

Degradasi Senyawa Fenol Oleh Bakteri Yang Diisolasi dari Area Pertambangan Minyak Bumi

(Phenol Degradation by Bacteria Isolated from Oil-Mining Site)

JOKO PRAYITNO¹ dan NIDA SOPIAH²

¹Pusat Teknologi Lingkungan, BPPT, Gedung 820 Teknologi Kebumian Kawasan Puspiptek Tangerang Selatan.

²Balai Teknologi Pengolahan Air Limbah, BPPT, Gedung 820 Teknologi Kebumian Kawasan Puspiptek Tangerang Selatan.
Telp. : +6221 75791377/79/81 ext. 4126. Email: joko.prayitno@bppt.go.id

ABSTRACT

The aim of this research was to study the effectiveness of local bacterial strains from oil-contaminated soil to degrade phenol. The study consisted of two experiments, using six individual strains and using mix of strains. Bacterial strains used in the first experiment were 1.3, 3.3 dan 8.2.1 (Bacillus sp.), strain 3.2 (Propionibacterium), strain 3.4 (Pseudomonas sp.), and strain 8.1.2 (Enterobacter sp.). Bacterial strains used in the second experiment were mix of all six strains (K6) and mix of three strains (K3) consisted of strain 3.4, 8.1.2 and 8.2.1 with the same ratio. The experiments were conducted in 100 mL Bushnell and Haas medium containing 300-400 ppm phenol for three days. Three strains (strain 3.4, 8.1.2, dan 8.2.1) had the highest phenol removal efficiency at day 3, i.e. 99-100%. COD values were decreased to 345-393 mg/L or 56-61.3% by those three strains. Mix culture K6 effectively removed phenol from the medium at day 3, but COD value decreased to only 56.7%. The fate of COD decrease was not the same as phenol removal by these strains (either in individual or mix cultures), indicating that phenol was degraded into intermediate compounds.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas bakteri lokal yang diisolasi dari tanah tercemar minyak dalam mendegradasi senyawa fenol. Percobaan terdiri dari dua bagian, yaitu percobaan dengan menggunakan enam kultur tunggal dan dua kultur campuran. Strain bakteri yang diuji dalam percobaan kultur tunggal adalah strain 1.3, 3.3 dan 8.2.1 (Bacillus sp.), strain 3.2 (Propionibacterium), strain 3.4 (Pseudomonas sp.), dan strain 8.1.2 (Enterobacter sp.). Sedangkan kultur campuran terdiri dari campuran keenam strain tunggal (K6) dan campuran tiga strain (K3) yaitu strain 3.4, 8.1.2 dan 8.2.1 dengan perbandingan sama. Percobaan dilakukan selama 3 hari dalam 100 mL media Bushnell dan Haas yang berisi 300-400 ppm fenol. Hasil percobaan kultur tunggal menunjukkan bahwa tiga strain (strain 3.4, 8.1.2, dan 8.2.1) menunjukkan efektivitas penghilangan senyawa fenol tertinggi yaitu sebesar 99-100% pada hari ke-3. Sedangkan nilai COD pada ketiga strain tersebut turun menjadi 345-393 mg/L atau 56-61,3%. Hasil percobaan kultur campuran menunjukkan bahwa K6 efektif menghilangkan fenol pada hari ke-3, namun COD hanya turun sebesar 56,7 %. Penurunan konsentrasi fenol hingga 100% tersebut tidak diikuti dengan penurunan nilai COD yang sama karena fenol dirubah menjadi senyawa-senyawa intermediet.

Kata Kunci: fenol, biodegradasi, bioremediasi, bakteri pendegradasi

1. PENDAHULUAN

Fenol ataupun senyawa yang mengandung fenol dikenal sebagai senyawa kimia yang banyak dipakai dalam proses industri. Fenol digunakan sebagai komponen pewarna, polimer, obat-obatan, pestisida, dan senyawa organik lainnya⁽¹⁾. Salah satu jenis fenol, yaitu cresol, merupakan produk samping dari distilasi minyak mentah dan gasifikasi batubara. Senyawa fenol banyak ditemukan pada air limbah kilang minyak, industri pulp dan kertas, prosesing batubara dan industri kimia. Konsentrasi fenol di limbah cair berkisar antara 6 – 500 mg/L di industri kilang minyak dan 3 – 1220 mg/L di industri petrokimia⁽²⁾.

Fenol memiliki efek negatif bagi lingkungan terutama ekosistem perairan, sumberdaya air dan kesehatan manusia^(1,3) karena bersifat toksik dan karsinogen. Fenol juga

diketahui mencemari sumber air tanah karena sifatnya mudah larut dalam air⁽⁴⁾. Karena itu, penghilangan fenol dari limbah cair dan sumber air tanah menjadi salah satu perhatian utama.

Senyawa fenol dapat didegradasi menjadi senyawa tidak berbahaya oleh mikroorganisme dalam kondisi aerobik maupun anaerobik. Metode penghilangan senyawa fenol dengan cara biologis ini banyak digunakan terutama dalam lumpur aktif maupun dalam reaktor anaerobik⁽⁵⁾. Namun penghilangan fenol dengan metode biologis yang efektif masih mengalami hambatan. Senyawa fenol pada konsentrasi 0.05% sudah bersifat toksik sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme⁽⁶⁾. Karena itu fluktuasi dari beban pencemar sering menjadi penyebab penurunan efisiensi penghilangan senyawa fenol.

Salah satu cara untuk meningkatkan efisiensi penghilangan senyawa fenol adalah dengan menggunakan strain mikroorganisme yang sudah diuji. Strain ini umumnya diisolasi dari air atau tanah yang tercemar fenol. Beberapa jenis bakteri diketahui dapat tumbuh dan menggunakan fenol sebagai sumber karbon dan energi⁽⁷⁾. Strain bakteri yang dilaporkan dapat mendegradasi senyawa fenol antara lain adalah *Alcaligenes*⁽⁸⁾, *Arthrobacter*⁽⁹⁾, *Bacillus*⁽¹⁰⁾ dan *Pseudomonas*^(11,12,13). Annaduari et al.⁽¹⁴⁾ melaporkan bahwa *Pseudomonas putida* dapat mendegradasi sebanyak 85% dari 500 mg fenol/L. Penelitian lain melaporkan bahwa strain *P. putida* dapat mendegradasi fenol pada konsentrasi yang tinggi yaitu 1000 mg/L dalam waktu sekitar 260 jam. Meskipun penelitian tentang penggunaan mikroba pendegradasi fenol telah banyak dilakukan, namun penelitian tentang degradasi fenol menggunakan strain lokal dari tanah atau air tercemar di Indonesia masih sedikit. Keuntungan menggunakan mikroorganisme lokal diantaranya adalah mikroorganisme tersebut sudah beradaptasi dengan lingkungan setempat sehingga efisiensi penghilangan dapat ditingkatkan.

Tujuan dari penelitian ini adalah menguji efektifitas penghilangan senyawa fenol oleh strain bakteri yang diisolasi dari tanah tercemar minyak di Riau. Selain dilakukan percobaan penghilangan fenol dengan kultur tunggal, juga dilakukan percobaan dengan kultur campuran.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bakteri yang Digunakan

Bakteri yang digunakan dalam percobaan ini adalah bakteri dari genus *Bacillus* (strain 1.3, 3.3 dan 8.2.1), *Propionibacterium* (strain 3.2), *Pseudomonas* (strain 3.4), dan *Enterobacter* (strain 8.1.2) yang berasal dari tanah tercemar minyak di area pertambangan minyak BOB PT Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu, Kabupaten Siak, Riau (Tabel 1). Strain-strain tersebut diidentifikasi sesuai dengan sifat morfologi sel dan karakteristik biokimia berdasarkan klasifikasi Bergey's Manual.

2.2. Media Tumbuh dan Larutan Fenol

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah media Nutrient Agar (NA) dengan komposisi per liter adalah sebagai berikut : *meat extract* 3 g, pepton 5 g, NaCl 0.5 g, dan agar 15 g⁽¹⁵⁾. Selain itu digunakan media Nutrient Broth (NB) yaitu media NA tanpa agar. Media yang digunakan dalam percobaan degradasi senyawa fenol ini adalah media Bushnell and Haas (BH) dengan komposisi per liter adalah MgSO₄·7H₂O 0.41 g, KH₂PO₄ 1 g, K₂HPO₄ 1 g, FeCl₃·6H₂O 0.08 g, CaCl 0.02 g, dan NH₄NO₃ 1 g⁽¹⁶⁾.

Senyawa fenol yang digunakan dalam percobaan ini adalah fenol sintetik dengan konsentrasi 300 dan 400 ppm yang dilarutkan dalam air dan disaring dengan menggunakan syringe filter diameter pori 0.4 µm.

Strain	Genus	Karakteristik utama
1.3	<i>Bacillus</i> sp.	Gram +, batang, spora
3.2	<i>Propionibacterium</i> sp.	Gram +, batang
3.3	<i>Bacillus</i> sp.	Gram +, batang, spora
3.4	<i>Pseudomonas</i> sp.	Gram -, batang
8.1.2	<i>Enterobacter</i> sp.	Gram -, batang
8.2.1	<i>Bacillus</i> sp.	Gram +, batang, spora

2.3. Metode Percobaan

Percobaan ini terdiri dari dua bagian, yaitu percobaan penghilangan senyawa fenol dengan strain tunggal (kultur tunggal) dan percobaan penghilangan senyawa fenol dengan menggunakan campuran dari strain-strain tunggal (kultur campuran). Dalam percobaan kultur tunggal digunakan enam strain seperti yang tercantum pada Tabel 1. Kultur campuran yang dicoba ada dua, yaitu kultur campuran K6 yang terdiri dari campuran keenam strain tunggal dengan perbandingan sama, dan kultur campuran K3 yang merupakan campuran dari strain *Pseudomonas*, *Enterobacter* dan *Bacillus* (strain 3.4, 8.1.2 dan 8.2.1) dengan perbandingan sama. Sebagai kontrol digunakan kultur tanpa pemberian bakteri (K0) dan kultur tunggal strain 3.4.

Bakteri yang digunakan terlebih dahulu ditumbuhkan dalam media NA pada suhu 28°C selama 2 hari. Setelah itu bakteri ditumbuhkan dalam media NB dan dikocok pada kecepatan 180 rpm selama 24 jam. Kultur bakteri kemudian disentrifuse selama 10 menit dan pelet yang diperoleh disuspensikan dalam larutan BH. Nilai *optical density* (OD) dari suspensi bakteri diukur dengan spektrofotometer pada λ = 600 nm.

Percobaan degradasi senyawa fenol oleh kultur tunggal dilakukan dengan mengkulturkan suspensi bakteri dalam 100 mL media BH. Larutan fenol dengan konsentrasi akhir 400 ppm ditambahkan ke dalam media BH sebelum percobaan dimulai. Nilai kerapatan sel (OD) dari kultur pada awal percobaan ditentukan sebesar 0.01. Kultur bakteri diinkubasi di atas shaker pada suhu 28°C selama 3 hari. Nilai OD, *chemical oxygen demand* (COD) dan konsentrasi fenol diukur setiap hari setelah sampel kultur disaring dengan filter berukuran 0.4 µL. Tahapan percobaan untuk kultur campuran sama dengan tahapan percobaan pada kultur tunggal, dengan nilai OD awal sebesar 0.1.

Percobaan disusun dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor perlakuan. Masing-masing perlakuan memiliki dua ulangan.

Nilai COD ditetapkan berdasarkan metode pada rentang nilai 100-900 mg/L pada panjang gelombang 600 nm. Untuk pengukuran nilai COD, sampel yang digunakan sebanyak 1 ml ditambah dengan 2 ml reagen. Sebagai larutan blanko digunakan air 1 ml + reagen 2 ml. Untuk melihat tingkat penurunan nilai COD dari awal hingga akhir percobaan, maka digunakan perhitungan efisiensi (%) dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Efisiensi penurunan COD (\%)} = \frac{\text{COD}_{\text{awal}} - \text{COD}_{\text{akhir}}}{\text{COD}_{\text{awal}}} \times 100\%$$

Tabel 1. Strain bakteri yang digunakan dalam percobaan

Konsentrasi fenol dalam kultur ditetapkan dengan HPLC menggunakan pelarut 70% metanol (v/v). Sebelum diinjeksikan ke HPLC, sampel difilter terlebih dahulu dengan kertas saring 0.2 μm . Efisiensi penurunan fenol selama percobaan berlangsung ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut:

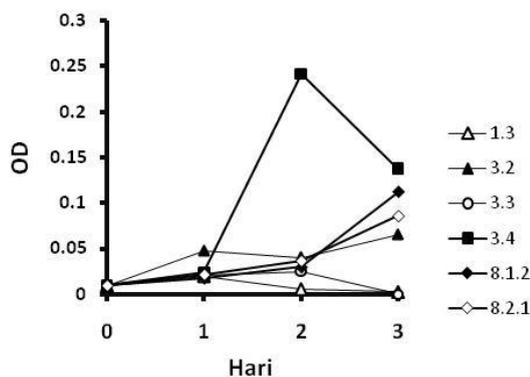
$$\text{Efisiensi penurunan Fenol (\%)} = \frac{[\text{Fenol}]_{\text{awal}} - [\text{Fenol}]_{\text{akhir}}}{[\text{Fenol}]_{\text{awal}}} \times 100\%$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

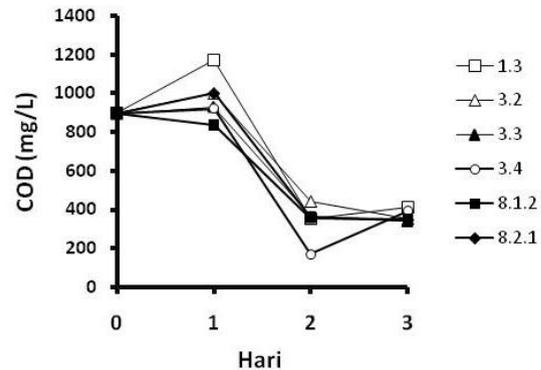
3.1. Percobaan Kultur Tunggal

Untuk mengetahui tingkat pertumbuhan dari masing-masing strain dalam larutan media berisi 400 ppm fenol, maka perubahan populasi bakteri diamati selama percobaan. Nilai OD dari kultur empat strain yaitu strain 1.3 (*Bacillus* sp.), 3.2 (*Propionibacterium* sp.), 3.4 (*Pseudomonas* sp.) dan 8.2.1 (*Bacillus* sp.) mengalami peningkatan di hari akhir percobaan yaitu di hari ketiga (Gambar 1). Dua diantaranya yaitu strain 3.4 dan 8.1.2 mengalami peningkatan nilai OD hingga sekitar 10 kali dari nilai awal. Nilai OD tertinggi dijumpai pada strain 3.4 yaitu sebesar 0.24 pada hari ke-2. Dari hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa pertumbuhan strain 3.4 (*Pseudomonas* sp.) adalah yang terbaik diantara keenam strain yang diuji.

Pengukuran nilai COD dilakukan sebagai salah satu parameter analisis penelitian. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa penurunan nilai COD pada hampir semua kultur tunggal menunjukkan pola yang sama. Nilai COD larutan kultur meningkat dari 896 mg/L pada awal percobaan (hari ke-0) menjadi 920-1000 mg/L pada hari ke-1, kecuali pada kultur strain 8.1.2 (*Enterobacter* sp.) yang sedikit turun menjadi 834 mg/L. Kenaikan ini diduga karena sel-sel bakteri mengeluarkan senyawa metabolit untuk mendegradasi senyawa fenol atau sebagai respon dari kondisi toksik fenol⁽¹⁷⁾. Nilai COD kemudian menurun drastis pada hari ke-2 menjadi 170-440 mg/L. Nilai COD terendah pada hari ke-2 dijumpai pada perlakuan kultur tunggal strain 3.4. Pada hari ke-3 nilai COD sebagian besar kultur tidak berubah, kecuali pada kultur 3.4 yang naik menjadi 393 mg/L.

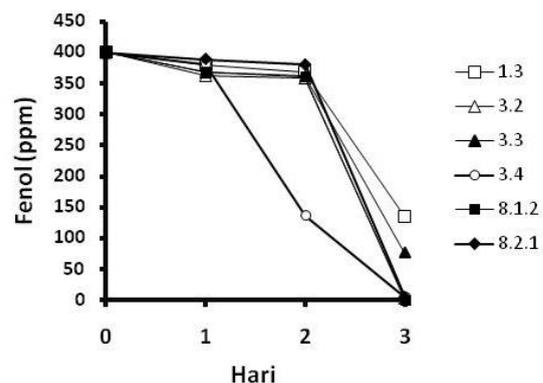


Gambar 1. Pertumbuhan strain yang diuji dalam media BH berisi fenol 400 ppm.



Gambar 2. Nilai COD dari media kultur tunggal berisi fenol 400 ppm.

Pengukuran konsentrasi fenol menggunakan HPLC menunjukkan bahwa hingga hari ke-2, sebagian besar fenol masih belum terdegradasi pada hampir semua perlakuan (Gambar 3). Pada hari ke-2, penurunan konsentrasi fenol tertinggi terlihat pada perlakuan strain 3.4, yang turun hingga 66%. Pada hari ke-3, sebagian besar fenol sudah terdegradasi pada semua perlakuan. Bila dikaitkan dengan pertumbuhan sel, maka penurunan konsentrasi fenol pada strain 3.4 di hari ke-2 berkaitan dengan peningkatan pertumbuhan bakteri ini pada hari yang sama. Penurunan fenol pada hari ke-2 oleh strain 3.4 juga terkait dengan penurunan COD pada hari yang sama. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada percobaan kultur tunggal ini, maka strain 3.4 dipilih sebagai pembanding untuk penelitian penghilangan fenol oleh kultur campuran.

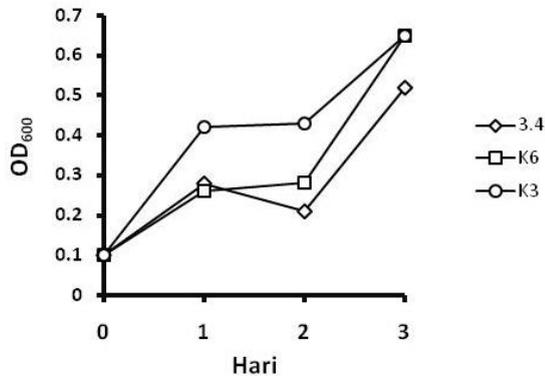


Gambar 3. Penghilangan fenol dari media oleh strain-strain yang diuji.

3.2. Percobaan Kultur Campuran

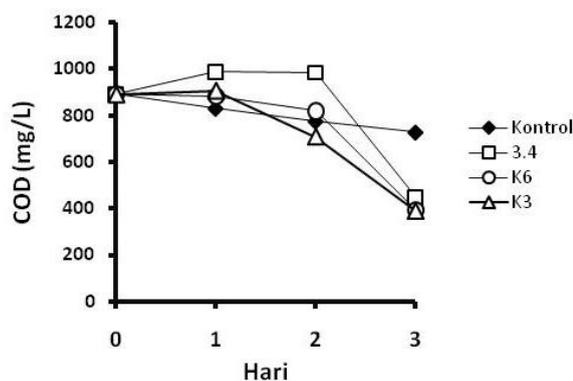
Pada percobaan ini, kultur ditumbuhkan dalam media BH berisi 300 ppm fenol. Kultur campuran yang berisi enam strain tunggal (K6), tiga strain tunggal (K3, *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. dan *Bacillus* sp.) dan kultur tunggal strain 3.4

(*Pseudomonas* sp.) seluruhnya menunjukkan peningkatan pertumbuhan hingga hari ke-3 (Gambar 4). Nilai OD meningkat dari 0.1 pada awal percobaan menjadi 0.65 pada hari ke-3 untuk kedua kultur campuran, dan 0.52 untuk kultur strain 3.4.



Gambar 4. Pertumbuhan kultur campuran yang diuji dalam media BH berisi fenol 300 ppm.

Nilai COD pada semua perlakuan menunjukkan penurunan pada hari ke-3 dibandingkan dengan awal percobaan sebesar 900 mg/L (Gambar 5). Namun penurunan nilai COD pada kultur tunggal 3.4, dan kultur campuran K6 dan K3 lebih besar dibandingkan dengan pada kontrol di hari ke-3. Nilai COD pada hari ke-3 untuk perlakuan kultur campuran berkisar antara 390-450 mg/L. Efisiensi penurunan COD dari media kultur hingga hari ke-3 untuk perlakuan kultur tunggal 3.4, kultur campuran K6 dan K3 berkisar antara 50,0-56,7%, sedangkan efisiensi penurunan COD pada perlakuan kontrol adalah sebesar 19% (Tabel 2).



Gambar 5. Nilai COD dari media kultur campuran yang diuji dalam media BH berisi fenol 300 ppm.

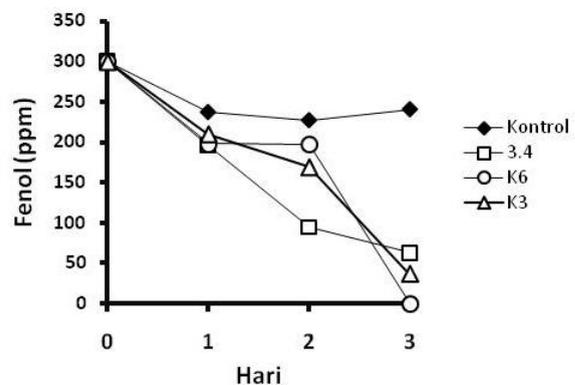
Konsentrasi fenol pada semua perlakuan menunjukkan penurunan di hari ke-3 (Gambar 6). Sama halnya dengan penurunan nilai COD, penurunan konsentrasi fenol lebih besar dijumpai pada perlakuan kultur tunggal dan kultur campuran dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi fenol pada perlakuan kultur tunggal maupun kultur campuran pada hari ke-3 berkisar antara 0-63 ppm, sedangkan konsentrasi fenol pada perlakuan kontrol (tanpa penambahan bakteri)

pada hari ke-3 adalah sebesar 240 mg/L, atau turun sebesar 19% dari konsentrasi 300 ppm pada awal percobaan (hari ke-0). Efisiensi penghilangan fenol pada kultur tunggal, kultur campuran K6 dan K3 di hari ke-3 masing-masing adalah sebesar 79%, 100% dan 88% (Tabel 2). Fenol dalam kultur campuran K6 sudah tidak terdeteksi pada hari ke-3.

Tabel 2. Efisiensi penghilangan COD dan fenol pada hari ke-3.

Kultur campuran	COD (%)	Fenol (%)
Kontrol	19.0	19.8
3.4	50.0	79.0
K6	56.7	100.0
K3	56.3	87.8

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa persentase penurunan COD dalam larutan pada perlakuan kontrol di hari ke-3 hampir sama dengan persentase penghilangan fenol, yaitu 19,0% dan 19,8%. Efisiensi penghilangan fenol oleh kultur tunggal maupun kultur campuran dengan kisaran 87,8-100% jauh lebih tinggi dibandingkan dengan efisiensi penurunan COD dengan kisaran 50-56,7%. Meskipun phenol sudah tidak terdeteksi pada hari ke-3 pada perlakuan K6, namun penurunan nilai COD masih mendekati 57%.



Gambar 6. Penghilangan fenol dari media oleh kultur campuran

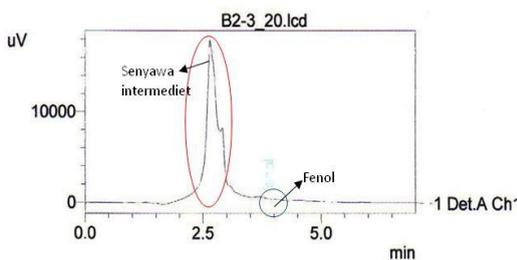
3.3. Pembahasan

Dari hasil percobaan ini dapat dilihat bahwa bakteri yang diisolasi dari tanah tercemar minyak bumi dapat tumbuh pada media yang mengandung 300-400 ppm fenol. Konsentrasi fenol ini dipilih karena berada di atas konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun belum bersifat lethal⁽¹⁸⁾. Aruoja et al. (2011) melaporkan bahwa fenol menghambat pertumbuhan (EC₅₀) bakteri *Vibrio fischeri* dan mikroalga *Pseudokirchneriella subcapitata* pada konsentrasi di atas 100 mg/L sehingga dikategorikan sebagai senyawa tidak berbahaya (*not harmful*) berdasarkan klasifikasi dari Uni Eropa⁽¹⁸⁾.

Penurunan nilai COD pada kultur K6 pada hari ke-3 mencapai 56.7% atau sebesar 390 mg/L. Nilai ini masih berada di atas baku mutu yang ditentukan oleh Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 04 Tahun 2007, tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Usaha dan/atau Kegiatan Eksplorasi dan Produksi Migas, yaitu sebesar 200 mg/l. Meskipun nilai COD masih di atas baku mutu, fenol sudah tidak terdeteksi dalam medium kultur campuran K6 pada hari ke-3. Hal ini juga sesuai dengan percobaan oleh Martani et al.⁽¹⁹⁾ yang menyatakan bahwa degradasi fenol secara sempurna tidak selalu diikuti oleh penurunan COD. Nilai COD yang masih tinggi tersebut disebabkan karena fenol tidak sepenuhnya dimineralisasi menjadi gas CO₂, melainkan diubah menjadi senyawa intermediet (antara) sebelum atau setelah struktur cincin fenol dibuka.

Proses degradasi senyawa fenol menjadi gas CO₂ terdiri dari beberapa tahap yang menghasilkan senyawa intermediet^(20,21). Senyawa-senyawa intermediet tersebut diantaranya adalah catechol, 4-hidroksibenzoat, hingga dihasilkan senyawa piruvat⁽²¹⁾. Dalam penelitian ini, senyawa-senyawa intermediet tersebut dapat dilihat pada hasil kromatogram HPLC, dimana masih terdapat beberapa puncak (*peak*) pada sampel yang berumur tiga hari (Gambar 7), meskipun senyawa-senyawa intermediet tersebut tidak diidentifikasi.

Kultur campuran K6 memiliki efektifitas penghilangan fenol yang paling tinggi dibandingkan dengan strain tunggal 3.4 atau K3. Hal ini mengindikasikan bahwa degradasi fenol lebih efektif bila digunakan konsorsium dengan komponen jenis bakteri yang lebih banyak. Telah lama diketahui bahwa jenis bakteri yang berbeda memiliki proses degradasi senyawa fenol yang berbeda pula karena perbedaan enzim yang dimiliki⁽²¹⁾.



Gambar 7. Hasil kromatogram kultur K6 pada hari ke-3.

Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa kultur tunggal dari strain yang diuji dapat menghilangkan senyawa fenol dalam kultur dengan efektif pada hari ke-3. Hal ini juga ditemukan pada kultur campuran K6.

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa efektifitas degradasi fenol dari kultur bakteri M4 adalah sebesar 98.62% dari 12.53 mg/l dalam waktu 24 jam⁽²²⁾, dan 30% dari 0.5 mg/l selama 6 jam pada degradasi fenol oleh jamur *Candida tropicalis*⁽²³⁾. Persentase penurunan fenol dari kultur campuran K6 dan K3 maupun kultur tunggal 3.4 dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan kedua hasil penelitian terdahulu^(22,23), namun kedua penelitian tersebut menggunakan konsentrasi fenol yang rendah. Sehingga,

konsentrasi fenol awal mempengaruhi efektifitas penurunan fenol dari percobaan yang dilakukan.

Kemampuan degradasi senyawa fenol ini merupakan tahap awal untuk pengujian efektifitas strain yang dicoba dalam aplikasi penghilangan senyawa fenol dari limbah cair. Limbah cair yang dihasilkan dari industri minyak mengandung berbagai jenis senyawa fenol yang lebih toksik dan lebih resisten terhadap degradasi mikroorganisme karena struktur kimia yang lebih kompleks. Karena itu, strain-strain yang diperoleh ini akan diuji lebih lanjut dengan senyawa-senyawa fenol yang lebih kompleks.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kultur tunggal dari genus *Bacillus* (strain 8.2.1), *Propionibacterium* (strain 3.2), *Pseudomonas* (strain 3.4), dan *Enterobacter* (strain 8.1.2) dapat menurunkan konsentrasi senyawa fenol dengan efisiensi penurunan berkisar pada nilai 80-100% dari 300-400 ppm.
2. Efektivitas kultur campuran dalam mendegradasi senyawa fenol sama dengan efektifitas strain tunggal. Dalam hal ini, strain tunggal yang digunakan sebagai pembandingan adalah strain 3.4.

DAFTAR PUSTAKA

1. Michałowicz, J. and Duda, W. (2007). Phenols—sources and toxicity. *Pol. J. Environ. Stud.* 16:347–362.
2. Levén, L., Nyberg, K., and Schnürer, A. (2012). Conversion of phenols during anaerobic digestion of organic solid waste - A review of important microorganisms and impact of temperature. *J. Environ. Manage.* 95:99-103.
3. Park, J.S., Brown, M.T. and Han, T. (2012). Phenol toxicity to the aquatic macrophyte *Lemna paucicostata*. *Aquatic Toxicology.* 106: 182-188.
4. Filali-Meknassi, Y., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., Barata, C. and Riva, M.C. (2004). Endocrine-disrupting compounds in wastewater, sludge-treatment processes, and receiving waters: Overview. *Practice Periodical Hazard. Toxic. Radioactive Waste Manage.* 8:39-56.
5. Chan, Y.J., Chong, M.F., Law, C.L. and Hassell, D.G. (2009). A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chem. Eng. J.* 155:1-18.
6. Kahru, A., Maloverjan, A., Sillak, H., and Põllumaa, L. (2002). The toxicity and fate of phenolic pollutants in the contaminated soils associated with the oil-shale industry. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 9:27-33.
7. Basha, K.M., Rajendran, A. and Thangavelu, V. (2010). Recent advances in the biodegradation of phenol: A review. *Asian J Exp Biol Sci.* 1:219-234.
8. Jiang, Y., Wen, J., Bai, J., Jia, X. and Hu, Z. (2007). Biodegradation of phenol at high initial concentration by *Alcaligenes faecalis*. *J. Hazard. Materials.* 147:672-676.

9. Karigar, C., Mahesh, A., Nagenahalli, M. and Yun, D.J. (2006). Phenol degradation by immobilized cells of *Arthrobacter citreus*. *Biodegradation*, 17:47-55.
10. Arutchelvan, V., Kanakasabai, V., Elangovan, R., Nagarajan, S. and Muralikrishnan, V. (2006). Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis*. *J. Hazard. Materials*, 129:216-222.
11. Kotresha, D. and Vidyasagar, G.M. (2008). Strain and characterisation of phenol-degrading *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 4996. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24:541-547.
12. Bandyopadhyay, K., Das, D. and Maiti, B.R. (1998). Kinetics of phenol degradation using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Bioprocess Eng.* 18:373-377.
13. Song, H., Liu, Y., Xu, W., Zeng, G., Aibibu, N., Xu, L. and Chen, B. (2009). Simultaneous Cr (VI) reduction and phenol degradation in pure cultures of *Pseudomonas aeruginosa* CC7CCAB91095. *Bioresour. Technol.* 100:5079-5084.
14. Annadurai, G., Juang, R.S. and Lee, D.J., (2002). Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of *Pseudomonas putida* and activated sludge. *Waste Management*, 22:703-710.
15. Cappuccino J.G., dan N. Sherman. (2005). *Microbiology, A Laboratory Manual 7th Edition*. Pearson-Benjamin Cunningham Publ. 528 hlm.
16. Bushnell, L.D. dan H.F. Haas. (1940). The utilization of hydrocarbons by microorganisms. *J. Bacteriol.* 41:653-673.
17. Krastanov, A., Alexieva, Z., and Yemendzhiev, H. (2013). Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives. *Eng. Life Sci.* 13:76-87.
18. Aruoja, V., Sihtmäe, M., Dubourguier, H. C., and Kahru, A. (2011). Toxicity of 58 substituted anilines and phenols to algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and bacteria *Vibrio fischeri*: comparison with published data and QSARs. *Chemosphere.* 84:1310-1320.
19. Martani, E., Rahayu, S.A., Murachman, B., dan Hadi, N. (2000). Optimization condition of bio-process for phenol degradation in oil refinery wastewater. *Berkala Ilmiah Biologi* 2:553-565.
20. Krastanov, A., Alexieva, Z., and Yemendzhiev, H. (2013). Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives. *Eng. Life Sci.* 13:76-87.
21. Banerjee, A., and Ghoshal, A. K. (2010). Phenol degradation by *Bacillus cereus*: pathway and kinetic modeling. *Biores. Technol.* 101:5501-5507.
22. Haris, A. 2003. Peranan Mikroba dalam Mendegradasi Minyak Bumi dan Fenol pada Air Terproduksi dari Industri Perminyakan. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
23. Akmal. 2010. Biodegradasi Fenol Limbah Cair Industri Tekstil Oleh *Candida tropicalis*. Skripsi. Departemen Biokimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.