

Pengaruh Penambahan Bakteri *Ralstonia pickettii* Terhadap Biodegradasi DDT Oleh Jamur Pelapuk Putih *Phlebia brevispora*

Dewi Kusumaning Ayu, Refdinal Nawfa, dan Adi Setyo Purnomo*
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: adi_setyo@chem.its.ac.id

Abstrak— 1,1,1-Trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT) telah digunakan secara luas dalam beberapa dekade untuk mengendalikan hama dalam pertanian dan serangga penyebar penyakit seperti tipus dan malaria. Residu dari DDT bersifat lipofilik dan sulit didegradasi, sehingga diperlukan proses degradasi yang efektif oleh mikroorganisme. Pada penelitian ini diamati pengaruh penambahan bakteri *Ralstonia pickettii* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Phlebia brevispora*. *R. pickettii* ditambahkan ke dalam 10 mL kultur *P. brevispora* masing-masing sebesar 0, 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL \approx 1,337 x 10⁹ sel). Degradasi DDT tertinggi ditunjukkan pada penambahan 10 mL *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 100% sedangkan jumlah degradasi DDT terendah terjadi pada penambahan 1 mL *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 44%.

Kata Kunci: Biodegradasi; *Phlebia brevispora*; *Ralstonia pickettii*; DDT.

I. PENDAHULUAN

BERTAMBAHNYA penduduk dan meningkatnya kebutuhan manusia akan pangan menyebabkan pertanian tradisional berkembang menjadi pertanian agribisnis yang menerapkan berbagai teknologi. Perkembangan agribisnis berawal dari revolusi pertanian di Eropa yang terjadi pada tahun 1750-1880 M. Dari sinilah pertanian mulai berkembang menjadi pertanian komersial yang menerapkan teknologi dan menekan berbagai faktor pembatasnya, termasuk pengendalian hama [1].

Pada awal abad ke-20 pengendalian hama mulai berkembang dengan terbitnya buku *Insect Pest of Farm, Garden and Orchard* karya E. Dwigt Sanderson pada tahun 1915. Selanjutnya revolusi pengendalian hama berkembang dengan penggunaan 1,1,1-trikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana (DDT) dan pestisida organik lainnya. Hampir semua kegiatan pertanian di seluruh dunia yang dilakukan secara industri menerapkan pengendalian hama dengan menggunakan DDT. Bersamaan dengan itu bermunculan pabrik pestisida pada awal tahun 1900-an [2].

DDT adalah insektisida sintesis organoklorin yang paling umum dikenal oleh masyarakat. DDT memiliki sifat sangat berbahaya dan mempunyai daya tahan yang lama jika terikat pada ekosistem serta jaringan organisme [3]. DDT memiliki sifat yang cenderung untuk terakumulasi dalam tubuh manusia, hewan, burung, dan lingkungan [4], karena senyawa ini sangat lipofilik atau mudah larut dalam lemak [5]. Pada tahun 1962, Rachel Carson mempublikasikan buku *Silent Spring* yang memberikan informasi dampak negatif

dari pestisida sintetik termasuk DDT terhadap lingkungan dan makhluk hidup. Akhirnya, Amerika Serikat melarang penggunaan DDT pada tahun 1972 [2].

Kontaminan DDT dapat ditangani secara kimia dan fisika. Namun, metode paling aman, efisien, dan biaya yang rendah adalah dengan metode biodegradasi. Biodegradasi didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi senyawa organik dan anorganik oleh mikroorganisme, baik di tanah dan perairan [6].

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk biodegradasi adalah jamur. Di alam terdapat tiga kelompok jamur yang dapat menguraikan komponen kayu (lignoselulosa) yaitu pelapuk coklat (brown rot), pelapuk putih (white rot) dan pelapuk lunak (soft rot). Jamur pelapuk putih (JPP) mampu menghasilkan enzim lakase, lignin peroksidase (Li-P) serta Mangan peroksidase (Mn-P) dengan aktivitas yang tinggi dan diketahui dapat dimanfaatkan untuk proses degradasi lignin, bioremediasi dan biodegradasi polutan organik (klorofenol dan polisiklik aromatik hidrokarbon) [7]. *Phlebia brevispora* merupakan jenis jamur pelapuk putih yang menghasilkan enzim MnP dan LiP [8], sehingga mampu mendegradasi DDT yang memiliki kesamaan struktur dengan lignin. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xiao dkk (2011), menunjukkan bahwa DDT dapat didegradasi oleh jamur pelapuk putih *P. brevispora* sebesar 30% selama 21 hari [9]. Hasil ini relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga diperlukan metode baru untuk meningkatkan degradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*.

Pada penelitian ini, penambahan bakteri *Ralstonia pickettii* pada biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *P. brevispora* telah diuji. Bakteri *R. pickettii* merupakan bakteri Gram negatif [10] yang dapat mendegradasi beberapa senyawa berbahaya seperti Benzen [11],[12], 2,4,6-trichlorophenol [13], dan pentaphenol [14]. Berdasarkan kemampuan bakteri tersebut, *R. pickettii* diperkirakan dapat meningkatkan kemampuan *P. brevispora* dalam mendegradasi DDT.

Jamur *P. brevispora* memiliki potensi untuk mendegradasi DDT. Akan tetapi, kemampuannya masih relatif rendah dan membutuhkan waktu yang lama, sehingga diperlukan pengembangan metode untuk meningkatkan degradasinya. Bakteri *R. pickettii* dapat mendegradasi beberapa senyawa berbahaya, sehingga penambahan bakteri ini diharapkan dapat memberikan pengaruh positif dalam meningkatkan proses degradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian untuk

mengetahui pengaruh penambahan bakteri *R. pickettii* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur *P. brevispora*.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Regenerasi Jamur *P. brevispora*

Jamur pelapuk putih, *P. brevispora*, diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

B. Persiapan Kultur Cair Jamur *P. brevispora*

Jamur hasil regenerasi dengan diameter 1 cm diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB). Selanjutnya, dipre-inkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

C. Regenerasi Bakteri *R. pickettii*

Bakteri *R. pickettii* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

D. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Regenerasi Bakteri *R. pickettii*

Sebanyak satu koloni bakteri dari hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 mL media *nutrient broth* (NB), kemudian dari 10 mL diambil 1 mL dimasukkan ke dalam 600 mL media cair NB. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C dan dikocok di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm. Selanjutnya, kultur diambil dengan mikropipet 1 mL, dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur *optical density* pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) dengan spektrofotometri UV-Vis tiap 1 jam sekali. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan dengan absorbansi sebagai fungsi waktu.

E. Persiapan Kultur Cair Bakteri *R. pickettii*

Sebanyak satu koloni bakteri dari hasil regenerasi diinokulasi ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 mL media *nutrient broth* (NB) dan dipre-inkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam dan dikocok di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm.

F. Pembuatan Kurva Standar DDT

Larutan DDT disiapkan dengan konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100% (100% = 0,25 mmol DDT yang berasal dari 50 μ L DDT dengan konsentrasi 5 mM). Masing-masing konsentrasi DDT ditambah dengan 50 μ L pirena 5 mM sebagai internal standar. Sampel dianalisis menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Kurva dibuat dengan nilai perbandingan luas area puncak DDT/pirena sebagai fungsi konsentrasi DDT.

G. Biodegradasi DDT oleh Jamur *P. brevispora*

Sebanyak 10 mL kultur *P. brevispora* hasil pre-inkubasi selama 7 hari, masing-masing ditambah dengan 50 μ L DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, kultur ditambah 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur tersebut diberi oksigen selama 1 menit dan ditutup dengan sumbat kaca

serta diselotip menggunakan parafilm untuk mencegah penguapan DDT dan kontaminasi. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

H. Biodegradasi DDT oleh Bakteri *R. pickettii*

Erlenmeyer yang telah berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) ditambahkan bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL \approx 1,337 x 10⁹ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur ditambah 50 μ L DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB masing-masing 9, 7, 5, 3 dan 0 mL hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

I. Pengaruh Penambahan Bakteri *R. pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*

Sebanyak 10 mL kultur jamur hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL \approx 1,337 x 10⁹ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Masing-masing kultur ditambah 50 μ L DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

J. Perolehan Kembali (*Recovery*) DDT

Campuran kultur hasil inkubasi selama 7 hari ditambahkan 50 μ L pirena 5mM dan 20 mL metanol. Kemudian, campuran kultur tersebut dipindah ke tabung falcon dan tempat awal campuran dicuci dengan 5 mL aseton. Hasil pencucian dimasukkan juga ke dalam tabung falcon. Kemudian, campuran kultur hasil inkubasi yang berada dalam tabung falcon dihomogenkan menggunakan *homoginizer*. Campuran kultur yang telah dihomogenkan, disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 7 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman 41 diameter 90 mm. Setelah miselium tersaring, supernatan ditampung kembali dan dimasukkan ke dalam labu bundar.

Supernatan yang ditampung di dalam labu bundar dievaporasi pada suhu 64°C hingga volume mencapai 15 mL. Setelah dievaporasi, supernatan dituang ke dalam corong pisah, sedangkan labu bundar tempat supernatan dicuci dengan 50 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil pencucian dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian, larutan dalam corong pisah dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fase aquos dan organik yang terbentuk dari proses ekstraksi tersebut dikeluarkan dan ditampung di tempat yang berbeda.

Fase aquos dari ekstraksi pertama dimasukkan kembali ke dalam corong pisah. Selanjutnya, labu bundar dicuci dengan 20 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil

pengucian dimasukkan ke dalam corong pisah kembali. Kemudian larutan dalam corong pisah dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fase organik yang terbentuk pada ekstraksi kedua ditampung bersamaan dengan hasil fase organik yang terbentuk pada ekstraksi pertama. Untuk fase *aquos* sudah tidak diperlukan lagi.

Fase organik hasil dua kali ekstraksi disaring menggunakan kapas dan Na_2SO_4 anhidrat. Setelah disaring, filtrat dievaporasi kembali pada suhu 67°C hingga volume mencapai 5 mL. Selanjutnya filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial pertama ini dianalisis menggunakan GC-MS. Kemudian, filtrat yang tersisa dalam labu bundar dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL metanol. Selanjutnya, filtrat disonik sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial kedua ini dianalisis menggunakan HPLC.

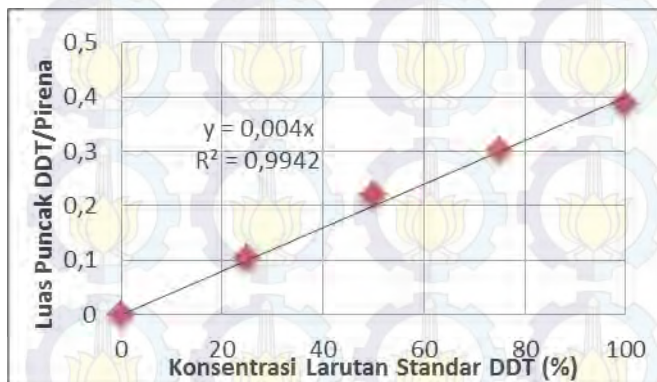
III. HASIL DAN DISKUSI

A. Kurva Standar DDT

Kurva standar DDT merupakan hasil plot nilai perbandingan luas puncak DDT/pirena dan konsentrasi larutan standar. Tujuan pembuatan kurva standar DDT adalah sebagai acuan untuk memperoleh konsentrasi DDT setelah degradasi. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengukur luas puncak DDT/pirena dengan variasi konsentrasi larutan standar 0; 25; 50; 75 dan 100% (100% = $0,25 \mu\text{mol}$ DDT yang berasal dari $50 \mu\text{L}$ DDT 5 mM) menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 3.1 di bawah ini:

Tabel 3. 1 Data Kurva Standar DDT

Konsentrasi (%)	Luas Puncak DDT	Luas Puncak Pirena	Perbandingan Luas Puncak DDT/Pirena	Rata-Rata	SD
0	0	0	0	0	0
25	8133,85	81132,80	0,10	0,10	0,006
	8291,78	76696,94	0,11		
50	17689,29	80616,66	0,22	0,22	0,001
	17256,62	79033,15	0,22		
75	24232,41	79892,88	0,30	0,30	0,003
	22970,71	76780,01	0,30		
100	29698,65	76994,95	0,39	0,39	0,002
	28740,36	74100,91	0,39		



Gambar 3. 1 Kurva Standar DDT

Berdasarkan data pada Tabel 3.1 dapat diperoleh grafik seperti Gambar 3.1. berikut :

Dari kurva standar di atas, diperoleh persamaan regresi linear sebagai berikut : $y = 0,004x$ dimana, x adalah konsentrasi DDT, y adalah perbandingan luas puncak DDT/pirena. Persamaan regresi linier ini berfungsi sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel. Hubungan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dapat diketahui dari koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi merupakan suatu ukuran hubungan antara dua variabel yang memiliki nilai antara -1 dan 1. Jika variabel-variabel keduanya memiliki hubungan linier sempurna, koefisien korelasi itu akan bernilai 1 atau -1. Tanda positif atau negatif bergantung pada apakah variabel-variabel itu memiliki hubungan secara positif atau negatif. Koefisien korelasi bernilai 0 jika tidak ada hubungan yang linier antara variabel.

Hasil dari perhitungan diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,994, yang menunjukkan bahwa konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dari kurva standar memiliki hubungan linear sangat kuat atau hampir sempurna. Hubungan signifikansi antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dan persamaan regresi kurva standar yang digunakan dalam menentukan konsentrasi DDT dalam sampel, dapat diketahui dengan melakukan uji t. Uji t dilakukan dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ (dengan nilai selang kepercayaan 95%). H_0 menyatakan tidak adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena, sedangkan H_1 menyatakan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena. Berdasarkan perhitungan pada lampiran 2 diketahui t_{hitung} lebih besar daripada t_{tabel} , sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/pirena dan persamaan regresi linier kurva standar dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

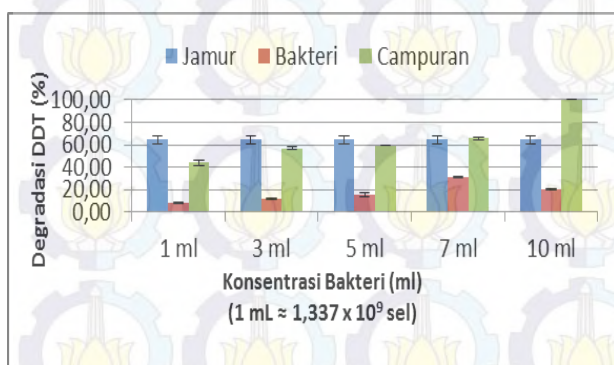
B. Pengaruh Penambahan Bakteri *R. pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*

Kultur *P. brevispora* yang telah dipre-inkubasi ditambah bakteri *R. pickettii* masing-masing 1, 3, 5, 7 dan 10 mL. Kemudian, masing-masing kultur ditambah PDB hingga volume total 20 mL dan ditambah juga dengan DDT 5 mM dalam DMSO. Selanjutnya, tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 30°C . Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya dilakukan proses *recovery* untuk mengetahui DDT yang terdegradasi. Hasil degradasi DDT diperoleh pada Tabel 3.2.

Konsentrasi Bakteri (mL)	Kontrol (%)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
1	96,70	52,66	44,04	2,54
3	96,70	39,72	56,98	1,11
5	96,70	37,39	59,36	0,28
7	96,70	30,87	65,82	0,98
10	96,70	0,00	100,00	0,00

Tabel 3.2 Degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *R. pickettii*

Berdasarkan Tabel 3.2, hasil analisis degradasi DDT oleh *P. brevispora* dengan penambahan *R. pickettii* menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, konsentrasi bakteri yang ditambahkan pada kultur jamur paling maksimal dalam mendegradasi DDT yaitu pada konsentrasi 10 mL dengan *recovery* DDT dalam kultur 0% dimana persentase degradasi DDT sebesar 100% atau dapat dikatakan bahwa DDT terdegradasi total dan standar deviasi 0,00. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran (n=2). Dari tabel dapat diperoleh grafik pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Grafik Degradasi DDT oleh Jamur (*P. brevispora*), Bakteri (*R. pickettii*) dan Campuran (*P. brevispora* dengan penambahan *R. pickettii*).

Dari Tabel 3.1 dapat dibuat grafik yang ditunjukkan pada Gambar 3.2. Dapat dilihat dari data dan grafik bahwa penambahan *R. pickettii* berpengaruh terhadap biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* dibandingkan dengan biodegradasi DDT oleh *R. pickettii* dan biodegradasi DDT oleh *P. brevispora*. Dari grafik dapat diketahui kolerasi antara jumlah DDT yang terdegradasi dan konsentrasi bakteri yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentrasi bakteri, maka semakin tinggi pula jumlah DDT yang terdegradasi. Hal ini menunjukkan bahwa degradasi DDT oleh *P. brevispora* linier terhadap konsentrasi bakteri. Jika diamati pada degradasi DDT oleh bakteri, dapat dilihat bahwa pada penambahan 10 mL mengalami penurunan, pada degradasi DDT oleh campuran pada penambahan bakteri 10 mL mengalami kenaikan bahkan terdegradasi total. Hal ini dapat disebabkan karena jamur membantu bakteri mendegradasi senyawa toksik yang mungkin dihasilkan dari degradasi DDT oleh bakteri.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada penambahan bakteri *R. pickettii* sebanyak 10 mL ($1,337 \times 10^{10}$ CFU) memiliki pengaruh pada biodegradasi DDT oleh *P. brevispora* dari 64,45% menjadi 100% terdegradasi dengan volume dan konsentrasi DDT yaitu 50 μ L dan 5 mM. Degradasi campuran *R. pickettii* dan

P. brevispora lebih efektif dibandingkan biodegradasi DDT hanya dengan *P. brevispora*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh dana dari proyek penelitian untuk "Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (BUPT) 2016 No:078/sp2h/lt/drpm/II/2012, dari Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sastroutomo, S. S. (1992). *Pestisida : Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- [2] Kusnaedi. (2005). *Pengendalian Hama Tanpa Pestisida*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [3] Indraningsih dan Widiastuti, R. (1998). Residu Pestisida Organoklorin serta Kemungkinan Bahayanya pada Ternak dan Manusia. *Wartazoa*, 7[2]:55-60.
- [4] Marrs T.C., Ballantyne, B. (2004). *Pesticide Toxicology and International Regulation*. UK: John Wiley & Sons Ltd.
- [5] Sumardjo, D. (2008). *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- [6] Ariesyady, D. D. (2011). *Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat Dengan Teknik Konvensional*. Bandung: Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung.
- [7] Thurston, C. (1994). The structure and function of fungal laccase. *Microbiology*, 140:19-26.
- [8] Orth A.B, D.J., Royse. (1993). Ubiquity of Lignin degrading Peroxidases among Various Wood-Degrading Fungi. *Appl. Environ Microbiol*, 59:40117-4023.
- [9] Xiao, P., Mori, T., Kamei, I., Kondo, R. (2011). A novel metabolic pathway for biodegradation of DDT by the white rot fungi, *Phlebia lindtneri* and *Phlebia brevispora*. *Biodegradation*, 22:859-867.
- [10] Gilligan, P. L. (2003). *Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea and Acidovorax*. In *Manual of Clinical Microbiology, 8th edn ed. Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.A. and Tenover, R.H. pp.* Washington DC: ASM.
- [11] JJ, Kukor, RH, Olsen. (1992). Complete nucleotide sequence of *tbuD*, the gene encoding phenol / cresol hydroxylase from *Pseudomonas pickettii* PKO1, and functional analysis of the encoded enzyme. *J Bacteriol*, 174:6518-6526.
- [12] Massol-Deya, A., R., Weller., L., Ríos-Hernández. (1997). Succession and convergence of biofilm communities in fixed-film reactors treating aromatic hydrocarbons in groundwater. *Appl Environ Microbiol*, 63:270-276.
- [13] Takizawa, N. Y. (1995). A locus of *Pseudomonas pickettii* DTP0602, had, that encodes 2, 4, 6-trichlorophenol-4-dechlorinase with hydroxylase activity, and hydroxylation of various chlorophenols by the enzyme. *J Ferment Bioeng*, 80:318-326.
- [14] Kiyohara, H. H. (1992). Isolation of *Pseudomonas pickettii* strains that degrade 2, 4, 6-trichlorophenol and their dechlorination of chlorophenols. *Appl Environ Microbiol*, 58: 1276-1283.