

BIODEGRADASI SENYAWA FENOL DENGAN MENGGUNAKAN BAKTERI PSEUDOMONAS AERUGINOSA DAN BACILLUS SUBTILIS

(Biodegradation of Phenol Compound By Using of Pseudomonas Aeruginosa and Bacillus Subtilis Bacteria)

Zulkifliani¹⁾, Asyrof Zamzami²⁾, Yoswita Rustam²⁾, dan Moch Fierdaus¹⁾

¹⁾Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi "LEMIGAS"
Jl. Ciledug Raya Kav.109, Cipulir, Kebayoran Lama, Jakarta Selatan
Telepon: +62-21-7394422, Fax.: +62-21-7246150

²⁾Biologi, FMIPA Universitas Nasional Jakarta

email: zulkifliani@lemigas.esdm.go.id

Teregistrasi I tanggal 4 September 2015; Diterima setelah perbaikan tanggal 2 Nopember 2015;
Disetujui terbit tanggal: 31 Desember 2015.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kemampuan degradasi fenol antara bakteri konsorsium dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. Metode statistik yang digunakan adalah rancangan acak kelompok yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah jenis bakteri yang digunakan yaitu bakteri *P. aeruginosa*, bakteri *B. subtilis*, dan bakteri konsorsium dari kedua jenis bakteri tersebut. Faktor kedua adalah konsentrasi senyawa fenol 20, 40, 60, 80, 100 (mg/L). Parameter yang diukur adalah pertumbuhan bakteri dan konsentrasi akhir senyawa fenol setelah proses biodegradasi. Data dianalisis dengan ANOVA dua arah dengan $\alpha=0,05$. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa hanya pengaruh variasi konsentrasi fenol (mg/L) yang memberikan hasil signifikan terhadap proses biodegradasi fenol. Uji DMRT menunjukkan bahwa variasi konsentrasi fenol (mg/L) yang terbaik adalah 20 mg/L dengan persentase biodegradasi sebesar 57,75%. Sedangkan untuk variasi bakteri, persentase biodegradasi paling tinggi adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 75,67% pada konsentrasi fenol 40 mg/L.

Kata Kunci: biodegradasi, fenol, *pseudomonas aeruginosa* dan *bacillus subtilis*.

ABSTRACT

The objective of this study is to determine the difference between the phenol degradation capability by using bacteria consortium with Pseudomonas aeruginosa and Bacillus subtilis. The statistical method used was a randomized block design consisting of two factors. The first factor is the type of bacteria used are bacteria P. aeruginosa, B. subtilis and bacteria consortium of two types of bacteria. The second factor is the concentration of phenolic compounds 20, 40, 60, 80, 100 (mg / L). Parameters measured were bacterial growth and the final concentration of phenolic compounds after biodegradation process. Data were analyzed by two-way ANOVA with $\alpha = 0.05$. Results of ANOVA analysis showed that only the effect of variations in the concentration of phenol (mg/L) that provides significant results against phenol biodegradation process. DMRT shows that variations in the concentration of phenol (mg / L) that best is 20 mg/L with a percentage of 57.75% biodegradation. As for the variety of bacteria, the highest percentage of biodegradation is bacteria Pseudomonas aeruginosa amounted to 75.67% in phenol concentration of 40 mg/L.

Keywords: biodegradation, phenol, *pseudomonas aeruginosa* and *bacillus subtilis*.

I. PENDAHULUAN

Fenol merupakan senyawa organik yang bersifat toksik, dan mudah larut dalam air, sehingga senyawa tersebut mudah menimbulkan pencemaran pada suatu perairan. Apabila suatu perairan terkena pencemaran fenol akan mengakibatkan turunnya kualitas air, gangguan terhadap ekosistem perairan, hingga kematian biota air. Banyak industri menggunakan senyawa fenol dalam proses produksi maupun sebagai salah satu bahan dasar. Sisa-sisa fenol dapat terbawa dalam limbah dan menyebabkan pencemaran pada perairan tempat pembuangan limbah industri (Udiharto, 1989).

Senyawa fenol dapat dikatakan aman bagi lingkungan jika konsentrasinya berkisar antara 0,5-1,0 mg/L sesuai dengan KEP No. 51/MENLH/10/1995 dan ambang batas fenol dalam air baku air minum adalah 0,002 mg/L seperti yang dinyatakan oleh Badan Pengendalian Dampak Lingkungan (Bapedal) (Slamet *et al.* 2005). Sedangkan berdasarkan data dari penelitian Isyuniarto (2005) menunjukkan kandungan senyawa fenol dalam limbah cair industri migas di salah satu kilang minyak di Indonesia berkisar antara 90-450 mg/L. Oleh sebab itu, diperlukan adanya usaha untuk mereduksi konsentrasi fenol dalam limbah tersebut sebelum dibuang ke perairan umum ataupun ke lingkungan.

Penanggulangan pencemaran fenol bisa dilakukan secara fisika, kimia ataupun biologi, namun mempunyai beberapa kelemahan diantaranya memerlukan biaya yang tinggi, menghasilkan senyawa samping yang bersifat toksik, dan proses mineralisasi yang kurang sempurna (Saravanan *et al.* 2008). Selain itu penanggulangan secara kimia dapat merusak ekosistem bahkan dapat membunuh flora dan fauna laut dan dapat membunuh mikroba pengurai minyak bumi, sehingga memperlambat pemulihan lingkungan (Mc Cannaughey & Zoottoli, 1983). Oleh karena itu diperlukan adanya metode baru dalam mereduksi senyawa fenol dengan biaya yang relatif rendah, tingkat reduksi yang tinggi, serta tidak menghasilkan senyawa samping yang masih bersifat toksik.

Salah satu upaya lain untuk mereduksi senyawa fenol adalah secara biologi yaitu dengan proses biodegradasi. Biodegradasi merupakan proses reduksi senyawa kimia secara biologi dengan menggunakan mikroorganisme. Bakteri merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan sebagai agen biodegradasi yang dapat menjadikan senyawa fenol sebagai sumber karbon dan mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa yang tidak beracun. Teknik

biodegradasi ini memiliki keuntungan antara lain biaya yang murah dan tidak dihasilkannya senyawa samping yang masih bersifat toksik dan berbahaya jika dibuang ke lingkungan.

Beberapa penelitian terkait kemampuan bakteri dalam mendegradasi fenol telah dilakukan, Deziel *et al.* (1996) melaporkan salah satu spesies bakteri yang banyak dipelajari sebagai pendegradasi hidrokarbon adalah bakteri dari genus *Pseudomonas*, yang diketahui dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon seperti minyak mentah, dan berbagai hidrokarbon aromatik termasuk fenol. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Udiharto *et al.* (1995) yang telah menemukan berbagai macam jenis bakteri yang didominasi oleh bakteri *Pseudomonas sp.* yang merupakan hasil isolasi dari air buangan yang mampu menguraikan limbah minyak bumi.

Pada penelitian lain telah diketahui ada bakteri dari genus lain yang dapat mendegradasi senyawa fenol, diantaranya adalah bakteri *Bacillus sp.* Bakteri tersebut di alam biasanya membentuk suatu bakteri konsorsium yang saling sinergis dalam mendegradasi fenol (Suhandi *et al.* 2006).

Pada studi awal yang dilakukan LEMIGAS, kedua spesies bakteri tersebut diketahui mampu mendegradasi senyawa fenol dan dapat menggunakan senyawa fenol sebagai sumber karbon. Namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari potensi kemampuan degradasi dari kedua spesies bakteri tersebut, yaitu dengan menyatukan kedua spesies bakteri tersebut sebagai bakteri konsorsium. Dengan demikian tujuan penelitian ini adalah melihat perbedaan kemampuan degradasi fenol antara kedua bakteri konsorsium dengan bakteri *P. aeruginosa* atau *B. subtilis* dengan variasi konsentrasi fenol yang berbeda-beda agar dapat diketahui konsentrasi fenol optimum yang dapat didegradasi.

II. BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel yang digunakan untuk uji biodegradasi adalah limbah cair sintesis yang hanya mengandung senyawa fenol. Kultur bakteri yang digunakan adalah *P. aeruginosa* dan *B. subtilis* yang berasal dari hasil isolasi dan identifikasi dari lingkungan minyak bumi, yang kemudian menjadi koleksi Laboratorium Bioteknologi LEMIGAS.

Metode

Metode statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan desain Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan ulangan percobaan sebagai kelompok. Parameter yang diamati adalah

konsentrasi fenol setelah dilakukan proses degradasi selama 48 jam (mg/L).

- Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan memindahkan sebanyak satu ose kultur bakteri *P. aeruginosa* dan *B. subtilis* yang diambil secara aseptis. Biakan bakteri tersebut diinokulasi pada medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 28 – 29°C selama 24 jam.

- Kultivasi Bakteri

Kultivasi bakteri dilakukan dalam 100 mL media cair *Nutrient Broth* (NB). Kultur diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C di dalam *Shaker Table* dengan kecepatan 120 rpm. Bakteri yang tumbuh ditandai dengan munculnya kekeruhan pada media cair.

- Adaptasi Bakteri

Kultur yang telah tumbuh pada media kultivasi, diadaptasikan ke dalam 100 mL media adaptasi berupa media NP (5:1) + 0.1% ekstrak ragi yang ditambah dengan larutan fenol 10 mg/L dan secara aseptis ditambahkan 10 % (v/v) larutan suspensi bakteri yang berasal dari media kultivasi ke dalam media adaptasi tersebut. Selanjutnya media diinkubasi selama 72 jam dengan menggunakan *Shaker Table* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 30°C.;

- Perhitungan Jumlah Sel

Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dan juga melihat *Optical Density* (OD) bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

- Biodegradasi Fenol

Biodegradasi fenol dilakukan dengan memasukkan media perlakuan secara aseptis ke dalam lima labu erlenmeyer yang berbeda kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing erlenmeyer variasi konsentrasi fenol 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Kemudian menambahkan larutan suspensi bakteri konsorsium yang terdiri dari *P. aeruginosa* dan *B. substillis* dengan perbandingan 1:1 sebanyak 10% (v/v) hingga volume total media mencapai 150

mL. Setelah itu media diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C di dalam inkubator shaker dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya melakukan analisis total fenol dan perhitungan populasi bakteri. Dilakukan hal yang sama untuk bakteri *P.aeruginosa* dan *B. subtilis*. Sampel yang telah didegradasi kemudian didistilasi terlebih dahulu sebelum melakukan proses analisis total fenol.

- Analisis Total Fenol

Analisis total fenol dilakukan berdasarkan ASTM D 1783 2011. Sampel diuji secara langsung tanpa melalui proses ekstraksi dengan menggunakan alat spektrofotometer. Sampel fenol yang telah terlebih dahulu didistilasi (jika keruh) kemudian ditambah dengan 1 mL 4-amino-antipirin 2% (dibuat saat akan dipakai) dalam keadaan basa pH 10 ± 2 (pH diatur dengan menambahkan larutan penyangga fosfat pH 10 atau NH_4OH 5%). Kemudian diberi penambahan 1 mL kalium ferisianida [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_8$] 8% lalu dimasukkan ke dalam kuvet diaduk dan didiamkan selama 10 menit, yang nantinya akan menghasilkan warna kuning jernih. Warna yang timbul diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm.

- Analisis Data

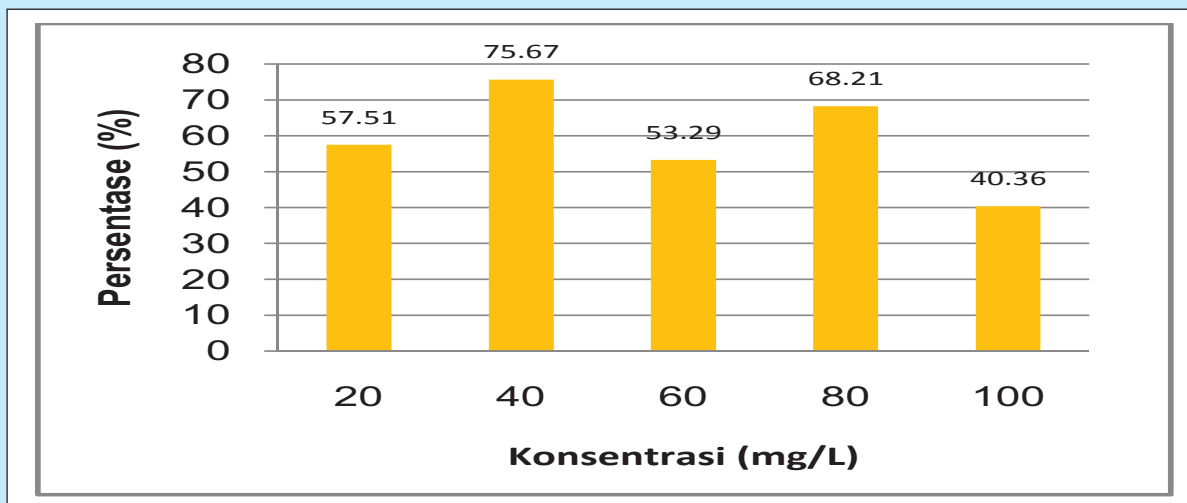
Analisis data dilakukan dengan menggunakan *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 17). Data diuji dengan uji ANOVA dua arah. Jika F hitung > F tabel 5% maka perhitungan dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5% untuk mengetahui perbedaan perlakuan terhadap parameter yang diukur.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan bakteri konsorsium setelah diaktivasi dan adaptasi dalam media, jika menunjukkan adanya kekeruhan berarti siap untuk melakukan proses biodegradasi fenol. Populasi bakteri dihitung mencapai 10^6 CFU/mL. Hasil penghitungan populasi bakteri seperti disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1
Populasi Bakteri Pada Proses Adaptasi

Bakteri	Jumlah Sel, CFU/mL
<i>Bacillus subtilis</i>	64×10^6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	164×10^6
Bakteri konsorsium	179×10^6



Gambar 1
 Persentase Degradasi Fenol Oleh Bakteri *P. Aeruginosa* Selama 48 Jam.

Adaptasi penting dilakukan dalam mengaplikasikan teknik biodegradasi dalam limbah karena limbah industri biasanya mengandung konsentrasi fenol yang tinggi sehingga sulit untuk ditangani secara biologis karena terjadi inhibisi oleh substrat yang ditunjukkan dengan melambatnya pertumbuhan sel dan menurunnya kemampuan biodegradasi (Saravanan *et al.* 2008).

Menurut Piakong, 2006, menyatakan bahwa selama masa adaptasi tersebut juga akan terjadi perubahan fisiologis dalam sistem metabolik sel. Perubahan tersebut merupakan respon sel terhadap lingkungan baru yang melibatkan perubahan regulasi dan produksi enzim, ukuran, dan komposisi sel, serta karakteristik genetik.

Pertumbuhan jumlah sel bakteri *P. aeruginosa* mempengaruhi proses biodegradasi senyawa fenol yang berlangsung selama 48 jam. Hasil biodegradasi fenol oleh bakteri *P. aeruginosa* secara optimum terjadi pada konsentrasi 40 mg/L dengan nilai persentase

degradasi sebesar 75,67%. Sedangkan nilai persentase degradasi fenol terendah ada pada konsentrasi 100 mg/L yaitu sebesar 40,36% (Gambar 1).

Proses biodegradasi fenol erat kaitannya dengan berbagai faktor antara lain nutrisi, suhu, pH, dan bakteri. Menurut Maulana, 2015, media yang baik untuk degradasi fenol terdiri dari NP (5:1) + ekstrak ragi, karena terdapat unsur nitrogen (N) dan fosfor (P). Selain itu ekstrak ragi untuk bakteri akan tumbuh lebih baik. Faktor suhu dan pH merupakan faktor penting dalam proses biodegradasi karena tiap spesies bakteri memiliki pH dan suhu optimum yang berbeda-beda untuk aktivitasnya (Waluyo, 2009). Suhu yang digunakan dalam proses biodegradasi ini adalah 30°C yang mengacu pada pendapat yang dikemukakan oleh Suhaila *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa umumnya bakteri dapat mendegradasi fenol secara optimal pada suhu 30°C dan pH 7.

Perubahan kondisi lingkungan akan mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan bakteri,

Tabel 2
 Populasi Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Selama Proses Biodegradasi Berlangsung Selama 48 Jam

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah Sel x 10 ⁷ (CFU/mL)	
	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	
	Awal	Akhir
20	1,54	5,99
40	1,49	6,19
60	1,58	5,95
80	1,50	6,01
100	1,59	5,51

Tabel 3
Populasi Bakteri *B. Subtilis* Selama Proses Biodegradasi Berlangsung Selama 48 Jam

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah Sel x 10 ⁷ (CFU/mL)	
	<i>B. subtilis</i>	
	Awal	Akhir
20	1,48	5,87
40	1,49	5,86
60	1,56	5,54
80	1,54	5,41
100	1,58	5,22

sehingga bakteri yang tidak mampu beradaptasi pada kondisi tersebut akan mengalami kematian, karena kondisi lingkungan yang tidak mendukung proses metabolisme bakteri tersebut (Supriatin, 2008).

Proses biodegradasi juga sejalan dengan jumlah populasi bakteri. Fenol pada kondisi tertentu dapat sebagai sumber karbon yang cukup baik bagi pertumbuhan bakteri.

Populasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebelum dan sesudah proses biodegradasi seperti disajikan pada Tabel 2. Terbukti bahwa populasi *Pseudomonas aeruginosa* ini sejalan dengan hasil degradasi fenol seperti yang disajikan dalam Gambar 1.

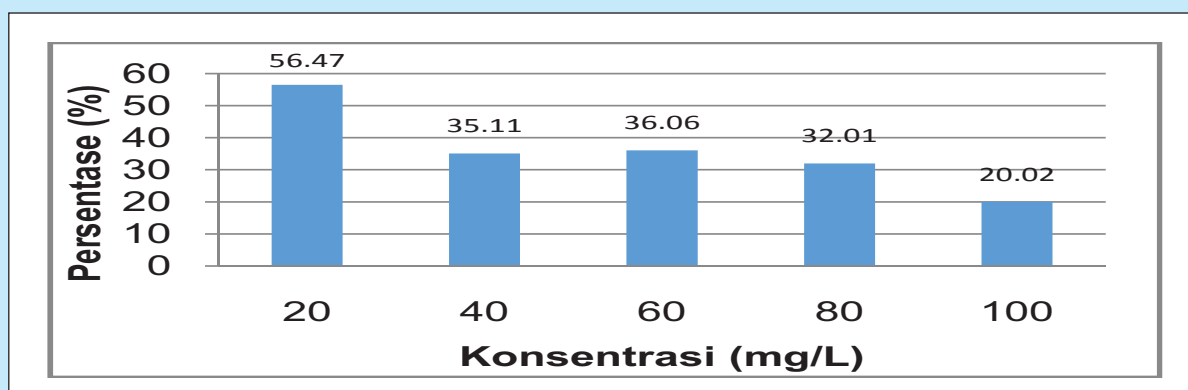
Jenis bakteri kedua yang digunakan pada penelitian ini dalam proses biodegradasi fenol yang berlangsung selama 48 jam adalah bakteri *B. subtilis*. Hasil penelitian ini menunjukkan juga bahwa populasi sel bakteri *B. subtilis* sejalan dengan hasil degradasi fenol seperti yang disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan pertumbuhan jumlah sel bakteri seiring dengan naiknya konsentrasi fenol. Penurunan jumlah sel bakteri bisa disebabkan tingginya konsentrasi fenol yang dapat bersifat toksik (Gambar 2).

Persentase degradasi fenol yang terlihat pada Gambar 2 menunjukkan bahwa persentase degradasi fenol tertinggi oleh bakteri *B. subtilis* terdapat pada konsentrasi fenol 20 mg/L sebesar 56,47% dan persentase degradasi terendah terdapat pada konsentrasi fenol 100 mg/L sebesar 20,02%. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi fenol dapat menyebabkan persentase degradasi fenol mengalami penurunan. Hal ini dapat terjadi karena peningkatan konsentrasi fenol akan mengakibatkan meningkatnya waktu yang dibutuhkan untuk mendegradasi dan dapat menurunkan laju degradasi fenol tersebut. Menurunnya laju degradasi fenol tersebut dapat disebabkan oleh toksisitas fenol yang meningkat sehingga menyebabkan terjadinya inhibisi terhadap aktivitas biomassa sel (Rocha *et al*, 2007).

Variasi bakteri ketiga yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri konsorsium yang terdiri dari bakteri *P. aeruginosa* dan *B. subtilis*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rata-rata hasil pertumbuhan jumlah sel bakteri sebelum dan setelah proses biodegradasi selama 48 jam seperti disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa pertumbuhan jumlah sel bakteri pada bakteri konsorsium sejalan dengan proses



Gambar 2
Persentase Degradasi Fenol Oleh Bakteri *B. Subtilis* Selama 48 Jam.

Tabel 4
Populasi Bakteri Konsorsium Selama Proses Biodegradasi Berlangsung Selama 48 Jam

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah Sel x 10 ⁷ (CFU/mL)	
	Bakteri konsorsium	
	awal	Akhir
20	1,46	5,87
40	1,43	5,78
60	1,64	5,44
80	1,45	5,42
100	1,68	5,38

degradasi fenol dimana persentase degradasi fenol tertinggi pada bakteri konsorsium yang terdapat pada konsentrasi 20 mg/L dengan nilai rata-rata persentase degradasi sebesar 54,36% (Gambar 3).

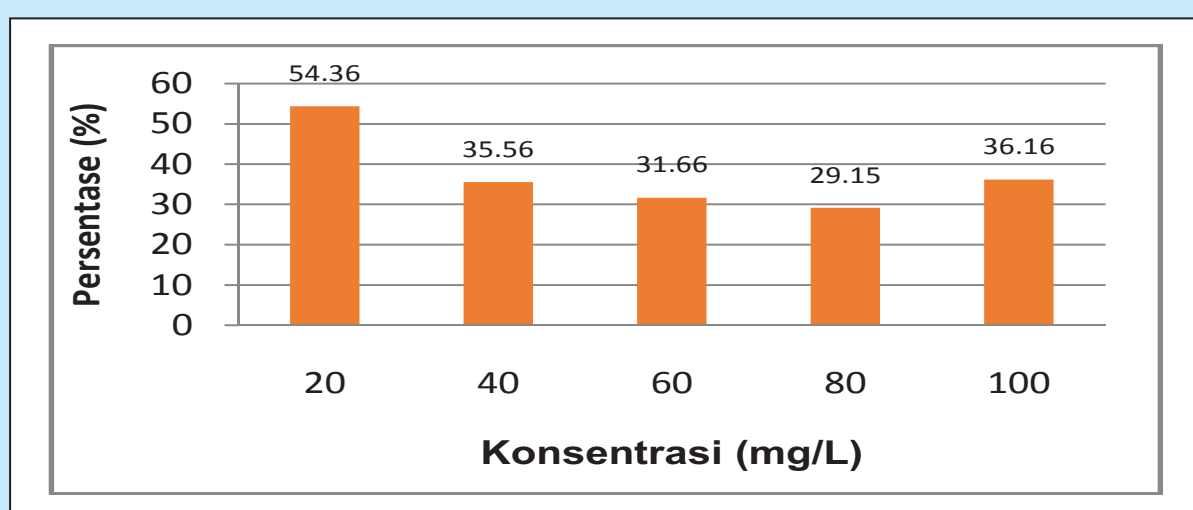
Dari ketiga jenis bakteri yang digunakan dapat dilihat bahwa bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri dengan persentase degradasi tertinggi dengan nilai persentase mencapai 75,67% pada konsentrasi 40 mg/L. Persentase degradasi yang rendah terjadi pada bakteri konsorsium karena adanya interaksi antar-bakteri. Berdasarkan Sterrit & Lester (1988), interaksi antar-bakteri didominasi oleh interaksi yang bersifat kompetisi. Interaksi ini mengakibatkan spesies yang tumbuh lebih cepat akan menguasai spesies yang pertumbuhannya lebih lambat.

Selain itu, penggunaan ekstrak ragi juga bisa menyebabkan menurunnya degradasi fenol oleh bakteri konsorsium. Hal ini diperkuat oleh Suryono (2009) yang menjelaskan bahwa ekstrak ragi merupakan bahan yang kaya akan sumber asam

amino, vitamin B dan juga memiliki kandungan senyawa karbon dan nitrogen. Hal ini menyebabkan bakteri lebih memilih sumber karbon yang berasal dari ekstrak ragi karena lebih mudah untuk digunakan dibandingkan dengan sumber karbon yang berasal dari senyawa fenol.

Konsentrasi awal fenol dalam proses biodegradasi fenol berperan sebagai substrat bagi bakteri. Selain itu pada konsentrasi yang tepat, fenol juga dapat menjadi sumber karbon yang dapat digunakan bakteri bagi proses pertumbuhan. Namun jika konsentrasi fenol terlalu tinggi dapat bersifat toksik sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu perlu dilihat konsentrasi fenol optimum yang mampu didegradasi oleh masing-masing bakteri.

Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA dua arah menunjukkan bahwa variasi konsentrasi fenol memberikan hasil yang signifikan terhadap hasil akhir senyawa fenol. Uji DMRT menunjukkan bahwa



Gambar 3
Persentase Degradasi Fenol Oleh Bakteri Konsorsium Selama 48 Jam.

hasil degradasi fenol pada konsentrasi awal fenol 20 mg/L tidak berbeda nyata dengan konsentrasi awal fenol 40 mg/L. akan tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 60, 80, dan 100 mg/L

Dari hasil yang telah didapat, diketahui bahwa bakteri *B.subtilis* mampu mendegradasi fenol secara optimal pada konsentrasi awal 20 mg/L sebesar 56,47%. Hal yang sama juga terjadi pada bakteri konsorsium mampu mendegradasi fenol sebesar 54,36%.

Sedangkan bakteri *P.aeruginosa* mampu mendegradasi senyawa fenol secara optimal pada konsentrasi awal 40 mg/L sebesar 75,67% yang merupakan persentase degradasi tertinggi dari ketiga kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini.

IV.KESIMPULAN

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa variasi konsentrasi fenol berpengaruh secara signifikan dalam proses biodegradasi senyawa fenol. Persentase degradasi tertinggi dari bakteri *Bacillus subtilis* dan bakteri konsorsium ada pada konsentrasi fenol 20 mg/L masing-masing sebesar 56,47% dan 54,36%. Dari ketiga bakteri, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang mampu mendegradasi fenol dengan persentase tertinggi 75,67% pada konsentrasi fenol 40 mg/L.

KEPUSTAKAAN

American Society for Testing Material (ASTM). 2011. Standard Water And Environmental Technology. ASTM International, West Conshohocken, Pennsylvania.

Deziel, A., Paquete, G., Villemur, R., Lepine, F. & Bisailon, J. G. 1996. Biosurfactant production by a soil *Pseudomonas* strain growing on polycyclic aromatic hydrocarbons. *Applied Environmental Microbiology* 62, 908-912.

Maulana, Marda. 2015. Optimalisasi Biodegradasi Fenol Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bogor : IPB

McCannaughey, B.H., & Zottoli, R. 1983. *Introduction to Marine Biology*. The CV Mosby Company. St. Louis, Toronto London.

Piakong, 2006. The performance of phenol biodegradation by *Candida tropicalis* RETL-Cr1 using batch and fed-batch fermentation techniques, Sabah: Universiti Teknologi Malaysia.

Rocha, L.L. et al. 2007. Isolation and characterization of phenol-degrading yeasts from an oil refinery wastewater in Brazil. *Mycopathologia* 64:183-188.

Saravanan, P., Pakshirajan, K., Saha, P. 2008. Biodegradation of phenol and m-cresol in a batch and fed batch operated internal loop airlift bioreactor by indigenous mixed microbial culture predominantly *Pseudomonas* sp. *Bioresource Technol* 99:8553–8558.

Slamet, Arbianti, R., Daryanto. 2005. Pengolahan limbah organik (fenol) dan logam berat (Cr6+ atau Pt4+) secara simultan dengan fotokatalis TiO₂, ZnO-TiO₂, dan CdS-TiO₂. *Makara Teknologi* 9:66-71.

Sterrit, R.M., J.N. Lester. 1988. *Microbiology for Environmental and Public Health Engineers*. London: E&FN Spon Ltd.

Suhandi, D., Purwoko, T., Pangastuti, A. 2006. Biodegradasi Fenol oleh Isolat *Bacillus* spp asal Sumur Minyak Kawengan, Cepu. *Bioteknologi* 3 (1): 8-13. Surakarta: Biologi FMIPA UNS.

Suhaila NY, et al. 2010, Optimization of parameters for phenol degradation by *Rhydococcus* UKM-P in shake flask culture, *Proceedings of the World Congress on Engineering* Vol:1.

Supriatin Y., 2008, Kajian produksi biogas skala laboratorium dengan inokulum konsorsium alami metanogen dalam substrat bungkil jarak pagar (*Jatropha curcas*). Bandung (ID):Institut Teknologi Bandung.

Suryono. 2009. Komposisi yang Terkandung dalam Ragi. Kanisius, Yogyakarta.

Udiharto M., 1989, Fenol sebagai pencemar dan biodegradasinya, *Proceeding Diskusi Ilmiah VI, Hasil Penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi (PPPTMGB), Lembaga Minyak dan Gas Bumi (LEMIGAS) Jakarta.*

Udiharto M, et al., 1995. Peran Bakteri dalam Degradasi Minyak dan Pemanfaatannya dalam Penanggulangan Minyak Buangan *Prosiding Diskusi Ilmiah VIII (PPPTMGB), Jakarta.*

Waluyo, 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*, Malang: UMM Press.