

Hidrokarbon Aromatik Polisiklik pada Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi: Tinjauan Pertumbuhan Mikro-Organisme, Proses Metabolisme dan Biodegradasi

Allen Kurniawan^{1*}, Yanuar Chandra Wirasembada¹, Indah Mutiara Ningtyas Razaad¹, Adi Novriansyah², Mohamad Rafi³, Agus Jatnika Effendi⁴

¹Departemen Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680; *e-mail: allenkurniawan@apps.ipb.ac.id

²Jurusan Teknik Perminyakan, Universitas Islam Riau, Jl. Kaharudin Nasution No. 113, Pekanbaru, 28284.

³Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor, Jl. Tanjung, Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680.

⁴Program Studi Teknik Lingkungan, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha No. 10, Bandung, 40132.

ABSTRAK

Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (HAP) berasal dari proses alamiah dan limbah antropogenik di lingkungan. HAP merupakan polutan di udara, tanah, dan padatan yang mengendap pada fase cair (sedimen) dan berkembang akibat pembakaran tidak lengkap material organik. Kajian ini berupa studi literatur mengenai informasi secara lebih detail tentang laju kenaikan HAP pada tanah, gambaran umum proses metabolisme, proses biodegradasi HAP melalui keterlibatan mikroorganisme, dan alternatif pengolahan sebagai media teknologi penunjang aktivitas proses degradasi. Proses degradasi HAP dan substrat hidrofobik digunakan untuk membatasi jumlah fase cair terlarut melalui sorpsi, kristalin, dan non-aqueous phase liquid (NAPL) sehingga HAP terlarut menjadi tidak tersedia. Laju peningkatan HAP di dalam tanah terbagi atas tiga fase, yaitu fase eksponensial, fase lanjutan dengan pertumbuhan pseudo-linear, dan fase pseudo-stasioner pada kondisi tidak ideal berdasarkan ciri akses bakteri tersedia dalam jumlah tidak terbatas, dan transportasi substrat adalah homogen. Pada media heterogen, seperti tanah, HAP diserap dalam partikel organik pada pori-pori dengan ukuran kecil sehingga bakteri tanah tidak dapat mengakses HAP. Pada kasus pencemaran dalam skala besar, HAP akan berbentuk semacam tar droplet sehingga membatasi bakteri untuk mendegradasi HAP. Selain bakteri, jenis organisme dan mikroorganisme spesifik pendegradasi HAP dapat ditemukan pada jamur (fungi), cyanobacteria, dan alga.

Kata kunci: biodegradasi, hidrokarbon aromatik polisiklik, mikroorganisme, proses metabolisme.

ABSTRACT

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are derived from natural processes and the anthropogenic wastes in the environment. PAHs are pollutants found in the air, soil, and sediments which are developed due to incomplete combustion of the organic materials. This review provides a more detail literature study regarding the microbial growth, the metabolic process, and PAHs microbial biodegradation processes overview. The process of PAHs and the hydrophobic substrate degradation is applied to limit the amount of dissolved aqueous phase through sorption, crystalline, and non-aqueous phase liquid (NAPL) so that the dissolved PAHs are no longer available. microbial growth on PAHs as the sole carbon source can be divided into three phases which are the exponential phase, the advance phase with pseudo-linear growth, and pseudo-stationery phase in a non-ideal condition based on the characteristic of the unlimited bacterial access and the homogenous substrate transport. In the heterogeneous medium, such as soil, PAHs are absorbed into the organic particles of small sized pores so that the PAHs become inaccessible for the soil bacteria. In large scale pollution, the PAHs are in the form of tar droplets which limit the access for soil bacteria to degrade the PAHs. Other than bacteria, the specific organisms and microorganisms to degrade PAHs are found in fungi, cyanobacteria, and algae.

Keywords: biodegradation, growth rate, metabolic process, microbial, polycyclic aromatic hydrocarbons.

Citation: Kurniawan A., Wirasembada, Y.C., Razaad, I.M.N., Novriansyah, A., Rafi, M., Effendi, A.J.(2018). Hidrokarbon Aromatik Polisiklik pada Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi: Tinjauan Pertumbuhan Mikro-Organisme, Proses Metabolisme dan Biodegradasi, *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 16(1), 9-24, doi:10.14710/jil.16.1.9-24

1. Pendahuluan

Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (HAP) atau *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAHs) merupakan polutan di udara, tanah, dan padatan yang mengendap pada fase cair dan sedimen. Pencemaran utama HAP terjadi pada proses eksplorasi dan produksi minyak bumi melalui tumpahan minyak bumi ke lingkungan pada sumur produksi, jaringan pemipaan, tangki pengumpul, hingga proses transportasi minyak bumi menuju kilang pengolahan. Kebocoran dan pencemaran minyak bumi di lingkungan disebabkan intensitas penggunaan melebihi batas umur peralatan dan proses pemeliharaan buruk (Iturbe *et al.*, 2007). Johnsen *et al.* (2005) menyatakan HAP adalah kontaminan unik di lingkungan akibat pembakaran material organik tidak lengkap, seperti kebakaran hutan, pemanas rumah, transportasi, atau pembakaran sampah. Selain itu, HAP dihasilkan dari aktivitas vulkanologi, proses industri, gasifikasi, dan insinerasi limbah plastik. Menurut Ahmad (2012), HAP juga dihasilkan dari pembangkit tenaga listrik, batubara, karbon hitam, aspal, dan mesin-mesin pembakaran. HAP melalui sumber alami cenderung mempunyai konsentrasi lebih rendah dari sumber antropogenik. Sebagian besar HAP bersifat karsinogenik, mutagenik, dan tetratogenik; serta mempunyai daya bioakumulasi tinggi untuk membahayakan kesehatan manusia sehingga remediasi menjadi prioritas utama untuk mereduksi HAP pada tanah terkontaminasi minyak bumi (Chen *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2013).

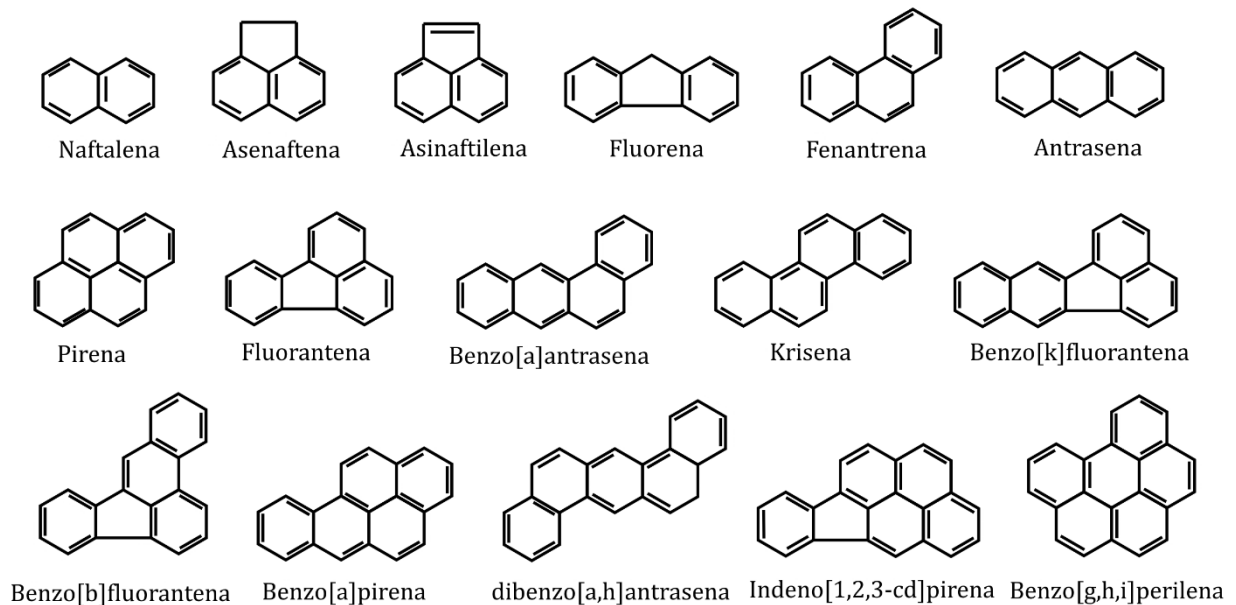
Melalui proses evaporasi, pencucian (*leaching*), dan migrasi, HAP dapat berpindah antara media udara, tanah, dan air tanah (Yap *et al.*, 2010). Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa HAP menyerap sangat kuat ke permukaan partikel tanah dan bahan organik sehingga proses biodegradasi terhambat

(Srogi, 2007). Pada media tanah, akumulasi HAP dapat menyebabkan biomagnifikasi dalam rantai makanan manusia karena sangat larut di dalam lemak melalui pemaparan langsung atau tidak langsung ke dalam sistem pencernaan (Jasques *et al.*, 2005; Bamforth & Singleton, 2005). Pada lingkungan perairan, HAP terserap ke dalam padatan tersuspensi dan menumpuk sebagai sedimen akibat sifat hidrofobik dan persisten (Barakat *et al.*, 2011). Selain efek pada manusia, HAP dapat menimbulkan toksisitas pada hewan, seperti ikan dan burung, melalui gangguan fungsi membran sel dan sistem enzim. Metabolit HAP kemungkinan dapat mengikat protein dan asam deoksiribonukleat (*deoxyribonucleic acid*/DNA) sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan biokimia, gangguan sistem imun, gangguan fertilitas, serta dampak apoptosis (Liang *et al.*, 2007; Bohne-Kjersem *et al.*, 2009).

Berdasarkan gambaran umum sumber dan permasalahan di atas, HAP memiliki dampak negatif bagi lingkungan bila tidak ditangani secara tepat sehingga proses bioremediasi merupakan salah satu alternatif teknologi untuk meminimalisasi dan memulihkan lahan tercemar dengan bantuan aktivitas mikroorganisme (Kurniawan & Effendi, 2014). Dengan demikian, ulasan literatur ini bertujuan untuk menguraikan informasi detail tentang pertumbuhan mikroorganisme pada HAP di dalam tanah, gambaran umum proses metabolisme, serta proses biodegradasi HAP melalui keterlibatan mikroorganisme, sebagai acuan dasar dalam penentuan alternatif pengolahan bioremediasi untuk proses degradasi HAP.

2. Karakteristik HAP

HAP adalah senyawa kimia lebih dari dua cincin aromatik secara linear, bersudut (*angular*), atau berkelompok (Anonim, 2006). HAP tersusun atas



Gambar 1. Formula struktur HAP (Wick *et al.*, 2011)

kandungan atom karbon (C) dan hidrogen (H), meskipun atom nitrogen (N), sulfur (S), dan oksigen (O) dapat mudah bertransformasi pada cincin benzena untuk membentuk senyawa aromatik heterosiklik (Gan *et al.*, 2009). *Environmental Protection Agency* (EPA) di Amerika Serikat telah menyeleksi 16 macam bentuk struktur HAP sebagai substansi utama ketika bereaksi dan terdeteksi di dalam lingkungan sehingga berpotensi menyebabkan kondisi toksik (Gambar 1). HAP terbentuk selama dekomposisi termal molekul organik dan rekombinasi lanjutan melalui proses pembakaran tidak sempurna pada suhu tinggi (500-800 °C) atau peleburan bahan organik pada suhu rendah (100-300 °C) pada jangka waktu lama (Haritash & Kaushik, 2009). Secara fisik, Haritash dan Kaushik (2009) dan Zhang *et al.* (2006) juga menyatakan bahwa HAP tidak berwarna, berwarna putih, atau berbentuk padatan kuning pucat dengan kelarutan rendah di dalam air, titik leleh dan titik didih tinggi, tekanan uap rendah, serta rasio distribusi padatan dan cairan tinggi. Umumnya, tingkat kelarutan air dan biodegradabilitas HAP menurun hampir logaritmik dengan peningkatan massa molekul (Zhang *et al.*, 2006).

Tergantung pada jumlah cincin setiap struktur dalam Gambar 1, HAP diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu HAP berat molekul tinggi dengan struktur empat cincin atau lebih dan HAP berat molekul rendah dengan struktur dua atau tiga cincin (Chauhan *et al.*, 2008). Berat molekul HAP rendah relatif bersifat volatil, terlarut, dan lebih mudah terdegradasi, sedangkan berat molekul HAP tinggi relatif bersifat menyerap kuat pada tanah dan endapan, dan lebih resisten untuk proses degradasi mikroorganisme. Pada karakteristik tersebut, HAP

ditemukan di lingkungan pada media tanah dan sedimen, serta tersuspensi dalam media air dan udara. Menurut Dong dan Lee (2009), HAP menjadi beban lingkungan di dalam tanah sebesar 95% dan sebagian kecil di udara sebesar 0,2%. Dengan demikian, HAP bersifat toksik pada lingkungan karena memiliki muatan yang mampat, sebagian berat molekul tinggi, dan sifat hidrofobik. Tabel 1 menunjukkan karakteristik HAP berdasarkan sifat kimia dan fisik.

Tujuh senyawa HAP bersifat karsinogenik terhadap manusia yaitu benzo[a]antrasena, krisena, benzo[a]pirena, benzo[b]fluorantena, benzo[k]-fluorantena, dibenz[a,h]antrasena, dan indeno[1,2,3-cd]pirena (Jiang *et al.*, 2009). Secara umum, potensi karsinogenik semakin meningkat pada jenis HAP dengan jumlah cincin aromatik besar, serta tingkat kelarutan dan tekanan uap lebih kecil. Akan tetapi, dampak pencemaran HAP tidak akan signifikan jika level HAP di bawah 1% atau 10.000 mg/kg (Bojes & Pope, 2006).

3. Pertumbuhan Mikroorganisme pada HAP

3.1. Pertumbuhan Mikroorganisme pada HAP sebagai Sumber Karbon Tunggal

Mikroorganisme dapat diisolasi hampir pada seluruh lokasi, beradaptasi, dan tumbuh melalui berbagai macam kondisi. Berdasarkan kemampuan tersebut dan daya penyerapan HAP di lingkungan, berbagai jenis mikroorganisme telah digunakan untuk memulihkan lahan terkontaminasi HAP (Yu, 2006). Meskipun HAP dapat mengalami proses oksidasi kimia, fotolisis, bioakumulasi, penguapan dan adsorpsi, degradasi mikroorganisme merupakan

Tabel 1. Sifat kimia dan fisik HAP

Senyawa	Jumlah Cincin	Berat Molekul (g/mol)	Tekanan Penguapan (Pa)	Log K _{ow}	Kelarutan Dalam Air (mg/L)
Naftalena	2	128,17	11,87	3,37	31,0
Asenaftalena	3	154,21	0,50	3,92	3,8
Asenaftilena	3	152,20	3,87	4,00	16,1
Fenantrena	3	178,23	9,07 × 10 ⁻³	4,57	1,1
Antrasena	3	178,23	3,40 × 10 ⁻³	4,54	0,045
Fluorena	4	166,22	0,43	4,18	1,9
Pirena	4	202,26	5,67 × 10 ⁻⁴	5,18	0,132
Fluorantena	4	202,26	1,08 × 10 ⁻³	5,22	0,26
Benz[a]antrasena	4	228,29	2,05 × 10 ⁻⁵	5,91	0,011
Krisena	4	228,29	1,04 × 10 ⁻⁶	5,91	0,0015
Benzo[a]pirena	5	252,32	6,52 × 10 ⁻⁷	5,91	0,0038
Benzo[b]fluorantena	5	252,32	1,07 × 10 ⁻⁵	5,80	0,0015
Benzo[k]fluorantena	5	252,32	1,28 × 10 ⁻⁸	6,00	0,0008
Dibenz[a,h]antrasena	6	278,35	2,80 × 10 ⁻⁹	6,75	0,0005
Benzo[g,h,i]perilena	6	276,34	1,33 × 10 ⁻⁸	6,50	0,00026
Indeno[1,2,3-cd]pirena	6	276,34	1,87 × 10 ⁻⁸	6,50	0,062

Sumber: Wick *et al.*, 2011.

proses utama yang mempengaruhi persistensi HAP di lingkungan (Li *et al.*, 2008). Degradasi kontaminan menghasilkan proses utilisasi kontaminan untuk pertumbuhan mikroorganisme atau berkontribusi pada perlindungan terhadap risiko toksisitas kontaminan, tergantung dari fluks setiap individu sel (Hanzel *et al.*, 2012). Proses degradasi mikroorganisme HAP dan substrat hidrofobik digunakan untuk membatasi kuantitas fase cair terlarut melalui sorpsi, kristalin, dan *non-aqueous phase liquid* (NAPL) sehingga HAP terlarut menjadi tidak tersedia (Johnsen *et al.*, 2005). Breslow (2006) menyatakan efek hidrofobik pada substrat mempengaruhi interaksi antara pelarut (*solvent*) dalam fase cair dan kandungan organik terlarut.

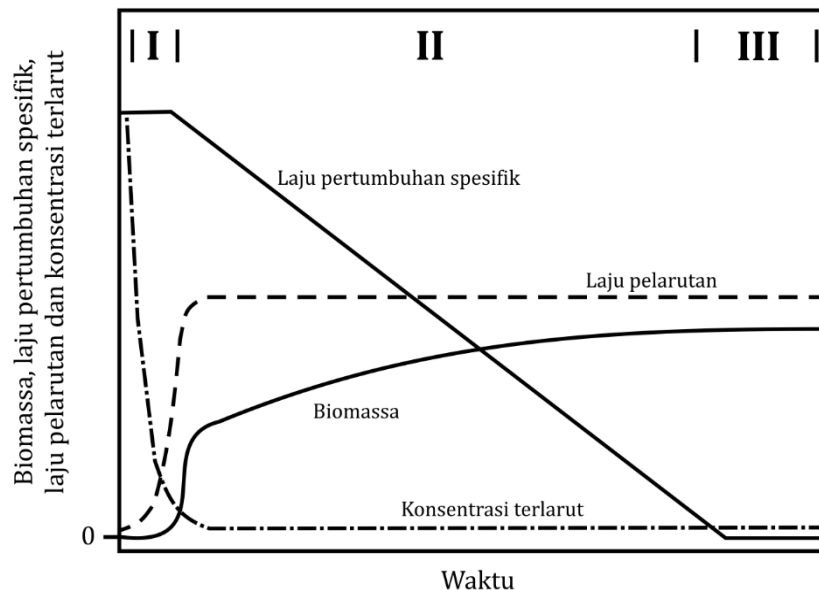
Pada konsentrasi substrat tinggi, efek toksik menghambat proses degradasi. Limitasi faktor bioavailabilitas degradasi substrat meningkatkan dinamika keseluruhan degradasi melalui peluruhan efek toksisitas kontaminan atau memperlambat biodegradasi melalui pengurangan akses mikroorganisme pada substrat (Gharasoo *et al.*, 2015). Bioavailabilitas merupakan efek fisikokimia dan mikrobiologi proses biodegradasi pada kompartemen lingkungan spesifik dalam jangka waktu tertentu yang tersedia ataupun dibuat tersedia untuk diserap oleh mikroorganisme secara langsung atau melalui konsumsi substrat (Bamforth & Singleton, 2005; Peijnenburg *et al.*, 2007).

Menurut Jacques *et al.* (2005), bakteri pendegradasi HAP dapat meningkatkan bioavailabilitas melalui ekskresi biosurfaktan. Faktor bioavailabilitas patut dipertimbangkan sebagai proses dinamik berdasarkan keadaan fisik dan kimia spesies mikroorganisme terhadap limitasi nilai transfer massa substrat pada skala berbeda saat melintasi membran sel (Hesse *et al.*, 2010; Luoma &

Rainbow, 2005). Bioavailabilitas dipengaruhi oleh sifat fisik senyawa HAP tertentu (berat molekul rendah dan tinggi), karakteristik tanah (tanah liat dan kandungan bahan organik, struktur tanah), organisme reseptor (bakteri, cacing tanah, artropoda, dan lain-lain) (Harmsen, 2007). Selain itu, bioavailabilitas menurut Mirquez *et al.* (2011) dipengaruhi secara spesifik oleh faktor proses penyerapan-desorpsi sebagai nilai pembatas biodegradasi, fenomena aliran searah atau tidak reversibel selama interaksi fisik dan kimia, dan kompetisi senyawa lain selama proses penyerapan.

Variabel nilai bioavailabilitas dinyatakan dalam notasi B_n sebagai ukuran efisiensi degradasi substrat di dalam lingkungan dan kapasitas organisme dalam populasi lingkungan untuk menyediakan komponen kimia (Semple *et al.*, 2007). Selain itu, B_n menurut Greenberg *et al.* (2001) merupakan rasio antara difusi intra-partikel dan nilai biodegradasi untuk menunjukkan kuantitas bioavailabilitas terhadap tiga parameter kontrol sistem, yaitu hidrodinamik, sorpsi lambat, dan biodegradasi. Pada nilai transfer massa tinggi, Johnsen *et al.* (2005) menyatakan total nilai biodegradasi dikontrol oleh aktivitas metabolik mikroorganisme ($B_n > 1$). Pada B_n sama dengan satu (1), nilai biodegradasi dikontrol oleh pengangkutan fisik dan aktivitas mikroorganisme. Ketika sel pengangkutan substrat dan populasi bakteri meningkat, proses transfer massa menjadi faktor pembatas biodegradasi ($B_n < 1$). Bila proses transfer massa dibatasi, tingkat metabolisme mikroorganisme menurun dan memberikan respon negatif terhadap beban hasil proses (Kraakman *et al.*, 2011).

Pertumbuhan bakteri suspensi pada kultur tercampur dalam bentuk HAP padatan atau kristal (kondisi tekanan uap sangat rendah dan temperatur ruangan (Riepe & Liphard, 2012)) dengan kandungan



Gambar 2. Skematik biomassa, laju pertumbuhan spesifik, laju pelarutan HAP, dan konsentrasi kelarutan HAP dari peningkatan kultur batch bakteri pada HAP padatan (Johnsen *et al.*, 2005)

solubilitas cair sebagai sumber tunggal energi dan karbon ditunjukkan pada kurva pertumbuhan karakteristik dalam Gambar 2. Kurva ini terbagi atas tiga fase, yaitu fase eksponensial (I), fase pertumbuhan *pseudo-linear* (II), dan fase *pseudo-stasioner* (III).

Pada tahap fase eksponensial (Gambar 2), laju peningkatan jumlah mikroorganisme dikendalikan melalui aktivitas metabolik melalui peningkatan biomassa sehingga ketersediaan substrat tidak sebagai komponen utama (Janbandhu & Fulekar, 2011). Menurut Johnsen *et al.* (2005), fase eksponensial sebagai nilai contoh pertumbuhan spesifik konstan dapat dideskripsikan melalui dua skenario. Pada skenario pertama, konsentrasi HAP terlarut menjadi jenuh saat proses pengambilan (*uptake*) bakteri karena laju pelarutan (disolusi) HAP sangat cepat untuk mempertahankan kenaikan substrat oleh populasi pertumbuhan. Laju pelarutan ditentukan berdasarkan periode waktu distribusi substrat saat terlepas dan memberikan kontribusi terhadap akumulasi HAP di dalam tanah (Enell *et al.*, 2008). Ketika konsumsi HAP akibat kenaikan laju populasi melampaui laju pelarutan HAP, konsentrasi HAP terlarut turun menjadi jenuh dan pertumbuhan eksponensial akan berhenti. Pada skenario kedua, konsentrasi substrat terlarut dibiarkan konstan pada sistem pengambilan (*uptake*) bakteri. Pada kasus ini, pertumbuhan eksponensial terjadi pada nilai sub-maksimum (Johnsen *et al.*, 2005). Hal tersebut diketahui dari pertumbuhan bakteri pada hidrokarbon cair atau kontak fisik bakteri aktif melalui substrat. Pelarutan substrat tersisa konstan di dalam sel selama tidak diisi oleh bakteri terekat. Walaupun mekanisme dapat berbeda, fase eksponensial pada kurva peningkatan HAP berlangsung singkat karena kebutuhan metabolik potensial pada peningkatan jumlah sel membutuhkan laju pelarutan HAP pada saat yang sama.

Pertumbuhan eksponensial berhenti ketika konsumsi substrat oleh isolat atau konsorsium mikroorganisme melebihi laju pelarutan substrat. Isolat mencapai fase pertumbuhan *pseudo-linear* (Gambar 2) ketika dibatasi secara fisik oleh pelarutan maksimum substrat ke dalam bentuk biomassa (Johnsen *et al.*, 2005; Janbandhu & Fulekar, 2011). Umumnya, HAP dalam bentuk kristal mempunyai rasio perbandingan rendah antara area dan volume, serta selalu konstan pada periode panjang (Johnsen *et al.*, 2005). Kurva linear tidak mungkin terjadi karena nilai maksimum pelarutan cenderung menurun selama proses berlangsung tergantung pada permukaan kristal. Formasi biomassa akan turun walaupun ketersediaan substrat berlebih dan nilai pelarutan konstan. Kondisi tersebut disebabkan kebutuhan substrat untuk pemeliharaan setiap sel sehingga tidak terjadi penambahan biomassa. Total konsumsi pemeliharaan substrat meningkat seiring peningkatan populasi dan fraksi substrat ke dalam formasi biomassa dan menurun secara konstan mendekati nol. Hasil akhir fase *pseudo-stasioner*

(Gambar 2) berupa konsumsi substrat pada setiap individu sel saat mencapai batas nilai pemeliharaan sehingga pertumbuhan sel berhenti (Johnsen *et al.*, 2005). Sel akan mencapai setengah dari keseimbangan (*quasi-equilibrium*) ketika seluruh aliran HAP dikonsumsi untuk pemeliharaan sel.

3.2. Pertumbuhan Mikroorganisme pada HAP di dalam Tanah

Kurva pertumbuhan dalam Gambar 2 diperoleh pada kondisi ideal dengan jumlah ketersediaan bakteri tidak terbatas serta transportasi substrat homogen oleh proses konveksi dan difusi. Pada media heterogen, HAP diserap partikel organik pada pori-pori tanah dalam ukuran kecil sehingga bakteri tanah tidak dapat mengakses HAP. Menurut Liu *et al.* (2007), kontaminan seperti HAP menjadi ikatan tidak reversibel terhadap komponen tanah seiring pertambahan waktu penyerapan. Pembentukan HAP dalam bentuk *tar droplet* pada kasus pencemaran skala besar membatasi bakteri untuk mendegradasi HAP (Nudi *et al.*, 2007). Selain itu, hambatan degradasi HAP oleh bakteri ditentukan oleh proses difusi efektif HAP. Mekanisme proses ini pada media berpori jauh lebih rendah dibandingkan pada air karena terhambat oleh jalur degradasi kompleks, pori-pori tanah tertutup, interaksi dengan permukaan bebatuan berpori, serta viabilitas panjang dan lebar pori-pori tanah (Olson *et al.*, 2005). Carson *et al.* (2010) menambahkan bahwa konektivitas pori-pori rendah di dalam tanah dapat menghambat mikroorganisme kompetitif untuk mengurangi ketersediaan substrat sehingga menciptakan peluang bagi mikroorganisme tidak kompetitif untuk berkembang secara difusional dan spasial.

Kisaran diameter sel bakteri pada pori-pori tanah sebesar 0,2-0,8 μm (Johnsen *et al.*, 2005), mayoritas bakteri tanah mempunyai diameter kurang dari 0,5 μm , sedangkan beberapa bakteri cukup kecil untuk melewati diameter pori-pori tanah 0,2 μm (Portillo *et al.*, 2013). Adaptasi ukuran dan bentuk seluler bakteri menentukan mobilitas bakteri untuk mengakses pori-pori tanah (Semple *et al.*, 2007). Menurut Portillo *et al.* (2013), variasi ukuran sel memiliki efek penting terhadap interaksi dan kontak langsung dengan media tanah karena diameter sel berbanding terbalik dengan rasio luas permukaan terhadap volume sel. Mobilitas bakteri dapat terhambat oleh predator di dalam tanah dengan ukuran lebih dari 2 μm sehingga biomassa bakteri mengalami penurunan (Johnsen *et al.*, 2005). Dengan demikian, fraksi bakteri degradasi HAP dalam tanah diharapkan dapat dipisahkan secara fisik dari sumber HAP, tergantung dari transportasi difusi HAP dan diameter sel. Peningkatan jumlah sel mikroorganisme di dalam tanah ditunjukkan ketika konsumsi substrat menjadi lebih cepat dibandingkan proses transfer massa. Oleh karena itu, degradasi HAP di dalam tanah kemungkinan besar tidak banyak berkembang secara alamiah tanpa pengolahan. Menurut Johnsen *et al.* (2005), keberadaan HAP di dalam fase *pseudo-stasioner* hanya sebagai pengganti

kerusakan sel saat pertumbuhan sementara hingga kapasitas pengontrol transfer massa dapat diperoleh kembali.

Pada proses degradasi HAP skala laboratorium, konsentrasi HAP tinggi selalu digunakan untuk kultur murni. Hal ini tidak mewakili kondisi realistis lingkungan karena pengaruh bakteri *indigenous* tanah tidak dipertimbangkan untuk pembentukan karbon dan energi bebas (Johnsen, *et al.*, 2005; Thavamani *et al.*, 2012). Pada tanah, bakteri memanfaatkan sejumlah ketersediaan senyawa karbon secara bersama-sama sehingga tidak dapat digunakan sebagai sumber karbon tunggal. Pembentukan katalis enzim degradasi dari polutan organik dapat tertahan ketika sel tumbuh pada substrat lain. Namun, utilisasi polutan lanjutan dapat dicukupi jika telah tersedia dalam jumlah rendah. Dengan demikian, sel mikroba diperkaya secara bersama-sama dari lingkungan untuk mengambil beberapa senyawa target sebagai sumber karbon dalam mempertahankan biomassa (Thavamani *et al.*, 2012). Cara tersebut lebih layak untuk memperoleh sistem degradasi secara efisien.

4. Proses Metabolisme HAP

Metabolisme HAP memberikan hasil akhir berupa pertumbuhan mikroorganisme pada substrat HAP, mineralisasi dari substrat HAP saat fase pertumbuhan terdeteksi atau tidak terdeteksi, dan transformasi substrat HAP ke dalam bentuk non-mineral sebagai produk akhir (Singh & Ward, 2004). Xue dan Warshawsky (2005) menyatakan jalur aktivasi metabolisme karsinogenik HAP melibatkan tiga reaksi enzim mediator. Pertama, oksidasi ikatan rangkap dikatalisasi oleh enzim *cytochrome P450* (CYP) menuju media oksidasi tidak stabil. Kemudian, proses hidrolisis terjadi pada media tersebut oleh mikrosomal epoksida hidrolase (EH) ke dalam bentuk *dihydrodiols trans*. Terakhir, CYP kedua proses oksidasi katalis CYP pada ikatan rangkap yang berdekatan dengan ikatan fungsi diol menghasilkan visinal diol-epoksida. Johnsen *et al.* (2005) memberikan penjelasan lebih sederhana mengenai metabolisme HAP, yaitu bakteri sering mengoksidasi HAP dalam bentuk *cis-dihydrodiol* oleh penggabungan atom kedua molekul oksigen. Kemudian, *cis-dihydrodiol* dioksidasi ke dalam bentuk aromatik *dihidroksi* dan disalurkan melalui jalur pembelahan orto atau meta.

Degradasi biologi HAP melayani tiga fungsi berbeda, yaitu:

- a. *Biodegradasi asimilatif*; menghasilkan karbon dan energi untuk degradasi organisme dan mengikuti proses mineralisasi senyawa tertentu (Johnsen *et al.*, 2005; Allieri *et al.*, 2012).
- b. *Proses detoksifikasi intraseluler*; untuk menghasilkan HAP terlarut sebagai prasyarat untuk pengeluaran (ekskresi) senyawa tertentu. Proses dektoksifikasi sering terjadi saat degradasi HAP oleh jamur non-lignolitik menghasilkan metabolit dioksidasi sehingga meningkatkan

kelarutan dan memfasilitasi sistem ekskresi senyawa tertentu (Schmidt *et al.*, 2010).

- c. *Kometabolisme* berupa degradasi HAP tanpa penurunan energi untuk metabolisme sel. Kometabolisme didefinisikan sebagai transformasi polutan oleh ketidakmampuan mikroorganisme menggunakan polutan sebagai satu-satunya sumber energi sehingga substrat pertumbuhan digunakan sebagai karbon primer dan sumber energi (Bhuvaneshwari & Sivasubramanian, 2012). Kometabolisme terjadi akibat biodegradasi spontan reaksi katalis dari satu atau lebih enzim mikroba non-spesifik (Wahman *et al.*, 2006).

Isolat bakteri dalam jumlah terbatas dapat tumbuh dalam kultur murni dengan lima atau lebih cincin HAP (berat molekul HAP tinggi) melalui reaksi redoks ketika elektron dipindahkan dari reduksi substrat menuju akseptor elektron akhir (Husain, 2008). Faktor retensi tinggi dari senyawa pada fase padatan tanah menjadi alasan utama dari pernyataan tersebut sehingga nilai transfer massa HAP dengan berat molekul tinggi ke dalam sel bakteri terlalu rendah untuk mencocokkan metabolik sel. Bioavailabilitas HAP rendah dapat dicegah sesuai dengan jalur enzimatik di dalam tanah.

Pada lingkungan, isolasi bakteri mendegradasi HAP dalam rentang sempit dengan pola degradasi simultan campuran yang kompleks. Dengan campuran dari dua individu pendegradasi HAP, degradasi preferensial HAP atau penurunan nilai degradasi setiap kompetisi metabolik HAP dapat diamati (Johnsen *et al.*, 2005). Interaksi menjadi lebih kompleks ketika tekanan pada satu jenis HAP (HAP 1) dan HAP non-mineralisasi (HAP 2) hadir melalui beberapa mekanisme (Johnsen *et al.*, 2005):

- a. Degradasi HAP 1 dapat berubah tanpa keterlibatan kometabolisme dari HAP 2.
- b. Penurunan HAP 1 dapat dihalangi tanpa kometabolime 2.
- c. HAP 2 berikut metabolit dapat beracun tanpa proses metabolisme dari HAP 1.
- d. Degradasi HAP 1 dapat berubah melalui keterlibatan kometabolisme HAP 2.
- e. Kometabolisme dari HAP 2 dapat memiliki efek sinergi untuk menguatkan degradasi HAP 1.

Berdasarkan mekanisme di atas, interaksi kometabolisme mengubah substrat non pertumbuhan HAP pada substrat pertumbuhan untuk memperbesar jangkauan dan tingkat degradasi HAP (Zhong *et al.*, 2007). Dengan demikian, degradasi dari campuran HAP akan muncul sebagai proses kooperatif untuk melibatkan jenis konsorsium dengan kapasitas komplementer. Namun, Zhong *et al.* (2007) menambahkan kometabolisme dari HAP rekalsitran (sulit terdegradasi) sering bersamaan dengan faktor inhibisi (penghambat) pada proses singkat degradasi HAP dari hasil kompetisi energi atau pembagian sistem enzim umum melalui spesifitas yang luas.

5. Proses Biodegradasi HAP

5.1. Gambaran Umum

Biodegradasi adalah proses konversi senyawa organik menjadi kompleksitas senyawa lebih rendah dalam bentuk molekul kimia anorganik sederhana, seperti air atau karbon dioksida (Nzila, 2013). Tidak ada aturan umum untuk proses biodegradasi atas kemunculan kontaminan kimia. Berbagai mekanisme dapat memungkinkan efisiensi penggunaan senyawa sebagai sumber karbon atau sumber energi (Kovenbach *et al.*, 2014). Gambar 3 menunjukkan pengaruh berbagai macam faktor biotik dan abiotik terhadap proses biodegradasi HAP di tanah. Mekanisme proses mikroorganisme merupakan faktor utama proses biodegradasi, walaupun faktor abiotik seperti pH, kadar air, tingkat oksigen, ketersediaan nutrisi turut mempengaruhi proses biodegradasi HAP (Doyle *et al.*, 2008).

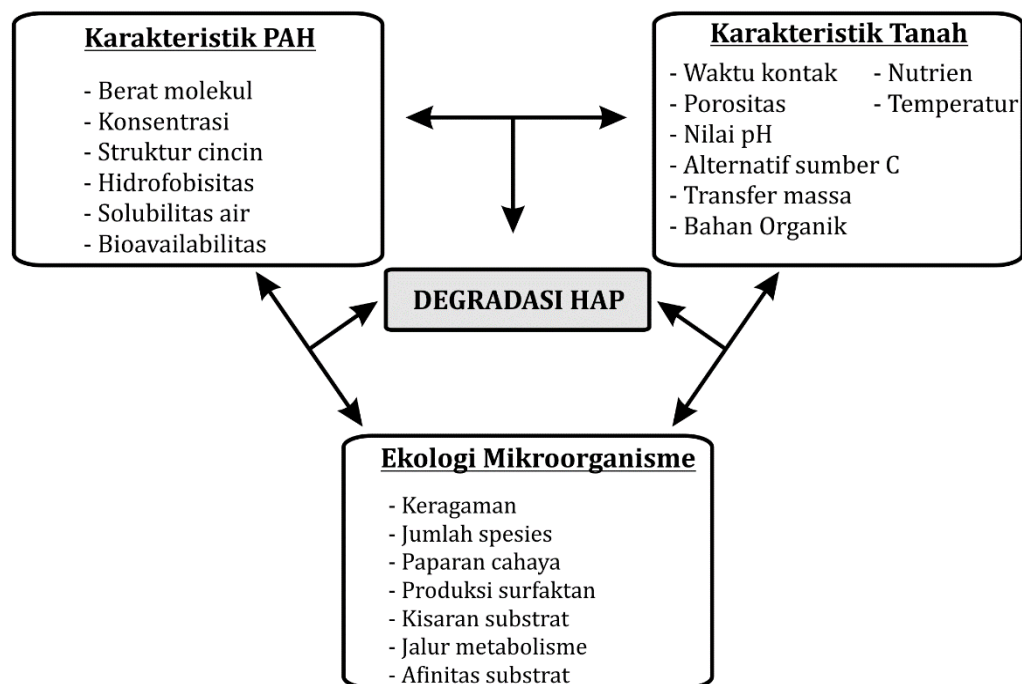
Biodegradasi molekul HAP dikendalikan oleh difusi molekul ke permukaan sel dan enzim sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme (Li & Chen, 2009). Meskipun mikroorganisme sangat beragam dan secara efisien dapat menurunkan banyak polutan, sebagian besar proses biodegradasi berjalan lambat sehingga polutan menjadi toksik ketika terakumulasi di lingkungan (Chao *et al.*, 2009). Secara umum, HAP dengan jumlah cincin aromatik dan berat molekul tinggi akan didegradasi lebih lambat daripada jumlah cincin substituen alkil dan berat molekul rendah oleh mikroorganisme *indigenous* (Wammer & Peters, 2005; Lors *et al.*, 2010). Menurut Vandermeer dan Daugulis (2007) dan Bautista *et al.* (2009), biodegradasi dibatasi oleh kelarutan air, volatilitas, dan persistensi HAP rendah ketika berat molekul dan jumlah cincin aromatik menurun sehingga

bioavailabilitas degradasi mikroorganisme juga menurun secara logaritmik. Penurunan nilai bioavailabilitas ditandai dengan mutasi polutan utama di dalam tanah dari lapisan tingkat adsorpsi kuat ke lapisan organik tanah pada tingkat kelarutan rendah.

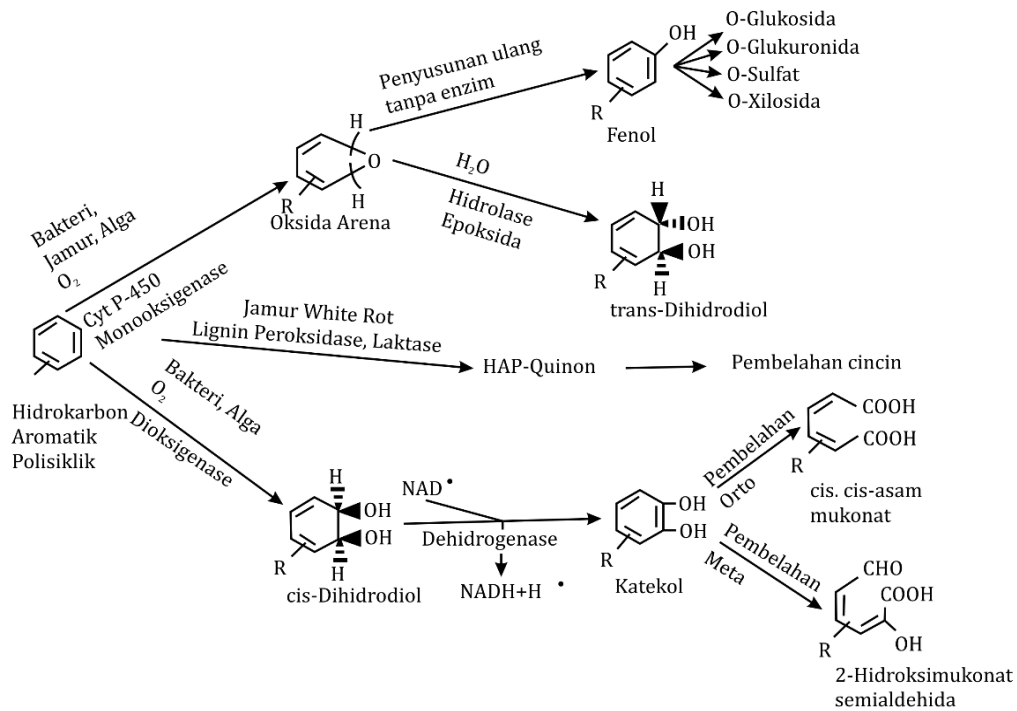
Proses biodegradasi HAP di dalam tanah merupakan fungsi dari hidrokarbon spesifik tanah pra-pemaparan, konsentrasi paparan, durasi dan bentuk paparan terdahulu, serta efek antagonis atau sinergis dari kehadiran senyawa hidrokarbon lain melalui proses aerob dan anaerob (Couling *et al.*, 2010; Nieto & Machuca, 2012). Pada biodegradasi polutan aromatik secara aerob, strategi utama mikroorganisme menggunakan berbagai enzim perifer sebagai pengubah substansi. Biodegradasi polutan aromatik secara aerob dilakukan oleh konsorsium metanogen dan bakteri fototrofik dari proses fermentasi, reduksi mangan, reduksi sulfat, reduksi besi, dan reduksi nitrat, dan sulfat-mengurangi bakteri (Nieto & Machuca, 2012). Walaupun demikian, Chao *et al.* (2009) menyatakan proses aerobik lebih diutamakan karena proses ini berlangsung cepat dan substantif, serta introduksi awal oksigen ke dalam senyawa HAP melalui hidrasi pada proses anaerobik sangat tidak menguntungkan secara prinsip termodinamika.

5.2. Jenis (Mikro)organisme dan Mekanisme Biodegradasi HAP

Mikroorganisme digunakan sebagai pendukung aktivitas katabolik di dalam proses bioremediasi, tetapi komunitas mikroorganisme di lingkungan terkadang sulit diprediksi. Mikroorganisme degradasi



Gambar 3. Pengaruh faktor biotik dan abiotik terhadap proses biodegradasi HAP di tanah (Doyle *et al.*, 2008)



Gambar 4. Jalur utama biodegradasi dan transformasi HAP (Crawford & Crawford, 1996)

HAP dapat berupa bakteri, *cyanobacteria*, jamur, dan alga untuk memecahkan senyawa organik melalui biotransformasi menjadi metabolit kurang kompleks serta melalui mineralisasi menjadi mineral anorganik, H₂O, CO₂ (aerobik), atau CH₄ (anaerob) (Haritash & Kaushik, 2009). Jalur utama degradasi dan transformasi HAP secara umum dapat dilihat dalam Gambar 4.

Berbagai jenis bakteri telah mampu mendegradasi HAP melalui proses metabolisme atau kometabolisme (Tabel 2). Menurut Zhao *et al.* (2009), bakteri pendegradasi HAP berasal dari genus *Agmenellum*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Berjerinckia*, *Burkholderia*, *Corynebacterium*, *Cyclotrophicus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Pseudomonas*, *Lutibacterium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Vibrio*, dan *Paenibacillus*. Johnsen dan Karlson (2004) menambahkan bahwa isolasi bakteri pendegradasi HAP dari tanah sering ditemukan pada kelompok *Sphingomonas* dan *Mycobacteria*. *Sphingomonas* memiliki membran sel luar *gluco-sphingolipid* dengan komposisi mono- atau tetra-sakarida hidrofilik dan residu *dihydrosphingosine* lipofilik. HAP dengan berat molekul rendah, seperti naftalena, fenantrena, dan antrasena, mudah terdegradasi oleh bakteri di dalam tanah dan di dalam uji skala laboratorium. Menurut Peng *et al.* (2008), sangat sedikit bakteri mempunyai kemampuan untuk melakukan proses utilisasi terhadap lima atau lebih cincin aromatik HAP sebagai sumber karbon dan sumber energi, seperti benzo[a]pirena dan benz[a]antrasena sehingga mekanisme degradasi HAP dengan lebih dari lima

cincin menjadi tidak jelas. Sebagian besar dari bakteri tersebut adalah gram positif sehingga organisme ini memainkan peranan yang lebih penting daripada bakteri gram negatif pada proses degradasi HAP dengan berat molekul tinggi (Chauhan *et al.*, 2008).

Bakteri sangat dominan digunakan dibandingkan jamur, alga, dan *cyanobacteria* untuk proses biodegradasi senyawa kompleks HAP menjadi senyawa sederhana. Bakteri dapat memanfaatkan ruang penuh tipe reaksi katabolik biokimia untuk memulai proses biodegradasi dengan strategi berbeda terhadap beberapa jenis senyawa HAP (Kolvenbach *et al.*, 2014). Naftalena merupakan jenis senyawa HAP sederhana dan paling cepat larut. Jalur degradasi naftalena dapat dilakukan secara aerobik atau anaerobik (Zhang *et al.*, 2006). Mikroorganisme pendegradasi naftalena relatif mudah untuk diisolasi berulang kali, terutama dari media tanah, dengan jenis bakteri gram negatif, dan mayoritas berasal dari genus *Pseudomonas*. Menurut Mrozik *et al.* (2003) dan Seo *et al.* (2009), degradasi naftalena oleh bakteri diawali perubahan ke dalam bentuk *cis-1,2-dihidroksi-1,2-dihidronaftalena* melalui enzim multi komponen dengan memasukkan dua molekul atom oksigen ke dalam molekul aromatik naftalena. *Cis-1,2-dihidroksi-1,2-dihidronaftalena* dikonversikan menjadi *1,2-dihidroksinaftalena* dengan naftalena(+)-*cis-dihidrodiol dehidrogenase* sebagai katalisator. Melalui bantuan *Pseudomonas* sp. atau bakteri lain, tahap lanjutan degradasi naftalena mengarah kepada perpecahan enzimatik dari *1,2-cis dihidroksinaftalena* ke *2-hidroksibenzalpiruvat* dan dikonversi kembali melalui serangkaian dioksigenase ke bentuk *salisilat* dan *piruvat*.

Tabel 2. Jenis bakteri dan hasil metabolit HAP

Senyawa	Organisme	Metabolit
Naftalena	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas vesicularis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Pseudomonas testeroni</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Corynebacterium renale</i> , <i>Moraxella</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp., <i>Bacillus cereus</i> , <i>Burkholderia cocovenenans</i> , <i>Marinobacter</i> , <i>Polaromonas naphthalenivorans</i> , <i>Ralstonia</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> .	Naftalena <i>cis</i> -1,2-dihidrodiol; 1,2-dihidroksinaftalena; asam 2-hidroksikromena-2-karboksilat; asam <i>trans</i> -o-hidroksibenzilidenapiruvat; salisilaldehida; asam salisilat; katekol; asam gentisat; naftalena <i>trans</i> -1,2-dihidrodiol.
Asenaftena	<i>Beijerinckia</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	1-Asenaftenol; 1-asenaftenon; asenaftena- <i>cis</i> -1,2-dihidrodiol; 1,2-asenaftenadion; 1,2-dihidroksiasenaftilena; asam 7,8-diketonaftil-1-asetat; asam 1,8-naftalenadikarboksilat; asam 3-hidroksiftalat.
Antrasena	<i>Beijerinckia</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Janibacter</i> sp., <i>Sphingomonas</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> .	Antrasena <i>cis</i> -1,2-dihidrodiol; 1,2-dihidroksiantrasena; asam <i>cis</i> -4-(2-hidroksinaft-3-il)-2-oksobut-3-enoat; 2-hidroksi-3-naftaldehida; asam 2-hidroksi-3-naftoat; asam salisilat; 2,3-dihidroksinaftalena; katekol.
Fenantrena	<i>Aeromonas</i> sp., <i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Arthrobacter polychromogenes</i> , <i>Arthrobacter sulphureus</i> , <i>Beijirickia</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Mycobacterium vanbaalenii</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Vibrio</i> sp., <i>Nocardia</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp., <i>Streptomyces gryceus</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Acidovorax delafieldii</i> , <i>Brevibacterium</i> sp., <i>Burkholderia</i> sp., <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Burkholderia cocovenenans</i> , <i>Janibacter</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Sphingomonas</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> .	Fenantrena <i>cis</i> -1,2,3,4- dan 9,10-dihidrodiol; 3,4-dihidroksifenantrena; asam <i>cis</i> -4-(1-hidroksinaft-2-il)-2-oksobut-3-enoat; 1-hidroksi-2-naftaldehida; asam 1-hidroksi-2-naftoat; 1,2-dihidroksinaftalena; asam o-ftalat; 2-karboksibenzaldehida;
Fluorantena	<i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Mycobacterium flavescens</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Sphingomonas</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> .	7-Asenaftenon; 1-asenaftenon 7-hidroksiasenaftilena; 3-hidroksimetil-4,5-benzokumarin; asam 9-fluorenon-1-karboksilat; 8-hidroksi-7-metoksifluorantena; 9-hidroksifluorena; 9-fluorenon; asam 9-hidroksi-1-fluorenakarboksilat; asam ftalat; asam benzoat; asam adipat; 2-karboksibenzaldehida; asam fenilasetat.
Pirena	<i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Cycloclasticus</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Mycobacterium flavescens</i> , <i>Mycobacterium vanbaalenii</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Pseudomonas saccharophila</i> , <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Xanthamonas</i> sp.	Pirena <i>cis</i> - dan <i>trans</i> -4,5-dihidrodiol; 4-hidroksiperinaftenon; asam 4-fenantroat; asam ftalat; 1,2-dan 4,5-dihidroksipirena; asam <i>cis</i> -2-hidroksi-3-(perinaftena-9-il) propenat; asam 2-hidroksi-2-(perinaftena-5-on-4-enil) asetat; asam sinamat.
Krisena	<i>Rhodococcus</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	Tidak dapat ditentukan
Benz(a)antrasena	<i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Beijirickia</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i> .	Benz(a)antrasena <i>cis</i> -1,2, <i>cis</i> -8,9-, dan <i>cis</i> -10,11-dihidrodiol; asam 1-hidroksi-2-antranoat; asam 2-hidroksi-3-fenantroat; asam 3-hidroksi-2-fenantroat.
Benzo(a)pirena	<i>Beijirickia</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Rhodanobacter</i> sp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> , <i>Xanthamonas</i> sp.	Benzo(a)antrasena <i>cis</i> -7,8- dan <i>cis</i> -9,10-dihidrodiol.

Sumber: Crawford & Crawford, 1996; Seo *et al.*, 2009.

Transformasi bakteri untuk molekul aromatik fluorena oleh *Pseudomonas* sp. menghasilkan lima metabolit baru sebagai 9-fluorenonol, 9-fluorenon; 1,1-dihidroksi-1-hidro-9-fluorenon; 8-hidroksi-3,4-benzokumarin; dan asam ftalat, sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan lima metabolit sebagai 9-fluorenonol, 9-fluorenon, asam propanoat 3-(1-okso-2,3-dihidro-1H-inden-2-il),

asam asetat 2-(1-okso-2,3-dihidro-1H-inden-2-il), dan 1-indanon (Mrozik *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2011). Pembentukan asam ftalat dapat dilakukan melalui katabolis metabolit turunan 2-karboksi dari 2,3-dihidroksibifenil. Ma *et al.* (2012) menambahkan 9-fluorenon diperoleh dari mono-oksidasi dan dehidrogenasi 9-hidroksifluorena secara aerobik. Menurut Kolomytseva *et al.* (2009), degradasi

fluorena melalui analisis penurunan 2-hidroksi-9-fluorenon oleh *Rhodococcus rhodochromus* VKM B-2469 membuka investigasi jalur degradasi baru untuk biokonversi 9-fluorenon. Pada penggunaan *Brevibacterium* sp., 9-fluorenon dioksidasi untuk pembentukan 1,10-dihidro-11,10-dihidroksifluorena. Selain itu, *Pseudomonas cepacia* juga digunakan untuk proses degradasi fluorena melalui 3,4-dihidroksifluorena dan pembelahan ekstradiol membentuk 1-indanon sebagai metabolit akhir. Jalur degradasi fluorena lain dapat dilakukan melalui sebagian proses mineralisasi melalui dehidrosilasi awal oleh *Terrabacter* sp. DBF63 (dahulu *Staphylococcus auriculans* DBF63) dengan membelah cincin aromatik untuk menghasilkan metabolit asam-indanon-hidroksiasetat, formil indanon, 1-indanon, dan 3,4-dihidroksikumarin (Kolomytseva *et al.*, 2009). Selama degradasi fluorena oleh *Arthrobacter* sp. F101, metabolit baru diidentifikasi sebagai 3-hidroksi-1-indanon, 1-indanon, 2-indanon, 3-(2-hidroksifenil) propionat, dan kompleks tentatif sebagai formil indanon. 2-indanon dengan bantuan laktan aromatik, dan 3-isokromanon (Mrozik *et al.*, 2003).

Antrasena adalah senyawa rekalsitran tinggi, tingkat kelarutan rendah di dalam air (0,015 mg/L) dan aromatik tinggi dibandingkan fenantrena dan pirena (Salam *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian Ahmed *et al.* (2012), oksidasi antrasena oleh bakteri alkalifilik *Bacillus badius* dioksidasi menjadi 1,2-dihidroksiantrasena melalui dioksidasi. Pada langkah berikutnya, bakteri alkalifilik mengoksidasi 1,2-dihidroksiantrasena untuk produk cincin fisi asam (3Z)-4-[3-hidroksi (2-naftil)]-2-oksobut-3-enoat melalui konversi lanjutan menjadi asam 2-hidroksinaftoat. Oksidasi lanjutan mengakibatkan pembentukan asam ftalat disebabkan fisi cincin asam (E)-3-(2-hidroksinaftalen-3-il) akrilat. Asam ftalat terdegradasi menjadi senyawa sederhana alifatik melalui jalur asam ftalat untuk *intermediate* siklus asam trikarboksilat (TCA). Pada penelitian lain oleh Laneva *et al.* (2009), proses transformasi antrasena menghasilkan dua senyawa lanjutan berupa antrakuinon dan 6,7-benzokumarin oleh mekanisme biokonversi oleh bakteri *Rhodococcus opacus* dan *Rhodococcus rhodnii*. Antrakuinon adalah senyawa biotransformasi antrasena dan sering terakumulasi dalam kultur cair mikroorganisme. 6,7-benzokumarin adalah produk penutupan spontan dari pembelahan cincin produk ekstradiol *cis*-1,2-dihidroksiantrasena (Habe dan Omori, 2003; Laneva *et al.*, 2009). *Cis*-1,2-dihidroksiantrasena menghasilkan produk berbeda berupa *cis*-1,2-dihidrodiol hasil proses dehidrogenasi oleh *Mycobacterium* sp. *PYR-1* (Mrozik *et al.*, 2003).

Secara umum, jalur metabolisme diinisiasi oleh hidroksilasi rangkap fenantrena oleh enzim dioksidase untuk membentuk *cis*-3,4-fenantrenadihidrodiol. Kemudian, resultan dihidrodiol dikonversi oleh upaya *dehidrogenase dihidrodiol* untuk 3,4-dihidroksifenantrena menjadi asam 1-hidroksi-2-naftoat (Mallick *et al.*, 2007).

Selanjutnya, asam 1-hidroksi-2-naftoat dikonversi kembali oleh salah satu dari dua jalur degradasi. Pada jalur pertama, asam 1-hidroksi-2-naftoat mengalami dekarboksilasi oksidatif ke 1,2-dihidroksinaftalena untuk membentuk asam salisilat. Asam salisilat juga dapat diturunkan lebih lanjut melalui pembentukan baik katekol ataupun asam gentisat. Kedua katekol dan asam gentisat mengalami pemutusan ring untuk membentuk *intermediate* siklus TCA (Mrozik *et al.*, 2003). Dalam jalur kedua, asam 1-hidroksi-2-naftoat mengalami pembelahan struktur cincin oleh dioksidase 1-hidroksi-2-naftoat dan dikonversi oleh proses metabolisme menjadi asam-o-ftalat dan asam protokatekuat. Pada penelitian Keum *et al.* (2006), metabolisme fenantrena oleh *Sinorhizobium* sp. diinisiasi oleh penggabungan molekul oksigen pada posisi 1,2- atau 3,4-C. fenantrenadiol diubah ke o-hidroksinaftoat atau asam naftalena-1,2-dikarboksilat oleh perpecahan ekstradiol atau intradiol. Pada metabolisme lanjutan, asam ini diproduksi naftalena-1,2-diol dan terdegradasi menjadi asam protokatekuat. Penelitian lain, fenantrena didegradasi oleh bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* melalui jalur degradasi ganda untuk menghasilkan produk naftalena-1,2-diol atau 2-karboksibenzalpiruvat dan diubah menjadi asam protokatekuat dan asam salisilat (Gao *et al.*, 2013).

Fluorantena didegradasi terutama oleh genus bakteri *Mycobacterium* dan *Alcaligenes*. Degradasi oleh *Mycobacterium* sp. jenis *PYR-1* melibatkan proses dioksidasi pada posisi 1,2- dan 7,8-, untuk memproduksi fluorena-9-on atau asenaftena-7-on setelah pembelahan struktur cincin (Mrozik *et al.*, 2003). Namun, Lee *et al.* (2007) menyarankan bahwa ada degradasi fluorantena oleh *Mycobacterium* sp. melibatkan empat kemungkinan dioksidasi awal pada posisi 1,2-, 2,3-, 7,8-, dan 8,9-. 1,2-dihidroksi-fluorantena terdegradasi oleh pembelahan meta untuk 9-fluorenon melalui 9-fluorenon-1-(karboksi-2-hidroksi-1-propenol) dan asam 9-fluorenon-1-karboksilat untuk dapat dikonversi oleh protonasi ke 9-fluorenon-1-karboksi-3-propenil-2-on dan asam 9-fluorenon-1-karboksilat. Pada bakteri jenis *Alcaligenes denitrificans*, HAP akan dioksidasi menjadi 3-hidroksimetil-3,4-dihidrobenzokumarin. Pada jenis lain, *Mycobacterium* sp. *KR20* membutuhkan tujuh metabolit untuk diproduksi selama metabolisme fluorantena. Lima metabolit telah diidentifikasi menggunakan teknik spectroscopic NMR dan MS sebagai *cis*-2,3-fluorantena dihidrodiol, asam 9-karboksimetilena-fluorena-1-karboksilat, asam *cis*-1,9-dihidroksi-1-hidro-fluorena-9-on-8-karboksilat, asam 4-hidroksibenzokromena-6-on-7-karboksilat, dan asam bensol-1,2,3-trikarboksilat (Mrozik *et al.*, 2003).

Jalur degradasi parsial benz[a]antrasena dapat diproses oleh bakteri *Beijerinckia* dan *Mycobacterium*. *Beijerinckia* sp. *B836* dan *Beijerinckia* sp. *B1* terlibat proses dioksidasi pada posisi 1,2-, 8,9-, atau 10,11-

Tabel 3. Jenis jamur (*fungi*) dan hasil metabolit HAP

Senyawa	Organisme	Metabolit
Naftalena	<i>Absidia glauca</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Basidiobolus ranarum</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Choanephora campincta</i> , <i>Circinella</i> sp., <i>Claviceps paspali</i> , <i>Cokeromyces poitrassi</i> , <i>Condiobolus gonimedes</i> , <i>Cunninghamella bainieri</i> , <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Cunninghamella japonica</i> , <i>Emericellopsis</i> sp., <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Girbertella persicaria</i> , <i>Glioladium</i> sp., <i>Helicostylum piriforme</i> , <i>Hyphochytrium catenoides</i> , <i>Linderina pennispora</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Panaeoulus cambodginensis</i> , <i>Panaeoulus subbalteatus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Pestalotia</i> sp., <i>Phlyctochytrium reinboldtae</i> , <i>Phycomyces blakesleanus</i> , <i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Psilocybe stuntzii</i> , <i>Psilocybe subaeruginascens</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saprolegnia parasitica</i> , <i>Smittium culicis</i> , <i>Smittium culisetae</i> , <i>Smittium simulii</i> , <i>Sordaria fimicola</i> , <i>Syncephalastrum racemocum</i> , <i>Thamnidium anomalum</i> , <i>Zygorhynchus moelleri</i> .	1-Naftol; 2-naftol; naftalena trans-1,2-dihidrodiol; 4-hidroksi-1-tetralon; 1,2-naftokuinon; 1,2-naftokuinon; konjugasi sulfat dan glukuronida.
Asenaftena	<i>Cunninghamella elegans</i> .	1-Asenaftenon; 1-asenaftenol, 1,2-asenaftenedion; cis-1,2-dihidroksiasenaftena; trans-1,2-dihidroksiasenaftena; 1,5-dihidroksiasenaftena; 6-dihidroksiasenaftenon.
Antrasena	<i>Bjerkandera</i> sp., <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Ramaria</i> sp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Trametes versicolor</i> .	Antrasena trans-1,2-dihidrodiol; 1-antol; antrakuinon; ftalat; glukuronida; konjugasi sulfat dan xilosida.
Fenantrena	<i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Trametes versicolor</i> .	Fenantrena trans-1,2-dihidrodiol; fenantrena trans-3,4-dihidrodiol; fenantrena trans-9,10-dihidrodiol; konjugasi glukosida 1-fenantrol; 3-, 4-, dan 9-hidroksifenantrena; asam 2,2- difenat.
Fluorantena	<i>Cunninghamella elegans</i> .	Fluorantena trans-2,3-dihidrodiol; 8-, dan 9-hidroksifenantrena trans-2,3-dihidrodiol; konjugasi glukosida.
Pirena	<i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Crinipellis stipitaria</i> .	1-Hidroksipirena; 1,6 pirenakuinon; 1,6- dan 1,8-dihidroksipirena; pirena trans-4,5-dihidrodiol; 1,8 pirenakuinon; konjugat glukosida.
Benz(a)antrasena	<i>Cunninghamella elegans</i> .	Benz(a)antrasena trans-3,4-dihidrodiol; benz(a)antrasena trans-8,9-dihidrodiol; benz(a)antrasena trans-10,11-dihidrodiol; fenolik dan turunan tetrahidroksi benz(a)antrasena; glukuronida; konjugasi sulfat.
Benz(a)pirena	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Bjerkandera adusta</i> , <i>Bjerkandera</i> sp., <i>Candida maltose</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Chrysosporium pannorum</i> , <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Mortierella verrucosa</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Romaria</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Trichoderma viride</i> .	Benz(a)pirena trans-4,5-dihidrodiol; benz(a)pirena trans-8,9-dihidrodiol; benz(a)pirena trans-10,11-dihidrodiol; benz(a)pirena-1,6-kuinon; benz(a)pirena-3,6-kuinon; benz(a)pirena-6,12-kuinon; 3-hidroksibenz(a)pirena; 9-hidroksibenz(a)pirena, 7 β , 8 α , 9 β ; 10 β - tetrahidrobenzo(a)pirena, 7 β , 8 α , 9 β ; 10 α -tetrahidroksi-7,8,9,10-tetrahidrobenzo(a)pirena; benzo(a)pirena 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksida; konjugasi glukuronida dan dan sulfat.

Sumber: Crawford & Crawford, 1996.

dengan produksi tiga diol setelah induksi oleh pertumbuhan pada bifenil. Pembentukan isomer dihidrodiol terjadi dalam bentuk cis-1,2-dihidroksi-dihidrobenz[a]antrasena. Diol ini diturunkan untuk memperoleh 1-hidroksi-2-karboksiantrasena atau

fenantrena yang sesuai. Di sisi lain, *Mycobacterium* sp. jenis RJGII-135 membentuk 5,6-dihidrodiol sebagai metabolit utama dan 8,9- dan 10,11-dihidrodiol sebagai metabolit tambahan. Selain kedua bakteri tersebut, degradasi benz[a]antrasena menggunakan

Mycobacterium vanbaalenii untuk menghasilkan beberapa dihidrodiol dan satu produk pembelahan struktur cincin berupa 10-oksabenzofenon (Rentz *et al.*, 2008). Produk tambahan struktur pembelahan cincin diidentifikasi ketika kultur bakteri memberikan asupan benzo(a)pirena-*cis*-4,5-dihidrodiol.

Menurut Kim *et al.* (2007), degradasi oleh bakteri *Mycobacterium vanbaalenii* dapat mengoksidasi pirena menjadi dua jalur. Pertama, pirena melalui dioksigenasi awal pada posisi C-1 dan C-2 membentuk O-metilasi derivatif dari pirena-1,2-diol sebagai langkah detoksifikasi. Kedua, pirena melalui dioksigenasi pada posisi C-4 dan C-5 membentuk *cis*-4,5-dihidroksi-4,5-dihidropirena (*cis*-4,5-dihidrodiol). Proses rearomatik dari dihidrodiol dan pembelahan struktur cincin dioksigenasi mengarah pada pembentukan 4,5-dikarboksifenantrena dan dilanjutkan untuk proses dekarboksilasi 4-fenantroat. Produk *intermediate* menengah, yaitu *cis*-3,4-dihidroksifenantrena-4-karboksilat, diproduksi oleh reaksi dioksigenasi kedua. 3,4-dihidroksifenantrena terbentuk dari proses rearomatik, dan dilanjutkan proses metabolisme menjadi 1-hidroksi-2-naftolat. Reaksi enzimatik lanjutan, termasuk dioksigenasi pembelahan cincin intradiol, menghasilkan produk oftalat. Menurut Mrozik *et al.* (2003), *Mycobacterium* sp. memineralsasi pirena ketika berkembang pada media suplemen garam mineral melalui nutrien organik. Ada tujuh macam metabolit untuk metabolisme pirena yang dapat terdeteksi oleh HPLC. Tiga produk berupa oksidasi cincin, yaitu *cis*-4,5-pirenadihidrodiol, *trans*-4,5-pirenadihidrodiol, dan pirenol, serta empat produk berupa produk pembelahan cincin, yaitu 4-hidroksiperinaftenon, asam 4-fenantroat, asam ftalat, dan asam sinamat.

Penggunaan beberapa jenis jamur (*fungi*) untuk proses biodegradasi telah terbukti lebih berhasil mereduksi senyawa HAP dengan berat molekul tinggi dibandingkan penggunaan bakteri karena jamur memproduksi enzim non-spesifik ekstraseluler

seperti lakase, lignin peroksida, mangan peroksida, dan mempunyai kemampuan untuk mempertahankan serta memperpanjang durasi pertumbuhan (Atagana, 2009). Tabel 3 menunjukkan kemampuan berbagai jenis jamur untuk medegradasi senyawa-senyawa HAP. Dua mekanisme dilakukan jamur dalam biodegradasi HAP, yaitu penggunaan sistem *cytochrome P-450* dan menggunakan enzim ekstraseluler terlarut dari katabolisme peroksidase lignin (LiP) dan peroksidase mangan (Tortella & Diez, 2005). Enzim-enzim ini merupakan enzim nonspesifik dan mengoksidasi berbagai macam senyawa organik. Enzim tersebut mempunyai kemampuan selektivitas rendah karena lignin mengandung berbagai macam struktur aromatik yang dibentuk di dalam dinding sel tanaman oleh reaksi radikal oksigen ganda dari 4-hidroksi sinamil, 3-metoksi-4-hidroksi sinamil dan 3,5-dimetokso-4-hidroksi sinamil mengakibatkan berbagai macam hubungan intermonomer (Hammel, 1992).

Pada jamur non-ligninolitik, oksidasi HAP dikatalis melalui enzim *cytochrome P450 monooksigenase* oleh pemasukan satu atom molekul oksigen menjadi sebuah oksida arena sebagai produk metabolisme inisial (Peng *et al.*, 2008). *Cytochrome P-450 monooksigenase* adalah bagian dari keluarga besar protein hemetiolat sebagai katalisator berbagai reaksi seperti hidroksilasi karbon, oksigenasi heteroatom, dealkilasi, epoksidasi, dan dehalogenasi (Syed *et al.*, 2010). Monooksigenase mempunyai sifat sangat kompleks, terdiri atas sistem multi-komponen, dan membentuk membran terikat dengan luas substrat spesifik.

Menurut Crawford dan Crawford (1996), oksigenase arena bersifat tidak stabil dan dapat menjalani hidrasi enzimatik melalui epoksida hidrolase untuk membentuk *trans*-dihidrodiol atau pengaturan kembali non-enzimatik ke dalam bentuk fenol, yang dapat dikonjugasi dengan glukosa, sulfat, xilosa, atau asam glukoronat (Gambar 4). Beragam kelompok jamur non-ligninolitik memiliki

Tabel 4. Jenis *cyanobacteria*, alga, dan hasil metabolit HAP

Senyawa	Organisme	Metabolit
Fenantlena	<i>Oscillatoria</i> sp. jenis SCM, <i>Agmedellum quadruplicatum</i>	Fenantrena <i>trans</i> -9,10-dihidrodiol; 1-metoksifenantrena.
Benzo(a)pirena	<i>Salenastrum capricornutum</i>	Benzo(a)pirena <i>cis</i> -4,5-dihidrodiol; benzo(a)pirena <i>cis</i> -7,8-dihidrodiol; benzo(a)pirena <i>cis</i> -9,10-dihidrodiol; benzo(a)pirena <i>cis</i> -11,12-dihidrodiol.
Naftalena	<i>Oscillatoria</i> sp. (jenis JCM), <i>Oscillatoria</i> sp. (jenis MEV), <i>Microcoleus chthonoplastes</i> , <i>Nostoc</i> sp., <i>Anabaena</i> sp. (jenis CA), <i>Anabaena</i> sp. (jenis IF), <i>Agmedellum quadruplicatum</i> , <i>Coccolchloris elabens</i> , <i>Aphanocapsa</i> sp., <i>Chlorella sorokiniana</i> sp., <i>Chlorella autotrophicam</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>hlamydomonas angulosa</i> , <i>Ulva fasciata</i> , <i>Cylindrotheca</i> sp., <i>Amphora</i> sp., <i>Nitzchia</i> sp., <i>Synedra</i> sp., <i>Navicula</i> sp., <i>Porphyridium cruentum</i> .	1-Naftol; 4-hidroksi-1-tetralon, naftalena <i>cis</i> -1,2-dihidrodiol.

Sumber: Crawford & Crawford, 1996.

kemampuan untuk mengoksidasi HAP dalam bentuk *trans*-dihidrodiol, fenol, tetralon, kuinon, dihidrodiol epoksida, dan berbagai konjugasi hidrosilasi lanjutan, tetapi hanya sedikit dengan kemampuan untuk menurunkan HAP dalam bentuk CO₂. Cara terbaik mempelajari jamur *non-ligninolitik* melalui pengamatan jenis spesies *Cunningham elegans* untuk melakukan proses metabolisme HAP dari dua menjadi lima cincin aromatik. Seperti jamur lain, *Cunningham elegans* tidak memanfaatkan HAP sebagai sumber karbon dan energi tunggal, tetapi melakukan proses biotransformasi atau kometabolisme pada senyawa rekalsitran dalam bentuk produk detoksifikasi.

Degradasi HAP oleh jamur juga dapat dilakukan oleh strain non golongan jamur putih, yaitu strain MAS2 dan MBS1 dari spesies *Fusarium solani* (Wua *et al.*, 2010). Dari hasil penelitian tersebut selama 40 hari, strain MAS2 mampu menurunkan 40% antrasenadan MBS1 mampu menurunkan 60% benz[a]antrasena tanpa tambahan sumber karbon lain. Kedua strain jamur tersebut diisolasi dari sedimen mangrove yang terkontaminasi oleh HAP, suatu kondisi dengan keterbatasan oksigen. Proses biodegradasi HAP pada kedua strain tidak terjadi melalui produksi metabolit dihidrodiol, tetapi langsung menghasilkan asam ftalat melalui molekul kuinon pada masing-masing strain (Wua *et al.*, 2010).

Penurunan konsentrasi HAP oleh fluorena dan fenantrena juga dapat dilakukan melalui simbiosis antara jamur dengan tanaman (mikoriza) dengan metode translokasi (Gao *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Gao *et al.* (2010), hifa dari mikoriza arbuskular memiliki kemampuan untuk mengambil fluorena dan fenantrena dari dalam tanah dan memindahkan (translokasi) ke akar tanaman inang. Proses translokasi fluorena diperoleh lebih signifikan karena bobot molekul rendah serta lebih larut di dalam air dibandingkan fenantrena (Gao *et al.*, 2010).

Cyanobacteria (alga hijau-biru) dan alga eukariotik mengoksidasi HAP di bawah kondisi fotoautotrof untuk membentuk hidrosilasi lanjutan (Tabel 4). *Cyanobacteria* mengoksidasi naftalin dan fenantrena untuk metabolit, serupa dengan jamur. Sebaliknya, alga hijau *Selenastrum capricornutum* mengoksidasi benzo[a]pirena ke isometrik *cis*-dihidrodiol, serupa dengan metabolit bakteri. Meskipun tingkat metabolisme sangat rendah, alga prokariotik dan eukariotik sangat penting dalam keseluruhan proses degradasi HAP sejak didistribusikan secara luas di ekosistem perairan (Crawford & Crawford, 1996).

Selain itu, aspek positif biotransformasi HAP oleh alga memberikan efek sinergi pada konsorsium alga-bakteri terhadap peningkatan proses biodegradasi. Alga memproduksi molekul oksigen sebagai akseptor elektron untuk biotransformasi aerobik dari bahan organik, sedangkan bakteri akan melepaskan karbon dioksida selama proses mineralisasi yang sangat berguna untuk siklus fotosintesis spesies alga (Pouli & Agathos, 2011). Menurut El-Sheekh *et al.* (2012), alga dapat digunakan untuk pembelahan senyawa katekol

pada posisi 2-3 dan menghasilkan semialdehid 2-hidroksimusunik. Aktivitas khusus pada alga juga digunakan untuk ekstraksi katekol 1,2-dioksigenase.

4. Kesimpulan

Persistensi HAP di lingkungan sebagian besar ditentukan oleh proses biodegradasi. Pertumbuhan bakteri pada kultur tercampur melalui tahap tiga fase, yaitu fase eksponensial, fase pertumbuhan *pseudo-linear*, dan fase *pseudo-stasioner*. Pada tanah, bakteri memanfaatkan sejumlah ketersediaan senyawa karbon secara bersama-sama sehingga tidak dapat digunakan sebagai sumber karbon tunggal. Secara umum, proses metabolisme HAP membutuhkan tiga reaksi enzim mediator, yaitu enzim cytochrome P450, epoksida hidrolase, vicinal diol-epoksida. Hasil akhir metabolisme HAP berupa pertumbuhan mikroorganisme, mineralisasi dan transformasi dari substrat HAP menjadi bentuk non-mineral. Berbagai mekanisme jalur proses biodegradasi ditentukan atas kemunculan kontaminan kimia melalui tahap biodegradasi asimilatif, detoksifikasi intraseluler, dan kometabolisme sehingga memungkinkan penggunaan senyawa sebagai sumber karbon atau sumber energi. Penggunaan teknik biologi modern memainkan peranan penting untuk perubahan jalur biodegradasi dalam mencapai nilai efisiensi HAP tertinggi terhadap penggunaan berbagai jenis mikroorganisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., (2012), Kandungan Senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (HAP) di Teluk Jakarta, *Jurnal Ilmu Kelautan*, 17(4), 199–208.
- Ahmed, A.T., Othman, M.A., Sarwade, V.D., dan Kachru, G.R., (2012), Degradation of Anthracene by Alkaliphilic Bacteria *Bacillus* badius. *Environment and Pollution*, 1(2), 97–104.
- Allieri, M.A.A., Chávez, M.A.Á., Trejo, A., dan Estrada, J.M., (2012), Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Soil: A Comparison Between Bioremoval and Supercritical Fluids Extraction, *Chemosphere*, 86(10), 985–993.
- Anonim, (2006), *Manual for Biological Remediation Techniques*. International Centre for Soil and Contaminated Sites (ICSS), Dassau.
- Atagana, H.I., (2009), Biodegradation of PAHs by Fungi in Contaminated-Soil Containing Cadmium and Nickel Ions, *African Journal of Biotechnology*, 8(21), 5780–5789.
- Bamforth, S.M., dan Singleton, I., (2005), Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Current Knowledge and Future Directions, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80(7), 723–736.
- Barakat, A.O., Mostafa, A., Wade, T.L., Sweet, S.T., dan El Sayed, N.B., (2011), Distribution and Characteristics of PAHs in Sediments from the Mediterranean Coastal Environment of Egypt, *Marine Pollution Bulletin*, 62(9), 1969–1978.
- Bautista, L.F., Sanz, R., Molina, M.C., Gonzalez, N., dan Sanchez, D., (2009). Effect of Different Non-ionic Surfactants on the Biodegradation of PAHs by Diverse Aerobic Bacteria, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(7), 913–922.
- Bhuvaneshwari, S., dan Sivasubramanian, V., (2012), *Biosorption of Heavy Metals Using Chitosan*, dalam Joshi, N., Sharma, K.C., dan Sharma, M. (ed), *Environmental Biotechnology-Recent Perspectives: Application and New Horizons of Environmental Biotechnology*, LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken, hal. 115–131.
- Bohne-Kjersem, A., Skadsheim, A., Goksøyr, A., dan Grøsvik, B.E., (2009), Candidate Biomarker Discovery in Plasma of Juvenile Cod (*Gadus morhua*) Exposed to Crude North Sea Oil, Alkyl

- Phenols and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), *Marine Environmental Research*, 68(5), 268–277.
- Bojes, H.K., dan Pope, P.G., (2007), Characterization of EPA's 16 Priority Pollutant Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Tank Bottom Solids and Associated Contaminated Soils at Oil Exploration and Production Sites in Texas, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47(3), 288–295.
- Breslow, R., (2006). The Hydrophobic Effect in Reaction Mechanism Studies and in Catalysis by Artificial Enzymes, *Journal of Physical Organic Chemistry*, 19(12), 813–822.
- Cao, B., Nagarajan, K., dan Loh, K.C., (2009), Biodegradation of Aromatic Compounds: Current Status and Opportunities for Biomolecular Approaches, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(2), 207–228.
- Carson, J.K., Gonzalez-Quinones, V., Murphy, D.V., Hinz, C., Shaw, J.A., dan Gleeson, D.B., (2010), Low Pore Connectivity Increases Bacterial Diversity in Soil, *Applied and Environmental Microbiology*, 76(12), 3936–3942.
- Chauhan, A., Faziurrahman, Oakeshott, J.G., dan Jain, R.K., (2008), Bacterial Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Strategies for Bioremediation, *Indian Journal of Microbiology*, 48(1): 95–113.
- Chen, B., Wang, Y., dan Hu, D., (2010), Biosorption and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aqueous Solutions by a Consortium of White-rot Fungi, *Journal of Hazardous Materials*, 179(1–3), 845–851.
- Couling, N.R., Towell, M.G., dan Semple, K.T., (2010), Biodegradation of PAHs in Soil: Influence of Chemical Structure, Concentration and Multiple Amendment, *Environmental Pollution*, 158(11), 3411–3420.
- Crawford, R.L., dan Crawford, D.L., (1996), *Bioremediation: Principles and Applications*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, hal. 136–140.
- Dong, T.T., dan Lee, B.K., (2009), Characteristics, Toxicity, and Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Road Dust of Ulsan, Korea, *Chemosphere*, 74(9), 1245–1253.
- Doyle, E., Muckian, L., Hickey, A.M., dan Clipson, N., (2008), Microbial PAH Degradation, *Advances in Applied Microbiology*, 65, 27–66.
- El-Sheekh, M.M., Ghareib, M.M., dan El-Souod, G.W.A., (2012), Biodegradation of Phenolic and Polycyclic Aromatic Compounds by Some Algae and Cyanobacteria, *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 1–9.
- Enell, A., Fuhrman, F., Lundin, L., Warfvinge, P., dan Thelin, G., (2008), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ash: Determination of Total and Leachable Concentrations, *Environmental Pollution*, 152(2), 285–292.
- Gan, S., Lau, E.V., dan Ng, H.K., (2009), Remediation of Soils Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), *Journal of Hazardous Materials*, 172(2–3), 532–549.
- Gao, S., Seo, J.S., Wang, J., Keum, Y.S., Li, J., dan Li, Q.X., (2013), Multiple Degradation Pathways of Phenanthrene by *Stenotrophomonas maltophilia* C6, *International Biodegradation & Biodegradation*, 79, 98–104.
- Gao, Y., Cheng, Z., Ling, W., Huang, J., (2010), Arbuscular mycorrhizal Fungal Hyphae Contribute to the Uptake of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Plant Roots. *Bioresource Technology*, 101, 6895–6901.
- Gharasoo, M., Centler, F., Cappellen, P.V., Wick, L.Y., dan Thullner, M., (2009), Kinetics of Substrate Biodegradation under the Cumulative Effects of Bioavailability and Self-Inhibition, *Environmental Science and Technology*, 49(9), 5529–5537.
- Greenberg, B.M., Hull, R.N., Robert, M.H., dan Gensemer R.W., (2001), *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Science, Policy, and Standardization-Implications for Environmental Decisions*, American Society for Testing and Materials, Chelsea.
- Habe, H., dan Omori, T., (2003), Genetics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolism in Diverse Aerobic Bacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(2), 225–243.
- Hammel, K.E., (1992), Oxidation of Aromatic Pollutants by Lignin-degrading Fungi and Their Extracellular Peroxidases, *Metal Ions in Biological System*, 28, 41–60.
- Hanzel, J., Thullner, M., Harms, H., dan Wick, L.Y., (2012), Walking the Tightrope of Bioavailability: Growth Dynamics of PAH Degraders on Vapour-phase PAH, *Microbial Biotechnology*, 5(1), 79–86.
- Haritash, A.K., dan Kaushik, C.P., (2009), Biodegradation Aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review, *Journal of Hazardous Materials*, 169(1–3), 1–15.
- Harmsen, J., (2007), Measuring Bioavailability: From a Scientific Approach to Standard Methods, *Journal of Environmental Quality*, 36(5), 1420–1428.
- Hesse, F., Harms, H., Attinger, S., dan Thullner, M., (2010), Linear Exchange Model for the Description of Mass Transfer Limited Bioavailability at the Pore Scale, *Environmental Science and Technology*, 44(6), 2064–2071.
- Husain, S., (2008), Literature Overview: Microbial Metabolism of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Remediation Journal*, 18(2), 131–161.
- Iturbe, R., Flores, C., Castro, A., dan Torres, L.G., (2007), Sub-Soil Contamination due to Oil Spills in Six Oil-Pipeline Pumping Stations in Northern Mexico, *Chemosphere*, 68(5), 893–906.
- Jacques, R.J.S., Santos, E.C., Bento, F.M., Peralba, M.C.R., Selbach, P.A., Sa, E.L.S., dan Camargo, A.A.O., (2005), Anthracene Biodegradation by *Pseudomonas* sp. Isolated from a Petrochemical Sludge Landfarming Site, *International Biodegradation and Biodegradation*, 56(3), 143–150.
- Janbandhu, A., dan Fulekar, M.H., (2011), Biodegradation of Phenanthrene Using Adapted Microbial Consortium Isolated from Petrochemical Contaminated Environment, *Journal of Hazardous Materials*, 187(1–3), 333–340.
- Jiang, Y.F., Wang, X.T., Wang, F., Jia, Y., Wu, M.H., Sheng, G.Y., dan Fu, J.M., (2009), Levels, Composition Profiles and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Soil of Shanghai, China, *Chemosphere*, 75(8), 1112–1118.
- Johnsen, A.R., dan Karlson, U., (2004), Evaluation of Bacterial Strategies to Promote the Bioavailability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(4), 452–459.
- Johnsen, A.R., Wick, L.Y., dan Harms, H., (2005), Principles of Microbial HAP-degradation in Soil, *Environmental Pollution*, 133(1), 71–84.
- Keum, Y.S., Seo, J.S., Hu, Y., dan Li, Q.X., (2006), Degradation Pathways of Phenanthrene by *Sinorhizobium* sp. C4, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(6), 935–941.
- Kim, S.J., Kweon, O., Jones, R.C., Freeman, J.P., Edmondson, R.D., dan Cerniglia, C.E., (2007), Complete and Integrated Pyrene Degradation Pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 Based on Systems Biology, *Journal of Bacteriology*, 189(2), 464–472.
- Kolomytseva, M.P., Randazzo, D., Baskunov, B.P., Scozzafava, A., Briganti, F., dan Golovleva, L.A., (2009), Role of Surfactants in Optimizing Fluorene Assimilation and Intermediate Formation by *Rhodococcus rhodochrous* VKM B-2469, *Bioresource Technology*, 100(2), 839–844.
- Kolvenbach, B.A., Helbling, D.E., Kohler, H.P.E., dan Corvini, P.F., (2014), Emerging Chemicals and the Evolution of Biodegradation Capacities and Pathways in Bacteria, *Current Opinion in Biotechnology*, 27, 8–14.
- Kraakman, N.J.R., Rios, J.R., dan Loosdecht, M.C.M.V., (2011), Review of Mass Transfer Aspects for Biological Gas Treatment, *Applied Microbiology Biotechnology*, 91(4), 873–886.
- Kurniawan, A., dan Effendi, A.J., (2014), Biodegradasi Residu Total Petroleum Hidrokarbon di Bawah Konsentrasi 1% Hasil Proses Bioremediasi, *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 21(3), 286–294.
- Lee, S.E., Seo, J.S., Keum, Y.S., Lee, K.J., dan Li, Q.X., (2007), Fluoranthene Metabolism and Associated Proteins in *Mycobacterium* sp. JS14, *Proteomics*, 7(12), 2059–2069.
- Li, J.L., dan Chen, B.H., (2009), Surfactant-mediated Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Materials*, 2(1), 76–94.
- Li, X., Li, P., Lin, X., Zhang, C., Li, Q., dan Gong, Z., (2008), Biodegradation of Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Microbial Consortia in Soil and Slurry Phases, *Journal of Hazardous Materials*, 150(1), 21–26.
- Liang, Y., Tse, M.F., Young, L., dan Wong, M.H., (2007), Distribution Patterns of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in The

- Kurniawan A., Wirasembada, Y.C., Razaad, I.M.N., Novriansyah, A., Rafi, M., Effendi, A.J., (2018), Hidrokarbon Aromatik Polisiklik pada Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi: Tinjauan Pertumbuhan Mikro-Organisme, Proses Metabolisme dan Biodegradasi, *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 16(1), 9-24, doi:10.14710/jil.16.1.9-24
- Sediments and Fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong, *Water Research*, 41(6), 1303-1311.
- Liu, L., Tindall, J.A., Friedel, M.J., dan Zhang, W., (2007), Biodegradation of Organic Chemicals in Soil/Water Microcosms System: Model Development, *Water, Air, and Soil Pollution*, 178(1-4), 131-143.
- Lors, C., Ryngaert, A., Périé, F., Diels, L., dan Damidot, D., (2010), Evolution of Bacterial Community During Bioremediation of PAHs in a Coal Tar Contaminated Soil, *Chemosphere*, 81(10), 1263-1271.
- Luoma, S.N., dan Rainbow, P.S., (2005), Why is Metal Bioaccumulation so Variable? Biodynamics as a Unifying Concept, *Environmental Science and Technology*, 39(7), 1921-1931.
- Ma, J., Xu, L., dan Jia, L., (2012), Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas* sp. JM2 Isolated from Active Sewage Sludge of Chemical Plant, *Journal of Environmental Sciences*, 24(12), 2141-2148.
- Mallick, S., Chatterjee, S., dan Dutta, T.K., (2007), A Novel Degradation Pathway in the Assimilation of Phenanthrene by *Staphylococcus* sp. Strain PN/Y via Meta-Cleavage of 2-Hydroxy-1-Naphthoic Acid: Formation of Trans-2,3-Dioxo-5-(2'-Hydroxyphenyl)-Pent-4-Enoic Acid, *Microbiology*, 153(7), 2104-2115.
- Mirquez, L.D., Lardon, L., Steyer, J.P., dan Patureau, D., (2011), A New Dynamic Model for Bioavailability and Cometabolism of Micropollutants During Anaerobic Digestion, *Water Research*, 45(15), 4511-4521.
- Mrozik, A., Seget, Z.P., dan Labuzek, S., (2003), Bacterial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(1), 15-25.
- Nieto, E.R., dan Machuca, J.A.P.V., (2012), Microbial Degradation of PAHs: Organisms and Environmental Compartments, dalam Singh, S.N. (ed.), *Microbial Degradation of Xenobiotics*, Springer, Heidelberg, hal. 263-290.
- Nudi, A.H., Wagener, A.D.L.R., Francioni, E., de Lemos Scofield, A., Sette, C.B., dan Veiga, A., (2007), Validation of *Ucides cordatus* as a Bioindicator of Oil Contamination and Bioavailability in Mangroves by Evaluating Sediment and Crab PAH Records, *Environment International*, 33(3), 315-327.
- Nzila, A., (2013), Update on the Cometabolism of Organic Pollutants by Bacteria, *Environmental Pollution*, 178, 474-482.
- Olson, M.S., Ford, R.M., Smith, J.A., dan Fernandez, E.J., (2005), Analysis of Column Tortuosity for $MnCl_2$ and Bacterial Diffusion Using Magnetic Resonance Imaging, *Environmental Science & Technology*, 39(1), 149-154.
- Peijnenburg, W.J., Zablotzkaja, M., dan Vijver, M.G., (2007), Monitoring Metals in Terrestrial Environments Within a Bioavailability Framework and a Focus on Soil Extraction, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(2), 163-179.
- Peng, R.H., Xiong A.S., Xue, Y., Fu, X.Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.S., dan Yao, Q.H., (2008), Microbial Degradation of Polyaromatic Hydrocarbons, *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 32(6), 927-955.
- Portillo, M.C., Leff, J.W., Lauber, C.L., dan Fierer, N., (2013), Cell Size Distributions of Soil Bacterial and Archaeal Taxa, *Applied and Environmental Microbiology*, 79(24), 7610-7617.
- Pouli, M., dan Agathos, S.N., (2011), *Bioremediation of PAH-Contaminated Sites: from Pathways to Bioreactors*, dalam Koukkou, A.I. (ed.), *Microbial Bioremediation of Non-Metals: Current Research*, Caister Academic Press, Norfolk, UK, hal. 119-147.
- Rentz, J.A., Alvarez, P.J., dan Schnoor, J.L., (2008), Benzo[a]pyrene Degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02, *Environmental Pollution*, 151(3), 669-677.
- Riepe, W., dan Liphard, K.G., (2012), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) (Particle-Bound) [Air Monitoring Methods, 1991], *The MAK Collection for Occupational Health and Safety*, 41-52.
- Salam, L.B., Obayori, O.S., dan Olatoye, N.O., (2014), Biodegradation of Anthracene by a Novel Actinomycete, *Microbacterium* sp. Isolated from Tropical Hydrocarbon-Contaminated Soil, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 335-341.
- Schmidt, S.N., Christensen, J.H., dan Johnsen, A.R., (2010), Fungal PAH-metabolites Resist Mineralization by Soil Microorganisms, *Environmental Science & Technology*, 44(5), 1677-1682.
- Semple, K.T., Doick, K.J., Wick, L.Y., dan Harms, H., (2007), Microbial Interactions with Organic Contaminants in Soil: Definitions, Processes and Measurement, *Environmental Pollution*, 150(1), 166-176.
- Seo, J.S., Keum, Y.S., dan Li, Q.X., (2009), Bacterial Degradation of Aromatic Compounds, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(1), 278-309.
- Singh, A., dan Ward, O.P., (2004), *Biodegradation and Bioremediation*, Springer-Verlag, Heidelberg.
- Srogi, K., (2007), Monitoring of Environmental Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Review, *Environmental Chemistry Letters*, 5(4), 169-195.
- Syed, K., Doddapaneni, H., Subramanian, V., Lam, Y.W., dan Yadav, J.S., (2010), Genome-to-Function Characterization of Novel Fungal P450 Monooxygenases Oxidizing Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 399(4), 492-497.
- Thavamani, P., Megharaj, M., dan Naidu, R., (2012), Bioremediation of High Molecular Weight Polyaromatic Hydrocarbons Co-contaminated with Metals in Liquid and Soil Slurries by Metal Tolerant PAHs Degrading Bacterial Consortium, *Biodegradation*, 23(6), 823-835.
- Tortella, G.R., dan Diez, M.C., (2005), Fungal Diversity and Use in Decomposition of Environmental Pollutants, *Critical Reviews in Microbiology*, 31(4), 197-212.
- Vandermeer, K.D., dan Daugulis, A.J., (2007), Enhanced Degradation of a Mixture of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by a Defined Microbial Consortium in a Two-phase Partitioning Bioreactor, *Biodegradation*, 18(2), 211-221.
- Wahman, D.G., Katz, L.E., dan Speitel, G.E., (2007), Modeling of Trihalomethane Cometabolism in Nitrifying Biofilters, *Water Research*, 41(2), 449-457.
- Wammer, K.H., dan Peters, C.A., (2005), Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Biodegradation Rates: A Structure-based Study, *Environmental Science and Technology*, 39(8), 2571-2578.
- Wick, A.F., Haus, N.W., Sukkariyah, B.F., Haering, K.C., dan Daniels, W.L., (2011), *Remediation of PAH-Contaminated Soils and Sediments: A Literature Review*, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA, hal. 6, 9.
- Wu, M., Chen, L., Tian, Y., Ding, Y., dan Dick, W.A., (2013), Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Microbial Consortia Enriched from Three Soils Using Two Different Culture Media, *Environmental Pollution*, 178, 152-158.
- Wua, Y.R., Luo, Z.H., dan Vrijmoed, L.L.P., (2010), Biodegradation of Anthracene and Benz[a]anthracene by Two *Fusarium solani* Strains Isolated from Mangrove Sediments, *Bioresource Technology*, 101(24), 9666-9672.
- Xue, W., dan Warshawsky, D., (2005), Metabolic Activation of Polycyclic and Heterocyclic Aromatic Hydrocarbons and DNA Damage: A Review, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 206(1), 73-93.
- Yap, C.L., Gan, S., dan Ng, H.K., (2010), Application of Vegetable Oils in the Treatment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-contaminated Soils, *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 28-41.
- Yu, R., (2006), *Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (HAP) Contaminated Soils in a Roller Baffled Bioreactor*, Tesis, Department of Chemical Engineering, University of Saskatchewan, Saskatoon.
- Zhang, X.X., Cheng, S.P., Cheng-Jun, Z.H.U., dan Shi-Lei, S.U.N., (2006), Microbial PAH-degradation in Soil: Degradation Pathways and Contributing Factors, *Pedosphere*, 16(5), 555-565.
- Zhang, Z., Hou, Z., Yang, C., Ma, C., Tao, F., dan Xu, P., (2011), Degradation of n-Alkanes and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Petroleum by a Newly Isolated *Pseudomonas aeruginosa* DQ8, *Bioresource Technology*, 102(5), 4111-4116.
- Zhao, H.P., Wu, Q.S., Wang, L., Zhao, X.T., dan Gao, H.W., (2009), Degradation of Phenanthrene by Bacterial Strain Isolated

from Soil in Oil Refinery Fields in Shanghai China, *Journal of Hazardous Materials*, 164(2), 863–869.

Zhong, Y., Luan, T., Wang, X., Lan, C., dan Tam, N.F., (2007), Influence of Growth Medium on Cometabolic Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. Strain PheB4, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(1),175–186.