

**BIODEGRADASI FENOL OLEH *ACINETOBACTER* SP. IRC2
DAN *CUPRIAVIDUS* SP. IRC4**

**BIODEGRADATION OF PHENOL BY *ACINETOBACTER* SP. IRC2
AND *CUPRIAVIDUS* SP. IRC4**

Candra Yulius Tahya^{1*}, Wahyu Irawati², Friska Juliana Purba¹

¹Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

*Email: candra.tahya@uph.edu

Abstrak

Fenol adalah senyawa organik beracun yang berbahaya bagi manusia, mamalia, dan mengganggu lingkungan perairan terutama organisme air tingkat tinggi. Metode biodegradasi menggunakan mikroorganisme termasuk bakteri untuk mendegradasi bahan kimia berbahaya dan mendetoksifikasi air limbah adalah salah satu metode yang efektif dan efisien. *Acinetobacter* sp. IrC2 dan *Cupriavidus* sp. IrC4 telah diisolasi pada penelitian terdahulu dan pada penelitian ini diuji kemampuan tumbuh dalam medium yang mengandung fenol dan natrium salisilat konsentrasi tinggi dan kemudian diuji untuk biodegradasi fenol dalam medium minimal. *Acinetobacter* sp. IrC2 adalah bakteri Gram negatif. Bakteri ini sebagian besar menunjukkan morfologi *coccobacillary* pada agar nonselektif. Bakteri ini dapat mendegradasi fenol hingga 25,57% selama 48 jam inkubasi. *Acinetobacter* sp. IrC2 dapat tumbuh baik dalam medium LB 1% yang mengandung konsentrasi fenol hingga 1000 ppm atau konsentrasi natrium salisilat hingga 1200 ppm. *Acinetobacter* sp. IrC2 menunjukkan sedikit pertumbuhan dalam medium garam minimal dengan fenol 100 ppm sebagai sumber karbon tunggal dalam 24 jam inkubasi. *Cupriavidus* sp. IrC4 ini tidak dapat tumbuh dalam medium minimal yang mengandung konsentrasi fenol 100 ppm. Uji kemampuan tumbuh *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% yang mengandung fenol menunjukkan bahwa bakteri ini dapat tumbuh baik pada konsentrasi fenol 200 ppm – 1200 ppm. Pada konsentrasi fenol di atas 1200 ppm, bakteri ini menunjukkan penurunan pertumbuhan yang cukup signifikan. Uji kemampuan tumbuh *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% yang mengandung natrium salisilat menunjukkan bahwa bakteri ini dapat tumbuh baik pada konsentrasi natrium salisilat 200 ppm – 1800 ppm, dengan kecenderungan semakin tinggi konsentrasi natrium salisilat, maka pertumbuhan bakteri semakin menurun.

Kata Kunci : Biodegradasi, Fenol, Natrium Salisilat, *Acinetobacter*, *Cupriavidus*.

Abstract

Phenol is a toxic chemical to human, mammals, and it causes serious impact into water environments and could be deadly in high concentration to high-level aquatic organisms. Biodegradation method by using microorganisms such as bacteria to detoxify hazardous organic chemicals was an effective and efficient method. *Acinetobacter* sp. IrC2 and *Cupriavidus* sp. IrC4, were isolated on previous study, then be examined for grow ability in medium contain high-concentration phenol or sodium salicylic and determined phenol biodegradation percentage by *Acinetobacter* sp. IrC2 after incubation. *Acinetobacter* sp. IrC2 is Gram-negative with *coccobacillary* morphology on non-selective solid medium. This bacterium could degrade phenol in medium up to 25.57% for 48 hours incubation. *Acinetobacter* sp. IrC2 shows proper growth in 1% Luria Bertani

medium contained phenol 1000 ppm or sodium salicylic 1200 ppm. *Acinetobacter* sp. IrC2 shows slightly growth in minimum salt medium contain 100 ppm of phenol as sole carbon source after 24 hours incubation. *Cupriavidus* sp. IrC4 is unable to show growth in the minimum salt medium contains 100 ppm of phenol, but it can grow in 1% LB rich-nutrient medium contains 200 – 1200 ppm of phenol. When the concentration of phenol was raised above 1200 ppm, the bacteria could not grow. The growth ability was showed by *Cupriavidus* sp. IrC4 in 1% LB rich-nutrient medium contains 200 – 1800 ppm of sodium salicylic, but with tendency to decrease as the concentration increased.

Keyword : Biodegradation, Phenol, Sodium salicylic, *Acinetobacter*, *Cupriavidus*

PENDAHULUAN

Fenol adalah senyawa organik beracun yang berbahaya bagi manusia, mamalia, dan mengganggu lingkungan perairan terutama organisme air tawar tingkat tinggi (WHO, 1994) sebagai akibat dari perlakuan yang tidak tepat oleh berbagai limbah industri. Fenol bersifat toksik bagi manusia dan memengaruhi beberapa fungsi biokimia dan terdaftar sebagai polutan prioritas oleh EPA (Nair et al., 2008). Fenol digunakan dalam sintesis resin, minyak dan industri petrokimia, farmasi, dan pengolahan kulit (Haddadi & Shavandi, 2013). Perlakuan yang tidak tepat terhadap limbah fenol dari industri-industri tersebut sebelum dilepaskan ke lingkungan dapat menyebabkan tanah, air, dan air tanah menjadi sangat terkontaminasi (Haddadi & Shavandi, 2013). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan pengolahan limbah industri yang tepat untuk menghilangkan senyawa fenol.

Ada beberapa metode untuk mendegradasi fenol dari air limbah seperti adsorpsi, ekstraksi, elektrodialisis, dan ozonasi yang dikelompokkan sebagai metode fisikokimia (Haddadi & Shavandi, 2013), dan metode biodegradasi menggunakan mikroorganisme termasuk bakteri, ragi, jamur, dan alga untuk mendegradasi bahaya bahan kimia dan mendetoksifikasi air limbah (Rubeena & Preetha, 2018). Metode biodegradasi cocok untuk pengolahan air limbah volume besar karena biayanya lebih murah.

Degradasi aerobik dari jalur senyawa aromatik terdiri dari tiga langkah; pada langkah pertama, dua gugus hidroksil dimasukkan ke dalam cincin

aromatik dan dikatalisis oleh mono- atau dioksigenase untuk menghasilkan senyawa dehidroksi aromatik yang biasanya katekol (Tavakoli & Hamzah, 2017) adalah substrat untuk langkah selanjutnya dari katabolisme dengan pembelahan cincin melalui katekol 1,2-dioksigenase dan katekol 2,3-dioksigenase. Katekol dioksidasi oleh katekol 2,3-dioksigenase menjadi β -ketoadipat. β -ketoadipat ini selanjutnya dikonversi menjadi intermediat dari Siklus Krebs.

Katekol 2,3-dioksigenase adalah homotetramer dan telah terdeteksi dari banyak bakteri Gram-negatif (*Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*) dan bakteri Gram-positif (*Nocardia*, *Rhodococcus* dan *Bacillus*) (Olukunle et al., 2015), dan *Bacillus cereus* (Tahya et al., 2019).

Acinetobacter sp. IrC2 (Irawati et al., 2015) dan *Cupriavidus* sp. IrC4 (Irawati & Yuwono, 2015) adalah bakteri yang telah diketahui sebagai bakteri yang dapat berkembang dalam medium yang mengandung beberapa logam berat seperti tembaga, cadmium dan timbal. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Liu et al., (2016), diketahui bahwa bakteri dengan genus *Acinetobacter* juga dapat menguraikan senyawa fenolik.

Biodegradasi fenol dalam sistem *batch* menggunakan *Cupriavidus taiwanesis* 187 telah dipelajari secara eksperimental (Wei et al., 2010) yang mengusulkan metode baru untuk menentukan multiplisitas steady state dalam reaktor tangki berpengaduk kontinyu untuk mengidentifikasi kinetika yang paling tepat untuk

mengkarakterisasi dinamika biodegradasi senyawa fenolik.

Dalam Penelitian ini, bertujuan menguji kemampuan tumbuh *Acinetobacter* sp. IrC2 dan *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam media pertumbuhan yang mengandung fenol dan natrium salisilat, serta mengukur kemampuan biodegradasi fenol.

METODOLOGI

Bahan kimia, media dan bakteri.

Semua bahan kimia yang digunakan adalah reagen analitik (AR). Media garam minimal (MSM) dan media Luria-Bertani (LB) digunakan untuk penelitian ini. Media MSM cair mengandung KH_2PO_4 0,5 g; K_2HPO_4 0,5 g; CaCl_2 0,1 g; NaCl 0,2 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g per 1 L media. Untuk medium LB terdiri dari 10 g tripton, ekstrak ragi 5 gram, dan NaCl 5 g per 1 L media. Akua demineralisasi digunakan dalam penelitian ini. Konsentrasi senyawa fenolik dihitung dengan menggunakan reagen 4-aminoantipyrin secara kolorimetri. Bakteri yang digunakan adalah hasil isolasi dari penelitian sebelumnya.

Peremajaan bakteri dan uji pendahuluan kemampuan tumbuh

Bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium mikrobiologi Fakultas Pendidikan-Teachers Collge UPH diremajakan dengan menyebarkan strain dalam medium LB padat yang mengandung konsentrasi senyawa fenolik 50 mg/L. Koloni tunggal yang tumbuh dengan baik setelah inkubasi 24 jam dalam *shaker incubator* suhu 30 °C, selanjutnya akan dilakukan *enrichment* dengan dipindahkan ke medium LB cair yang mengandung fenol dan natrium salisilat 50 mg/L, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Diambil cuplikan sel bakteri untuk dilakukan pewarnaan Gram.

Kultur akan disimpan sebagai kultur stok dengan penambahan gliserol. Sebanyak 200 µL kultur bakteri cair

diinokulasikan ke setiap media 100 mL *Minimum salt Medium* (MSM) cair yang mengandung senyawa fenolik pada berbagai variasi konsentrasi.

Kultur bakteri kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 30°C pada kecepatan pengadukan 150 rpm. Kultur bakteri kemudian diuji dengan melihat *optical density* (OD) maksimum pada panjang gelombang 600 nm.

Kultur dengan nilai OD_{600} terbesar digunakan untuk penentuan kurva pertumbuhan dan penentuan konsentrasi fenol dalam medium menggunakan metode kolorimetri. Penentuan kondisi optimum degradasi fenol dan asam salisilat dilakukan dengan melihat pengaruh suhu dan pH pada proses biodegradasi fenol. Konsentrasi fenol dalam medium ditentukan secara kolorimetri.

Penentuan kemampuan biodegradasi fenol.

1. Pembuatan larutan:
 - a. Larutan larutan Buffer Amonia: timbang 1,69 g NH_4Cl , larutkan dalam 14,3 mL ammonia (p) kemudian encerkan dengan akuades hingga 50 mL.
 - b. Larutan kalium feri sianida: timbang 6 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ larutkan dalam 100 ml akuades.
 - c. Larutan 4-aminoantipyrin: Timbang 2 gram 4-aminoantipyrin, larutkan dalam 100 mL akuades.
 - d. Larutan stok standar Fenol: timbang 1 g fenol larutkan dalam 100 ml akuades.
 - e. Larutan MSM: Timbang KH_2PO_4 1 g; K_2HPO_4 1 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g; FeCl_3 0,08 g; CaCl_2 0,02 g; MgSO_4 0,41 g larutkan dalam 1 L akuades.
2. Tumbuhkan bakteri ke dalam medium LB 1% bervolum 10 mL dalam wadah sentrifuse steril dan aduk selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm. Sentrifuse tabung selama 10 menit kecepatan 4000 rpm. Buang supernatan, dan resuspensi dengan larutan MSM 4 mL. Sentrifuse lagi dan

buang supernatant. Ke dalam tabung ditambahkan 10 mL larutan MSM mengandung fenol atau Na-salisilat dengan variasi konsentrasi. Ukur OD₆₀₀ mula-mula. *Shaker* tabung selama 2 x 24 jam. Hasilnya kembali diukur OD₆₀₀.

3. Setelah inkubasi kultur bakteri disaring dengan microfilter diameter pori 0,45 µm. Ambil 7,7 mL filtrat, tambahkan 2 mL larutan buffer amonia dan 0,2 mL larutan 4-aminoantipirin, 0,1 mL larutan kalium feri sianida. Penambahan kalium feri sianida dilakukan dengan interval waktu 5 menit. Diamkan selama 20 menit. Ambil sebanyak 1 mL sampel, encerkan dengan faktor pengenceran 1,5 kali dan ukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 460 nm. Untuk larutan standar digunakan metode yang sama. Kontrol positif menggunakan fenol tanpa inokulasi bakteri.
4. Hasil analisis % biodegradasi fenol dihitung dengan menggunakan rumus:
% biodegradasi = (Abs kontrol – Abs sampel) / Abs kontrol x 100%.
Abs kontrol = Absorbansi pada 460 nm dari medium MSM kontrol mengandung fenol tanpa inokulasi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam.
Abs sampel = Absorbansi pada 460 nm dari medium MSM dengan fenol 100 ppm - 500 ppm yang inokulasi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan bakteri dalam medium LB 1% dan pewarnaan Gram bakteri

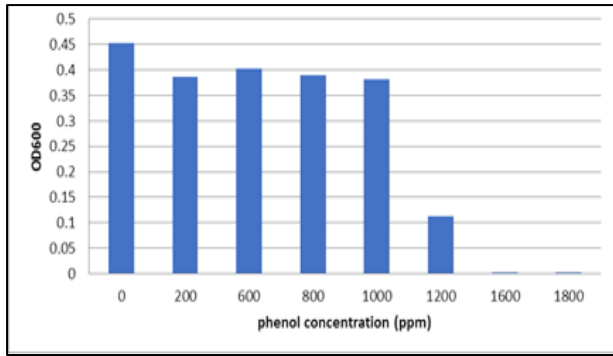
Ada 2 jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Acinetobacter* sp. IrC2, dan *Cupriavidus* sp. IrC4. Kedua bakteri ditumbuhkan dalam medium Luria Broth (LB) 1%

kemudian setiap koloni tunggal bakteri diambil untuk dilakukan uji pewarnaan Gram. Uji pewarnaan Gram menggunakan metode standar. Pembesaran 100x mikroskop cahaya dilakukan untuk melihat hasil pewarnaan Gram dan bentuk bakteri. Hasil ini menunjukkan bahwa *Acinetobacter* sp. adalah Gram negatif yang memiliki morfologi *coccobacillary* pada agar nonselektif. *Cupriavidus* sp. IrC4 adalah bakteri Gram negatif. Bakteri ini motil, berbentuk batang.

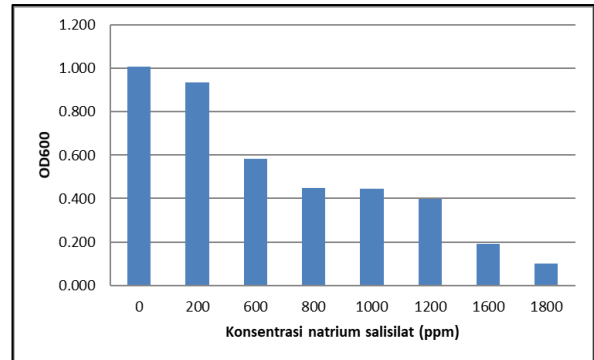
Kemampuan tumbuh bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium yang mengandung fenol dengan berbagai variasi konsentrasi.

Bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 ditumbuhkan dalam medium Luria Broth (LB) 1% padat. Kemudian koloni tunggal dari bakteri ini diinokulasikan ke dalam medium LB 1% cair yang mengandung konsentrasi fenol 200 ppm – 1800 ppm dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi optical density (OD) kultur bakteri diukur pada panjang gelombang 600 nm.

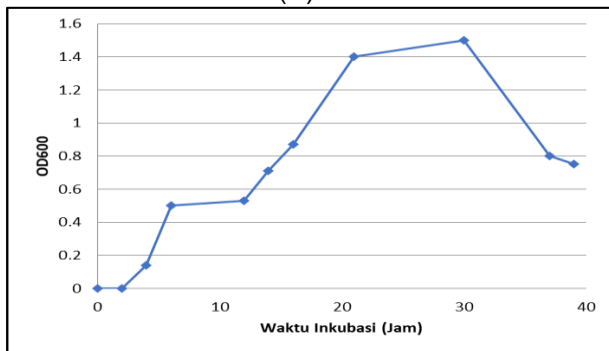
Hasilnya ditunjukkan dalam Gambar 1(A). Grafik kemampuan tumbuh *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium LB 1% ini menunjukkan bahwa bakteri ini dapat tumbuh baik pada konsentrasi fenol 200 ppm – 1000 ppm. Di atas konsentrasi fenol 1000 ppm, bakteri ini menunjukkan penurunan pertumbuhan yang cukup signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri ini bisa bertahan terhadap fenol hingga konsentrasi maksimal 1000 ppm. Berdasarkan hasil ini, maka dilakukan penentuan grafik pertumbuhan bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 pada medium LB 1% yang mengandung fenol 1000 ppm. Hasil kurva pertumbuhan selama 39 jam inkubasi ditunjukkan pada Gambar 1(B).



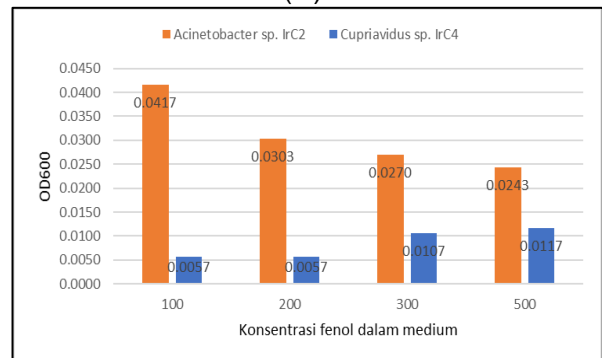
(A)



(C)

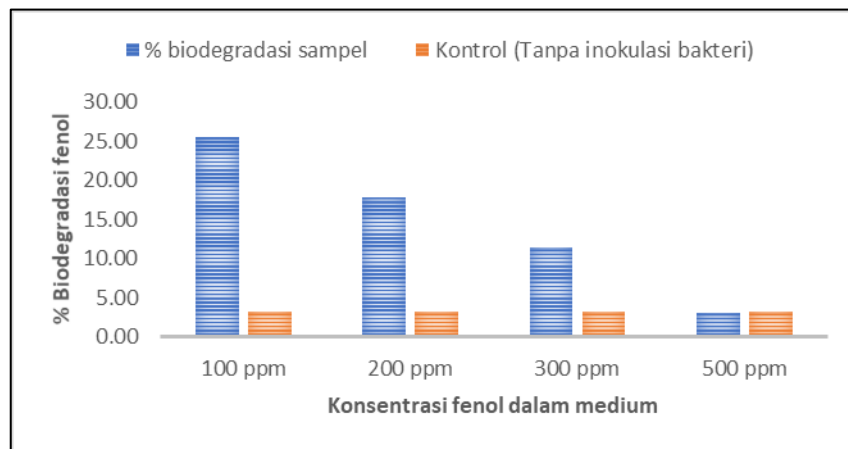


(B)

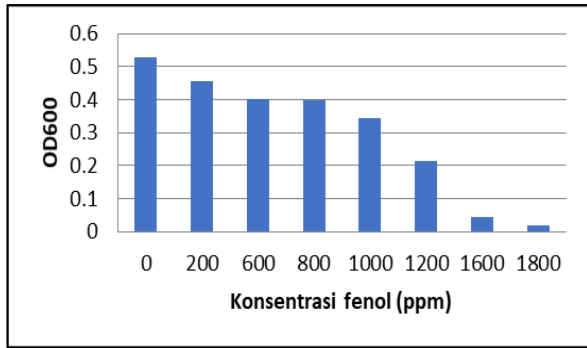


(D)

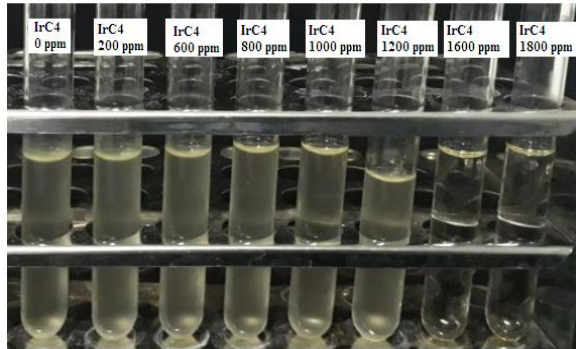
Gambar 1. (A) Kemampuan tumbuh *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium LB 1% cair yang mengandung berbagai variasi konsentrasi fenol. (B) Kurva Pertumbuhan *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam Media LB 1% mengandung Fenol 1000 ppm. (C) Grafik kemampuan tumbuh *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium LB 1% dengan variasi konsentrasi natrium salisilat. (D). Perbandingan Kemampuan tumbuh *Acinetobacter* sp. IrC2 dan *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium garam minimal.



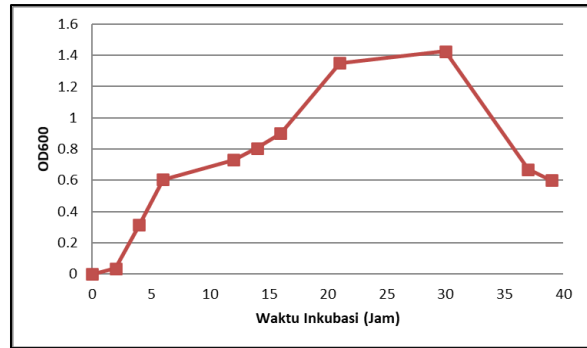
Gambar 2. Persentase (%) kemampuan biodegradasi fenol oleh *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium garam minimal setelah inkubasi 48 jam.



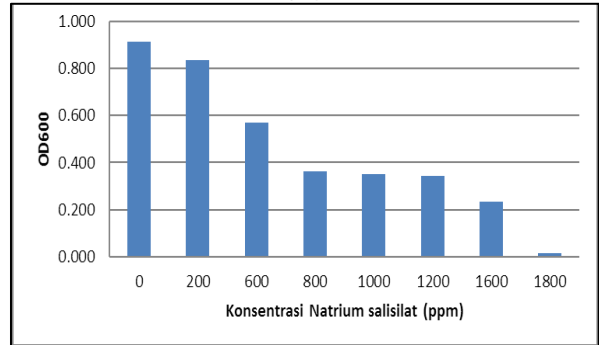
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 3. (A) Kemampuan tumbuh *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% cair yang mengandung berbagai variasi konsentrasi fenol. (B) Foto kondisi medium setelah inkubasi 24 jam. (C) Kurva Pertumbuhan *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam Media LB 1% mengandung Fenol 1000 ppm. (D) Kemampuan tumbuh *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% dengan variasi konsentrasi natrium salisilat.

Dilakukan juga uji kemampuan tumbuh bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 dalam medium LB 1% yang mengandung variasi konsentrasi natrium salisilat. Hasilnya ditunjukkan dalam Gambar 1(C). Hasil ini menunjukkan bahwa natrium salisilat memiliki toksisitas yang lebih rendah kepada *Acinetobacter* sp. IrC2 dibandingkan dengan fenol pada konsentrasi 200 – 1800 ppm. Hal ini dilihat dari perbandingan nilai OD₆₀₀ pada setiap konsentrasi natrium salisilat yang ditambahkan dibanding konsentrasi yang sama dari fenol.

Bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 ditumbuhkan dalam medium minimal yang mengandung garam-garam mineral dan fenol sebagai sumber karbon utama dalam medium. Konsentrasi fenol juga divariasikan yaitu dari 100 ppm – 500 ppm untuk melihat kemampuan tumbuh bakteri. Kultur bakteri diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi optical density (OD) kultur bakteri diukur pada

panjang gelombang 600 nm. Hasilnya ditunjukkan dalam Gambar 1(D).

Berdasarkan data kemampuan tumbuh bakteri ini (Gambar 1(D)) maka diukurlah konsentrasi fenol yang telah didegradasi menggunakan teknik spektrofotometri menggunakan reagen 4-aminoantipyrine. Penggunaan 4-aminoantipyrine untuk penentuan konsentrasi fenol. Sebagaimana diuraikan, bahan fenolik dicampur dengan 4-aminoantipyrine dikatalis zat pengoksidasi basa, seperti kalium ferisianida, di pH basa, membentuk pewarna kuinon merah. Reaksi Emerson banyak keuntungannya antara lain hasil cepat, mudah diatur, reagensinya stabil, dan penerapannya dapat dilakukan pada berbagai konsentrasi bahan fenolik. Gambar 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100 ppm fenol yang didegradasi oleh *Acinetobacter* sp. IrC2 adalah sebesar 25,57% setelah inkubasi selama 48 jam. Pada konsentrasi fenol

500 ppm, fenol bersifat toksis untuk bakteri maka tidak ada pertumbuhan yang baik sehingga tidak terjadi pegrusiaan fenol dalam medium.

Kemampuan tumbuh bakteri *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% mengandung fenol dengan berbagai variasi konsentrasi.

Bakteri *Cupriavidus* sp. IrC4 ditumbuhkan dalam medium Luria Broth (LB) 1% padat. Kemudian koloni tunggal dari bakteri ini diinokulasikan ke dalam medium LB 1% cair yang mengandung konsentrasi fenol 200 ppm – 1800 ppm dan diinkubasi selama 24 jam (Gambar 3(B)). Setelah 24 jam inkubasi optical density (OD) kultur bakteri diukur pada panjang gelombang 600 nm. Gambar 3(A) menunjukkan kemampuan tumbuh *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1%. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini dapat tumbuh baik pada konsentrasi fenol 200 ppm – 1200 ppm. Di atas konsentrasi fenol 1200 ppm, bakteri ini menunjukkan penurunan pertumbuhan yang cukup signifikan.

Selanjutnya dilakukan penentuan grafik pertumbuhan bakteri *Cupriavidus* sp. IrC4 pada medium LB 1% yang mengandung fenol 1000 ppm. Hasil kurva pertumbuhan selama 39 jam inkubasi ditunjukkan pada Gambar 3(C). Dilakukan juga uji kemampuan tumbuh bakteri *Cupriavidus* sp. IrC4 dalam medium LB 1% yang mengandung variasi konsentrasi natrium salisilat. Hasilnya ditunjukkan dalam Gambar 3(D) yakni bahwa natrium salisilat memiliki toksisitas yang lebih rendah pada *Cupriavidus* sp. IrC4 dibandingkan dengan fenol pada konsentrasi 1600 dan 1800 ppm. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan nilai OD_{600} pada setiap konsentrasi natrium salisilat yang ditambahkan dibanding konsentrasi yang sama dari fenol.

Bakteri *Cupriavidus* sp. IrC4 ini sulit tumbuh dalam medium garam minimal yang mengandung konsentrasi fenol 100 ppm – 500 ppm. Hal ini disimpulkan berdasarkan nilai OD_{600} yang

berada di bawah nilai 0,012 (Gambar 1(D)) yang lebih kecil jika dibandingkan dengan data OD_{600} pada kondisi yang sama pada bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2 sehingga tidak dilakukan penentuan konsentrasi fenol dalam medium.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. *Acinetobacter* sp. IrC2 adalah bakteri Gram negatif. Bakteri ini sebagian besar menunjukkan morfologi *coccobacillary* pada agar nonselektif. Bakteri ini dapat mendegradasi fenol hingga 25,57% selama 24 jam inkubasi.
2. *Acinetobacter* sp. IrC2 dapat tumbuh baik dalam medium LB 1% yang mengandung konsentrasi fenol hingga 1000 ppm dan konsentrasi natrium salisilat hingga 1200 ppm. Bakteri ini dapat tumbuh dalam medium minimal dengan fenol 100 ppm sebagai sumber karbon tunggal.
3. *Cupriavidus* sp. IrC4 adalah bakteri Gram negatif. Bakteri ini motil, berbentuk batang, dapat tumbuh baik pada konsentrasi fenol 200 ppm – 1200 ppm. Di atas konsentrasi fenol 1200 ppm, bakteri ini menunjukkan penurunan pertumbuhan yang cukup signifikan. *Cupriavidus* sp. IrC4 ini sulit tumbuh dalam medium minimal yang mengandung konsentrasi fenol 100 ppm – 500 ppm. Hal ini disimpulkan berdasarkan nilai OD_{600} yang berada di bawah nilai 0,012 yang lebih kecil jika dibandingkan dengan data OD_{600} pada kondisi yang sama pada bakteri *Acinetobacter* sp. IrC2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada UPH karena telah mendanai penelitian ini, nomor penelitian yang

diberikan oleh LPPM UPH adalah 211/LPPM-UPH/VI/2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Haddadi, A., & Shavandi, M. (2013). Biodegradation of phenol in hypersaline conditions by *Halomonas* sp. strain PH2-2 isolated from saline soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.06.005>
- Irawati, W., Jan, A., Parhusip, N., & Sopiah, R. N. (2015). Heavy Metals Biosorption by Copper Resistant Bacteria of. *Microbiology Indonesia*, 9(4). <https://doi.org/10.5454/mi.9.4.4>
- Irawati, W., & Yuwono, T. (2015). The potency of copper-resistant bacteria. *The 3rd International Conference on Biological Science 2013*, 2, 375–381.
- Liu, Z., Xie, W., Li, D., Peng, Y., Li, Z., & Liu, S. (2016). Biodegradation of Phenol by Bacteria Strain *Acinetobacter Calcoaceticus* PA Isolated from Phenolic Wastewater. <https://doi.org/10.3390/ijerph13030300>
- Nair, C. I., Jayachandran, K., & Shashidhar, S. (2008). Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*, 7(25), 4951–4958. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5897/AJB08.087>
- Olukunle, O. F., Babajide, O., & Boboye, B. (2015). Effects of Temperature and pH on the Activities of Catechol 2,3-dioxygenase Obtained from Crude Oil Contaminated Soil in Ilaje, Ondo State, Nigeria. *The Open Microbiology Journal*, 9, 84–90. <https://doi.org/10.2174/1874285801509010084>
- Rubeena, S., & Preetha, B. (2018). Biodegradation of Phenol : A Review. 8(6), 51–55. <https://doi.org/10.9790/9622-0806015155>
- Tahya, C. Y., Irawati, W., & Purba, F. J. (2019). Phenol Biodegradation and Catechol 2,3-Dioxygenase Gene Sequencing of *Bacillus cereus* IrC2 isolated from Rungkut Indonesia. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 21(1), 23–30. <https://doi.org/10.14203/jkti.v21i1.415>
- Tavakoli, A., & Hamzah, A. (2017). Characterization and evaluation of catechol oxygenases by twelve bacteria, isolated from oil contaminated soils in Malaysia. *Biological Journal of Microorganism 5 Th Year*, 5(20), 71–80.
- Wei, Y. H., Chen, W. C., Chang, S. M., & Chen, B. Y. (2010). Exploring kinetics of phenol biodegradation by *Cupriavidus taiwanensis* 187. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(12), 5065–5076. <https://doi.org/10.3390/ijms11125065>
- WHO. (1994). Phenol Health and Safety Guide. *International Programme on Chemical Safety (IPCS)*, 36. <https://doi.org/10.1108/f.2001.06919gab.002>