

**UJI KEMAMPUAN DEGRADASI FENOL DAN SIFAT BIOKIMIA
ISOLAT BAKTERI AD 135 HASIL ISOLASI DARI LIMBAH CAIR
RUMAH SAKIT**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia**



**Nur Mukaromah
09630009**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2014**



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-UINSK-BM-05-07/R0

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/1501/2014

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : UJI KEMAMPUAN DEGRADASI FENOL DAN SIFAT BOKIMIA
ISOLAT BAKTERI AD 135 HASIL ISOLASI DARI LIMBAH CAIR
RUMAH SAKIT.

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Nur Mukaromah
NIM : 09630009
Telah dimunaqasyahkan pada : 5 Mei 2014
Nilai Munaqasyah : A-
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Arifah Khusnurriyani, M.Si
NIP.19750515 200003 2 001

Penguji I

Esti Wahyu Widowati, M.Si, M.Biotech
NIP.19760830 200312 2 001

Penguji II

Jumailatus Solihah, M. Si.
NIP.19760624 200501 2 007

Yogyakarta, 30 Mei 2014
UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan



Prof. Drs. H. Akh. Minhajj, M.A, Ph.D
NIP. 19580919 198603 1 002



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Nur Mukaromah

NIM : 09630009

Judul Skripsi : Uji Kemampuan Degradasi Fenol dan Sifat Biokimia Isolat Bakteri AD 135

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Kimia.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing I

Arifah Khushuryani, M.Si

NIP. 19750515 200003 2 001

Yogyakarta, 10 April 2014

Pembimbing II

Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

NIP. 19760830 200312 2 001

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Mukaromah
NIM : 09630009
Prodi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 14 April 2014

Yang Menyatakan



Nur Mukaromah
NIM. 09630009

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penyusun panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan laporan skripsi S-1. Shalawat serta salam senantiasa penyusun haturkan kepada Nabi agung Muhammad SAW, para keluarganya serta para sahabatnya yang merupakan sosok suri tauladan bagi kita semua.

Penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dorongan, semangat, dan ide-ide kreatif sehingga tahap demi tahap laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penyusun menyampaikan ucapan terima kasih tersebut secara khusus kepada:

1. Bapak Prof. Drs. H. Akhmad Minhaji, M.A., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Arifah Khusnuryani, M.Si., selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan selama proses pelaksanaan dan penyusunan laporan skripsi yang sangat bermanfaat bagi penyusun.
3. Ibu Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech., selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan serta semangat selama proses pelaksanaan dan penyusunan laporan skripsi.
4. Ayahanda Tohir dan ibunda Sukeksi selaku orang tua tercinta yang selalu mendo'akan, memberikan semangat serta mengajarkan untuk bekerja keras dan pantang menyerah.
5. Adikku tersayang Ahmad Sidik Setiawan yang selalu memberikan do'a, semangat dan motivasi.

6. My private motivator, Aziz Triana yang selalu setia mendampingi, serta tidak pernah bosan memberikan wejangan, do'a, motivasi dan semangat.
7. Bapak A. Wijayanto, S.Si, Indra Nafiyanto, S.Si, ibu Isnii Gustanti, S.Si dan mas Zamhari selaku laboran Laboratorium Kimia, serta Sutarno, Naylal Muna, Andika Munandar, Santi dan Nida selaku sahabat dan keluarga besar asisten Laboratorium Kimia yang tidak pernah bosan memberikan banyak dukungan, masukan, do'a, semangat dan motivasi.
8. Mbak eko, mbak Iffa, mbak Etik, Afriska, Titin, mbak Feni, Adi, Marfi dan Tyas yang banyak membantu, membimbing, memberikan semangat dan masukan pada proses pelaksanaan dan penyusunan laporan skripsi.
9. Teman-teman seperjuangan "KIMIA'09" yang telah memberikan semangat kebersamaan.
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan.

Mudah-mudahan laporan skripsi ini bermanfaat dan memberikan wawasan bagi kita semua. Penyusun menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan ini.

Yogyakarta, 16 Maret 2014

Penyusun



Nur Mukaromah

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kepada ayahanda Tohir dan ibunda Sukesi tercinta yang selalu mencurahkan doa, kasih sayang, semangat dan materi yang tiada ternilai besarnya, serta selalu mengajarkan saya untuk terus rajin beribadah, bersyukur, berikhtiar, bekerja keras dan berjuang tanpa menyerah.

Kepada adikku tersayang Muhammad Sidik Setiawan yang selalu mendoakan, memberikan semangat, tawa, canda dan ceria.

Kepada my private motivator Aziz Triana, terimakasih sudah setia menemani dan mendampingi dikala suka dan duka. selalu merangkulku disaat terjatuh dalam keputusasaan, serta tidak ada henti-hentinya memberikan dukungan dan motivasi untuk menjadi pribadi yang lebih baik.

Kepada bapak dan ibu dosen yang saya hormati. Terimakasih sudah memberikan banyak ilmu, pengalaman, serta membuka wawasan baru untuk saya. Semoga ilmu-ilmu tersebut bermanfaat.

*Kepada teman-teman seperjuangan Kimia'09,
terimakasih atas kebersamaan selama ini, teruslah mengejar
mimpi.*

*Kepada almamater tercinta, Program Studi Kimia,
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri
Sunan Kalijaga Yogyakarta.*



HALAMAN MOTTO

Seterjal apapun jalan yang kulalui, saya yakin dan percaya puncak gunung pasti lebih indah dari yang aku bayangkan

Tidak ada suatu musibahpun yang menimpa seseorang kecuali dengan izin Allah, dan barang siapa yang beriman kepada Allah niscaya Dia akan memberi petunjuk kepada hatinya. Dan Allah Maha Mengetahui segala sesuatu (Ath Taghabun ayat 11).

Langit tidak akan selamanya kelabu, janganlah terus larut dalam haru biru. Tetap bersabar dalam selami waktu, semua pasti akan berlalu...

Dan mentarikan kan bersinar, memberikan cahaya harapan, bangkit raihlah impian, rangkai masa depan. .

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
HALAMAN MOTTO	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	4
B. Landasan Teori	5
1. Limbah Cair Rumah Sakit	5

2. Fenol	6
a. Bahaya Fenol	7
b. Proses Degradasi Fenol	8
3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	11
a. Suhu	11
b. pH	12
c. Nutrien	12
4. Uji Biokimia	13
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Alat dan Bahan Penelitian	26
C. Cara Kerja Penelitian	26
BAB IV. Hasil dan Pembahasan	
A. Uji Kemampuan Degradasi Fenol	31
B. Hasil Uji Biokimiawi Isolat Bakteri AD 135	39
C. Identifikasi Isolat Bakteri Tingkat Genus Menggunakan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology	48
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	53
B. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil pengukuran konsentrasi fenol isolat bakteri AD 135 pada media ramsay yang mengandung fenol (30 ppm) dengan berbagai variasi suhu	33
Tabel 4.2 Hasil pengukuran konsentrasi fenol isolat bakteri AD 135 pada media ramsay yang mengandung fenol (30 ppm) dengan berbagai variasi pH	36
Tabel 4.3 Karakter biokimia isolat bakteri AD 135 yang berasal dari limbah cair rumah sakit	39
Tabel 4.4 Karakter fenotipik isolat bakteri AD 135	49
Tabel 4.5 Karakter kunci isolat bakteri AD 135 dengan genus yang sudah diketahui	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Kimia Fenol	6
Gambar 2.2 Jalur degradasi fenol melalui pemecahan orto	9
Gambar 2.3 Jalur degradasi fenol melalui pemecahan meta	10
Gambar 2.4 Reaksi pembentukan H ₂ S	15
Gambar 2.5 Reaksi pembentukan senyawa FeS	15
Gambar 2.6 Reaksi hidrolisis pati	16
Gambar 2.7 Reaksi hidrolisis protein	16
Gambar 2.8 Reaksi Hidrolisis Lemak	16
Gambar 2.9 Reaksi hidrolisis asam nukleat (DNA)	17
Gambar 2.10 Mekanisme reaksi penguraian asam amino triptofan menjadi indol	19
Gambar 2.11 Enzim sitrase mampu mengubah sitrat menjadi oksaloasetat dan asam asetat	20
Gambar 2.12 Mekanisme penguraian hidrogen peroksida oleh enzim katalase	21
Gambar 2.13 Mekanisme reaksi reduksi nitrat menjadi nitrit	21
Gambar 2.14 Reaksi dekarboksilasi lisin	22
Gambar 2.15 Reaksi deaminasi fenilalanin	23
Gambar 2.16 Mekanisme hidrolisis gelatin	23
Gambar 2.17 Mekanisme reaksi hidrolisis urea menggunakan enzim Urease menjadi amonia	24
Gambar 2.18 Reaksi oksidase	25

- Gambar 4.1 Diagram hubungan antara waktu inkubasi isolat bakteri AD 135 dengan penurunan konsentrasi fenol ($\lambda 750$ nm) pada berbagai variasi suhu.....34
- Gambar 4.2 Diagram hubungan antara waktu inkubasi isolat bakteri AD 135 dengan penurunan konsentrasi fenol ($\lambda 750$ nm) pada berbagai variasi pH.....36



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kurva Standar	57
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi fenol	58
Lampiran 3. Komposisi Media	60



Uji Kemampuan Degradasi Fenol dan Sifat Biokimia Isolat Bakteri AD 135 Hasil isolasi dari Limbah Cair Rumah Sakit

**Oleh:
Nur Mukaromah
09630009**

ABSTRAK

Limbah cair rumah sakit merupakan salah satu limbah yang berbahaya bagi lingkungan karena mengandung senyawa fenol. Fenol bersifat toksik dan dapat mengganggu kesehatan manusia, namun keberadaan senyawa fenol di dalam limbah dapat dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon dan energi melalui proses degradasi. Isolat bakteri AD 135 merupakan salah satu bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi fenol. Akan tetapi, potensi tersebut belum dikaji lebih lanjut dengan mengoptimalkan kondisi lingkungan, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan kondisi lingkungan seperti suhu dan pH serta mengetahui sifat biokimianya supaya isolat bakteri AD 135 mampu optimal dalam mendegradasi fenol.

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap, yaitu uji kemampuan degradasi fenol dengan variasi suhu dan pH, analisis konsentrasi fenol selama proses degradasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan uji biokimiawi meliputi uji pembentukan H_2S , hemolisis darah, malonat, hidrolisis pati, protein, lemak, asam nukleat, fermentasi karbohidrat manitol, dekarboksilasi lisin dan deaminasi fenilalanin. Uji kemampuan degradasi fenol memberikan hasil bahwa isolat bakteri AD 135 memiliki kemampuan tertinggi dalam mendegradasi fenol pada suhu $40^{\circ}C$ dan pH 8. Hal tersebut dibuktikan dengan hasil analisis konsentrasi fenol yang menunjukkan bahwa dengan konsentrasi awal fenol sebesar 30 ppm, isolat bakteri AD 135 mampu menurunkan konsentrasi fenol hingga 67,63% pada suhu $40^{\circ}C$ dalam waktu inkubasi ke-96 jam dan mampu menurunkan hingga 43,417% pada pH 8 dalam waktu inkubasi ke-72 jam. Uji biokimia menunjukkan bahwa isolat bakteri AD 135 mampu menghemolisis darah dan mendekarboksilasi lisin. Namun, tidak mampu untuk membentuk H_2S , menfermentasi manitol, malonat, deaminasi fenilalanin, menghidrolisis protein, pati, lemak dan asam nukleat. Karakter biokimia yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk identifikasi berdasarkan *Bergeys' Manual of Determinative Bacteriology*. Hasil identifikasi yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat bakteri AD 135 memiliki karakter yang mengarah ke anggota genus *Staphylococcus*.

Kata Kunci : *Limbah cair rumah sakit, fenol, degradasi fenol, uji biokimia*

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Limbah cair rumah sakit merupakan limbah beracun dan berbahaya karena mengandung senyawa fenol (Pelczar, 2008; Nogrady, 1992). Fenol termasuk polutan berbahaya di lingkungan dan dapat menyebabkan kerusakan yang serius bagi kesehatan manusia, seperti menyebabkan iritasi, mempengaruhi sistem syaraf pusat, memiliki efek anestetik (bius) dan bersifat karsinogenik (El-Naas, *et al.*, 2009; Nair, *et al.*, 2008).

Meskipun fenol berbahaya, keberadaannya di dalam limbah ternyata bermanfaat bagi bakteri. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam kondisi ekstrim di dalam limbah yang mengandung fenol, bakteri dapat beradaptasi dan tumbuh dengan cepat dengan memanfaatkan fenol sebagai sumber karbon dan energi melalui proses degradasi (Basha, *et al.*, 2010). Berdasarkan kemampuannya mendegradasi fenol, bakteri digunakan untuk pengolahan limbah dengan biaya yang lebih rendah serta tanpa menghasilkan limbah tambahan. Metode ini dikenal sebagai bioremediasi.

Beberapa bakteri telah dilaporkan mampu mendegradasi senyawa fenol, seperti *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp dan *Staphylococcus* sp (Prasanna, *et al.*, 2008), *Cyanobacterium synechococcus* (Song, *et al.*, 2009). *Pseudomonas fluorescens* PU1 (Mahiudddin, *et al.*, 2010), *Streptococcus epidermis* (Mohite, *et al.*, 2010) dan *Staphylococcus aureus* (Naresh, *et al.*, 2012).

Khusnuryani *et al.* (2013), melaporkan bahwa isolat bakteri AD 135 yang diisolasi dari limbah cair rumah sakit berpotensi mendegradasi fenol. Pada masa inkubasi selama 96 jam dengan konsentrasi awal fenol sebesar 300 ppm, isolat bakteri AD 135 mampu menurunkan konsentrasi fenol hingga 76%. Akan tetapi, penelitian tersebut hanya sebatas melakukan uji awal kemampuan degradasi fenol sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengoptimalkan kondisi lingkungan seperti suhu dan pH.

Lucky (2012), telah melakukan karakterisasi terhadap isolat bakteri AD 135 meliputi morfologi koloni, morfologi sel dan karakter biokimia. Namun, belum dikarakterisasi untuk semua sifat biokimia, sehingga diperlukan uji biokimia lebih lanjut, seperti uji pembentukan H₂S, hemolisis darah, malonat, hidrolisis pati, protein, lemak, asam nukleat, fermentasi karbohidrat manitol, dekarboksilasi lisin dan uji deaminasi fenilalanin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi lingkungan yaitu, suhu dan pH yang sesuai bagi isolat bakteri AD 135 dan mengetahui sifat biokimia bakteri AD 135 yang berasal dari limbah cair rumah sakit. Hal ini dimaksudkan untuk mengoptimalkan kemampuan degradasi fenol dan mengetahui kemampuan metabolisme isolat bakteri AD 135. Data karakter biokimia yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk identifikasi isolat bakteri AD 135 supaya dapat diketahui genusnya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Berapakah suhu dan pH optimum isolat bakteri AD 135 dalam mendegradasi fenol?
2. Bagaimanakah sifat biokimia isolat bakteri AD 135 berdasarkan uji pembentukan H₂S, hemolisis darah, malonat, hidrolisis pati, protein, lemak, asam nukleat, fermentasi karbohidrat manitol, dekarboksilasi lisin dan deaminasi fenilalanin ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui suhu dan pH optimum isolat bakteri AD 135 dalam mendegradasi fenol.
2. Mengetahui sifat biokimia isolat bakteri AD 135 berdasarkan uji pembentukan H₂S, hemolisis darah, malonat, hidrolisis pati, protein, lemak, asam nukleat, fermentasi karbohidrat manitol, dekarboksilasi lisin dan deaminasi fenilalanin.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan data penelitian tentang kondisi lingkungan yang mempengaruhi kemampuan bakteri dalam proses degradasi fenol dan selanjutnya dapat dikembangkan untuk pengolahan limbah secara biologi.

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Isolat bakteri AD 135 menunjukkan kemampuan tertinggi dalam mendegradasi fenol pada suhu 40⁰C dan pH 8.
2. Berdasarkan uji biokimia diperoleh hasil bahwa isolat bakteri AD 135 mampu menghemolisis darah dan mendekarboksilasi lisin. Namun, tidak mampu untuk membentuk H₂S, menfermentasi manitol, malonat, deaminasi fenilalanin, menghidrolisis protein, pati, lemak dan asam nukleat. Hasil identifikasi berdasarkan karakter kunci menunjukkan isolat bakteri AD 135 mengarah ke anggota genus *Staphylococcus*.

B. Saran

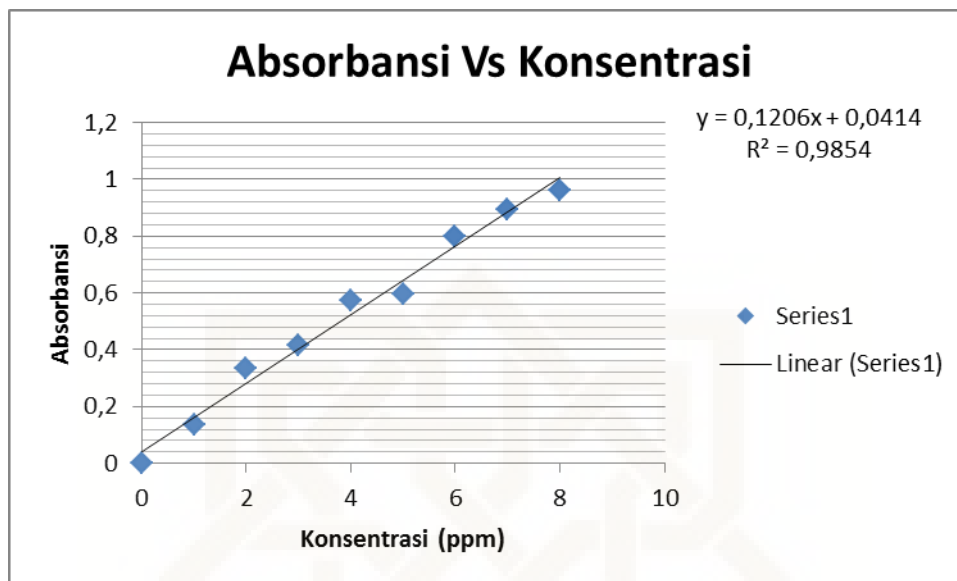
1. Perlu dilakukan penelitian dan identifikasi lebih lanjut guna mengetahui klasifikasi bakteri sampai tingkat spesies.
2. Perlu kajian lebih lanjut terkait kondisi optimum yang merupakan kombinasi dari berbagai faktor lingkungan untuk mengoptimalkan kemampuan degradasi fenol.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait jalur degradasi fenol untuk mengetahui senyawa yang terbentuk beserta jalur pemecahan yang terjadi selama proses degradasi fenol oleh bakteri.

Daftar Pustaka

- Basha, K. M. D. Aravindan R. Vivuthagiri T. 2010. Recent Advances in The Biodegradation of Phenol: A Review, *Asian J.Exp.Biol.Sci.* 1. 219-234.
- Benson, Harold J. 2001. *Microbiological Applications A Laboratory Manual in General Microbiology*. The McGraw-Hill Companies.
- Cappucino, J.G., and N. Sherman. 2011. *Microbiology: A Laboratory Manual..* California USA: The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
- Day, R.A dan Underwood, A.L. 1998. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- El-Naas M, Al-Muhtaseb SA, Makhlof S. 2009. Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) gel. *J Hazard Mat* 164:720-725.
- Fessenden, Ralph J., Joan. S. Fessenden. 1983. *Kimia Organik Jilid 1*. Jakarta: Erlangga
- Firozjaee, T.T., Ghasem D.N., Maryam K., Zenab B., Roya P., dan Nafise M. 2011. Phenol Degradation Kinetics in a Anaerobic Batch Ractor. *Iranica Journal of Energi and Environment*. 2. 68-73
- Hamamah, Fatim. 2008. Penyisihan Fenol pada Limbah Industri dari PT XYZ dengan Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*). *ITS Library*.
- Harley, John P. 2005. *Laboratory Exercises in Microbiologi*. Sixth Edition. New York: McGraw-Hill.
- Hurst, Christon J. 2002. *Manual of Environmental Microbiology Second Edition*. Washington. D.C: ASM Press
- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganism*. Bandung : CV. Yrama Widya.
- Juang RS, Tsai SY. 2006. Growth Kinetics of *Pseudomonas putida* in the Biodegradation of Single and Mixed Phenol and Sodium Salicylate. *Biochem.Eng. J.* 31. 133-140
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, S. Suhadi, D. dan Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM.
- Kafilzadeh, F., Mohammad, S., Farhangdoost, Yaghoob, T. 2010. Isolation and Identification of Phenol Degrading Bacteria from Lake Parishan and Their Grown Kinetic Assay. *African Journal of Biotechnology*. 9
- Khusnuryani, Arifah., Martani, Erni., Wibawa, Tri., dan Widada, Jaka. 2013. Biodegradation of Phenol by Native Bacteria Strain Isolation from Polluted and Non-polluted Sources. *The 2nd International Conference of the Indonesian Chemical Society 2013*. Yogyakarta.
- Lay, Bibiana W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada
- Leahly JG, Colwell RR. 1990. Microbial degradation of hydrocarbon in the environment. *Microbiological Reviews*. 54:305-315.
- Leboffe, M.J., dan Pierre, J. 2011. *A Photographic Atlas For the Microbiology Laboratory 4th Edition*. USA: Morton Publishing Company.

- Loh, K.C & Wang, S.J. 1998. Enhancement of biodegradation of phenol and a nongrowth substrate 4-chlorophenol by medium augmentation with conventional carbon sources. *Biodegradation*. 8:329-338.
- Lucky, N., 2012. Kajian Kemampuan Degradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Fenol dari Limbah Cair Rumah Sakit Tipe C. *Skripsi*. Program Studi Biologi, UIN Yogyakarta.
- Margesin R, Schinner F. 2001. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl Microbiol Biotechnol* 56. 650-663.
- Martani, E. 1992. *Buku Monograf Bioteknologi Lingkungan*. Bandi Murachman (editor). Yogyakarta: PAU UGM.
- Md.Mahiudddin, A. N. M. Fakhruddin, and Abdullah-Al-Mahin. 2012. Degradation of Phenol via Meta Cleavage Pathway by *Pseudomonas fluorescens PUI*. *International Scholarly Research Network ISRN Microbiology*.4.
- Milasari, 2010. Pengolahan limbah cair kadar COD dan Fenol Tinggi dengan Proses Anaerob dan Pengaruh Mikronutrien Cu: Kasus Limbah Industri Tradisional. *Skripsi*. Program Studi Teknik Kimia, Universitas Diponegoro.
- Mohite, B., Jalgaonwala, R., Pawar, S., and Morankar, A. 2010. Isolation and Characterization of Phenol Degrading Bacteria from Oil Contaminated Soil. *Department of Biotechnology, Moolaji Jaitha College, Jalgaon India*. 7. 61
- Munir, Erman. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap Pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Medan, Universitas Sumatera Utara
- Nair CI, Jayachandran K, Shashidar S. 2008. Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*.7. 4951- 4958.
- Naresh, Butani., Parekh Honey., and Saliya Vaishali. 2012. Biodegradation of Phenol by a Bacterial Strain Isolated From a Phenol Contaminated Site in India. *Department of Microbiology, Bhagwan Mahavir College of Biotechnology*. 1. 46-49.
- Nogrady, Thomas. 1992. *Kimia Medisinal Pendekatan Secara Biokimia*. Bandung : ITB.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2.*, Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S. L., UI Press, Jakarta.
- Piakong Mohd. Tuah , Noor Aini Abdul Rashid & Madihah Md. Salleh. 2009. degradation pathway of phenol through ortho-cleavage by *Candida tropicalis RETL-Cr1*. *Malaysia: Borneo Science*.
- Piakong. 2006. The performance of phenol biodegradation by *Candida tropicalis RETL-Cr1* using batch and fed-batch fermentation techniques. *Tesis*. Sabah: Universiti Teknologi Malaysia.

- Prasanna, N., Saravanan, N., Geetha, P., Shanmugaprakash, M., & Rajasekaran, P. 2008. Biodegradation of Phenol and Toluene by *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Staphylococcus* sp., Isolated from Pharmaceutical Industrial Effluent. *Advanced Biotech.* 20-23
- Shewfelt, Kirsten, Hung Lee, and Richard G. Zytner. 2005. Optimization of nitrogen for bioventing of gasoline contaminated soil. *J. Environ. Eng. Sci.* 4. 29-42
- Shingler, V. 1996. Molecular and Regulatory Checkpoints in Phenol Degradation by *Pseudomonas* sp. CP600. In: Nakazawa, T., Furukawa, K., Haas, D. & Silver, S. (eds.) *Molecular Biology of Pseudomonads Am. Soc. Microbiol.*, Washington, D.C.: 153-164.
- Singleton V.L & Rossi J.A 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Enol Vitic.* 16. 144-58
- Slamet, Juli Soemirat. 2011. *Kesehatan Lingkungan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Song, H., Liu, Y., Xu, W., Zeng, G., Aibibu, N., Xu, L & Chen, B. 2009. Simultaneous Cr (VI) Reduction and Phenol Degradation i Pure Cultures Of *Pseudomonas aeruginosa* CC7CCAB91095. *Bioresour. Technol.*, 100(21): 5079-5084.
- Suhaila, Nor, Y., Ariff, A., Rosfarian, M., Latif, Abdul, I., Ahmad, S.A., Norazah, M.N & Shukor, M.Y.A. 2010. Optimization of parameters for phenol Degradaion by Rhodococcus UKM-P in Shake Flask Culture. *Proceeding of the World Congress on Engineering.* 1
- Sumarsih, Sri. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: UPN
- Waluyo, Lud. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press
- Waluyo, Lud. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang : UMM Press.
- Whitman, William B. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Secon Edition*. USA: Departement of Microbiology 527 Biological Sciences Building University of Georgia Athens.
- Williams, R.J. & Evans, W.C. 1975. The metabolism of Benzoate by *Moraxella* sp. Through Anaerobic Nitrate Respiration. *Biochem. J.*, 148:1-10.
- Yee, Wong pooi. 2007. Screening And Optimization Of Phenol Degradation Of Bacteria Isolated From Petroleum Reservoir. *Thesis in Industrial Biology*, Faculty of Science, University Technology Malaysia.

Lampiran 1. Kurva Standar

Standar	Konsentrasi	Absorbansi
1	0	0
2	1	0,138
3	2	0,334
4	3	0,414
5	4	0,573
6	5	0,598
7	6	0,801
8	7	0,895
9	8	0,962

Lampiran 2 Perhitungan konsentrasi fenol

Persamaan garis lurus $y = 0,1206x + 0,0414$.

A. Variasi Suhu

a. Jam ke-96

$$\begin{aligned} 25^{\circ}\text{C}, A &= 0,305 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,305 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 2,185 \text{ ppm} \\ (x10) &= 21,85 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 26,22 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 30^{\circ}\text{C}, A &= 0,153 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,153 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 0,925 \text{ ppm} \\ (x10) &= 9,253 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 11,104 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 35^{\circ}\text{C}, A &= 0,319 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,319 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 2,301 \text{ ppm} \\ (x10) &= 23,018 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 27,621 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40^{\circ}\text{C}, A &= 0,139 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,139 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 0,809 \text{ ppm} \\ (x10) &= 8,092 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 9,711 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 45^{\circ}\text{C}, A &= 0,209 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,209 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 1,389 \text{ ppm} \\ (x10) &= 13,897 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 16,676 \text{ ppm} \end{aligned}$$

B. Variasi pH

a. Jam ke-72

$$\begin{aligned} \text{pH } 5, A &= 0,304 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,304 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 2,177 \text{ ppm} \\ (x10) &= 21,774 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 26,129 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH } 6, A &= 0,233 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,233 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 1,588 \text{ ppm} \\ (x10) &= 15,887 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 19,064 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH } 7, A &= 0,287 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,287 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 2,036 \text{ ppm} \\ (x10) &= 20,364 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 24,437 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH } 8, A &= 0,212 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,212 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 1,414 \text{ ppm} \\ (x10) &= 14,145 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 16,975 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH } 9, A &= 0,250 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,250 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 1,729 \text{ ppm} \\ (x10) &= 17,296 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 20,756 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH } 10, A &= 0,292 \\ y &= 0,1206x + 0,0414 \\ 0,292 &= 0,1206x + 0,0414 \\ x &= 2,077 \text{ ppm} \\ (x10) &= 20,779 \text{ ppm} \\ (x1,2) &= 24,935 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 3 Komposisi media

1. Ramsay

NH_4NO_3 2 gram; KH_2PO_4 0,5 gram; K_2HPO_4 1 gram; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 gram; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 gram; KCl 0,1 gram; akuades 1 liter.

2. Nutrien Agar

Peptone 5 gram; *beef extract* 3 gram; agar 1,5%.

3. Manitol

Manitol 1 gram; akuades 125 ML.

4. *Sulfide Indole Motility* (SIM)

Pepton; Sodium tiosulfat; amonium besi sulfat.

5. *Lysin Iron Agar* (LIA)

Pepton; *yeast extract*; asam amino lisin; sodium tiosulfat; Glukosa 1%.

6. *DNase Agar Plate*

Soybean; *casein*; natrium klorida; DNA

7. *Malonate Broth*

Sodium malonate; *yeast extract*; glukosa; larutan penyangga

8. *Blood Agar Plate* (BAP)

Darah domba 5%; *Tryptic Soy Agar base*

9. Fenilalanin

Fenilalanin; agar