

JURNAL

**ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN
DARI LUMPUR SUNGAI SIAK,
DISEKITAR PELABUHAN SUNGAI DUKU, PEKANBARU**

OLEH

VERA LINDA ROMA ULI BR SIMANJUNTAK



**JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

Isolasi Dan Seleksi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Lumpur Sungai Siak, Disekitar Pelabuhan Sungai Duku, Pekanbaru

Oleh :

Vera Linda Uli Simanjuntak¹⁾, M. Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾
E-mail : verasimanjuntak77@gmail.com

Abstrak

Aktivitas yang ada di pelabuhan Sungai Duku menyebabkan pencemaran minyak yang dapat memicu mutasi gen bakteri tertentu dan dapat menghasilkan biosurfaktan untuk mendegradasi minyak. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan bakteri penghasil biosurfaktan di sekitar pelabuhan Sungai Duku Pekanbaru yang dilakukan dari Juni hingga Juli 2018. Sampel lumpur yang terkena tumpahan minyak dibawa ke laboratorium dan diukur sebanyak 5 gram. Selanjutnya, sampel dilarutkan dalam 45 ml larutan Phosphate Buffered Saline (PBS). Kemudian, ambil 2 ml sampel dan tambahkan ke media enrichment (media penyubur) dan diinkubasi selama 1 x 24 jam dalam inkubator shaker. Setelah masa inkubasi, 0,1 ml sampel diambil dari media enrichment dan gores ke dalam media Blood Agar dan MacConkey, setelah itu sampel diinkubasi selama 1 x 24 jam sampai bakteri tumbuh di media. Sampel bakteri yang telah tumbuh diambil dan dipindahkan ke media Blood Agar dan MacConkey yang baru, setelah itu dilakukan uji biokimia. Karakteristik morfologis dan biokimia menunjukkan bahwa ada 2 spesies bakteri yang ditemukan, yaitu *Proteus* sp dan *Enterobacter* sp.. Indeks emulsifikasi adalah *Proteus* sp was 42.5% dan *Enterobacter* sp 50%, menunjukkan bahwa bakteri yang diperoleh adalah potensi untuk memproduksi biosurfaktan.

Keywords : *klebsiella* sp, *Biodegradasi*, *Polusi Minyak*, *Biokimia*, *Emulsifikasi Indeks*

1). Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

2). Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

Isolation and Selection of Biosurfactant-Producing Bacteria from Sludge Siak River, Around Sungai Duku Port of Pekanbaru

By:

Vera Linda Uli Simanjuntak¹⁾, M. Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾

E-mail : verasimanjuntak77@gmail.com

Abstract

Activities in the Sungai Duku port was causing oil pollution which then trigger gene mutation in specific bacteria. The bacteria may produce biosurfactants for degrading the oil. A study aims to obtain the biosurfactant producing bacteria from oil polluted sludge was conducted from June to July 2018. The sludge sample was taken to laboratory and 2 ml of the sample was mixed with Enrichment media to grow up the bacteria. The bacteria were isolated and purified using Blood Agar and MacConkey media. The purified bacteria were then morphologically studied and biochemically tested. Morphological and biochemical characteristics shown that there were 2 bacteria species, namely *Proteus* sp and *Enterobacter* sp. Emulsification Index of the *Proteus* sp was 42.5% and *Enterobacter* sp was 50%, indicating that those bacteria were potensial for producing biosurfactant.

Keywords : *Enterobacter* sp, *Proteus* sp, *Biodegradation*, *Oil pollutant*, *Emulsification Index*

¹⁾ **Student of the Fisheries and Marine Science Faculty, Riau University**

²⁾ **Lecture of the Fisheries and Marine Science Faculty, Riau University**

PENDAHULUAN

Minyak bumi merupakan campuran kompleks senyawa organik terdiri atas senyawa hidrokarbon dan non hidrokarbon yang berasal dari sisa-sisa mikroorganisme, tumbuhan dan hewan yang tertimbun selama

berjuta-juta tahun. Senyawa hidrokarbon sulit diuraikan karena dapat menguap, tersapu air hujan, atau masuk kedalam tanah dan mengendap sebagai zat beracun (Kurwati, 2009). Minyak bumi dimanfaatkan sebagai sumber energi dalam kegiatan industri, transportasi

dan rumah tangga. Aktivitas transportasi baik di darat maupun di perairan menggunakan minyak bumi sebagai sumber energi. Kegiatan transportasi di perairan umumnya dilakukan di pelabuhan, salah satunya di pelabuhan Sungai Duku.

Pelabuhan Sungai Duku merupakan pelabuhan yang terdapat di kota Pekanbaru ibukota provinsi Riau tepatnya di jalan Tanjung Datuk. Pelabuhan Sungai Duku adalah prasarana transportasi untuk keperluan singgah, menurunkan dan mengangkut penumpang serta barang dari kapal, pengisian bahan bakar, bongkar muat barang dan pembuangan air *ballast*. Lalu lintas kapal yang berlabuh dan berangkat dari pelabuhan Sungai Duku menimbulkan konsekuensi yaitu kecenderungan meningkatnya volume buangan kapal yang khususnya mengandung minyak, Hal ini menyebabkan minyak melayang dipermukaan perairan sehingga berpotensi menyebabkan pencemaran.

Pencemaran tumpahan minyak memberikan dampak yang sangat serius terhadap lingkungan perairan, khususnya terhadap

bermacam-macam organisme yang hidup pada ekosistem perairan. Upaya untuk menanggulangi pencemaran minyak telah banyak dilakukan, namun seringkali dapat menimbulkan masalah pencemaran baru bagi lingkungan. Misalnya penanggulangan pencemaran minyak dengan menggunakan surfaktan sintetik yang bersifat toksik bagi lingkungan (Ni'matuzahroh *et al*, 2006). Suatu metode yang telah banyak diteliti untuk menanggulangi masalah pencemaran minyak bumi adalah menggunakan surfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dikenal dengan biosurfaktan.

Biosurfaktan merupakan salah satu sumber energi alternatif yang disintesis secara ekstraselular oleh mikroba dengan aktivitas sebagai penurun tegangan permukaan (Takahashi *et al*, 2011). Biosurfaktan memiliki beberapa keunggulan yaitu toksisitas rendah, dapat diuraikan secara biologi (*biodegradable*), bahan baku tersedia di alam dalam jumlah besar dan murah (Rodrigues *et al*, 2006).

Parra *et al*. (2000) menyatakan bahwa bakteri penghasil biosurfaktan banyak ditemukan pada

daerah yang tercemar minyak. Untuk itu, perlu dicari jenis mikroorganisme yang aktif mendegradasi minyak bumi, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan seleksi bakteri penghasil biosurfaktan dari lumpur sekitar pelabuhan Sungai Duku. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri penghasil biosurfaktan asal lumpur yang terkontaminasi oleh minyak di pelabuhan Sungai Duku dan mengetahui sejauh mana isolat bakteri tersebut dapat menghasilkan biosurfaktan.

Pencemaran minyak merupakan masalah yang dapat merusak lingkungan. Salah satu cara mengatasinya adalah menggunakan teknik yang lebih ramah lingkungan yaitu pemanfaatan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri yang ada di lingkungan terutama di daerah yang tercemar minyak. Untuk menanggulangi pencemaran minyak bumi tersebut dapat dilakukan dengan proses biologi, yaitu mendegradasi kandungan minyak bumi dilingkungan dengan memanfaatkan bakteri penghasil surfaktan yang disebut biosurfaktan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan bulan Juni-Juli 2018. Dan untuk pengambilan sampel dilakukan dari lumpur sungai Siak di sekitar pelabuhan Sungai Duku, Pekanbaru. Selanjutnya proses isolasi bakteri, uji biokimia dan uji emulsifikasi dilakukan di UPT. Laboratorium Kesehatan dan Lingkungan Dinas Kesehatan Pekanbaru, Riau. penelitian yang dilakukan

Prosedur Penelitian

Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan dan mematikan semua mikroorganisme yang ada pada alat berupa *glassware* (tabung reaksi, cawan petri, dan media lain-lain) dan bahan media kerja bakteri. Alat dan bahan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian alat dan bahan yang telah disterilkan disimpan.

Pengambilan Sampel

Sampel pada penelitian ini diambil dari lumpur sungai Siak, di sekitar pelabuhan Sungai Duku Pekanbaru tepatnya dibawah dermaga pelabuhan saat air surut.

Sampel diambil Sebanyak 5 titik secara acak, artinya penentuan titik pengambilan sampel ditentukan secara sengaja dengan melihat adanya tumpahan atau ceceran minyak pada permukaan lumpur yang terakumulasi minyak. Sampel lumpur diambil menggunakan sendok yang telah disterilkan pada permukaan lumpur sebanyak ± 100 gr untuk masing-masing titik sampel (Husen, 2007). Kemudian sampel dikompositkan lalu dimasukkan ke dalam botol sampel steril dan dimasukkan ke dalam *cool box* yang telah berisi es batu. Adapun tujuan dari pengkompositan sampel ini adalah untuk mengurangi biaya dalam proses identifikasi di laboratorium.

Isolasi dan Kultur Bakteri

Sampel yang telah diambil dari lumpur sungai Siak, di sekitar pelabuhan Sungai Duku dibawa ke laboratorium, kemudian sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam 45 ml larutan *Phosphat Buffered Saline* (PBS) yang berfungsi untuk melarutkan sampel lumpur. Selanjutnya, sampel pada larutan PBS dimasukkan sebanyak 2 ml ke dalam media

Enrichment (media penyubur) dan diaduk dengan *incubator shaker* selama 1 x 24 jam dengan suhu 35-37⁰C (Medicago, 2010).

Sampel pada media *Enrichment* diambil sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan *sputit* lalu ditanam ke dalam media MC dan BA kemudian diinkubasi selama 1x 24 jam pada suhu 35-37⁰C sampai bakteri tumbuh di media. Bakteri yang menampilkan morfologi berbeda diambil koloninya dan dipindahkan ke media baru MC, lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam dengan suhu 35-37⁰C .

Identifikasi Bakteri

Isolat murni yang didapatkan selanjutnya diidentifikasi dengan pengamatan morfologi, pewarnaan gram dan uji biokimia yang mengacu pada buku identifikasi bakteri *Bergey Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition*. Secara morfologi yaitu warna koloni, tepi koloni, bentuk sel. Secara biokimia meliputi uji katalase, uji TSIA, uji sulfida, uji indol, uji motilitas, uji urease dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, manosa, sukrosa).

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk membedakan bakteri gram positif atau gram negatif. Bakteri dalam media MC dan BA diambil menggunakan jarum ose steril kemudian dioleskan pada *object glass*. Selanjutnya diberi 1 tetes larutan *crystal violet*, didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan aquades dan dikering anginkan. Setelah itu ditetesi larutan *iodine* dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya. Isolat bakteri bersifat gram negatif jika berwarna pink/kemerahan dan gram positif jika berwarna ungu (Pelczar and Chan 2007).

Uji Katalase

Prosedur uji katalase mengacu pada Wahid (2009), yaitu bakteri murni dalam media MC diambil salah satu koloni dengan menggunakan jarum ose steril dan dioleskan pada *object glass*, kemudian teteskan larutan H_2O_2 sebanyak 1 tetes lalu diamati perubahan bakteri. Hasil untuk katalase positif apabila bakteri yang diberikan larutan ada gelembung. Untuk hasil katalase negative apabila bakteri yang diberikan larutan tidak ada gelembung.

Uji TSIA

Bakteri murni pada media MC diinokulasi sebanyak satu ose ke dalam media TSIA dengan cara menusuk tegak lurus pada bagian *butt* (tusuk) dan cara *zig zag* pada bagian *slant* (miring) dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Selanjutnya diamati perubahan warnanya, jika agar tegak berwarna merah dan agar miring berwarna kuning menunjukkan hanya glukosa yang berfermentasi. Jika kedua agar miring dan tegak berwarna merah menunjukkan glukosa dan sakrosa atau laktosa tidak berfermentasi. Jika agar tegak berwarna kuning dan agar miring merah menunjukkan fermentasi laktosa dan sakrosa. Jika kedua agar baik tegak maupun miring berwarna kuning menunjukkan glukosa maupun sakrosa atau laktosa berfermentasi.

Uji Sulfida

Pada uji sulfida bakteri murni pada media MC dipindahkan kedalam media TSIA dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$, kemudian diamati perubahan warnanya. Jika media berubah menjadi kehitaman menandakan bakteri menghasilkan sulfida (H_2S)

sedangkan media tidak berubah menjadi kehitaman menandakan bakteri tidak menghasilkan sulfida (H_2S) (Waluyo, 2010).

Uji Indol

Pada uji indol bakteri murni pada media MC dipindahkan ke dalam media indol dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. kemudian diberikan larutan *reagen kovacs* 2 tetes dan diamati perubahan warnanya. Pada uji indol (+) jika terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan artinya bakteri membentuk indol sebagai sumber karbon. Pada indol (-) jika tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan artinya bakteri tidak membentuk indol sebagai sumber karbon (Widyawati, 2012).

Uji Motilitas

Pada uji motilitas bakteri murni pada media MC dipindahkan ke dalam motil dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. kemudian diamati perubahan warnanya. Pada uji motilitas ditandai dengan menyebarnya bakteri disekitar media tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut (+) positif sedangkan yang tidak menyebar pada

media menandakan bakteri tersebut (-) negative (Sudarsono, 2008).

Uji Urease

Bakteri murni pada media MC dipindahkan ke dalam media urease dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$, kemudian diamati perubahan warnanya. Pada uji urease (+) terjadi perubahan warna media menjadi pink/merah jambu, artinya bakteri memecah urea berbentuk amoniak. Sedangkan urease (-) tidak terjadi perubahan warna media menjadi pink/merah jambu, artinya bakteri tidak memecah urea berbentuk amoniak (Cappuccino dan Sherman, 2008).

Uji Gula

Bakteri murni pada media MC dipindahkan ke dalam media glukosa, laktosa, maltosa, manosa, dan sukrosa, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$ dan diamati perubahan warnanya. Jika hasilnya (+) terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya bakteri memfermentasi gula membentuk asam. Jika hasilnya (-) tidak terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya bakteri tidak

memfermentasi gula (Udiharto, 1992).

Uji gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, manosa, sukrosa) menandakan jika hasilnya (+) terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya bakteri memfermentasi gula membentuk asam. Jika hasilnya (-) tidak terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya bakteri tidak memfermentasi gula.

Uji Emulsifikasi

Isolat murni yang berhasil didapatkan pada tahap sebelumnya selanjutnya diseleksi untuk mendapatkan isolat yang mampu menghasilkan biosurfaktan. Seleksi dilakukan dengan uji emulsifikasi, yaitu perbandingan antara minyak solar dengan kultur cair adalah 1:3. Aktivitas emulsifikasi didefinisikan sebagai tingginya lapisan emulsi dibagi dengan (tinggi sampel ditambah dengan hidrokarbon) yang dinyatakan sebagai persentase, kemudian diukur indeks emulsifikasi (IE) dengan menggunakan rumus (Hamzah *et al.*, 2013) yaitu :

IE 24 =

$$\frac{\text{Tinggi Lapisan Emulsi}}{\text{Tinggi keseluruhan cairan}} \times 100\%$$

Analisis Data

Hasil kajian ini diperoleh data yaitu kelompok bakteri yang menghasilkan bioaurfaktan. Kemudian data hasil isolasi dan kemampuannya dalam mendegradasi minyak disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif, didukung dengan studi literatur dan hasil penelitian terdahulu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelabuhan Sungai Duku terletak antara 00°-32'—108 " LU dan 101°-27'—711" BT. Posisi pelabuhan Sungai Duku di jalan Tanjung Datuk nomor 351, kelurahan Tanjung Rhu dan kecamatan Limapuluh. Batas-batas pelabuhan, yaitu disebelah utara berbatasan dengan pemukiman warga, disebelah selatan berbatasan dengan PT. Pertamina dan disebelah timur berbatasan langsung dengan Sungai Siak. Lokasi pelabuhan Sungai Duku berbentuk segitiga.

Luas wilayah pelabuhan Sungai Duku adalah 1800 m². Di pelabuhan Sungai Duku terdapat dua jenis dermaga, yaitu dermaga beton

dan dermaga ponton. Luas dermaga beton adalah 240 m², sedangkan dermaga ponton ada 2 unit masing-masing luasnya adalah 75 m². Di pelabuhan Sungai Duku juga terdapat turap berfungsi untuk mencegah abrasi yang luasnya 100 m².

Seleksi Bakteri Penghasil Biosurfaktan

Pengukuran indeks emulsifikasi dilakukan untuk menginvestigasi aktivitas emulsi biosurfaktan yang dihasilkan oleh kedua isolat bakteri. Isolat-isolat murni yang telah berhasil diisolasi dari lumpur yang tercemar minyak bumi selanjutnya diuji aktivitas emulsinya dengan uji emulsifikasi. Menurut Choirunissa (2011), emulsi yang terjadi pada permukaan cairan dapat terjadi karena kemampuan senyawa surfaktan untuk menggabungkan

senyawa surfaktan yaitu menggabungkan senyawa polar dan senyawa non polar. Aktivitas biosurfaktan dapat dipengaruhi oleh jenis biosurfaktan yang dihasilkan masing-masing isolat bakteri berbeda. Hal ini sesuai pendapat Rosenberg (2001), yaitu perbedaan jenis biosurfaktan yang dihasilkan bakteri juga turut mempengaruhi aktivitas emulsi yang terjadi pada permukaan cairan.

Parameter Lingkungan

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah suhu, pH tanah dan minyak lemak yang bertujuan untuk mengetahui keadaan lingkungan ketika penelitian dilakukan. Hasil pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada Tabel 1:

Tabel 1. Hasil Parameter Lingkungan

No	Parameter	Hasil Pengukuran
1	Suhu (°C)	34 ⁰ C
2	pH	6,8
3	Minyak lemak	0,2 mg/L

Hasil pengukuran suhu adalah 32⁰C, hal ini menunjukkan bahwa kondisi suhu cukup hangat untuk

perkembangan bakteri. Kondisi suhu ini salah satunya disebabkan oleh intensitas cahaya matahari saat

pengambilan sampel penelitian. Berdasarkan kisaran suhu aktivitasnya, bakteri dibagi menjadi empat golongan yaitu bakteri yang dapat hidup pada suhu antara 0° - 30°C dengan suhu optimum 15°C . Bakteri mesofil adalah bakteri yang dapat hidup pada suhu antara 15° - 55°C dengan suhu optimum 25° - 40°C . Bakteri termofil adalah bakteri yang dapat hidup pada suhu tinggi antara 40° - 75°C dengan suhu optimum 50° - 65°C . Bakteri hipertermofil adalah bakteri yang hidup pada kisaran suhu 65° - 114°C dengan suhu optimum 99°C (Madigan *et al.*, 2009). Bakteri yang dapat hidup pada suhu 33°C merupakan bakteri yang dapat berpotensi menghasilkan biosurfaktan. Hal ini sesuai dengan pendapat Waluyo (2010) bahwa bakteri penghasil biosurfaktan adalah jenis bakteri mesoofilik, yaitu bakteri yang dapat tumbuh baik pada suhu 15° - 55°C . Bakteri *Proteus* tumbuh optimum pada suhu 35 - 37°C , berbentuk batang pendek (Manos, 2008). Bakteri *Enterobacter* tumbuh pada suhu 30 - 37°C (Jawetz, 2001). pH optimum pertumbuhan

bakteri berkisar antara 6,5-7,5 (Kumar *et al.*, 2006).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan 2 isolat bakteri murni T1 (*Proteus* sp.) dan T2 (*Enterobacter* sp.) Hasil uji emulsifikasi diketahui bahwa sampel T1 (*Proteus* sp.) memiliki nilai emulsifikasi 42,5% dan T2 (*Enterobacter* sp.) 50%. Bakteri penghasil biosurfaktan hasil isolasi lumpur Sungai Siak, di sekitar pelabuhan Sungai Duku Pekanbaru diketahui mempunyai potensi yang cukup baik sebagai penghasil biosurfaktan yang ditunjukkan dengan hasil indeks emulsifikasi tersebut.

Saran

Kedua isolat bakteri penghasil biosurfaktan yang diperoleh dalam penelitian ini diharapkan akan menjadi salah satu upaya terarah dalam mengatasi pencemaran lingkungan. Masih diperlukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan isolat yang lebih banyak dan mengetahui jenis spesies bakteri penghasil biosurfaktan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyushirota, 2011. Eksplorasi Bakteri Proteolitik dan Lipolitik dari Limbah Rumah Potong Hewan. Laporan Penelitian. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Anonim, 2007. Biosurfaktan . <http://www.google.com> (akses tanggal 21 November, 2017).
- Chahaya, 2003. Ikan Sebagai Alat Monitor Pencemaran. Jurnal Universitas Sumatera Utara. 21: 331-33.
- Chen, S., 2013. Application and Technology of Electronic for Clinical Diagnosis. Open Journal of Applied Biosensor. 1 (2) : 60-66.
- Choirunnisa, A. A., 2011. Tumpahan Minyak di Laut dan Beberapa Kasus di Indonesia. Majalah Bahari Jogja.
- Das, K., and A. K., Chandran, 2011. Crude Petroleum-oil Biodegradation Efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from a Petroleum-oil Contaminated Soil from North-East India. Biores Technol. 1:1339-1345.
- Desai, J. D., and I. M., 1997. Biosurfaktan in Industry. Pure Applied Chem. 64 (11): 1731-1737.
- Gandjar, A. 2006. Mikrobiologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia press. Jakarta.
- Hadioetomo, S., 1983. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Gramedia. Jakarta.
- Hamzah, S.H., S. Wellyzar., Y. Kishira, 2013. Biodegradation of Hydrocarbons in Soil by Microbial Consortium. International Biodeterioration and Biodegradation. 2 (54): 61-67.
- Haranda, B., 2015. Kepentingan Indonesia Menjalinkan Kerjasama Energi Minyak Bumi dan Gas dengan Prancis tahun 2011-2013. JOM FISIP. 2 (2): 67-74.
- Harayama, S.H., Y. Kishira., Kasai and K. Shutsubo. 1999. Petroleum Biodegradation in Marine Environments. Marine Biotechnology Insitute. 1(1):63-70.
- Hasyimi, 2010. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonolistik dari Limbah Cair Minyak Bumi GS Chevron Pasifik Indonesia. Skripsi. FMIPA Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. (Tidak diterbitkan).
- Husen, T. 2007. Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Menggunakan *Bacillus papillae* ICBB7859 di PT. Caltex Pasif Indonesia. IPB Press. Bogor
- Irianto, M. 2012. Mikrobiologi Dasar. Yrama Widya. Bandung.
- Kumar M, Leona V, Materano ADS, 2006. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation by Biosurfactants-Producing

- Pseudomonas* sp. IRI. Naturforsch 64(2): 795-799.
- Kurwati, 2009. Degradasi Hidrokarbon Pada Tanah Tercegar Minyak Bumi Dengan Isolat A10 dan D8. Skripsi. FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Makkar R. S., and K. J., Rockne 2003. Comparison of Synthetic Surfactants and Biosurfactants in Enhancing Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. Environ Toxicol Chem. 22(10): 280-292.
- Mukherjee R.C., S. Basu., P. Singh., T. Ghosal, 2006. Isolation of biosurfactant producing bacteria from environmental samples. Pharmacology. 2(3): 280-292.
- Waluyo, L., 2010. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang.
- Walter, P., A. Subbiya., V. Mahalakshmi., K. Admavathy and V.G. Sukumaran, 2010. Screening of Bacteria, Isolated from PAH Contaminated Soils, for Production of Biosurfactant and Bioemulsifiers. Biodegradation. 7: 415-423.
- Warsito, A., 2011. Pengolahan minyak bumi secara biologi. Badan Pengendali Dampak Lingkungan, Jakarta.
- Widianto, R., 2007. Kondisi Energi Primer (Minyak dan Gas) Indonesia. Dapertemen Kimia. FMIPA. Institut Pertanian Bogor. Bogor.