

UJI TOKSISITAS DUA JENIS SURFAKTAN DAN DETERJEN KOMERSIAL MENGGUNAKAN METODE PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *LEMNA SP.*

Budhi Priyanto

Peneliti di Balai Teknologi Lingkungan
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Abstract

In this experiment, Lemna sp. was exposed to surfactants LAS and ABS and a commercial detergent following method described by OECD. In the test, 10 fronds of Lemna sp. were grown in a modified MS medium containing the surfactants and detergent in the concentration of 0 ppm to 79 ppm and incubated for 7 days under continuous fluorescence lamps. The EC50 values of the detergent and surfactants vary depending on the compounds and the testing parameter. For LAS and ABS, the value of EC50 from number of fronds is higher than EC50 from the total chlorophyll content, i.e. 14.83 and 14.36 mg/l for LAS and 11.75 and 7.56 mg/l for ABS, respectively. However, the total chlorophyll content is not sensitive for commercial detergent "A" and results in a higher EC50 value of 31.53 mg/l. LOEC values for LAS and ABS is 5 mg/l respectively, and is 25 mg/l for detergent "A".

Kata kunci: *Lemna*, detergent, surfactants, EC50

1. PENDAHULUAN

Surfaktan dan produk deterjen sudah tidak dapat dilepaskan dari kehidupan modern. Dari banyak jenis surfaktan yang diproduksi di dunia, LAS dan ABS merupakan dua jenis surfaktan yang paling sering dijumpai dalam produk deterjen komersial. Sebagai tambahan dari kedua surfaktan itu, deterjen komersial mengandung berbagai bahan tambahan, seperti pengharum, pemutih, enzim, zeolit, fosfat, EDTA, preservatif seperti *Triclosan*, dan asam atau basa¹⁾.

Produk deterjen dihasilkan dan digunakan dalam jumlah besar dan hampir seluruhnya masuk ke dalam arus

air limbah. Keberadaan surfaktan dan bahan lain dalam perairan umum menimbulkan masalah toksisitas terhadap biota. Masalah ini timbul dari dampak langsung surfaktan terhadap biota serta dari bahaya yang ditimbulkan oleh metabolit hasil degradasi senyawa dalam deterjen. Madsen¹⁾ telah menghimpun hasil uji toksisitas berbagai jenis surfaktan. Dalam publikasi itu dicantumkan nilai EC/LC50 dengan biota uji algae, krustasea dan ikan, namun makrofita tidak dicantumkan.

*Lemna sp.*²⁾ merupakan salah satu makrofita yang digunakan dalam uji toksisitas; misalnya untuk PAH^{3,4,5)}, herbisida⁶⁾, antimikroba *Triclosan*⁷⁾,

senyawa farmasi, termasuk antibiotika^{8,9)}, dan pestisida¹⁰⁾.

Karena tidak banyak bahasan mengenai uji toksisitas deterjen terhadap *Lemna* sp., hasil uji yang disampaikan dalam makalah ini diharapkan dapat menyumbangkan data yang bermanfaat bagi pengkajian hasil uji toksisitas dalam monitoring lingkungan di Indonesia.

2. METODOLOGI

2.1. Biakan *Lemna* sp.

Induk biakan *Lemna* sp. isolasi dan dipelihara dalam medium cair MSmod (unsur makro dan mikro dari resep Murashige dan Skoog¹¹⁾, kecuali besi diberikan sebanyak 42 mg/l NaFeEDTA) selama paling sedikit 2 minggu menjelang digunakan untuk uji. Biakan *Lemna* sp. diperbaharui setiap 2 minggu atau setelah seluruh permukaan botol kultur dipenuhi oleh fron (antara 150 hingga 300 fron).

2.2. Sistem uji dan analisis

Deterjen ditambahkan sebagai larutan steril (penyaringan lewat membran 0,2 μ m) ke medium cair MSmod (pH 5,6) yang disterilkan dengan otoklaf. Campuran dibagikan sebanyak 25 ml ke dalam botol kultur 200 ml yang diberi tutup plastik transparan. Ke dalam botol ditanam 10 fron dari biakan *Lemna* sp. umur dua minggu. Biakan kemudian diinkubasi dalam rak kultur yang diberi penerangan lampu fluoresen tipe cool daylight yang datang dari samping dengan kuat pencahayaan sebesar $\pm$ 7.000 lux secara terus menerus selama 24 jam sehari. Biakan dipelihara selama 7 hari dan pada hari ke-1, ke-3, ke-5, dan ke-7 dilakukan penghitungan jumlah fron. Pengamatan kualitas fron dilakukan setiap hari.

Pada hari ke-7, keenam botol pada setiap perlakuan dibagi dua kelompok, yaitu 3 botol untuk penetapan berat basah dan 3 botol untuk penetapan kandungan klorofil. Untuk penetapan

kandungan klorofil a dan klorofil b, fron dari tiap botol dipanen dan dipindahkan langsung ke dalam mortar. Setelah ekstraksi dengan 2 ml aseton 80%, volume ekstrak dijadikan 10 ml dengan H₂O. Kandungan klorofil a dan klorofil b dihitung dengan pendekatan yang dijelaskan dalam Gros¹²⁾.

Nilai laju pertumbuhan dan waktu mengganda biakan *Lemna* sp. ditetapkan dengan cara yang diterangkan dalam OECD²⁾. Data kemudian diplot dan regresi dihitung dengan cara yang diterangkan dalam Steel dan Torrie¹³⁾. Nilai EC₅₀, LOEC dan NOEC ditetapkan menurut cara OECD²⁾.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

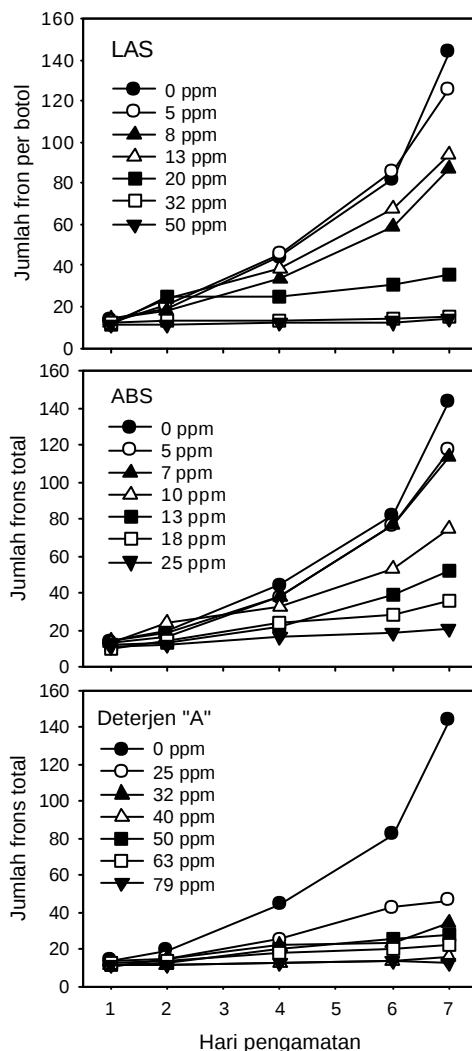
LAS merupakan surfaktan anionik yang sekarang banyak dipakai sebagai bahan aktif dalam deterjen bubuk komersial yang diperdagangkan di Indonesia. Sedangkan ABS banyak dipakai sebagai bahan aktif dalam sabun pasta (sabun colek). Deterjen "A" dalam komposisinya menyebutkan 29% LAS dan bahan lain seperti pemutih, zeolit, dan enzim. Dampak toksik dari surfaktan dan deterjen tersebut terhadap *Lemna* sp. dapat dilihat dalam Gambar 1. Tampak, bahwa pada kontrol pertumbuhan *Lemna* sp. segera berada dalam fase eksponensial. Penghambatan tumbuh jelas terlihat pada biakan yang dihadapkan pada surfaktan dan deterjen. Terlihat, bahwa toksisitas deterjen "A" lebih besar daripada LAS maupun ABS. Pada kadar uji sebesar 25 ppm (setara dengan sekitar 8 ppm LAS), deterjen "A" menimbulkan hambatan pertumbuhan sebesar 2 kali LAS pada kadar 10 ppm. Dibandingkan dengan LAS, ABS mempunyai dampak toksisitas yang lebih besar.

Biakan kontrol menunjukkan laju pertumbuhan sebesar 0,36 atau waktu ganda sebesar 1,94 hari (Tabel 1). Prosedur standar OECD²⁾ menyatakan bahwa waktu ganda biakan *Lemna* sp. pada keadaan tanpa kontaminan harus

kurang dari 2,5 atau mencapai populasi 8 kali lipat awal dalam 7 hari. Dalam Tabel 1 tampak, bahwa biakan *Lemna* sp. yang dipakai dalam percobaan ini memenuhi kriteria tersebut. Perlu dikemukakan, bahwa biakan *Lemna* sp. yang dipakai dalam percobaan ini merupakan biakan aseptik yang telah dipelihara secara terus menerus dalam medium buatan selama lebih dari 3 tahun. Dan dalam 6 minggu terakhir sebelum percobaan dimulai, biakan diremajakan setiap 2 minggu. Dengan demikian biakan yang dipakai dalam percobaan akan cepat beradaptasi dengan medium baru.

Gambar 1. Pertumbuhan *Lemna* sp. dalam kultur yang dihadapkan pada ABS, LAS dan deterjen komersial selama 7 hari.

Laju pertumbuhan biakan pada perlakuan LAS dan ABS terlihat sangat baik hingga konsentrasi surfaktan masing-masing 13 ppm dan 10 ppm. Tetapi pada konsentrasi surfaktan 13 ppm atau lebih, pertumbuhan tertekan dan lambat. Pada konsentrasi deterjen "A" sebesar 25 ppm, yang setara dengan 7,25 ppm LAS, laju pertumbuhan sangat lambat dengan waktu ganda sebesar 3,16 hari.



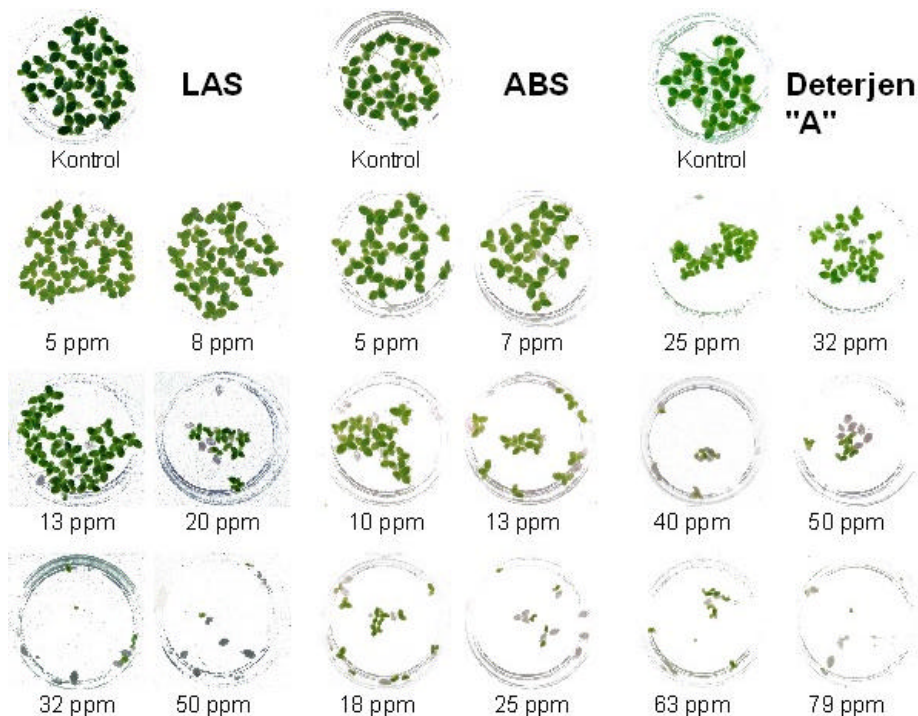
Tabel 1. Laju pertumbuhan dan waktu ganda biakan *Lemna* sp. pada berbagai konsentrasi surfaktan dan deterjen

Konsentrasi	Laju pertumbuhan ?	Waktu ganda, Td (hari)
LAS		
0	0,36	1,94
5	0,36	1,92
8	0,31	2,25
13	0,32	2,17
20	0,18	3,82
32	0,05	12,67
50	0,05	13,48
ABS		
0	0,36	1,94
5	0,35	1,97
7	0,35	2,00
10	0,29	2,42
13	0,24	2,94
18	0,18	3,82
25	0,10	6,84
Deterjen "A"		
0	0,36	1,94
25	0,22	3,16
32	0,17	3,96
40	0,06	11,35
50	0,15	4,77
63	0,11	6,28
79	0,03	23,14

Pola pertumbuhan (Gambar 1) dan bertambahnya waktu ganda (Tabel 1) menunjukkan terjadinya hambatan pertumbuhan sebagai akibat paparan terhadap surfaktan dan deterjen. Tampak, bahwa penghambatan pertumbuhan akan semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan dan deterjen dalam medium pertumbuhan. Gejala yang tampak pada frond terkait dengan terhambatnya pertumbuhan adalah nekrosis dan atau frond mengecil serta hilangnya klorofil (klorosis) (Gambar 2.). Gejala ini sudah terlihat pada konsentrasi surfaktan dan deterjen sebesar lebih dari 10 ppm. Kerusakan tampak semakin parah sejalan dengan makin tingginya konsentrasi surfaktan. Pada konsentrasi di atas 25 ppm, biakan praktis tidak tumbuh dan atau laju kematian frond bertambah besar.

Deterjen "A" mengandung 29% LAS sehingga kandungan LAS dalam 40 ppm deterjen "A" praktis setara dengan 12 ppm LAS. Pada Gambar 2 terlihat, bahwa pada konsentrasi bahan aktif surfaktan yang setara, toksisitas surfaktan terhadap pertumbuhan *Lemna* sp. berturut-turut adalah LAS, ABS, dan deterjen "A", dengan LAS paling kurang toksik. Dengan demikian kandungan bahan lain dalam deterjen "A", terutama pemutih, akan memberikan dampak yang lebih merusak terhadap makrofita¹⁾.

Untuk menetapkan nilai EC50, data jumlah frond dan kandungan klorofil masing-masing diplotkan lawan konsentrasi surfaktan dan deterjen. OECD²⁾ menyatakan, bahwa kurva respon pertumbuhan dapat bersifat kurva logistik, model kumulatif normal, atau



Gambar 2. Dampak surfaktan ABS dan LAS pada pertumbuhan frond *Lemna* sp. yang ditumbuhkan pada medium Msmod.

interpolasi linear dengan *bootstrapping*. Pada Gambar 3, 4, dan 5 terlihat bahwa kurva respon pertumbuhan dan kandungan klorofil terhadap konsentrasi surfaktan dan deterjen menunjukkan sifat logaritmik. Dari beberapa kemungkinan model kurva, model persamaan kurva $\log Y = a + bX$ merupakan model yang paling mendekati sebaran datanya.

Dengan menggunakan solusi persamaan regresi seperti yang diterangkan dalam Steel dan Torrie¹³⁾, nilai intersep a, kemiringan b, dan koefisien korelasi r telah dihitung dan hasilnya disajikan dalam Tabel 2.

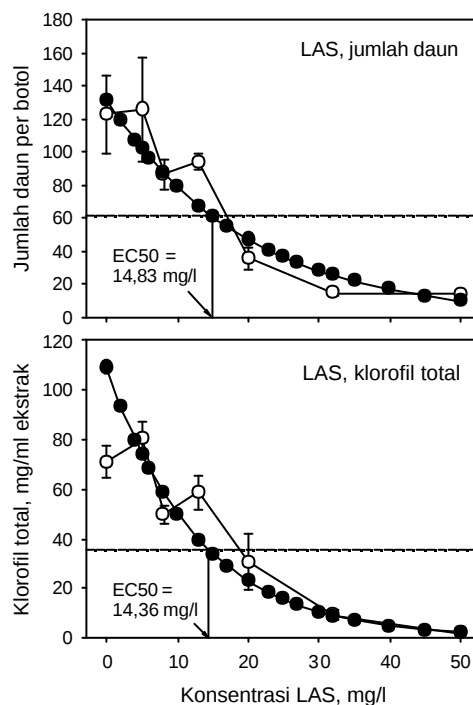
Tabel 2. Parameter regresi pada kurva respon pertumbuhan *Lemna* sp. terhadap surfaktan dan deterjen

	Jumlah fron	Klorofil total
LAS		
Intersep a	2,1188	2,0376
Slope b	-0,0223 **	-0,0340 **
r	-0,94 **	-0,98 **
ABS		
Intersep a	2,1953	2,1364
Slope b	-0,0347 **	-0,0776 **
r	-0,98 **	-0,96 **
Deterjen "A"		
Intersep a	1,9528	2,1544
Slope b	-0,0115 **	-0,0192 **
r	-0,89 **	-0,86 *

Catatan: * signifikan ($\alpha=0,005$); ** signifikan ($\alpha=0,01$)

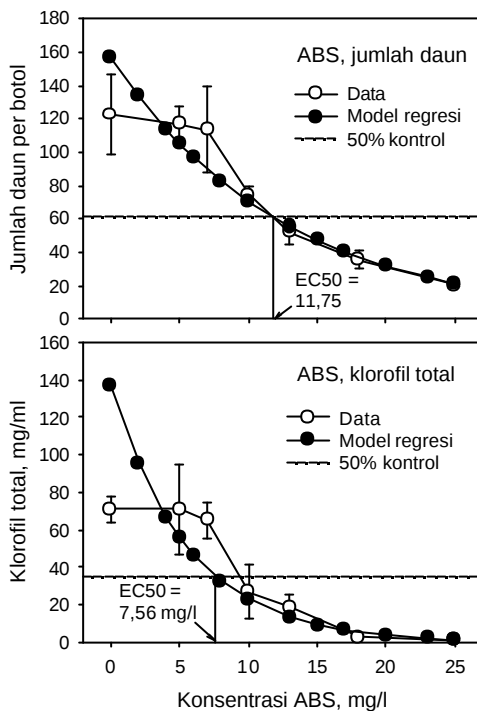
Dalam Tabel 2 dapat dilihat, bahwa semua koefisien korelasi dari ketiga jenis surfaktan dan deterjen adalah sangat signifikan. Dalam Gambar 3, 4, dan 5 tampak, bahwa kurva yang diduga dari persamaan sangat sesuai dengan sebaran data, terutama pada LAS dan ABS. Namun demikian respon pertumbuhan terhadap deterjen "A" mempunyai koefisien korelasi yang lebih rendah daripada terhadap surfaktan murni dan tunggal. Keberadaan senyawa tambahan dalam deterjen memberikan kontribusi yang nyata dalam hasil ini.

Dari persamaan kurva tersebut, EC50 dapat dihitung dengan memasukkan nilai Y sebesar separuh dari nilai parameter pertumbuhan pada kontrol. Hasilnya diterakan dalam Gambar 3, 4, dan 5. Nilai EC50 yang diperoleh untuk respon terhadap LAS dan ABS tampak lebih rendah dengan parameter kandungan klorofil, terutama dalam hal ABS (Gambar 3 dan 4). Pada LAS terlihat kesesuaian antara EC50 yang diduga dari jumlah fron dan kandungan klorofil. Sebaliknya, pada respon terhadap deterjen "A" diperoleh nilai EC50 yang lebih besar dengan kandungan klorofil. Hal ini mungkin disebabkan oleh respon kurva yang nyaris linear sehingga model logaritmik kurang sesuai.

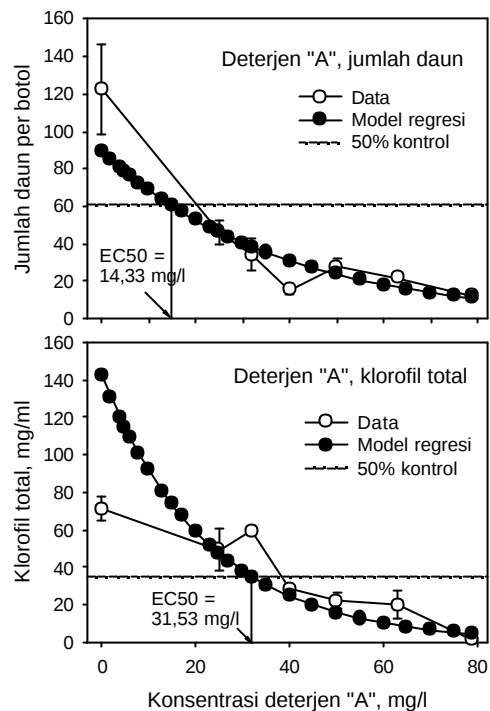


Gambar 3. Penentuan nilai EC50 dari LAS menurut jumlah fron (gambar atas) dan klorofil total (gambar bawah).

Hasil perhitungan menghasilkan nilai EC50 berdasarkan jumlah fron sebesar 14,83 mg/l, 11,75 mg/l, dan 14,33 mg/l masing-masing untuk LAS, ABS, dan deterjen "A". Sedangkan nilai



Gambar 4. Penentuan nilai EC50 dari ABS menurut jumlah fron (gambar atas) dan klorofil total (gambar bawah).



Gambar 5. Penentuan nilai EC50 dari deterjen "A" menurut jumlah fron (gambar atas) dan klorofil total (gambar bawah).

EC50 berdasarkan kandungan klorofil adalah 14,36 mg/l, 7,56 mg/l, dan 31,53 mg/l, masing-masing untuk LAS, ABS, dan deterjen "A". Nilai-nilai EC50 ini jauh lebih besar daripada nilai EC50 untuk dampak LAS terhadap pertumbuhan algae, krustasea, dan ikan seperti yang dilaporkan dalam Madsen *et al.*¹. Dan berdasarkan kriteria untuk kajian bahaya lingkungan dari senyawa, surfaktan dan deterjen yang digunakan dalam kajian ini tergolong dalam kelas 3 atau kelas 4. Jadi walaupun hasil uji dengan *Lemna* sp. tidak sesensitif seperti dengan algae, krustasea dan ikan, namun hasil ini menunjukkan, bahwa surfaktan yang banyak digunakan di Indonesia mempunyai potensi bahaya terhadap lingkungan.

Seperti telah disampaikan oleh Madsen *et al.*¹, laju penguraian senyawa di lingkungan serta hasil antaranya

(metabolit) dapat meningkatkan toksisitas senyawa surfaktan. Bahan pengawet seperti *Triclosan* dilaporkan mempunyai dampak terhadap ikan, invertebrata akuatik, mikroorganisme, dan algae⁷.

LOEC dihitung sebagai nilai konsentrasi air limbah terendah yang menunjukkan beda nyata dengan kontrol². Dari perhitungan statistika (uji Duncan's) didapatkan, bahwa konsentrasi surfaktan dan deterjen "A" terendah yang masih menimbulkan pengaruh signifikan adalah masing-masing 5 mg/l untuk LAS dan ABS serta 25 mg/l untuk deterjen "A". Karena konsentrasi tersebut adalah konsentrasi terendah yang dicobakan, maka nilai NOEC tidak dapat dihitung dan tentunya terletak di antara 0 dan 5 mg/l untuk LAS dan ABS serta antara 0 dan 25 mg/l untuk deterjen "A".

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Surfaktan LAS dan ABS serta deterjen komersial berbahan dasar LAS mempunyai potensi membahayakan lingkungan. Hasil kajian menunjukkan, bahwa nilai EC50 untuk LAS, ABS, dan deterjen "A" masing-masing adalah 14,83 mg/l, 11,75 mg/l, dan 14,33 mg/l (berdasarkan jumlah fron) serta 14,36 mg/l, 7,56 mg/l, dan 31,53 mg/l (berdasarkan kandungan klorofil). Nilai-nilai EC50 ini menunjukkan, bahwa *Lemna* sp. yang digunakan dalam kajian ini kurang sensitif dibanding algae, krustasea, dan ikan seperti yang dilaporkan dalam literatur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sati Suyanti atas kegigihannya memelihara biakan induk *Lemna* sp.

DAFTAR PUSTAKA

1. Madsen, T., H.B. Boyd, D. Nylen, A.R. Pedersen, G.I. Petersen, and F. Simonsen. 2001. Environmental and Health Assessment of Substances in Household Detergents and Cosmetic Detergent Products. Environmental Project No. 615 2001. Danish Environmental Protection Agency. 201 pp. + 35 pp. (Appendices).
2. OECD. 2002. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test (Draft Revised Guideline July 2002). Draft Guideline No. 221. Diunduh dari <http://www.oecd.org/dataoecd/16/51/1948054.pdf> pada 26 Juli 2005.
3. McConkey, B.J., C.L. Duxbury, D.G. Dixon and B.M. Greenberg. 1997. Toxicity of a PAH photooxidation product to the bacteria *Photo-bacterium phosphoreum* and the duckweed *Lemna gibba*: Effects of phenanthrene and its primary photoproduct, phenanthrene-quinone. Environmental Toxicology and Chemistry. 16:892–899.
4. Duxbury, C.L., D.G. Dixon and B.M. Greenberg. 1997. Effects of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*. Environmental Toxicology and Chemistry. 16:1739–1748.
5. Marwood, C.A., K.R. Solomon, and B.M. Greenberg. 2001. Chlorophyll Fluorescence as a Bioindicator of Effects on Growth in Aquatic Macrophytes from Mixtures of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Toxicology and Chemistry. 20:890–898.
6. Fairchild, J.F., D. Shane ruessler and R. Carlson. 1998. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor. Environmental Toxicology and Chemistry. 17:1830–1834.
7. Orvos, D.R., D.J. Versteeg, J. Inauen, M. Capdevielle, A. Rothenstein, And V. Cunningham. 2002. Aquatic Toxicity of Triclosan. Environmental Toxicology and Chemistry. 21:1338–1349.
8. Brain, R.A., D.J. Johnson, S.M. Richards, H. Sanderson, P.K. Sibley, and K.R. Solomon. 2004. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. Environmental Toxicology and Chemistry. 23:371–382.
9. Richards, S.M., C.J. Wilson, D.J. Johnson, D.M. Castle, M. Lam, S.A. Mabury, P. K. Sibley, and K.R. Solomon. 2004. Effects of Pharmaceutical Mixtures in Aquatic Microcosms. Environmental Toxicology and Chemistry. 23:1035–1042.
10. Orme, S. and S. Kegley. 2002. *PAN Pesticide Database*. Pesticide Action Network, North America. Diunduh dari: <http://www.pesticideinfo.org>.
11. Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473–497.
12. Gros, J. 1991. Pigments in Vegetables Chlorophylls and Carotenoids. Van Nostrand Reinhold, New York.
13. Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi kedua. Alihbahasa: Bambang Sumantri. Penerbit PT Gramedia, Jakarta. 748 hal