

**POTENSI *BACILLUS SUBTILIS* DALAM
MENGURANGKAN KEPEKATAN AMMONIA DI
RUANG TERTUTUP MELALUI SEMBURAN
BIOORGANIK**

SYAHANIM BINTI SAIDUN

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

2025

**POTENSI *BACILLUS SUBTILIS* DALAM
MENGURANGKAN KEPEKATAN AMMONIA DI
RUANG TERTUTUP MELALUI SEMBURAN
BIOORGANIK**

oleh

SYAHANIM BINTI SAIDUN

**Tesis diserahkan untuk
memenuhi keperluan bagi
Ijazah Doktor Falsafah**

Januari 2025

PENGHARGAAN

Dengan Nama Allah, Yang Maha Pemurah, Lagi Maha Mengasihani

Segala puji bagi Allah atas limpahan kurnia dan kekuatan yang diberikan kepada saya untuk menyempurnakan tesis ini dengan jayanya walaupun menghadapi pelbagai dugaan dan cabaran. Pada kesempatan ini, saya ingin merakamkan penghargaan ikhlas kepada Prof. Madya Dr. Husnul Azan bin Tajarudin, penyelia saya, Dr. Muaz Mohd Zaini dan Puan Wan Zafira Ezza binti Wan Zakaria, penyelia bersama saya, atas bimbingan yang sangat baik, sokongan berterusan, nasihat, dan bantuan tidak ternilai dari awal hingga akhir penyelidikan ini. Bantuan mereka sangat membantu dan menginspirasi saya dalam menyempurnakan penyelidikan saya ini. Terima kasih juga kepada pembantu makmal A204, Encik Azmaizan Yaakub dan Puan Najmah Hamid khususnya atas bantuan dalam kerja-kerja makmal saya. Saya juga amat berterima kasih kepada Dr. Charles, Dr. Baizura, Ramizah, dan Hani, yang sudi menghulurkan bantuan dan terus mendorong saya sepanjang penyelidikan ini. Tidak ketinggalan rakan sekerja makmal saya, Anis atas sokongan, semangat dan galakan di kala susah dan senang. Akhir sekali, saya ingin merakamkan penghargaan setinggi-tingginya kepada keluarga tersayang, terutamanya suami, Ahmad Shahril bin Abu Bakar serta anak-anak, Wafiy, Sofea, Hadif dan Harraz, terima kasih kerana memahami dan banyak membantu. Tidak lupa arwah ibu saya Sa'adah binti Long, dengan berkat doanya saya sampai ketahap ini, bapa saya Saidun bin Bakar, abang, kakak dan adik saya atas kasih sayang, doa dan sokongan moral yang tidak putus-putus sepanjang perjalanan untuk menyempurnakan projek saya. Semoga kajian dan tesis ini dapat menjadi sumber maklumat yang bernilai untuk generasi akan datang.

SYAHANIM BINTI SAIDUN

JUNE 2024

ISI KANDUNGAN

PENGHARGAAN	ii
ISI KANDUNGAN	iii
SENARAI JADUAL	xv
SENARAI SINGKATAN DAN SIMBOL	xix
SENARAI LAMPIRAN.....	xxi
ABSTRAK	xxiv
ABSTRACT	xxv
BAB 1 PENGENALAN	1
1.1 Latar Belakang Penyelidikan	1
1.2 Penyataan Masalah.....	5
1.3 Objektif Kajian.....	9
1.4 Skop Kajian.....	10
1.5 Novelti Penyelidikan	11
BAB 2 LATAR BELAKANG DAN KAJIAN LITERATUR.....	12
2.1 Perspektif Sejarah dan Tujuan Penyelidikan.....	12
2.2 Penggunaan Bahan Penjerap Untuk Menyingkirkan Bahan Pencemar	14
2.3 Arang Aktif Sebagai Bahan Penjerap	15
2.3.1 Kajian Terdahulu Mengenai Pengurangan Ammonia Dan Aplikasinya	17
2.4 Risiko Tersembunyi di Sebalik Kesegaran Semburan Pewangi Tandas.....	18
2.5 Pengenalan Kepada Bakteria.....	19
2.5.1 Klasifikasi Bakteria	21
2.5.2 Pengecatan dan Pengenalpastian Bakteria	22
2.6 Pemilihan Mikroorganisma: <i>B.subtilis</i>	24

2.6.1	Kajian Terdahulu Mengenai <i>B.subtilis</i> Dalam Pengurangan Ammonia dan Aplikasinya	26
2.7	Penggunaan Kaedah Satu Faktor Pada Satu Masa (OFAT).....	27
2.8	Penyelarasan Menggunakan Perisian R	28
2.8.1	Kaedah Permukaan Sambutan (RSM)	29
2.8.2	Kajian Terdahulu Mengenai Pelbagai Proses Pengoptimuman Menggunakan RSM	32
2.9	Kesimpulan	33
BAB 3 METODOLOGI.....		35
3.1	Senarai Bahan Kimia, dan Peralatan yang Digunakan Dalam Penyelidikan .	36
3.2	Reka Bentuk Ujikaji Secara Keseluruhan	39
3.3	Penyediaan Media Kultur.....	46
3.3.1	Agar Nutrien	46
3.3.2	Larutan Nutrien.....	46
3.4	Penyediaan Bakteria (<i>B.subtilis</i>)	47
3.4.1	Pembiakan <i>B.subtilis</i>	47
3.4.2	Pengumpulan <i>B.subtilis</i>	48
3.4.3	Pembekuan Pengeringan <i>B.subtilis</i>	49
3.5	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i>	49
3.6	Proses Menguji Kotak Kebuk Udara yang Anti Bocor	50
3.7	Proses Pengaktifan Kimia Arang Aktif.....	51
3.8	Luas Permukaan Dan Porositi Arang.....	51
3.9	Penyediaan Arang Aktif dan Analisis Kimia	52
3.9.1	Penyediaan Arang Aktif yang dijerapkan dengan <i>B.subtilis</i> (Kaedah 1).....	52

3.9.2	Menjalankan Analisis Kumpulan Befungsi Menggunakan Spektrometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)	54
3.9.3	Menjalankan Ujian Mikroskopi Elektron Pengimbasan (SEM) & Sinar-X Penyebaran Tenaga Spektroskopi (EDX) – Mendapatkan Gambarajah Permukaan Arang.....	54
3.10	Penyediaan Gas Ammonia dan Analisis Kimia	55
3.10.1	Penyediaan Gas ammonia Melalui Semburan yang Mengandungi <i>B.subtilis</i>	55
3.10.2	Semburan yang Mengandungi <i>B.subtilis</i> yang Terbaik Dijalankan Di Keadaan Sebenar iaitu Persekitaran Tertutup.....	55
3.10.3	Lokasi Kajian Sebenar	56
3.11	Penyediaan Larutan Ammonia dan Analisis Kimia	57
3.11.1	Penyediaan Larutan Ammonia (Cecair) Menggunakan Kaedah Satu Faktor Pada Satu Masa (OFAT)	57
3.11.2	Penyiasatan Parameter-Parameter Penting bagi Pengurangan Ammonia dan Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	57
3.12	Sampel Air Sisa Di Ambil Untuk Di Analisis	58
3.12.1	Analisis Kandungan Nitrogen dalam Air Sisa (Kaedah 4500-Norg B. Semi-Micro-Kjeldahl).....	59
3.12.2	Analisis Kandungan Fosforus dalam Air Sisa (Kaedah 4500-P E. Kolorimetri Asid Askorbik).....	60
3.12.3	Analisis Kandungan Kadar pH dalam Air Sisa (Kaedah 4500-H+ B. Elektrometrik)	60
3.12.4	Analisis Kandungan Kimia Terlarut (COD) dalam Air Sisa (Kaedah 5220 D. Refluks Tertutup, Kolorimetrik)	61

3.12.5	Analisis Jumlah Pepejal Terampai (TSS) dalam Air Sisa (Kaedah 2540 D. Jumlah Pepejal Terampai Kering pada 103-105°C)	62
3.12.6	Analisis Persekitaran Aerobik Dan Anaerobik dalam pengurangan Ammonia dalam Air Sisa.....	63
BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCAGAN		65
4.1	<i>B.subtilis</i> Digunakan Sebagai Agen Pengurangan Ammonia	65
4.1.1	Profil Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	65
4.2	Pengurangan Ammonia dalam Keadaan Gas Menggunakan <i>B.subtilis</i> : Perbandingan Kaedah Penjerapan dan Semburan.....	69
4.3	Keputusan Pembuktian Kotak Kebuk Udara yang Anti Bocor.....	70
4.4	Penyingkiran Gas Ammonia Melalui Arang Aktif yang Di Jerap dengan <i>B.subtilis</i> (Kaedah 1).....	72
4.4.1	Analisis Spektrometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR) ..	77
4.4.2	Analisis Mikroskopi Elektron Pengimbas (SEM) & Sinar – X Penyebaran Tenaga Spektroskopi (EDX).....	81
4.5	Penyingkiran Gas Ammonia Melalui Semburan yang Mengandungi <i>B.subtilis</i> (Kaedah 2).....	84
4.5.1	Kesan Sistem Semburan yang Mengandungi <i>B.subtilis</i> yang Terbaik Dijalankan Di keadaan Sebenar iaitu Persekitaran Tertutup.....	88
4.5.1(a)	Zon Pemantauan	88
4.5.1(b)	Pemantauan Awal Kadar Ammonia dan Parameter Tertentu Di Dalam Kawasan Kajian.....	89
4.5.1(c)	Pemantauan Selepas Semburan	90
4.6	Kaitan Semburan Di Udara Dan Kesan Air Di Kawasan Kajian.....	92

4.7	Masa (OFAT).....	93
4.7.1	Satu Faktor Dalam Satu Masa (OFAT) Untuk Suhu	93
4.7.1(a)	Korelasi Suhu Dengan Pengurangan Ammonia dan Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	93
4.7.1(b)	Peraturan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Jenis Suhu	95
4.7.1(c)	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i> dan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Suhu.....	96
4.7.2	Satu Faktor dalam Satu Masa (OFAT) untuk pH	98
4.7.2(a)	Korelasi pH Dengan Pengurangan Ammonia dan Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	98
4.7.2(b)	Peraturan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Jenis pH	100
4.7.2(c)	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i> dan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai pH.....	101
4.7.3	Satu Faktor Dalam Satu Masa (OFAT) Untuk Pengocakan	102
4.7.3(a)	Korelasi Pengocakan Dengan Pengurangan Ammonia dan Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	102
4.7.3(b)	Peraturan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Jenis Pengocakan	104
4.7.3(c)	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i> dan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Pengocakan	105
4.7.4	Satu Faktor dalam Satu Masa (OFAT) untuk dos <i>B.subtilis</i>	106
4.7.4(a)	Korelasi dos <i>B.subtilis</i> dengan pengurangan ammonia dan pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	106

4.7.4(b)	Peraturan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Dos <i>B.subtilis</i>	108
4.7.4(c)	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i> dan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Dos <i>B.subtilis</i>	109
4.7.5	Satu Faktor Dalam Satu Masa (OFAT) Untuk Kepekatan Ammonia	110
4.7.5(a)	Korelasi Kepekatan Ammonia Dengan Pengurangan Ammonia dan Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	110
4.7.5(b)	Peraturan pengurangan ammonia dalam pelbagai jenis kepekatan Ammonia	112
4.7.5(c)	Pertumbuhan Kinetik <i>B.subtilis</i> dan Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Kepekatan Ammonia.....	113
4.8	Keadaan Optimum dalam Kajian Satu Faktor dalam Satu Masa (OFAT)...	113
4.9	Penyiasatan Parameter Penting Untuk Mencerminkan Pengurangan Ammonia Dalam Fasa Cecair	114
4.9.1	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pengurangan Ammonia	115
4.9.1(a)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Suhu.....	115
4.9.1(b)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pengurangan Ammonia Dalam Dos <i>B.subtilis</i>	117
4.9.1(c)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pengurangan Ammonia Dalam Pelbagai Kepekatan Ammonia.....	118
4.9.1(d)	Analisis penyaringan ANOVA terhadap pengurangan ammonia dalam pelbagai pengocakan	120

4.9.1(e)	Analisis penyaringan ANOVA terhadap pengurangan ammonia_pelbagai pH.....	121
4.10	Penyiasatan parameter penting untuk mencerminkan pertumbuhan <i>B.subtilis</i> dalam fasa cecair	123
4.10.1	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtilis</i>	124
4.10.1(a)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtilis</i> _Dalam Pelbagai pH.....	124
4.10.1(b)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtilis</i> Dalam Pelbagai Pengocakan	125
4.10.1(c)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtilis</i> _Dalam Pelbagai Kepekatan <i>B.subtilis</i>	127
4.10.1(d)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtili</i> _Dalam Pelbagai Jenis Suhu.....	128
4.10.1(e)	Analisis Penyaringan ANOVA Terhadap Pertumbuhan <i>B.subtili</i> _Dalam Pelbagai Kepekatan Ammonia.....	129
4.11	Pengoptimuman Parameter Penting	131
4.11.1	Pengurangan Ammonia	131
4.11.2	Penghasilan Biomas <i>B.subtilis</i>	133
4.12	ANOVA Bagi Model Polinomial Tertib Kedua dan Pemasangan Regresi..	135
4.12.1	Pengurangan Ammonia	135
4.12.2	Penghasilan Biomas <i>B.subtilis</i>	138
4.13	Pengesahan.....	140
4.13.1	Pengurangan Ammonia	140
4.13.2	Penghasilan Biomas <i>B.subtilis</i>	143

4.14	Mencapai Keadaan Optimum dan Pengesahan Model.....	145
4.14.1	Pengurangan Ammonia	145
4.14.2	Pertumbuhan Biomas <i>B.subtilis</i>	146
4.15	Pengambilan Sampel Air Dari Air Sisa Untuk Di Analisis	147
4.15.1	Kadar Nitrogen	148
4.15.3	Kadar Fosforus.....	148
4.15.3	Kadar pH.....	149
4.15.4	Pengukuran Kandungan Kimia Terlarut (COD).....	150
4.15.5	Jumlah Pepejal Terampai (TSS)	150
4.16	Kesan Persekitaran Aerobik Dan Anaerobik Dalam Pengurangan Ammonia Air Sisa.....	151
BAB 5 KESIMPULAN DAN CADANGAN		153
5.1	Kesimpulan	153
5.2	Cadangan untuk Penambahbaikan	154
RUJUKAN		156
LAMPIRAN		

SENARAI RAJAH

	Halaman
Rajah 2.1 Struktur asas bakteria	20
Rajah 2.2 Ciri-ciri morfologi koloni bakteria	22
Rajah 2.3 Perbezaan struktur antara bakteria Gram positif dan Gram negatif ...	23
Rajah 2.4 Struktur asas spesies bakteria	24
Rajah 2.5 Menunjukkan proses semburan yang berlaku dan sisa semburan jatuh ke bawah.....	34
Rajah 3.1 Metodologi penghasilan <i>B.subtilis</i> dalam bentuk serbuk.....	42
Rajah 3.2 Metodologi ujikaji dalam kotak kebuk udara.....	43
Rajah 3.3 Metodologi ujikaji menggunakan 5 parameter.....	44
Rajah 3.4 Proses keseluruhan ujikaji dan carta alir	45
Rajah 3.5 Bentuk serbuk <i>B.subtilis</i>	49
Rajah 3.6 Kotak kebuk udara.....	50
Rajah 3.7 Satu blok arang dengan luas permukaan 144.98 cm ²	52
Rajah 3.8 Lokasi kajian dijalankan, iaitu di Kampung Lahar Ikan Mati, Kepala Batas	56
Rajah 4.1 Graf penghasilan biomas (g/L) terhadap masa (jam) <i>B.subtilis</i>	68
Rajah 4.2 Pemeriksaan <i>B.subtilis</i> di bawah mikroskop optik dengan pembesaran 100×	69
Rajah 4.3 Korelasi kepekatan ammonia yang berbeza terhadap masa (Lampiran 7).....	71
Rajah 4.4 Graf menunjukkan hubungkait biomas terjerap dengan kadar pengocakan	73

Rajah 4.5	Graf bacaan kadar penyingkiran ammonia bagi jumlah <i>B.subtilis</i> yang berbeza yang di jerap ke dalam arang aktif berbanding dengan masa	75
Rajah 4.6	Graf bacaan ammonia yang di serap oleh jumlah <i>B.subtilis</i> yang berbeza yang di jerap ke dalam arang aktif berbanding dengan masa	75
Rajah 4.7	Graf kadar penyingkiran ammonia (ammonia /sel/ppm/min/g)	77
Rajah 4.8	Graf Spektrometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR) bagi semua arang dengan pengocakan yang berbeza	80
Rajah 4.9	Imej Mikroskop Elektron Imbasan Permukaan (SEM) bagi (A) arang aktif kosong tanpa <i>B.subtilis</i> dan (B) arang aktif yang paling tinggi <i>B.subtilis</i> (0.019g)	83
Rajah 4.10	Semburan yang dijalankan di dalam kotak kebuk udara untuk melihat sejauh mana keberkesanan semburan yang mengandungi <i>B.subtilis</i> dapat menyingkirkan gas ammonia	85
Rajah 4.11	Graf jumlah ammonia yang diserap oleh <i>B.subtilis</i> dalam tempoh 60 minit.....	87
Rajah 4.12	Ruang tandas yang dibahagikan kepada beberapa zon (zon 1, zon 2, zon 3 dan zon 4) untuk pengawasan data	89
Rajah 4.13	Graf jumlah ammonia yang di serap oleh <i>B.subtilis</i> dalam tempoh 12 jam	91
Rajah 4.14	Graf pengawasan data untuk faktor-faktor lain seperti PM10, PM2.5, PM1.0, HCHO dan TVOC	92
Rajah 4.15	Graf korelasi ammonia 8 ml/L dengan <i>B.subtilis</i> dengan suhu yang berbeza (30, 35, 37 dan 40 °C) (Lampiran 10)	93
Rajah 4.16	Graf penyusunan peratusan pengurangan ammonia dalam suhu yang berbeza berbanding masa	95

Rajah 4.17	Graf korelasi ammonia 8ml/L dengan <i>B.subtilis</i> dengan nilai pH yang berbeza (4, 5, 6, 7 dan 8) (Lampiran 11)	98
Rajah 4.18	Graf penyusunan peratusan pengurangan ammonia dalam pH yang berbeza terhadap masa.....	100
Rajah 4.19	Graf korelasi ammonia 8ml/L dengan <i>B.subtilis</i> dengan pengocakan yang berbeza (0, 50, 100, 150 dan 200 rpm) (Lampiran 12).....	102
Rajah 4.20	Graf penyusunan peratusan pengurangan ammonia dalam pengocakan yang berbeza terhadap masa	104
Rajah 4.21	Graf korelasi ammonia 8ml/L dengan <i>B. subtilis</i> dengan dos <i>B. subtilis</i> yang berbeza (0g/L, 0.3g/L, 0.5g/L dan 1.0 g/L) (Lampiran 13).....	106
Rajah 4.22	Graf penyusunan peratusan pengurangan ammonia dalam dos yang berbeza <i>B.subtilis</i> terhadap masa.....	108
Rajah 4.23	Graf korelasi kepekatan ammonia yang berbeza dengan <i>B. subtilis</i> (4 ml/L, 6 ml/L, 8 ml/L dan 10 ml/L) berbanding masa (Lampiran 14)	110
Rajah 4.24	Graf penyusunan peratusan pengurangan ammonia dalam kepekatan ammonia yang berbeza terhadap masa	112
Rajah 4.25	Graf hasil peratusan pengurangan ammonia pada suhu yang berbeza	115
Rajah 4.26	Graf hasil peratusan pengurangan ammonia pada dos <i>B.subtilis</i> yang berbeza.....	117
Rajah 4.27	Graf hasil peratusan pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia yang berbeza	118

Rajah 4.28	Graf hasil peratusan pengurangan ammonia pada pengocakan yang berbeza.....	120
Rajah 4.29	Graf hasil peratusan pengurangan ammonia pada pH yang berbeza	121
Rajah 4.30	Graf hasil pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada pH yang berbeza	124
Rajah 4.31	Graf hasil pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada pengocakan yang berbeza.....	125
Rajah 4.32	Graf hasil pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada dos <i>B.subtilis</i> yang berbeza.....	127
Rajah 4.33	Graf hasil pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada suhu yang berbeza..	128
Rajah 4.34	Graf hasil pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada kepekatan ammonia yang berbeza	129
Rajah 4.35	Plot hasil ramalan berbanding hasil sebenar pengurangan ammonia (A), dan Plot kuantil-kuantil (Q-Q plot) (B)	141
Rajah 4.36	Plot tindakbalas permukaan untuk kesan bersama kepekatan ammonia, dos <i>B.subtilis</i> , dan suhu ($^{\circ}\text{C}$), plot kontur untuk kesan bersama kepekatan ammonia (D)	142
Rajah 4.37	Plot hasil ramalan berbanding hasil sebenar pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> (A), dan plot kuantil-kuantil (Q-Q plot) (B).....	143
Rajah 4.38	Plot tindakbalas permukaan untuk kesan bersama pengocakan dan pH (C), dan plot kontur kesan pengocakan dan pH terhadap penghasilan biomas <i>B.subtilis</i> (D)	145

SENARAI JADUAL

	Halaman
Jadual 1.1 Pengelasan sumber bagi setiap skala pelepasan bau	8
Jadual 2.1 Kajian literatur mengenai kajian terdahulu tentang pengurangan ammonia dan aplikasinya	17
Jadual 2.2 Kajian literatur mengenai kajian terdahulu tentang <i>B.subtilis</i> dalam pengurangan ammonia dan aplikasinya.....	26
Jadual 2.3 Kajian literatur mengenai kajian terdahulu mengenai pelbagai proses pengoptimuman menggunakan RSM dan aplikasinya	32
Jadual 3.1 Senarai bahan dan bahan kimia	36
Jadual 3.2 Senarai peralatan dan radas	37
Jadual 4.1 Jumlah <i>B.subtilis</i> bebas dalam larutan sebelum dan selepas proses penjerapan dengan arang aktif pada pengocakan yang berbeza selama 5 jam	73
Jadual 4.2 Bacaan kadar penyingkiran ammonia	76
Jadual 4.3 Nombor gelombang FTIR dan kumpulan fungsinya yang dimiliki oleh arang yang berbeza pengocakan.....	81
Jadual 4.4 Elemen-elemen Sinar – X Penyebaran Tenaga Spektroskopi (EDX) bagi arang aktif kosong tanpa <i>B.subtilis</i> dan arang aktif yang paling tinggi <i>B.subtilis</i> (0.019g)	84
Jadual 4.5 Kepekatan dos <i>B.subtilis</i> dalam larutan dan jumlah ammonia yang diserap serta jumlah ammonia yang diserap setiap sel bakteria dan kadar penyerapan per minit	87

Jadual 4.6	Pertumbuhan kinetik <i>B.subtilis</i> dan pengurangan ammonia dalam pelbagai suhu	96
Jadual 4.7	Pertumbuhan kinetik <i>B.subtilis</i> dan pengurangan ammonia dalam pelbagai pH.....	101
Jadual 4.8	Pertumbuhan kinetik <i>B.subtilis</i> dan pengurangan ammonia dalam pelbagai pengocakan	105
Jadual 4.9	Pertumbuhan kinetik <i>B.subtilis</i> dalam pelbagai dos <i>B.subtilis</i>	109
Jadual 4.10	Pertumbuhan kinetik <i>B.subtillis</i> dalam pelbagai kepekatan ammonia	113
Jadual 4.11	Ringkasan keadaan optimum dalam Kajian Satu Faktor dalam Satu Masa (OFAT) untuk semua parameter	114
Jadual 4.12	Analisis suhu pada pengurangan ammonia menggunakan ANOVA satu hala	116
Jadual 4.13	Analisis dos <i>B.subtilis</i> terhadap pengurangan ammonia menggunakan ANOVA satu hala.....	118
Jadual 4.14	Analisis kepekatan ammonia terhadap pengurangan ammonia menggunakan ANOVA satu hala	119
Jadual 4.15	Analisis pengocakan pada pengurangan ammonia menggunakan ANOVA satu hala.....	121
Jadual 4.16	Analisis pH terhadap pengurangan ammonia menggunakan ANOVA satu hala	122
Jadual 4.17	Analisis pH terhadap pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> menggunakan ANOVA satu hala.....	125
Jadual 4.18	Analisis pengocakan terhadap pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> menggunakan ANOVA satu hala	126

Jadual 4.19	Analisis dos <i>B.subtilis</i> yang berbeza terhadap pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> menggunakan ANOVA satu hala	128
Jadual 4.20	Analisis suhu terhadap pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> menggunakan ANOVA satu hala.....	129
Jadual 4.21	Analisis kepekatan ammonia terhadap pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> menggunakan ANOVA satu hala	130
Jadual 4.22	Pembolehubah dan tahap reka bentuk komposit pusat (CCD).....	131
Jadual 4.23	Reka bentuk komposit pusat dan hasil eksperimen pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia yang berbeza, kepekatan <i>B.subtilis</i> dan suhu.....	132
Jadual 4.24	Pembolehubah dan tahap reka bentuk komposit pusat (CCD).....	133
Jadual 4.25	Reka bentuk komposit pusat dan hasil eksperimen pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> pada pH dan pengocakan yang berbeza.....	134
Jadual 4.26	ANOVA model polinomial tertib kedua dalam pengurangan ammonia	136
Jadual 4.27	Anggaran pekali regresi model polinomial tertib kedua dalam pengurangan ammonia.....	138
Jadual 4.28	ANOVA model polinomial tertib kedua dalam penghasilan biomas <i>B.subtilis</i>	139
Jadual 4.29	Anggaran pekali regresi model polinomial tertib kedua dalam penghasilan biomas <i>B.subtilis</i>	140
Jadual 4.30	Nilai ramalan untuk pengurangan ammonia, pembolehubah bebas dan nilai keinginan	146
Jadual 4.31	Nilai yang diramalkan untuk pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i> , pembolehubah bebas dan nilai keinginan.....	147

Jadual 4.32	Kadar bacaan nitrogen untuk sampel air mentah dan air yang telah di autoklaf	148
Jadual 4.33	Kadar bacaan fosforus untuk sampel air mentah dan air yang telah di autoklaf	149
Jadual 4.34	Kadar bacaan pH untuk sampel air mentah dan air yang telah di autoklaf	149
Jadual 4.35	Kadar Pengukuran Kandungan Kimia Terlarut (COD) untuk sampel air sisa mentah dan air sisa yang telah di autoklaf	150
Jadual 4.36	Jumlah Pepejal Terampai yang terdapat dalam air sisa.....	151
Jadual 4.37	Jumlah Pepejal Terampai yang terdapat dalam air sisa.....	152
Jadual 5.1	Hasil dapatan daripada ujikaji yang dijalankan.....	153

SENARAI SINGKATAN DAN SIMBOL

μ	Kadar pertumbuhan spesifik
$Y_{x/s}$	Hasil biomass
BS	B.subtilis
mg	Milligram
L	Liter
H ₂ O	Air suling
dH ₂ O	Air ternyahion
mL/L	Milliliter per Liter
mg/L	Milligram per Liter
mg/L/h	Milligram per Liter per jam
h	Jam
h ⁻¹	Per jam
N	Nitrogen
NH ₃	Ammonia
NaCl	Sodium Klorida
rpm	Putaran seminit
RSM	Kaedah permukaan tindak balas
Td	Masa penggandaan
ANOVA	Analisis varians
CCD	Reka Bentuk Komposit Berpusat
PM 10	Partikel Ternafas 10 mikron
PM 2.5	Partikel Ternafas Halus 2.5 mikron

PM 1.0	Partikel Ternafas Sangat Halus 1.0 Mikron
HCHO	Formaldehid (Sebatian organik mudah meruap yang biasa ditemui dalam bahan binaan dan produk isi rumah)
TVOC	Jumlah Sebatian Organik Mudah Meruap (<i>Total Volatile Organic Compounds</i> - merujuk kepada kumpulan pelbagai sebatian organik yang mudah meruap pada suhu bilik)

SENARAI LAMPIRAN

LAMPIRAN 1	Spektrometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)
LAMPIRAN 2	Mikroskopi Elektron Pengimbasan (SEM) & Sinar-X Penyebaran Tenaga Spektroskopi (EDX)
LAMPIRAN 3	Lengkung standard pengeluaran biomas <i>B.subtilis</i>
LAMPIRAN 4	Pertumbuhan biomas bagi <i>B.subtilis</i>
LAMPIRAN 5	Dimensi kotak kebuk udara
LAMPIRAN 6	Pengesan gas ammonia
LAMPIRAN 7	Bacaan ammonia (ppm) bagi pelbagai kepekatan larutan ammonia dalam fasa gas
LAMPIRAN 7 (a)	Bacaan ammonia (ppm) bagi pelbagai kepekatan larutan ammonia
LAMPIRAN 7 (b)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 ml/L dengan pengocakan arang aktif yang berbeza selama 30 minit
LAMPIRAN 7 (c)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 mL/L dalam kotak kebuk udara dan masa yang diperlukan untuk arang A (0 rpm) menyerap gas ammonia
LAMPIRAN 7 (d)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 mL/L dalam kotak kebuk udara dan masa yang diperlukan untuk arang B (50 rpm) menyerap gas ammonia
LAMPIRAN 7 (e)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 mL/L dalam kotak kebuk udara dan masa yang diperlukan untuk arang C (100 rpm) menyerap gas ammonia

LAMPIRAN 7 (f)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 mL/L dalam kotak kebuk udara dan masa yang diperlukan untuk arang D (150 rpm) menyerap gas ammonia
LAMPIRAN 7 (g)	Bacaan ammonia (ppm) bagi larutan ammonia berkepekatan 0.5 mL/L dalam kotak kebuk udara dan masa yang diperlukan untuk arang E (200 rpm) menyerap gas ammonia
LAMPIRAN 8	Pemantauan awal kadar ammonia dan parameter tertentu di dalam kawasan kajian
LAMPIRAN 9	Pemantauan selepas semburan
LAMPIRAN 10	Pengurangan ammonia dan biomas <i>B.subtilis</i> pada suhu berbeza untuk fasa cecair
LAMPIRAN 10 (a)	Pengurangan ammonia pada suhu berbeza (30 °C)
LAMPIRAN 10 (b)	Pengurangan ammonia pada suhu berbeza (35 °C)
LAMPIRAN 10 (c)	Pengurangan ammonia pada suhu berbeza (37 °C)
LAMPIRAN 10 (d)	Pengurangan ammonia pada suhu berbeza (40 °C)
LAMPIRAN 11	Pengurangan ammonia dan biomas <i>B.subtilis</i> pada pH berbeza untuk fasa cecair
LAMPIRAN 11 (a)	Pengurangan ammonia pada pH 4
LAMPIRAN 11 (b)	Pengurangan ammonia pada pH 5
LAMPIRAN 11 (c)	Pengurangan ammonia pada pH 6
LAMPIRAN 11 (d)	Pengurangan ammonia pada pH 7
LAMPIRAN 11 (e)	Pengurangan ammonia pada pH 8
LAMPIRAN 12	Pengurangan ammonia dan biomas <i>B.subtilis</i> pada pengocakan berbeza untuk fasa cecair
LAMPIRAN 12 (a)	Pengurangan ammonia semasa pengocakan (0 rpm)

- LAMPIRAN 12 (b) Pengurangan ammonia semasa pengocakan (50 rpm)
- LAMPIRAN 12 (c) Pengurangan ammonia semasa pengocakan (100 rpm)
- LAMPIRAN 12 (d) Pengurangan ammonia semasa pengocakan (150 rpm)
- LAMPIRAN 12 (e) Pengurangan ammonia semasa pengocakan (200 rpm)
- LAMPIRAN 13 Pengurangan ammonia dan biomas *B.subtilis* pada kepekatan *B.subtilis* yang berbeza untuk fasa cecair
- LAMPIRAN 13 (a) Pengurangan ammonia pada kepekatan *B.subtilis* (0g/L)
- LAMPIRAN 13 (b) Pengurangan ammonia pada kepekatan *B.subtilis* (0.3g/L)
- LAMPIRAN 13 (c) Pengurangan ammonia pada kepekatan *B.subtilis* (0.5g/L)
- LAMPIRAN 13 (d) Pengurangan ammonia pada kepekatan *B.subtilis* (1.0g/L)
- LAMPIRAN 14 Pengurangan ammonia dan biomas *B.subtilis* pada kepekatan ammonia yang berbeza untuk fasa cecair
- LAMPIRAN 14 (a) Pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia (4 ml/L)
- LAMPIRAN 14 (b) Pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia (6 ml/L)
- LAMPIRAN 14 (c) Pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia (8 ml/L)
- LAMPIRAN 14 (d) Pengurangan ammonia pada kepekatan ammonia (10 ml/L)
- LAMPIRAN 15 Pengkodan untuk pengurangan ammonia dalam perisian R pada fasa cecair
- LAMPIRAN 16 Pengkodan untuk biomas *B.subtilis* dalam perisian R pada fasa cecair

POTENSI *BACILLUS SUBTILIS* DALAM MENGURANGKAN KEPEKATAN AMMONIA DI RUANG TERTUTUP MELALUI SEMBURAN BIOORGANIK

ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk menghasilkan semburan bio mesra alam yang tidak membahayakan pengguna dan kepelbagaian mikrob dalam tangki sanitari, bagi mengatasi masalah bahan kimia berbahaya dalam penyegar udara. Kajian dibahagikan kepada tiga fasa utama. Fasa 1 melibatkan penghasilan *B.subtilis* kering. Fasa 2 menggunakan dua kaedah, yang pertama, penjerapan *B.subtilis* ke dalam arang dengan pengocakan berbeza, dan kedua, memasukkan *B.subtilis* ke dalam air suling pada kepekatan yang berbeza. Kedua-dua kaedah diuji dalam kotak kebuk udara untuk melihat penurunan bacaan ammonia. Keputusan menunjukkan kaedah penjerapan *B.subtilis* dalam arang tidak memberikan kesan yang baik, manakala kaedah kedua berjaya mengurangkan kadar ammonia sebanyak 0.5 g/L. Kaedah semburan ini kemudian digunakan dalam empat zon yang berbeza dan ianya juga menunjukkan pengurangan faktor lain seperti PM_{2.5}, PM₁₀, PM_{1.0}, HCHO dan TVOC. Fasa 3 mendapati keadaan optimum berlaku pada suhu 37°C, pH 7, pengocakan 150 rpm, kepekatan *B.subtilis* 1.0 g/L dan dos ammonia 4 ml/L. Walaupun *B.subtilis* kerap digunakan untuk mengurangkan kadar ammonia, kajian ini menekankan kepentingan mengkaji kaedah penggunaan yang tepat termasuk kepekatan dan kaedah penyediaan. Kesimpulannya, kajian ini menunjukkan potensi *B.subtilis* sebagai bahan alternatif dalam mengurangkan pencemaran udara dan bau, namun masih memerlukan kajian lanjut tentang kesan penggunaannya terhadap air sisa dan korelasi impaknya dalam fasa cecair dan gas.

THE POTENTIAL OF BACILLUS SUBTILIS IN REDUCING AMMONIA CONCENTRATION IN ENCLOSED SPACES THROUGH BIOORGANIC SPRAY

ABSTRACT

This study aims to develop an eco-friendly bio-spray that is harmless to users and microbial diversity in sanitary tanks, addressing the problem of hazardous chemicals in air fresheners. The research was divided into three main phases, phase 1 involved producing dried *B.subtilis*. Phase 2 employed two methods, first is adsorbing *B.subtilis* into charcoal with varying agitation levels, and second, introducing *B.subtilis* into distilled water at different concentrations. Both methods were tested in an air clear box to observe ammonia reading reductions. Results showed that the *B.subtilis* adsorption method in charcoal did not provide significant effects, while the second method successfully reduced ammonia rates by 0.5 g/L. This spray method was then applied across four different zones, demonstrating reductions in other factors such as PM_{2.5}, PM₁₀, PM_{1.0}, HCHO, and TVOC. Phase 3 identified optimal conditions at 37°C temperature, pH 7, 150 rpm agitation, *B.subtilis* concentration of 1.0 g/L, and ammonia dose of 4 ml/L. Although *B.subtilis* is frequently used to reduce ammonia rates, the study emphasizes the importance of investigating precise usage methods, including concentration and preparation techniques. In conclusion, the research demonstrates the potential of *B.subtilis* as an alternative method for reducing air pollution and odor, but further investigation is needed regarding its effects on wastewater and the correlation of its impact in liquid and gas phases.

BAB 1

PENGENALAN

1.1 Latar Belakang Penyelidikan

Bau merupakan sesuatu yang bersifat subjektif dan sukar ditafsir secara tepat antara individu. Kajian tentang bau boleh diklasifikasikan mengikut keperluan dan tujuan serta sumber pencemaran bau berlaku. Antara skop kajian yang pernah dilakukan adalah seperti intensiti, konsentrasi, jenis gas, piawaian pencemaran bau, impak bau ke atas persekitaran fizikal dan manusia, pengukuran dan perundangan (Heederik et al., 2019; Wing et al., 2020). Analisis bau boleh dilakukan secara empirikal dan berdasarkan sensor deria manusia. Alatan yang biasa digunakan oleh kebanyakan Negara maju seperti United Kingdom, Eropah, Australia dan New Zealand untuk mengukur konsentrasi bau ialah *Dynamic Olfactometer*. Alatan *Dynamic Olfactometer* ini boleh didapati dalam pelbagai model yang boleh digunakan untuk pemantauan data di lapangan dan analisis di makmal, serta pemantauan secara ambien. Antara model yang biasa digunakan ialah model SM100, SM100i, SM300, SM40 dan SM600. Sementara kajian secara subjektif boleh menggunakan sensor manusia atau alatan seperti *Nasal Ranger*.

Pencemaran bau merupakan salah satu isu alam sekitar yang berpunca dari pelbagai sumber sama ada daripada operasi ternakan, kilang kelapa sawit dan getah, operasi tapak pelupusan, industri dan rawatan sisa kumbahan. Pencemaran bau terjadi melalui keadaan udara yang dicemari oleh bahan pencemar yang melepaskan gas berbau busuk yang boleh menyebabkan ketidakselesaan kepada penduduk yang tinggal di sekitar punca pencemaran berlaku. Konsentrasi bau yang tinggi bergantung

kepada jenis sisa buangan atau kumbahan yang dikeluarkan dari sumber utama. Di samping itu, tempoh keterdedahan, suhu, arah tiupan angin dan kelajuan angin merupakan sebahagian daripada faktor yang boleh mempengaruhi konsentrasi bau (Smith & Watts 1994; Smith 1995). Seterusnya, Pillai et al. (2010) dalam kajiannya berkaitan kewujudan sebatian bau di atmosfera atau udara mempunyai ciri bau tersendiri dan manusia boleh mengesan lebih 10,000 jenis bau yang berbeza tetapi hanya mampu mengenalpasti beberapa jenis bau sahaja.

Pencemaran bau bukan sahaja memberi impak negatif terhadap fizikal persekitaran namun berpotensi menjejaskan kesihatan dan kesejahteraan kehidupan manusia (Nicell 2009; Lah & Chamhuri 2021). Pencemaran bau merupakan satu isu yang semakin mendapat perhatian oleh masyarakat di seluruh dunia termasuk Malaysia dengan kesedaran kepada peningkatan indeks kesejahteraan social (Capelli et al., 2020). Pencemaran bau merupakan satu masalah yang semakin meningkat angka aduan yang diterima oleh Jabatan Alam Sekitar di Malaysia. Menurut Rozaimi, Zaini dan Lukman (2014), Malaysia belum mempunyai sistem pengurusan yang cekap untuk menguruskan masalah bau dari pelbagai sumber.

Justeru itu, masalah ini harus ditangani dan dipandang serius oleh Jabatan Alam Sekitar Malaysia bagi mencari kaedah dalam penyelesaian isu ini seperti mewujudkan garis panduan perlepasan bau ke atmosfera dan pembaharuan undang-undang berkaitan pencemaran bau dan udara dalam Akta Kualiti Alam Sekeliling 1974 (akta 127). Aduan pencemaran udara merupakan jumlah kes tertinggi yang diterima iaitu sebanyak 1470 kes (82 %), diikuti kes pencemaran air sebanyak 172 kes (10 %), 52 kes (3%) berkaitan pencemaran bunyi, 21 kes (1%) pencemaran berkaitan buangan berjadual dan lain-lain sebanyak 81 kes (4 %) (Jabatan Alam Sekitar Selangor 2017). Penerimaan aduan kes mengikut daerah di Selangor menunjukkan kes aduan tertinggi

adalah di Petaling iaitu sebanyak 585 kes (33 %) dan Klang sebanyak 325 kes (18%) dan kawasan Bangi dibawah daerah Hulu Langat di tempat ketiga sebanyak 298 kes (17%). Daerah Sabak Bernam mencatatkan jumlah kes aduan terkecil iaitu hanya sebanyak 8 kes (0%) berkaitan isu pencemaran udara yang khususnya kepada pencemaran bau.

Sebatian Hidrogen Sulfida (H_2S) dan Ammonia (NH_3) merupakan sebatian yang sering dikaitkan dengan pencemaran bau. Gas berbahaya ini mampu menyumbang kepada kehadiran bakteria berbahaya seperti *E. Coli* dan *Salmonella* yang menjadi punca kepada kehadiran penyakit kepada manusia yang boleh menyebabkan kematian jika tidak diurus dengan baik. Pengukuran bau boleh dikenalpasti berdasarkan beberapa faktor yang dikenali sebagai “FIDOL” (*Local Nuisance and Litter Control Act 2016*). Faktor FIDOL merupakan singkatan kepada frekuensi, keamatan (*Intensity*), tempoh (*Duration*), keterlaluan (*Offensiveness*) dan lokasi (*Location*). Menurut Edeogu, Nyachoti dan House (2002) pengukuran intensiti bau adalah dengan mengukur kekuatan bau tersebut namun kepekatan bau adalah diukur mengikut tindak balas manusia terhadap bau. Walaubagaimanapun, menurut Environmental Protection Agency European (2001), intensiti bau adalah dimensi kepada persepsi deria bau yang merujuk kepada kekuatan yang diterima oleh penerima sensitif dan rangsangan terhadap persepsi seseorang. Pengukuran bau kepada penilaian manusia sebagai panel kepada kekuatan bau adalah berbeza-beza mengikut individu.

Setiap bau mempunyai ciri yang tersendiri dan berbeza dan tidak dapat dinafikan masalah pencemaran bau yang paling sukar dan rumit dalam kategori pencemaran udara (Anjna et al. 2014). Ini adalah kerana bau mempunyai ciri yang berbeza mengikut individu, walaubagaimanapun, bau yang menyengat (ammonia), telur busuk dan sampah serta najis binatang ternakan sememangnya mendatangkan rasa tidak

senang dan mampu menjejaskan kesihatan dan kesejahteraan serta selera makan kepada penerima sensitif. Menurut Brainfact (2012), terdapat beberapa jenis penerimaan bau yang kerap berlaku kepada penerima sensitif seperti kehilangan keseluruhan deria bau (Anosmia), hilang separa deria bau (Hyposmia), terlebih ransangan deria bau (Hyperosmia), perasaan ada bau dalam keadaan tiada bau (Phantosmia) dan kesilapan dalam mentakrifkan bau yang dihidu (Parosmia). Masalah rongga hidung, struktur hidung, saraf olfaktori dan masalah otak mampu menyumbang kepada kehilangan deria bau (Kementerian Kesihatan Malaysia 2019).

Peningkatan aktiviti penternakan juga merupakan satu perkembangan positif kepada ekonomi Malaysia. Walau bagaimanapun, timbul isu tentang masalah bau yang datang dari ladang ternakan berskala besar. Bau adalah masalah yang belum dapat diselesaikan setakat ini, sama ada ia adalah persekitaran organik atau bukan organik. Bau juga boleh dirujuk sebagai sifat dan kualiti sumber yang boleh mempengaruhi, merangsang atau boleh diterima oleh deria. Dalam erti kata lain, bau adalah kualiti yang boleh diterima atau dikesan oleh deria dalam bentuk aroma, wangian atau bau busuk (Sakawi et al., 2011; Zaini et al., 2011). Ammonia (NH_3) adalah gas pencemar alkali yang terdapat di atmosfera yang boleh memburukkan lagi pencemaran udara di mana ia bertindak balas dengan sebatian berasid untuk membentuk zarah dengan diameter kurang daripada $2.5 \mu\text{m}$ (Chow et al., 1996; Xu et al., 2017).

Berdasarkan kajian terdahulu oleh Ng (2021) dari Universiti Sains Malaysia, strain *B.subtilis* yang dipencilkan dari tanah terpilih telah digunakan sebagai salutan baja. Kajian ini mendapati bahawa penggunaan baja bersalut strain tersebut menggalakkan proses nitrifikasi dan denitrifikasi dalam tanah. Nitrifikasi melibatkan pengoksidaan ammonia kepada nitrit dan seterusnya kepada nitrat, manakala denitrifikasi melibatkan penurunan nitrat kepada gas nitrogen. Penemuan ini

menunjukkan bahawa *B.subtilis* berkemungkinan memainkan peranan penting dalam kitaran nitrogen tanah, terutamanya dalam penguraian ammonia. Hipotesis awal yang mencadangkan strain ini mampu mengurai elemen ammonia adalah konsisten dengan pemerhatian tersebut. Walau bagaimanapun, untuk mengesahkan hipotesis ini dengan lebih tepat, kajian lanjut yang khusus mengenai keupayaan *B.subtilis* dalam mengurai ammonia perlu dijalankan, termasuk analisis enzim yang terlibat dan pengukuran kadar penguraian ammonia dalam keadaan terkawal.

1.2 Penyataan Masalah

Bau busuk yang tercetus daripada sistem pembetungan di tandas merupakan satu masalah yang sering dihadapi oleh kebanyakan isi rumah. Bau ini bukan sahaja menjengkelkan malah boleh memberi kesan negatif kepada kesihatan. Walaupun penyegar udara moden dan pengudaraan bilik digunakan, namun ia tidak dapat menyelesaikan masalah bau busuk ini secara berkesan.

Punca utama kemunculan bau busuk ini adalah disebabkan oleh tandas yang tidak dibersihkan dengan sempurna atau disebabkan oleh kerosakan pada sistem pembetungan itu sendiri. Jika tidak ditangani dengan segera, bau busuk ini akan bertambah teruk dan merebak ke seluruh rumah, menjejaskan kualiti udara dalaman. Kebimbangan utama penggunaan semburan penyegar udara adalah kehadiran bahan kimia berbahaya yang berpotensi memberi kesan buruk kepada kesihatan manusia. Antara bahan kimia utama yang terkandung di dalam penyegar udara semburan ialah ammonium hidroksida, o-fenilfenol, hidrokarbon isomer dan dietanolamin. Ammonium hidroksida merupakan bahan bersifat basi yang boleh menyebabkan kerengsaan pada mata, hidung, tekak dan paru-paru jika terdedah secara berlebihan. Pendedahan kronik kepada ammonium hidroksida juga dikaitkan dengan peningkatan

risiko kanser paru-paru dan bronkitis kronik. Sementara itu, o-fenilfenol ialah bahan antimikrob sintetik yang berpotensi menjadi bahan pencetus endokrin (EDC) yang boleh mengganggu fungsi endokrin dan hormon dalam badan. Hidrokarbon isomer pula merupakan sebatian organik tidak stabil yang boleh bertindak sebagai bahan pencetus alahan dan bahan penyebab kanser.

Selain itu, dietanolamin juga dikaitkan dengan kesan membahayakan seperti kerengsaan mata dan kulit, masalah pernafasan, sakit kepala, loya dan kehilangan selera makan. Pendedahan jangka panjang juga dikaitkan dengan peningkatan risiko kanser darah. Oleh kerana kebanyakan semburan penyegar udara digunakan di kawasan tertutup, risiko pendedahan kepada bahan kimia berbahaya ini adalah lebih tinggi. Pendedahan jangka panjang boleh membawa kepada kesan buruk yang teruk seperti kecacatan kelahiran, kerosakan sistem saraf dan organ dalaman yang lain.

Selain risiko kesihatan kepada manusia, bahan kimia di dalam penyegar udara semburan juga boleh mengganggu proses biologi di dalam sistem pembetungan dan tangki sanitari. Apabila bahan kimia ini mengalir masuk ke dalam tangki sanitari, sama ada melalui tandas atau pembentungan, ia boleh mengganggu kepelbagaian mikroorganisma yang bertanggungjawab dalam proses penguraian bahan organik.

Proses penguraian biologi ini dijalankan oleh pelbagai jenis bakteria dan mikroorganisma lain seperti kulat dan protozoa. Mereka ini memainkan peranan penting dalam menguraikan sisa pepejal dan cecair menjadi bahan yang lebih sederhana dan tidak membahayakan. Namun, kehadiran bahan kimia toksik seperti dalam semburan penyegar udara boleh membunuh atau merencat pertumbuhan mikroorganisma ini. Sebagai contoh, ammonium hidroksida dan dietanolamin boleh meningkatkan kepekatan ammonia di dalam tangki sanitari menjadikannya toksik

kepada sebahagian besar bakteria pengurai. Manakala hidrokarbon isomer dan o-fenilfenol pula boleh bertindak sebagai agen antimikrob yang membunuh bakteria tersebut.

Apabila populasi bakteria pengurai ini terjejas, proses penguraian akan terganggu dan menjadi lebih perlahan. Ini akan menyebabkan pengumpulan sisa organik yang belum diuraikan sepenuhnya di dalam tangki, menyumbang kepada pengeluaran bau busuk yang lebih teruk dan berlarutan. Oleh itu, penggunaan penyegar udara semburan yang mengandungi bahan kimia toksik boleh membawa kepada kesan negatif bukan sahaja kepada kesihatan manusia, tetapi juga mengganggu proses biologi penting di dalam sistem pembedahan dan rawatan kumbahan.

Sumber bau busuk bukan hanya terhad kepada sistem pembedahan di rumah sahaja, malah jadual 1.1 menunjukkan pelbagai sumber lain seperti kilang, ladang ternakan, rawatan septik dan tempat pelupusan sampah. Kedekatan sumber-sumber bau ini dengan kawasan penempatan penduduk boleh memberi impak yang besar kepada kualiti hidup dan aktiviti harian mereka seperti yang dinyatakan oleh Fukuyama (2004).

Oleh itu, masalah bau busuk ini tidak boleh dipandang remeh kerana ia bukan sahaja memberi kesan negatif kepada kesihatan dan kualiti hidup, malah turut menjejaskan alam sekitar secara keseluruhan. Langkah segera perlu diambil untuk mengenal pasti dan mengatasi punca masalah ini secara menyeluruh dan berkesan.

Jadual 1.1: Pengelasan sumber bagi setiap skala pelepasan bau

Skala pelepasan bau	Sumber pelepasan bau	Jarak (meter)
Besar	Kilang gergaji, kilang pemprosesan ikan, rayon dan seluloid.	1,000 – 5,000
Sederhana	Ladang ternakan ayam dan babi, rawatan septik, kopi kilang, percetakan, kimpalan auto dan keluli, kimia kilang, kilang getah, kilang makanan dan pengkomposan terdekat.	50 - 1,000
Kecil	Restoran, dobi, kedai haiwan peliharaan, kedai roti, kereta bengkel, salon, tandas awam, tangki septik dan stesen pengumpulan sampah.	5 - 50

Menurut ulasan oleh (Othman et al., 2006), Jabatan Alam Sekitar (JAS) Malaysia menerima 1082 kes mengenai isu bau dan pencemaran. Trend menunjukkan bahawa isu bau semakin meningkat setiap tahun. Laporan mengenai kes ini sering dikaitkan dengan pelbagai industri seperti ternakan, industri kimia, industri pemprosesan getah, kelapa sawit, sisa pepejal bandar, loji rawatan kumbahan, industri petroleum dan lain-lain. Banyak aduan daripada penduduk yang mengalami bau busuk yang tinggal berhampiran kawasan ternakan, ini menunjukkan masalah bau tersebut telah menjejaskan kehidupan mereka.

Kemudian Page et al. (2008) juga mencatatkan bahawa isu kesihatan yang berkaitan dengan pencemaran bau biasanya memberi kesan kepada pelbagai penyakit seperti penyakit pernafasan dan kulit. Aduan biasa di seluruh negara mengenai

masalah kesihatan akibat bau dari kawasan ternakan adalah berkaitan dengan mata, hidung, sakit tekak, sakit kepala dan mengantuk (Schiffman, 1998).

Ammonia dan hidrogen sulfida adalah gas berbahaya yang dihasilkan semasa penguraian bakteria aerobik/anaerobik. Walaupun sebatian bau yang dominan adalah ammonia, hidrogen sulfida dan merkaptan, kira-kira 75 sebatian telah dikenal pasti dalam pen broiler (Jiang & Sands 2000, McPherson 2000). Seseengah sebatian (contohnya sulfida) lebih mudah dikesan oleh manusia berbanding yang lain atau dianggap lebih berbahaya walaupun dalam kepekatan yang rendah. Gabungan sebatian juga boleh menutupi bau tertentu atau menghasilkan bau yang lebih besar daripada jumlah komponen individu (McPherson 2000). Di samping itu, persepsi tentang kebolehterimaan bau dan keupayaan individu untuk mengesan bau tertentu boleh berbeza-beza.

Kesimpulannya, pelbagai pendekatan pengurusan perlu dibangunkan untuk mengekalkan persekitaran yang baik. Mana-mana lokasi ladang ternakan, jenis ternakan dan teknik pengurusan perlu dikaji bagi mengelakkan kesan negatif terhadap penduduk. Pengurusan bau bukan perkara baru untuk menjejaskan kehidupan manusia.

1.3 Objektif Kajian

Objektif ujikaji ini adalah untuk mengkaji literatur semasa yang berkaitan dengan pelepasan bau dan bahan pencemar yang terdapat dari tandas. Antara objektifnya ialah:

- 1) Menenal pasti pengurangan ammonia dalam keadaan gas menggunakan teknik penjerapan *B.subtilis* di dalam arang dengan

pelbagai pengocakan dan kaedah semburan *B.subtilis* dengan pelbagai kepekatan di dalam kotak kebuk udara tertutup.

- 2) Menyelidiki keupayaan *B.subtilis* untuk mengurangkan kadar ammonia, PM 10, PM 2.5, PM 1.0, HCHO dan TVOC di dalam keadaan sebenar yang tertutup menggunakan kaedah terbaik dari objektif 1.
- 3) Mengkaji keupayaan *B.subtilis* dalam mengurangkan ammonia dengan menganalisis pengaruh parameter tunggal (suhu, pH, pengocakan, kepekatan ammonia, dan kepekatan bakteria) terhadap pengurangan ammonia dalam fasa cecair melalui kaedah satu faktor pada satu masa (OFAT).
- 4) Menilai dan mengoptimumkan parameter-parameter penting yang mempengaruhi pengurangan ammonia dan pertumbuhan biomassa *Bacillus subtilis* melalui analisis statistik ANOVA dan metodologi respons permukaan (RSM).

1.4 Skop Kajian

Skop kajian ini akan memberikan tumpuan khusus kepada keberkesanan *B.subtilis* sebagai bahan untuk menyingkirkan gas ammonia dengan beberapa kaedah di makmal dan keadaan sebenar dalam keadaan di udara dan air. *B.subtilis* dipilih kerana ia merupakan bakteria yang tidak berbahaya kepada manusia, menjadikannya selamat untuk digunakan dalam aplikasi alam sekitar. Kajian ini bertujuan untuk mencari penyelesaian yang berkesan dan mesra alam dalam mengurangkan pencemaran ammonia, yang merupakan gas berbahaya kepada kesihatan manusia dan alam sekitar.

1.5 Novelti Penyelidikan

B.subtilis telah dikenali sebagai bakteria yang berkeupayaan mengurangkan ammonia dalam tanah dan udara, kajian mengenai potensinya sebagai bahan bio semburan untuk pengurangan kepekatan ammonia dalam persekitaran masih terhad. Novelti kajian ini terletak pada pendekatan menyeluruh dan inovatif dalam mengkaji keupayaan *B.subtilis* sebagai agen bio semburan, yang merangkumi kedua-dua aspek semburan udara dan kesan sisa semburan yang terkumpul sebagai air sisa. Kajian ini bukan sahaja menilai keberkesanan *B.subtilis* dalam mengurangkan ammonia melalui semburan udara, tetapi juga mengkaji impak ekologi terhadap persekitaran apabila sisa semburan jatuh ke tanah. Pendekatan holistik ini memberikan pemahaman yang lebih komprehensif tentang potensi *B.subtilis* sebagai penyelesaian bio untuk mengurangkan pencemaran ammonia, sambil mempertimbangkan kesan jangka panjang terhadap ekosistem tanah dan air. Oleh itu, kajian ini merapatkan jurang pengetahuan yang penting dalam bidang bioteknologi alam sekitar dan menawarkan perspektif baru dalam penggunaan mikroorganisma untuk pengurusan pencemaran udara dan tanah secara lestari.

BAB 2

LATAR BELAKANG DAN KAJIAN LITERATUR

2.1 Perspektif Sejarah dan Tujuan Penyelidikan

Ammonia (NH_3) adalah gas tidak berwarna dengan bau yang menyengat, yang banyak digunakan dalam industri pertanian sebagai baja, dalam pengeluaran bahan kimia, dan sebagai penyejuk dalam sistem penyaman udara. Ia dihasilkan secara semula jadi melalui penguraian bahan organik dan melalui pelbagai aktiviti manusia seperti pertanian dan proses industri. Walaupun berguna, perlepasan ammonia ke alam sekitar boleh memberi kesan negatif yang ketara kepada alam sekitar dan kesihatan manusia, termasuk pencemaran udara, penurunan kualiti air, dan masalah kesihatan seperti kerengsaan sistem pernafasan dan kulit. Ammonia didapati sebagai pencemar nitrogen utama dalam air sisa. Kehadiran pencemar dalam air sisa mempengaruhi kehidupan organisma dan boleh merosakkan semua ekosistem (Lee & Park, 2023). Kepekatan ammonia nitrogen yang berlebihan adalah berbahaya kepada hidupan akuatik. Oleh itu, penyingkiran ammonia daripada air sisa adalah penting dalam mengurangkan masalah alam sekitar seperti eutrofikasi dan pertumbuhan alga (Wilson & Taylor, 2022; Rodriguez et al., 2023). Para penyelidik mula melihat kesan perlepasan ammonia terhadap alam sekitar dan kesihatan awam apabila kesan buruknya menjadi lebih jelas dan nyata. Mereka mendapati bahawa ammonia boleh menyebabkan masalah pernafasan kepada manusia dan haiwan, menyumbang kepada pencemaran udara, serta menyebabkan pengasidan tanah dan sumber air (Swelum et al., 2021).

Air sisa kumbahan dan sisa industri merupakan punca yang boleh mencemar dan mengubah kualiti sesebuah badan air (Oladele et al. 2011). Air sisa kumbahan

adalah campuran tinja manusia, urin dan juga air buangan hasil daripada aktiviti harian manusia. Ia merupakan cecair buangan dari kawasan kediaman, sekolah, restoran, hospital, kawasan pertanian serta kawasan perindustrian yang terhasil daripada tandas, sinki dan bilik air (Chen & Wong, 2022). Air sisa kumbahan mempunyai 99.9% air dan 0.1% pepejal. 70% daripada pepejal ini ialah bahan organik seperti protein, karbohidrat dan lemak. Manakala 30% daripada pepejal ini ialah bahan inorganik seperti kelikir, nutrien tumbuhan, garam, mineral dan logam (Arthur 1983). Air sisa kumbahan mempunyai unsur kandungan pepejal terampai dan pepejal terlarut yang tinggi selain mengandungi kepekatan ammonia serta nitrogen dan fosforus yang berkemungkinan terhasil daripada penguraian bahan organik di dalam air (Chavan & Dhulap 2012; Hou et al. 2006).

Air sisa kumbahan boleh mendatangkan bahaya kepada manusia serta hidupan lain sekiranya ia tidak dirawat (Subramaniam et al. 2016) bagi menyingkirkan bahan pencemar toksik dalam air sisa dan larutan akueus seperti proses penggumpalan-pemendakan (Halim et al. 2012a), osmosis songsang, elektrodialisis, pengestrakan bahan terlarut, filtrasi membran (Kavak & Ozturk 2005), penjerapan (Alias et al. 2011; Halim et al. 2013) dan elektrokoagulasi (Halim et al. 2012b). Kaedah yang digunakan ini memerlukan kos yang tinggi untuk dilaksanakan (Smith et al. 1995). Keperluan pengurusan dan rawatan air sisa kumbahan yang cekap sangat penting bagi meningkatkan kualiti air dan ia boleh mengatasi masalah isu pencemaran sumber air, kos rawatan air yang semakin meningkat serta peraturan pelepasan air sisa yang semakin ketat.

2.2 Penggunaan Bahan Penjerap Untuk Menyingkirkan Bahan Pencemar

Bagi mengatasi masalah ini, kaedah penjerapan menggunakan bahan penjerap digunakan dengan meluas untuk menyingkirkan bahan pencemar dalam merawat air sisa industri dan air sisa kumbahan kerana keupayaan menjerap bahan pencemar yang tinggi serta kos yang lebih rendah berbanding dengan keadah rawatan lain (Lee et al., 2021; Garcia & Smith, 2019; Thompson, 2018). Penggunaan penjerap komposit pada masa ini diiktiraf sebagai teknologi moden dan maju dalam teknik penyediaan penjerap. Bahan komposit mengandungi beberapa jenis penjerap yang berlainan dan tujuan penghasilannya adalah untuk memperbaiki ciri dan keupayaan penjerap dalam masa yang sama untuk menghasilkan penjerap yang mudah digunakan dalam industri (Kamaruddin et al. 2013). Kelebihan menggunakan media penjerap komposit menunjukkan gabungan antara penjerapan kimia dan fizikal, sesuai dengan sifat bahan mentah yang membentuknya, berkos rendah dan keupayaan penjerapan yang lebih baik serta kebolehan diregenerasi menjadikan media komposit lebih kompetitif berbanding media konvensional lain (Azhar 2007; Azhar et al. 2010).

Pada masa kini, banyak kajian telah dijalankan untuk menghasilkan penjerap bukan konvensional yang menjanjikan manfaat untuk tujuan dagangan pada masa hadapan. Sebahagian daripada karbon aktif disediakan daripada bahan semula jadi dan juga sisa pertanian (Nur Syahira et al. 2022). Karbon aktif telah terbukti sebagai penjerap yang baik untuk penyingkiran bahan pencemar organik (diukur sebagai COD) dan $\text{NH}_3\text{-N}$ daripada air sisa mahupun larut resapan. Kajian yang dilakukan oleh Maulana et al. (2021) menggunakan abu tulang teraktif untuk merawat larut resapan stabil telah berjaya menyingkirkan 76% COD yang berkepekatan awal 2,000 mg/L. Tambahan pula, menurut kajian Ramli et al. (2022) yang menggunakan karbon

aktif berasaskan tempurung kelapa untuk penyingkiran NH_3 -N dan COD daripada larut resapan stabil mendapati penggunaan karbon aktif berupaya menyingkirkan 48.5% NH_3 -N dan 85.3% COD dengan kapasiti penjerapan masing-masing adalah 15.7 mg/g dan 128.4 mg/g. Dalam ujikaji ini, bahan penjerap yang digunakan ialah media komposit berkos rendah iaitu karbon aktif.

2.3 Arang Aktif Sebagai Bahan Penjerap

Arang aktif yang juga dikenali sebagai karbon teraktif, sebenarnya merupakan satu bentuk karbon yang telah diproses untuk meningkatkan luas permukaan dan porositi. Menurut (Heidarinejad et al., 2020), arang teraktif adalah bahan penjerap dengan tahap porositi dan luas permukaan yang tinggi, dan terdiri daripada 90% karbon. Arang aktif adalah bahan penjerap yang sangat efektif untuk mengurangkan ammonia, disebabkan oleh struktur berliangnya yang unik dan luas permukaan yang tinggi (500-1500 m^2/g). Ia berfungsi melalui penjerapan fizikal dan kimia, di mana molekul ammonia terperangkap dalam liang-liang mikro dan berinteraksi dengan kumpulan berfungsi pada permukaan arang aktif. Keberkesanannya dipengaruhi oleh faktor seperti luas permukaan, jenis bahan mentah, pH larutan, suhu, dan masa sentuhan. Arang aktif telah digunakan secara meluas dalam rawatan air sisa, sistem akuakultur, dan kawalan bau dalam kandang ternakan. Kelebihannya termasuk kecekapan penjerapan yang tinggi, kos yang relatif rendah, kemampuan untuk diregenerasi, dan sifatnya yang mesra alam. Walau bagaimanapun, ia juga menghadapi cabaran seperti keperluan untuk penggantian atau regenerasi berkala dan kemungkinan penyumbatan liang oleh bahan organik lain. Sebagai contoh, satu kajian oleh Hossain et al. (2020) menunjukkan bahawa arang aktif berasaskan tempurung kelapa dapat

menyingkirkan sehingga 95% ammonia dari air sisa akuakultur pada keadaan optimum, menunjukkan potensinya yang besar dalam aplikasi pengurusan kualiti air.

Objektif ujikaji ini ialah untuk menyingkirkan ammonia dalam keadaan gas (udara) dan dalam keadaan cecair menggunakan arang aktif dan *B.subtilis* sebagai bahan penjerap. Penggunaan arang aktif dan *B.subtilis* dalam penyingkiran ammonia dijangka mampu mengatasi masalah kos yang tinggi dalam rawatan air sisa kumbahan. Sekiranya kadar penjerapan arang aktif dan *B.subtilis* terhadap ammonia adalah tinggi, maka penggunaan media arang aktif dan *B.subtilis* dianggap mampu untuk menyingkirkan ammonia dalam air sisa kumbahan. Selain itu, pertumbuhan bakteria terpilih (*B.subtilis*) juga akan disiasat untuk melihat keberkesanan bakteria dalam mengurangkan ammonia dan tumbuh dalam pelbagai keadaan.

2.3.1 Kajian Terdahulu Mengenai Pengurangan Ammonia Dan Aplikasinya

Jadual 2.1: Kajian literatur mengenai kajian terdahulu tentang pengurangan ammonia dan aplikasinya

BIL	KAEDAH	PENERANGAN	PEMBOLEHUBAH BEBAS	PENEMUAN	RUJUKAN
1	Penggunaan sistem biofilter dengan media campuran kompos dan zeolit untuk mengurangkan emisi ammonia dari kandang babi	Kaedah ini berpotensi untuk mengurangkan pencemaran udara dari industri ternakan	Komposisi media biofilter, kadar aliran udara, kepekatan awal ammonia	Pengurangan emisi ammonia sebanyak 82-95%. Biofilter menunjukkan prestasi yang stabil selama 100 hari operasi	Chen et al., 2021
2	Aplikasi nanopartikel besi sifar-valens (nZVI) untuk penyingkiran ammonia dari air sisa	Teknologi ini menawarkan pendekatan baru untuk rawatan air sisa dengan kecekapan tinggi	Dos nZVI, masa sentuhan, pH, kepekatan awal ammonia	Penyingkiran ammonia mencapai 98% dalam masa 60 minit pada pH 7. nZVI menunjukkan keupayaan penyingkiran yang tinggi dan cepat	Zhang et al., 2020
3	Penggunaan elektrokoagulasi untuk penyingkiran ammonia dari air sisa akuakultur	Kaedah ini menawarkan alternatif kepada kaedah biologi konvensional dengan masa rawatan yang lebih singkat	Ketumpatan arus, masa elektrolisis, pH awal, jenis elektrod	Penyingkiran ammonia mencapai 92% dengan elektrod aluminium pada ketumpatan arus 15 mA/cm ² selama 60 minit. Kaedah ini juga mengurangkan kekeruhan dan COD	Zhang et al., 2019

2.4 Risiko Tersembunyi di Sebalik Kesegaran Semburan Pewangi Tandas

Semburan pewangi tandas sering mengandungi campuran kompleks bahan kimia, termasuk sebatian organik meruap (VOC). Steinemann (2016) dalam kajiannya terhadap produk pewangi consumer mendapati bahawa produk-produk ini mengandungi purata 17 VOC, dengan 1,4-dioxane, yang diklasifikasikan sebagai karsinogen berkemungkinan oleh EPA AS, dikesan dalam 89% sampel yang diuji. Kajian ini juga mendedahkan bahawa 34% daripada VOC yang dikenal pasti diklasifikasikan sebagai toksik atau berbahaya di bawah sekurang-kurangnya satu undang-undang federal AS.

Nazaroff dan Weschler (2004) menunjukkan bahawa reaksi antara terpen (komponen biasa dalam pewangi) dengan ozon boleh menghasilkan formaldehid, acetaldehid, dan partikel halus. Dapatan ini disokong oleh kajian Singer et al. (2006) yang mendokumentasikan pembentukan partikel sekunder yang signifikan hasil daripada reaksi antara ozon dan produk pewangi. Partikel-partikel ini boleh menembusi jauh ke dalam sistem pernafasan, berpotensi menyebabkan atau memburukkan masalah pernafasan.

McDonald et al. (2018) dalam kajian mereka mendapati bahawa pelepasan VOC daripada produk pengguna, termasuk pewangi, menyumbang secara signifikan kepada pencemaran udara bandar. Kajian ini menunjukkan bahawa sumbangan VOC daripada produk pengguna kepada pembentukan ozon troposferik dan aerosol organik sekunder adalah setanding dengan pelepasan daripada sumber pembakaran bahan api fosil di beberapa kawasan bandar.

Maret et al. (2009) mengkaji kesan gabungan pendedahan kepada pelbagai bahan kimia pada tahap rendah dan mendapati bahawa walaupun pendedahan individu

mungkin di bawah tahap yang membimbangkan, kesan kumulatif atau sinergi boleh menghasilkan kesan yang tidak dijangka. Ini menunjukkan keperluan untuk penyelidikan lanjut mengenai kesan jangka panjang pendedahan kepada campuran bahan kimia dalam produk isi rumah seperti pewangi tandas.

Kesimpulannya, kajian literatur menunjukkan bahawa walaupun semburan pewangi tandas mungkin berkesan dalam mengurangkan bau yang tidak menyenangkan, penggunaannya membawa risiko terhadap kesihatan manusia dan alam sekitar. Penyelidikan lanjut diperlukan untuk memahami sepenuhnya implikasi jangka panjang penggunaan produk ini, terutamanya dalam konteks pendedahan kronik kepada dos rendah campuran bahan kimia. Pendekatan yang lebih mampan untuk pengurusan bau, seperti pengudaraan yang lebih baik atau penggunaan bahan-bahan semula jadi, mungkin perlu dipertimbangkan untuk mengurangkan risiko kesihatan dan alam sekitar.

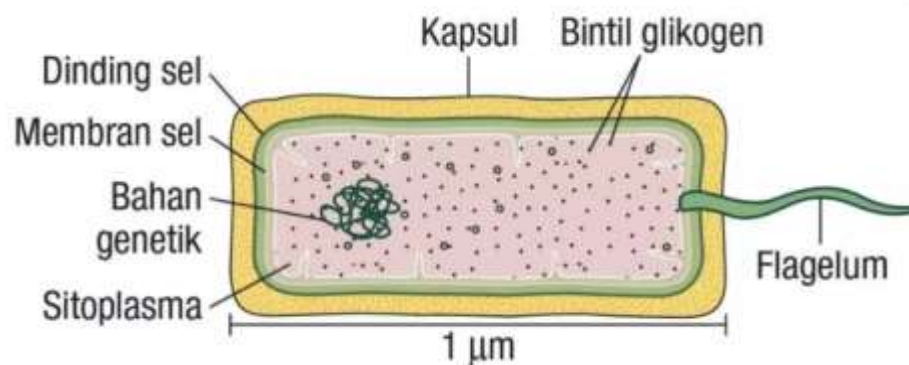
2.5 Pengenalan Kepada Bakteria

Bakteria, singular bakterium, adalah sekumpulan makhluk bersel tunggal mikroskopik yang terdapat dalam kuantiti yang besar di hampir setiap habitat di bumi. Bakteria adalah yang paling umum daripada semua spesies, dan mereka boleh ditemui di mana-mana sahaja, dari ventilasi laut dalam ke jauh di bawah permukaan bumi hingga ke saluran pencernaan manusia (Adam & Perner, 2018). Terdapat kira-kira 5×10^{30} bakteria di bumi, membentuk biomas yang melebihi semua haiwan dan tumbuhan.

Bakteria adalah organisma bersel tunggal yang tidak mempunyai nukleus yang terikat membran dan ciri-ciri dalaman tertentu, menjadikannya satu-satunya yang

mempunyai organisasi sel prokariotik. Sebagai kumpulan, bakteria boleh menggunakan bahan kimia bukan organik tertentu dan hampir semua komponen organik sebagai sumber makanan kerana keupayaan metabolik mereka yang sangat pelbagai. Walaupun sesetengah bakteria boleh menyebabkan penyakit pada manusia, haiwan, dan tumbuhan, kebanyakan kuman adalah tidak berbahaya.

Dari segi biodiversiti, penyakit, genetik, dan teknologi, kajian tentang interaksi antara spesies bakteria yang berbeza bertujuan untuk memberikan pandangan luar biasa mengenai proses evolusi dan sejarah kehidupan di bumi. Bakteria memainkan peranan penting sebagai organisma ekologi yang bermanfaat di mana aktiviti metabolik mereka adalah penting untuk kelangsungan hidup bentuk kehidupan yang lebih tinggi di bumi, dan tanpa mereka, kehidupan di planet ini akan musnah (Cabral, 2010). Bakteria dalam ekosistem membantu memastikan proses penting seperti penguraian selulosa, penguraian bahan organik, penetapan nitrogen, dan fotosintesis. Kira-kira separuh daripada filum bakteria kini boleh dibiakkan di makmal, dan lebih daripada 5000 jenis bakteria yang berbeza telah dikenalpasti. Terdapat pasti beberapa ribu bakteria yang belum dikenalpasti dan masih menunggu untuk dikenalpasti dengan betul.

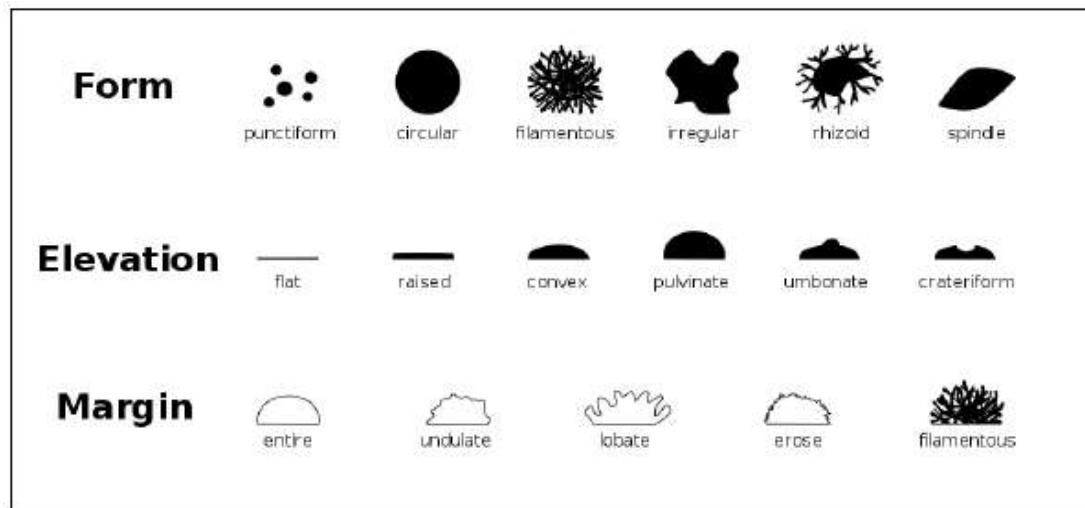


Rajah 2.1: Struktur asas bakteria

2.5.1 Klasifikasi Bakteria

Dengan menamakan dan mengklasifikasikan sifat-sifat bakteria, klasifikasi membantu dalam mengenal pasti kepelbagaian mereka. Bakteria diklasifikasikan menggunakan kaedah genetik atau bentuk sel dan metabolisme. Teknik genetik seperti sistem berasaskan DNA dan analisis 16S rRNA telah digunakan untuk menentukan tahap keterkaitan antara spesies bakteria untuk memperoleh maklumat penting (Rosselli et al., 2016). Oleh kerana pembezaan genetik menekankan hubungan evolusi bakteria, ciri-ciri biokimia dan fizikal juga penting untuk klasifikasi dan identifikasi mereka. Secara realitinya, bakteria diklasifikasikan berdasarkan pelbagai ciri, termasuk keupayaan bergerak, morfologi sel, perkembangan spora, struktur pengagregatan multisel, dan reaktiviti pewarnaan gram. Ciri-ciri morfologi boleh dipengaruhi oleh faktor persekitaran, termasuk warna dan bentuk koloni bakteria, yang tidak selalu tetap (Sousa et al., 2013).

Bakteria hanya boleh dicirikan dengan betul apabila ditumbuhkan pada medium tertentu, kerana keadaan pertumbuhannya mempengaruhi perubahan dalam sifat-sifat mereka. Bakteria akan menyerap nutrien dalam medium dan mula berkembang, meningkat dari ribuan kepada jutaan sel hingga berbilion. Koloni bakteria adalah koleksi sel bakteria yang kelihatan yang berasal daripada satu sel bakteria tunggal. Bakteria yang berbeza menyumbang kepada koloni yang berbeza; sesetengah koloni berwarna, manakala yang lain berbentuk tidak teratur (Kandi, 2015). Morfologi koloni adalah kajian tentang struktur dan bentuk koloni bakteria, dan ia adalah tahap awal dalam mengenal pasti dan mencirikan budaya bakteria. Saiz, warna, kelegapan, bentuk, ketinggian, dan margin adalah ciri-ciri umum yang digunakan untuk mentakrifkan morfologi koloni dengan konsisten dan tepat.



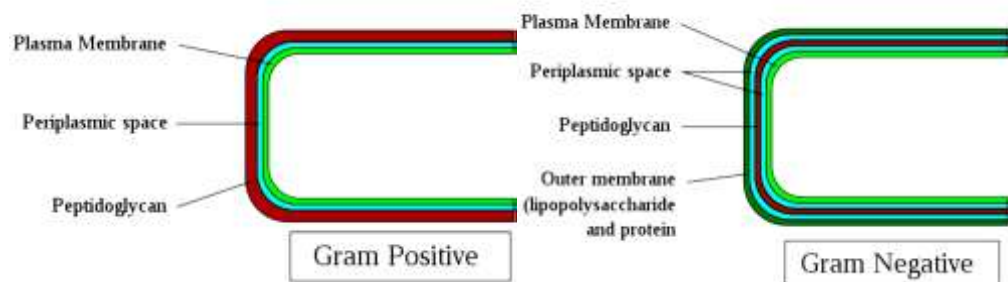
Rajah 2.2: Ciri-ciri morfologi koloni bakteria

Diambil daripada: Brown dan Alfred E (2012). Aplikasi mikrobiologi Benson: manual makmal dalam mikrobiologi am, Edisi ke-8. Rajah 47.4, ms 160.

2.5.2 Pengecatan dan Pengenalpastian Bakteria

Langkah pertama dalam pengenalpastian bakteria adalah ujian pewarnaan Gram yang menentukan sama ada bakteria itu adalah Gram-positif atau Gram-negatif. Bakteria Gram-positif adalah yang mengekalkan warna ungu kristal mereka selepas dibasuh dengan larutan dekolouran dalam ujian pewarnaan Gram. Bakteria Gram-positif mengecat ungu kerana lapisan peptidoglikan yang tebal di dinding sel mereka, yang membantu mengekalkan pewarnaan ungu kristal. Bakteria Gram-negatif pula, akan berwarna merah jambu atau merah selepas dibasuh dengan pewarna fuchsin atau safranin. Ini disebabkan oleh dinding sel yang lebih nipis peptidoglikan, yang membenarkan ungu kristal untuk terlepas semasa proses dekolouran. Faktor lain ialah komposisi dinding sel bakteria yang berbeza. Bakteria Gram-negatif mempunyai membran sel luar yang tidak dimiliki oleh bakteria Gram-positif. Pewarna ungu kristal, di sisi lain, disimpan dalam bakteria Gram-positif kerana kehadiran lapisan peptidoglikan yang kaya. Bakteria Gram-negatif mempunyai dinding sel yang lebih

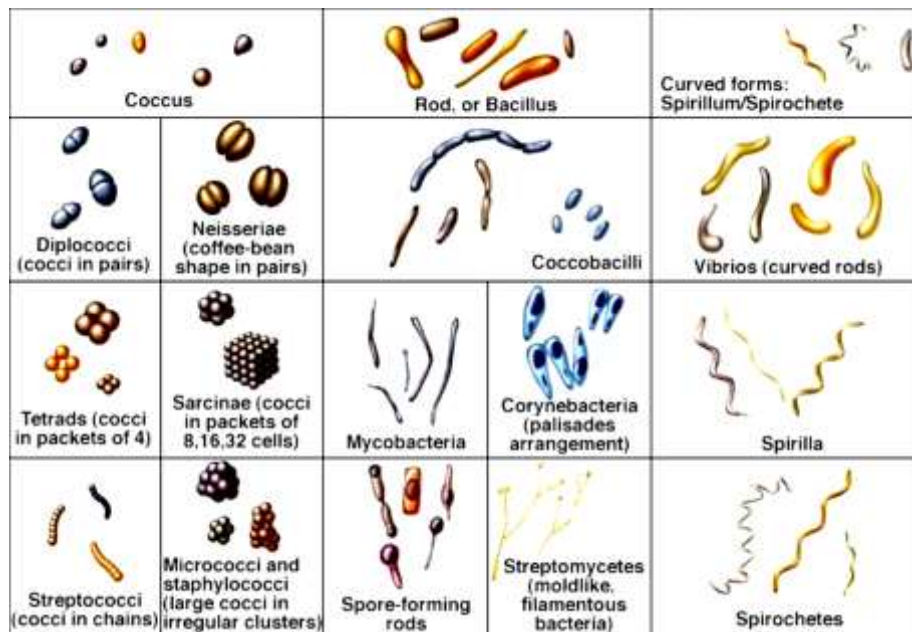
tidak boleh ditembusi daripada bakteria Gram-positif, menjadikan mereka lebih tahan terhadap antibodi. Membran luar bakteria Gram-negatif terdiri daripada lipopolisakarida dan molekul protein. Bakteria ini mempunyai pelbagai aplikasi, termasuk penggunaan komersial dan rawatan perubatan.



Rajah 2.3: Perbezaan struktur antara bakteria Gram positif dan Gram negatif

Diambil daripada: Brown dan Alfred E (2012). Aplikasi mikrobiologi Benson: manual makmal dalam mikrobiologi am, Edisi ke-8.

Dalam pandangan mikroskopik, bakteria biasanya menunjukkan salah satu daripada tiga struktur asas iaitu bacilli, cocci, dan spirilla (Al-mohanna, 2017). Cocci mempunyai bentuk oval atau bulat, bacilli mempunyai bentuk batang, dan spirilla mempunyai struktur spiral yang keras. Sesetengah organisma bakteria menunjukkan ciri-ciri pengelompokan atau organisasi sel pada sesetengah masa. Cocci boleh ditemui dalam pasangan, dalam kumpulan empat (tetrads), dalam kumpulan lapan (sarcina), kelompok seperti anggur (*staphylococci*), dan juga berjadual (*streptococci*). Sesetengah bakteria menghasilkan filamen panjang yang bercabang atau struktur tegak yang mengeluarkan spora yang berkembang menjadi bakteria baru.



Rajah 2.4: Struktur asas spesies bakteria

Diambil daripada: Brown dan Alfred E (2012). Aplikasi mikrobiologi Benson:

manual makmal dalam mikrobiologi am, Edisi ke-8. Rajah 6.6, m/s 34.

2.6 Pemilihan Mikroorganisma: *B.subtilis*

Pemilihan *B.subtilis* sebagai mikroorganisma untuk mengurangkan bau di kawasan yang tertutup adalah disebabkan oleh sifat-sifatnya yang sesuai untuk tujuan tersebut. *B.subtilis* adalah bakteria yang aerobik, gram-positif, dan memiliki sel berbentuk rod. Selain itu, ia adalah anaerob fakultatif yang mempunyai keupayaan untuk hidup dalam keadaan kurang oksigen. *B.subtilis* adalah anaerob fakultatif yang pernah dianggap sebagai aerob obligat (Beranová et al., 2010). Ia boleh merembeskan beberapa enzim yang memecahkan pelbagai substrat, yang membolehkan bakteria ini berkembang dalam persekitaran yang sentiasa berubah-ubah (Su et al., 2020). Kecepatan pertumbuhannya yang cepat, dengan masa penduaan serendah 20 minit, serta suhu pertumbuhan optimum antara 30 hingga 35°C, menjadikannya pilihan yang ideal untuk mengurangkan bau dalam kawasan tertutup.