

## KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI FENOL DAN PEMBENTUK BIOFILM DARI SUMBER ALAMI DAN ARTIFISIAL

Arifah Khusnuryani<sup>1)</sup>, Erni Martani<sup>2)</sup>, Tri Wibawa<sup>3)</sup>, Jaka Widada<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada; Program Studi Biologi, UIN Sunan Kalijaga

<sup>2)</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada

<sup>3)</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

e-mail: anikarifah@yahoo.com

### ABSTRAK

Fenol merupakan salah satu polutan air tanah yang memiliki sifat toksik bagi manusia maupun lingkungan. Salah satu teknologi yang dapat diaplikasikan untuk pengolahan limbah fenol adalah melalui bioremediasi dengan memanfaatkan aktivitas bakteri. Secara umum, bakteri di alam akan tumbuh dan membentuk biofilm. Bakteri pembentuk biofilm memiliki beberapa kelebihan, diantaranya mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang kurang menguntungkan serta meningkatkan degradasi senyawa rekalsitran, karena bakteri akan saling berinteraksi dan saling melengkapi proses metabolik yang ada. Penelitian ini ditujukan untuk karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm yang diperoleh dari limbah cair rumah sakit dan industri tekstil serta dari tanah gambut. Karakter yang diamati meliputi karakter morfologi koloni dan sel, serta karakter biokimiawi. Hasil karakterisasi selanjutnya digunakan untuk identifikasi menggunakan analisis profile matching isolat terpilih berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Hasil menunjukkan bahwa bakteri yang diperoleh dari limbah cair rumah sakit memiliki karakter yang mirip dengan Genus *Micrococcus* (isolat DL120), Genus *Enterobacter* (DOK135), dan Genus *Bacillus* (ATA6). Isolat TU3 dari limbah cair industri tekstil mirip dengan Genus *Flavobacterium*. Isolat HG1, SG3, dan HP3 yang diperoleh dari tanah gambut berturut-turut menunjukkan karakter yang mirip dengan Genus *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, dan *Rhodococcus*.

**Kata kunci :** Biofilm, Fenol, Identifikasi, Karakterisasi, Profile matching

### ABSTRACT

Phenol is one of groundwater pollutant which is toxic to human and environment. One technology that is can be applied for phenolic wastewater treatment is bioremediation, using bacterial activities. In general, bacteria in natural environment will grow and form biofilm. Biofilm-forming bacteria have some advantages, such as can survive in unbeneficial environment and improve the degradation of recalcitrant compounds, because bacteria will interact each other and complete the metabolic process. This research was aimed to characterize and identify phenol degrading and biofilm forming bacteria which were isolated from hospital wastewater, textile wastewater, and peat soil. We observed the morphology of bacterial colony and cell, also chemical characters of the isolates. Those characters then being used for identification by profile matching analysis based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The result showed that the isolate from hospital wastewater similar with the member of Genus *Micrococcus* (isolate DL120),

*Enterobacter* (DOK135), and *Bacillus* (ATA6), while isolate TU3 from textile wastewater showed similar characters with *Flavobacterium*. Isolate HG1, SG3, and HP3, which were obtained from peat soil, have similar characters with Genus *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, and *Rhodococcus*, respectively.

**Keywords:** Biofilm, Characterization, Identification, Phenol, Profile matching

## PENDAHULUAN

Fenol merupakan salah satu polutan air tanah (Bell dkk., 2008) dan memiliki efek toksik bagi manusia maupun lingkungan. Fenol bersifat toksik bagi beberapa organisme akuatik serta menyebabkan masalah bau dan rasa pada air minum. Absorpsi fenol dalam tubuh dapat terjadi melalui pernapasan, pencernaan, dan kontak dengan kulit. Fenol bersifat korosif dan menyebabkan kebakaran kimiawi pada lokasi terjadinya kontak dengan fenol. Paparan fenol dapat menyebabkan keracunan sistemik serta diketahui sebagai pemicu tumor (Anonim, 2008; Chakraborty dkk., 2010), mengganggu fungsi sistem hormon reproduksi (Aoyama dkk, 2012). Michałowicz dan Duda (2007) juga memaparkan bahwa fenol dan katekol bersifat hematoksik dan hepatotoksik, serta dapat memicu mutagenesis dan karsinogenesis pada manusia dan makhluk hidup lain. Fenol dapat terakumulasi dalam otak, ginjal, hati, dan otot.

Fenol merupakan senyawa aromatik yang terdistribusi di lingkungan, baik sebagai bahan alami maupun artifisial (Prpich dan Daugulis, 2005; Sridevi dkk., 2012). Fenol dan turunannya diketahui sebagai komponen limbah cair berbagai jenis industri, seperti farmasi, kilang minyak, tekstil dan industri batubara (Tsai dkk, 2005; Mailin dan Firdausi, 2006; Chakraborty dkk., 2010), serta sebagai komponen tanah gambut (Barchia, 2006; Agus dan Subiksa, 2008). Campuran senyawa fenol dan formaldehid merupakan contoh limbah cair yang khas dan sering ditemukan dalam *effluent* dari instalasi kimia, bengkel logam, dan rumah sakit. Fenol terkhlorinasi merupakan

salah satu bentuk senyawa fenol yang menjadi kontaminan lingkungan yang umum dijumpai karena cukup banyak digunakan dalam masyarakat. Penggunaan fenol terkhlorinasi diantaranya adalah sebagai biosida pada proses pengawetan kayu, produk antara pada proses *bleaching pulp*, dan untuk disinfeksi (Lee dkk., 1997; Tsai dkk., 2005; Al-Thani dkk., 2007; Yulvizar, 2011).

Akumulasi fenol dalam lingkungan menyebabkan timbulnya kontaminasi lingkungan dan menimbulkan efek negatif terhadap sistem kehidupan. Oleh karena itu, diperlukan teknologi untuk menangani masalah tersebut. Salah satu metode yang dapat dimanfaatkan adalah dengan bioremediasi, yaitu dengan memanfaatkan aktivitas mikroba pendegradasi fenol. Bioremediasi memberikan alternatif yang murah dan ramah lingkungan karena hanya kemungkinan kecil menghasilkan produk samping (Al-Thani dkk, 2007), bahkan dapat mendegradasi polutan secara keseluruhan atau minimal mengubahnya menjadi bahan yang tidak berbahaya (Mahiuddin dkk, 2012). Hal tersebut dapat terjadi karena beberapa spesies mikroba, termasuk bakteri di dalamnya, dapat menggunakan fenol sebagai sumber karbon dan memecahnya menjadi CO<sub>2</sub> (Amro dan Soheir, 2007).

Secara umum bakteri di alam akan tumbuh dan membentuk biofilm, yaitu kumpulan bakteri yang terimobilisasi pada permukaan suatu substrat pada lingkungan cair. Kumpulan bakteri penyusun biofilm dapat berupa kultur tunggal maupun campuran (Davey dan O'toole, 2000). Bakteri yang membentuk biofilm

memiliki beberapa kelebihan, diantaranya menjadikan bakteri mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang kurang menguntungkan dan dapat menyebar membentuk koloni pada *niche* yang baru (Martinez dan Casadevall, 2007), serta meningkatkan degradasi senyawa rekalsitran, karena bakteri akan saling berinteraksi dan saling melengkapi proses metabolik yang ada (Andersson, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, dapat diketahui bahwa di satu sisi terdapat fenol di lingkungan yang dapat menimbulkan bahaya bagi lingkungan maupun kesehatan, sehingga diperlukan teknologi pengolahan limbah fenol yang tepat. Di sisi lain, diketahui bahwa biofilm memiliki arti penting dan bermanfaat dalam pengolahan limbah cair karena terjadi interaksi antar bakteri dalam mendegradasi senyawa toksik dalam limbah. Oleh karena itu, perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang peran biofilm dalam pengolahan limbah cair toksik, dalam hal ini adalah fenol.

Pada penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya berhasil diisolasi beberapa bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi fenol sekaligus membentuk biofilm. Isolat bakteri tersebut diperoleh dari limbah cair rumah sakit dan tekstil yang merupakan sumber yang mengandung fenol secara artifisial (terdapat campur tangan manusia) serta dari tanah gambut sebagai sumber fenol alami. Penelitian ini bertujuan untuk karakterisasi sebagai dasar dalam identifikasi isolat bakteri pendegradasi fenol sekaligus pembentuk biofilm yang diperoleh dari sumber fenol alami maupun artifisial.

## METODE PENELITIAN

Isolat bakteri berasal dari limbah cair beberapa rumah sakit di Kabupaten Sleman dan Kodia Yogyakarta, limbah cair industri tekstil di wilayah Jawa Tengah, serta tanah gambut dari Perkebunan sawit Desa Asam Jawa, Kecamatan Air Batu, Labuhan Batu,

Riau. Isolat terpilih hasil seleksi pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm (hasil tidak ditampilkan) dikaji karakter fenotipiknya, meliputi karakter morfologi koloni dan sel, serta karakter fisiologis dan biokimiawi.

Karakter fisiologis yang diamati meliputi kebutuhan oksigen, pH pertumbuhan, dan suhu pertumbuhan. Karakter biokimiawi yang diuji meliputi kemampuan fermentasi berbagai gula, uji katalase, uji oksidase, uji urease, kemampuan mereduksi nitrat, pembentukan indol, pembentukan  $H_2S$ , kemampuan hidrolisis gelatin dan pati, serta penggunaan sitrat. Metode pengujian mengacu pada Harley (2005). Hasil karakterisasi selanjutnya digunakan untuk identifikasi menggunakan analisis *profile matching* isolat terpilih berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt dkk, 1994).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi 7 bakteri yang menunjukkan potensi sebagai pendegradasi fenol sekaligus pembentuk biofilm. Tujuh isolat tersebut adalah DL120, DOK135, dan ATA6 yang diisolasi dari limbah cair rumah sakit; isolat TU3 yang berasal dari limbah cair industri tekstil; serta isolat HG1, SG3, dan HP3 yang diisolasi dari tanah gambut. Isolat-isolat bakteri tersebut menunjukkan kemampuan menurunkan konsentrasi awal fenol sebesar 300 ppm hingga 79,03% - 96,35% selama inkubasi 96 jam serta menunjukkan variasi kemampuan membentuk biofilm dengan kemampuan lemah hingga kuat. Dengan demikian ketujuh isolat tersebut dinilai memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam bioremediasi lingkungan yang mengandung fenol.

Ketujuh isolat yang berpotensi sebagai pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm tersebut menunjukkan karakter fenotipik yang beragam (Tabel 1).

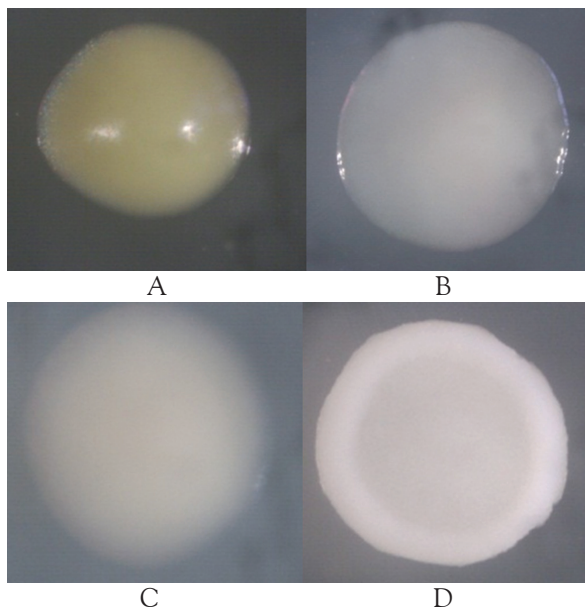


Unit Karakter	Kode Isolat						
	DL120	DOK135	ATA6	TU3	HG1	SG3	HP3
<i>pH pertumbuhan (24 jam)</i>							
pH 4	+	+	+	+	-	+	+
pH 5	+	+	+	+	+	+	+
pH 6	+	+	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+	+	+
pH 8	+	+	+	+	+	+	+
pH 9	+	+	+	+	+	+	+
pH 10	+	-	+	+	+	+	-
<i>Suhu pertumbuhan (24 jam)</i>							
10°C	+	+	+	+	+	+	-
25°C	+	+	+	+	+	+	+
30°C	+	+	+	+	+	+	+
35°C	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+
50°C	-	-	+	+	-	-	+

Keterangan:

+ : isolat memberikan hasil positif terhadap uji

- : isolat memberikan hasil negatif terhadap uji



Gambar 1. Morfologi koloni 4 isolat terpilih pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm (A. DL120; B. DOK135; C. HP3; D. ATA6)

Secara morfologi, keempat isolat terpilih memiliki bentuk, elevasi, tepi, warna serta struktur dalam yang beragam (gambar 1). Hasil pengujian biokimia menunjukkan bahwa beberapa isolat memiliki karakteristik

yang hampir sama. Semua isolat memberikan hasil positif terhadap uji katalase. Hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut dapat mengkatalisis hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan hidrogen. Enzim katalase ini dimiliki oleh bakteri yang bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Pengujian oksidase menunjukkan hasil yang positif pada semua isolat, kecuali isolat DL120. Hasil positif menunjukkan bahwa isolat memiliki aktivitas sitokrom oksidase yang berperan sebagai aseptor elektron, sedangkan hasil negatif berarti tidak ada aktivitas sitokrom oksidase (Madigan dkk, 2000). Semua isolat terpilih menunjukkan hasil negatif pada uji urease, pembentukan indol, pembentukan  $H_2S$ , dan hidrolisis pati. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keempat isolat tidak memiliki enzim urease yang dapat melepaskan amoniak dari urea. Ketujuh isolat juga tidak dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol, asam piruvat, dan amonia melalui aktivitas enzim triptofanase (Joetono dkk, 1973; Harley, 2005).

Beberapa protein kaya akan asam amino yang mengandung sulfur, seperti sistein. Adanya enzim sistein desulfurase akan menghidrolisis sistein sehingga atom sulfur akan dilepaskan dan selanjutnya bersama dengan hidrogen dari air membentuk gas hidrogen sulfida ( $H_2S$ ) (Harley, 2005). Semua isolat terpilih menunjukkan hasil negatif pada uji pembentukan  $H_2S$ , berarti semua isolat tersebut tidak memiliki enzim sistein desulfurase. Ketujuh isolat juga memberikan hasil negatif terhadap uji hidrolisis pati. Menurut Harley (2005), uji hidrolisis pati menunjukkan adanya enzim amilase untuk memecah pati menjadi dekstrin, maltosa, dan glukosa.

Ketujuh isolat terpilih memiliki sifat fisiologis yang hampir sama, yaitu memiliki

kisaran pH dan suhu pertumbuhan yang sama. Semua isolat mampu tumbuh pada kisaran pH asam hingga basa, kecuali isolat HG1 yang tidak tumbuh pada pH 4 serta isolat DOK135 dan HP3 yang tidak tumbuh pada pH 10. Namun demikian masih dapat dikatakan bahwa isolat-isolat tersebut dapat tumbuh pada kisaran pH asam (pH) hingga basa (pH). Keempat isolat mampu tumbuh pada kisaran suhu rendah hingga tinggi, kecuali isolat HP3 yang tidak tumbuh pada suhu  $10^{\circ}C$ , serta isolat DL120, DOK135, HG1, dan SG3 yang tidak tumbuh pada suhu  $50^{\circ}C$ .

Hasil karakterisasi fenotipik yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* melalui analisis *profile matching* (Tabel 2 dan 3).

Tabel 2. *Profile matching* isolat DL120, DOK135, ATA6, dan TU3 dengan genus acuan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Unit Karakter	Genus Micrococcus	DL120	Genus Enterobacter	DOK 135	Genus Bacillus	ATA6	Genus Flavobacterium	TU3
Warna koloni	Kuning	Kuning	NA	Krem	NA	Krem	Pigmen ted/ Nonpigmen ted	Krem
Struktur dalam koloni	NA	Smooth	NA	Smooth	NA	Rough	Smooth	Smooth
Bentuk sel	Kokus	Kokus	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Sifat Gram	Positif	Positif	Negatif	Negatif	Positif	Positif	Negatif	Negatif
Motilitas	Motil	Motil	Motil	Motil	Non-motil	Non-motil	Non-motil	Non motil
Endospora	-	-	NA	-	-	-	-	-
Susunan sel	Tunggal	Tunggal	NA	Tunggal	NA	Tunggal	NA	Tunggal
Katalase	+	+	NA	+	+	+	+	+
Oksidase	-	-	NA	+	NA	+	+	+
Reduksi nitrat	NA	-	NA	-	+	+	NA	-
Pembentukan Indol	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-
Pembentukan $H_2S$	NA	-	-	-	-	-	NA	-
<i>Produksi gas dari:</i>								
Glukosa	NA	-	+	-	NA	-	-	-
Xilosa	NA	-	+	-	NA	-	-	-
<i>Pembentukan asam dari:</i>								
Glukosa	-	+	+	+	NA	+	+	+
Xilosa	-	-	+	+	NA	-	+	+

Unit Karakter	Genus Micrococcus	DL120	Genus Enterobacter	DOK 135	Genus Bacillus	ATA6	Genus Flavobacterium	TU3
Kebutuhan O <sub>2</sub>	Aerob	Aerob	Aerob/ Fakultatif anaerob	Aerob	Aerob/ Fakultatif anaerob	Aerob	Aerob	Aerob
Pertumbuhan:								
25°C	NA	+	NA	+	NA	+	NA	+
30°C	+	+	+	+	NA	+	NA	+
35°C	+	+	+	+	NA	+	NA	+
37°C	+	+	NA	+	NA	+	+	+

Keterangan : NA – not applicable

Tabel 3. Profile matching isolat HG1, SG3, dan HP3 dengan genus acuan berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

Unit Karakter	Genus Alkali-genes	HG1	Genus Arthro-bacter	SG3	Genus Rhodo-coccus	HP3
Warna koloni	Non-pigmented	Krem	NA	Krem	Krem	Krem
Struktur dalam koloni	NA	Smooth	NA	Smooth	Rough/ smooth	Smooth
Bentuk sel	Kokus	Kokus	Batang	Batang	Kokus/batang pendek	Kokus
Sifat Gram	Negatif	Negatif	Positif	Positif	Positif	Positif
Motilitas	Motil	Motil	Motil/ Non-motil	Non motil	NA	Motil
Endospora	-	-	-	-	-	-
Susunan sel	Tunggal	Duplo	Tunggal/ Berpasangan	Berantai	Tunggal	Tunggal
Katalase	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	NA	+	+	+
Reduksi nitrat	NA	-	NA	-	NA	-
Pembentukan Indol	-	-	NA	-	NA	-
Pembentukan H <sub>2</sub> S	NA	-	NA	-	NA	-
<i>Produksi gas dari:</i>						
Glukosa	-	-	-	-	NA	-
Xilosa	-	-	-	-	NA	-
<i>Pembentukan asam dari:</i>						
Glukosa	NA	-	-	-	NA	-
Xilosa	NA	-	-	-	NA	-
Kebutuhan O <sub>2</sub>	Obligat aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob
<i>Pertumbuhan:</i>						
25°C		+	+	+	+	+
30°C		+	+	+	+	+
35°C		+	+	NA	+	+
37°C		+	+	NA	+	+

Keterangan : NA – not applicable

Berdasarkan hasil analisis *profile matching*, isolat DL120 diduga merupakan anggota Genus *Micrococcus* karena menunjukkan beberapa kemiripan karakter, diantaranya yaitu koloni berwarna kuning, sel berbentuk kokus, bersifat Gram negatif, motil, dan katalase positif. Isolat DOK135 memiliki karakter berbentuk batang, Gram negatif, dan motil. Berdasarkan karakter tersebut maka isolat DOK135 diduga merupakan anggota Genus *Enterobacter*.

Isolat ATA6 menunjukkan beberapa karakter diantaranya yaitu sel berbentuk batang, bersifat Gram positif, motil, aerob, dan katalase positif. Karakter pada isolat ATA6 tersebut sama dengan karakter kunci pada Genus *Bacillus*. Isolat TU3 merupakan isolat yang diperoleh dari limbah cair industri tekstil. Isolat TU3 menunjukkan karakter yang mirip dengan Genus *Flavobacterium*. Karakter tersebut diantaranya yaitu sel berbentuk batang dan bersifat Gram negatif, serta katalase dan oksidase positif.

Isolat-isolat yang diperoleh dari tanah gambut menunjukkan kemiripan dengan genus yang berbeda dengan isolat-isolat dari limbah cair rumah sakit maupun industri tekstil. Hasil analisis *profile matching* terhadap isolat HG1 menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki karakter yang mirip dengan Genus *Alcaligenes*, yaitu diantaranya sel berbentuk kokus, bersifat Gram negatif, motil, tidak membentuk endospora, katalase dan oksidase positif, serta tidak membentuk indol.

Isolat SG3 mirip dengan Genus *Arthrobacter*. Karakter kunci yang dapat diamati diantaranya yaitu sel berbentuk batang, bersifat Gram positif, non motil, dan katalase positif. Sedangkan isolat HP3 menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki karakter yang mirip dengan Genus *Rhodococcus*. Karakter tersebut diantaranya yaitu sel berbentuk kokus, bersifat Gram positif, motil, tidak membentuk endospora, katalase dan oksidase positif, serta

tidak membentuk indol.

Beberapa referensi menyebutkan berbagai bakteri yang terlibat dalam biodegradasi fenol, diantaranya yaitu anggota Genus *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Flavobacterium*, dan *Nocardia* serta *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, dan *Brevibacterium fuscum* (Bitton, 2005; Essenberg dkk, 2008). Selain itu juga terdapat *Acinetobacter* PD12 (Ying dkk., 2006), *Streptococcus epidermis* (Mohite dkk., 2010), *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *Denitrificans* dan *Citrobacter* sp (Amro dan Soheir, 2007) serta anggota genus *Ralstonia*, *Acinetobacter*, *Microbacterium*, dan *Pseudomonas* (Wang dkk., 2007).

Watanabe dkk. (1998) berhasil mengisolasi *Valivorax paradoxus* dari lumpur aktif unit pengolahan limbah cair kota. El-Sayed dkk. (2003) mengisolasi *Burkholderia cepacia* PW3 dan *Pseudomonas aeruginosa* AT2 dari limbah pengolahan batubara. Mailin dan Firdausi (2006) mengisolasi bakteri pendegradasi fenol dari limbah cair industri dan pemukiman, yang selanjutnya diidentifikasi sebagai *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp, dan *Azotobacter* sp.

Bakteri pendegradasi fenol dapat memecah fenol melalui jalur meta maupun ortho. Contoh bakteri yang mendegradasi fenol melalui jalur meta diantaranya *Pseudomonas fluorescens* PU1 (Mahiudin dkk, 2012), *P. putida*, *P. cepacia*, *P. picketti*, dan *Alcaligenes eutrophus*. Sementara *Trichosporon cutaneum*, *Rhodotorula rubra*, dan *Acinetobacter calcoaceticum* mendegradasi fenol melalui jalur orto (Sridevi dkk, 2012).

Berdasarkan paparan di atas, maka dapat diketahui bahwa beberapa isolat yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan hasil penelitian sebelumnya. Karakterisasi fenotipik berdasarkan morfologi koloni dan sel, serta karakter biokimiawi merupakan bagian dari proses untuk identifikasi suatu bakteri. Untuk memperkuat hasil identifikasi isolat-



isolat terpilih, selanjutnya perlu dilakukan identifikasi secara molekuler berdasarkan 16S rDNA. Hasil karakterisasi fenotipik morfologi maupun biokimiawi terhadap isolat terpilih dijadikan dasar dalam memilih spesies-spesies yang akan digunakan sebagai acuan dalam identifikasi molekuler berdasarkan 16S rDNA. Pemilihan spesies acuan tersebut dilakukan melalui analisis *profile matching* isolat terpilih berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt dkk, 1994).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm yang diperoleh dari limbah cair rumah sakit menunjukkan karakter yang mirip dengan Genus *Micrococcus* (isolat DL120), Genus *Enterobacter* (DOK135), dan Genus *Bacillus* (ATA6). Isolat TU3 dari limbah cair industri tekstil mirip dengan Genus *Flavobacterium*. Isolat HG1, SG3, dan HP3 yang diperoleh dari tanah gambut berturut-turut menunjukkan karakter yang mirip dengan Genus *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, dan *Rhodococcus*.

### B. Saran

Karakterisasi fenotipik berdasarkan morfologi koloni dan sel, serta karakter biokimiawi dapat dijadikan dasar dalam identifikasi suatu bakteri, namun untuk memperkuat hasil identifikasi isolat-isolat terpilih, selanjutnya perlu dilakukan identifikasi secara molekuler berdasarkan 16S rDNA.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Eko Wahyuningrum, S.P. yang telah membantu dalam teknis penelitian serta Lela Susilawati,

S.Pd.Si.,M.Si. atas berbagai diskusi terkait penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agus, F. & Subiksa, I.G.M. 2008. *Lahan Gambut: Potensi untuk Pertanian dan Aspek Lingkungan*. Balai Penelitian Tanah dan World Agroforestry Centre (ICRAF). Bogor.
- Al-Thani, R.F., Desouky A.M.A., & Mona A. 2007. Isolation, Biochemical and Molecular Characterization of 2-chlorophenol-degrading *Bacillus* Isolates. *African Journal of Biotechnology*. 6(23): 2675-2681.
- Amro, A.A. & Soheir, S.R. 2007. Characterization of PHA Depolymerase in Phenol Degrading Bacteria, *International Journal of Biotechnology & Biochemistry* (internet). <<http://www.thefreelibrary.com>> (diakses 5 Januari 2009) .
- Andersson, S. 2009. *Characterization of Bacterial Biofilms from Wastewater Treatment*. Royal Institute of Technology, School of Biotechnology. Stockholm
- Anonim. 2008. *Toxicological Profile for Phenol*. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry) U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.
- Aoyama, A., Hojo, H., Takahashi, K.L., Shimizu-Endo, N., Araki, M., Takeuchi-Kashimoto, Y., Saka, M., & Teramoto, S. 2012. Two-generation reproduction toxicity study in rats with methoxychlor. *Congenital Anomalies*. 52: 28-41.
- Barchia, M.F. 2006. *Gambut: Agroekosistem dan Transformasi Karbon*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

- Bell, J., Young, E., & Stephens, S. 2008. Phenol Pathway (internet), <[http://umbbd.msi.umn.edu/phe/phe\\_map.html](http://umbbd.msi.umn.edu/phe/phe_map.html)>. University of Minnesota (diakses 11 Februari 2009).
- Bitton, G. 2005. *Wastewater Microbiology*. John Wiley & Sons. New York.
- Chakraborty, S., Bhattacharya, T., Patel, T.N., & Tiwari, K.K.. 2010. Biodegradation of Phenol by Native Microorganism Isolated from Coke Processing Wastewater. *Journal of Environmental Biology*. 31: 293-296.
- Davey, M.E. & O'toole, G.A. 2000. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 64(4): 847-867.
- El-Sayed, W.S., Ibrahim, M.K., Abu-Shady, M., El-Beih, F., Ohmura, N., Saiki, H., & Ando, A. 2003. Isolation and Characterization of Phenol-catabolizing Bacteria from a Coking Plant. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 67: 2026-2029.
- Essenberg, C., Ellis, L., & Turnbull, M. 2008. Phenol Family Degradation Pathway Map (internet). <[http://test.umbbd.msi.umn.edu/pba/pba\\_map.html](http://test.umbbd.msi.umn.edu/pba/pba_map.html)>. University of Minnesota (diakses 11 Februari 2009).
- Harley, J.P. 2005. *Laboratory Exercises in Microbiology*. McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9nd ed*. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Joetono, J., Soedarsono, S., Hartadi, S., Kabirun, S., Darmosuwito, & Soesanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lee, M., Lee, W., Kam, S., Lee, D., & Hano, T. 1997. Treatment of Hospital Wastewater by Biological Fluidized Bed. *Applied Chemistry*. 1(2): 526-529.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., & Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall.Inc. New Jersey.
- Mahiuddin, Md., A.N.M. Fakhrudin, & Abdullah-Al-Mahin. 2012. Degradation of Phenol via Meta Cleavage Pathway by *Pseudomonas fluorescens* PU1. *ISRN Microbiology*. Vol. 2012.
- Mailin, M. & Firdausi, R. 2006. High Performance Phenol Degrading Microorganisms Isolatd from Wastewater and Oil-Contaminated Soil. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2(2): 32-36.
- Martinez, L.R. & Casadevall, A. 2007. *Cryptococcus neoformans* Biofilm Formation Depends on Surface Support and Carbon Source and Reduces Fungal Cell Susceptibility to Heat, Cold, and UV Light. *Applied Environmental Microbiology*. 73(14): 4592-4601.
- Michałowicz, J. & Duda, W. 2007. Phenols – Sources and Toxicity. *Polish J. of Environ. Stud*. 16(3): 347-362.
- Mohite, B.V., Ruby, E.J., Shradha, P., & Ankush, M. 2010. Isolation and Characterization of Phenol Degrading Bacteria from Oil Contaminated Soil. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 7: 61-65.
- Prpich, G.P. & Daugulis, A.J. 2005. Enhanced Biodegradation of Phenol by a Microbial Consortium in a Solid-Liquid Two Phase Partitioning Bioreactor. *Biodegradation*. 16: 329-339.
- Sridevi, V., Lakshmi, M.V.V.C., Manasa, M., & Sravani, M. 2012. Metabolic Pathways For The Biodegradation Of Phenol.

- International Journal of Engineering Science & Advanced Technology*. 2(3): 695 – 705.
- Tsai, S., Tsai, L., & Li, Y. 2005. An Isolated *Candida albicans* TL3 Capable of Degrading Phenol at Large Concentration. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(12): 2358-2367.
- Wang YD, Dong XJ, Wang X, Hong Q, Jiang X, & Li SP. 2007. Isolation of Phenol-Degrading Bacteria from Natural Soil and Their Phylogenetic Analysis. *Huan Jing Ke Xue*. 28(3): 623-626.
- Watanabe, K., Maki T., Hiroyuki F., & Shigeaki H. 1998. Molecular Detection, Isolation, and Physiological Characterization of Functionally Dominant Phenol-Degrading Bacteria in Activated Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(11): 4396–4402.
- Ying, W., Ye, T., Bin, H., Hua-bing, Z., Jian-nan, B., & Bao-li, C. 2007. Biodegradation of Phenol By free and Immobilized *Acinetobacter* sp strain PD12. *Journal of Environmental Science*. 19: 222-225.
- Yulvizar, C. 2011. Efektivitas Pengolahan Limbah Cair dalam Menurunkan Kadar Fenol di Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin (RSUDZA) Banda Aceh. *Biologi Edukasi*. 3(2): 9-15.