

**Penunjuk Biolipid di Muara Sungai Selangor, Selangor: Analisis Prinsip
Komponen (PCA) Sterol dan Alkohol Lemak**
(Lipid Biomarkers in Estuary of Sungai Selangor, Selangor: Principal Component Analysis (PCA) of
Sterols and Fatty Alcohols)

Humrawali H., Ali M.M.

Pusat Pengajian Sains Sekitaran dan Sumber Alam, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan
Malaysia, 43600 Bangi, Selangor.

Received 7 May 2012; accepted 7 Oktober 2012

ABSTRAK

Sejumlah 34 sampel sedimen permukaan telah diambil di muara Sungai Selangor untuk mengenal pasti sumber dan variasi sebatian sterol dan alkohol lemak. Sampel kemudiannya diekstrak dan dianalisis menggunakan kromatografi gas-spektrometri jisim (GC-MS). Hasil kajian menunjukkan kehadiran 10 sebatian sterol dan 18 sebatian alkohol lemak di dalam sampel. Secara keseluruhannya, kawasan kajian didominasi oleh fitosterol, alkohol lemak rantai panjang (C₂₁-C₂₄) dan fitol yang merupakan penunjuk bagi bahan organik terestrial. Selain itu, sebatian sterol dan alkohol lemak yang lain juga dikenalpasti hadir yang menunjukkan input daripada organisma marin, bakteria dan sisa kumbahan. Analisis prinsip komponen (PCA) yang dijalankan terhadap kesemua sebatian sterol dan alkohol lemak telah berjaya mengkategorikan lokasi kajian kepada tiga sumber bahan organik iaitu terestrial, alga dan campuran di antara sumber marin, bakteria dan sisa kumbahan. Oleh itu, berdasarkan kepekatan individu serta PCA, kajian ini menunjukkan kehadiran sterol dan alkohol lemak di lokasi kajian adalah berpunca daripada pelbagai sumber walaupun didominasi oleh input daripada sumber terestrial.

Katakunci: Sungai Selangor, sterol, alkohol lemak, PCA

ABSTRACT

A total of 34 surface sediment samples were taken from Sungai Selangor estuary to identify sources and variations of sterols and fatty alcohols. Samples were then extracted and the compounds were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As a result, 10 sterol compounds and 18 fatty alcohol compounds were determined presence in the samples. Generally, the study area is dominated by phytosterols, long chain fatty alcohols (C₂₁-C₂₄) and phytol which is the indicator for terrestrial organic matter. Other than that, various type of sterols and fatty alcohols have been quantified which indicated input of marine organisms, bacterial and sewage. Principal component analysis (PCA) carried out with all compounds successfully characterized three main sources in the study area which were terrestrial, algae and a mixture of marine, bacterial and sewage. Thus, based on individual concentrations and the PCA, this study showed the presence of sterols and fatty alcohols in the study area are derived from various sources even more dominated by inputs from terrestrial sources.

Keywords: Sungai Selangor, sterols, fatty alcohols, PCA

PENGENALAN

Penunjuk biolipid merujuk kepada penggunaan sebatian lipid sebagai penunjuk biologi untuk menentukan taburan serta sumber semulajadi dan juga antropogenik bahan organik terutamanya di persekitaran akuatik (Mudge & Norris 1997, Zimmerman & Canuel 2001, Yoshinaga et al. 2008). Penunjuk biolipid yang terdapat di dalam lapisan sedimen akuatik mencerminkan komuniti organisma yang mendiami sesuatu kawasan tersebut yang merangkumi organisma akuatik setempat atau tumbuhan terestrial yang terdapat di kawasan sekitarnya (Koch et al. 2003, Villinski et al. 2008). Selain itu, peranan penunjuk biolipid yang seringkali diberi perhatian sejak kebelakangan ini adalah dalam kajian untuk mengenal pasti tahap pencemaran kumbahan di persekitaran akuatik (Bull et al. 2002, Froehner et al. 2008, Pratt et al. 2008). Kajian ini melibatkan dua sebatian yang berperanan sebagai penunjuk biolipid di persekitaran akuatik iaitu sebatian sterol dan alkohol lemak. Umumnya, sebatian sterol dan alkohol lemak sesuai dijadikan penunjuk biolipid adalah disebabkan sifatnya yang unik, iaitu sumber sebatianannya yang spesifik dan berupaya kekal di persekitaran untuk suatu tempoh yang lama tanpa mengalami proses biodegradasi (Saliot et al. 1991, Carreira et al. 2004).

Taburan sebatian sterol dan alkohol lemak di persekitaran adalah meluas tetapi sumber bagi kedua-dua sebatian tersebut adalah spesifik kerana berlainan kumpulan organisma menghasilkan jenis sterol dan alkohol lemak yang berbeza (Mudge & Duce 2005, Jardé et al. 2007, Santos et al. 2008, Belanger et al. 2009). Antara sumber utama sebatian sterol dan alkohol lemak di persekitaran akuatik adalah sumber semulajadi, iaitu pelbagai jenis organisma akuatik dan terestrial, manakala sumber antropogenik seperti sisa kumbahan serta sisa penggunaan baja organik. Sterol utama yang boleh dijumpai di persekitaran akuatik dengan limpahan yang tinggi adalah sebatian kolesterol yang dihasilkan oleh hampir kesemua organisma terestrial dan akuatik, serta sumber antropogenik terutamanya sisa kumbahan. Umumnya, kemasukan bahan organik tumbuhan terestrial ke persekitaran akuatik diwakili oleh tiga sebatian sterol iaitu stigmasterol, β -sitosterol dan kampesterol, serta alkohol lemak rantai panjang ($\geq C_{21}$) dan juga sebatian fitol. Bahan organik yang dihasilkan oleh organisma akuatik terutamanya plankton pula diwakili oleh sebatian brasikasterol dan dinosterol, serta alkohol lemak rantai pendek ($\leq C_{20}$). Selain itu, kemasukan sisa kumbahan yang turut meningkatkan koloni bakteria di persekitaran akuatik diwakili oleh sebatian koprostanol dan epikoprostanol serta alkohol lemak rantai bercabang (*-iso* dan *-anteiso*).

Penilaian alam sekitar kebiasaannya mempunyai set data yang kompleks kerana melibatkan pelbagai parameter di stesen kajian yang banyak untuk suatu tempoh masa yang akhirnya akan membentuk set data yang besar. Maka, ini memerlukan kaedah analisis statistik yang bersesuaian untuk memudahkan data diproses dan hasil yang tepat diperolehi. Teknik kemometrik merupakan antara analisis statistik multivariat yang seringkali diguna dalam bidang penilaian alam sekitar kerana data alam sekitar yang diperolehi tidak mempunyai taburan normal. Teknik kemometrik berupaya untuk mengenal pasti corak kelompok semulajadi data berdasarkan persamaan yang wujud di antara sampel (Kannel et al. 2007). Teknik analisis ini akhirnya akan mengurangkan bilangan pembolehubah di dalam data dengan membentuk beberapa kumpulan data yang lebih kecil berdasarkan beberapa parameter yang saling berhubungkait sesama pembolehubah tersebut (Logan et al. 2001, Zimmerman & Canuel 2001).

Terdapat tiga teknik kemometrik yang sering kali diaplikasi dalam bidang kajian penunjuk biolipid sterol dan alkohol lemak iaitu analisis kelompok, analisis penyingkiran dan analisis prinsip komponen (PCA). Objektif utama kajian ini adalah untuk mengaplikasikan PCA ke atas data sebatian sterol dan alkohol lemak serta gabungan kedua-dua kumpulan sebatian tersebut menggunakan prinsip matriks korelasi di antara pembolehubah. PCA akan mengenal pasti perkaitan di antara komponen sterol dan alkohol lemak yang hadir di dalam sampel dengan sumbernya di lokasi kajian.

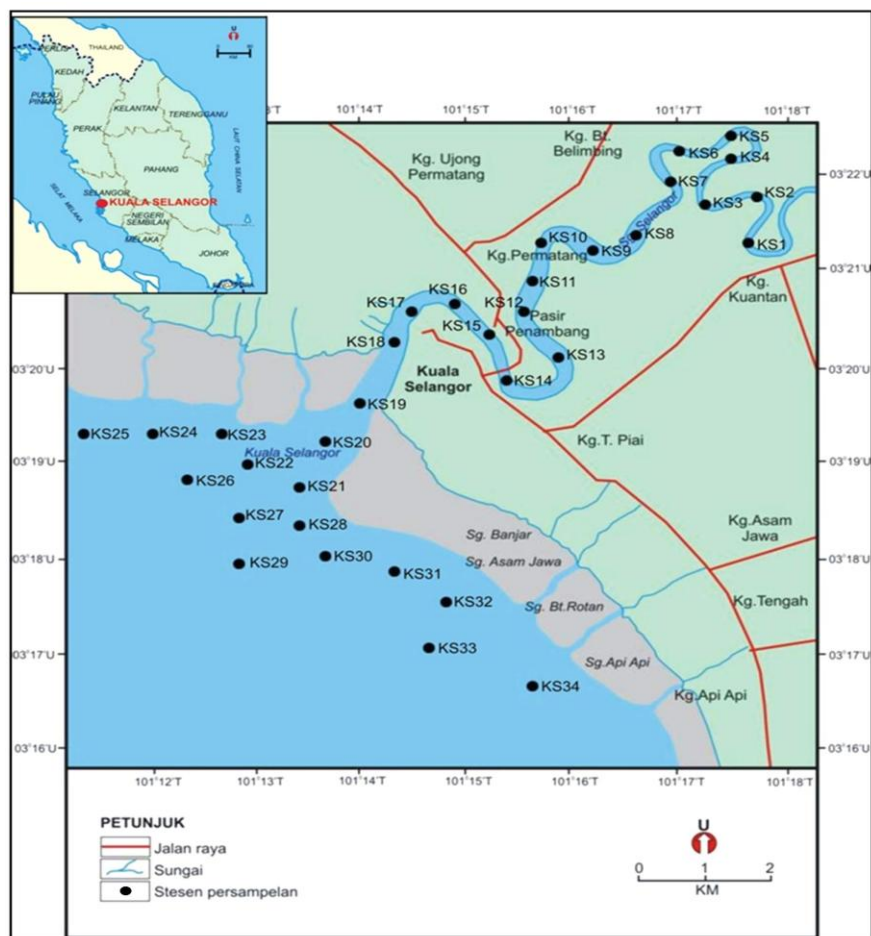
BAHAN DAN KAEDAH

Aktiviti pensampelan telah dijalankan di kawasan Kuala Selangor pada 12 April 2008 dan melibatkan sebanyak 34 stesen pensampelan di sepanjang Sungai Selangor bermula dari Kampung Kuantan sehingga ke kawasan muaranya (Rajah 1; Jadual 1). Sampel sedimen permukaan diambil menggunakan pencekup PONAR dan dimasukkan ke dalam botol kaca. Sampel-sampel tersebut disimpan bersama-sama ais di dalam bekas tahan beku dan sebaik sampai di makmal sampel disimpan di dalam peti sejuk beku sebelum analisis seterusnya.

Kuala Selangor yang merupakan sebuah perkampungan nelayan adalah sebuah daerah di bahagian utara negeri Selangor dan terletak di tepian Sungai Selangor. Sungai Selangor adalah di antara sistem sungai utama di Selangor yang mengalir terus ke Selat Melaka. Sungai ini adalah 75 km panjang, 500 m lebar di bahagian muaranya dan sekitar 2.5 m dalam di kawasan yang cetek tetapi di kawasan yang dalam boleh mencecah sehingga 10 m. Kawasan hutan dan paya yang dipenuhi dengan pokok bakau terdapat di sekitar lokasi kajian. Pokok bakau di sepanjang Sungai Selangor membentuk habitat bagi koloni kelip-kelip yang merupakan tarikan pelancongan utama di Kuala Selangor. Selain itu, di sekitar kawasan Kuala Selangor giat dijalankan aktiviti pertanian seperti hortikultur, peladangan kelapa sawit dan kelapa. Oleh yang demikian, Sungai Selangor mengalir melalui kawasan aktiviti pertanian terutamanya ladang kelapa sawit serta kawasan perkampungan tanpa memasuki kawasan bandar utama.

Kaedah pengestrakan sebatian sterol dan alkohol lemak daripada sampel sedimen permukaan telah dihuraikan dengan lebih lanjut di dalam Masni et al. (2010). Sebanyak 30-40 g berat basah sedimen dihidrolisis menggunakan 50 mL larutan 6% kalium hidroksida dalam metanol selama 4 jam. Sampel kemudiannya dibiarkan sejuk sebelum diempar pada 4000 putaran/minit selama 3 minit. Supernatan terbentuk dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditambah dengan 20 mL heksana dan 10 mL air suling nyah-ion. Sampel seterusnya digoncang kuat dan bahagian yang mengandungi lipid yang tidak polar diambil. Sampel seterusnya disejatkan menggunakan penyejat berputar pada suhu 40 °C dan dilarutkan semula dalam 2-3 mL heksana.

Sebanyak 2-3 titik bis(trimetilsilil)trifloroasetamida (BSTFA) ditambahkan ke dalam sampel sebelum dipanaskan di dalam blok pemanas pada suhu 60 °C selama 10 minit. Sampel dikeringkan menggunakan gas nitrogen sekali lagi dan dilarutkan semula dengan 1 mL heksana. Sampel disimpan pada suhu -20 °C sehingga dianalisis menggunakan KG-SJ.



Rajah 1: Lokasi dan stesen persampelan

Jadual 1: Koordinat stesen persampelan

Stesen persampelan	Koordinat		Stesen persampelan	Koordinat	
	Latitud, °U	Longitud, °T		Latitud, °U	Longitud, °T
KS1	03°21'10	101°17'50	KS18	03°20'11	101°14'30
KS2	03°21'50	101°17'46	KS19	03°19'45	101°14'02
KS3	03°21'44	101°17'09	KS20	03°19'29	101°13'53
KS4	03°22'05	101°17'31	KS21	03°18'50	101°13'21
KS5	03°22'43	101°17'36	KS22	03°18'58	101°12'59
KS6	03°22'22	101°17'02	KS23	03°19'17	101°12'49
KS7	03°21'56	101°16'55	KS24	03°19'17	101°12'00
KS8	03°21'22	101°16'49	KS25	03°19'17	101°11'31
KS9	03°21'15	101°16'12	KS26	03°18'51	101°12'11
KS10	03°21'18	101°15'51	KS27	03°18'23	101°12'53
KS11	03°20'57	101°15'52	KS28	03°18'23	101°13'21
KS12	03°20'42	101°15'37	KS29	03°17'58	101°12'53
KS13	03°20'04	101°15'58	KS30	03°18'00	101°13'51
KS14	03°19'53	101°15'7	KS31	03°17'58	101°14'24
KS15	03°20'10	101°15'11	KS32	03°17'44	101°14'48
KS16	03°20'48	101°15'01	KS33	03°17'01	101°14'44
KS17	03°20'45	101°14'36	KS34	03°16'44	101°15'46

Spektrum setiap sebatian sterol dan alkohol lemak yang hadir di dalam sampel direkodkan terus ke dalam program komputer KG-SJ, Turbo Mass untuk mengenal pasti spektrum sebatian berdasarkan jisim diagnosis utama dan sampingan setiap sebatian tersebut. Kepekatan sebatian sterol dan alkohol lemak ditentukan menggunakan lengkung kalibrasi larutan piawai kolesterol dan oktadekanol dalam bentuk eter-TMS dengan julat kepekatan 1-10 µg/g. Nilai had pengesanan bagi analisis sebatian alkohol lemak dalam kajian ini diperoleh dengan menggunakan larutan piawai oktadekanol-TMS, '*student t-value*' dan sisihan piawai. Nilai had pengesanan bagi sebatian sterol dan alkohol lemak adalah 0.15 µg/g.

Analisis Data PCA

Sebelum PCA dilakukan terhadap data sterol dan alkohol lemak, data kepekatan yang diperoleh perlu diolah agar sesuai diaplikasi menggunakan program Minitab untuk statistik multivariat. Pengolahan data kepekatan adalah berdasarkan kaedah yang digunakan oleh Yunker et al. (2005).

Sebatian yang tidak berjaya dikenal pasti hadir di sebarang stesen pensampelan perlu diisi dengan nilai yang diperoleh dengan membahagi dua nilai terendah bagi sebatian tersebut. Data kemudiannya dinormalkan dengan jumlah kepekatan untuk menyingkirkan julat perbezaan nilai kepekatan yang besar di antara data kepekatan. Seterusnya data yang telah dinormalkan perlu dibahagi dengan nilai purata geometrik setiap sebatian sebelum ditukar kepada bentuk log. Ini akan menghasilkan set data yang mempunyai nilai jumlah kepekatan bagi kesemua sampel adalah sama. Akhir sekali data ditukar kepada bentuk auto-skala dengan menggunakan rumus berikut;

$$\text{Data auto-skala} = \frac{\text{kepekatan sebatian} - \text{nilai purata kepekatan sebatian}}{\text{sisihan piawai kepekatan sebatian}}$$

Data yang berada dalam bentuk auto-skala sedia untuk PCA menggunakan program statistik Minitab versi 15. Sebanyak tiga komponen PCA dilakukan iaitu PCA bagi sebatian sterol, PCA bagi alkohol lemak serta PCA bagi campuran sterol dan alkohol lemak.

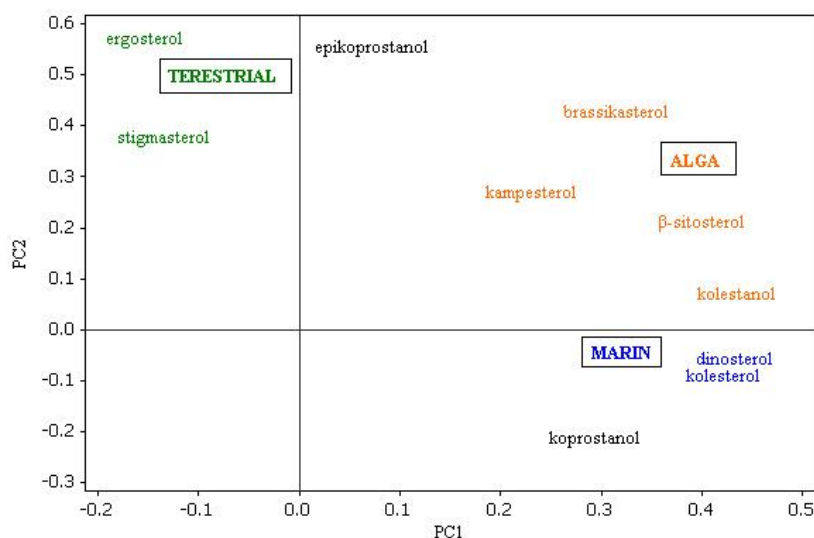
HASIL DAN PERBINCANGAN

Hasil kajian menunjukkan hadirnya sebanyak 10 jenis sebatian sterol dan 18 sebatian alkohol lemak di lokasi kajian. Kepekatan sebatian sterol dan alkohol lemak di setiap stesen pensampelan disenaraikan di dalam Jadual 2 dan Jadual 3. Taburan sebatian tersebut di lokasi kajian dibincangkan lebih lanjut di dalam Masni et al. (2010). Sebatian sterol dan alkohol lemak yang dikenal pasti hadir mewakili input daripada pelbagai sumber terutamanya tumbuhan terestrial, organisma marin, alga dan sisa kumbahan. Secara umumnya, lokasi kajian didominasi oleh fitosterol, alkohol lemak rantai panjang dan fitol yang merupakan penunjuk bagi input tumbuhan terestrial.

PCA sterol

Hasil PCA sterol yang ditunjukkan pada Rajah 2 telah mengasingkan sebatian sterol daripada sumber terestrial di sebelah kiri diagram manakala sebatian daripada sumber marin dan sisa

kumpulan berkelompok di sebelah kanan diagram. PC1 dan PC2 masing-masing menjelaskan 37% serta 24% bagi keseluruhan varians data.



Rajah 2 Plot muatan bagi sebatian sterol

Tiga sebatian fitosterol yang dikenal pasti hadir di lokasi kajian tidak berada dalam kelompok yang sama; stigmasterol dimuatkan secara negatif pada PC1 manakala kampesterol serta β -sitosterol dimuatkan secara positif pada PC1 bersama dengan sebatian sterol yang lain. Ergosterol didapati dimuatkan bersama dengan stigmasterol. Ergosterol adalah signifikan dengan kehadiran sebatian sterol daripada tumbuhan terestrial kerana sebatian tersebut dihasilkan oleh fungi yang terlibat dalam proses penguraian bahan organik daripada sisa tumbuhan terestrial yang memasuki persekitaran akuatik (Suberkropp et al. 1993, Mudge & Norris 1997). Secara tidak langsung kehadiran ergosterol mengukuhkan lagi bahawa stigmasterol berpunca daripada tumbuhan terestrial dan dengan ini, PCA mencadangkan penunjuk utama bagi tumbuhan terestrial adalah stigmasterol dan ergosterol.

Sterol daripada sumber marin iaitu dinosterol dan brassikasterol juga didapati tidak berkumpul bersama; dinosterol dimuatkan secara negatif pada PC2 dan brassikasterol dimuatkan secara positif pada PC2. Walaupun kedua-dua sebatian tersebut merupakan penunjuk bagi input daripada organisma marin, namun hasil PCA menjelaskan sebatian tersebut tidak dihasilkan oleh sumber yang sama. Kolesterol yang juga merupakan penunjuk bagi input organisma marin turut dimuatkan bersama dengan dinosterol. Maka, ini mengukuhkan bahawa dinosterol dan kolesterol adalah penunjuk utama bagi input daripada organisma marin. Tambahan pula, kandungan kedua-dua sebatian ini adalah lebih tinggi di stesen pensampelan yang terletak di kawasan muara berbanding di kawasan sungai.

Jadual 2:Kepekatan sterol bagi setiap stesen pensampelan

Stesen pensampelan	Kepekatan sterol ($\mu\text{g/g}$ berat kering sedimen)									
	Kolesterol	Fitosterol				Sterol daripada sisa kumbahan			Sterol daripada organisma marin	
		Stigmasterol	Kampesterol	β -sitosterol	Ergosterol	Koprostanol	Epikoprostanol	Kolestanol	Brasikasterol	Dinosterol
KS1	2.19	12.55	1.70	0.58	0.88	0.62	1.09	1.18	0.68	t.d.
KS2	5.99	12.95	5.32	1.57	2.79	0.17	3.66	3.96	2.31	t.d.
KS3	5.35	6.87	3.26	0.58	0.98	0.20	3.03	1.74	1.38	t.d.
KS4	5.52	18.60	6.93	0.71	1.63	0.33	1.64	5.05	2.36	t.d.
KS5	5.76	29.25	7.18	4.87	0.67	0.63	7.89	2.97	8.90	t.d.
KS6	4.02	12.43	4.13	1.34	2.67	0.55	2.14	2.00	1.90	t.d.
KS7	1.00	6.41	1.88	1.24	1.91	1.69	1.99	0.48	1.71	t.d.
KS8	23.99	5.25	54.99	0.62	2.01	0.92	1.30	9.71	8.57	t.d.
KS9	4.86	21.99	6.21	1.16	2.13	0.39	2.65	4.56	1.84	t.d.
KS10	3.34	7.51	10.43	1.38	5.11	2.19	5.67	1.47	0.32	0.30
KS11	2.24	17.18	0.84	0.74	1.26	1.53	1.48	0.30	1.20	0.32
KS12	3.68	10.26	3.54	9.49	12.00	0.46	14.97	1.25	14.76	0.33
KS13	5.23	28.67	11.68	1.55	3.52	0.42	5.11	5.13	2.42	1.81
KS14	10.79	12.78	25.43	0.95	2.68	0.49	3.37	8.92	6.15	2.33
KS15	5.36	10.28	3.84	24.93	32.43	0.33	36.15	2.59	35.34	0.69
KS16	3.57	15.24	4.87	1.06	1.71	0.28	2.49	3.45	1.50	0.95
KS17	2.68	5.78	3.53	0.98	2.02	0.45	2.51	2.21	1.27	1.25
KS18	1.59	22.68	4.71	1.79	2.87	0.20	3.92	2.07	3.54	0.93
KS19	4.55	17.77	2.62	0.92	1.40	2.25	2.01	2.79	2.39	1.23
KS20	3.40	5.39	39.31	13.42	18.19	2.85	22.89	5.26	19.77	2.15
KS21	71.71	6.87	9.34	2.04	3.23	0.13	35.86	2.46	10.14	0.31
KS22	2.66	14.83	0.24	3.36	4.47	0.61	6.44	1.21	5.64	3.36
KS23	2450.98	1.95	4.56	7.76	t.d.	3.04	0.89	25.23	3.74	13.41
KS24	44.72	3.43	5.21	13.67	t.d.	3.90	1.47	10.89	4.51	38.43
KS25	397.82	16.98	10.25	0.66	2.40	3.99	3.33	6.89	3.82	1.19
KS26	1.22	5.60	0.66	0.80	1.43	0.48	2.14	0.61	1.81	t.d.

KS27	13.86	1.17	1.90	3.14	t.d.	1.04	21.80	4.54	2.10	0.68
KS28	13.54	40.99	52.82	3.18	8.58	0.97	11.02	4.33	3.15	3.42
KS29	22.90	4.37	5.58	12.86	t.d.	1.18	19.59	9.49	5.67	16.02
KS30	16.02	51.13	12.97	3.36	6.50	3.23	9.48	12.29	6.83	1.92
KS31	438.97	15.36	14.70	69.23	t.d.	3.40	2.87	29.06	16.97	41.71
KS32	14.87	1.44	9.30	1.60	t.d.	2.15	0.85	0.97	1.98	1.84
KS33	11.04	3.45	3.19	6.25	t.d.	2.38	1.16	5.17	3.44	9.18
KS34	21.32	5.69	3.58	8.43	t.d.	0.78	2.28	12.77	7.15	2.01

t.d. – tidak dapat dikesan kerana kepekatan sebatian lebih rendah daripada had

Jadual 3:Kepekatan alkohol lemak bagi setiap stesen pensampelan

Stesen pensampelan	Kepekatan alkohol lemak ($\mu\text{g/g}$ berat kering sedimen)																	
	C_{12}	C_{13}	C_{14}	iC_{15}	αC_{15}	C_{15}	C_{16}	iC_{17}	αC_{17}	C_{17}	C_{18}	C_{19}	C_{20}	C_{21}	C_{22}	C_{23}	C_{24}	fitol
KS1	8.36	11.58	80.50	9.46	9.24	13.96	92.07	9.89	8.65	11.99	96.44	51.85	92.69	147.57	292.73	298.04	265.88	800.83
KS2	9.74	18.11	65.87	22.02	22.75	17.89	98.31	11.60	14.81	16.48	94.45	81.06	90.88	124.36	232.59	296.84	283.80	1168.40
KS3	8.43	12.16	49.61	13.55	17.18	24.21	91.32	10.17	17.69	17.44	97.36	63.14	79.47	156.12	279.93	234.36	183.90	903.03
KS4	6.77	16.40	69.11	20.56	17.34	11.63	108.98	10.57	9.47	12.88	86.75	80.72	154.06	159.97	220.16	213.49	291.47	1059.82
KS5	t.d.	27.13	0.00	21.99	26.34	21.53	113.58	6.49	8.38	8.10	97.95	182.29	44.70	248.05	385.10	236.57	443.01	238.37
KS6	t.d.	16.20	65.28	18.49	15.65	16.30	107.32	19.23	15.78	26.30	89.53	168.62	130.12	264.98	293.74	217.01	319.28	696.37
KS7	t.d.	12.53	t.d.	t.d.	t.d.	11.32	150.63	t.d.	t.d.	t.d.	57.04	55.19	19.40	166.96	295.44	219.20	219.16	137.82
KS8	6.19	28.99	70.35	25.79	26.73	24.92	147.18	16.04	16.94	30.76	82.61	92.80	91.68	160.70	290.25	199.37	225.75	2308.38
KS9	11.58	29.83	71.17	13.91	10.98	12.66	157.02	16.10	12.84	14.33	97.36	90.06	86.22	173.86	255.44	235.27	228.08	959.56
KS10	t.d.	31.98	82.93	25.34	29.98	7.47	151.93	t.d.	t.d.	t.d.	86.07	88.97	51.38	283.06	223.24	171.38	245.25	838.30
KS11	t.d.	18.20	t.d.	13.50	11.42	44.20	137.59	t.d.	t.d.	t.d.	89.61	56.46	16.45	257.61	294.97	193.84	273.28	467.63
KS12	t.d.	29.48	97.40	21.57	15.75	25.53	112.10	12.17	16.58	11.20	93.63	335.94	37.24	429.30	328.43	73.71	318.72	700.99
KS13	7.24	33.32	85.37	18.64	10.23	17.80	129.96	8.81	13.33	16.96	98.58	128.18	23.25	190.79	273.27	187.43	258.66	1390.90
KS14	9.74	35.51	98.88	34.36	43.65	25.71	133.82	7.75	15.85	17.57	94.92	100.17	98.13	179.22	252.60	194.35	291.61	1046.91
KS15	11.62	36.26	86.61	39.41	43.55	29.09	164.32	17.56	11.22	21.52	106.33	96.38	87.21	1065.85	866.85	176.32	986.95	740.18
KS16	7.02	23.04	97.38	36.17	35.93	48.63	114.30	18.33	19.49	32.42	90.34	79.59	100.17	153.36	394.36	155.77	395.84	1341.90
KS17	t.d.	20.30	109.85	42.37	30.14	11.41	124.83	9.89	12.07	14.76	107.40	96.03	50.33	266.24	256.10	137.32	226.17	1286.71
KS18	t.d.	25.08	97.88	29.37	24.26	8.59	185.45	t.d.	t.d.	6.93	91.51	93.70	85.06	103.52	228.90	170.51	192.51	660.45
KS19	9.44	23.66	101.94	23.51	18.86	33.27	184.84	11.12	23.29	23.76	101.26	70.98	74.97	178.84	268.73	147.70	184.49	1057.41
KS20	t.d.	38.90	120.13	3.62	4.74	19.98	147.21	12.17	7.38	12.92	96.29	142.85	6.21	592.39	1089.76	199.35	1117.51	236.54
KS21	13.48	31.01	116.36	19.99	14.15	85.85	108.76	t.d.	t.d.	22.09	106.09	192.54	37.46	233.67	468.53	189.53	356.80	614.28
KS22	t.d.	33.14	t.d.	19.23	16.78	97.24	133.24	23.36	12.03	39.87	28.13	90.86	20.62	110.15	561.30	410.27	299.76	742.43
KS23	t.d.	83.12	131.02	44.68	48.33	61.96	112.16	46.18	38.15	47.99	99.75	143.24	92.24	88.31	314.08	485.63	124.28	502.85

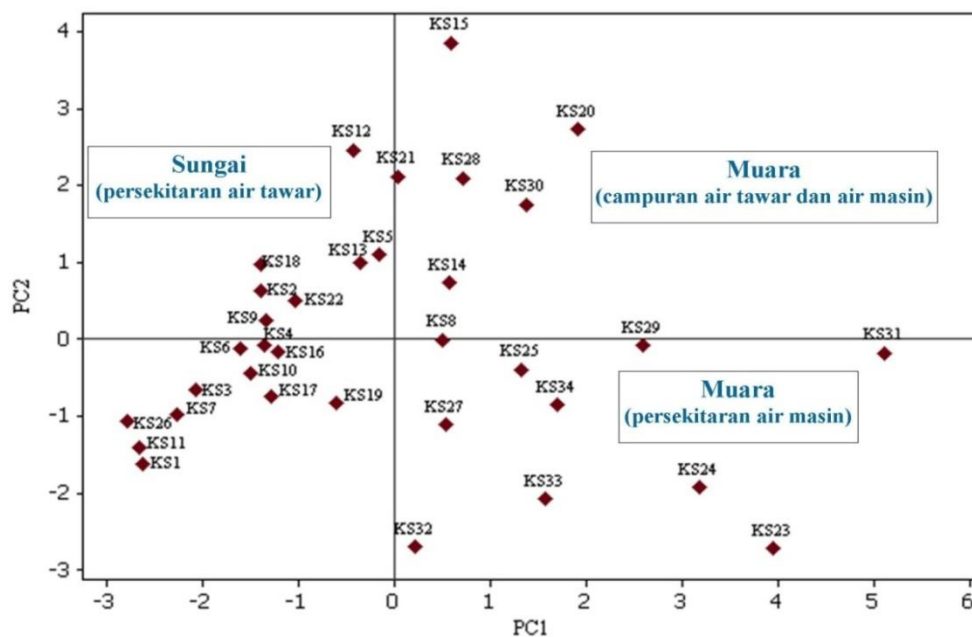
KS24	5.86	131.98	134.49	14.03	12.67	63.59	132.29	50.59	59.57	56.00	123.59	133.92	93.78	85.89	215.67	371.02	171.76	167.06
KS25	7.98	688.01	243.76	17.05	18.16	40.70	276.06	18.19	17.10	24.05	153.42	92.39	136.28	63.67	157.12	211.61	101.08	103.05
KS26	14.80	425.27	108.34	23.03	19.01	50.21	104.73	10.89	12.29	30.17	101.69	45.79	53.47	59.45	144.26	224.88	97.17	96.56
KS27	4.06	115.37	129.81	12.71	16.14	139.67	115.47	42.60	35.52	44.63	139.64	63.91	35.99	81.39	111.91	346.81	94.58	111.95
KS28	7.65	378.44	223.71	14.70	13.79	15.26	237.44	10.19	11.01	15.28	276.57	94.18	190.99	111.39	340.11	395.88	285.80	121.63
KS29	9.65	96.01	110.22	83.09	95.74	146.48	226.62	20.31	24.13	45.30	284.96	192.40	31.74	99.67	83.54	188.23	58.92	100.69
KS30	t.d.	615.76	341.80	310.80	109.64	29.29	378.87	15.57	21.31	38.68	260.24	215.15	221.35	248.95	388.59	413.43	455.90	128.96
KS31	10.92	119.84	29.05	23.92	44.84	121.01	114.44	18.18	16.66	76.99	110.37	115.15	183.60	141.19	389.73	249.75	425.55	1596.14
KS32	t.d.	156.79	t.d.	24.77	32.76	178.63	t.d.	t.d.	t.d.	t.d.	101.66	157.25	85.68	254.54	391.12	278.22	353.37	1201.45
KS33	t.d.	114.66	99.46	14.37	17.50	158.68	113.12	41.26	48.58	37.07	116.97	149.45	97.34	134.52	161.05	121.35	244.37	119.63
KS34	6.33	115.25	99.19	23.36	20.12	111.11	116.05	19.28	15.55	90.46	119.79	137.19	99.11	184.01	464.71	314.17	362.48	915.08

t.d. – tidak dapat dikesan kerana kepekatan sebatian lebih rendah daripada had pengesanan

Sebatian brasikasterol, kampesterol, β -sitosterol dan kolestanol pula dimuatkan bersama secara positif pada PC1. Walaupun sumber utama brasikasterol adalah organisma marin, kampesterol serta β -sitosterol dihasilkan oleh tumbuhan terestrial manakala kolestanol terhasil daripada proses penurunan kolesterol, tetapi kesemua sebatian ini mempunyai sumber sampingan yang sama iaitu organisma air tawar terutamanya alga. Walaupun sumber utama brasikasterol adalah diatom marin, tetapi sebatian ini juga dilaporkan turut berpunca daripada diatom air tawar dan krustasea (Yunker et al. 1995, Pazos et al. 2005). Kampesterol dan β -sitosterol yang dikenali sebagai penunjuk tumbuhan terestrial pula turut mempunyai sumber sampingan di persekitaran akuatik iaitu fitoplankton dan tumbuhan akuatik (M ejanelle & Laureillard 2008, Santos et al. 2008). Manakala kolestanol yang terhasil daripada proses penurunan kolesterol juga mempunyai sumber sampingan iaitu fitoplankton, zooplankton dan tumbuhan akuatik (Mudge et al. 1999, Froehner et al. 2008). Kesemua sumber sampingan sebatian tersebut mendiami kawasan air tawar serta kawasan muara yang masih menerima pengaruh air tawar.

Sterol yang merupakan penunjuk bagi sisa kumbahan di persekitaran akuatik, iaitu koprostanol, epikoprostanol, dan kolestanol juga agak terasing dari satu sama lain. Koprostanol dimuatkan secara positif pada PC1 tetapi tidak berkelompok bersama dengan dinosterol dan kolesterol. Epikoprostanol dan kolestanol pula dimuatkan secara positif pada PC2 tetapi kedua-dua sebatian ini tidak berkumpul bersama. Ini menunjukkan bahawa sisa kumbahan bukan sumber utama bahan organik di kawasan kajian.

Kebanyakan stesen pensampelan yang terletak di kawasan sungai dimuatkan bersama di sebelah kiri plot skor manakala stesen pensampelan di kawasan muara dimuatkan di sebelah kanan plot skor (Rajah 3). Stesen pensampelan di kawasan sungai didominasi oleh sterol yang berpunca daripada sumber terestrial manakala yang terletak di kawasan muara adalah didominasi oleh sterol yang berpunca daripada sumber alga serta marin. Stesen pensampelan yang lebih banyak dimuatkan secara negatif pada PC1 menunjukkan sebahagian besar lokasi kajian menerima kemasukan bahan organik terestrial yang tinggi manakala stesen pensampelan di kawasan muara dimuatkan secara positif pada PC1.

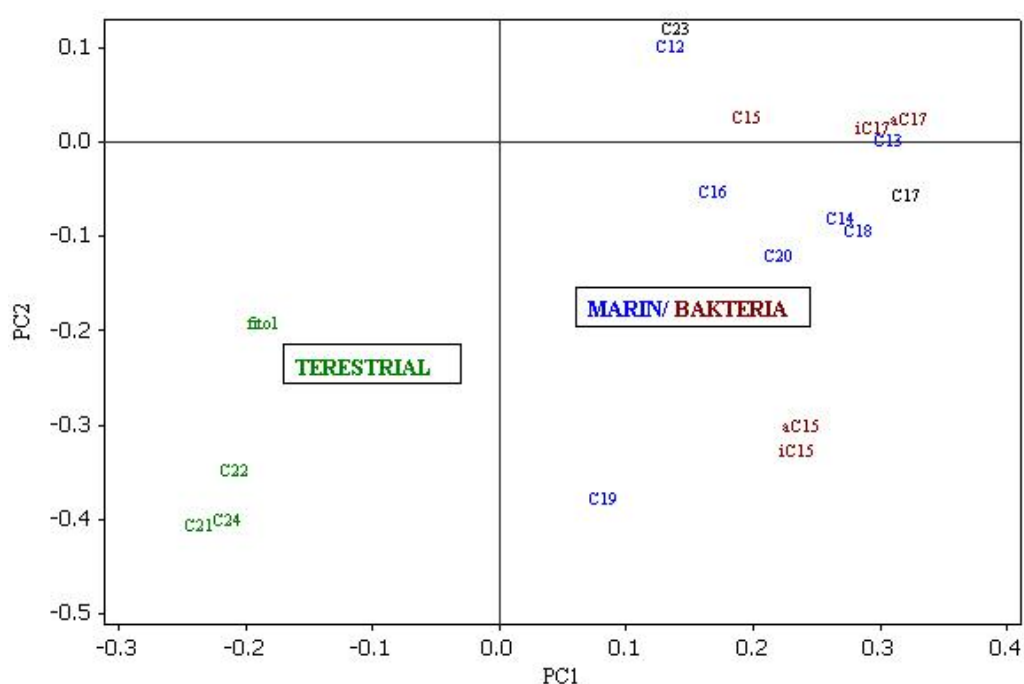


Rajah 3. Plot skor bagi 34 stesen pensampelan berdasarkan sebatian sterol

PCA alkohol lemak

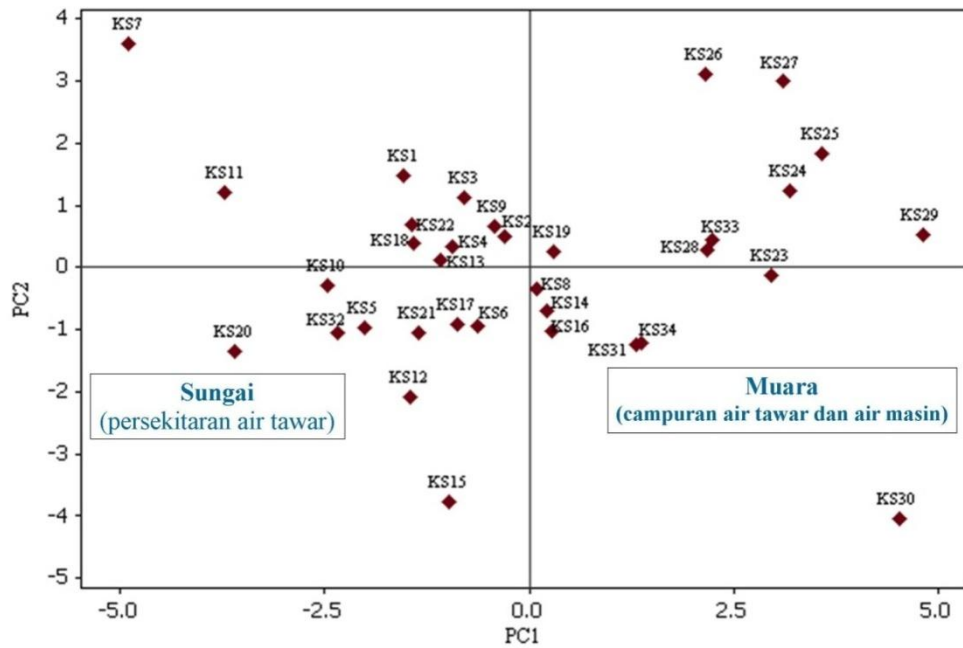
Model PCA alkohol lemak berjaya mengkategorikan dua kumpulan sebatian berdasarkan sumber biogeokimianya di lokasi kajian iaitu sebatian daripada sumber terestrial dan campuran sebatian daripada sumber marin serta bakteria (Rajah 4). PC1 dan PC2 bagi alkohol lemak pula masing-masing menjelaskan 31% dan 15% bagi keseluruhan varians data.

Alkohol lemak yang berpunca daripada sumber terestrial iaitu sebatian C_{21} , C_{22} , C_{24} dan fitol dimuatkan secara negatif pada PC1 dan PC2. Sebatian yang dihasilkan oleh sumber marin iaitu alkohol lemak rantai pendek serta sebatian bercabang yang dihasilkan oleh bakteria dimuatkan secara positif pada PC1. Percampuran di antara dua kategori alkohol lemak ini menunjukkan tiada pengaruh yang jelas bagi kedua-dua sumber tersebut di lokasi kajian. Sebatian C_{22} dan C_{24} yang merupakan alkohol lemak utama yang mewakili sumber terestrial didapati berkumpul bersama dengan fitol, manakala sebatian C_{14} dan C_{16} yang mewakili sumber marin juga berkumpul bersama dengan sebatian rantai pendek yang lain.



Rajah 4. Plot muatan bagi sebatian alkohol lemak

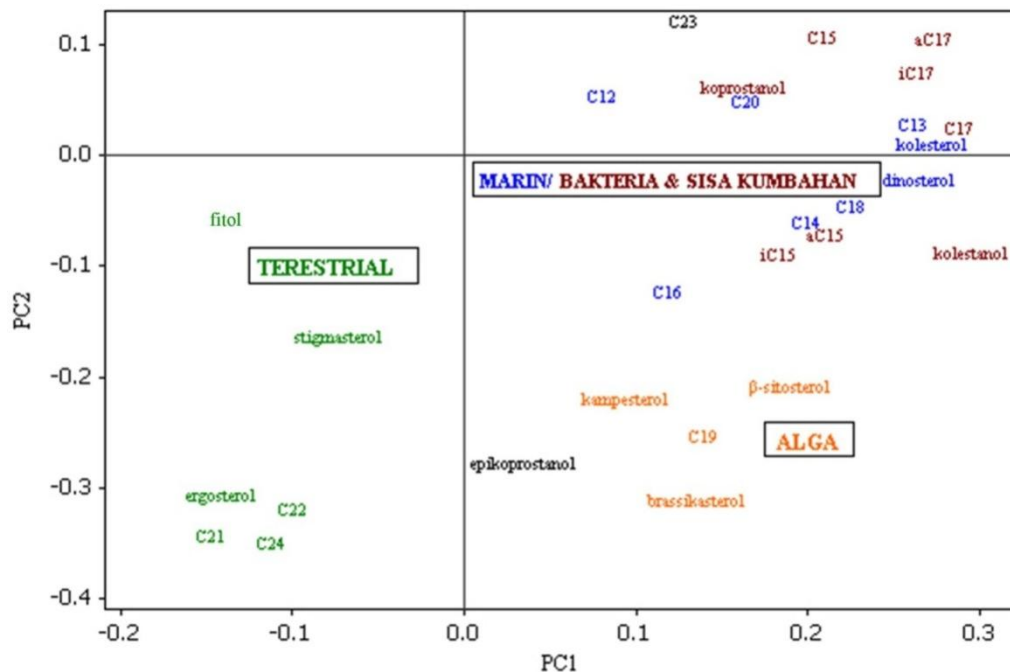
Plot skor stesen pensampelan berdasarkan sumber biogeokimia alkohol lemak menunjukkan corak taburan yang sama seperti yang ditunjukkan oleh plot skor berdasarkan sumber biogeokimia sterol. PC1 memisahkan stesen pensampelan yang terletak di kawasan sungai yang didominasi oleh alkohol lemak rantai panjang dengan stesen pensampelan yang terletak di kawasan muara yang didominasi oleh alkohol lemak rantai pendek serta rantai bercabang (Rajah 5). Stesen pensampelan yang terletak di kawasan sungai dimuatkan di sebelah kiri plot skor manakala yang terletak di kawasan muara dimuatkan di sebelah kanan.



Rajah 5. Plot skor bagi 34 stesen pensampelan berdasarkan sebatian alkohol lemak

PCA gabungan sterol dan alkohol lemak

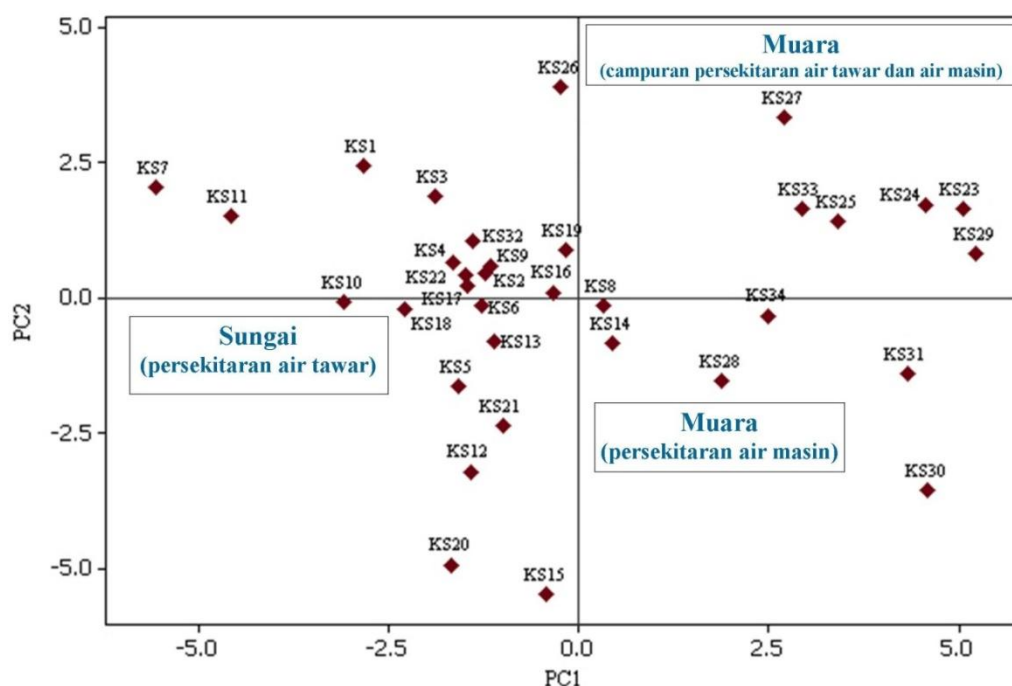
Hasil PCA gabungan kedua-dua sterol dan alkohol lemak memberikan gambaran kategori sumber biogeokimia sebatian yang lebih jelas dan tidak jauh berbeza daripada hasil PCA sterol dan alkohol lemak secara individu (Rajah 6). PC1 dan PC2 bagi gabungan sterol dan alkohol lemak masing-masing menjelaskan 27% dan 16% bagi keseluruhan varians data. PCA mengkategorikan sebatian kepada tiga kelompok sumber biogeokimia utama di lokasi kajian iaitu terestrial, alga dan campuran daripada sumber marin, bakteria serta sisa kumbahan.



Rajah 6:Plot muatan bagi gabungan sebatian sterol dan alkohol lemak

Secara keseluruhannya hasil PCA gabungan sterol dan alkohol lemak ini mencadangkan sebatian yang mewakili input daripada sumber terestrial adalah stigmasterol, ergosterol, sebatian alkohol lemak C_{21} , C_{22} , C_{24} dan fitol yang dimuatkan secara negatif pada PC1 dan PC2. Input daripada alga seperti fitoplankton, tumbuhan akuatik serta diatom pula diwakili oleh brasikasterol, kampesterol, β -sitosterol dan alkohol lemak C_{19} yang dimuatkan secara positif pada PC1 tetapi berkumpul bersama di sebelah plot muatan. Walau bagaimanapun, sebatian daripada sumber marin, bakteria dan sisa kumbahan dimuatkan bersama secara positif pada PC1 tetapi berkumpul di sebelah atas plot muatan.

Plot skor menunjukkan pengumpulan stesen pensampelan yang sama seperti PCA sterol dan PCA alkohol lemak. Stesen pensampelan di kawasan sungai dimuatkan secara negatif pada PC1 manakala stesen pensampelan di kawasan muara dimuatkan secara positif pada PC1 (Rajah 7). Empat stesen yang dimuatkan secara positif pada PC1 di sebelah kanan bahagian bawah plot skor iaitu stesen KS28, KS30, KS31 dan KS34 dipengaruhi oleh sebatian yang dihasilkan oleh alga. Tetapi jika diperhatikan stesen KS31 dan KS34 lebih menghampiri bahagian positif PC2 yang terdapatnya pengumpulan stesen pensampelan yang didominasi oleh campuran sumber marin, bakteria serta sisa kumbahan. Walaupun stesen KS31 dan KS34 dipengaruhi oleh sebatian daripada alga tetapi berdasarkan kepekatan sebatian, kedua-dua stesen tersebut lebih didominasi oleh kolesterol (Rajah 7). Plot skor menunjukkan stesen KS23, KS24, KS25, KS27, KS29 dan KS33 adalah stesen yang menerima input daripada sumber marin atau hasil daripada tindakan bakteria serta sisa kumbahan yang tinggi. Berdasarkan kepekatan sebatian juga, lima stesen pensampelan yang terletak di kawasan muara didominasi oleh sebatian-sebatian tersebut kecuali stesen KS33 yang didominasi oleh sebatian daripada sumber terestrial. Pengumpulan stesen KS33 bersama dengan stesen-stesen tersebut berkemungkinan kerana kedudukannya di kawasan muara menyebabkan pengaruh yang kuat daripada sumber marin walaupun sebatian dominan adalah fitosterol serta alkohol lemak rantai panjang.



Rajah 7: Plot skor bagi 34 stesen pensampelan bagi gabungan sebatian sterol serta alkohol lemak

KESIMPULAN

Kajian ini telah berjaya memberikan gambaran kandungan bahan organik yang terdapat di dalam sedimen permukaan di kawasan sungai dan muara Sungai Selangor. Variasi sterol dan alkohol lemak yang dikenal pasti hadir menunjukkan input bahan organik di lokasi kajian adalah daripada pelbagai sumber terutamanya tumbuhan terestrial, organisma marin, bakteria dan sisa kumbahan.

Analisis prinsip komponen (PCA) yang diaplikasi menggunakan kesemua sebatian sterol dan alkohol lemak telah mengkategorikan lokasi kajian kepada tiga sumber biogeokimia bahan organik iaitu terestrial, alga dan campuran di antara sumber marin, bakteria serta sisa kumbahan. Sumber marin, bakteria dan sisa kumbahan tidak berjaya diasingkan berikutan pengaruh input setiap satunya adalah rendah kerana lokasi kajian yang lebih menjurus kepada persekitaran sungai dan bebas dari pencemaran kumbahan.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini dibiayai oleh Kementerian Sains Teknologi dan Inovasi Malaysia melalui geran Sciencefund 04-01-02-SF0193 dan 04-01-02-SF0698.

RUJUKAN

- Belanger, S.E., Sanderson, H., Fisk, P.R., Schäfers, C., Mudge, S.M., Willing, A., Kasai, Y., Nielsen, A.M., Dyer, S.D., Toy, R., 2009. Assessment of the environment risk of long-chain aliphatic alcohols. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72(4)**, 1006-1015.
- Bull, I.D., Lockheart, M.J., Elhmmali, M.M., Roberts, D.J., Evershed, R.P., 2002. The origin of faeces by means of biomarker detection. *Environment International* **27(8)**, 647-654.
- Carreira, R.S., Wagener, A.L.R., Readman, J.W., 2004. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space-time variations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **60(4)**, 587-598.
- Froehner, S., Martins, R.F., Errera, M.R., 2008. Assessment of fecal sterols in Barigui River sediments in Curitiba, Brazil. *Environmental Monitoring Assessment* **157(1-4)**, 591-600.
- Jardé, E., Gruau, G., Mansuy-Huault, L., 2007. Detection of manure-derived organic compounds in rivers draining agricultural areas of intensive manure spreading. *Applied Geochemistry* **22(8)**, 1814-1824.
- Kannel, P.R., Lee, S., Kanel, S.R., Khan, S.P., 2007. Chemometric application in classification and assessment of monitoring locations of an urban river system. *Analytica Chimica Acta* **582(2)**, 390-399.
- Koch, B.P., Rullkötter, J., Lara, R.J., 2003. Evaluation of triterpenols and sterols as organic matter biomarkers in a mangrove ecosystem in northern Brazil. *Wetlands Ecology and Management* **11**, 257-263.
- Logan, G.A., Fredericks, D.J., Smith, C., Heggie, D.T., 2001. Sources of organic matter in Wallis Lake. *AGSO Research Newsletter 2001*, 15-20.

- Masni, M.A., Norfariza, H., Latif, M.T. 2010. Variasi dan sumber sterol di Kuala Selangor, Selangor. *Sains Malaysiana* **39(3)**, 377-385.
- Méjanelle, L., Laureillard, J., 2008. Lipid biomarker record in surface sediments at three sites of contrasting productivity in the tropical North Eastern Atlantic. *Marine Chemistry* **108(1-2)**, 59-76.
- Mudge, S.M., Bebianno, M.J.A.F., East, J.A., Barreira, L.A., 1999. Sterols in the Ria Formosa Lagoon, Portugal. *Water Research* **33(4)**, 1038-1048.
- Mudge, S.M., Duce, C.E., 2005. Identifying the source, transport path and sinks of sewage derived organic matter. *Environmental Pollution* **136(2)**, 209-220.
- Mudge, S.M., Norris, C.E., 1997. Lipid biomarkers in the Conwy Estuary (North Wales, U.K.): a comparison between fatty alcohols and sterols. *Marine Chemistry* **57(1-2)**, 61-84.
- Pazos, A.J., Silva, A., Vázquez, V., Pérez-Parallé, M.L., Sánchez, J.L., Abad, M., 2005. Differences in sterol composition of clams (*Ruditapes decussates*) from three rías in Galicia (NW Spain). *Marine Biology* **147**, 663-670.
- Pratt, C., Warnken, J., Leeming, R., Arthur, M.J., Grice, D.I., 2008. Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under sub-tropical estuarine conditions. *Organic Geochemistry* **39(3)**, 353-369.
- Saliot, A., Laureillard, J., Scribe, P., Sicre, M.A., 1991. Evolutionary trends in the lipid biomarkers approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. *Marine Chemistry* **36(1-4)**, 233-248.
- Santos, E.S., Carreira, R.de S., Knoppers, B.A., 2008. Sedimentary sterols as indicators of environmental conditions in Southeastern Guanabara Bay, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography* **56(2)**, 97-113.
- Suberkropp, K., Gessner, M. O., Chauvet, E., 1993. Comparison of ATP and ergosterol as indicators of fungal biomass associated with decomposing leaves in streams. *Applied and Environmental Microbiology* **59(10)**, 3367-3372.
- Villinski, J.C., Hayes, J.M., Brassell, S.C., Riggert, V.L., Dunbar, R.B., 2008. Sedimentary sterols as biogeochemical indicators in the Southern Ocean. *Organic Geochemistry* **39(5)**, 567-588.
- Yoshinaga, M.Y., Sumida, P.Y.G., Wakeham, S.G., 2008. Lipid biomarkers in surface sediments from an unusual coastal upwelling area from the SW Atlantic Ocean. *Organic Geochemistry* **39(10)**, 1385-1399.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Velthamp, D.J., Cretney, W.J., 1995. Terrestrial and marine biomarkers in a seasonally ice-covered Arctic estuary – integration of multivariate and biomarker approaches. *Marine Chemistry* **49(1)**, 1-50.
- Yunker, M.B., Belicka, L.L., Harvey, H.R., Macdonald, R.W., 2005. Tracing the inputs and fate of marine and terrigenous organic matter in Arctic Ocean sediments: A multivariate analysis of lipid biomarkers. *Deep-Sea Research II* **52(24-26)**, 3478-3508.
- Zimmerman, A.R., Canuel, E.A., 2001. Bulk organic matter and lipid biomarker composition of Chesapeake Bay surficial sediments as indicators of environmental processes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **53(3)**, 319-341.