

JURNAL

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL
BIOSURFAKTAN DARI LUMPUR KOLAM ANAEROB IPAL
INDUSTRI MINYAK SAWIT**

**OLEH :
LOVI YONA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

**Isolation and Identification of Biosurfactant Producing Bacteria from
Anaerobic Pond Mud WWTP Palm Oil Industry**

By

Lovi Yona¹⁾, M. Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾

**Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau
loviyona123@gmail.com**

Abstract

This study aims to isolate and identify the types of biosurfactant producing bacteria in anaerobic ponds WWTP palm oil industry PT. Sawit Asahan Indah. This research was conducted from April to May 2019. Bacteria were isolated and identified biochemically and 16S R DNA method. The number of bacteria obtained is $8,3 \times 10^6$ CFU / ml. The results of the study identified three types of bacteria, namely *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter aerogenes*. The *Proteus vulgaris* emulsification index is 25%, the *Proteus mirabilis* emulsification index is 43.3% and the emulsification index *Enterobacter aerogenes* is 41.6%. This shows that all three bacteria have the potential to produce biosurfactants.

Keywords : *Biosurfactant, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Enterobacter aerogenes, Emulsification Index*

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

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

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Lumpur Kolam Anaerob IPAL Industri Minyak Sawit

Oleh

Lovi Yona¹⁾, M. Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾
Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
loviyona123@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan identifikasi jenis bakteri penghasil biosurfaktan pada kolam anaerob IPAL industri minyak sawit PT. Sawit Asahan Indah. Penelitian ini dilaksanakan pada April sampai Mei 2019. Bakteri diisolasi dan diidentifikasi secara biokimia dan metode 16S R DNA. Jumlah bakteri yang didapat sebanyak $8,3 \times 10^6$ cfu/ml. Dari hasil penelitian teridentifikasi 3 jenis bakteri yaitu *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes*. Indeks emulsifikasi *Proteus vulgaris* yaitu 25%, Indeks emulsifikasi *Proteus mirabilis* yaitu 43,3% dan Indeks emulsifikasi *Enterobacter aerogenes* yaitu 41,6%. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga bakteri berpotensi untuk menghasilkan biosurfaktan.

Kata Kunci : *Biosurfaktan, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Enterobacter aerogenes, Indeks Emulsifikasi*

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Sungai merupakan habitat bagi organisme akuatik yang keberadaannya pada saat ini sudah banyak yang tercemar. Pencemaran yang terjadi salah satunya diakibatkan dari adanya buangan limbah cair industri. Salah satu industri pada saat ini yang berkembang pesat yaitu industri pengolahan minyak sawit. Indonesia memproduksi minyak kelapa sawit terbesar di dunia (hampir 50%) yaitu sebesar 16 juta ton CPO per tahun, sehingga dapat menghasilkan limbah cair sebanyak 48 juta ton tiap tahunnya (Hadiyanto, 2011). Riau merupakan salah satu propinsi yang memiliki perkebunan kelapa sawit yang sangat luas di Indonesia. Luas perkebunan kelapa sawit di Riau pada tahun 2015 yaitu 2.424.545 Ha dengan total produksi 7.841.947 ton/tahun (Badan Pusat Statistik Riau, 2015). Setiap ton minyak sawit yang dihasilkan akan mengeluarkan limbah cair sebanyak 2,5 m³ (Ahmad, 2000).

Pencemaran lingkungan yang diakibatkan limbah cair pabrik kelapa sawit dikategorikan sebagai pencemaran lingkungan yang serius, karena karakteristik limbah cair tersebut mengandung minyak dan lemak yang cukup tinggi berkisar 190-14.720 mg/L (Ditjen PPHP, 2006), sementara itu baku mutu minyak dan lemak yang ditetapkan oleh pemerintah RI melalui Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 5 tahun 2014 yaitu sebesar 25 mg/L. Dengan adanya minyak diperairan, maka akan membentuk suatu lapisan yang menyebabkan intensitas cahaya yang masuk ke perairan terhambat, sehingga akan menyebabkan terganggunya proses fotosintesis dan mengakibatkan oksigen terlarut di

dalam perairan akan berkurang. Hal ini sangat membahayakan bagi biota biota yang ada diperairan, sehingga diperlukan suatu upaya untuk menanggulangi hal tersebut.

Pada saat ini industri minyak sawit telah mengupayakan pengolahan limbah cair yang dihasilkan dengan menerapkan sistem IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah). Limbah cair dari proses IPAL nantinya akan dimanfaatkan untuk *Land Application*. Akan tetapi belum semua pabrik kelapa sawit memiliki *Land Application* sehingga limbah dibuang ke perairan. Pada kolam IPAL minyak kelapa sawit mengandung lumpur yang didalamnya terdapat mikroorganisme terutama bakteri. Menurut Bisset *et al.*, (2007) sedimen mengandung populasi mikroorganisme yang melimpah dengan keanekaragaman yang tinggi. Bakteri dapat dijadikan sebagai metode alternatif dan ramah lingkungan untuk menanggulangi pencemaran yang dikenal dengan bioremediasi. Bakteri yang mampu menanggulangi pencemaran minyak disebut dengan bakteri penghasil biosurfaktan.

Biosurfaktan merupakan senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan agar proses bioremediasi dapat berlangsung dengan baik. penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri penghasil biosurfaktan pada limbah industri minyak sawit masih minim dilakukan. Oleh karena itu penulis tertarik melakukan penelitian dalam mengisolasi dan identifikasi bakteri dari lumpur kolam anaerob IPAL industri minyak sawit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri penghasil biosurfaktan pada kolam anaerob IPAL industri minyak sawit.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Mei 2019. Pengambilan sampel dilakukan pada lumpur kolam anaerob IPAL industri minyak sawit yang berlokasi di PT. Sawit Asahan Indah, Ujung Batu, Rokan Hulu, Provinsi Riau. Isolasi dan Identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Bakteriologi UPT Kesehatan Lingkungan Provinsi Riau.

Prosedur Penelitian

- **Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan secara acak yaitu dengan pengambilan satu titik pada setiap kolam (anaerob 1, 2, 3 dan 4) kemudian dikompositkan. Pengambilan sampel hanya dilakukan sekali. Sampel diambil menggunakan gayung pada permukaan kolam dan dimasukkan kedalam wadah botol kaca dengan volume 150 mL, kemudian botol sampel tersebut dimasukan kedalam *coolbox* yang telah diisi es batu agar suhu pada *coolbox* tersebut mendekati suhu 4 °C dimana guna untuk mengawetkan sampel sebelum dilakukan isolasi dan identifikasi.

- **Isolasi Bakteri**

Sampel yang didapat dari kolam anaerob IPAL industri minyak sawit ditimbang sebanyak 5 mg, kemudian ditambahkan 45 ml larutan BPS. Setelah itu sampel yang telah dikayakan diambil 1 ml untuk ditumbuhkan pada media BHI, setelah itu sampel di inkubasi selama

1 x 24 jam di dalam inkubator shaker sampai bakteri tumbuh. Setelah itu sampel di encerkan sampai pengenceran 10^{-6} dengan cara memasukkan 1 ml air sampel kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCL, maka didapatkan pengenceran 10^{-1} . Begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-6} . Sampel pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} kemudian diambil dan dicoretkan secara zig zag dengan menggunakan jarum ose masing masing pengenceran pada media uji berupa 1 *Blood Agar* dan 1 *Mac Conkey Agar*. Kemudian sampel yang telah dicoretkan diinkubasi selama 24 jam hingga bakteri tumbuh. Setelah tumbuh amati jenis koloni bakteri berdasarkan warna yang dihasilkan pada media. Diduga bakteri yang memiliki warna berbeda adalah bakteri dengan jenis berbeda.

- **Uji Emulsifikasi**

Isolat bakteri sebanyak 1 ose dimasukkan kedalam 4 ml NaCL dan 4 ml minyak sawit. divorteks selama 2 menit. Setelah itu didiamkan selama 1 x 24 jam agar busa yang dihasilkan stabil. Setelah stabil di ukur tinggi dari busa yang terdapat pada tabung reaksi. Apabila isolat bakteri menghasilkan busa, maka bakteri tersebut adalah bakteri biosurfaktan

- **Perhitungan Jumlah Bakteri**

Bakteri yang telah diencerkan pada pengenceran 10^{-5} kemudian ditetaskan sebanyak 1 ml ke kertas petri film. Setelah itu kertas tersebut ditekan dengan menggunakan *Aplication petrifilm*, agar cairan pada kertas menyebar dan merata. Kemudian kertas dimasukkan kedalam *incubator* dan diinkubasi selama 24 jam sampai

bakteri tumbuh. Setelah tumbuh dihitung bakteri secara manual dengan menggunakan rumus pada buku Atlas Warna Mikrobiologi Kedokteran (Hart and Shears, 1997).

- **Identifikasi Bakteri**

Identifikasi bakteri secara biokimia yang dilakukan dalam penelitian yaitu uji pewarnaan gram, uji katalase, uji oksidase, uji TSIA, uji sulfida, uji indol uji motilitas, uji *simmon citrate*, uji urease, uji glukosa, uji laktosa, uji maltosa dan uji sukrosa.

- ✓ Uji Pewarnaan Gram

Isolat diteteskan sebanyak 2-3 tetes pada kaca mikroskop, kemudian sampel diteteskan *biomerieux* dan didiamkan sampai kering, setelah kering cairan pada kaca mikroskop dicuci kemudian dikeringkan, Setelah kering diwarnai dengan *gram crystal violet*. Kemudian dicuci hingga warna pada kaca tersebut hilang. Setelah itu kaca tersebut diwarnai dengan lugol lalu dicuci. Setelah itu kaca tersebut diwarnai dengan *gram decolorizer* lalu dicuci. Setelah itu kaca tersebut diwarnai dengan *gram safranin* lalu dicuci.

- ✓ Uji Oksidase

Satu tetes isolat diusapkan pada kertas oksidase. Apabila kertas tersebut bewarna biru, maka bakteri itu adalah gram negatif. Apabila kertas bewarna merah setelah diusap maka bakteri tersebut adalah gram positif.

- ✓ Uji Katalase

Isolat murni diambil 1 ml dengan jarum suntik lalu diteteskan keatas kertas remel katalase. Cairan pada kertas tersebut kemudian diteteskan 1 tetes *biomerieux* untuk melihat adanya enzim katalase pada sampel. Apabila cairan pada isolat tiba-tiba keruh/berbuih saat

diteteskan *biomerieux* maka isolat tersebut mengandung enzim katalase dan sebaliknya.

- ✓ Uji Gula

Setelah bakteri tumbuh, bakteri diambil menggunakan jarum ose kemudian ditanamkan ke TSIA, SIM, urea, citrat, glukosa, laktosa, sukrosa, *simmon citrate* dan indol. Setelah itu, gula-gula tadi kemudian diinkubasi selama 24 jam.

Analisis Data

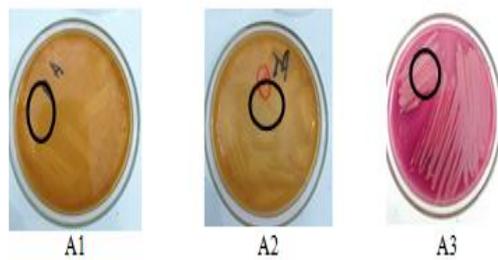
Analisis data dilakukan secara deskriptif. Bakteri diidentifikasi dengan menggunakan buku “Atlas Warna Mikrobiologi Kedokteran” (Hart and Shears, 1997) dan metode 18s rRNA. Hasil isolasi dan identifikasi ditabulasikan ke dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

PT. Sawit Asahan Indah merupakan perusahaan swasta yang dikelola dengan hak guna usaha yang bergerak dibidang perkebunan khususnya kelapa sawit. PT. Sawit Asahan Indah merupakan salah satu anak perusahaan perkebunan dari grup PT. Astra Agro Lestari Tbk yang bertempat di Kecamatan Ujung Batu Kabupaten Rokan Hulu Riau.

Isolasi Bakteri

Berdasarkan analisis bakteri pada 3 media *Blood Agar* dan 3 media *Mac Conkey* serta hasil identifikasi secara morfologi dan biokimia merujuk pada buku Atlas Warna Mikrobiologi Kedokteran Karya Tony Hart dan Paul Shears (1997) ditemukan 3 jenis bakteri yang berbeda. Ketiga isolat terdiri dari isolat A1, isolat A2 dan A3.



Gambar 1. Hasil Subkultur Isolat Bakteri

Identifikasi Bakteri

Pengamatan morfologi yang dilakukan meliputi bentuk koloni, tepian koloni, warna koloni dan sudut elevasi.

Tabel 1. Identifikasi secara Morfologi

Isolat	Bentuk	Warna	Tepian
A1	Bulat	Kuning	Rata
A2	Bulat	Putih kekuningan	Rata
A3	Irreguler	Putih Kekuningan	bergelombang

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Adha (2018) dari perairan Desa Mengkapan Kecamatan Sungai Apit Siak menemukan 2 isolat bakteri penghasil biosurfaktan dan diantaranya memiliki ciri morfologi yang sama dengan isolat yang ditemukan di kolam anaerob IPAL industri sawit PT Sawit Asahan Indah. Isolat A1 yang didapat dari media *Blood Agar* pada pengenceran 10^{-4} memiliki kesamaan morfologi dengan isolat IA2 memiliki bentuk bulat berwarna kuning dengan tepian rata.

Identifikasi bakteri secara biokimia yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu uji pewarnaan gram, uji katalase, uji oksidase, uji

TSIA, uji sulfida, uji indol, uji motilitas, uji *simmon citrate*, uji urease, uji glukosa, uji laktosa dan uji sukrosa. Hasil uji biokimia menunjukkan karakteristik yang berbeda diantara ke tiga isolat bakteri.

Tabel 2. Identifikasi Secara Biokimia

Uji Biokimia	Kode Sampel		
	A1	A2	A3
Gram	-	-	-
Katalase	+	+	+
Oksidase	-	-	-
TSIA	K/K	M/M	M/K
Sulfida	+	+	-
Indol	+	-	-
Motilitas	+	+	+
<i>Simmon Citrate</i>	+	+	+
Urease	+	-	-
Glukosa	+	+	+
Laktosa	+	-	+
Maltosa	+	+	+
Sukrosa	+	-	+

a. Uji Pewarnaan Gram

Berdasarkan uji pewarnaan gram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat A1, isolat A2 dan isolat A3 bersifat negatif. Hal ini ditunjukkan dengan isolat satu, isolat dua dan isolat tiga berbentuk batang dan berwarna merah. Bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglin yang tipis dan lapisan lipid yang tebal yang larut ketika dibilas dengan larutan pemucat, sehingga bakteri ini akan berwarna merah jika diwarnai dengan pewarnaan gram (Lestari dan Hartati, 2017).

b. Uji Oksidase

Uji oksidase digunakan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim oksidase atau tidak. Berdasarkan uji oksidase yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1, isolat A2 dan isolat A3

bernilai negatif. Uji positif ditandai dengan perubahan warna pada kertas oksidase menjadi biru violet dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna atau berubah menjadi merah muda pada kertas oksidase.

c. Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase. Berdasarkan uji katalase yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat dengan kode A1, isolat A2 dan isolat A3 bernilai positif.

d. Uji TSIA

Media TSIA merupakan media yang mengandung tiga macam gula yaitu laktosa, sukrosa dan glukosa (Sudarsono, 2008). Berdasarkan uji TSIA yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1 dan A2 menunjukkan tidak terjadi perubahan warna pada media agar miring dan agar tegak yang menandakan bahwa hanya glukosa yang berfermentasi. Sedangkan isolat A3 terjadi perubahan pada media agar tegak dan miring dari merah ke kuning yang menandakan dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa.

e. Uji Sulfida

Uji sulfida bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi asam amino yang mengandung sulfur. Berdasarkan uji sulfida yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1 dan isolat A2 bersifat positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari kuning menjadi kehitaman dan isolat A3 bersifat negatif menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan warna media dari kuning menjadi kehitaman.

f. Uji Indol

Berdasarkan uji indol yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1 bernilai positif yang

menunjukkan terbentuknya cincin merah pada serta isolat A2 dan A3 bernilai negatif yang menunjukkan tidak adanya cincin merah.

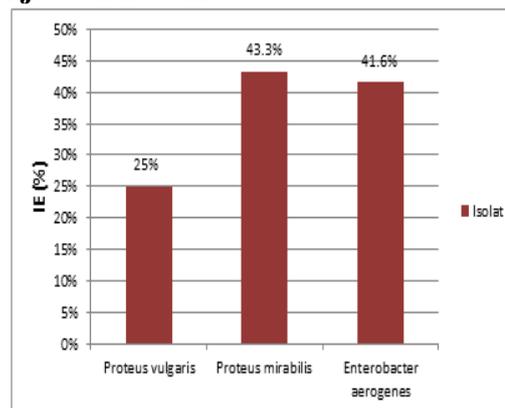
g. Uji Motilitas

Berdasarkan uji motilitas yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1, isolat A2 dan isolat A3 menunjukkan nilai positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar.

h. Uji Simmon Citrate

Uji sitrat bertujuan untuk mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi. Berdasarkan uji *Simmon Citrate* yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat A1, isolat A2 dan isolat A3 bersifat positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

Uji Emulsifikasi



Gambar 2. Grafik Emulsifikasi

Berdasarkan hasil uji emulsifikasi, menunjukkan bahwa indeks emulsifikasi *Proteus vulgaris* yaitu 25%, *Proteus mirabilis* yaitu 43.3% dan *Enterobacter aerogenes* yaitu 41,6%. Hasil indeks emulsifikasi ketiga bakteri yang didapat mampu menghasilkan biosurfaktan. Hasil indeks emulsifikasi *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes* lebih tinggi dibandingkan *Proteus vulgaris*.

Berdasarkan Penelitian yang dilakukan oleh Novia (2018) dari perairan Desa Mengkapan Kecamatan Sungai Apit Siak menemukan 3 isolat bakteri penghasil biosurfaktan dan diantaranya yaitu genus *Proteus* sp yang memiliki indeks emulsifikasi sebesar 25%. Penelitian lainnya dilakukan oleh Linda (2018) yang menemukan 2 isolat bakteri penghasil biosurfaktan dari lumpur Sungai Siak dan salah satunya merupakan isolat bakteri *Enterobacter* yang memiliki indeks emulsifikasi sebesar 50%.

Perhitungan Jumlah Bakteri

Berdasarkan penelitian yang dilakukan perhitungan jumlah bakteri hanya pada pengenceran 10^{-5} dengan jumlah bakteri sebanyak $8,3 \times 10^6$ CFU/ml.

Jenis Bakteri

Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi, biokimia dan Uji PCR pada Isolat A2 menunjukkan bahwa isolat A1 mendekati spesies *Proteus vulgaris*, isolat kedua A2 mendekati spesies *Proteus mirabilis* dan isolat ketiga A3 mendekati spesies *Enterobacter aerogenes*.

Parameter Lingkungan

Hasil pengukuran suhu yang dilakukan pada kolam anaerob IPAL PT. Sawit Asahan Indah berkisar antara 35°C - 36°C . Manos dalam Eka (2014) menyatakan bahwa *Proteus mirabilis* tumbuh optimum pada suhu 35 - 37°C sedangkan bakteri *Enterobacter aerogenes* tumbuh pada suhu 30 - 37°C Hal ini menunjukkan bahwa bakteri kolam anaerob PT Sawit Asahan Indah tergolong jenis

bakteri mesofilik. Hasil pengukuran pH yang dilakukan pada kolam anaerob IPAL PT. Sawit Asahan Indah yaitu 6-7. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 4-9 (Yelti, 2014). Hasil pengukuran minyak dan lemak yang dilakukan pada kolam anaerob IPAL PT. Sawit Asahan Indah yaitu 2.773 mg/L. Menurut Wenti (2015) pada lingkungan yang telah tercemar minyak banyak ditemukan jenis bakteri yang mampu mengurai minyak dibandingkan dengan lingkungan yang tidak tercemar minyak. Pada lingkungan tidak tercemar minyak keberadaan mikroorganisme penghasil biosurfaktan kurang dari 0,1% (Wenti, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada lumpur kolam anaerob IPAL industri minyak sawit didapatkan 3 jenis bakteri penghasil biosurfaktan yaitu *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* dan *Enterobacter aerogenes*, dengan jumlah bakteri yaitu $8,3 \times 10^6$ CFU/mL. Sedangkan hasil emulsifikasi dari *Proteus vulgaris* yaitu 25%, *Proteus mirabilis* yaitu 43,3% dan *Enterobacter aerogenes* 41,6% yang menunjukkan bahwa ketiga bakteri menghasilkan biosurfaktan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang dilakukan pada bulan yang berbeda di kolam anaerob IPAL industri minyak sawit untuk mengetahui apakah bakteri yang dihasilkan tetap sama atau berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Das, K dan A.K, Mukherjee. 2006. 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.* 98: 1339-1345.
- DITJEN PPHP. 2006. Pedoman Pengolahan Limbah Industri Kelapa Sawit . Departemen Pertanian. Jakarta.
- Eka, M.P.L. 2014. Identifikasi *Proteus mirabilis* dan Resistensinya Terhadap Antibiotik Imipenem, Klorampenikol, Sefotaksim dan Siprofaksasin pada Daging Ayam di Kota Makassar. Skripsi. Program Studi Kedokteran Hewan. Universitas Hasanuddin.
- Gudiña E.J., V, Rocha., J.A, Teixeira and Rodrigues L.R. 2010. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* A20. *Lett Appl Microbiol.* 50(4):41-424.
- Hart, T and P, Shears. 1997. Color Atlas of Medical Microbiology. Hipokrates. Jakarta.
- Hadiyanto. 2011. Potensi Limbah Cair Kelapa Sawit (POME) untuk Penyediaan Bioenergi dan Feed Suplemen. Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro.
- Sayuti, L., S. Wulandari dan Suratni. 2015. Identifikasi Bakteri dari Limbah Cair Minyak Bumi pada Sektor GS Chevron Kecamatan Rimba Melintang Rokan Hilir. *Jurnal Biogenesis.* 12(1) : 39-46.
- Linda, V.R. 2018. Isolasi dan seleksi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Lumpur Sungai Siak, Disekitar Pelabuhan Sungai Duku, Pekanbaru. Skripsi. Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan. Universitas Riau. Pekanbaru.