

DEGRADASI PHENANTHRENE OLEH *Bacillus subtilis* CYA27 DENGAN PENAMBAHAN DISPERSAN

NABILAH STRATA ILMA



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Degradasi *Phenanthrene* oleh *Bacillus subtilis* CYA27 dengan Penambahan Dispersan” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, November 2025

Nabilah Strata Ilma
P0501212032



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

NABILAH STRATA ILMA. Degradasi *Phenanthrene* oleh *Bacillus subtilis* CYA27 dengan Penambahan Dispersan. Dibimbing oleh ANAS MIFTAH FAUZI dan ZAENAL ABIDIN.

Kasus tumpahan minyak bumi kerap terjadi di Indonesia, termasuk empat kasus besar dalam lima tahun terakhir di Teluk Balikpapan, Kepulauan Seribu, Pesisir Karawang, dan Kepulauan Riau. Tumpahan minyak ini mengintroduksi senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik ke lingkungan yang bersifat toksik dan sulit terdegradasi secara alami sehingga menimbulkan masalah lingkungan dan kesehatan manusia. Teknik biodegradasi yang memanfaatkan bakteri pendegradasi hidrokarbon yang dikombinasikan dengan dispersan dapat menjadi solusi penanganan tumpahan minyak di lingkungan.

Tujuan penelitian ini yaitu menganalisis efektivitas dan mekanisme *B. subtilis* CYA27 dengan penambahan dispersan selama proses degradasi *phenanthrene*. Penelitian ini menggunakan *phenanthrene* sebagai model pencemaran senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik untuk menganalisis pengaruh penambahan dispersan terhadap kemampuan degradasi oleh *B. subtilis* CYA27. Percobaan penelitian dilakukan dengan menggunakan simulasi pencemaran *phenanthrene* pada air laut dengan total pencemaran 100 mL dalam erlenmeyer 250 mL. Dua jenis dispersan yang digunakan yaitu Bio-OSD (berbasis minyak kelapa sawit) dan Non-Bio-OSD (berbasis minyak bumi).

Pengaruh penambahan dispersan terhadap efektivitas degradasi *phenanthrene* diperoleh dari data efisiensi degradasi *phenanthrene* masing-masing dispersan sebesar 73,9% dan 46,7% setelah 35 hari inkubasi. Peningkatan degradasi *phenanthrene* ini melalui mekanisme dispersan meningkatkan bioavailabilitas *phenanthrene* melalui penurunan ukuran *droplet* dan peningkatan aktivitas emulsifikasi, serta dispersan yang berperan sebagai sumber karbon primer tambahan dalam mekanisme *cometabolisme*. Selain itu, penambahan dispersan memengaruhi metabolisme *B. subtilis* CYA27 dalam degradasi *phenanthrene*. Hal ini didukung oleh deteksi aktivitas enzim intraseluler yaitu enzim *catechol 1,2-dioxygenase* (C12O) dan *catechol 2,3-dioxygenase* (C23O) serta jalur metabolisme yang dipilih, yang menunjukkan keterlibatan enzimatis dalam pembelahan cincin aromatik. Analisis metabolit pada sistem degradasi *phenanthrene* menunjukkan bahwa jalur degradasi *phenanthrene* dengan penambahan dispersan melalui jalur *salicylic acid* dan *phthalic acid* yang kemudian memasuki siklus *tricarboxylic acid* (TCA). Membandingkan dengan perlakuan tanpa dispersan, metabolit yang teridentifikasi yaitu *4-methoxy-1-naphthol*, sebagai metabolit yang mengalami metoksilasi. Hal ini merupakan mekanisme *B. subtilis* CYA27 dalam mengurangi tingkat toksisitas senyawa antara *phenanthrene* namun dalam prosesnya tidak memasuki siklus TCA.

Hasil temuan penelitian ini menunjukkan bahwa dispersan tidak hanya meningkatkan bioavailabilitas, tetapi juga berpengaruh terhadap metabolisme bakteri. Penelitian ini memberikan wawasan baru tentang katabolisme *phenanthrene* dan peran dispersan dalam proses degradasi pencemaran senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik di lingkungan laut.

Kata kunci : *B. subtilis* CYA27, biodegradasi, dispersan, *phenanthrene*



SUMMARY

NABILAH STRATA ILMA. Phenanthrene biodegradation by *Bacillus subtilis* CYA27 in The Presence of Dispersant. Supervised by ANAS MIFTAH FAUZI and ZAENAL ABIDIN.

Oil spills frequently occur in Indonesia, including four major events in the past five years in Balikpapan Bay, the Seribu Islands, the Karawang Coast, and the Riau Islands. These oil spills introduce polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compounds into the environment, which are toxic and difficult to degrade naturally, thus becoming a significant problem for the environment and human health. Biodegradation techniques using hydrocarbon-degrading bacteria combined with dispersants can be a potential solution to overcome oil spills in the environment.

This study aims to analyze the effectiveness and mechanism of *B. subtilis* CYA27 in the degradation of phenanthrene with the addition of a dispersant during the biodegradation process. This study uses phenanthrene as a model compound for polycyclic aromatic hydrocarbon pollution to analyze the effect of dispersant addition on the degradation ability of the *B. subtilis* CYA27. The experimental design simulated phenanthrene pollution in seawater with a total volume of 100 mL in a 250 mL Erlenmeyer flask. Two dispersants were used: Bio-OSD (palm oil-based) and Non-Bio-OSD (petroleum-based).

The results showed that the presence of Bio-OSD and Non-Bio-OSD enhanced phenanthrene degradation, achieving up to 73.9% and 46.7% after 35 days, respectively. This increase in phenanthrene degradation through the dispersant mechanism was associated with enhanced bioavailability of phenanthrene by reducing droplet size and increasing emulsification activity, serving as an additional primary carbon source in the cometabolism mechanism. The addition of dispersant affects the metabolic response of *B. subtilis* CYA27 during phenanthrene degradation, as supported by the detection of intracellular enzyme activity, namely catechol 1,2-dioxygenase (C12O) and catechol 2,3-dioxygenase (C23O), as well as selected the metabolic pathway, providing preliminary evidence for possible enzymatic involvement in aromatic ring cleavage. Metabolite analysis in the phenanthrene degradation system showed that the phenanthrene degradation pathway, with the addition of dispersant, proceeded through the salicylic acid and phthalic acid pathways, which then entered the tricarboxylic acid (TCA) cycle. Compared with the control without dispersant, the identified metabolite was 4-methoxy-1-naphthol, a metabolite that undergoes methoxylation, indicating a mechanism of *B. subtilis* CYA27 in reducing the toxicity level of phenanthrene intermediate compounds. However, in this pathway, the degradation process does not enter the TCA cycle.

The findings of this study indicate that dispersants not only increase bioavailability but also affect bacterial metabolism. This study provides new insights into phenanthrene catabolism and the effect of dispersants on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in seawater.

Keywords: *B. subtilis* CYA27, biodegradation, dispersant, phenanthrene



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DEGRADASI PHENANTHRENE OLEH *Bacillus subtilis* CYA27 DENGAN PENAMBAHAN DISPERSAN

NABILAH STRATA ILMA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Degradasi *Phenanthrene* oleh *Bacillus subtilis* CYA27 dengan Penambahan Dispersan
Nama : Nabilah Strata Ilma
NIM : P0501212032

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng.



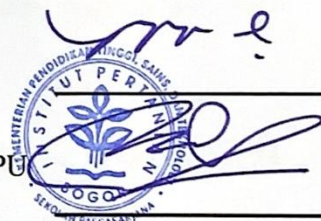
Pembimbing 2:
Dr. Zaenal Abidin, S.Si., M.Agr.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.
NIP. 196204191989031001

Dekan Sekolah Pascasarjana:
Prof. Dr. Ir. Dodik Ridho Nurrochmat, M.Sc.F.Trop., IPG
NIP 197003291996081001



Tanggal Ujian: 24 Oktober 2025

Tanggal Lulus: 14 NOV 2025



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan rahmat-Nya, sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Judul yang dipilih dalam penelitian tesis yang dilaksanakan sejak bulan Maret 2024 sampai bulan Maret 2025 ini ialah “Degradasi *Phenanthrene* oleh *Bacillus subtilis* CYA27 dengan Penambahan Dispersan” ini berhasil diselesaikan. Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam penyelesaian studi Magister di Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng. dan Dr. Zaenal Abidin, S.Si., M.Agr. selaku pembimbing tugas akhir yang telah mengarahkan serta membimbing selama penulisan karya ilmiah ini.
2. Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si. dan Dr. Prayoga Suryadarma, S.T.P., M.T. selaku Ketua dan Sekretaris Program Studi Bioteknologi. Selain itu terima kasih kepada seluruh dosen pengajar di Program Studi Bioteknologi yang telah membimbing dan memberikan ilmu dalam penyelesaian pendidikan magister ini.
3. Orangtua terkasih Bapak Akhmad dan Ibu Sri Wati, serta keluarga besar yang telah menjadi motivasi dalam penyelesaian karya ilmiah ini dan dalam penyelesaian pendidikan S-2.
4. Ikhwannul Fahmi Hidayatullah yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam penyelesaian pendidikan S-2.
5. Rekan-rekan tim penelitian, Yeni Simatupang, Aulia Sundari, Kurnia Yati, dan Ridho Fitrisyah yang selalu mendukung, menemani, dan membantu dalam proses perkuliahan dan penelitian.
6. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada teman-teman yang telah menyemangati selama penelitian ini, khususnya kepada Gita, Fajar, Lu’lu’, Nafisa, Dina, dan teman-teman angkatan di Program Studi Bioteknologi.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, November 2025

Nabilah Strata Ilma



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Phenanthrene</i> sebagai Polutan di Lingkungan	5
2.2 <i>Bacillus subtilis</i> dan Pemanfaatannya dalam Biodegradasi	6
2.3 Mekanisme Biodegradasi <i>Phenanthrene</i> oleh Bakteri	7
2.4 Mekanisme Dispersan dalam Memfasilitasi Biodegradasi Hidrokarbon	10
2.5 Pemanfaatan Mikroba dan Dispersan dalam Degradasi Hidrokarbon	11
III METODE	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Prosedur Kerja	13
3.3.1 Peremajaan <i>B. subtilis</i> CYA27	14
3.3.2 Analisis Penggunaan Substrat	14
3.3.3 Analisis Toleransi <i>B. subtilis</i> CYA27 terhadap Berbagai Konsentrasi <i>Phenanthrene</i>	15
3.3.4 Analisis Efektivitas Degradasi <i>Phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan Penambahan Dispersan	15
3.3.5 Analisis Aktivitas Emulsifikasi dan Ukuran <i>Droplet</i>	16
3.3.6 Analisis Metabolit <i>B. subtilis</i> CYA27 dalam Degradasi <i>Phenanthrene</i>	16
3.3.7 Analisis Aktivitas Enzim Intraseluler dalam Degradasi <i>Phenanthrene</i>	16
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> CYA27 pada Substrat yang Berbeda	17
4.2 Toleransi Pertumbuhan <i>B. subtilis</i> CYA27 terhadap Konsentrasi <i>Phenanthrene</i>	18
4.3 Pengaruh <i>B. subtilis</i> CYA27 dan Dispersan terhadap Degradasi <i>Phenanthrene</i>	19
4.3.1 Efisiensi Degradasi <i>Phenanthrene</i>	19
4.3.2 Pertumbuhan <i>B. subtilis</i> CYA27	20
4.3.3 Perubahan pH selama Degradasi <i>Phenanthrene</i>	22
4.4 Mekanisme Degradasi <i>Phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan Penambahan Dispersan	23
4.4.1 Ukuran <i>Droplet Phenanthrene</i> selama Biodegradasi	23
4.4.2 Aktivitas Emulsifikasi	24
4.4.3 Potensi Produksi Biosurfaktan	25
4.4.4 Mekanisme <i>Cometabolisme</i> dalam Biodegradasi <i>Phenanthrene</i>	26

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

4.4.5	Identifikasi Metabolit Intraseluler <i>B. subtilis</i> CYA27 dalam Degradasi <i>Phenanthrene</i> dengan Penambahan Dispersan	27
4.4.6	Aktivitas Enzim <i>Catechol 1,2-dioxygenase</i> dan <i>Catechol 2,3-dioxygenase</i>	29
4.4.7	Mekanisme Degradasi <i>Phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan Penambahan Dispersan	30
	SIMPULAN DAN SARAN	33
5.1	Simpulan	33
5.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA	35
	LAMPIRAN	45
	RIWAYAT HIDUP	54

DAFTAR TABEL

1	Temuan senyawa <i>phenanthrene</i> pada berbagai lokasi di Indonesia	5
2	Pemanfaatan <i>B. subtilis</i> terhadap degradasi <i>phenanthrene</i>	7
3	Perlakuan dalam rancangan percobaan	15
4	Metabolit intraseluler <i>B. subtilis</i> CYA27 pada substrat yang berbeda	29
5	Aktivitas enzim intraseluler selama degradasi <i>phenanthrene</i>	30

DAFTAR GAMBAR

1	Ilustrasi degradasi senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik oleh bakteri secara intraseluler (Yamini dan Rajeswari 2023)	8
2	Jalur metabolisme dalam degradasi <i>phenanthrene</i> pada bakteri	9
3	Mekanisme dispersan dalam mendispersi senyawa hidrokarbon (Zhu <i>et al.</i> 2022)	10
4	Diagram alir penelitian degradasi <i>phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan penambahan dispersan	14
5	Pertumbuhan (OD ₆₀₀) <i>B. subtilis</i> CYA27 pada substrat yang berbeda. Bar pada grafik menunjukkan standar deviasi pada tiga ulangan	17
6	Pertumbuhan <i>B. subtilis</i> CYA27 pada konsentrasi <i>phenanthrene</i> yang berbeda. Bar pada grafik batang menunjukkan standar deviasi pada tiga ulangan	18
7	Konsentrasi <i>phenanthrene</i> (mg/L) pada awal (hari ke-0) dan akhir (hari ke-35) masa inkubasi, dan efisiensi degradasi (%) untuk setiap perlakuan. Bar pada grafik batang menunjukkan standar deviasi pada tiga ulangan. Huruf yang berbeda (a,b,c,d) di atas batang menunjukkan perbedaan efisiensi degradasi yang signifikan secara statistik antar perlakuan berdasarkan uji Tukey ($p < 0,05$)	19
8	Pertumbuhan <i>B. subtilis</i> CYA27 (OD ₆₀₀). Bar pada grafik menunjukkan standar deviasi pada tiga ulangan	21
9	Perubahan pH selama degradasi <i>phenanthrene</i>	22
10	Perubahan ukuran <i>droplet</i> pada awal (hari 0) dan akhir (hari 35) waktu inkubasi	23
11	Aktivitas emulsifikasi hidrokarbon pada berbagai perlakuan. Bar pada grafik batang menunjukkan standar deviasi pada tiga ulangan	24
12	Spektrum LC-MS/MS <i>ion precursor</i> yang menunjukkan diduga adanya biosurfaktan. A) Sampel <i>phenanthrene</i> + CYA27; B) sampel <i>phenanthrene</i> + Bio-OSD + CYA27	26
13	Mekanisme degradasi <i>phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan penambahan dispersan	31
14	Usulan jalur biodegradasi <i>phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27 dengan penambahan dispersan. Metabolit yang terdeteksi dalam studi degradasi ditunjukkan dalam tanda kurung ([..]), sedangkan panah putus-putus (--->) menunjukkan beberapa langkah metabolisme. Senyawa yang dicetak tebal menunjukkan kemungkinan senyawa antara yang diprediksi berdasarkan laporan sebelumnya	32

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR LAMPIRAN

1	Absorbansi maksimum analisis konsentrasi <i>phenanthrene</i> (A) dan kurva standar (B) menggunakan UV-Vis Spektrofotometer	46
2	Hasil analisis ragam (ANOVA) dan uji Tukey ($p < 0,05$) data efisiensi degradasi <i>phenanthrene</i> oleh <i>B. subtilis</i> CYA27	47
3	Hasil analisis ragam (ANOVA) dan uji Tukey ($p < 0,05$) data pertumbuhan <i>B. subtilis</i> CYA27	48
4	Spektrum LC-MS/MS ion prekursor $[M+H]^+$	51