

**PEMULIHAN TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI
DENGAN TEKNIK *BIOREMEDIASI* MENGGUNAKAN
*BACILLUS SP. DAN PSEUDOMONAS SP.***

***(Recovery of Oil Contaminated Soil with Technical Bioremediation
Using Bacillus sp. and Pseudomonas sp.)***

Moch. Fierdaus.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi "LEMIGAS"
Jl. Ciledug Raya Kav.109, Cipulir, Kebayoran Lama, Jakarta Selatan
Telepon: +62-21-7394422, Fax.: +62-21-7246150
email: @lemigas.esdm.go.id

Teregistrasi I tanggal 1 April 2015; Diterima tanggal 22 April 2015; Disetujui terbit tanggal: 29 Mei 2015

ABSTRAK

Teknik *bioremediasi* merupakan salah satu cara untuk menanggulangi tanah terkontaminasi /tercemar minyak bumi dengan memanfaatkan *mikroorganisme* yang dapat *mendegradasi* total petroleum hydrocarbon (TPH). Pada percobaan ini digunakan bakteri *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.* dominan yang diperoleh dari isolasi sampel minyak bumi dari Lapangan Minyak Meruap Jambi. Pengujian TPH dilakukan berdasarkan metode ekstraksi sokletasi-gravimetri dan pengukuran pH. Hasil menunjukkan bahwa *Pseudomonas sp.* dapat *mendegradasi* TPH hanya dalam waktu 3 minggu untuk mencapai kadar TPH < 1% yaitu dari 1,52 menjadi 0,79%, sedangkan *Bacillus sp.* dalam waktu 4 minggu (dari 1,53 menjadi 0,83%). Nilai ini telah mencapai standar yang ditetapkan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.128 tahun 2003.

Kata Kunci : pemulihan tanah, *bioremediasi*, bakteri, TPH

ABSTRACT

Technical bioremediation is one way to treat the contaminated soil/contaminated oil by using microorganisms that can degrade the total petroleum hydrocarbons (TPH). In this experiment used the bacterium Bacillus sp. and Pseudomonas sp. predominantly derived from petroleum isolated samples of Meruap Jambi oil field. TPH testing conducted by soxhlet-gravimetric method of extraction and pH measurement. The results showed that the Pseudomonas sp. TPH can degraded in just 3 weeks to reach the levels of TPH <1%, i.e. from 1.52 becomes 0.79%, while Bacillus sp. within 4 weeks (from 1.53 into 0.83%). This value has reached the standards determined by the Minister of the Environment No.128/ 2003.

Keywords : recovery of soil, bioremediation, bacterium, TPH

I. PENDAHULUAN

Tanah yang tercemar minyak bumi yang bersifat toksik akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan organisme. Untuk itu perlu dipulihkan sehingga menjadi subur kembali. Salah satu cara untuk menanggulangi adalah dengan teknik *bioremediasi*. Teknik ini merupakan proses pengolahan limbah

minyak bumi yang sudah lama atau ceceran minyak pada tanah dengan memanfaatkan *mikroorganisme*, untuk mengurangi konsentrasi atau menghilangkan daya racun bahan pencemar. *Bioremediasi* merupakan proses *degradasi* secara alami oleh *mikroorganisme* dengan mengkonsumsi *hidrokarbon* dan menghasilkan CO₂, air, biomassa, dan oksidasi

sebagian hasil ikutan secara biologi. Selama proses *bioremediasi*, akan terjadi *degradasi* fraksi parafinik, naftenik, dan aromatik yang terkandung dalam minyak bumi (Kadarwati, 1994). Beberapa faktor yang mempengaruhi *biodegradasi hidrokarbon* oleh bakteri adalah proses adaptasi, *hidrokarbon* sebagai substrat, suhu, keasaman, ketersediaan oksigen, dan ketersediaan nutrisi.

Pseudomonas sp. dan *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang sering ditemukan di lingkungan minyak bumi. Dari limbah cair kilang minyak, telah dapat diisolasi bakteri, *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Chromobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *StreptoBacillus* sp. (Devi, L.H., 2001). Upaya untuk mendegradasi cemaran minyak bumi telah dilakukan melalui metode *bioremediasi* menggunakan isolat tunggal dan campuran. Hasil menunjukkan bahwa bakteri campuran yang mengandung *Pseudomonas* memberikan hasil terbaik (Brown, 1987). Proses *degradasi* limbah minyak bumi dapat dipercepat dengan memilih inokulan yang sesuai dan menciptakan lingkungan yang sesuai untuk kehidupan bakteri (Kadarwati dan Leni Herlina, 2008). Oleh sebab itu *bioremediasi* dilakukan dengan menambahkan unsur N dan P dengan perbandingan 5:1 (Kadarwati, 2003). *Bioremediasi* juga dilakukan dengan menambahkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus lentimorbus* ke dalam kultur indigenus. Hasilnya menunjukkan kemampuan *biodegradasi hidrokarbon* lebih baik daripada penambahan kultur mikroba tersebut secara terpisah (Fierdaus, 2009). Usaha untuk mendegradasi naftalena sebagai satu-satunya sumber karbon telah pula dilakukan menggunakan *Bacillus naphthovorans* sp. nov. galur MN-003 (Zhuang, 2002). *Degradasi* alkana dari tumpahan minyak dilakukan menggunakan 7 galur bakteri *Pseudomonas* (Chaerun, 2004).

Tujuan penelitian ini ditekankan pada kinerja bakteri dominan yaitu kecepatan mendegradasi dan penurunan kandungan total petroleum hydrocarbon (TPH) nya. Sampel yang diuji diambil dari Lapangan Minyak Meruap Palembang. Rembesan minyak bumi tersebut menjadi pengganggu pertumbuhan tanaman.

II. BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel yang digunakan untuk *bioremediasi* berupa tanah dari sekitar Laboratorium Bioteknologi Lemigas yang ditambah dengan minyak bumi yang diambil dari Lapangan Minyak Meruap Jambi,

digolongkan sebagai minyak yang bersifat naftenik (API Gravity 41,2; specific gravity pada 60/60oF :0,8195) dan kandungan aromatiknya tinggi dalam fraksi Nafta ringan.

Metode

Tanah yang telah dibersihkan dari potongan-potongan dedaunan, akar, dan bahan-bahan plastik, ditentukan kadar airnya dan dihaluskan hingga berukuran 2 mm menggunakan ayakan (UOP 422). Ke dalam 294 gr sampel tanah, ditambahkan 6 gr minyak bumi dengan cara diaduk, kemudian disimpan selama 24 jam.

- Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Bakteri yang digunakan diisolasi dari minyak bumi Meruap. Isolasi bakteri dilakukan dengan cara penapisan, dan isolasi ini diharapkan dapat diambil koloni bakteri yang terpisah untuk dimurnikan. Bakteri yang sudah murni diidentifikasi mengacu metode Cowan dan Steel, 1974 dan disesuaikan dengan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Setiap akan melakukan percobaan, bakteri diaktifkan terlebih dahulu minimal 24 jam.

- Peremajaan Kultur Bakteri

Ke dalam Erlenmeyer 250 mL, dimasukkan 100 mL media Nutrient Broth (NB), lalu disterilisasi (121oC/151psi) dalam otoklaf selama 15 menit, lalu didinginkan. Inokulasi bakteri 1 ose secara aseptik ke dalam media NB menggunakan shaker (100 rpm, 27oC) sampai fase eksponensial. Bakteri yang digunakan untuk *bioremediasi* adalah *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp.

- Kurva Standar

Kultur hasil peremajaan diencerkan berturut-turut 2, 4, 8, dan 16 kali. Absorbansi tiap pengenceran dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Spectronic 20 Bausch & Lomb) pada panjang gelombang 620 nm dan ditentukan jumlah populasi dalam satuan pembentuk koloni (SPK) dengan metode hitungan cawan (total plate count, TPC). Dari data kedua analisis, dibuat kurva hubungan antara absorbansi dengan SPK.

Penentuan SPK sampel tanah dilakukan dengan cara sebagai berikut : 1 gr sampel dan 9 mL akuades, dikocok dengan vortex mixer; 1 mL sampel diencerkan dengan akuades sampai diperoleh tingkat pengenceran yang dikehendaki. Setiap tingkat pengenceran diambil 0,1 mL dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berisi media. Suspensi sampel dari berbagai

tingkat pengenceran tersebut, kemudian disebar menggunakan drigalsky stick. Selama inkubasi (37°C, 1-2 hari) cawan petri disimpan dalam posisi terbalik. Bakteri dihitung dengan alat penghitung bakteri.

- Degradasi Hidrokarbon

Isolat-isolat tunggal yang diperoleh dari hasil isolasi diuji kemampuan *degradasinya* terhadap *hidrokarbon*. Dari hasil ini, isolat-isolat tunggal yang menunjukkan kemampuan *mendegradasi hidrokarbon* tertinggi dilakukan uji lanjutan, yaitu dua bakteri tunggal yang potensial dan dominan dalam minyak bumi. Pada percobaan *bioremediasi* ini ditambahkan NPK sebagai sumber nitrogen dan fosfor untuk mendukung proses *biodegradasi* TPH.

Bakteri yang potensial dan dominan, diinokulasikan ke dalam sampel tanah yang mengandung minyak bumi dan diaduk sampai tercampur dengan baik. Pengadukan dan penambahan air untuk menjaga kelembapan, dilakukan setiap hari. Selain aerasi, air merupakan faktor penting bagi kelangsungan hidup *mikroorganisme* (Udiharto, 1996). Oleh karena itu, dalam percobaan ini dilakukan penambahan air setiap minggu sebanyak 60% (120mL/300gr tanah) dengan botol semprot supaya merata. Sebagai kontrol, digunakan tanah tanpa bakteri. Percobaan dilakukan selama 4 minggu.

TPH ditentukan dengan metode ekstraksi sokletasi-gravimetri (Metode EPA 9071B) dan keasaman (pH) (SNI 06-6989-2004) yang diamati setiap minggu. Hasilnya dibandingkan dengan spesifikasi yang telah ditetapkan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.128 tahun 2003. Jumlah TPH yang *terdegradasi* diukur dengan menghitung jumlah *hidrokarbon* yang tersisa menggunakan metode gravimetri dengan ekstraksi *hidrokarbon* menggunakan pelarut non-polar, yaitu n-heksana.

Penentuan TPH (EPA 9071B) adalah sebagai berikut:

- Sampel tanah kering ±10 gr dan dimasukkan ke dalam thimble ekstraksi dan ditutup lapisan atasnya dengan kapas.
- n-heksana 250 mL dimasukkan ke dalam labu didih 500 mL yang ditambah 3 butir batu didih dan telah diketahui bobot kosongnya, lalu ditempatkan pada peralatan ekstraksi.
- Sampel diekstraksi selama 7 jam kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada 80°C, dikeringkan dalam oven (60-70°C), lalu ditimbang.

- Pengeringan sampel diulangi sampai diperoleh bobot tetap.

$$\% \text{ TPH} = \frac{(M_1 - M_0)}{M_2} \times 100\%$$

Keterangan :

M_0 = bobot labu didih kosong (g)

M_1 = bobot labu didih berisi ekstrak sampel (g)

M_2 = bobot tanah kering (g)

- Pengukuran Keasaman

Pengukuran keasaman menggunakan pH-meter (SNI 06-6989-2004)

- Sampel tanah kering ±10 gram, ditambah dengan 25 mL air suling, lalu dikocok selama 30 menit dengan pengaduk magnetik.
- Larutan diukur dengan pH-meter yang telah dikalibrasi dengan pH 7,0 dan 4,0.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Dari hasil isolasi *mikroorganisme* yang dapat hidup di dalam sampel minyak bumi yang digunakan, diperoleh bakteri *Alcaligenes* sp.(A), *Bacillus* sp.(B), *Corynebacterium* sp.(C), *Flavobacterium* sp. (F), *Micrococcus* sp.(M), *Nocardia* sp.(N), *Pseudomonas* sp.(P) *StreptoBacillus* sp.(S). *Pseudomonas* sp. merupakan jenis yang paling mampu beradaptasi dengan lingkungan limbah minyak (Brown, 1987). Disebutkan pula bahwa *Pseudomonas* sp. adalah jenis yang tergolong dalam kelompok bakteri kemoorganotrof, yaitu *mikroorganisme* yang dapat memanfaatkan karbon organik sebagai sumber karbon (Bergey, 1996). Sementara itu, *Bacillus* mampu tumbuh dalam temperatur 10-50°C dan merupakan salah satu dari 30 genera bakteri yang mampu hidup di lingkungan yang mengandung *hidrokarbon* (Pelczar, 1986). Hasil isolasi menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. adalah merupakan bakteri dominan dari sampel minyak bumi yang dianalisis.

Waktu Tumbuh Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Waktu tumbuh setiap bakteri berbeda-beda, untuk itu perlu ditentukan waktu tumbuh sampai mencapai fase eksponensial, yaitu suatu fase pertumbuhan cepat dan produktif yang menunjukkan laju pembelahan sel bakteri yang konstan tiap satuan

Tabel 1.
Waktu Tumbuh Mencapai Fase Eksponensial

No	Bakteri	Waktu (jam)
1.	<i>Bacillus</i> sp.	8
2.	<i>Pseudomonas</i> sp.	10

waktu dan terbesar dengan menghasilkan produk-produk hasil metabolismenya.

Waktu tumbuh yang diperlukan bakteri *Bacillus* lebih cepat dibandingkan dengan *Pseudomonas* untuk mencapai fase eksponensial (Tabel 1).

Kurva Standar Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Kurva standar populasi digunakan untuk menyeragamkan jumlah bakteri awal dalam setiap tahapan perlakuan yaitu pada saat inokulasi bakteri ke media tanah. Kurva standar ini menunjukkan hubungan linier antara absorbansi dengan populasi bakteri. Fase eksponensial diperoleh sebesar 1×10^5 SPK/mL. Penghitungan populasi bakteri menggunakan TPC, karena: a) hanya sel yang masih hidup yang dihitung, b) beberapa jenis jasad renik dapat dihitung sekaligus, dan c) dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik.

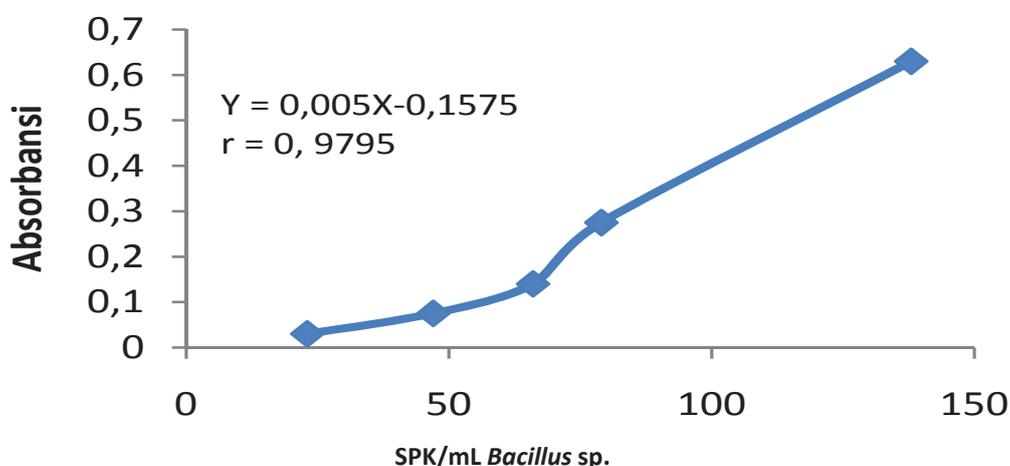
Gambar 1 menunjukkan kurva standar bakteri *Bacillus* sp. dengan persamaan regresi $Y = 0,0055X - 0,1575$ dan $r = 97,95\%$, sedangkan Gambar 2 menunjukkan kurva standar bakteri *Pseudomonas*

sp. dengan persamaan regresi $Y = 0,0043X - 0,09$ dan $r = 98,27\%$.

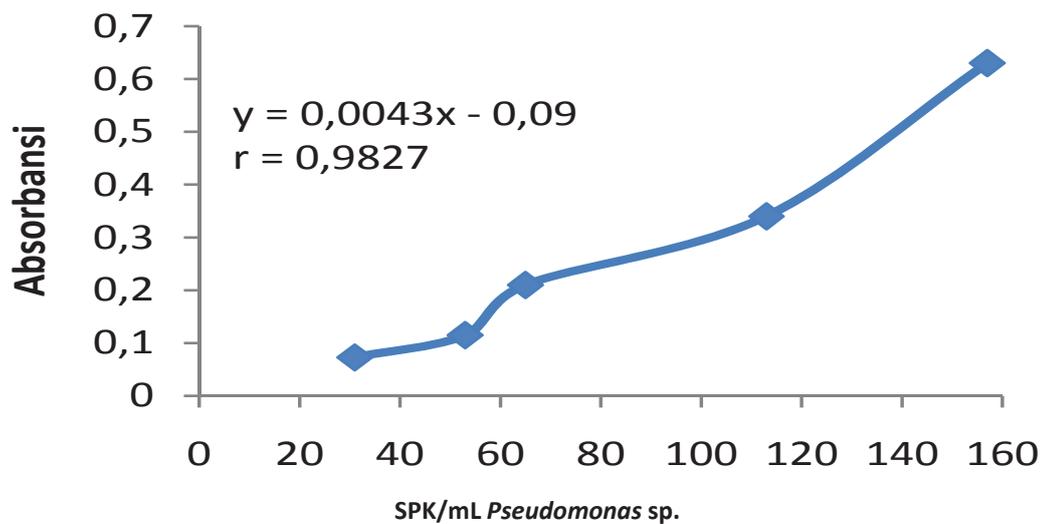
Uji Bioremediasi

Hasil uji kemampuan mendegradasi hidrokarbon untuk isolat-isolat bakteri tunggal dan campuran disajikan pada Gambar 3. Terlihat bahwa penggunaan bakteri total campuran menghasilkan degradasi hidrokarbon terbaik, kemudian diikuti dengan campuran bakteri *Bacillus* sp. + *Pseudomonas* sp., campuran *Flavobacterium* sp. + *Pseudomonas* sp., baru bakteri-bakteri tunggal. Secara keseluruhan, pada penelitian tahap ini terlihat bahwa kultur campuran memberikan hasil paling baik dalam mendegradasi hidrokarbon jika dibandingkan dengan kultur tunggal. Hal ini sesuai dengan hasil yang dicapai oleh Brown (1987) yaitu bahwa setiap jenis bakteri mempunyai kemampuan yang terbatas dalam mendegradasi hidrokarbon, sedangkan dalam limbah minyak terdapat bermacam-macam jenis hidrokarbon.

Selain itu Brown (1987) mengatakan bahwa bakteri *Pseudomonas* sp., mampu memanfaatkan lebih dari satu jenis hidrokarbon dan *Bacillus* sp. termasuk bakteri penghasil biosurfaktan terbaik (Kadarwati dan Leni Herlina, 2005). Oleh karena itu tahap berikutnya diuji kedua bakteri tersebut. Pada penelitian terdahulu dilakukan pengujian dengan menggunakan surfaktan hasil dari *Bacillus* subtilis O9 yang disebut dengan surfaktin. Percobaan dilakukan selama 90 hari. Surfaktin dengan konsentrasi 1,9 dan 19,5 mg/kg tanah memberikan hasil sebagai berikut: a) tidak berpengaruh negatif



Gambar 1.
Kurva Standar Populasi *Bacillus* sp.

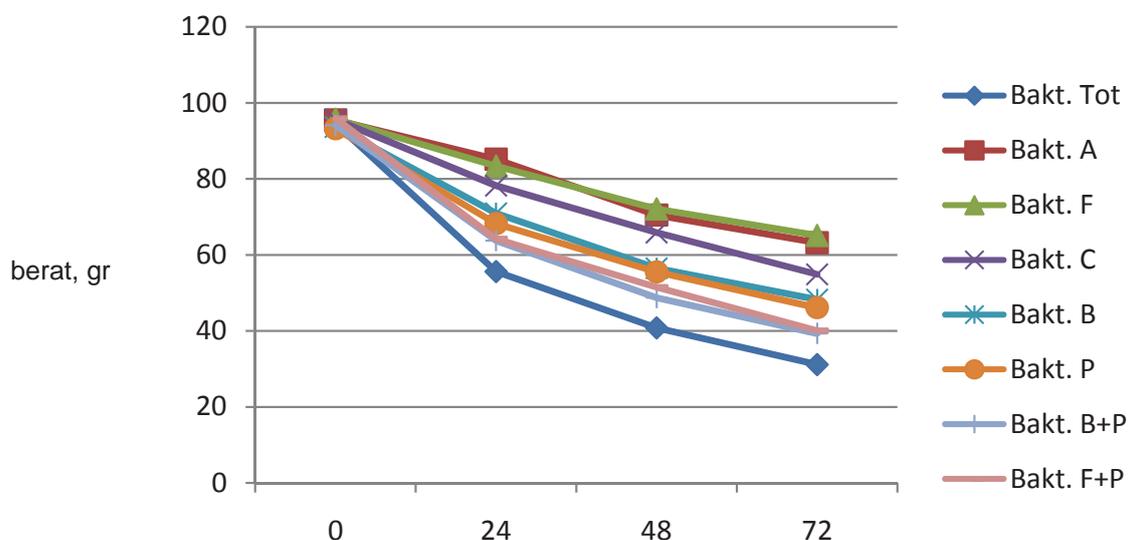


Gambar 2.
Kurva Standar Populasi *Pseudomonas* sp.

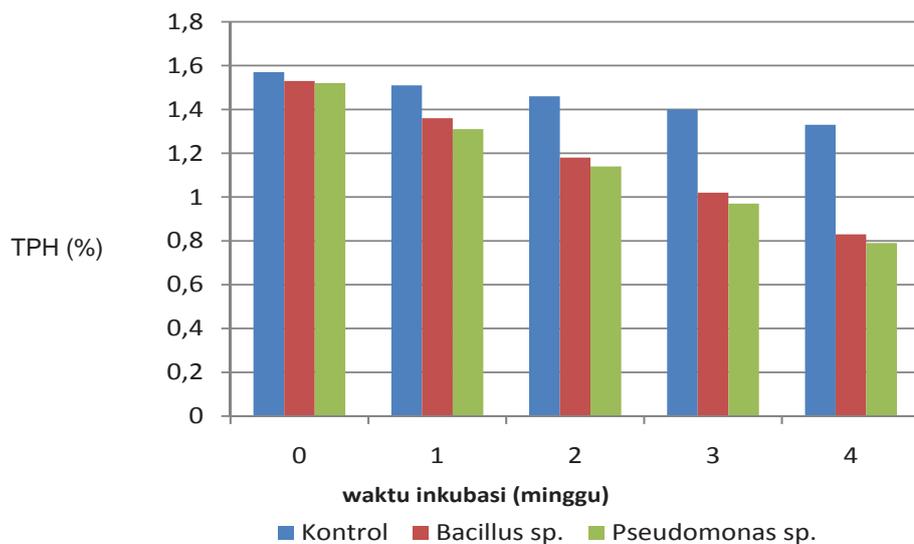
terhadap pertumbuhan mikroba, b) mempercepat biodegradasi alifatik hidrokarbon, c) menstimulasi pertumbuhan mikroba, d) tidak terjadi degradasi aromatik hidrokarbon (Maria A. Cubitto et al., 2004).

Pengujian kemampuan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. dalam mendegradasi hidrokarbon (TPH) disajikan dalam Gambar 4. Kedua bakteri mampu hidup di lingkungan hidrokarbon dalam tanah. Hasil yang diperoleh memenuhi standar Menteri Negara Lingkungan Hidup No.128 Tahun 2003 yang menyatakan bahwa tanah atau lahan dapat dipakai kembali kalau nilai TPH sudah

mencapai 1% atau kurang dari 1%. Hasil percobaan menunjukkan bahwa *Pseudomonas* sp. memerlukan waktu 3 minggu untuk mencapai kadar TPH $\leq 1\%$, sedangkan *Bacillus* sp. memerlukan waktu 4 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri *Pseudomonas* sp. untuk mendegradasi TPH minyak bumi lebih cepat daripada kemampuan bakteri *Bacillus* sp. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanah yang tercemari minyak bumi dengan perbandingan tanah bersih: tanah minyak (1:1) dapat didegradasi oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil degradasi alkana 94% dicapai setelah 191 hari (27 minggu) sedangkan polycyclic aromatic



Gambar 3.
Degradasi Hidrokarbon Oleh Variasi Bakteri

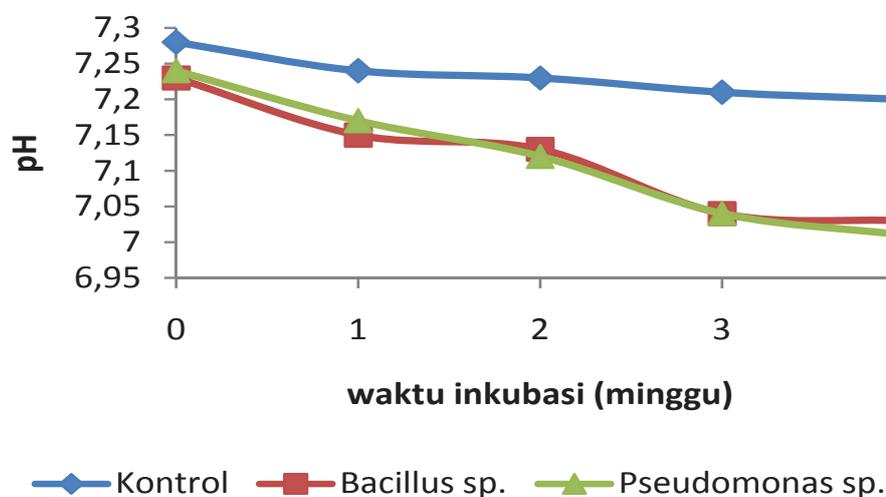


Gambar 4.
Diagram Penurunan TPH oleh *Bacillus* dan *Pseudomonas*

hydrocarbons (PAH) dapat didegradasi selama 24 minggu (A.K. Karamalidis, et al., 2010). Selain itu, *bioremediasi* dari tanah pertanian steril yang dikontaminasi minyak bumi, diremediasi dengan *Pseudomonas putida* menggunakan medium Raymond. Hasilnya menunjukkan bahwa dalam waktu 9 minggu, proses *biodegradasi* terjadi sampai 98%, dan ion nutrisi PO₄-3 dan NO₃-1 digunakan secara signifikan. Sebaliknya, tidak ada perubahan signifikan dari konsentrasi minyak dan nutrisi di dalam kontrol (Nwachukwu, 2001). Konsentrasi maksimum TPH awal sebelum proses

pengolahan secara hayati adalah tidak lebih dari 15%. Adapun nilai optimum TPH awal pada *degradasi* minyak bumi secara hayati yaitu 2-10%. Kondisi ini merupakan kondisi yang tidak terlalu toksik untuk aktivitas bakteri sehingga harus dipenuhi sebagai persyaratan teknis pada proses *bioremediasi* (Jamilah, 2005).

Mikroorganisme akan mengonsumsi *hidrokarbon* sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi bagi kelangsungan hidupnya dan akan mengeluarkan metabolit-metabolit ke dalam media, yaitu dapat berupa gas CO₂, H₂O, biomassa, dan sebagainya.



Gambar 5.
Kurva Penurunan Ph Pada Proses *Bioremediasi*

Gas CO₂ yang dikeluarkan akan bereaksi dengan H₂O dan menghasilkan asam (H⁺) yang dapat menurunkan pH. Kurva penurunan pH pada proses *bioremediasi* disajikan pada Gambar 5.

Meningkatnya aktivitas bakteri untuk *mendegradasi hidrokarbon*, akan meningkatkan pula jumlah asam-asam organik yang dihasilkan. Hal ini mengakibatkan penurunan pH. Penggunaan bakteri yang berbeda akan berpengaruh pada pH yang berbeda pula. Hal ini dikarenakan setiap bakteri akan menghasilkan produk jenis asam-asam organik yang berbeda (Kadarwati dkk., 1994).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan percobaan dapat disimpulkan bahwa:

1. Dari sampel minyak bumi Meruap Jambi telah diidentifikasi delapan jenis bakteri yaitu: *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Nocardia* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Streptobacillus* sp.
2. Bakteri *Bacillus* sp. memerlukan waktu lebih singkat untuk mencapai fase eksponensial daripada bakteri *Pseudomonas* sp.
3. Dalam waktu 4 minggu, kedua bakteri mampu menurunkan TPH minyak bumi dengan nilai yang dipersyaratkan, yaitu <1%.
4. *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. dalam *mendegradasi* TPH minyak bumi mempunyai kemampuan yang hampir sama.

KEPUSTAKAAN

Brown, LR, 1987, Oil-degrading microorganisms, Chemical Engineering Progress, Mississippi State University, Mississippi.

Cowan dan Steel, 1974, Manual for the Identification of Medical Bacteria, Edisi ke-2, Cambridge University Press, Cambridge.

Devi Lasagi H., 2001, Pengaruh Kultur Bakteri, Aerasi, dan Waktu Inkubasi Terhadap Kemampuan Bakteri dalam *Mendegradasi* Limbah Kilang Minyak, Skala Laboratorium, Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Skripsi, Jakarta.

Jamilah, 2005, Potensi Bakteri *Pendegradasi Hidrokarbon* Minyak Bumi pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Penambahan Surfaktan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Skripsi, Bogor.

Kadarwati, dkk., 1994, Aktivitas Mikroba dalam

Substansi di Lingkungan Situs *Hidrokarbon*, Lembaran Publikasi Lemigas, Volume 2, Jakarta.

Kadarwati, 2003, Optimalisasi Pengolahan Limbah Cair Kilang Minyak dengan Bakteri Selektif dan Variasi Aerasi, Lembaran Publikasi Ilmiah Pusdiklat Migas, Vol.10, No.2, Cepu.

Kadarwati dan Leni Herlina, 2008, Effect of Biosurfactant Produced by *Bacillus* in Oily Wastewater Degradation, Scientific Contributions Lemigas, Volume 31, No.3.

Karamalidis, A.K., Evangelou, A.C., Karabika, E., Koukkou, A.I., Drinas, C., E.A. Voudrias, 2010, Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet, Bioresource Technology 101, 6545-6552.

Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2003, Tatacara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi Secara Biologis, Jakarta.

Khodijah Chaerun, S., Kazue Tazakib, Ryuji Asadab, Kazuhiro Kogurec, 2004, Bioremediation of coastal areas 5 years after the Nakhodka oil spill in the Sea of Japan: isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria, Environment International 30, 911-922.

Maria A.Cubitto, Ana C.Moran, Marta Commendatore, Maria N.Chiarello, Monico D. Baldini, Faustino Sinerez, 2004, Effects of *Bacillus subtilis* O9 biosurfactant on the bioremediation of crude oil-polluted soils, Biodegradation, 15: 281-287.

Moch. Fierdaus, 2009, Pengaruh Penambahan Kultur *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus lentimorbus* terhadap Aktivitas *Mikroorganisme* Indigenus yang Terkandung di Air Terproduksi pada Reduksi Kandungan *Hidrokarbon* dalam Lumpur Minyak, Skala Laboratorium, Lembaran Publikasi Lemigas, Vol. 43, No.1, Jakarta.

Pelczar, 1986, Dasar-dasar Mikrobiologi, diterjemahkan oleh Hadioetomo, dkk., UI-Press Jakarta.

Simoncyril U. Nwachukwu, 2001, Bioremediation of sterile agricultural soils polluted with crude petroleum by application of the soil bacterium *Pseudomonas putida* with inorganic nutrient supplementations, Current Microbiology, Vol.42, hlm 231-236.

Udiharto, M. 1996, Peranan *Bioremediasi* dalam

