

JURNAL

**KEMAMPUAN DEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
MINYAK SECARA MOLEKULER DENGAN SEKUENS 16S rRNA**

OLEH

**NURUL SHAUMI
1404110902**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2018**

DEGRADATION ABILITY AND IDENTIFICATION OF OIL DEGRADATION BACTERIA BY 16S rRNA SEQUENCING

Nurul Shaumi ⁽¹⁾, Nursyirwani ⁽²⁾ and Feliatra ⁽²⁾

Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau
nurulshaumi23@gmail.com

ABSTRACT

Pollution in the marine environment caused by industrial activity, marine transportation, offshore mining and oil refineries, one of which comes from petroleum contamination. One of efforts to prevent and to manage oil pollution was by the use of oil degrading bacteria. The objective of this research was to examine degradation ability of marine bacteria isolates and identify the bacterial isolate based on 16S rRNA sequence. The research was conducted from March to May 2018. The oil degradation analysis was conducted at Laboratory of Marine Microbiology, Faculty of Fishery and Marine Science, while the molecular identification of bacteria was done in Genetics Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Riau. The results showed that five isolates of oil degradation bacteria, selected (BM 1d, BM 7b, BM 7c, BM 14a and BM 14b) were able to degrade crude oil at different concentrations. The highest degradation at 1% concentration is indicated by BM 14b isolate, at 2% concentration was indicated by BM 1d isolate and at 3% concentration was indicated BM 14b isolate. From the degradation analysis results, three isolates (BM 1d, BM 14a, BM 14b) have the highest degradation ability to determine the type of oil degrading bacteria. The molecular identification results by the 16S rRNA sequencing and BLAST analysis showed that BM 1d isolate were similar to *Bacillus* sp. (95%), BM 14a isolate were similar to *Bacillus flexus* (92%) and BM 14b isolate were similar to *Bacillus cereus* (98%).

Keyword : Oil Degradation Bacteria , Crude Oil, 16S rRNA, Bacillus

(1) Student of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

(2) Lecturer of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

KEMAMPUAN DEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DENGAN SEKUENS 16S rRNA

Nurul Shaumi ⁽¹⁾, Nursyirwani ⁽²⁾ dan Feliatra ⁽²⁾

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru
nurulshaumi23@gmail.com

ABSTRAK

Pencemaran di lingkungan laut yang disebabkan oleh aktivitas industri, transportasi laut, penambangan lepas pantai dan pengilangan minyak, salah satunya berasal dari pencemaran minyak bumi. Salah satu upaya dalam mencegah dan menanggulangi pencemaran minyak, yaitu dengan bantuan bakteri pendegradasi minyak. Tujuan penelitian ini adalah menguji kemampuan degradasi bakteri laut dan untuk mengidentifikasi isolat bakteri menggunakan 16S rRNA. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Maret sampai Mei 2018. Uji degradasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan, sedangkan identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan di Laboratorium Genetika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lima isolat bakteri pendegradasi minyak yang dipilih (BM 1d, BM 7b, BM 7c, BM 14a dan BM 14b) mampu mendegradasi *crude oil* pada konsentrasi berbeda. Degradasi tertinggi pada konsentrasi 1% ditunjukkan oleh isolat BM 14b, pada konsentrasi 2% ditunjukkan oleh isolat BM 1d dan pada konsentrasi 3% ditunjukkan oleh isolat BM 14b. Dari hasil uji degradasi, diambil tiga isolat (BM 1d, BM 14a, BM 14b) yang mempunyai kemampuan degradasi tertinggi untuk menentukan jenis bakteri pendegradasi minyak. Hasil identifikasi secara molekuler dengan sekuens 16S rRNA dan analisis BLAST menunjukkan isolat BM 1d memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. (95%), isolat BM 14a memiliki kemiripan dengan *Bacillus flexus* (92%) dan isolat BM 14b memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* (98%).

Kata kunci : Bakteri pendegradasi minyak, *Crude Oil*, 16S rRNA, *Bacillus*

(1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

(2) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

PENDAHULUAN

Pencemaran di lingkungan laut yang disebabkan oleh aktivitas industri, transportasi laut, penambangan lepas pantai dan pengilangan minyak, salah satunya berasal dari pencemaran minyak bumi. Pencemaran minyak bumi secara langsung maupun tidak langsung dapat mempengaruhi kehidupan biota di laut, kerusakan lingkungan laut, serta menurunkan kualitas lingkungan laut.

Pencegahan dan penanggulangan pencemaran minyak di perairan laut telah dilakukan dengan berbagai teknik, baik secara fisika, kimia maupun biologi. Penanggulangan pencemaran minyak secara fisika dan kimia dikhawatirkan menambah efek toksiknya bagi organisme hidup. Penanggulangan secara biologi merupakan alternatif untuk mengatasi limbah minyak bumi, tanpa merusak lingkungan dengan memanfaatkan mikroorganisme pendegradasi minyak. Pencegahan dan pengendalian pencemaran minyak dengan bantuan mikroba tengah berkembang dan berpotensi dimasa mendatang karena teknologinya yang ramah lingkungan.

Mikroorganisme laut yang memegang peranan dalam pendegradasi minyak adalah bakteri hidrokarbonoklastik (HCB). Pencemaran minyak yang terjadi di lingkungan laut sebagian besar ditentukan oleh kehadiran dan aktivitas bakteri ini (Berry dan Gutierrez, 2017). Bakteri pendegradasi minyak adalah mikroba yang dapat hidup dan berperan dalam penguraian minyak. Bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangan-biaknya (Sayuti dan Suratni, 2015).

Dalam aktivitasnya, bakteri ini memerlukan molekul karbon sebagai salah

satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangan biaknya, sedangkan senyawa non hidrokarbon merupakan nutrisi pelengkap yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya (Trinanda, 2015). Sebagian besar, lingkungan laut mengandung bakteri pendegradasi hidrokarbon dengan kemampuan metabolisme yang berbeda. Bakteri ini dikategorikan sesuai dengan sumber karbon yang digunakan (Romo *et al.*, 2013).

Uji degradasi dengan teknik biodegradasi digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi minyak. Bakteri akan mendegradasi minyak sesuai dengan kebutuhan hidup bakteri tersebut. Salah satunya menggunakan analisis gravimetri. Gravimetri adalah suatu analisa dimana cara penetapannya dilakukan dengan pengukuran berat komponen yang dikehendaki, dalam keadaan murni setelah melalui proses pemisahan (Wenti, 2016)

Identifikasi bakteri pendegradasi minyak tidak hanya dilakukan dengan uji morfologi, fisika, kimia, biokimia saja, tetapi dengan dapat juga menggunakan analisis rangkaian PCR sekuens 16S rRNA untuk mengetahui hubungan kekerabatannya antar jenis atau genus bakteri tersebut.

Perbandingan sekuens 16S rRNA merupakan alat yang berguna untuk mengetahui filogenetik dan evolusi diantara bakteri dan prokariot lain karena gen ini mengandung sejumlah besar pola sekuens dan merupakan penyandi protein ribosom. Gen 16S rRNA merupakan bagian dari DNA yang sering digunakan untuk tujuan taksonomi. Gen tersebut bersifat stabil, terdistribusi secara luas di sel dan tersimpan dengan baik pada jarak filogenik yang luas. Oleh karena itu,

identifikasi bakteri dilakukan melalui analisis gen 16S rRNA karena ketersediaan datanya di bank data cukup bagus dan mudah di amplifikasi menggunakan PCR (Farini *et al.*, 2017). Penelitian bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri dalam mendegradasi *crude oil* dan mengidentifikasi isolat-isolat bakteri tersebut secara molekuler dengan sekuens 16S rRNA.

METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret - Mei 2018. Uji degradasi bakteri pendegradasi minyak dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan, sedangkan identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan di Laboratorium Genetika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen untuk menguji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak mentah (*crude oil*) dan dilanjutkan dengan mengidentifikasi jenis bakteri pendegradasi minyak secara molekuler.

Uji Kemampuan Degradasi Bakteri dalam Mendegradasi *Crude Oil*

Sumber isolat bakteri berasal dari Perairan Sungai Pakning Bengkalis Provinsi Riau. Isolat bakteri diremajakan kembali menggunakan media MA untuk mendapatkan isolat murni baru. Isolat bakteri ditumbuhkan ke media TSB untuk digunakan sebagai suspensi bakteri uji, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C. Setelah diinkubasi, nilai absorbansi suspensi dihitung menggunakan spektro-

fotometer dengan panjang gelombang 620 Hz. Nilai absorbansi suspensi dibandingkan dengan *Mac Farland 0.5 Standard* yang setara dengan 10^8 CFU/ml. Jika nilai absorbansinya masih tinggi dari nilai absorbansi *Mac Farland 0.5 Standard* maka ditambahkan PBS, Jika terlalu bening maka ditambahkan bakteri.

Suspensi bakteri uji diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan ke media SMSSe cair (CaCO_3 , NH_4NO_3 , Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , MnCl_2 , *yeast extract*) 100 ml yang mengandung *crude oil* 1%, 2% dan 3% secara terpisah. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang dan diaduk menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm, lalu dilakukan analisis kadar minyak sisa pada hari ke tujuh.

Hasil uji degradasi dianalisis dengan statistik ANOVA *one way* menggunakan SPSS 16.0

Analisis Kadar Minyak secara Gravimetri

Kadar minyak dari setiap percobaan dianalisis secara gravimetri. Media tumbuh hasil perlakuan dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 3 ml HCl 3 N dan 40 ml n-heksan, kemudian dikocok selama ± 15 menit lalu didiamkan sampai n-heksan terpisah, sampai membentuk tiga lapisan, yaitu minyak, n-heksan dan air. Bagian air dibuang, lapisan minyak dan n-heksan disaring dengan kertas saring yang telah diolesi $\pm 0,5$ g Na_2SO_4 ke dalam gelas kimia 200 ml yang telah ditimbang. Gelas kimia dipanaskan pada suhu 90 °C (sesuai dengan titik didih n-heksan) sampai n-heksan menguap, dan yang tersisa hanya minyak. Kadar minyak sisa dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar minyak (g)} = (W_2 - W_1)$$

W_1 : berat gelas kimia awal (g)

W₂ : berat gelas kimia akhir (g)

Identifikasi Bakteri dengan Sekuens 16S rRNA dan Analisis BLAST

Isolat bakteri yang telah diremajakan ditumbuhkan ke media TSB, kemudian diisolasi untuk mendapatkan DNAny, selanjutnya dielektroforesis untuk melihat keberadaan DNA total, dilanjutkan dengan proses amplifikasi menggunakan PCR untuk mendapatkan ukuran fragmen DNA 1500 bp sesuai dengan ukuran untuk gen 16S rRNA.

Sampel DNA bakteri yang telah diamplifikasi, dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia untuk dilakukan purifikasi dan sekuensing. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan BLAST melalui website <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> dan pembuatan pohon filogenetik bakteri menggunakan program MEGA 7.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan Degradasi Isolat Bakteri Pendegradasi *Crude Oil*

Hasil kemampuan degradasi lima isolat bakteri pendegradasi minyak terhadap *crude oil* dengan konsentrasi 1%, 2% dan 3% selama tujuh hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa lima isolat bakteri mampu mendegradasi *crude oil* pada konsentrasi tertentu.

Degradasi minyak mentah pada konsentrasi 1% tertinggi ditunjukkan oleh isolat BM 14b dengan persentase minyak yang terdegradasi sebesar 85%, pada konsentrasi 2%, degradasi tertinggi ditunjukkan oleh isolat BM 1d dengan persentase sebesar 46% dan pada konsentrasi 3% ditunjukkan oleh isolat BM 14b dengan persentase sebesar 34,67%. Adanya perbedaan jumlah kadar minyak yang terdegradasi dari masing-masing isolat bakteri disebabkan oleh kemampuan bakteri yang berbeda-beda dalam memeta-bolisme senyawa hidrokarbon.

Hasil ANOVA *one way*, kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi *crude oil* menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata. Nilai probabilitas signifikansi yang didapat, yaitu 0.00 yang berarti ada pengaruh perbedaan konsentrasi minyak mentah terhadap kemampuan degradasi bakteri pendegradasi minyak. Jika konsentrasi minyak yang diberikan terlalu tinggi dengan medium kurang memadai maka minyak yang terdegradasi akan sedikit. Menurut Farag *et al.* (2018), konsentrasi minyak yang tinggi dapat memperlambat laju biodegradasi oleh bakteri. Hal ini disebabkan karena konsentrasi yang tinggi dapat mempe-ngaruhi kerja enzim yang dihasilkan oleh bakteri sehingga bakteri tidak dapat berkembang dengan baik (Andhini, 2017).

Tabel 1. Kemampuan bakteri dalam mendegradasi *crude oil*

Isolat	Kadar Minyak Awal (ml)			Kadar Minyak Sisa (ml)			Jumlah Minyak Terdegradasi (ml)			Persentase Minyak Terdegradasi (%)		
	1%	2%	3%	1%	2%	3%	1%	2%	3%	1%	2%	3%
BM 1d	1	2	3	0.20	1.08	2.03	0.80	0.92	0.97	80	46*	32.33
BM 7b	1	2	3	0.49	1.17	2.14	0.63	0.83	0.86	63	41.5	28.67
BM 7c	1	2	3	0.37	1.17	2.04	0.51	0.83	0.96	51	41.5	32
BM 14a	1	2	3	0.34	1.09	2.07	0.66	0.91	0.93	66	45.5	31
BM 14b	1	2	3	0.15	1.23	1.96	0.85	0.77	1.04	85*	38.5	34.67*

Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Pendegradasi *Crude Oil*

Hasil dari isolasi bakteri pendegradasi *crude oil* yang telah dilakukan oleh Andhini (2017) menunjukkan bahwa morfologi pada isolat BM 1d, BM 7b, BM 7c, BM 14a, dan BM 14b berbeda-beda. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa kelima isolat memiliki bentuk bulat dengan elevasi timbul, empat isolat berwarna putih dengan tepian licin dan satu isolat berwarna kuning dengan tepian berombak. Tabel 2. Morfologi isolat bakteri pendegradasi *crude oil*

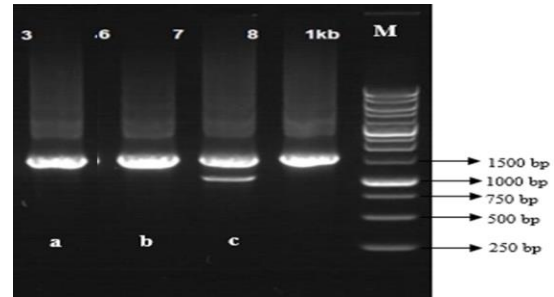
Isolat	Morfologi			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
BM 1d	Bulat	Putih Besar	Licin	Timbul
BM 7b	Bulat	Kuning Kecil	Berombak	Timbul
BM 7c	Bulat	Putih Kecil	Licin	Timbul
BM 14a	Bulat	Putih Kecil	Licin	Timbul
BM 14b	Bulat	Putih Besar	Licin	Timbul

Sumber: Andhini (2017)

Visualisasi Pita DNA Hasil PCR

Hasil dari kemampuan degradasi dalam mendegradasi minyak, diambil tiga isolat bakteri terbaik untuk menentukan jenis bakteri pendegradasi minyak, yaitu isolat BM 1d, BM 14a dan BM 14b. Hasil elektroforesis DNA menggunakan gel agarose 0,8% dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil visualisasi pita DNA pada Gambar 1 menunjukkan bahwa ukuran fragmen DNA pada tiga isolat adalah 1500 bp.



Gambar 1. Visualisasi pita DNA isolat bakteri pendegradasi minyak

Keterangan: M : Marker

a. BM 1d

b. BM 14a

c. BM 14b

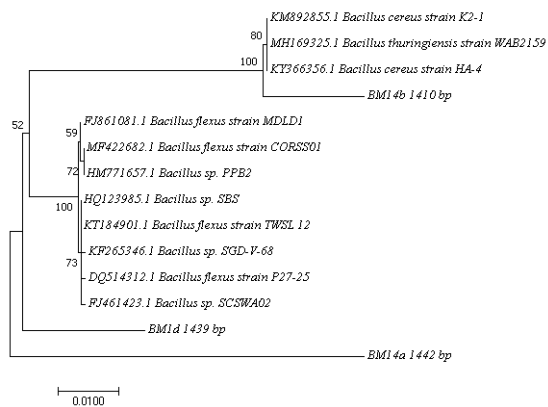
Analisis BLAST dan Filogenetik Bakteri Pendegradasi Minyak

Sekuensing DNA bakteri pendegradasi minyak dilakukan menggunakan Primer 24F dan 1541R. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Analisis BLAST digunakan untuk menemukan tingkat kemiripan spesies bakteri dan menentukan tingkat homologi DNA dari sekuens isolat bakteri yang dimiliki dengan basis data yang sudah di database *GenBank*. Hasil analisis BLAST dan pohon filogenetik dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa tiga isolat yang telah dianalisis menggunakan BLAST memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* dengan nilai homologi yang berbeda-beda. Persentase *query coverage* dari panjang nukleotida isolat bakteri yang digunakan selaras dengan jenis bakteri yang didapat dari database *GenBank*.

Tabel 3. Identifikasi bakteri pendegradasi minyak dengan analisis BLAST

Isolat	Spesies	Strain	Query coverage	Homologi	Accession
BM 1d	<i>Bacillus</i> sp.	SCSWA02	100%	95%	FJ461465.1
BM 14a	<i>Bacillus flexus</i>	MDLD1	100%	92%	FJ861081.1
BM 14b	<i>Bacillus cereus</i>	HA-4	100%	98%	KY366356.1



Gambar 2. Pohon Filogenetik Bakteri Pendegradasi Minyak Menggunakan Neighbor-joining tree, Program MEGA 7

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat BM 1d memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. Strain SCSWA02, isolat BM 14a memiliki kemiripan dengan *Bacillus flexus* Strain MDLD1 dan isolat BM 14b memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* Strain HA-4.

Berdasarkan hasil analisis BLAST, isolat BM 1d memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. strain SCSWA02 dengan tingkat homologi 95%. Hal ini menandakan bahwa tingkat kemiripan bakteri hanya sampai ke tingkat genus saja. Pada isolat 14b, bakteri memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* strain HA-4 dengan homologi sebesar 98%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kemiripan bakteri sampai ke tingkat spesies. Isolat BM 14a kemungkinan mempunyai tingkat kemiripan terhadap *Bacillus flexus* strain MDLD1 dan isolat BM 1d. Jika dilihat dari tingkat homologinya, yaitu 92%, isolat BM 14a merupakan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum terdaftar pada GenBank.

Menurut Lusiano (2007), isolat yang mempunyai tingkat homologi sekuens 16S rRNA lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Tingkat

homologi sekuens 16S rRNA antara 93-97% dapat mewakili identitas bakteri pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Jika tingkat homologi di bawah 93%, kemungkinan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum masuk dalam database *GenBank*.

Tingkat homologi yang tidak mencapai 100% disebabkan adanya perbedaan basa nitrogen. Hal ini dikarenakan nilai *identities* jenis bakteri yang didapat tidak sama dengan nilai *identities* jenis bakteri yang dijadikan acuan dari hasil penyejajaran. Perbedaan ini dapat juga disebabkan adanya daerah *gap* pada basa nitrogen. Daerah *gap* merupakan daerah kosong pada hasil penyejajaran.

Beberapa jenis bakteri yang merupakan pendegradasi hidrokarbon yang efektif di lingkungan alami telah diisolasi, salah satunya adalah *B. cereus*. Spesies bakteri ini memiliki kemampuan degradasi yang tinggi dalam mendegradasi *crude oil*. Sesuai dengan penelitian Kiranmai dan Anima (2017), dari sepuluh isolat bakteri dengan jenis berbeda yang diuji untuk mendegradasi minyak, *B. cereus* memiliki kemampuan degradasi yang tertinggi dalam mendegradasi minyak dibandingkan dengan strain lainnya. *B. cereus* telah diketahui sebagai mikroba hidrokarbonoklastik yang dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon dalam kondisi lingkungan non-salin dan beberapa sering ditemukan pada lingkungan dengan kondisi salinitas tinggi (Bhaktinagara, *et al.*, 2015).

B. flexus merupakan salah satu bakteri yang mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon. *B. flexus* mampu menghilangkan polutan organik yang ada di dalam air limbah petrokimia dan dijadikan alternatif untuk bioremediasi.

Ada beberapa keuntungan yang didapat dari mikroorganisme pendegradasi

minyak, antara lain populasi alami sudah beradaptasi dan berkembang dengan baik di lingkungannya dan kemampuan untuk menggunakan hidrokarbon telah disebarkan dalam populasi mikroba, populasi ini terbentuk secara alamiah dan di daerah tercemar yang jumlah mikro-organismenya cukup tidak perlu lagi ditambahkan mikroorganisme untuk membantu degradasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil uji degradasi *crude oil*, lima isolat bakteri pendegradasi minyak, yaitu isolat BM 1d, BM 7b, BM 7c, BM 14a dan BM 14b mampu mendegradasi *crude oil* dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Degradasi tertinggi dengan konsentrasi 1% dan 3% ditunjukkan oleh isolat BM 14b dan untuk konsentrasi 2% ditunjukkan oleh isolat BM 1d.

Hasil identifikasi secara molekuler dengan sekuens 16S rRNA dan analisis BLAST menunjukkan isolat BM 1d memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. (95%), isolat BM 14a memiliki kemiripan dengan *Bacillus flexus* (92%) dan isolat BM 14b memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* (98%).

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan analisis laju pertumbuhan bakteri selama degradasi, perlu dilakukannya perbandingan uji bakteri tunggal dan bakteri konsorsium dalam pendegradasian *crude oil*.

DAFTAR PUSTAKA

Andhini, N., 2017. Isolasi bakteri pendegradasi minyak di perairan sekitar Pelabuhan Bengkalis Provinsi Riau. Skripsi. Universitas Riau. Pekanbaru

- Berry, D. dan T. Guttler. 2017. Evaluating the Detection of Hydrocarbon-Degrading Bacteria in 16S rRNA Gene Sequencing Surveys. *Frontiers in Microbiology*. 8(896): 1-6
- Bhaktinagara, R.A., A. Supriyadi dan B. Raharjo. 2015. Biodegradasi senyawa hidrokarbon oleh strain *Bacillus cereus* (VIC) pada kondisi salinitas yang berbeda. *Jurnal Biologi*. 4(3): 62-71
- Farag, S., N.A. Soliman dan Y.R. Abdel-Fattah. 2018. Statistical optimization of crude oil bio-degradation by a local marine bacterium isolate *Pseudomonas* sp. sp48. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 1-12
- Farini, N., A. Thontowi, E. Yetti, Suryani dan Yopi. 2017. Pertumbuhan bakteri laut *Hewanella indica* LBF-1-0076 dalam naftalena dan deteksi gen naftalena dioksigenase. *Biopropal Industri*. 8(1): 19-31
- Karinmai, M.R. dan S.D. Anima. 2017. Isolation of marine bacteria from Visakhapatnam Coast for degradation of oil. *Bioremediation & Biodegradation*. 8 (3): 1-4
- Lusiano, A. 2007. Isolasi dan Karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik dengan sekuens 16S rDNA dari sedimen Perairan Dumai. Skripsi. Universitas Riau. Pekanbaru
- Romo, D.R., M.I.G. Perdomo, M.C. Obando, D. Bravo and P.F. Izquierdo. 2013. Characterization of hydrocarbonoclastic marine bacteria using the 16S rRNA gene: a microcosm case study. *Dyna*. 80 (180): 122-129
- Sayuti, I. dan Suratni. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri hidrokarbono-

klastik dari limbah cair minyak bumi
GS Cevron Pasifik Indonesia di Desa
Benar Kecamatan Rimba Melintang
Rokan Hilir. Prosiding Semirata 2015
bidang MIPA BKS-PTN Barat.
Pontianak

Trinanda, R., 2015. Efektivitas bakteri
pendegradasi hidrokarbon minyak
berat yang diisolasi dari ekosistem Air
Hitam Tanjung Jabung Timur Jambi.
Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Wenti, M.J.S., 2012. Biodegradasi *oil
sludge* dengan variasi lama waktu
inkubasi dan jenis konsorsium bakteri
yang diisolasi dari lumpur Pantai
Kenjeran. Skripsi. Universitas
Airlangga. Surabaya