



## STUDI PERTUMBUHAN DAN DEGRADASI FENOL OLEH KULTUR TUNGGAL AKTINOMISETES DARI TANAH GAMBUT

### *STUDY ON THE GROWTH AND DEGRADATION OF PHENOLS BY CULTURE SINGLE ACTINOMYSETES FROM PEAT SOIL*

Tiara Elsita Masni, Tetty Marta Linda\*, Bernadeta Leni Fibriarti

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau  
Jl. HR. Subrantas KM 12,5 Panam, Pekanbaru, Indonesia-28293

\*Corresponding author: [tetty.martalinda@gmail.com](mailto:tetty.martalinda@gmail.com)

Naskah Diterima: 09 Oktober 2019; Direvisi: 07 Januari 2020; Disetujui: 21 April 2020

#### Abstrak

Fenol adalah senyawa organik yang bersifat toksik dan larut dalam air, sehingga mudah menimbulkan pencemaran pada perairan dan menurunkan kualitas air. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi tiga isolat aktinomisetes asal tanah gambut Riau dalam *Minimal Salt Medium* (MSM) yang mengandung fenol pada konsentrasi 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm serta mengetahui kemampuan aktinomisetes dalam mendegradasi fenol pada konsentrasi 600 ppm menggunakan metode *folin ciocalteu*. Potensi pertumbuhan isolat L121, L18, L11 menunjukkan total populasi tidak berbeda nyata dengan penambahan 400 ppm dan 600 ppm fenol, tetapi berbeda nyata terhadap 0 ppm dan 200 ppm fenol. Potensi pertumbuhan tertinggi terdapat pada isolat L121 dan terendah pada isolat L11. Kemampuan degradasi fenol oleh masing-masing isolat adalah L121 sebesar 570,80 ppm (95%), L18 sebesar 218,85 ppm (36%) dan L11 sebesar 97,21 ppm (16%) dari konsentrasi fenol awal 600 ppm pada (MSM). Isolat aktinomisetes ini berpotensi dikembangkan untuk penanggulangan pencemaran di lingkungan.

**Kata kunci:** Aktinomisetes; Biodegradasi; Fenol

#### Abstract

*Phenol is an organic compound that is toxic and easily soluble in water so easy to cause pollution in a waters such as water quality degradation. The aim of this research is to see the potential of three isolates of actinomycetes from Riau peat soil in Minimal Salt Medium (MSM) containing phenol concentration 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm and 600 ppm and to know the ability of actinomycetes in the degradation of phenol at the concentration of 600 ppm using folin ciocalteu. The growth potential of L121, L18, L11 isolates showed the total population was not significantly different with the addition of 400 ppm and 600 ppm of phenol but significantly different from 0 ppm and 200 ppm of phenol. The highest growth potential was found in L121 isolate and lowest in L11 isolate. The degradation ability of phenols by each isolate was L121 570.80 ppm (95%), L18 218.85 ppm (36%) and L11 was able to degrade phenol 97.21 ppm (16%) from the initial phenol concentration of 600 ppm at MSM. These actinomycetes have the potential to be developed to overcome of pollution in the environment.*

**Keywords:** Actinomycetes; Biodegradation; Phenol

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i1.12854>

## PENDAHULUAN

Salah satu masalah lingkungan sering dijumpai di berbagai wilayah Indonesia adalah pencemaran oleh air limbah mengandung fenol. Fenol merupakan senyawa aromatik yang terdapat di lingkungan sebagai bahan alami maupun artifisial. Fenol dapat dihasilkan dari industri perminyakan, kertas, tekstil, elektro lating, industri herbisida, dan fungisida (Krastanov, Alexieva, & Yemendzhiev, 2013; Villaseñor, Reyes, & Pecchi, 2002). Selain itu, senyawa fenol keberadaannya secara alami di tanah berasal dari proses penguraian material organik yang berasal dari tumbuhan oleh jamur dan bakteri, karena enzim yang dimilikinya (Min, Freeman, Kang, & Choi, 2015). Senyawa fenolik tersusun lebih dari satu cincin aromatik, yang terdiri dari satu atau lebih gugus fungsi hidroksil. Senyawa fenol sangat beracun dan karsinogenik di alam dan akumulasi bahan kimia ini menjadi berbahaya bagi lingkungan dan juga flora dan fauna. Senyawa fenol apabila dihirup memberikan efek berbahaya pada kesehatan manusia seperti kerusakan hati, ginjal, gangguan tekanan darah, pelemahan detak jantung yang dapat mengakibatkan kematian (Mohanty & Jena, 2017). Menteri Lingkungan Hidup mengatur baku mutu limbah cair untuk kehidupan ekosistem akuatik dalam peraturan RI No.51/MENLH/10/1995. Konsentrasi senyawa fenol dibolehkan dengan konsentrasi yaitu 0,5–1,0 mg/L, air minum maksimal 0,01 mg/L, sementara untuk kegiatan eksplorasi dan produksi 2 mg/L.

Mengingat bahaya yang dapat ditimbulkannya, maka diperlukan suatu pengolahan untuk menurunkan kandungan senyawa fenol dan turunannya. Beberapa metode yang telah digunakan diantaranya secara fisika, yaitu fotokatalitik yang mengkombinasikan sinar UV dan TiO<sub>2</sub> (Slamet, Arbianti, & Daryanto, 2005). Cara kimia seperti metode elektrokimia dan ozonasi (Bismo, Kustiningsih, Jayanuddin, Haryanto, & Saptono, 2008). Namun, penggunaan secara fisika dan kimia memiliki kelemahan di antaranya adalah: (1) biaya operasional yang tinggi, (2) memerlukan banyak bahan kimia, dan (3) kurang ramah lingkungan. Teknik lain yang ramah lingkungan adalah melakukan pengolahan limbah secara biologi dengan

keuntungan relatif murah dan kemungkinan kecil menghasilkan produk samping, bahkan dapat mendegradasi polutan secara keseluruhan atau mengubahnya menjadi bahan tidak berbahaya.

Biodegradasi fenol adalah proses penguraian senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana oleh aktivitas mikroorganisme seperti jamur, bakteri, dan aktinomisetes. Hal ini terjadi karena mikroba dapat menggunakan fenol sebagai sumber karbon dan menguraikannya menjadi CO<sub>2</sub>. Penggunaan mikroba dan enzimnya untuk menghilangkan polutan adalah metode yang efektif, aman, dan lebih murah (Karigar & Rao, 2011) dibandingkan dengan teknik fisika kimia. Menurut Sharma, Dangi, dan Shukla (2018) masing-masing mikroba memiliki adaptasi spesifik di lingkungan yang berbeda tergantung pada jenis polutannya. Beberapa enzim dan metabolit sekunder diproduksi dan disekresikan oleh mikroba untuk menghilangkan polutan.

Hasil penelitian sebelumnya telah diketahui ada jamur, bakteri dan aktinomisetes efektif mendegradasi fenol pada konsentrasi tertentu. Stoilova, Dimitrova, Angelova, dan Krastanov (2017) melaporkan jamur *Trametes versicolor* 1 menghasilkan enzim *laccase* yang berperan dalam proses transformasi fenol dan katekol, tetapi tidak dapat mendegradasi 2,4-diklorofenol. Penelitian Prayitno dan Sophiah (2016) menggunakan *Bacillus* (strain 8.2.1), *Enterobacter* (strain 8.1.2), *Propionibacterium* (strain 3.2) dan *Pseudomonas* (strain 3.4) dapat mendegradasi senyawa fenol 80–100% dari 300–400 ppm dalam media Bushnell dan Haas yang inkubasi selama 3 hari. Iqbal *et al.* (2018) menguji bakteri *Pseudomonas* (AIEB-4) dan *Alcaligenes* (AIEB-6) dapat mendegradasi fenol masing-masing sebesar 72% dan 69% menggunakan M9 minimal medium dengan konsentrasi fenol 750 ppm pada pH 6,8 dengan agitasi 150 rpm inkubasi selama 3 hari. Hasil penelitian Jaweria, Peshwe, dan Ingale (2011) menggunakan aktinomisetes isolat A1 dan A5 mampu mendegradasi fenol sebanyak 300 ppm dan 400 ppm pada *Minimal Salt Medium* yang mengandung p-nitro fenol dengan konsentrasi awal 500 ppm selama 48 jam. Krastanov *et al.* (2013) menyatakan, fenol dan turunannya tidak mudah terurai secara *biodegradable* karena

merupakan senyawa beracun bagi kebanyakan mikroorganisme.

Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau memiliki koleksi isolat aktinomisetes, yaitu isolat L121, L18, dan L11. Penelitian sebelumnya, ketiga isolat aktinomisetes ini telah diketahui memiliki kemampuan menghasilkan enzim protease (Linda, Martina, & Febrianti, 2016) dan enzim selulase (Pesrita, Linda, & Silvera, 2017). Isolat-isolat ini diisolasi dari tanah gambut di Desa Langkai Kecamatan Siak. Tanah gambut diketahui memiliki kandungan senyawa fenol yang tinggi, karena terbentuk dari hasil dekomposisi bahan lignoselulosa yang terkandung pada tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pertumbuhan dan kemampuan isolat aktinomisetes L121, L18, dan L11 dalam mendegradasi fenol.

## MATERIAL DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga isolat aktinomisetes asal tanah gambut Riau koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Riau yaitu L121, L18, dan L11. Penelitian ini dilakukan dengan empat tahapan, yaitu pertama peremajaan isolat aktinomisetes. Kedua, pembuatan inokulum aktinomisetes dalam medium *Starch Cassein Broth* (SCB). Ketiga, mengetahui potensi pertumbuhan isolat aktinomisetes dalam *Minimal Salt Medium* (MSM) yang mengandung variasi konsentrasi fenol yaitu 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm. Keempat, melakukan uji biodegradasi fenol ke tiga isolat aktinomisetes dalam medium MSM yang mengandung fenol 600 ppm.

### Pembuatan Media

#### Medium *Starch Cassein Agar* (SCA) dan *Starch Cassein Broth* (SCB)

Medium SCA terdiri dari: 10 g pati, 0,3 g kasein, 2 g KNO<sub>3</sub>, 2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g NaCl, 0,02 g CaCO<sub>3</sub>, 0,01 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,005 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, dan 18 g agar. Semua bahan kecuali kasein dilarutkan dalam 750 mL akuades dan dipanaskan sambil diaduk sehingga bahan-bahan tersebut tercampur homogen. Medium yang sudah larut kemudian disterilkan di dalam autoklaf dengan suhu 121 °C tekanan 15 psi selama 15 menit. Kasein

sebanyak 0,3 g dilarutkan dengan 250 mL akuades dan dipasteurisasi. Kemudian dicampurkan secara aseptis sehingga medium SCA menjadi 1 L. Pembuatan medium SCB dilakukan dengan cara yang sama tanpa penambahan agar (Prapagdee, Kuekulvong, & Mongkolsuk, 2008)

#### *Minimal Salt Medium* (MSM) dan *Minimal Salt Medium Agar*

*Minimal Salt Medium* terdiri dari: 4 g NaNO<sub>3</sub>, 1,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,2 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,0011 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dan 0,01 g CaCl<sub>2</sub> dilarutkan dalam 1 L akuades selanjutnya dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121 °C tekanan 15 psi selama 15 menit (Liu *et al.*, 2016). Pembuatan medium MSM Agar dilakukan dengan cara penambahan agar sebanyak 18 g.

### Peremajaan Isolat Aktinomisetes

Masing-masing isolat aktinomisetes L121, L18, L11 diremajakan dengan menumbuhkan dengan metode *streak plate* pada cawan petri yang berisi medium SCA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Kultur yang telah tumbuh digunakan pada uji selanjutnya.

### Penghitungan Inokulum Aktinomisetes

Isolat aktinomisetes yang akan digunakan dilakukan penghitungan dengan metode *plate count* pada medium SCA. Masing-masing isolat diambil sebanyak 4 disk, lalu dimasukkan ke dalam 100 mL medium SCB dan diinkubasi dalam *shaker incubator* (Labtech) dengan kecepatan agitasi 150 rpm pada suhu 27 °C selama 3 hari. Selanjutnya, kultur dibuat seri pengenceran hingga diperoleh inokulum sebanyak 10<sup>8</sup> cfu/mL (Fanny, Linda, & Martina, 2018) yang dimodifikasi.

### Uji Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes pada Variasi Konsentrasi Fenol

Inokulum isolat aktinomisetes diambil masing-masing sebanyak 1 mL dengan populasi 10<sup>8</sup> cfu/mL dimasukkan ke dalam 100 mL medium MSM yang mengandung fenol dengan variasi konsentrasi 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm. Medium diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150

rpm pada suhu 27 °C selama 3 hari. Setelah 3 hari dilakukan pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan masing-masing ditumbuhkan secara *pour plate* dengan masing-masing 3 ulangan pada cawan petri yang berisi medium MSM agar dengan konsentrasi fenol 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 600 ppm. Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Koloni aktinomisetes yang tumbuh dihitung dalam cfu/mL menggunakan rumus: jumlah populasi koloni = jumlah koloni (dalam cawan petri) x 1/faktor pengenceran (Komarawidjaja, 2009).

### Uji Degradasi Fenol dalam *Minimal Salt Medium* (MSM)

Inokulum masing-masing dari isolat aktinomisetes L121, L18, L11 sebanyak 1 mL ( $10^8$  cfu/mL) diinokulasi ke dalam MSM dengan konsentrasi fenol 600 ppm. Selanjutnya, diinkubasi di atas *shaker incubator* pada suhu 27 °C selama 3 hari. Konsentrasi fenol yang masih tertinggal dihitung pada akhir waktu inkubasi dengan menggunakan metode *Folin-ciocalteau*. Sampel sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam *microplate*, ditambahkan reagen *folin-ciocalteau* sebanyak 100 µL, selanjutnya ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% sebanyak 100 µL dan sampel didiamkan selama 30 menit. Setelah akhir inkubasi, sampel dimasukkan ke dalam *microplate reader* dengan panjang gelombang 750 nm. Konsentrasi fenol ditentukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi ke dalam persamaan kurva kalibrasi larutan standar fenol (Ikawa, Schaper, Dollard, & Sasner, 2003; Mustafa, Hamid, Mohamed, & Bakar, 2010) dengan modifikasi.

### Analisis Data

Data hasil uji pertumbuhan dan uji biodegradasi dari isolat aktinomisetes L121, L18, L11 dianalisis secara statistik menggunakan One-way ANOVA dan apabila terdapat perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata 5% menggunakan SPSS versi 16,0.

## HASIL

### Potensi Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes pada Variasi Konsentrasi Fenol

Potensi pertumbuhan isolat aktinomisetes pada variasi konsentrasi fenol (0 ppm, 200

ppm, 400 ppm, dan 600 ppm) pada *Minimal Salt Medium* (MSM) agar selama inkubasi 5 hari ditentukan dari perhitungan total populasi (cfu/mL). Hasil uji ANOVA pada masing-masing isolat menunjukkan potensi pertumbuhan dengan penambahan fenol berbeda nyata pada setiap isolat aktinomisetes yang diujikan yaitu, L121, L18, L11. Hasil uji DMRT taraf nyata 5% potensi pertumbuhan isolat L121, L18, L11 menunjukkan total populasi tidak berbeda nyata dengan penambahan fenol 400 ppm dan 600 ppm tetapi berbeda nyata terhadap 0 ppm dan 200 ppm. Potensi pertumbuhan isolat aktinomisetes dianalisis statistik secara terpisah untuk masing-masing isolat.

Hasil pengukuran populasi masing-masing isolat aktinomisetes seperti pada Gambar 1. Isolat uji memperoleh populasi tertinggi pada konsentrasi fenol 600 ppm, yaitu isolat L121 sebanyak  $1,95 \times 10^6$  cfu/mL, isolat L18 sebanyak  $1,72 \times 10^6$  cfu/mL dan isolat L11 sebanyak  $1,65 \times 10^6$  cfu/mL. Populasi isolat mengalami penurunan pada penambahan senyawa fenol 200 ppm, yaitu isolat L121 sebanyak  $0,81 \times 10^6$  cfu/mL, isolat L18 sebanyak  $0,40 \times 10^6$  cfu/mL, dan isolat L11 sebanyak  $0,35 \times 10^6$  cfu/mL.

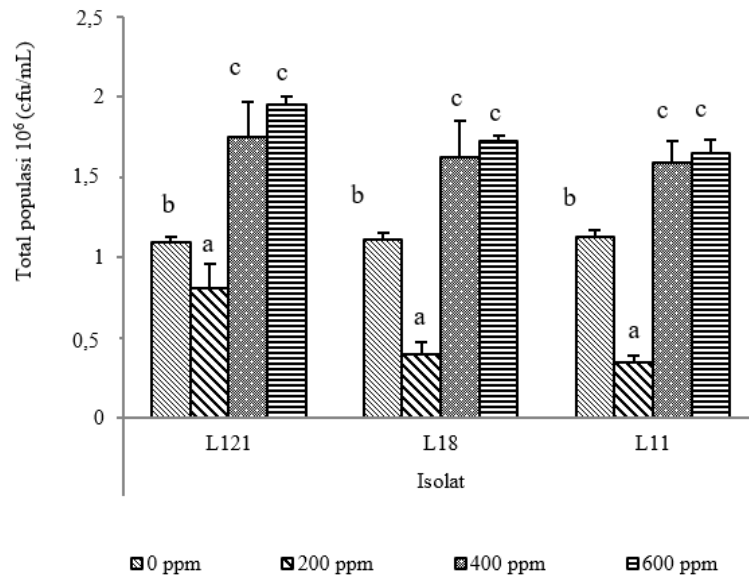
Setiap isolat aktinomisetes memiliki pertumbuhan berbeda pada *Minimal Salt Medium* (MSM) yang mengandung fenol. Pada konsentrasi fenol tertentu dijumpai isolat yang dapat meningkatkan pertumbuhan karena menggunakan fenol sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Total populasi isolat L121, L18, dan L11 mengalami kenaikan pada penambahan variasi konsentrasi fenol 400 ppm dan 600 ppm. Ketiga isolat aktinomistes mampu beradaptasi dan menggunakan fenol sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya.

### Uji Degradasi Fenol dalam *Minimal Salt Medium* (MSM)

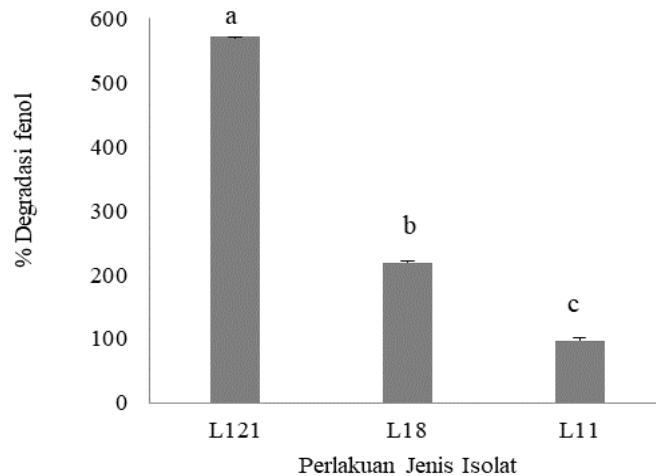
Hasil uji ANOVA menunjukkan presentase degradasi fenol berbeda nyata pada setiap perlakuan isolate aktinomisetes L121, L18, L11 dengan nilai signifikan 0,000 ( $P < 0,05$ ). Hasil uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf nyata 5% menunjukkan degradasi fenol oleh setiap perlakuan berbeda nyata. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap isolat aktinomisetes yang diuji memiliki

kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi fenol (Gambar 2). Isolat L121 mampu mendegradasi fenol 570,80 ppm (95%) dari konsentrasi fenol awal 600 ppm pada medium MSM. Isolat L18 mampu mendegradasi fenol

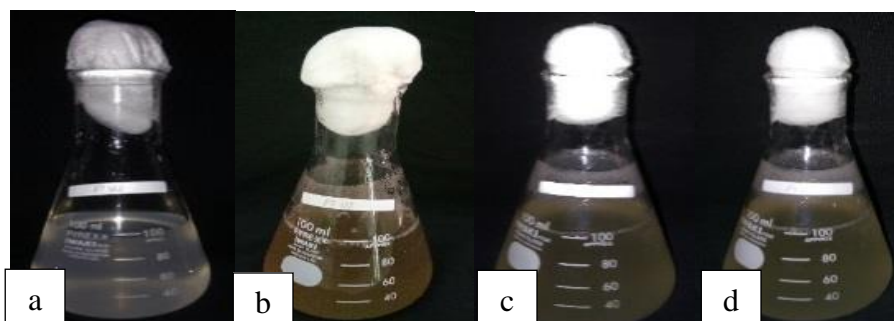
218,85 ppm (36%) dan isolat L11 mampu mendegradasi fenol 97,21 ppm (16%). Akhir dari waktu inkubasi terjadi perubahan warna medium cair pada setiap perlakuan isolat yang digunakan, seperti pada Gambar 3.



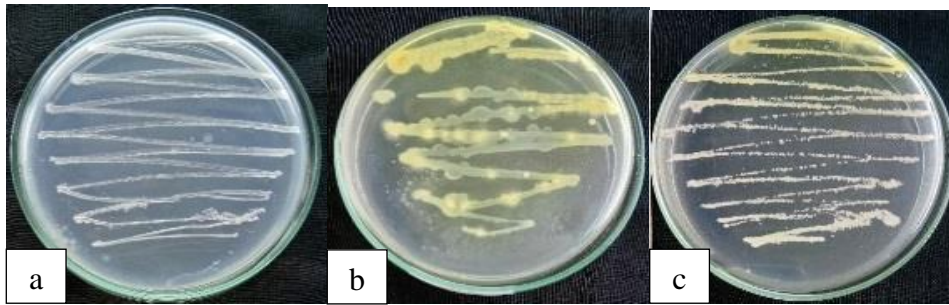
**Gambar 1.** Total populasi isolat aktinomisetes L121, L18, L11 di dalam medium MSM pada variasi konsentrasi fenol 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm dengan waktu inkubasi 5 hari



**Gambar 2.** Kemampuan degradasi fenol oleh isolat aktinomisetes L121, L18, L11 di dalam medium MSM dengan konsentrasi fenol awal 600 ppm pada inkubasi 3 hari



**Gambar 3.** Perubahan warna medium *Minimal Salt Medium* (MSM) pada biodegradasi fenol untuk masing-masing perlakuan setelah inkubasi 3 hari. a) kontrol, b) isolat L121, c) isolat L18, d) isolat L11



**Gambar 4.** Warna yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes setelah inkubasi 3 hari dalam medium *Starch Casein Agar* (SCA). a) isolat L121, b) isolat L18, c) isolat L11

## pH

Hasil pengukuran pH sebelum dan setelah tiga hari inkubasi pada perlakuan menggunakan isolat aktinomisetes L121, L18,

dan L11 mengalami perubahan. Perlakuan menggunakan isolat L121 pH menjadi naik sebesar  $7,45 \pm 0,01$  dengan pH awal 7,00.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran pH medium sebelum dan setelah degradasi fenol dalam medium *Minimal Salt Medium* (MSM) setelah inkubasi 3 hari

Kode isolat	Parameter	
	pH awal	pH akhir
Kontrol	7,00	$7,04 \pm 0,04$
L121	7,00	$7,45 \pm 0,01$
L18	7,00	$7,09 \pm 0,02$
L11	7,00	$7,05 \pm 0,01$

## PEMBAHASAN

### Potensi Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes pada Variasi Konsentrasi Fenol

Berdasarkan Gambar 1, pertumbuhan tertinggi untuk ke tiga isolat aktinomisetes (L121, L18, dan L11) diperoleh pada penambahan fenol konsentrasi 400 ppm dan 600 ppm di dalam medium MSM. Isolat aktinomisetes mampu tumbuh baik dalam medium minimal dengan menggunakan fenol sebagai sumber karbon. Hal ini karena ke tiga isolat diisolasi dari tanah gambut yang diketahui mengandung senyawa fenol. Tanah gambut terbentuk dari bahan kayu-kayuan yang umumnya banyak mengandung senyawa organik lignoselulosa seperti lignin yang dalam proses degradasinya akan menghasilkan gugus reaktif karboksil dan fenol. Nweke dan Okpokwasili (2014) melaporkan genus *Pseudomonas* dengan menambahkan fenol beragam konsentrasi sampai 1.000 ppm, *Pseudomonas* membutuhkan waktu hingga 288 jam untuk mendegradasi fenol 1.000 ppm hingga 100%. Fenol dengan konsentrasi rendah (20 ppm) dapat didegradasi hanya dalam waktu 3 jam. Penelitian Shetty, Deekshitha, dan Kodialbail (2016) melaporkan *Nocardia*

*hydrocarbonoxydans* mampu tumbuh baik pada medium MSM konsentrasi 900 ppm sampai 1.300 ppm, sementara pada konsentrasi 1.400 ppm mengalami penurunan pertumbuhan, karena isolat ini tidak dapat mentolerir tingginya konsentrasi fenol dan menghambat pertumbuhannya. Hal ini di tandai dengan jumlah populasi mengalami penurunan pada pertumbuhannya. Penelitian Liu *et al.* (2016) penambahan 2% kultur *Acinetobacter calcoaceticus* dengan biomasa *optical density* ( $OD_{600}$ ) = 1 di dalam medium MSM mampu tumbuh pada konsentrasi fenol 1.700 ppm inkubasi 2 hari dengan biomassa mengalami penurunan menjadi  $OD_{600}$  = 0,3. Kemampuan mikroba dalam mendegradasi fenol dipengaruhi beberapa faktor seperti jenis mikroba, konsentrasi fenol, dan kondisi lingkungan seperti salinitas dan kesediaan oksigen (Dewilda, Afrianita, & Iman, 2012). Suhaila, Rosfarizan, Ahmad, Latif, dan Ariff (2013) melaporkan penambahan NaCl sebanyak 0,1 g/L dan  $(NH_4)_2SO_4$  sebanyak 0,4 g/L di dalam medium untuk *Rhodococcus* UKM-P dapat meningkatkan degradasi fenol. Menurut Karigar dan Rao (2011) proses bioremediasi tergantung pada mikroorganisme

yang secara enzimatik menguraikan polutan dan mengubahnya menjadi produk yang tidak berbahaya. Proses bioremediasi efektif jika kondisi lingkungan memungkinkan pertumbuhan dan aktivitas mikroba, selain itu diperlukan variasi parameter lingkungan untuk memungkinkan pertumbuhan dan degradasi mikroba berlangsung lebih cepat.

### Uji Degradasi Fenol dalam *Minimal Salt Medium* (MSM)

Uji biodegradasi fenol pada penelitian ini menggunakan metode *folin-ciocalteau*. Sampel akan bereaksi dengan reagen folin sebagai pembentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang berwarna biru. Warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat jika konsentrasi fenol yang dioksidasi semakin tinggi (Blainski, Lopes, & De Mello, 2013). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap isolat aktinomisetes yang diuji memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi fenol (Gambar 3). Isolat L121 mampu mendegradasi fenol 570,80 ppm (95%) dari konsentrasi fenol awal 600 ppm pada *Minimal Salt Medium*. Isolat L18 mampu mendegradasi fenol 218,85 ppm (36%) dan isolat L11 mampu mendegradasi fenol 97,21 ppm (16%). Berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Fanny *et al.* 2018, isolat yang sama yaitu aktinomisetes L121 diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi lebih rendah dibandingkan isolat L11 masing-masing sebesar 19,2% dan 23,5%. Artinya, berbeda sumber karbon yang diberikan, maka masing-masing isolat aktinomisetes memiliki kemampuan degradasi yang berbeda. Isolat L121 dan isolat L11 diketahui dapat mendegradasi senyawa aromatik karena fenol merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik yang berikatan dengan gugus hidroksil yang juga terkandung di dalam hidrokarbon minyak bumi. Ketiga isolat aktinomistes ini, L121, L18, dan L11 diketahui memiliki kemampuan di dalam memanfaatkan berbagai senyawa aromatik sebagai sumber karbon.

Suhaila *et al.* (2013) melaporkan penambahan 10% kultur *Rhodococcus* UKMP-5M di dalam medium M1 diketahui dapat

mendegradasi fenol pada konsentrasi 500 ppm inkubasi pada suhu 30 °C dengan agitasi 160 rpm setelah 21 jam. Hasil penelitian Liu *et al.* (2016) *Acinetobacter calcoaceticus* mampu mendegradasi fenol sebanyak 91,6% pada medium MSM yang mengandung konsentrasi fenol 800 ppm inkubasi selama 2 hari. Mikroorganisme dalam mendegradasi fenol sangat ditentukan oleh waktu inkubasi, jenis mikroorganisme, dan konsentrasi fenol yang diberikan. Senyawa fenol secara umum dapat didegradasi oleh mikroorganisme secara aerob maupun anaerob. Akan tetapi, degradasi fenol secara aerob lebih cepat daripada secara anaerob. Selain itu, Nair, Jayachandran, dan Shashidhar (2008) mengemukakan bahwa biodegradasi fenol secara aerobik menghasilkan senyawa intermediet katekol, mula-mula fenol mengalami hidroksilasi dengan bantuan enzim fenol hidroksilase menjadi katekol, dan selanjutnya didegradasi melalui lintasan *ortho* yang akan menghasilkan asam asetat dan asam suksinat yang akan masuk kedalam siklus TCA sebagai Asetil-KoA dan suksinat. Menurut Kadri *et al.* (2017) ada beberapa jenis enzim seperti oksidoreduktase, lakase, hidrolase, dan peroksidase yang terlibat di dalam proses biodegradasi senyawa aromatik.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perubahan warna yang terjadi pada medium MSM setelah diinkubasi selama 3 hari (Gambar 3). Perlakuan kontrol pada penelitian ini tidak terjadi perubahan warna sampai akhir inkubasi, karena tidak ditambahkan isolat aktinomisetes. Isolat L121 memiliki perubahan warna menjadi kuning kecokelatan dan warna yang sangat keruh dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Semakin keruh medium diduga populasi isolat aktinomisetes semakin tinggi, sehingga semakin tinggi juga kadar fenol yang terdegradasi. Isolat L18 dan L11 hanya sedikit terjadinya perubahan warna. Hal ini karena pada L18 dan L11 proses biodegradasi fenol tergolong rendah, hanya mampu mendegradasi fenol sebanyak 218,85 ppm dan 97,21 ppm. Terjadinya perubahan warna pada medium yang mengandung fenol menunjukkan terbentuknya senyawa katekol. Hasil penelitian Dong *et al.* (1992) *Bacillus*

*stearothermophilus* FDTP-3 diketahui menghasilkan enzim fenol hidriksilase dan katekol 2-3-dioksigenase. Proses degradasi terjadi ditandai dengan perubahan warna medium menjadi bewarna cokelat, artinya terjadi akumulasi senyawa katekol yang terbentuk dari perubahan fenol menjadi katekol oleh enzim fenol hidriksilase. Warna kuning juga muncul pada ke tiga isolat aktinomisetes saat ditumbuhkan pada medium SCA setelah diinkubasi selama 5 hari (Gambar 4).

Faktor yang memengaruhi proses biodegradasi adalah tingkat keasaman (pH). Kebanyakan bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH netral. Tingkat keasaman dapat berubah selama pertumbuhan mikroba. Tingkat optimal pertumbuhan dan biodegradasi hidrokarbon dapat berlangsung pada keadaan yang cukup nutrisi, oksigen dan pH antara 6–9 (Zhu *et al.*, 2001). Pada penelitian ini terjadi peningkatan pH yang tidak terlalu besar pada setiap isolat (Tabel 1). Menurut Nugroho (2010) pergeseran pH yang tidak terlalu besar, karena adanya larutan penyangga berupa  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dalam medium. Umumnya aktinomisetes dapat mendegradasi fenol secara optimum pada pH 7, contohnya *Rhodococcus* UKM-P dapat mendegradasi fenol secara optimal pada pH 7,5 dengan jumlah fenol terdegradasi 394 ppm dan 500 ppm selama inkubasi 21 jam (Suhaila *et al.*, 2013). Hasil penelitian Shetty *et al.* (2016) *Nocardia hydrocarbonoxydans* NCIM 2386 memiliki kemampuan degradasi fenol lebih tinggi pada pH 5,0 dan pH 7,0 berbanding pH 9,0 di dalam medium mineral.

## SIMPULAN DAN SARAN

Potensi pertumbuhan isolat L121, L18, L11 menunjukkan total populasi tidak berbeda nyata dengan penambahan 400 ppm dan 600 ppm fenol tetapi berbeda nyata terhadap 0 ppm dan 200 ppm fenol. Kemampuan degradasi fenol tertinggi terdapat pada isolat L121 yang mampu mendegradasi fenol sebesar 570,80 ppm (95%) dari konsentrasi fenol awal 600 ppm pada *Minimal Salt Medium* dan kemampuan degradasi terendah terdapat pada isolat L11 yang hanya mampu mendegradasi fenol 97,21 ppm (16%).

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu optimalisasi isolat aktinomisetes dalam mendegradasi fenol dan dilakukan identifikasi 16S rRNA untuk mengetahui jenis isolat aktinomisetes.

## REFERENSI

- Bismo, S., Kustiningsih, I., Jayanuddin., Haryanto, F., & Saptono, H. J. (2008, January). *Studi awal degradasi fenol dengan teknik ozonasi di dalam reaktor annular*. Paper presented at the Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses 2008, Semarang, Indonesia. Retrieved from <http://staff.ui.ac.id/system/files/users/seti-jo.bismo/publication/srkp2008-2.pdf>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865. doi: 10.3390/molecules18066852.
- Dewilda, Y., Afrianita, R., & Iman, F. F. (2012). Degradasi senyawa fenol oleh mikroorganisme laut. *Jurnal Teknik Lingkungan Unand*, 9(1), 59-73.
- Dong, F. M., Wang, L. L., Wang, C. M., Cheng, J. P., He, Z. Q., Sheng, Z. J., & Shen, R. Q. (1992). Molecular cloning and mapping of phenol degradation genes from *Bacillus stearothermophilus* FDTP-3 and their expression in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2531-2535. doi: 10.1128/aem.58.8.2531-2535.1992.
- Fanny, N. D., Linda, T. M., & Martina, A. (2018). Kemampuan isolat tunggal dan konsorsium aktinomisetes lokal riau dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. *Bio-Site*, 04(2), 53-60.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollard, C. A., & Sasner, J. J. (2003). Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1811-1815. doi: 10.1021/jf021099r.



- Iqbal, A., Arshad, M., Hashmi, I., Karthikeyan, R., Gentry, T. J., & Schwab, A. P. (2018). Biodegradation of phenol and benzene by endophytic bacterial strains isolated from refinery wastewater-fed *Cannabis sativa*. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 39(13), 1705-1714. doi: 10.1080/09593330.2017.1337232.
- Jaweria, R., Peshwe, S. A., & Ingale, A. G. I. (2011). Biodegradation of p-nitro phenol by an Actinomycete. *Indian Journal of Applied Research*, 3(6), 241-243. doi: 10.15373/2249555x/june2013/80.
- Kadri, T., Rouissi, T., Brar, S. K., Cledon, M., Sarma, S., & Verma, M. (2017). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 51, 52-74. doi: 10.1016/j.jes.2016.08.023.
- Karigar, C. S., & Rao, S. S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: A review. *Enzyme Research*, 2011, 1-11. doi: 10.4061/2011/805187.
- Komarawidjaja, W. (2009). Karakteristik dan pertumbuhan konsorsium mikroba lokal dalam media mengandung minyak bumi. *Teknologi Lingkungan*, 10(1), 114-119.
- Krastanov, A., Alexieva, Z., & Yemendzhiev, H. (2013). Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives. *Engineering in Life Sciences*, 13(1), 76-87. doi: 10.1002/elsc.201100227.
- Linda, T. M., Martina, A., Febrianti, B. L., (2016). Seleksi aktinomisetes penghasil protease dari tanah gambut Desa Langkai, Siak, Riau. *Jurnal Riau Biologia*, 1(10), 62-66.
- Liu, Z., Xie, W., Li, D., Peng, Y., Li, Z., & Liu, S. (2016). Biodegradation of phenol by bacteria strain *Acinetobacter calcoaceticus* PA isolated from phenolic wastewater. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(3), 1-8. doi: 10.3390/ijerph13030300.
- Min, K., Freeman, C., Kang, H., & Choi, S. U. (2015). The regulation by phenolic compounds of soil organic matter dynamics under a changing environment. *BioMed Research International*, 2015, 1-11. doi: 10.1155/2015/825098.
- Mohanty, S. S., & Jena, H. M. (2017). Biodegradation of phenol by free and immobilized cells of a novel *Pseudomonas* sp. NBM11. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 34(1), 75-84. doi: 10.1590/0104-6632.20170341s20150388.
- Mustafa, R. A., Hamid, A. A., Mohamed, S., & Bakar, F. A. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of Food Science*, 75(1), C28-35. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01401.x.
- Nair, C. I., Jayachandran, K., & Shashidhar, S. (2008). Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*, 7(25), 4951-4958. doi: 10.4018/978-1-5225-8903-7.ch045.
- Nweke, C. O., & Okpokwasili, G. C. (2014). Kinetics of growth and phenol degradation by *Pseudomonas* species isolated from petroleum refinery wastewater. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 4(7), 28-37. doi: 10.12692/ijb/4.7.28-37.
- Nugroho, A. (2010). Produksi gas hasil biodegradasi minyak bumi: kajian awal aplikasinya dalam microbial enhanced oil recovery (Meor). *MAKARA of Science Series*, 13(2), 111-116. doi: 10.7454/mss.v13i2.405.
- Pesrita, A., Linda, T. M., & Silvera, D. (2017). Seleksi dan aktivitas enzim selulase aktinomisetes lokal Riau pada media seleksi dan aktivitas enzim selulase aktinomisetes lokal Riau pada media lignoselulosa ampas tebu. *Jurnal Riau Biologia*, 2(1), 8-13.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C., & Mongkolsuk, S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences*, 4(5), 330-337. doi:

- 10.7150/ijbs.4.330.
- Prayitno, J., & Sopiah, N. (2016). Penghilangan senyawa fenol oleh bakteri yang diisolasi dari area pertambangan minyak bumi. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 17(2), 126-131. doi: 10.29122/jtl.v17i2.1067.
- Sharma, B., Dangi, A. K., & Shukla, P. (2018). Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *Journal of Environmental Management*, 210, 10-22. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.12.075.
- Shetty, G. R., Deekshitha., & Kodialbail, V. S. (2016). Media optimization for biodegradation of phenol by *Nocardia hydrocarbonoxydans* NCIM 2386. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 4(4S), 19-24.
- Slamet., Arbianti, R., & Daryanto. (2005). Pengolahan limbah organik (fenol) dan logam berat ( $\text{Cr}6^+$  atau  $\text{Pt}4^+$ ) secara simultan dengan fotokatalis  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO-TiO}_2$ , dan  $\text{CdS-TiO}_2$ . *Makara, Teknologi*, 9(2), 66-71
- Stoilova, I., Dimitrova, G., Angelova, G., & Krastanov, A. (2017). Biodegradation of phenol, catechol and 2, 4-dichlorophenol at higher initial inhibitory concentrations by *Trametes versicolor* 1 in a “fed-batch” process. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 23(6), 988-993.
- Suhaila, Y. N., Rosfarizan, M., Ahmad, S. A., Latif, I. A., & Ariff, A. B. (2013). Nutrients and culture conditions requirements for the degradation of phenol by *Rhodococcus* UKMP-5M. *Journal of Environmental Biology*, 34(3), 635-643.
- Villaseñor, J., Reyes, P., & Pecchi, G. (2002). Catalytic and photocatalytic ozonation of phenol on  $\text{MnO}_2$  supported catalysts. *Catalysis Today*, 76(2-4), 121-131. doi: 10.1016/S0920-5861(02)00212-2.
- Zhu, X., Zhu, X., Venosa, A. D., Venosa, A. D., Suidan, M. T., Suidan, M. T., ... Lee, K. (2001). Guidelines for the bioremediation of marine shorelines and freshwater wetlands. *Environmental Protection, January*, 163.