

Karakterisasi Biodegradasi Senyawa Poliaromatik Dibenzothiophene Oleh Bakteri Laut *Novosphingobium mathurense* LBF-1-0061 (Biodegradation Characterization of Polyaromatic Compound Dibenzothiophene by Ocean Bacterium *Novosphingobium mathurense* LBF-1-0061)

Puspasari Noerwan Tanjung¹, Elvi Yetti², Ahmad Thontowi², Agung Suprihadi¹, Susiana Purwantisari¹ & Yopi²

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Jalan Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275.

² Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center, Jalan Raya Bogor Km.46, Cibinong, Bogor 16911

Memasukkan: Agustus 2015, **Diterima:** Maret 2016

ABSTRACT

Dibenzothiophene is one of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compound containing sulfur element. This compound has toxicity, mutagenic and quiet persistent in environment. From screening test, it was known that isolate LBF-1-0061 was potential to degrade dibenzothiophene. The objectives of this study are to study dibenzothiophene degrading capability by marine bacteria isolate LBF-1-0061 using screening test; analysis of dibenzothiophene residue by GC/MS and identify the isolate by molecular identification. The result of this research shown that LBF-1-0061 isolate could grow up to 100 ppm of dibenzothiophene. This isolate also presented degrading capability approximately 37.5% of dibenzothiophene in 14 days incubation. Based on partial 16S rRNA gene analysis, LBF-1-0061 was identified 99% as *Novosphingobium mathurense* strain SM117.

Keywords: sea bacteria, biodegradation, dibenzothiophene, hydrocarbon aromatic polycyclic

ABSTRAK

Dibenzotiofen merupakan kelompok hidrokarbon polisiklik aromatik yang memiliki kandungan sulfur. Senyawa ini memiliki sifat toksik, mutagenik dan sulit terdegradasi di lingkungan. Dari uji skrining diketahui bahwa isolat LBF-1-0061 termasuk bakteri yang mampu mendegradasi dibenzotiofen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat bakteri laut LBF-1-0061 dalam mendegradasi dibenzotiofen melalui uji skrining, analisis residu dibenzotiofen dengan GC/M dan untuk mengidentifikasi isolat tersebut secara molekular. Isolat LBF-1-0061 mampu tumbuh dalam dibenzotiofen hingga konsentrasi 100 ppm dalam 14 hari inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa degradasi dibenzotiofen terjadi hingga 37,5%. Identifikasi sebagian gen isolat LBF-1-0061 dilakukan berdasarkan gen 16s rRNA. Hasil analisis menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki tingkat kemiripan sebesar 99% dengan *Novosphingobium mathurense* strain SM117.

Kata Kunci : Bakteri laut, Biodegradasi, Dibenzotiofen, Hidrokarbon polisiklik aromatik

PENDAHULUAN

Kandungan senyawa hidrokarbon dalam minyak bumi lebih dari 90% dan sisanya merupakan senyawa nonhidrokarbon (Kussuryani 2003). Hidrokarbon penyusun minyak bumi menurut Cheung (2001) dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu hidrokarbon aromatik polisiklik, heterosiklik dan aromatik substitusi. Senyawa aromatik mengandung berbagai senyawa aromatik lainnya seperti hidrokarbon polisiklik aromatik (PAH) yakni senyawa aromatik yang mengandung lebih dari dua cincin benzen (Marsaoli 2004). Konsentrasi PAH di lingkungan sangat bervariasi, tergantung pada perkiraan kadarnya di sumber daerah terkontaminasi, tingkat perkembangan industri sekitarnya, dan tipe

transport dari senyawa PAH tersebut (Kanaly & Harayama 2000).

Hidrokarbon polisiklik aromatik mengandung lebih dari 100 senyawa kimia berbeda yang terbentuk selama pembakaran tidak sempurna dari batubara, minyak dan gas, sampah, kebakaran hutan, erupsi gunung berapi dan makanan yang melalui proses pembakaran dan pengasapan (McGrath *et al.* 2007; Clemente 2001) serta sebagai kontaminan pada lokasi industri perminyakan atau pengelolaan gas dan pengolahan kayu (Thavamani 2011). Salah satu jenis senyawa PAH ialah dibenzotiofen.

Dibenzotiofen memiliki sulfur dalam strukturnya yang tidak mudah terdegradasi dalam lingkungan (Jong-Su *et al.* 2006). Sulfur merupakan komponen utama minyak bumi setelah karbon dan hidrogen.

Kandungan sulfur dalam minyak kasar sebesar 0,05% sampai 5% dan hingga 14% dalam minyak yang lebih berat (van Hamme *et al.* 2003). Secara umum semakin tinggi berat molekul PAH, maka semakin hidrofobik, toksik dan resisten di lingkungan (Gan *et al.* 2009). Dibenzotiofen tergolong dalam hidrokarbon polisiklik aromatik yang memiliki tiga cincin benzena. Kelarutan dalam air yang rendah dan sulitnya didegradasi oleh mikroba menjadikannya masalah utama (Cerniglia 1992).

Terjadinya pencemaran minyak di perairan Indonesia membuat laut menjadi potensial sebagai sumber lokasi untuk mengisolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon. Salah satu pencemaran minyak bumi yang terjadi di perairan laut Indonesia adalah kebocoran pipa minyak bawah laut PT. Pertamina Refinery Unit IV pada tahun 2015 di Perairan Teluk Penyau, Cilacap (Tempo 2015). Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi dibenzotiofen dari perairan Indonesia, yaitu *Alteromonas alvinellae* Bt05 (Thontowi *et al.* 2013). Selain itu, beberapa bakteri diketahui dapat mendegradasi dibenzotiofen antara lain *Mycobacterium sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Brevibacterium sp.* (Abhilash 2015), *Sphingomonas sp.* (Nadalg *et al.* 2002). Biodegradasi dibenzotiofen telah diketahui melalui jalur Kodama (Kodama *et al.* 1973), jalur pemutusan cincin (Van Afferden *et al.* 1993) dan jalur 4S (McFarland 1999; Monticello 1998).

Penelitian ini melaporkan kemampuan biodegradasi dibenzotiofen oleh isolat LBF-1-0062. Isolat tersebut diisolasi dari perairan laut Muara Kamal, Teluk Jakarta, Indonesia. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi isolat bakteri laut LBF-1-0061 dalam mendegradasi dibenzotiofen dan untuk mengidentifikasi isolat tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Isolat yang digunakan adalah isolat LBF-1-0061 koleksi Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi, Puslit Bioteknologi LIPI. Isolat diremajakan dengan media *Marine Agar* (MA) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C. Untuk uji pertumbuhan dan biodegradasi, isolat dikultur di dalam media *Artificial Sea Water* (ASW) cair.

Pengujian degradasi dibenzotiofen dilakukan dengan metode sublimasi menurut Alley & Brown (2000) pada media ASW agar. Sublimasi dibenzotiofen dilakukan pada suhu 95 °C selama 3 menit. Kontrol

yang digunakan adalah isolat yang diinokulasi pada pada media, namun tidak dilakukan sublimasi dan media yang dilakukan sublimasi tanpa inokulasi isolat. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 30 °C. Uji konfirmasi kemampuan degradasi dibenzotiofen dilakukan dalam media ASW cair yang mengandung 50 ppm dibenzotiofen. Inkubasi dilakukan dengan menggunakan penggojok pada 30 °C, 150 rpm selama 7 hari. Perubahan warna yang terjadi diamati selama 7 hari.

Isolat LBF-1-0061 diinokulasi ke dalam media ASW cair yang mengandung beberapa variasi dibenzotiofen yaitu 0, 50, 100, 500 dan 1000 ppm. Larutan stok dibenzotiofen disiapkan dengan melarutkannya dalam dimethyl sulphoxide (DMSO). Pertumbuhan isolat diamati dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Viabilitas sel isolat LBF-1-0061 dihitung menggunakan haemasitometer dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x.

Isolat LBF-1-0061 diinokulasi ke dalam media ASW cair yang mengandung 100 ppm dibenzotiofen. Variasi kosentrasi isolat yang digunakan adalah OD 20, 30 dan 50. Kultur diambil sebanyak 1ml pada hari ke-0, 3 dan 7. Setiap sampel kultur diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

Isolat diinokulasi pada media ASW cair dengan 100 ppm dibenzotiofen. Inkubasi dilakukan dengan menggunakan penggojok pada 30 °C, 150 rpm selama 7 hari. Sampel diambil setiap 3 hari. Kerapatan sel diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Sampel sebanyak 5 ml diekstraksi dengan menambahkan 5 ml diklorometan dan Na₂SO₄. Analisis metabolit dilakukan dengan gas kromatografi (GC) Shimadzu. Detektor yang digunakan adalah *flam ionization detector* (FID) dengan 30 cm kolom silika (HPI) yang berdiameter 0,35 mm. Suhu awal oven pada 60 °C dan ditingkatkan hingga 280 °C. Kecepatan alir yang digunakan 6 ml/menit dan diinkubasi selama 15 menit. Suhu detektor dan injektor adalah 300 °C dan 240 °C. Nitrogen digunakan sebagai pembawa gas. Aktivitas degradasi diukur berdasarkan dibenzotiofen yang tersisa (Thontowi & Yopi 2013). Larutan standar yang digunakan adalah larutan standar dibenzotiofen yang dilarutkan dalam *dimethyl sulphoxide* (DMSO) dengan konsentrasi 100 ppm.

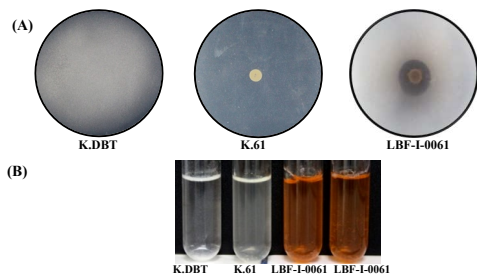
Isolat LBF-1-0061 diidentifikasi berdasarkan analisis sebagian gen 16S rRNA. Ekstraksi, isolasi

dan purifikasi DNA bakteri menggunakan PCR Mix Go Taq MM Green PROMEGA. Primer yang digunakan adalah primer 9 F (5'-GAGTTTGATCC TGGCTCAG-3') dan 1510 R (5'-GCTACCTT GTTACGACTT-3'). Kondisi reaksi PCR adalah 95°C 2 menit (1 siklus), 95°C 30 detik, 65°C 1 menit, 72°C 2 menit (10 siklus); 95°C 30 detik, 55°C 1 menit, 72°C 2 menit (30 siklus) (Thontowi & Yopi 2013). Hasil amplifikasi kemudian dipurifikasi dan disekuensing. Analisis urutan nukleotida menggunakan program BLAST berdasarkan bank data. Pembuatan pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA 5.0 dengan *Test Neighbor-joining tree* dan diuji dengan *Bootstrap method*. Kultur Isolat LBF-1-0061 berumur 24 jam dalam media agar diamati morfologi koloni seperti bentuk koloni, warna koloni, tepian koloni dan permukaan koloni. Isolat LBF-1-0061 selanjutnya dilakukan uji pengecatan gram. Hasil uji pengecatan gram dan morfologi sel isolat diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400x.

HASIL

Uji kualitatif degradasi dibenzotiofen

Hasil uji degradasi awal dengan metode sublimasi menunjukkan bahwa isolat LBF-1-0061 mampu mendegradasi dibenzotiofen. Terjadi perubahan warna koloni yang mulanya berwarna kuning menjadi jingga dan zona bening terbentuk setelah tujuh hari inkubasi, kecuali pada kontrol DBT dan kontrol isolat LBF-1-0061 (Gambar 1A). Kemampuan degradasi isolat LBF-1-0061 dalam



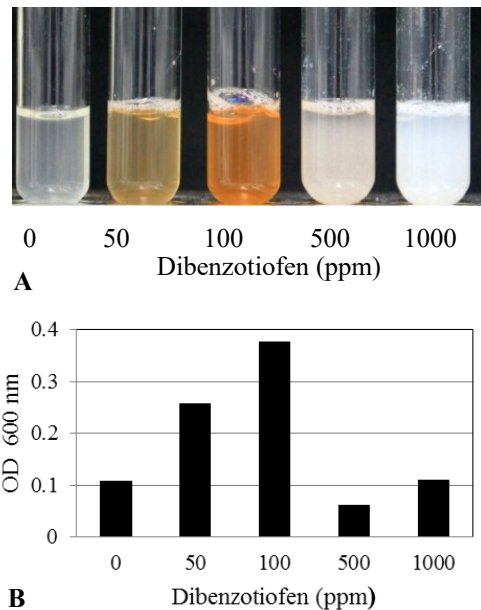
Gambar 1. Kemampuan degradasi isolat LBF-1-0061 dalam mendegradasi dibenzotiofen dengan metode sublimasi. Kemampuan biodegradasi dibenzotiofen oleh isolat LBF-1-0061 ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar koloni sebagai hasil degradasi (tanda panah putih) (A) dan uji pertumbuhan dalam media ASW cair yang mengandung 30 ppm dibenzotiofen (B). Kultur telah diinkubasi selama 7 hari. K.DBT: kontrol dibenzotiofen; K.61= kontrol isolat LBF-1-0061

mendegradasi dibenzotiofen dikonfirmasi dengan menumbuhkannya dalam media ASW cair yang mengandung 50 ppm dibenzotiofen. Hasil menunjukkan bahwa terjadi perubahan warna media menjadi jingga (Gambar 1B). Dari hasil ini isolat LBF-1-0061 telah menunjukkan hasil uji positif dalam mendegradasi dibenzotiofen.

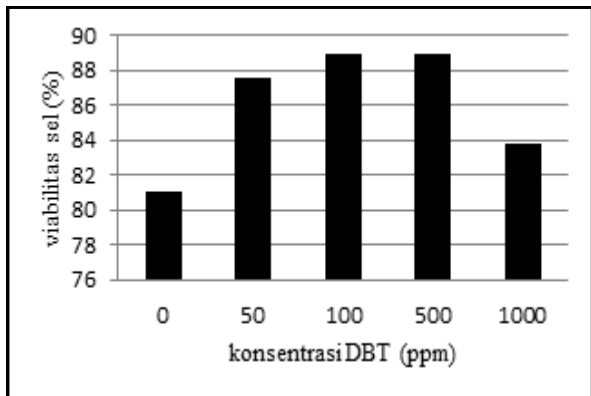
Optimasi pertumbuhan isolat dalam variasi dibenzotiofen

Isolat LBF-1-0061 mampu tumbuh pada konsentrasi dibenzotiofen sebesar 50-100 ppm. Media mengalami perubahan warna menjadi jingga pada hari ke 3 dan memiliki warna jingga yang lebih pekat setelah inkubasi selama 7 hari. Gambar 2A. menunjukkan media dengan konsentrasi 100 ppm dibenzotiofen memiliki kepekatan warna jingga yang lebih pekat dibandingkan media dengan konsentrasi 50 ppm.

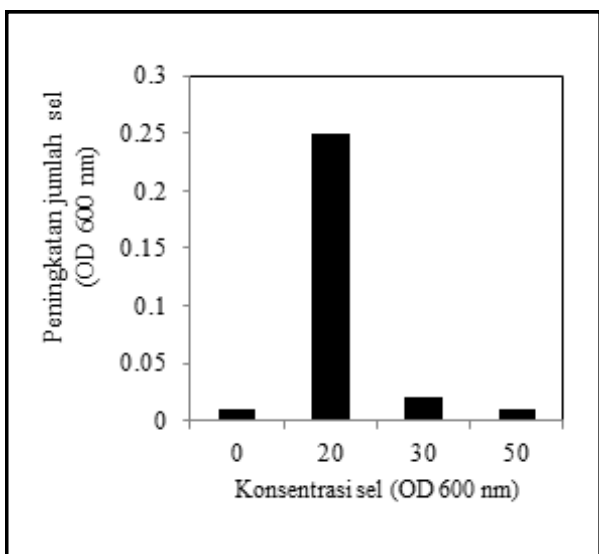
Secara visual, kultur mengalami perubahan warna pada konsentrasi 500 ppm sementara media dengan konsentrasi 1000 ppm tidak mengalami perubahan warna. Isolat memiliki pertumbuhan (Gambar 2B) dan viabilitas sel (Gambar 3) tertinggi pada media dengan dibenzotiofen 100 ppm. Penurunan tingkat pertumbuhan isolat terjadi pada



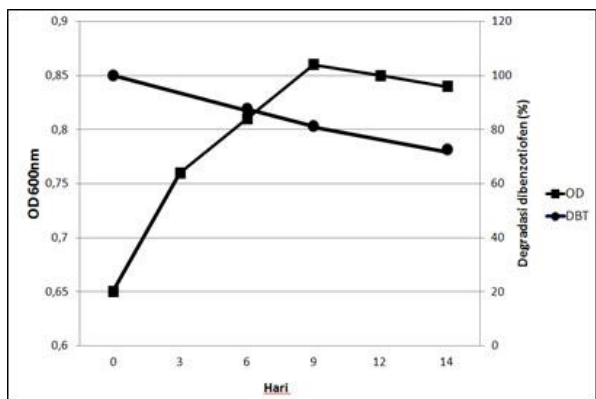
Gambar 2. Pertumbuhan isolat LBF-1-0061 dalam media ASW yang mengandung variasi konsentrasi dibenzotiofen selama 7 hari inkubasi. (A) Perubahan warna kultur isolat, dan (B) jumlah sel dalam variasi konsentrasi dibenzotiofen



Gambar 3. Grafik viabilitas sel isolat LBF-1-0061 dalam berbagai variasi konsentrasi dibenzotiofen selama 7 hari inkubasi



Gambar 4. Grafik pertumbuhan isolat LBF-1-0061 dalam media ASW dengan 100 ppm dibenzotiofen sel selama 7 hari inkubasi



Gambar 5. Kurva biodegradasi dibenzotiofen oleh isolat LBF-1-0061. Analisis dibenzothiphene dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Gas (GC) dan waktu inkubasi sampel selama 14 hari

media dengan konsentrasi 500 ppm dan 1000 ppm dibenzotiofen.

Optimasi pertumbuhan isolat dalam variasi konsentrasi sel

Gambar 4. menunjukkan bahwa isolat LBF-1-0061 mampu mengalami pertumbuhan pada variasi konsentrasi sel 20-50 (OD600 nm) dalam media yang mengandung dibenzotiofen selama 7 hari inkubasi. Peningkatan pertumbuhan isolat yang dilihat dari peningkatan jumlah sel terbesar terjadi dengan konsentrasi sel 20 (OD600nm) dan terendah pada konsentrasi sel 50 (OD600nm). Hal ini dikarenakan oleh kurangnya nutrisi pada media untuk memenuhi kebutuhan sel akibat kepadatan sel yang tinggi.

Uji biodegradasi dibenzotiofen

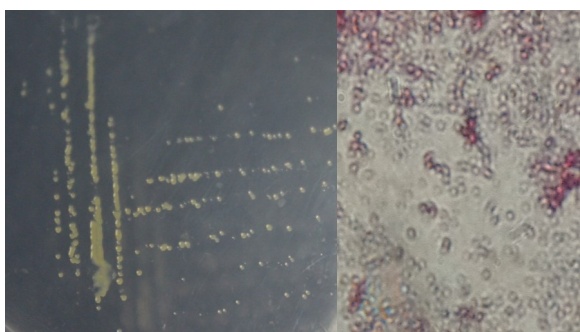
Kemampuan biodegradasi isolat LBF-1-0061 dilakukan dengan menambahkan 100 ppm dibenzotiofen dalam media. Pada Gambar 5 terlihat penurunan konsentrasi dibenzotiofen. Setelah inkubasi selama 14 hari penurunan konsentrasi dibenzotiofen mulai terjadi pada hari ke-6 dimana peningkatan biomassa sel masih terjadi. Penurunan konsentrasi dibenzotiofen pada hari ke-14 sebanyak 37,5%. Penurunan tingkat pertumbuhan isolat terjadi pada hari ke-14.

Identifikasi isolat LBF-1-0061

Gambar 6.A. menunjukkan bahwa isolat LBF-1-0061 memiliki warna koloni kuning dengan bentuk koloni bulat, permukaan cembung dan tepian *entire*. Isolat LBF-1-0061 termasuk bakteri gram negatif (Gambar 6). Menurut Okami (1982) air laut mempunyai kemampuan menghambat bakteri gram positif, yang berakibat gram negatif lebih mendominasi.

Isolat LBF-1-0061 dilakukan identifikasi berdasarkan gen 16S rRNA sebagian. Menurut Patel (2001) gen 16S rRNA digunakan untuk mengetahui filogeni dan taksonomi bakteri karena gen tersebut dimiliki hampir semua bakteri, fungsi dari gen 16S rRNA tidak berubah dan memiliki panjang sekitar 1522 bp. Hasil visualisasi pada Gambar 7 menunjukkan bahwa hasil amplifikasi gen isolat LBF-1-0061 memiliki ukuran sekitar 1500 bp. Berdasarkan hasil sekuensing, isolat LBF-1-0061 memiliki urutan basa sebanyak 1294 basa.

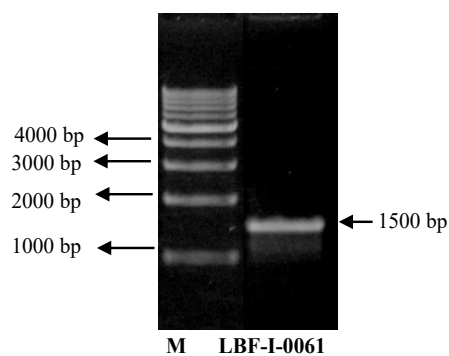
Hasil sekuensing gen 16S rRNA isolat LBF-1-0061 dilakukan analisis dengan menggunakan program BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov) yang dibandingkan dengan bank data. Isolat LB-I-0061 dengan *Novosphingobium mathurensense* strain SM117 memiliki nilai kesamaan sebesar 99% dengan *E-Value* 0,0 dan nilai maksimal 2383 (Tabel 1). *E-value* yang signifikan akan menunjukkan nilai mendekati 0 (nol) (Baxevanis *et al.* 2002). Pohon filogenetik isolat LBF-1-0061 dengan *Novosphingobium mathurensense* strain SM117 (NR 116020.1) memiliki nilai *bootstrap* 90 dengan skala 0,005 (Gambar 8). Nilai *bootstrap* yang lebih besar dari 70 menunjukkan bahwa data relatif stabil (Lemey *et al.* 2009).



Gambar 6. Morfologi isolat LBF-1-0061. (A) Morfologi koloni isolat LBF-1-0061. (B) Morfologi sel isolat LBF-1-0061 hasil pengecatan gram pada perbesaran 400x.

PEMBAHASAN

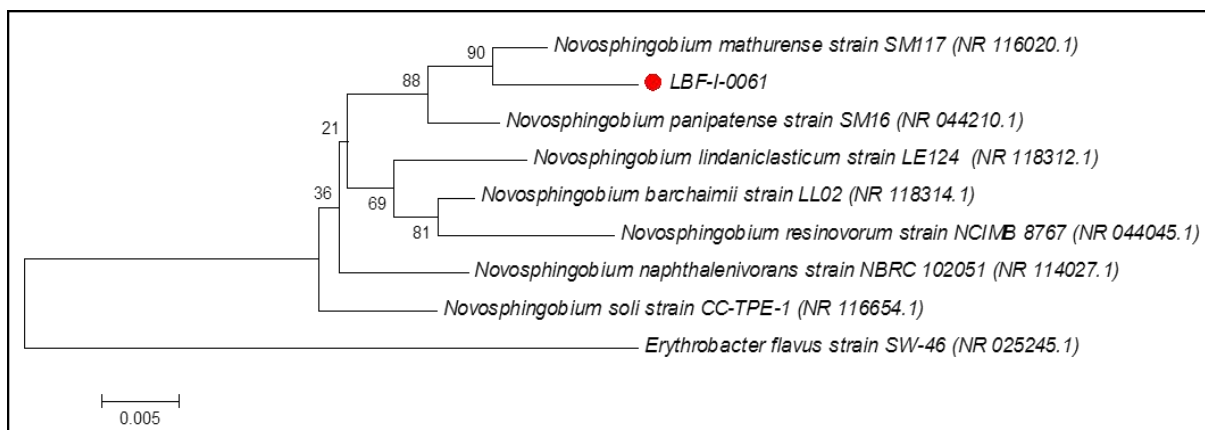
Hasil uji sublimasi dan pertumbuhan di dalam media cair menunjukkan bahwa isolat LBF-1-0061 memiliki potensi untuk mendegradasi senyawa dibenzotiofen dengan adanya perubahan warna media menjadi jingga. Perubahan warna terjadi disebabkan adanya pertumbuhan isolat LBF-1-0061. Aktivitas metabolisme isolat LBF-1-0061 dalam menggunakan dibenzotiofen sebagai sumber nutrisi mengakibatkan terbentuknya suatu metabolit yang berwarna jingga. Menurut Kodama *et al.*(1970) perubahan warna koloni menjadi kemerahan ketika diberi perlakuan penambahan dibenzotiofen. Hal ini menunjukkan transformasi dibenzotiofen menjadi



Gambar 7. Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA isolat LBF-1-0061 pada konsentrasi gel agarosa 1%. M= marker.

Tabel 1. Hasil analisis BLAST gen 16S rRNA isolat LBF-1-0061

No.	Analisis BLAST	Maximal Score	Total Score	Query Cover (%)	E Value	Identity (%)	Accession
1.	<i>Novosphingobium mathurensense</i> strain SM117	2383	2383	99	0,0	99	NR_116020.1
2.	<i>Novosphingobium panipatense</i> strain SM16	2340	2340	99	0,0	98	NR_044210.1
3.	<i>Novosphingobium naphthalenivorans</i> strain NBRC 102051	2292	2292	100	0,0	97	NR_114027.1
4.	<i>Novosphingobium barchaimii</i> strain LL02	2252	2252	99	0,0	97	NR_118314.1
	<i>Novosphingobium soli</i> strain CC-TPE-1	2252	2252	100	0,0	97	NR_116654.1
5.	<i>Novosphingobium lindaniclasticum</i> strain LE124	2217	2217	99	00	96	NR_118312.1
6.	<i>Novosphingobium resinovorum</i> strain NCIMB 8767	2204	2204	100	0,0	96	NR_044045.1
6.	<i>Erythrobacter flavus</i> strain SW-46	2004	2004	100	0,0	94	NR_025245.1



Gambar 8. Pohon filogenetik Isolat LBF-1-0061 berdasarkan perbandingan gen 16S rRNA

bentuk teroksidasi. Perubahan warna yang terjadi menandakan berkurangnya jumlah kristal hidrokarbon aromatik polisiklik yang terlarut, selain itu juga meningkatnya biomassa sel bakteri (Juhasz *et al.* 1997). Menurut Frassinetti *et al.* (1998) perubahan warna kultur menjadi jingga disebabkan oleh adanya akumulasi dua metabolit yaitu metabolit berwarna merah dan metabolit berwarna kuning. Metabolit berwarna merah merupakan hasil pemutusan cincin trans-4[2-(3-hidroksi)-tianaftenil]-2-okso-3-asam butanat, dimana senyawa ini merupakan salah satu metabolit yang dihasilkan dalam degradasi dibenzotiofen jalur Kodama. Sementara metabolit berwarna kuning merupakan senyawa hasil pemutusan cincin 2-hidroksi-4-(3-okso-3H-benzofuran-2-yliden)but-2-asam enoat. Pertumbuhan sel dan terjadinya perubahan warna koloni menunjukkan adanya aktivitas enzim di dalam sel. Beberapa laporan menunjukkan bahwa biodegradasi dibenzotiofen melalui dua jalur utama, yaitu jalur Kodama dan desulfurisasi. Kedua jalur tersebut melibatkan aktivitas enzim dioksigenase dominan dalam jalur Kodama (Gai *et al.* 2007). Adapun jalur desulfurifikasi melibatkan enzim monooksigenase dengan kofaktor flavin (Matsubara *et al.* 2001; Sutherland *et al.* 2002).

Hasil identifikasi molekular menunjukkan bahwa isolat LBF-1-0061 memiliki 99% kemiripan dengan *Novosphingobium mathurensis* strain SM117. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa *N. mathurensis* strain SM117 menunjukkan hasil uji negatif terhadap degradasi beberapa senyawa PAH seperti fenantren, naftalen dan antrasen (Gupta *et al.* 2009). Namun pada penelitian kami isolat LBF-1-0061 menunjukkan hasil uji positif dalam

mendegradasi dibenzotiofen. *N. mathurensis* telah dilaporkan termasuk bakteri gram negatif, memiliki flagel, sel berbentuk rod berukuran 1,4 x 0,8 μm . Koloni berwarna kuning, koloni berbentuk bulat dan convex dengan tepian *entire*. Koloni berdiameter 1,0 -1,5 mm setelah inkubasi 3 hari pada suhu 28^oC dalam media LB. Pertumbuhan optimal pada suhu 28 -37^oC dan pH 7,2. *N. mathurensis* merupakan bakteri aerobik. Hasil uji negatif terjadi pada uji katalase, oksidase, reduksi nitrat dan lektinase. Bakteri ini tidak mampu menghidrolisis kasein, pati, gelatin dan xantin, namun dapat mengasimilasi glukosa, fruktosa, galaktosa, laktosa, xilosa, rafinosa, arabinosa, maltosa dan mannosa (Gupta *et al.* 2009).

Penelitian *N. mathurensis* dalam mendegradasi dibenzotiofen belum dilaporkan, namun genus *Novosphingobium* memiliki beberapa spesies yang mampu melakukan biodegradasi senyawa resisten, seperti dibenzotiofen (Fujii *et al.* 2002) *N. stygium*, *N. subterraneum* (Frederickson *et al.* 1995) dan *N. indicum* (Yuan *et al.* 2009) telah dilaporkan mampu mendegradasi dibenzotiofen.

Hasil uji biodegradasi terhadap isolat LBF-1-0061 menunjukkan kemampuan isolat untuk mendegradasi senyawa dibenzotiofen adalah 37,5% dalam 14 hari. Bila dibandingkan dengan *Alteromonas alvinellae* Bt05 (Thontowi dkk. 2013), maka kemampuan isolat LBF-1-0061 dalam mendegradasi senyawa dibenzotiofen tidaklah tinggi. *A. alvinellae* Bt05 mampu mendegradasi dibenzotiofen hingga 80% selama 11 hari inkubasi. Namun, isolat LBF-1-0061 mampu mendegradasi dibenzotiofen lebih cepat dibandingkan *Pseudomonas* sp. Kalp-3b22. Isolat ini mampu mendegradasi dibenzotiofen dalam waktu 29 hari inkubasi

(Murniasih *et al.* 2009). Kemampuan ini dapat dimaksimalkan dengan merancang konsorsium beberapa isolat lain dengan potensi sama untuk mendegradasi senyawa dibenzotiofen. Upaya meningkatkan bioremediasi dan degradasi senyawa-senyawa aromatik dalam minyak bumi dapat juga diupayakan dengan penggunaan teknik immobilisasi bakteri pendegradasi dalam media yang mengandung senyawa PAH lain seperti naftalen dalam sistem magnetik gel seperti dilaporkan oleh Shi *et al.* (2014). Disamping itu, biodegradasi yang merupakan tahapan bioremediasi pada dasarnya adalah suatu sistem jaringan “kerja” yang melibatkan komunitas mikroorganisme secara bersama-sama. Oleh karena itu, salah satu strateginya adalah biostimulasi komunitas bakteri indigenous agar populasinya meningkat melalui penyediaan nutrien, aerasi, faktor (Trigo *et. al* 2008).

KESIMPULAN

Isolat LBF-1-0061 merupakan bakteri yang mampu mendegradasi dibenzotiofen hingga 37,5% setelah 14 hari inkubasi. Kemampuan isolat LBF-1-0061 dalam degradasi dibenzotiofen hingga konsentrasi 500 ppm dengan konsentrasi optimal degradasi sebesar 100 ppm. Berdasarkan hasil identifikasi sebagian gen 16S rRNA isolat ini memiliki kemiripan 99% dengan *Novosphingobium mathurense* strain SM117.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DIPA Tematik Puslit Bioteknologi LIPI dan Project SATREPS I: *Development of Internationally Standardized Microbial Resources Center As A Core of Biological Resources Center to Promote Life Science Research and Biotechnology* 2011-2016 atas dukungan dana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Baxevanis, AD., DB. Davison, RDM. Page, GA. Petsko, LD. Stein, & GD. Stromo. 2002. *Current Protocols In Bioinformatics*. John Wiley & Sons, Inc.US.
Cerniglia, C. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3:

351-368.
Cheung, PY. & BK. Kinkle. 2001. Mycobacterium diversity and pyrene mineralization in petroleum contaminated soils. *Applied Environmental Microbiology*. 67: 2222-2229.
Clemente AR., TA. Anazawa & LR. Durrant LR .2001. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil fungi. *Braz Journal of Microbiology* 32:255–61.
Frassinetti S., L. Setti, A. Corti, P. Farrinelli, P. Montevecchi, & G. Vallini. 1998. Biodegradation of dibenzothiophene by a nodulating isolate of *Rhizobium meliloti*. *Canadian Journal of Microbiology*. 44: 289–297.
Frederickson, JK., DL. Balkwill, GR. Drake, MF. Romine, DB. Ringelberg, & DC. White. 1995. Aromatic-degrading Sphingomonas isolates from the deep substrate. *Applied Environtal Microbiology*. 61:1917–1922.
Fujii, K., K. Shintaro, S. Masataka, US. Noriko & M. Naoki. 2002. Degradation of 17 β -estradiol by a gram-negative bacterium isolated from activated sludge in a sewage treatment plant in Tokyo, Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 2057–2060.
Gan, S., EV. Lau, & HK. Ng. 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*. 172: 532-549.
Jong-Su, S, K. Young-Soo, IK. Cho & XL. Qing 2006. Degradation of dibenzothiophene and carbazole by *Arthrobacter* sp. P1-1. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 58: 36-43.
Juhasz, AL., ML. Britz & GA. Stanley.1997. Degradation of Fluoranthene, pyrene, benz [a]anthracene and dibenz[a,h]anthra-cene by *Burkholderia cepacia*. *Journal of Applied Microbiology*. 83: 189-198.
Kanaly, RA., & S. Harayama. (2000). Biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by

- bacteria. *Journal of Bacteriology*. <http://doi.org/10.1128/JB.182.8.2059-2067.2000>
- Kodama K., S. Nakatani, K. Umehara, K. Shimizu, Y. Minoda & K. Yamada. 1970. Microbial conversion of petro-sulfur compounds. Part III. Isolation and identification of products from dibenzothiophene. *Agricultural Biology Chemical*. 34: 1320–1324.
- Kussuryani Y. 2003. Penelitian pengaruh nutrisi terhadap biodegradasi limbah cair kilang minyak. Jakarta: *Lembaran publikasi lemigas* 37: 2.
- Lemey, P., S. Marco, & V. Anne-Mieke. 2009. *The Phylogenetic Handbook*. 2nd. edition. Cambridge University Press. New York
- McFarland, BL. 1999. Biodesulfurization. *Current Opin Microbiology* 2: 257–264.
- McGrath TE., JB. Wooten, CW. Geoffrey, & M. R. Hajaligol. 2007. Formation Of Polycyclicaromatic Hydrocarbons From Tobacco: The Linkbetween Low Temperature Residual Solid (Char) and PAH Formation. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 1039–1050.
- Monticello, DJ. 1998. Riding the fossil fuel biodesulfurization wave. *Chemtechnology* 28: 38–45.
- Murniasih, T., Yopi, & Budiawan. 2009. Biodegradasi Fenantren oleh Bakteri Laut *Pseudomonas* sp. Kalp3b22 Asal Kumai Kalimantan Tengah. *Makara Sains*. 13(1): 77-80.
- Okami, Y. 1982. Potential use of marine microorganisms for antibiotics and enzyme production. *Pure & Applied Chemical*. 54:1951-1962.
- Patel, JB. 2001. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Molecular Diagnosis*. 6:313-321.
- Shi, S., Y. Qu, F. Ma, & J. Zhou. 2014. Bioremediation of coking wastewater containing carbazole, dibenzofuran and dibenzothiophene by immobilized naphthalene-cultivated *Arthrobacter* sp. W1 in magnetic gellan gum. *Bioresource Technology*. 166. 79–86.
- Tempo. 2015. Minyak pertamina cilacap tumpah di pantai selatan nusakambangan.<http://nasional.tempo.co/read/news/2015/05/21/058668169/minyak-pertamina-cilacap-tumpah-di-pantai-selatan-nusakambangan>.
- Thavamani P, M. Megharaj, GS. Krishnamurti, R. McFarland & R. Naidu. 2011. Finger printing of mixed contaminants from former manufactured gas plant (MGP) site soils: Implications to bioremediation. *Enviromental International*. 37 : 184–9.
- Thontowi, A. & Yopi. 2013. Keragaman bakteri laut pendegradasi alkana dan poliaromatik hidrokarbon di Pulau Pari Jakarta. *Jurnal Biologi Indonesia*. 9:137-146.
- Thontowi, A., N. Rahmani & Yopi. 2013. Polyaromatic hydrocarbon degradation and dioxygenase gene detection from *Alteromonas alvinella* Bt05. *Annales Bogorienses*. 17: 33-41.
- Trigo, A., A. Valencia, & I. Cases 2009. Systemic approaches to biodegradation. *FEMS Microbiology Reviews*. <http://doi.org/10.1111/j.1574-976.2008.00143.x>
- van Afferden, M., Tappe, D., Beyer, M., Truper, HG. & J. Klein. 1993. Biochemical mechanisms for the desulphurisation of coalrelevant organic sulphur compounds. *Fuel* 72: 635–643.
- van Hamme JD., ET. Wong, H. Dettman, MR. Gray & MA. Pickard. 2003. Dibenzyl sulfide metabolism by white-rot fungi. *Applied Environmental Microbiology*. 69: 1320–1324.
- Yuan, J., Q. Lai, T. Zheng & Z. Shao. 2009. *Novosphingobium indicum* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from a deep-sea environment. *Int. Journal Systematic Evolotion Microbiology*. 59: 2084-2088