

JURNAL

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL
BIOSURFAKTAN PADA LUMPUR KOLAM *CONTACT POND*
IPAL INDUSTRI MINYAK SAWIT**

OLEH

ROY ASTIKA SIMATUPANG



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2020**

**Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Lumpur Kolam
Contact Pond IPAL Industri Minyak Sawit**

Oleh :
Roy Astika Simatupang¹⁾, M. Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾

Email : royastika16@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri penghasil biosurfaktan yang berasal dari lumpur kolam IPAL industri kelapa sawit di PT. Eka Dura Indonesia, Ujung Batu, Rokan Hulu, Provinsi Riau. Penelitian ini menggunakan metode survei. Sampel lumpur diambil dari kolam Kontak dengan menggunakan botol sampel, kemudian dimasukkan ke dalam kotak pendingin, kemudian dibawa ke laboratorium. Selanjutnya, 5 gram sampel lumpur ditimbang dan pembubaran sampel dilakukan menggunakan media BPS (*Buffer Phosphate Saline*). Selanjutnya, sampel ini diperkaya dengan BHI (*Brain Heart Infusion*) media, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Selanjutnya, sampel ini diencerkan menggunakan 0,98% NaCl sampai pengenceran 10-6, dan menghitung jumlah bakteri yang tumbuh, menggunakan *Petrifilm* pada 10-4, 10-5 dan 10-6 pengenceran. Kemudian penanaman dan pemurnian bakteri dilakukan dengan menggunakan media *Blood Agar* dan *MacConkey Agar*. Kemudian, diidentifikasi menggunakan tes biokimia dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) tes. Hasilnya ditemukan 3 jenis isolat bakteri dengan 2 spesies penghasil biosurfaktan, *Proteus mirabilis*, dan *Enterobacter aerogenes*. Kemudian diketahui peringkat DNA dari spesies bakteri yang memiliki Indeks Emulsifikasi tertinggi, yaitu 100% *Proteus mirabilis*.

Kata kunci : Cemaran minyak, , Uji Biokimia, Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*), *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes*

1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

2) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Isolation And Identification of Biosurfic Producing Bacteria From Contact Pond Pond WWTP Sludge

By:

Roy Astika Simatupang ¹⁾, M. Hasbi ²⁾, Eko Purwanto ²⁾

Email : rovastika16@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to obtain bio surfactant-producing bacteria originating from the IPAL pond sludge of the palm oil industry at PT. Eka Dura Indonesia, Ujung Batu, Rokan Hulu, Riau Province. This research uses the survey method. Sludge samples are taken from the Contact pond by using a sample bottle, then put into a cooler, and taken to the laboratory. Next, 5 grams of sludge sample was weighed and the dissolution of the sample was carried out using BPS (Buffer Phosphate Saline) media. Furthermore, this sample was enriched with BHI (Brain Heart Infusion) media, then incubated for 24 hours. Furthermore, this sample was diluted using 0.98% NaCl to 10^{-6} dilution, and counted the number of bacteria growing, using Petrifilm at 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} dilution. Then the planting and purification of bacteria were carried out using Blood Agar and MacConkey Agar. Then, it was identified using biochemical tests and PCR (Polymerase Chain Reaction) tests. The results found 2 types of bacterial isolates with 2 species producing bio surfactants, *Proteus mirabilis*, and *Enterobacter aerogenes*. The DNA rank of the bacterial species that has the highest Emulsification Index, which is 100% *Proteus mirabilis*.

Keywords: *Oil contamination, Biochemical Test, PCR (Polymerase Chain Reaction) Test, Proteus mirabilis and Enterobacter aerogenes*

1) Students of the Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

2) Lecturer at the Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Aktivitas industri atau pabrik kelapa sawit merupakan salah satu penghasil limbah terbesar di Indonesia. Dengan jumlah PKS mencapai 225 unit dengan kapasitas produksi *Crude Palm Oil* (CPO) sebesar 7.047.221 ton per tahun, sehingga dapat diperkirakan produksi limbah cair yang ada di Riau mencapai 25,23 juta ton per jam (BPMPD Provinsi Riau, 2014).

Menurut pengamatan yang telah dilakukan pada beberapa pabrik *Effluent* mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi, seperti minyak dan lemak, senyawa terlarut dan serat serat pendek, hemiselulosa dan turunannya, protein dan asam organik bebas (Zahara, 2014). Oleh karena itu setelah perairan mengalami pencemaran hal pertama yang harus dilakukan adalah mengembalikan fungsi perairan dan membuatnya sehat kembali.

Salah satu cara yang dapat dilakukan ialah dengan bioremediasi. Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi dengan memanfaatkan proses biologi dalam mengendalikan pencemaran (Munir, 2006). Teknik bioremediasi ini nantinya akan memanfaatkan organisme penghasil surfaktan. Dimana berdasarkan struktur molekul, surfaktan mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik, yaitu suatu sifat yang mampu mengkonsentrasiikan molekul-molekul interpermukaan yang berbeda derajat polaritasnya, seperti interpermukaan minyak dan lemak dalam air (Rau et al. 2005), karena di alam pada dasarnya terdapat bakteri secara alami maka diupayakan untuk memanfaatkan

kelapa sawit, dapat dikatakan bahwa limbah sawit yang dibuang langsung ke sungai akan mempengaruhi kualitas air (Naibaho, 1998). Misalnya berkurangnya oksigen dalam perairan yang menyebabkan terganggunya aktivitas biota air karena limbah cair tersebut, kemudian berkurangnya pasokan air bersih yang dibutuhkan oleh manusia untuk kebutuhan sehari hari. Hal itu dikarenakan limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS) yang dikenal dengan istilah POME (*Palm Oil Mill* bakteri penghasil surfaktan yang disebut bakteri biosurfaktan.

Menurut Nababan (2008), Biosurfaktan merupakan senyawa amfifilik yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang merupakan senyawa kompleks dengan struktur bermacam-macam. Bakteri penghasil biosurfaktan banyak ditemukan pada daerah yang tercemar minyak maupun lemak (Riupassa et al., 2013).

Biosurfaktan memiliki beberapa keunggulan dibandingkan surfaktan sintetik antara lain, tingkat toksisitas rendah, tidak menimbulkan alergi, kemampuan biodegradasi lebih tinggi, serta memiliki aktivitas yang tinggi pada suhu, pH dan salinitas yang ekstrim (Kurniati, 2016). Ketersediaan bakteri penghasil biosurfaktan di alam jumlahnya sangat sedikit maka perlu dilakukan isolasi bakteri untuk ditumbuhkan pada medium buatan dalam jumlah yang banyak. Sehingga dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki kualitas air dan lumpur yang terkontaminasi air limbah pabrik tersebut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2019. Pengambilan sampel dan pengukuran kualitas lingkungan dilakukan pada lumpur kolam Contact Pond IPAL “Instalasi Pengolahan Air Limbah” industri minyak sawit yang berlokasi di PT. Eka Dura Indonesia, Rokan Hulu, Provinsi Riau. Tahapan Pengayaan, Isolasi dan Identifikasi secara biokimia dilakukan di UPT Laboratorium Kesehatan dan Lingkungan Jalan Mustika No. 3A, Sumahilang, Kota Pekanbaru, IPAL industri minyak sawit, Media BPS (*Phosphat Buffer Saline*), Media BHI (*Brain Heart Infus*) Media *Blood Agar* dan *MacConkey Agar*, Kristal violet *Safranin*, Alkohol 90 %,

Metode

Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei, dimana lumpur yang terdapat pada kolam *Contact Pond* IPAL “Intalasi Pengolahan Air Limbah” industri minyak sawit digunakan

Pengayaan Bakteri

Prosedur pengayaan mengacu pada penelitian Kurniati (2016) dilakukan sebanyak 5 g sampel tanah dimasukkan ke dalam botol kaca steril bermedium *Stone Mineral Salt Solutiont + Ekstract Yeast* (SMSS-e) steril. Kemudian masing-masing botol kaca yang telah berisi sampel dan medium diinkubasikan dalam *shaker incubator* pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari (untuk keperluan isolasi sampel diambil pada hari ke 1, 7 dan 14).

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sampel yang telah diencerkan hanya diambil pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan ditumbuhkan pada media SMSSe (*Stone Mineral Salt*

Provinsi riau. Tahapan uji PCR (Polimerase Chain Reaction) dilakukan di Laboratorium Genetika, FMIPA, Universitas riau.

Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan selama penelitian berlangsung adalah Autoclave, Inkubator (diam dan *Shaker*), Tabung reaksi, Cawan petri, Jarum *ose*, Lampu bunsen, Kaca objek, Mikroskop olympus, Tabung Erlenmeyer, Timbangan analitik, Vortex, Corong pemisah, Oven, Botol kaca, Gayung, *coolbox*, Kertas *Petrifilm*. Bahan dalam penelitian ini adalah Lumpur kolam *Contact Pond*

Iodine, H₂O₂ 3 %, MR (*Methilen Red*), Citrate, Indol, Minyak , Sawit, Alkohol 70 %, *Aquades*, Larutan fisiologis 0,98 % TSIA (*Triplee sugar iron agar*).

sebagai sampel penelitian dan dilakukan isolasi serta identifikasi bakteri penghasil biosurfaktan, maka diperoleh data primer dan data sekunder diperoleh dengan mengisi kuisioner yang telah disediakan.

Prosedur

Solutiont Ekstract) dengan metode sebar *Spread Plate* dan 3 kali ulangan. Kemudian tahap isolasi pada Gobel, Risco, B., dkk., (2008), Sampel diambil sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan mikropipet dan dimasukan kedalam cawan petri yang telah berisi media tumbuh kemudian diratakan menggunakan batang L lalu cawan petri dibungkus dengan kertas padi dan kemudian diinkubasi dengan posisi cawan petri terbalik selama 24-48 jam pada suhu 27 °C – 30 °C. hasil koloni yang tumbuh dihitung menggunakan metode *Plate Counts* atau *Colony Count* dengan cara menghitung jumlah koloni dan faktor pengencerannya. Kemudian

dilakukan pengamatan karakteristik morfologi koloni dengan melihat bentuk koloni (Bulat, tidak beraturan, Rizoid), bentuk bagian tepi koloni yaitu rata (Entire), bergelombang secara beraturan (*Lobate*), bergelombang (*Undulate*), bergerigi (*Serate*) dan filamen (*Filamentous*), (Sutedjo dalam Sari, 2009).

Selanjutnya dilakukan pemurnian bakteri. Pemurnian bakteri dilakukan dengan metode goresan (*Streak Method*). Masing masing bakteri yang telah diamati dan memiliki ciri morfologi yang berbeda diambil satu koloni dengan menggunakan jarum *ose*, kemudian

Identifikasi Bakteri dengan Metode Biokimia

Uji Katalase

- H_2O_2 diteteskan pada kaca objek hingga 2 tetes
- 1 *ose* isolat bakteri dogoreskan pada objek *glass*
- Apabila cairan pada isolat tiba-tiba keruh/berbuih maka isolat tersebut mengandung enzim katalase dan sebaliknya jika tidak terdapat buih pada isolat maka tidak mengandung enzim katalase.

Uji Oksidasi

- 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.

Pewarnaan Gram

- Isolat diteteskan sebanyak 2-3 tetes pada kaca mikroskop.
- Sampel tersebut kemudian diteteskan *biomerieux* dan didiamkan sampai kering.
- Setelah kering, cairan pada kaca mikroskop tadi dicuci

digireskan pada cawan petri yang berisi media SMSSe. Dilakukan 3 kali ulangan sampai diperoleh bakteri murni. Bakteri yang benar-benar murni terlihat morfologi yang sama selanjutnya dilakukan penanaman pada agar miring media SMSSe untuk *fresh cultur* yang akan digunakan untuk uji selanjutnya. Semua proses penelitian dilakukan secara aseptik dengan menggunakan lampu bunsen dan dilakukan dalam LAF (*Laminar Air Flow*)untuk mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain (Madigan *et al.*, 2012).

- Kaca mikroskop yang telah dialiri air lalu didiamkan hingga kering.
- Setelah kering diwarnai dengan *gram crystal violet*. Setelah diwarnai kemudian dicuci lagi 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.
- Diamkan hingga kering lalu amati bentuk bakterinya di mikroskop.

Uji Gula-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 diingkubasi selama 24 jam.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa isolat beserta ciri-ciri morfologinya dan diidentifikasi berdasarkan buku kunci “*Petroleum Microbiology*”, Atlas (1992) sehingga diketahui nama

genus dari bakteri tersebut. Bakteri yang menghasilkan biosurfaktan kemudian diuji kemampuannya untuk menghasilkan surfaktan

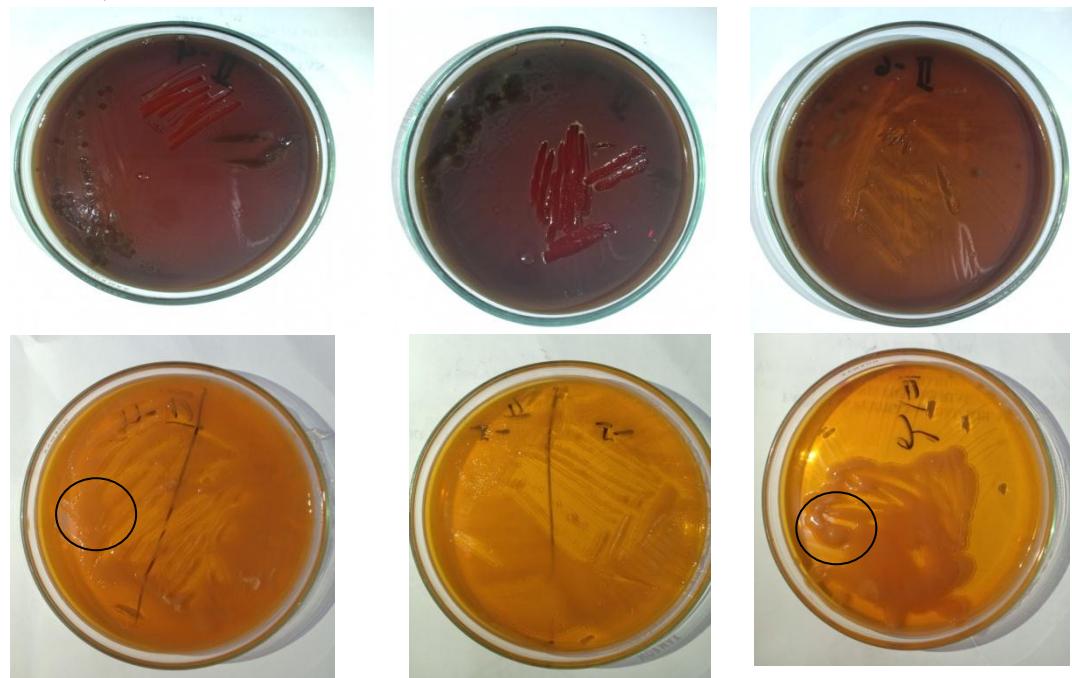
melalui uji emulsifikasi. Hasil dari uji emulsifikasi yang ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Dari hasil penanaman diperoleh beberapa isolat yang berbeda karakteristiknya dalam satu cawan petri, seperti halnya pada cawan petri II 10^{-4} , II 10^{-5} , II 10^{-6} dan MC 10^{-6} terdapat kesamaan karakter

isolat pada masing-masing cawan petri, kemudian pada kode isolat MC 10^{-4} dan MC 10^{-6} memiliki kesamaan karakter juga. Hasil Subkultur bakteri pada media *Blood* agar dan *MacConkey* agar yang baru dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Hasil penanaman sampel setelah 2 x 24 jam pada media *Blood* agar dan *MacConkey* agar

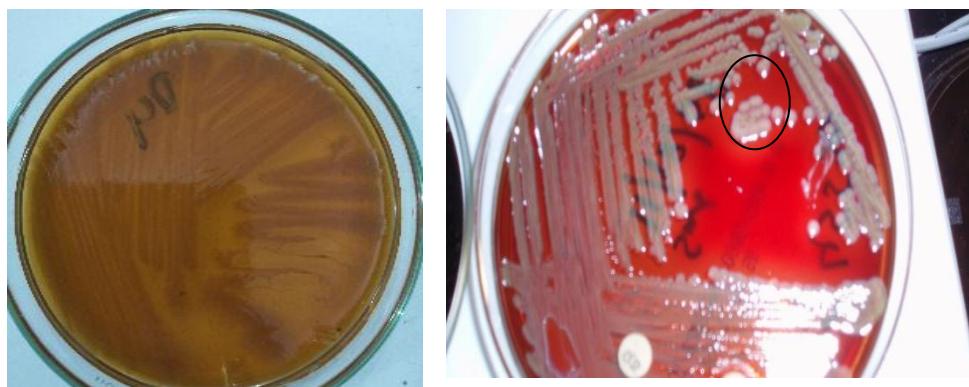
Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri yang ditemukan meliputi karakteristik morfologi, sifat-sifat biokimia dan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Identifikasi Morfologi Koloni

Isolat Bakteri

Identifikasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan melakukan subkultur terlebih dahulu pada media baru. Hasil Subkultur bakteri pada media *Blood* agar dan *MacConkey* agar yang baru dapat dilihat pada Gambar 2.

**ISL 1****ISL 2**

Gambar 2. Isolat Murni yang Tumbuh dari Media *Blood* agar dan *MacConkey*agar setelah Inkubasi 2 x 24 jam

Karakterisasi morfologi koloni tunggal dibedakan berdasarkan Warna koloni, Bentuk koloni, Elevasi, Tepian dan Struktur dalam dan Permukaan isolat. Setelah dilakukannya subkultur pertama kemudian dilakukan subkultur kedua

pada media baru yaitu TSA “*Trypticase Soy Agar*” guna untuk mempermudah pengamatan, dikarenakan media ini berbahan dasar bening yang diambil dari kode warna yang telah diberi tanda lingkar. Dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri yang akan di Uji Biokimia

N o	Isolat	Karakteristik Morfologi Koloni secara Makroskopis					
		Warna Koloni	Bentuk Koloni	Elevasi	Tepian	Struktur dalam	Permukaan
1		Putih Kekuning gan	Circular (Bundar)	Convex (Cembung)	Lobate (Tipis)	Transparent (Bening)	Shiny (Mengkilat)
2		Putih pekat	Circular (Bundar)	Convex (Cembung)	Entire (Seluruhnya)	Opaque (Buram)	Shiny (Mengkilat)

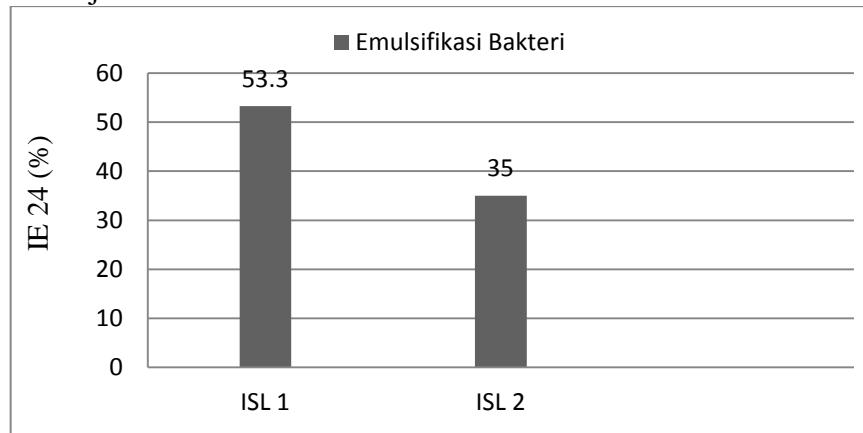
ISL 1

ISL 2

Uji Emulsifikasi Bakteri

Melalui hasil percobaan yang dilakukan telah diperoleh hasilnya yang menunjukkan isolat ISL 1

memiliki indeks emulsifikasi sebesar 53,3 % dan berbeda dengan ISL 2 yang memperoleh nilai 35 %.



Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia

Berdasarkan uji biokimia yang dilakukan di laboratorium , didapatkan hasilnya berupa bakteri dengan dugaan hingga sampai pada spesies. Dimana pada kode isolat ISL

1 Merupakan spesies bakteri *Proteus mirabilis*, dan kode isolat ISL 2 memperoleh bakteri *Enterobacter aerogenes*. Karakteristik bakteri dengan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi Bakteri dengan Uji Biokimia merujuk pada buku *Color Atlas of Medical Microbiology* (Hart and Shears, 1997)

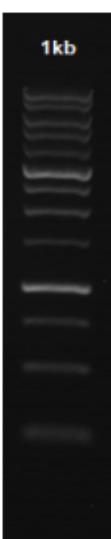
Uji Biokimia	Kode Sampel	II ⁻⁴	II ⁻⁵	II ⁻⁶
SIM	Bentuk dan Gram	Gram Negatif Batang	Gram Negatif Batang	Gram negatif Batang
	Katalase	+	+	+
	Oksidasi	-	-	-
	Urea	+	+	+
	<i>Simmon Citrate</i>	-	+	+
	<i>Sulfide</i>	+	+	-
	<i>Indole</i>	-	-	-
TSIA	Motilitas	+	+	+
		M/M	M/M	M/M
	Jenis gula-gula	Glukosa	+	+
		Laktosa	+/-	+
		Sukrosa	+-	+-
Hasil Identifikasi		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>

Identifikasi Bakteri dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) 18S Ribosomal RNA

Identifikasi bakteri dilakukan pada bakteri *Proteus mirabilis* dikarenakan pada bakteri ini diperoleh hasil emulsifikasi tertinggi dari semua isolat bakteri. Adapun tujuan dari dilakukan identifikasi dengan metode PCR yaitu untuk memperoleh rangkaian DNA dan

perbedaan nyata diperlihatkan berdasarkan persentase diperoleh beberapa jenis sumber sampel yaitu dari perairan sungai, perairan yang terkontaminasi bahan cemaran organik dan dari pengolahan air limbah yang kemudian dibandingkan dengan sampel penelitian ini. Adapun hasil kode DNA dari bakteri *Proteus mirabilis* dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Kode DNA Bakteri *Proteus mirabilis*

Kode Penamaan Bakteri dan Visualisasi DNA	Kode DNA
A_1430pb 	TGCAAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTCTT GCTGACGAGCAGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGA TCTGCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTG GCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGC TCTTCGGACCTTGCACTATCGGATGAACCCATATGGGA TTAGCTAGTAGGTGGGTAAAGGCTCACCTAGGCGACG ATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGG GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGAGGGCAGCA GTGGGGAAATTGCACAATGGCGCAAGCCTGATGCA GCCATGCCGCGTGTATGAAGAACGGCTAGGGTTGTA AGTACTTCAGCGGGGAGGAAGGTGATAAGGTTAATAC CCTTGTCAATTGACGTTACCCGAGAACAGCACCGGC TAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGC AAGCGTTAACCGGAAATTACTGGCGTAAAGCGCACGCA GGCGGTCAATTAAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTA ACTTGGGAATTGCATCTGAAACTGGTTGGCTAGAGTCT TGTAGAGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAAT GCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCAG CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGT GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG CTGTAAACGATGTCGATTAGAGGTTGGTCTTGAAC CGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTG ACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAAT TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATC CAGCGAACCTTAGAGATAGAGGAGTGCCTCGGGAA CGCTGAGACAGGGTGCATGGCTGTCAGCTCGTG TTGTGAAATGTTGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAAC

CCTTATCCTTGTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTC
AAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTACGAGTAGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGA
CCTCGCAGAGCAAGCGGAACTCATAAAGTCTGTCGTA
GTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAA
TACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCCGTACACCA
TGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTAACCTT
CGGGAGGGCGCTTACCACTTGTGATTGATGAC

Keterangan : A = Adenin, G = Guanin, C = Sitosin dan T = Timin

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa dari 2 Jenis isolat yang didapat, ditemukan 2 spesies penghasil biosurfaktan yaitu *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes*. Kemudian diperoleh rangkaian DNA dari Spesies yang memiliki Indeks Emulsifikasi tertinggi sehingga data diperkuat bahwa bakteri tersebut 100 % *Proteus mirabilis*. Bakteri tersebut disimpulkan sebagai bakteri

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M.S, Sarjono P.R, Aminin, A.L.N. 2013. Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. Chem Info. No.1(1) : 190-195.
- Buchanan,RE. & Gibbons,NE.2003. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The William & Wilkins Company Baltimore.USA.
- Burrows, W., J.M. Moulder, and R.M. Lewert. 2004. Texbook of Microbiology. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- penghasil Biosurfaktan karena menghasilkan emulsi pada saat uji emulsifikasi dan mampu mengemulsi minyak sawit.
- Saran**
- Ada baiknya dilakukan penelitian lanjutan tentang bagaimana keefektifan bakteri penghasil biosurfaktan jenis *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes* ini jika di aplikasi terhadap limbah minyak b lainnya seperti tumpahan solar yang sering ditemukan pada perairan.
- Cameotra and Makkar. 2006. *Recent application of biosurfactant asbiological and immunological molecule*. Curr Opin Microbiol 7: 262-266.
- Colome,JS. Et al. 2001. *Laboratory Exercises in Microbiology*. West Publishing Company.New York.
- Cowan,ST. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. Cambridge University Press. London.
- Deublein, D. dan Steinhauer, A. 2008. *Biogas from Waste and Renewabe Resources*. Berlin: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- Dwyana Z., Abdullah. 2012. Penuntun Praktikum

- Mikrobiologi. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Fardiaz Srikandi. 1992. Polusi Air & Udara. Penerbit KANISIUS. Yogyakarta.
- Fukuoka T, Morita T, Konishi M, Imura T, and Kitamoto D. 2007. *Characterization of new type of mannosylerythritol lipids as biosurfactants produced from soybean oil by a Basidiomycetous Yeast, Pseudozyma shanxiensis.* J Oleo Sci 8: 435-442.
- Harianti, H dan Nuraisa. 2016. Analisa Warna, Suhu, pH dan Salinitas Air Sumur Bor di Kota Palopo. Jurnal Sains. 2 (1) : 7-8.
- Hasanah, Hilda. 2011. Penurunan Beban Pencemar Limbah Cair Kelapa Sawit Melalui Proses Fermentasi Anaerob Menggunakan Digester Anaerob Dua Tahap. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hasbi, M dan G. Tabrani. 2006. Meningkatkan Produksi Biosurfaktan Bakteri *Bacillus Maceran Strain Ts9-8* Dengan Perlakuan Faktor Lingkungan (pH, Suhu, dan Suplai Oksigen). Jurnal Perikanan
- Herlina, N. 2002. Lemak dan Minyak. Digital Library. Universitas Sumatera Utara.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg, 1996, Mikrobiologi Kedokteran, edisi 20, EGC, Jakarta.
- Koes Irianto. 2006. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Jilid 2. Jakarta.
- Leahy, J.G., and R.R. Colwell. 1990. *Microbial Degradation of Hydrocarbons in The Environment. Microbiol. Rev.* 54: 305-315
- Mukherjee AK, Das P and Sen. 2006. *Towards commercial production of microbial surfactants.* Trends Biotechnology. 24: 509-515.
- Naibaho,ponten.1998.Teknologi Pengolahan Hasil Perkebunan.Pusat Penelitian Kelapa Sawit Medan
- Rahman, A.S., Fardiaz, W., Rahayu, P., Suliantari. dan C.C. Nurwitri., 1992. Tehnologi Pengolahan Susu. Depdikbud Dirjen PT. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Ratna, Siri .2012. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium. PT Gramedia,Jakarta.
- Rau U, nguyen LA, Lang S, et al. 2005. *Downstream processing of mannosylerythritol lipids produced by Pseudozyma aphidis.* Journal of Lipid Science Technology. 107: 373-380.
- Rodrigues L, Banat IM, Teixeira J, and Oliveira R. 2006. Biosurfactants:
- Setiawan, D. 2008. Struktur Makrozoobentos Sebagai Bioindikator Kualitas Lingkungan Perairan Hilir Sungai Musi. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Singh, B.K., Walker, A. 2006. *Microbial degradation of organophosphorus compounds.* *FEMS Microbiol. Rev.* 30: 428–471.
- Sumirat dan Solehudin. 2009. Nitrous Oksida (N₂O) dan

- Metana (CH₄) sebagai Gas Rumah Kaca. Vol. 7, No. 2, Hal. 24-98. 16 Oktober 2012
- Takahashi M, morita T, Wada K, Hirose K, Fukuoka T, Imura T, Kitamono D. 2011. *Production of sophorolipid glycolipid biosurfactants from sugarcane molasses using Starmerella bombicola NBRC 10243.* J Oleo Sci 60: 267-273.
- Wati, Dwi Setiana, Rukmanasari Dwi Prasetyani. 2013. Pembuatan Biogas dari Limbah Cair Industri Bioetanol Melalui Proses Anaerob (Fermentasi). Universitas Diponegoro : Semarang.