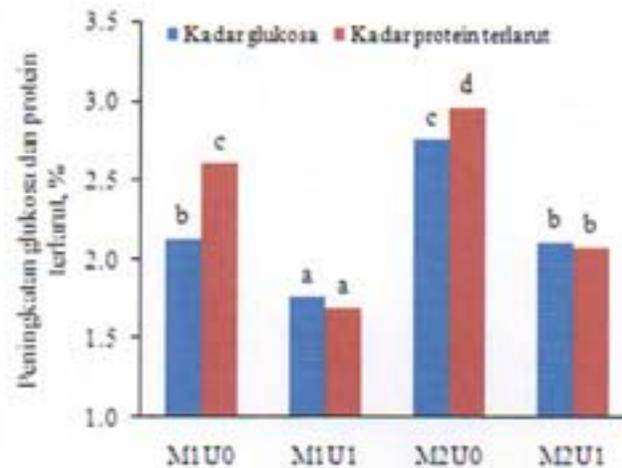
Pada fermentasi padat substrat rumput gajah dengan perlakuan urea (U0, U1) dan konsorsium mikroorganisme (M1, M2) terjadi penurunan kadar lignin (delignifikasi) sekitar 70,26% sampai 91,21% seperti disajikan pada Gambar 24. Penambahan urea sebanyak 2% (b/b) dapat

meningkatkan kemampuan kedua konsorsium mikroorganisme untuk menurunkan kadar lignin di dalam substrat. Pada medium tanpa penambahan urea, konsorsium M1 dan M2 mampu menurunkan kadar lignin sekitar 70,26% dan 81,63%. Penambahan urea sebanyak 2% (b/b) dapat meningkatkan kemampuan delignifikasi konsorsium mikroorganisme M1 dan M2 menjadi 82,49% dan 91,21%. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kondisi yang relatif sama, konsorsium mikroorganisme M2 (*P.chrysosporium*+*T.riseei*+*S.cerevice*) lebih efektif dalam menurunkan kadar lignin dibandingkan M1 (*P.chrysosporium*+*B.circulans*).



Gambar 27. Pengaruh perlakuan konsorsium mikroorganisme dan penambahan urea terhadap delignifikasi substrat rumput gajah

Hasil biodelignifikasi substrat rumput gajah dengan M2 juga lebih mampu meningkatkan kadar glukosa dan protein yang lebih tinggi dibandingkan M1 seperti disajikan pada Gambar 27. Penambahan urea sebanyak 2% mampu meningkatkan kemampuan konsorsium mikroorganisme M1 dan M2 dalam delignifikasi tetapi kadar glukosa dan protein terlarut di dalam substrat lebih rendah dibandingkan kontrol (tanpa penambahan) urea. Pada medium tanpa penambahan urea, perlakuan konsorsium mikroorganisme M2 mampu mengoptimalkan peningkatan kadar glukosa sekitar 2,75 kali dari 6,83 mg/g menjadi 18,82 mg/g dan peningkatan kadar protein terlarut sekitar 2,96 kali dari 13,43 mg/g menjadi 39,72 mg/g.



Gambar 28. Pengaruh perlakuan konsorsium mikroorganisme dan penambahan urea terhadap peningkatan kadar glukosa dan protein terlarut

Tabel 19. Karakteristik substrat rumput gajah sebelum dan setelah biodelignifikasi melalui fermentasi padat selama 16 hari

No	Parameter	RG	Substrat hasil biodelignifikasi			
			M1U0	M1U1	M2U0	M2U1
1	pH	5.75 ^a	7.34 ^{cd}	7.47 ^d	7.28 ^{bc}	7.14 ^b
2	Bahan organik, %	90.19 ^b	86.88 ^a	86.33 ^a	87.74 ^a	86.90 ^a
3	Ekstraktif, %	8.71 ^c	10.48 ^d	7.40 ^{bc}	6.10 ^{ab}	4.90 ^a
4	Hemiselulosa, %	24.31 ^a	21.08 ^a	31.99 ^c	26.71 ^{abc}	29.19 ^b
5	Selulosa, %	49.61 ^b	53.06 ^d	45.61 ^a	53.54 ^d	52.14 ^c
6	Lignin, %	7.56 ^c	2.25 ^b	1.33 ^a	1.39 ^a	0.67 ^a
7	Glukosa, mg/g	6.83 ^a	14.55 ^c	12.03 ^b	18.82 ^d	14.39 ^c
8	Protein terlarut, mg/g	13.43 ^a	34.94 ^d	22.63 ^b	39.72 ^e	27.84 ^c
9	Abu, %	9.81 ^a	13.13 ^b	13.68 ^b	12.27 ^b	13.11 ^b

Keterangan : RG = rumput gajah, M1 = *P.chrysosporium*+*B.circulans*, M2 = *P.chrysosporium*+*T.riseei*+*S.cerevice*, U0 = tanpa urea dan U1 = 2 % urea.

Biodelignifikasi dengan konsorsium mikroorganisme M1 dan M2 melalui fermentasi padat selama 16 hari berpengaruh terhadap perubahan beberapa karakteristik substrat rumput gajah seperti disajikan pada Tabel 19. Penurunan kadar bahan organik seiring dengan peningkatan glukosa dan protein terlarut mengindikasikan proses biokonversi yang baik. Penambahan sumber N (2% urea) menjadi stimulan pertumbuhan mikroorganisme sehingga delignifikasi menjadi lebih cepat tetapi glukosa dan protein terlarut akan segera dimanfaatkan oleh mikroorganisme sehingga terjadi penurunan kadar glukosa dan protein terlarut di dalam substrat. Produksi glukosa lebih lanjut sangat tergantung pada

kelimpahan selulosa yang terekspos karena pengupasan lignin dan aktivitas selulase konsorsium mikroorganisme di dalam medium biodelignifikasi. Pengupasan lignin terbaik diperoleh pada perlakuan M1U1, M2U0 dan M2U1 tetapi selulosa pada perlakuan M1U1 lebih rendah dibandingkan kontrol. Dengan demikian, konsorsium mikroorganismes M2 lebih berpotensi untuk digunakan sebagai agen biodelignifikasi dibandingkan M1.

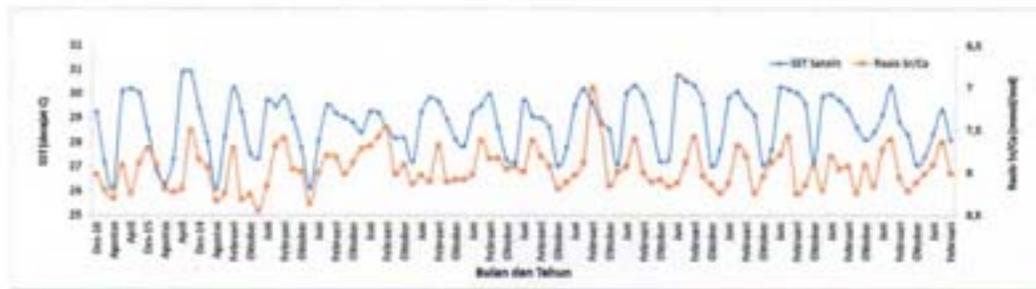
Biodelignifikasi dengan konsorsium mikroorganisme M1 (*P.chrysosporium*+*T.riseei*+ *S.cerevice*) selama 16 hari berpengaruh nyata terhadap perbaikan beberapa parameter kualitas substrat rumput gajah seperti pH, hemiselulosa, selulosa, lignin, glukosa dan protein terlarut. Bahan lignoselulosa dengan pH sekitar 7,14-7,28 atau mendekati netral, hemiselulosa sekitar 26,71-29,19%, selulosa sekitar 52,14-53,54%, lignin sekitar 0,67-1,39%, glukosa sekitar 14,39-18,82 mg/g dan protein terlarut sekitar 27,84-39,72 mg/g berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pakan ternak, bahan baku bioetanol, industri kertas dan bahan pembenah lahan. Sebagai bahan pembenah lahan merupakan sumber bahan organik tanah yang sangat baik karena rendah lignin, kaya glukosa dan protein terlarut sehingga dapat berperan penting dalam meningkatkan populasi, keragaman dan aktivitas mikroorganisme di daerah perakaran tanaman. Penyimpanan karbon di dalam tanah dan aktivitas mikroorganisme rizosfer dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sehingga akan berpengaruh positif terhadap siklus karbon di biosfer.

2. Aplikasi Teknik Nuklir untuk rekonstruksi perubahan iklim menggunakan terumbu karang *Porites spp* daerah Indonesian Through Flow (ITF) pesisir Makassar, Sulawesi Selatan.

Pada penelitian ini digunakan *Porites* dari Pulau Kapoposang dengan asumsi karena titik pengambilan sampel lebih jauh dari daratan, sehingga diharapkan karang hanya merekam suhu permukaan laut yang berkaitan dengan ITF. Hal ini sesuai dengan tujuan penelitian untuk rekonstruksi suhu permukaan laut di daerah ITF. Hasil analisis rasio Sr/Ca dan kaitannya dengan suhu permukaan laut dapat dilihat pada Gambar 29. Pola perubahan rasio Sr/Ca dengan SPL memberikan pola yang hampir sama dimana pada setiap tahun mengalami suhu tinggi dan suhu rendah yang mengikuti pola musim. Data suhu adalah berbanding terbalik dengan rasio Sr/Ca, puncak nilai maksimum dan minimum rasio Sr/Ca pada setiap tahunnya dipasangkan dengan puncak nilai minimum dan maksimum data SPL.

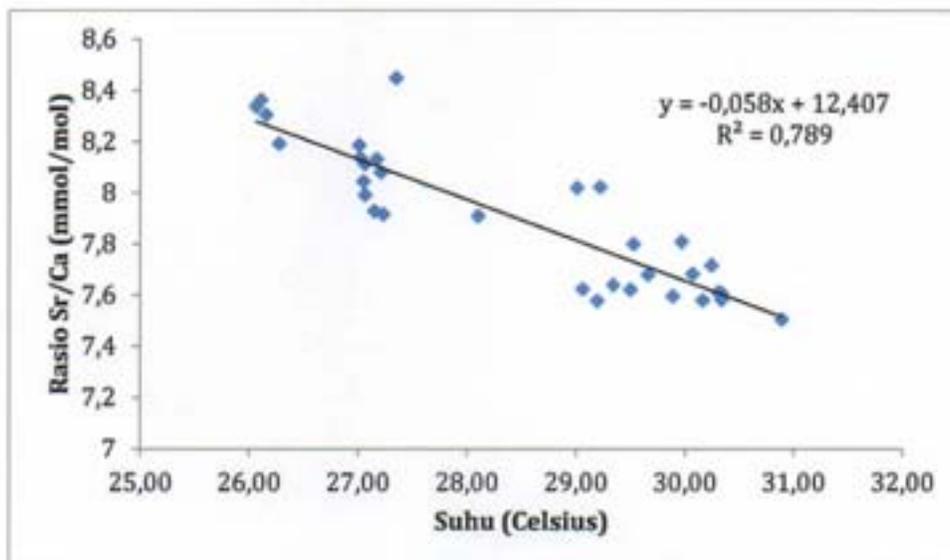
Hasil analisis diperoleh rata-rata rasio Sr/Ca karang *Porites spp.* adalah 8,16 mmol/mol, dengan nilai minimum 7,00 mmol/mol dan maksimum 8,45 mmol/mol. Hubungan antara Sr/Ca dan SPL adalah berbanding terbalik yaitu minimum Sr/Ca koresponden dengan maksimum SPL dan sebaliknya maksimum Sr/Ca koresponden dengan minimum SPL. Kalibrasi Sr/Ca karang diperlukan untuk estimasi SPL absolut di lingkungan sekitar karang. Titik maksimum dan minimum dari masing-masing Sr/Ca dan SPL digunakan untuk menentukan kurva kalibrasi dan persamaan regresinya dan banyaknya

titik yang digunakan adalah 31. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 30. Persamaan regresi antara rasio Sr/Ca terhadap SPL adalah:



Gambar 29. Rasio Sr/Ca dan suhu permukaan laut (SPL) daerah pesisir Taman Nasional Wakatobi.

Korelasi antara SPL dan rasio Sr/Ca dapat dilihat pada Gambar 30. Regresi linier antara kedua parameter tersebut adalah $\text{Sr/Ca (mmol/mol)} = -0,058\text{SPL (}^{\circ}\text{C)} + 12,407$ dengan koefisien regresi $r = 0,89$.



Gambar 30. Korelasi antara rasio Sr/Ca terhadap suhu permukaan laut (SPL).

Sr/Ca dianggap sebagai proksi yang merepresentasikan SPL dan tidak bergantung pada faktor perubahan laju pertumbuhan atau salinitas. Akan tetapi keduanya kemiringan dan intersep bervariasi bergantung pada lokasi. Beberapa studi tentang kalibrasi Sr/Ca sebagai representasi suhu untuk karang *Porites* spp. khususnya daerah tropis ditunjukkan pada Tabel 20. Salah satu penyebab dari perbedaan nilai parameter-parameter yang diperoleh adalah karena perbedaan dalam penggunaan data SPL. CORREGÉ [49] telah melakukan penelitian dengan membandingkan tiga data SPL hasil dari yaitu pengukuran langsung, pengukuran pada jarak 45 km dari lokasi sampling dan IGOSS, ketiganya memberikan persamaan regresi hasil yang berbeda. Pada Tabel 2 terlihat bahwa kemiringan dari regresi dalam penelitian ini mendekati dengan yang dilaporkan oleh GAGAN dan sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan MARSHALL dan McCULLOCH yang keduanya menggunakan data IGOSS untuk kalibrasi.

Tabel 20. Kalibrasi Sr/Ca-SPL daerah tropis menggunakan spesies *Porites* ($Sr/Ca = a + b \cdot SPL$)

Spesies	Lokasi	a	b	R ²	Range SPL (°C)	Sumber SPL	Referensi
<i>Porites lutea</i>	Jawa dan Australia	10,78	-0,066	0,8	20-30	IGOSS	Gagan et al. 1998
<i>Porites</i> sp.	Huon Peninsula	10,7	-0,062		28-30	Local SST	McCulloch et al. 1999
<i>Porites</i> sp.	Xmas Isld	10,375	-0,059	0,69	24-30,5	IGOSS	Marshall - McCulloch, 2001
<i>Porites</i> sp.	Timor, Indonesia	9,83	-0,040	0,79	28.5-30	SST SODA	Cahyarini et al. 2008
<i>Porites</i> sp.	Pulau Jukung Indonesia		-0,05	0,53 (r)	28.2-29.6	ERSST	Cahyarini dan Zinke, 2010
<i>Porites</i> sp.	Pulau kapoposang, Indonesia	12,407	-0,06	0,89	27.3-30.7	IGOSS	Studi ini

3. Pengembangan Aplikasi Perunut dan Isotop Alam untuk Membangun Sedimen Budget Daerah Aliran Sungai (DAS) Ciujung: sub-DAS Ciujung Tengah

Dari Tabel 21 terlihat bahwa pH pada tanah permukaan bervariasi dari 4,12 sampai 6,83 dan kandungan nitrogen bervariasi dari 7,82 sampai 8,10; yang kebanyakan mempunyai kandungan nitrogen lebih dari 7,90. Persen kandungan organik dalam tanah lebih bervariasi dibandingkan dengan persen kandungan nitrogennya, yaitu bervariasi dari kisaran 2,2 sampai kisaran 5,6. Adapun, kandungan debu dan liat disemua sampel sama, dan kandungan pasirnya berkisar 70 %.

Tabel 21. Data Parameter kualitas tanah daerah sub-DAS Ciujung tengah dengan core sampel tanah 20 cm.

No	Kode smp	Lokasi, desa, kecamatan	pH	%Org.	%N- Total	DEBU	LIAT	PASIR
1	KA 1	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,91	3,94	7,8	16,3	16,3	67,4
2	KA 2	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,67	3,65	7,85	14,93	14,93	70,14
3	KA 3	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,46	4,63	8,03	15	15	70
4	KA 4	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,38	4,34	7,86	15,15	15,15	69,7
5	KA 5	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,52	5,19	7,85	15,213	15,21	69,57
6	KA 6	Pasir kupa, Kalanganyar(K)	4,43	4,76	7,86	15,9	15,9	68,2
7	KK 8	Gununganten, Cimarga	4,12	4,17	7,85	13,42	13,42	73,16
8	KK 9	Gununganten, Cimarga	4,31	3,8	7,84	14,44	14,44	71,12
9	KK 10	Gununganten, Cimarga	4,24	4,72	7,82	14,28	14,28	71,44
10	KK 11	Gununganten, Cimarga	4,36	2,57	7,96	13,91	13,91	72,18
11	KK 12	Gununganten, Cimarga	4,53	2,24	7,98	14,53	14,53	70,94
12	KK 13	Gununganten, Cimarga	4,4	4,12	7,99	14,86	14,86	70,28
13	KC 14	Gununganten, Cimarga	4,25	2,58	7,96	13,33	13,33	73,33
14	KC 15	Gununganten, Cimarga	4,23	4,45	7,99	13,82	13,82	72,35
15	KC 16	Gununganten, Cimarga	4,13	4,32	7,95	14,36	14,36	71,26
16	KC 17	Gununganten, Cimarga	4,31	4,85	7,96	13,47	13,47	73,063
17	RS 2		5,23	3,35	7,96	13,87	13,87	72,26
18	KSG 1	Pabuaran, Curug (olah)	6,1	3,11	7,89	13,31	13,31	73,37
19	KSG 2	Pabuaran, Curug (olah)	6,22	5,66	7,94	12,96	12,96	74,08
20	KC 3	Pabuaran, Curug (olah)	5,97	4,53	7,95	14,13	14,13	71,74
21	KC 4	Pabuaran, Curug (olah)	6,78	2,69	7,94	14,07	14,07	71,867
22	KJ 5	Pabuaran, Curug (kebun)	6,29	3,21	7,93	13,52	13,52	72,96
23	KJ 6	Pabuaran, Curug (kebun)	5,83	3,63	7,95	13,64	13,64	72,71
24	KC 7	Pabuaran, Curug (kebun)	6,35	3,68	7,95	14,01	14,01	71,98
25	KC 8	Pabuaran, Curug (kebun)	5,77	4,75	7,93	13,7	13,7	72,6
26	KC 9	Pabuaran, Curug (kebun)	4,68	4,02	7,94	13,13	13,13	73,74
27	CBD 10	Cibadak, Cibadak (K)	5,5	3,55	7,93	14,05	14,05	71,9
28	CBD 11	Cibadak, Cibadak (K)	5,32	4,28	7,92	13,45	13,45	73,1
29	KMN	Kemuning,	5,17	3,73	7,96	13,66	13,66	72,67

	12	Tunjungteja(K)						
30	KMN 13	Kemuning, Tunjungteja(K)	5,96	3,87	7,94	14,87	14,87	70,26
31	KMN 14	Kemuning, Tunjungteja(K)	5,42	3,55	7,96	14,09	14,09	71,82
32	BRS 15	Tegal sapan, Petir (Kc)	5,16	3,63	8,01	14,28	14,28	71,44
33	BRS 16	Tegal sapan, Petir (Kc)	4,92	4,21	8,08	13,71	13,71	72,58
34	BRS 17	Tegal sapan, Petir (Kc)	5,39	3,84	8,1	14,61	14,61	70,78
35	PNG 18	Panunggalan, Petir (Kc)	5,57	4,53	7,94	13,3	13,3	73,4
36	PNG 19	Panunggalan, Petir (o)	5,74	4,4	8,07	13,8	13,8	72,4
37	PNG 20	Panunggalan, Petir (o)	5,8	4,21	7,94	13,79	13,79	72,42
38	CPJ 21	Curugpanjang, Cikultur (Kc)	5,04	5	7,94	13,86	13,86	72,28
39	CPJ 22	Curugpanjang, Cikultur (Kc)	5,58	4,72	7,96	13,71	13,71	72,58
40	CPJ 23	Curugpanjang, Cikultur (Kc)	5,78	3,96	7,96	14,26	14,26	71,48
41	CPJ 24	Curugpanjang, Cikultur (Kc)	5,68	4,02	7,94	14,05	14,05	71,9
42	CDS 25	Tapos, Cadasari (Kc)	6,12	4,87	7,95	13,26	13,26	73,48
43	CDS 26	Tapos, Cadasari (Kc)	5,53	4,43	7,96	13,86	13,86	72,28
44	CDS 27	Tapos, Cadasari (Kc)	5,85	4,29	7,96	13,98	13,98	72,04
45	CDS 28	Tapos, Cadasari (Kc)	6,67	3,99	7,98	13,96	13,96	72,08
46	CDS 29	Tapos, Cadasari (Kc)	5,98	4,29	7,98	14,06	14,06	71,88
47	CDH 30	Cidahu, Cadasari (Kc)	5,47	3,99	7,97	13,4	13,4	73,2
48	CDH 31	Cidahu, Cadasari (Kc)	6,83	4,65	7,97	13,34	13,34	73,32
49	CDH 32	Cidahu, Cadasari (Kc)	5,02	4,56	7,97	13,48	13,48	73,04
50	SBR 33	Sabrang, Petir (Kc)	4,6	4,59	7,97	13,72	13,72	72,56
51	SBR 34	Sabrang, Petir (Kc)	5,11	5	7,95	13,81	13,81	72,38
52	SBR 35	Sabrang, Petir (Kc)	5,29	3,77	7,97	14	14	72
53	PMR 36	Kolelet, Pamarayan (f)	5,99	3,77	7,97	14,02	14,02	71,96
54	PMR 37	Kolelet, Pamarayan (f)	5,69	3,84	7,97	14,3	14,3	71,4
55	TND 38	Tunjungteja, Tunjungteja (Kc)	5,98	3,71	7,97	13,86	13,86	72,28
56	TND	Tunjungteja, Tunjungteja	6,02	3,87	7,97	13,78	13,78	72,44

	39	(Kc)						
57	TND	Tunjungteja, Tunjungteja	5,37	4,34	7,97	14,23	14,23	71,54
	40	(Kc)						

Tabel 22. Hasil pengukuran Pb-210 excess dan Cs-137 pada sampel tanah permukaan

No.	KODE SAMPSEL	Cs-137 (Bq/kg)	²¹⁰ Pb excess (Bq/kg)	keterangan	POSISI		ELEVASI dpl (m)
					S	E	
1	KSG-1	0,74	0,83	olahan (10°)	06° 12' 37,8"	106° 12' 17,4"	66
2	KC-2	0,97	1,66	olahan (5°)	06° 12' 37,2"	106° 12' 17,4"	69
3	KC-3	0,10	1,30	kbn.cmpr (10°)	06° 12' 36"	106° 12' 18"	72
4	KC-4	0,87	15,64	kbn.cmpr (15°)	06° 18' 33"	106° 11' 51,6"	97
5	CBD-5	0,67	22,01	kbn.cmpr (5°-10°)	06° 19' 51"	106° 14' 52,8"	37
6	KMN-6	0,83	26,64	kbn.cmpr (15°)	06° 17' 17,4"	106° 15' 18"	40
7	BRS-7	1,09	4,80	kbn.cmpr (5°-10°)	06° 13' 03,5"	106° 11' 35,6"	78
8	PNG-8	1,17	7,99	olahan (5° - 15°)	06° 13' 30,1"	106° 09' 34,2"	107
9	CPJ-9	0,64	13,32	kbn.cmpr (30°)	06° 23' 01,4"	106° 08' 59,6"	73
10	CDS-10	1,58	26,46	kbn.cmpr (10-20°)	06° 15' 31,5"	106° 07' 05,3"	279
11	CDH-11	1,38	21,36	kbn.cmpr (40°)	06° 15' 53,7"	106° 05' 31,2"	569
12	SBR-12	1,36	9,63	kbn.cmpr (10°)	06° 18' 46,4"	106° 11' 36,6"	112
13	PMR-13	0,00	10,81	lhn kosong (5°)	06° 16' 28,2"	106° 16' 18,1"	36
14	TND-14	1,04	10,97	kbn.cmpr (10°)	06° 16' 21"	106° 13' 30"	62

Dari Tabel 22 dapat terlihat bahwa pada kandungan Cs-137 tanah permukaan bervariasi dari aktivitas Cs-137 yang tidak dapat terdeteksi sampai kisaran nilai yang cukup tinggi yaitu 1,5 Bq/kg. Dengan nilai aktivitas Cs-137 terdeteksi bervariasi dari 0,1 Bq/kg sampai 1,58 Bq/kg. Kandungan Pb-210 excess bervariasi dari nilai yang cukup kecil yaitu 0,83 s/d 26,6 Bq/kg. Dari Tabel 2 dapat juga diduga tidak adanya hubungan yang erat antara aktivitas Cs-137 yang rendah diikuti oleh aktivitas Pb-210 excess yang rendah dan sebaliknya. Koefisien determinasi antara Cs-137 terhadap Pb-210 excess berkisar 0,14 yang mempunyai arti hubungan korelasi diantara keduanya tidak signifikan.

Tabel 23. Hasil pengukuran Pb-210 excess dan Cs-137 pada tanah kedalaman 20 cm

No.	KODE	^{210}Pb excess (Bq/kg)	^{137}Cs (Bq/kg)	$^{210}\text{Pb}_{\text{ex}}$ (Bq/m ²)	^{137}Cs (Bq/m ²)	Keterangan	ELEVASI dpl (m)
1	KSG 1	67,27	0,89	13830	183,81	olahan (10°)	66
2	KSG 2	79,67	0,42	13373	71,13		
3	KC 3	12,72	0,95	2941	220,09	olahan (5°)	69
4	KC 4	77,49	0,83	15510	166,16		
5	KJ 5	52,38	0,25	10783	50,48	kbn.cmpr (10°)	72
6	KJ 6	90,33	0,74	18339	150,24		
7	KC 7	69,77	1,02	15402	225,41	kbn.cmpr (15°)	97
8	KC 8	57,30	0,64	10672	119,03		98
9	KC 9	50,39	0,94	10471	194,59		99
10	CBD 10	53,64	1,00	9714	181,05	kbn.cmpr (5°- 10°)	37
11	CBD 11	69,49	0,57	13852	113,94		38
12	KMN 12	49,74	0,92	11733	217,35	kbn.cmpr (15°)	40
13	KMN 13	19,70	0,34	4739	82,50		41
14	KMN 14	4,91	ttd	1196	-		42
15	BRS 15	0,87	1,07	208	256,78	Kbn. Campuran slope (5 - 10) °	78
16	BRS 16	0,31	1,09	68	238,51		77
17	BRS 17	3,89	0,56	1002	144,75		76
18	PNG 18	6,13	1,25	1035	210,51	kbn,Campuran	107
19	PNG 19	11,35	1,07	1900	179,31	slope (5 - 15) °	106
20	PNG 20	1,26	0,81	221	141,51		105
21	CPJ 21	20,53	0,83	3466	139,71	kbn. Campuran	73
22	CPJ 22	8,54	0,70	1775	145,80	slope 30 °	70

Hasil pengukuran aktivitas Pb-210 excess dan Cs-137 dalam transek dengan kedalaman sampel tanah 20 cm , didapatkan hasil yang sangat variasi. Nilai inventori Pb-210 excess sangat bervariasi dari lokasi lahan kebun yang satu dengan yang lain, yaitu dari kisaran 70 Bq/m² sampai 18000 Bq/m². Nilai inventori Cs-137 bervariasi pada kisaran 50 Bq/m² sampai 250 Bq/m² kecuali ada satu sampel yang tidak terdeteksi.

Dengan menggunakan nilai inventori Cs-137 pembanding dari daerah DAS Cisadane yaitu 197 Bq/m², dapat diberikan gambaran kualitatif pada lokasi di sub-DAS Ciujung Tengah ini juga telah mengalami erosi sebagaimana telah terjadi pada sub-DAS Ciujung Hulu dan sub-DAS Ciberang. Dibandingkan dengan hasil yang diperoleh pada sub-DAS Ciberang dan sub-DAS Ciujung Hulu, inventori Pb-210 excess di sub-DAS Ciujung Tengah relatif lebih tinggi, khususnya pada lahan olah maupun kebun campuran yang ada di sekitar sepadan sungai utama. Hal ini menunjukkan adanya pengendapan secara selektif pada partikel halus pada akhir-akhir ini dan kejadian erosi di lokasi yang sama beberapa tahun sebelumnya. Kemungkinan lain untuk kebun campuran atau tanah olah yang jauh dari garis sepadan/daratan banjir sungai Ciujung, disebabkan profil kedalaman radionuklida Pb-210 excess dan Cs-137 sangat berbeda, khususnya puncak aktivitas Cs-137 yang boleh jadi lebih dalam dibandingkan dengan daerah DAS Cisadane, misalnya. Selain karena profil tersebut, daerah sub-DAS Ciujung Tengah mulai diolah ataupun ditanam secara tumpangsari dalam kurun waktu 20 tahun terakhir. Yang bisa digambarkan lebih lanjut, bahwa pada tanah yang tadinya tidak diolah karena penebangan liar dapat menjadikannya tanah terbuka dan terjadi erosi. Dan beberapa tahun kemudian baru diolah, karena lokasi profil kedalaman aktivitas Cs-137 umumnya beberapa cm dari muka tanah, apalagi dari tekstur tanah yang ada yang didominasi dengan pasir (lebih 70 %), proses erosi yang ada belum mengurangi inventori Cs-137. Lain halnya, apabila di atas tanah asli (belum diolah) pohon ditebang dan kemudian langsung diolah, akan memberikan hubungan yang signifikan antara inventori Cs-137 dan Pb-210 excess.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat *Trichoderma reesei* dan *Trichoderma harzianum* iradiasi pada dosis 500 dan 750 Gy memiliki perbedaan karakteristik morfologis dibandingkan dengan isolat Kontrol (0 Gy). Sedangkan pada isolat *Phanerochete chrysosporium* tidak menunjukkan perbedaan karakteristik morfologis. Dosis iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap viabilitas ketiga isolat *T. reesei*, *T. harzianum*, dan *P. chrysosporium* dengan nilai D₅₀ masing-masing pada dosis iradiasi 500, 750 dan 1000 Gy. Dari hasil analisis molekuler DNA menggunakan marka RAPD-PCR, maka mutasi radiasi dari isolat kapang *Trichoderma reesei* dan *Trichoderma harzianum* B terjadi mulai dari dosis iradiasi 250 – 1000 Gy. Sedangkan isolat *Phanerochete chrysosporium* pada dosis 500- 2000 Gy.
2. Kondisi optimal untuk degradasi benzena dan toluena oleh *P. chrysosporium* berada pada pH 7 dengan konsentrasi nutrisi sebesar 25%. Kondisi optimal untuk degradasi benzena dan toluena oleh *A.niger* berada pada pH 6 dengan konsentrasi nutrisi sebesar 75%. Berdasarkan pertumbuhan dan hasil optimasi pH maupun nutrisi, fungi *A.niger* cenderung lebih baik dalam mendegradasi polutan dibandingkan *P. chrysosporium* dengan persentase degradasi sebesar 64,8% benzena dan 70,9% toluena. Enzim LiP tidak dihasilkan fungi dalam

kondisi tercekam benzena dan toluena, namun enzim LiP dalam kondisi tanpa cekaman diperoleh fungi *P. chrysosporium* sebesar 0,275 U/ml, sedangkan fungi *A.niger* sebesar 0,528 U/ml.

3. Perlakuan sinar gamma pada dosis tertentu berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas spesifik kapang *T.harzianum*, *T.viridie* dan *P.chrysosporium*. Kapang *T.harzianum* yang dipapari sinar gamma 750 Gray memiliki aktivitas kitinase dan selulase spesifik sekitar 1,06 U/mg dan 74,60 U/mg sedangkan kontrol (*wild-types*) sekitar 0,29 U/mg dan 47,11 U/mg. Kapang *T.riseei* yang dipapari sinar gamma 500 Gray memiliki aktivitas selulase spesifik sekitar 44,00 U/mg dan kontrol (*wild-types*) sekitar 50,94 U/mg. Peningkatan kemampuan kapang *T.harzianum* 750 Gray dan *T.riseei* 500 Gray juga terindikasi dari penghambatan pertumbuhan pathogen *Fussarium* sp. dari 37,23-37,50% menjadi 45,23-56,82%. Kapang *T.harzianum* dan *T.viridie* dijadikan formulasi dasar pada pembuatan agen remediasi lahan bermasalah fitopatogen terutama *Fussarium* sp. Agen hayati ini dikaji-terapkan di 10 lokasi perkebunan lada di Kabupaten Bangka, Bangka Tengah dan Bangka Selatan. Hasil evaluasi pada 21 dan 90 hari setelah aplikasi agen hayati ini diperoleh perbaikan kesehatan akar tanaman lada dan pemulihan tunas serta penurunan kejadian penyakit busuk pangkal batang sampai 95%.
4. Perlakuan sinar gamma juga berpengaruh terhadap aktivitas lignin peroksidase (LiP) spesifik kapang *P.chrysosporium*. Kapang *P.chrysosporium* 1000 Gray memiliki aktivitas LiP spesifik sekitar 1209 U/mg sedangkan control (*wild-types*) sekitar 625 U/mg. Dengan demikian, kapang *P.chrysosporium* 1000 Gray berpotensi untuk digunakan sebagai agen biodelignifikasi substrat residu tanaman. Formulasi konsorsium mikroorganisme agen biodelignifikasi dimaksudkan untuk memperoleh substrat sumber bahan organik tanah yang mengandung lignin rendah tetapi glukosa dan protein terlarut tinggi. Formulasi agen biodelignifikasi dengan konsorsium mikroorganisme *P.chrysosporium*+*T.riseei*+*S.cerevice* dapat meningkatkan beberapa parameter kualitas substrat rumput gajah. Penggunaan konsorsium mikroorganisme tersebut pada biodelignifikasi melalui fermentasi padat selama 16 hari mampu menurunkan kadar lignin sekitar 81,63-91,21% dari 7,56% menjadi 0,67-1,39%. Perlakuan biodelignifikasi tersebut juga dapat meningkatkan kadar glukosa sekitar 2,75 kali dari 6,83 mg/g menjadi 18,82 mg/g dan kadar protein terlarut sekitar 2,96 kali dari 13,43 mg/g menjadi 39,72 mg/g. Pemanfaatan substrat hasil biodelignifikasi ini diharapkan dapat meningkatkan keragaman dan aktivitas mikroorganisme di daerah perakaran tanaman (rizosfer).
5. Fluktuasi rasio Sr/Ca dan suhu permukaan laut (SPL) memberikan pola yang hampir sama antara kedua nya, dimana rasio Sr/Ca maksimum identik dengan SPL minimum. Bahwa rasio Sr/Ca berbanding terbalik dengan SPL. Korelasi suhu permukaan laut dengan rasio Sr/Ca dari lokasi penelitian di Pulau Kapoposang, Makassar, Sulawesi Selatan diperoleh $Sr/Ca (mmol/mol) = -0,058 * SPL (^{\circ}C) + 12,407$ dengan koefisien regresi $r = 0,89$. Hasil analisis rasio

Sr/Ca tersebut berada pada range hasil penelitian dari berbagai lokasi di daerah tropis.

6. Aktivitas Pb-210 excess pada tanah permukaan dan tanah coring transek bervariasi dari 0,83 Bq/kg sampai 26,6 Bq/kg dan dari 0,34 Bq/kg sampai 90 Bq/kg; untuk Cs-137 bervariasi dari tidak terdeteksi sampai 1,58 Bq/kg dan dari tak terdeteksi sampai 1,25 Bq/kg. Tidak ada korelasi antara Pb-210 dengan Cs-137 yang ditunjukkan dengan koefisien determinasi yang cukup kecil ($r^2=0,14$). Dengan menggunakan nilai inventori Cs-137 pembanding dari daerah DAS Cisadane yaitu 197 Bq/m², dapat diberikan gambaran kualitatif pada lokasi di sub-DAS Ciujung Tengah ini mengalami erosi yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan sub-DAS lain di DAS Ciujung.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo-State Mam, Al Hammad, M Swelim, and R.B. Gannam. Enhanced Production of Cellulase(S) By *Aspergillus* spp. Isolated From Agriculture Wastes by Solid State Fermentation. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 8(4): 402-410. (2010).
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ASTDR]. 2007. Toxicological Profile For Benzene. www.astdr.cdc.gov. (diakses 22 November 2016).
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ASTDR]. 2015. Toxicological Profile For Toluene. www.astdr.cdc.gov. (diakses 22 November 2016).
- Arman, A., Pratikno, B., dan Sugiharto, U., 2014 "Geokronologi Polutan Logam Berat dengan Teknik Nuklir terhadap Sedimen di Daerah Pesisir Suralaya, Provinsi Banten", Telah diterima untuk terbit di *Jurnal Segara*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Suberdaya Laut dan Pesisir, BALITBANG Kelautan dan Perikanan, KKP.
- Arman, A., Zamani N.P, dan Watanabe, T., 2013 "Studi Penentuan Umur dan Laju Pertumbuhan Terumbu Karang terkait dengan Perubahan Iklim Ekstrim Menggunakan Sinar-X", *Jurnal Ilmiah Isotop dan Radiasi*, Vol 9, No.1, Juni 2013.
- Atienzar FA, Venier. P, Jha A.N, and Depledge. MH,. Evaluation of the RAPD assay for detection of DNA damage and mutations. *Mut Res.*521:151-163 (2002).
- Barokah A, dkk," Pengembangan dan Aplikasi Isotop Alam untuk Penentuan laju erosi pada skala catchment", laporan teknis, PATIR-BATAN, 2010.
- Barokah A. Dkk, " Pengembangan perunut dan Isotop alam dalam studi Model Sedimen budget daerah tangkapan air", Laporan teknis, PAIR-BATAN, 2014.
- Barokah A. Dkk, " Pengembangan perunut dan Isotop alam dalam studi Model Sedimen budget daerah tangkapan air", Laporan teknis, PAIR-BATAN, 2015.
- Barokah A. Dkk, " Pengembangan perunut dan Isotop alam dalam studi Model Sedimen budget daerah tangkapan air", Laporan teknis, PAIR-BATAN, 2016.

- Boldsystem. 2014. *Aspergillus niger*. www.boldsystems.org. (diakses 23 November 2016).
- Boldsystem. 2015. *Phanerochaete chrysosporium*. www.boldsystems.org. (diakses 23 November 2016).
- Cahyarini S.Y., M.Pfeiffer, dan W-Chr.Dullo, 2009. *Calibration of the Multicores Sr/Ca records-Sea Surface Temperature: Records from Tahiti Corals (French Polynesia)*, *International Journal of Earth Sciences*, 98: 31-40
- Charles, C.D., Hunter D. E., Fairbanks R. G., 1997, " *Interaction Between the ENSO and the Asian Monsoon in a Coral Record of Tropical Climate*" www.sciencemag.org, SCIENCE, VOL. 277.
- Chikere CB, Azubuike CC. 2014. Characterization of hydrocarbon utilizing fungi from hydrocarbon polluted sediments and water. *Nig J. Biotech*. Vol. 27 : 49-54.
- Clark, R.B., 1986. *Marine Pollution*. Claredon Press, Oxford.
- Das N, Chandran P. 2011. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. *Biotech. Res. Int* : 1-13.
- Dipanwita, Das, A. Chakraborty, S. Bhar, M. Sudharsan, and S.C.Santra. Gamma Irradiation in modulating cadmium bioremediation potential of *Aspergillus* sp. *Journal of Environmental Science, toxicology and Food Technology*. Vol.3, Issue 6: 51-55 (2013).
- Fraser SJ. 2005. Intraspecific comparison of *Phanerochaete chrysosporium* strains: peroxidase production, pollutant degradation and mycelial differentiation [Thesis]. Faculty of Science, Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology Rhodes University.
- George-Okafor U, Tasié F, Muotoe-Okafor F. 2009. Hydrocarbon Degradation Potentials of Indigenous Fungal Isolates from Petroleum Contaminated Soils. *J. Phy. & Nat. Sci*. 3(1): 1-6.
- Global Biodiversity Information Facility [GBIF]. 2016. *Aspergillus niger* Tiegh. www.gbif.org. (diakses 23 November 2016).
- Hazardous Substances Data Bank [HSDB]. 2016. Benzene. (diakses 23 November 2016).
- Helmle KP, Kohler KE, and Dodge RE. 2002. *Relative optical densitometry and the Coral X-radiograph densitometry system: Coral XDS*. Presented Poster, Int Soc Reef Studies European Meeting, Cambridge, England, Sept. 4-7, 2002.
- International Atomic Energy Agency (IAEA), 2008, on *Co-ordinated Research Programme on Nuclear and Isotopic Studies of the El Niño Phenomenon in the Ocean*. IAEA-CRP project, Marine Environmental Laboratory, Monaco.
- Iti-Gontia-Mishra, Niraj Tripathy , and Sharad Tiwari. A simple and rapid DNA extraction protocol for filamentous fungi efficient for molecular studies . *Indian Journal of Biotechnology* Vol 13 (2014) 536-539.
- Jn-Gyung & Chang-Ho P. 2004. Characteristics of *Rhodococcus pyridinovorans* PYJ-1 for the biodegradation of benzene, toluene, m-xylene (BTEX), and their mixtures. *J. Biosci. Bioeng*. 97: 429.

- Jové P, Olivella MA, Camarero S, Caixach J, Planas C, Cano L, & Francesc X de las Hera. 2016. Fungal biodegradation of anthracene-polluted cork: A comparative study. *Journal of Environmental Science and Health* 51 (1): 70-77.
- K. Yua, J. Zhao, G. Wei, X. Cheng, T. Chen, T. Felise, P. Wang, T. Liu, $\delta^{18}O$, Sr/Ca and Mg/Ca records of *Porites lutea* corals from Leizhou Peninsula, northern South China Sea, and their applicability as paleoclimatic indicators. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 218 (2005) :57-73.
- Khaled A., A. El Nemr A. and El Sikaily A., 2003, *Contamination of Coral Reef by Heavy Metals Along the Egyptian Red Sea Coast*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71:577–584.
- Lough JM, Barnes DJ. 2000. *Environmental controls on growth of the massive coral Porites*. *J, Exp. Mar. Biol, Ecol.* 245:225-243.
- Lough, J.M, and D.J. Barnes. 1992. *Comparisons of Skeletal Density Variations in Porites from the Central Great Barrier Reef*. *J, Exp. Mar. Biol, Ecol.* 155:1-25.
- Lough, J.M, and D.J. Barnes. 1997. *Several centuries of variation in skeletal extension, density and calcification in massive Porites colonies from the Great Barrier Reef: A proxy for seawater temperature and a background of variability against which to identify unnatural change*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 211:29–67.
- M. Siddique. Awwan, Nabila Tabassam, N. Ayub. Gamma radiation induced mutagenesis in *Aspergillus niger* to enhance its microbial fermentation activity for industrial enzyme production. *Molecular Biology Reports*. Vol. 38: 1367-1374 (2011).
- MK. Gagan, EJ. Hendya, SG. Haberleb, WS. Hantoro. *Post-glacial evolution of the Indo-Pacific Warm Pool and El-nino Southern oscillation*. *Quaternary International*. 118 (2004):127–143.
- Muhammad, A.Z, Samreen, R, and Threema, I. Effect of gamma Irradiation on *Aspergillus niger* enhanced production of glucose oxidase. *Pak.J. Bio.* 44 (5): 1575-1580. (2012).
- Mukhtasor., 2007. *Pencemaran pesisir dan laut*. PT Pradnya Paramita. Jakarta
- Mycobank. 2016. *Phanerochaete chrysosporium*. www.mycobank.org. (diakses 23 November 2016).
- NOAA. 2011. *What Are Proxy Data*. <http://www.ncdc.noaa.gov>. *National Centers for Environmental Information : National Oceanic and Atmospheric Administration*.
- Patzold, J., Felis, T. 2004. *Climate Reconstructions from Annually Banded Corals*. Terrapub. *Global Environmental Change in the Ocean and on Land*. Pp, 205-227
- Prenafeta-Boldú FX, Vervoort J, Grotenhuis JTC, Groenestijn JW. 2002. Substrate Interactions during the Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by the Fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1. *Applied And Environmental Microbiology* 68 (6) : 2660-2665.

- Rafiq, M. et al., "Assessment of soil losses from managed and unmanaged sites in a subcatchment of Rawal Dam, Pakistan using fallout radionuclides", In: Impact of soil conservation measures on erosion control and soil quality. IAEA-TECDOC-1665. pp. 73-85, (2011)
- Ramos AA., Inoue Y, and Ohde S., 2004, *Metal contents in Porites corals: Anthropogenic input of river run-off into a coral reef from an urbanized area, Okinawa*. Marine Pollution Bulletin 48, 281-294.
- Reichert-Brushett A.J. and McOrist G, 2003, *Trace metals in the living and nonliving components of scleractinian corals*. Marine Pollution Bulletin 46, 1573-1582.
- Rencana Tindak DAS Ciujung, laporan Utama 1 BP DAS Ciliwung-Citarum, 2010.
- Sanusi, H. 2006. Kimia laut proses fisik kimia dan interaksinya dengan lingkungan. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan. FPIK, IPB. Bogor
- Suparjo. Degradasi komponen lignoselulosa oleh kapang pelapuk. <http://jajo66.files.wordpress.com/2008/10/degradasi-lignoselulosa.pdf> [14November2008].
- T. Naseripour, S. Nasrollah Nejad, S. Shahbazi, and Kamaran Rahnama. Using gamma-ray to increased exoglucanase activity in Trichoderma and improvement of Sclerotinia rot of canol biocontrol. Biological Forum – An International Journal (Special Issue 2015) 7(2): 57-60 (2015).
- Tahia. B, Ana.M.Rincon, M. Carmen Limon, and Antonio. C. Biocontrol mechanisms of Trichoderma Strains. International Microbiology 7:249-26. (2004).
- Tingey, s.v., rafalsky, j.a., williams, s.j.k., . Genetic analysis with RAPD markers. In: Proceedings of the Symposium Application of RAPD Technology to Plant Breeding. Crop Science Society of America, Minneapolis, MN, pp. 3-8 (1992).
- Towner. KJ and Cockayne. A. Molecular Methods for Microbial Identification and Typing. Chapman & Hall. London (1995).
- Tun K, Ming CL, Yeemin T, Phongsuwan N, Amri AY, Ho N, Kim Sour, Long NV, Nanola C, Lane D, et al. 2008. *Status of Coral Reefs in South-East Asia*. Di dalam: Wilkinson C, editor. *Status of Coral Reefs of the World 2008* [Internet]. Townsville, Australia (AU): GCRMN Report. hlm 131-144
- Watanabe T, Gagan MK, Corrège T, Scott-Gagan H, Cowley J, Hantoro WS. 2003. *Oxygen isotope systematics in Diploastrea heliopora: New coral archive of tropical paleoclimate*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 67(7):1349-1358.
- Werner M. V Æ M., 2005, "Stable isotopes in precipitation recording South American summer monsoon and ENSO variability: observations and model results", *Climate Dynamics* 25: 401-413.
- Wuryanti. 2008. Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *J Bioma* 10 (2) : 46-50