

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PETROFILIK PELARUT FOSFAT SEBAGAI
AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**



Oleh

**RAHMIWATI
09053140053**

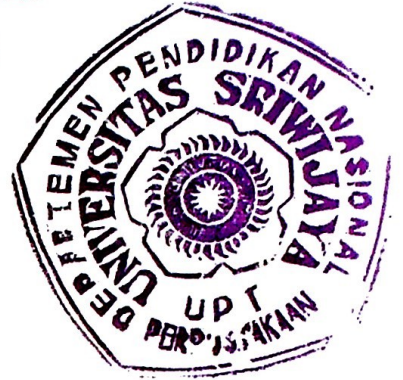
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
MEI 2010**

S
579.307
Rah
i
c 10log
260

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PETROFILIK PELARUT FOSFAT SEBAGAI
AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**



Oleh

**RAHMIWATI
09053140053**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
MEI 2010**

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PETROFILIK PELARUT FOSFAT SEBAGAI
AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

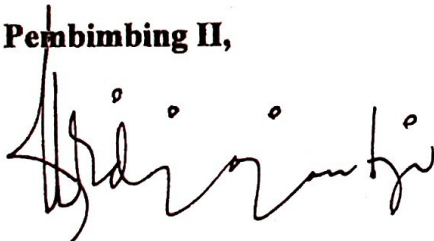
SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**

Oleh

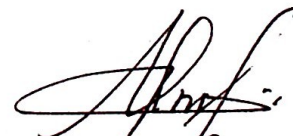
**RAHMIWATI
09053140053**

Pembimbing II,



**Dra. Hary Widjajanti, M.Si.
NIP. 19611212 198710 2 001**

**Inderalaya, Mei 2010
Pembimbing I,**



**Drs. Munawar, M.Si.
NIP. 19680521 199303 1 003**

Mengetahui:

Ketua Jurusan Biologi,



**Dr. Lazili Hanafiah, M.Sc.
NIP. 19590909 198703 1 004**

Motto :

"Cepat atau lambat relatif karena segala sesuatunya butuh proses
Proses menjadikan kita lebih dewasa dan berfikir lebih bijaksana
Maka jalanilah dengan penuh rasa ikhlas dan sabar, karena semua akan manis dan
indah pada waktunya"
"Kegagalan adalah langkah awal menuju kesuksesan"

Ku persembahkan karya ini untuk :

Dienku (Islam)

Kedua orang tuaku tercinta Papanda M. Syarifuddin dan Ibuda Nurana

Adinda tersayang Lily Hasmi

Semua Dosen-dosen di Jurusan FMIPA khususnya

Sahabat-sahabat terkasih, teman-teman semuanya dan orang-orang yang

mencintaiku

Serta Almamaterku

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul “ Isolasi Bertahap, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Minyak Bumi”.

Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka melengkapi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Dengan selesainya penelitian dan penulisan skripsi ini tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Drs. Munawar, M.Si. dan Dra. Hary Widjajanti, M.Si. selaku pembimbing I dan Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam memberikan bimbingan, masukan, dan nasehat kepada penulis sejak awal penelitian hingga selesainya tugas akhir ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. Muhammad Irfan, M.T. sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc sebagai Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya.
3. Drs. Arwinskyah Arka, M.Kes. sebagai dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat mulai awal perkuliahan sebagai mahasiswa baru hingga penyelesaian tugas akhir ini.

4. Dra. Muharni, M.Si dan Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si. sebagai dosen pembahas dan Drs. Endri Junaidi, M.Si. sebagai dosen tamu yang telah banyak memberikan masukan dan nasehat.
5. Dra. Hary Widjajanti, M.Si. sebagai Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
6. Dra. Nita Aminasih, M.P. sebagai Kepala Laboratorium Genetika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
7. Dwi Puspa Indriani, S.Si., M.Si. sebagai bendahara Jurusan Biologi FMIPA.
8. Bapak dan Ibu staf pengajar Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya yang telah membekali penulis dengan berbagai ilmu pengetahuan mulai awal perkuliahan.
9. Rosmania (Uni Nia) selaku analis Laboratorium Jurusan Biologi yang banyak memberikan arahan, petunjuk dan nasehat kepada penulis dalam penggunaan alat-alat Laboratorium dan sarana penelitian.
10. Bu Yani dan Pak Nanang selaku staf administrasi Jurusan Biologi yang membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan skripsi.
11. Papa, Ibu dan Adinda tercinta terima kasih untuk semua dukungannya baik moril maupun materil, pengertian, perhatian, kasih sayang, semangat serta semua doa-doanya yang membuat penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tugas akhir ini.
12. Teman seperjuangan Ajeng Niken Pratiwi terima kasih atas kekompakannya, semangat, pengertian dan kerjasamanya. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium

Mikrobiologi Karni, Mbak Pia, Kak Iyal, Ita, Eka, There, Lina, Diar, Deska, Neli, Desi, Ayu, Esti , Marindah rinanda terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.

13. Semua angkatan 2004, 2005, 2006, 2007, dan 2008 Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya terima kasih atas persahabatan dan kebersamaan yang indah dan tak terlupakan lebih kurang 4 tahun terakhir ini.

14. Semua pihak yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penelitian dan tugas akhir ini baik moril dan materil.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini, Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat khususnya bagi penulis, bagi kita semua dan kemajuan ilmu pengetahuan.

Inderalaya, Mei 2010

Penulis

A SEQUENTIAL ISOLATION, CHARACTERIZATION AND IDENTIFICATION OF PETROFILIC PHOSPHATE SOLUBLIZING BACTERIA AS AGENT OF BIOREMEDIATION PETROLEUM OIL

By:

RAHMIWATI
09053140053

ABSTRACT

The research of **A Sequential Isolation, Characterization and Identification of Petrofilic Phosphate Solublizing Bacteria as the Agent of Bioremediasi Waste Oil** was done August 2009 until March 2010 in the Microbiology Laboratory, Biology Departement of Mathematics and Natural Science Faculty of Sriwijaya University. The purposes of this research to obtain bacterial isolates capable of degrading petroleum hydrocarbon fraction of saturated, aromatic, resin and asphaltene in stages at the same time capable of solublizing the phosphate from petroleum-contaminated soil and investigate the characteristics and identifying bacteria based on its characteristics. Samples were collected from 5 different sample points on the area Talang Jimar, Prabumulih, South Sumatera. The results from Sequential isolation that using Soil Ekstrakt Medium (SEM) obtained 337 bacterial isolates petrofilic, 26 petrofilik phosphate solublizing bacterial isolates such as 5 petrofilic degradation saturate fraction phosphate solublizing bacteria isolates, 9 petrofilic degradation aromatic fraction phosphate solublizing bacteria isolates, 7 petrofilic degradation resin fraction phosphate solublizing bacteria isolates, and 5 petrofilic degradation asphaltene fraction phosphate solublizing bacteria isolates. 5 genera petrofilic degradation saturate fraction is *Azotobacter*, *Acinetobacter*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Bacillus*; 6 genera petrofilic degradation aromatic fraction phosphate solublizing bacteria isolates is *Arthrobacter*; *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, dan *Mycobacterium*, 4 genera petrofilic degradation resin fraction phosphate solublizing bacteria isolates is *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*; dan 3 genera petrofilic degradation asphaltene fraction phosphate solublizing bacteria isolates is *Bacillus*, *Micrococcus*, dan *Mycobacterium*

Key words: A sequential isolation, bacteria, petrofilic, phosphate solublizing

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PETROFILIK PELARUT FOSFAT SEBAGAI
AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

Oleh:

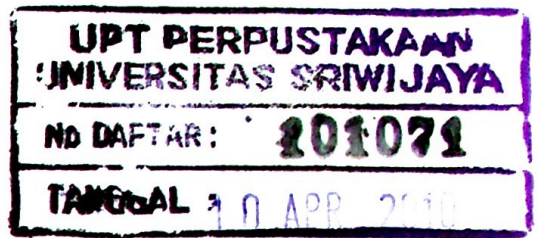
**RAHMIWATI
09053140053**

ABSTRAK

Penelitian yang berjudul **Isolasi Bertahap, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat sebagai Agen Bioremediasi Limbah Minyak Bumi** pada bulan Agustus 2009 sampai bulan Maret 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, aromatik, resin dan aspalten secara bertahap sekaligus mampu melarutkan fosfat dari tanah yang terkontaminasi minyak bumi dan mengetahui karakteristik serta mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh berdasarkan karakteristik yang dimiliki masing-masing isolat. Sampel di ambil dari 5 titik sampel yang berbeda pada daerah Talang Jimar, Prabumulih, Sumatera Selatan. Hasil isolasi bertahap menggunakan *Soil Extract Medium* (SEM) diperoleh 337 isolat bakteri petrofilik, 26 isolat bakteri petrofilik pelarut fosfat yaitu 5 isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi jenuh pelarut fosfat, 9 isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi aromatik pelarut fosfat, 7 isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi resin pelarut fosfat dan 5 isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi aspalten pelarut fosfat. 5 genera bakteri petrofilik pendegradasi fraksi jenuh pelarut fosfat yaitu *Azotobacter*, *Acinetobacter*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Bacillus*; 6 genera bakteri petrofilik pendegradasi fraksi aromatik pelarut fosfat yaitu *Arthrobacter*; *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, dan *Mycobacterium*, 4 genera bakteri petrofilik pendegradasi fraksi resin pelarut fosfat yaitu *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*; dan 3 genera bakteri petrofilik pendegradasi fraksi aspalten pelarut fosfat yaitu *Bacillus*, *Micrococcus*, dan *Mycobacterium*

Kata kunci: Isolasi bertahap, bakteri, petrofilik, pelarut fosfat

DAFTAR ISI



	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRACT	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tanah Sumber Isolat Bakteri	7
2.2. Minyak Bumi	8
2.3. Pencemaran Tanah oleh Limbah Minyak Bumi	11
2.4. Bioremediasi	11
2.5. Bakteri Petrofilik Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi	12
2.6. Mekanisme Degradasi Hidrokarbon Minyak Bumi	14

2.7. Bakteri Pelarut Fosfat	15
2.8. Mekanisme Pelarutan Fosfat	17
2.9. Peranan Bakteri Pelarut Fosfat pada Bioremediasi	18
2.10. Isolasi Bertahap Bakteri Petrofilik Indigen	19
2.11. Karakterisasi Isolat Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat	21

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat	24
3.2. Alat dan Bahan	24
3.3. Cara kerja	
3.3.1. Pengambilan Sampel	25
3.3.2. Pengukuran Faktor Fisika dan Kimia Sampel	25
3.3.3. Persiapan <i>Soil Ekstrak Medium</i>	26
3.3.4. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Petrofilik	26
3.3.5. Analisa Komposisi Minyak Bumi dengan Metode SARA dan Analisis Regresi	29
3.3.6. Seleksi Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat	30
3.4. Karakterisasi	31
3.5. Identifikasi	37
3.6. Variabel Pengamatan	38
3.7. Penyajian Data	38

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Bertahap dan Pemurnian	39
4.2. Hasil Seleksi Bakteri Petrofilik.....	41
4.3. Hasil Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat	51
4.4. Hasil Seleksi Jumlah Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat	56
4.5. Karakteristik Isolat Bakteri Petrofilik Pelarut Fosfat	56
4.5.1. Morfologi Koloni	56
4.5.2. Morfologi Sel	58
4.5.3. Karakteristik sifat fisiologi	59

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	77
5.2. Saran	78
DARTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN	86

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Metode untuk mencirikan mikroorganisme	23
Tabel 4.1. Isolat bakteri petrofilik hasil isolasi dan pemurnian bakteri petrofilik setiap sampel pada tahap I, II, III, IV	39
Tabel 4.2. Jumlah Isolat bakteri petrofilik berdasarkan kelompok pendegradasi fraksi minyak bumi	50
Tabel 4.3. Hasil seleksi isolat bakteri petrofilik pelarut fosfat	53
Tabel 4.4. Morfologi sel, sifat gram, endospora isolat bakteri petrofilik pelarut fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	58
Tabel 4.5. Karakteristik fisiologi isolat bakteri petrofilik berpotensi melarutkan fosfat (sitrat, H_2S , <i>methyl red</i> , <i>Voges Proskauer</i> , indol, katalase, motilitas)	60
Tabel 4.6. Karakteristik fisiologi isolat bakteri petrofilik yang berpotensi melarutkan fosfat (Fermentasi Karbohidrat)	63
Tabel 4.7. Karakteristik fisiologi isolat bakteri petrofilik yang berpotensi melarutkan fosfat (Hidrolis Gelatin, hidrolisis urea, hidrolisis pati, hidrolisis kasein, dan hidrolisis lemak	64
Tabel 4.8. Karakteristik isolat bakteri	68
Tabel 4.9. Jumlah genus bakteri petrofilik pelarut fosfat yang diisolasi secara bertahap berdasarkan fraksi penyusun OR dan MSD	75

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1. Titik sampling	25
Gambar 3.2. Bagan Prosedur isolasi bakteri petrofilik secara bertahap dari minyak bumi	28
Gambar 4.1. Pemurnian isolat bakteri T4H1D1	41
Gambar 4.2. Hubungan konsentrasi fraksi dengan tahap isolasi sample D1	42
Gambar 4.3. Hubungan konsentrasi fraksi dengan tahap isolasi sample D2	44
Gambar 4.4. Hubungan konsentrasi fraksi dengan tahap isolasi sample D3	45
Gambar 4.5. Hubungan konsentrasi fraksi dengan tahap isolasi sample D4	45
Gambar 4.6. Hubungan konsentrasi fraksi dengan tahap isolasi sample D5	45
Gambar 4.7. Hubungan fraksi jenuh dengan setiap tahapan isolasi pada lima lokasi sampel	46
Gambar 4.8. Hubungan fraksi aromatik dengan setiap tahap isolasi pada lima lokasi sampel	47
Gambar 4.9. Hubungan fraksi resin dengan setiap tahap isolasi pada lima lokasi sampel	48
Gambar 4.10. Hubungan fraksi asfalten dengan setiap tahap isolasi pada lima lokasi sampel	49
Gambar 4.11. Zona bening pada koloni bakteri petrofilik pelarut fosfat	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Peta lokasi pengambilan sampel	86
Lampiran 2. Komposisi Medium	87
Lampiran 3. Bentuk Koloni Standar pada Medium Agar Tegak	92
Lampiran 4. Bentuk Koloni Standar pada Medium Agar Miring	93
Lampiran 5. Bentuk koloni standar	93
Lampiran 6. Bentuk elevasi, tepi, dan struktur dalam koloni bakteri	94
Lampiran 7. Bentuk koloni standar pada medium NB	94
Lampiran 8. Karakteristik tanah terkontaminasi pada lokasi penelitian	95
Lampiran 9. Tabel konsentrasi fraksi OR dan MSD tahap I, II, III, IV sampel D1...	95
Lampiran 10. Tabel konsentrasi fraksi OR dan MSD tahap I, II, III, IV sampel D2...	95
Lampiran 11. Tabel konsentrasi fraksi OR dan MSD tahap I, II, III, IV sampel D3...	96
Lampiran 12. Tabel konsentrasi fraksi OR dan MSD tahap I, II, III, IV sampel D4...	96
Lampiran 13. Tabel konsentrasi fraksi OR dan MSD tahap I, II, III, IV sampel D5...	96
Lampiran 14. Konsentrasi fraksi jenuh OR dan MSD I, II, III, IV dari sampel	96
Lampiran 15. Konsentrasi fraksi aromatik OR dan MSD I, II, III, IV dari sampel	97
Lampiran 16. Konsentrasi fraksi resin OR dan MSD I, II, III, IV dari sampel	97
Lampiran 17. Konsentrasi fraksi asfalten OR dan MSD I, II, III, IV dari sampel	97
Lampiran 18. Isolat bakteri petrofilik pelarut fosfat hasil seleksi jumlah	98
Lampiran 19. Isolat bakteri petrofilik pelarut fosfat	99
Lampiran 20. Karakteristik isolat bakteri pada medum NA tegak	100
Lampiran 21. Karakteristik isolat bakteri pada medum NA lempeng	101

Lampiran 22. Karakteristik isolat bakteri pada medum NB 37°C	103
Lampiran 23. Karakteristik isolat bakteri pada medum NB 41° C	104
Lampiran 24. Hasil uji Sitrat	105
Lampiran 25. Hasil uji H ₂ S	106
Lampiran 26. Hasil uji Metil Merah	107
Lampiran 27. Hasil uji <i>Voges Proskauer</i>	108
Lampiran 28. Uji Indol	109
Lampiran 29. Uji Motilitas	110
Lampiran 30. Fermentasi Glukosa	111
Lampiran 31. Fermentasi Laktosa	112
Lampiran 32. Fermentasi Sukrosa	113
Lampiran 33. Hidrolisis Gelatin	114
Lampiran 34. Hidrolisi Urea	115



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Minyak bumi merupakan salah satu sumber energi yang penting bagi kehidupan manusia. Aktivitas produksi minyak bumi selain menghasilkan berbagai jenis produk juga menghasilkan limbah yang dapat mencemari lingkungan. Menurut Prijambada & Widada (2006:1), kegiatan eksploitasi yang meliputi pengeboran, pembangunan sarana pengangkutan, penyimpanan, pengolahan untuk pemisahan minyak bumi sering mengakibatkan terjadi pencemaran pada lahan di areal sekitar aktifitas tersebut berlangsung. Pencemaran tanah oleh minyak mentah menyebabkan perubahan terhadap susunan biologi tanah, karena minyak bumi bersifat racun bagi mikroorganisme tanah dan tanaman (Tehrani & Herfarmanesh 2007: 1).

Limbah minyak bumi menurut Peraturan Pemerintah (PP No.19/1994) dikategorikan sebagai limbah B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun). Limbah minyak bumi yang berasal dari minyak mentah (*crude oil*) secara struktur kimia disusun oleh hidrokarbon fraksi jenuh contohnya golongan alkana (*paraffin*), fraksi aromatik contohnya benzen beserta turunannya, fraksi resin, fraksi asfalten dan kelompok non hidrokarbon (Doerffer 1992: 8).

Baku mutu pengolahan limbah minyak bumi tentang tata cara dan persyaratan teknis pengolahan limbah minyak bumi dan tanah terkontaminasi oleh minyak bumi secara biologis salah satunya yaitu konsentrasi maksimum *Total Petroleum*

Hydrocarbon (TPH) limbah minyak bumi pada awal sebelum proses pengolahan biologis tidak lebih dari 15% (KepMen LH. No. 128 2003: 5).

Pengolahan tanah yang terkontaminasi limbah minyak bumi baik dalam konsentrasi besar atau kecil membutuhkan teknologi yang murah, mudah dan ramah lingkungan seperti bioremediasi. Bioremediasi didefinisikan sebagai teknologi yang menggunakan mikroba untuk mengolah pencemaran melalui mekanisme biodegradasi alamiah atau meningkatkan biodegradasi alamiah dengan menambahkan mikroba dan nutrisi (USEPA, 2001 *dalam* Mangkoedihadjo 2005: 5). Bioremediasi merupakan metode untuk mendegradasi hidrokarbon minyak bumi yang paling ekonomis dan ramah lingkungan (Priyambada & Widada 2006: 1).

Teknik pengolahan limbah minyak bumi dengan bioremediasi umumnya menggunakan bakteri sebagai agen bioremediasi. Salah satu bakteri yang digunakan dalam proses bioremediasi limbah minyak bumi adalah bakteri petrofilik yang bersifat indigen yang berasal dari daerah yang tercemar limbah minyak bumi. Menurut Effendi (2006: 42), bakteri petrofilik merupakan bakteri yang mempunyai kemampuan untuk menggunakan minyak mentah sebagai sumber karbon satu-satunya untuk tumbuh.

Bakteri di dalam tanah mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi minyak bumi. Kemampuan bakteri mendegradasi fraksi-fraksi minyak bumi tergantung pada enzim yang dimilikinya (Fedorak *et al.*, 1983 *dalam* Aditiawati *et al.* 2001: 1). Enzim yang dimiliki oleh bakteri untuk mengubah komposisi kimia minyak bumi dan membantu metabolisme komponen minyak mentah menjadi

komponen tidak beracun seperti CO₂ yaitu enzim oksigenase (Cerniglia, 1992 *dalam* Tehrani & Herfarmanesh 2007: 2).

Isolasi bakteri yang dilakukan secara tidak bertahap hanya memperoleh isolat bakteri pendegradasi fraksi yang komposisinya banyak di dalam minyak bumi. Menurut Aditiawati *et al.* (2001: 1), prosedur isolasi yang dilakukan secara tidak bertahap hanya dapat mengisolasi bakteri pendegradasi minyak bumi yang mendominasi kultur, yaitu bakteri yang pertama mendegradasi minyak bumi dan mampu mencapai konsentrasi sel tinggi dengan cepat. Menurut Hadi (2003: 2), bakteri mendegradasi minyak bumi mulai dari komponen yang mudah didegradasi hingga yang sulit didegradasi, dimana jumlah komponen minyak bumi yang mudah didegradasi lebih mendominasi minyak bumi dibandingkan dengan yang susah didegradasi. Bakteri yang mula-mula mendegradasi minyak bumi merupakan pengoksidasi alkana normal karena fraksi ini mendominasi kebanyakan minyak bumi, lebih mudah larut dalam air, dan berdifusi ke dalam sel-sel bakteri (Walker & colwell, 1974; Horowitz *et al.*, 1975; Sigiura *et al.*, 1975 *dalam* Aditiawati *et al.* 2001: 1).

Bakteri pendegradasi fraksi minyak bumi yang sulit didegradasi diperoleh dengan memanfaatkan fraksi minyak bumi yang masih ada setelah pertumbuhan yang lengkap bakteri pendegradasi awal (Harayama *et al.* 1995 *dalam* Aditiawati *et al.* 2001: 1). Isolat bakteri yang lebih lengkap untuk menghasilkan degradasi total minyak bumi yang lebih besar dapat diperoleh melalui isolasi bakteri pendegradasi minyak bumi secara bertahap (Horowitz *et al.* 1975 *dalam* Pikoli *et al.* 2000: 1). Isolat bakteri yang diperoleh melalui isolasi bertahap dari minyak sumur Bangko yang dilakukan oleh Pikoli *et al.* (2000: 8) dan Aditiawati *et al.* (2001: 3), diperoleh 8 genus isolat

bakteri yaitu *Bacillus polymyxa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus* sp.1, dan *Pseudomonas aeruginosa*, dari tahap I; *Bacillus* sp.2, *Bacillus stearothermophilus* dan *Bacillus brevis* dari tahap II; dan *Bacillus coagulans* dari tahap III. Isolat yang diperoleh setiap tahap isolasi memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menggunakan komponen minyak mentah.

Kecepatan proses degradasi limbah minyak bumi secara alami oleh bakteri di alam berjalan lambat, oleh karena itu dibutuhkan teknologi yang dapat meningkatkan kinerja bakteri. Peningkatan kinerja bakteri pada bioremediasi salah satunya dapat dilakukan dengan penambahan nutrisi yang disebut dengan biostimulasi (Munir 2006: 17). Nutrisi yang sering ditambahkan dalam bioremediasi adalah nitrogen dan fosfor (Wrenn *et al.* 1994 dalam Tehrani dan Herfatmanesh. 2007: 72). Bagi mikroorganisme, fosfor sangat penting karena fosfor terdapat dalam asam nukleat, pospolipid, ATP, beberapa kofaktor, beberapa protein, dan komponen-komponen sel lainnya. Hampir semua mikroorganisme menggunakan fosfat sebagai sumber fosfornya (Prescott *et al.* 1993: 99). Sumber fosfat yang didapatkan bakteri dari proses bioremediasi yaitu melalui penambahan pupuk yang mengandung fosfat seperti NPK. Penambahan pupuk fosfat akan menambah biaya yang cukup mahal apabila bioremediasi dilakukan dalam skala besar.

Penambahan pupuk fosfat dalam bioremediasi selain menambah biaya juga tidak efektif karena fosfat akan langsung terikat dengan logam-logam yang ada di dalam tanah. Menurut Prihatini (2009: 2), masalah utama pemupukan fosfat pada tanah adalah efisiensinya yang rendah karena adanya proses pengikatan fosfat yang cukup tinggi oleh tanah terhadap pupuk yang diberikan. Pada tanah yang bersifat basa, fosfat

dapat membentuk ikatan Ca-P yang bersifat sukar larut. Pada tanah yang bersifat masam fiksasi fosfat dilakukan oleh besi (Fe) atau aluminium (Al) dengan membentuk ikatan Fe-P atau Al-P yang juga sukar larut dan tidak tersedia di tanah.

Menurut Rao (1994: 275), di dalam tanah banyak terdapat bakteri yang mempunyai kemampuan melepaskan fosfat dari ikatan Fe, Al, Ca dan Mg sehingga menjadi tersedia, contohnya bakteri *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Bakteri yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat telah ada dan tumbuh pada tanah sebelum tanah tercemar limbah minyak bumi.

Berdasarkan informasi di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri yang mempunyai kemampuan untuk mendegradasi semua fraksi penyusun minyak bumi baik fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten. Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi bertahap untuk mendapatkan bakteri petrofilik indigen pendegradasi fraksi minyak bumi yang lengkap dan mempunyai kemampuan untuk melarutkan fosfat pada tanah yang tercemar limbah minyak bumi.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana cara memperoleh isolat bakteri petrofilik yang mampu mendegradasi fraksi jenuh, aromatik, resin dan asfalten, sekaligus mampu melarutkan fosfat dari tanah terkontaminasi minyak bumi.
2. Bagaimana karakteristik isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten sekaligus yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat pada setiap tahapan isolasi.

3. Termasuk kedalam genus apa isolat bakteri yang diperoleh berdasarkan karakteristik yang dimilikinya

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk:

1. Memperoleh isolat bakteri petrofilik yang mampu mendegradasi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten melalui isolasi bertahap sekaligus yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat dari tanah terkontaminasi minyak bumi.
2. Mengetahui karakteristik isolat bakteri petrofilik pendegradasi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten yang diisolasi secara bertahap sekaligus mempunyai kemampuan melarutkan fosfat.
3. Mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh berdasarkan karakter masing-masing yang dimilikinya.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh isolat bakteri petrofilik yang dapat mendegradasi hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten sekaligus yang dapat melarutkan fosfat dari tanah yang terkontaminasi limbah minyak bumi serta memberikan sumbangan informasi tentang agen biologis dalam pengembangan bioremediasi tanah yang terkontaminasi limbah minyak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aagot, Nina, Nybroe, O., Nielsen, P., & Johnsen, K. 2001. An Altered *Pseudomonas* Diversity is Recovered from Soil by Using Nutrient Poor *Pseudomonas*-Selective Soil Extract Media. *Applied and Environmental Microbiology*. USA. 67(11): 5233-5239.
- Aditiawati, P., Pikoli, M.R., Astuti, D.I. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional LATMI*. Yogyakarta: 1-8.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2th Edition. John Wiley & Sons. USA: 467 hlm.
- Anonim: 2008. Bakteri Hidrokarbonoklastik. *Article*. 2 hlm. <http://www.forumsains.com/profile/aQi/?sa=showPosts>. 24 April 2009.
- Atlas, R.M. 1981. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons. Environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45: 180-209. *Dalam*: Saidi, D., Anas, I., Hadi, N., Santosa, D. A. 1999. Kemampuan Bakteri dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah dalam Merombak Minyak dan Solar. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*. 2(2): 1-7.
- Atlas, R.M., Bartha, R. 1985. *Microbial Ecology*. The Benjamin/Cummings Publishing. London. 11-13. *Dalam*: Nugroho, A. 2006. Biodegradasi *Sludge* Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos. Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Makara Teknologi*. 10(2): 82-89.
- Atlas, R.M. 2005. *Handbook of Media for Environmental microbiology*. CRC Press. United State of America: 540 hlm.
- Auflem, I.H. 2002. Influence of Asphaltene Aggregation and Pressure on Crude Oil emulsion Stability. *Thesis of Doctor Ingenior*. Departement of Chemical Engineering. Norwegian University of Science and Technology. Trondheim.
- Banik, S. & Dey, B.K. 1982. Available Phosphate Content of an Alluvial Soil as Influenced by inocumulation of some isolated phosphate Solublizing Microorganism. *Plant and Soil*. 69: 353-364. *Dalam*: Yutaka, E. 1993. *Isolasi dan Identifikasi Terbatas BPF*. Biologi FMIPA. IPB. Bogor: 14.

- Brooks, G.F., Butel, G.F., Morse, S.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Eidisi I. Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E., B., Mertaniasih, N.,M., Harsono, S., Alimsardjono, L. (penterjemah). Salemba Medika. Jakarta. 528 hlm.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. *Biodegradation*. 3: 354-368. *Dalam*: Tehrani, D.M., Herfatmanesh, A. 2007. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fraction of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil: A Pilot Study. *Bioremediation Journal*. 11(2): 71-76.
- Cappucino, J.G and Sherman, N. 1992. *Microbiology a Laboratory Manual*. 3rd edition. The Benjamin/Cummings Publish. New York. USA. 462 hlm.
- Chator & Somerville. 1978. *The Oil Industry and Microbial Ecosystems*. Heyden & Son Ltd. London. *Dalam*: Nugroho, A. 2006. Biodegradasi *Sludge* Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos. Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Makara Teknologi*. 10(2): 82-89.
- Cookson, Jr. J.T. 1995. *Bioremediation Engineering Design and Application*. McGraw-Hill. New York. *Dalam*: Munawar., Mukhtasor., Surtiningsih, T. 2007. Bioremediasi Tumpahan Minyak Mentah dengan Metode Biostimulasi Nutrien Organik di Lingkungan Pantai Surabaya Timur. *Berk. Penel. Hayati*. 13: 91-96. <http://journal.discoveryindonesia.com/index.php/hayati/article/viewFile/105/132>. 18 Februari 2009.
- Coyne, M.S. 1999. *Soil Microbiology An Exploration Approach*. Delmar Publisher. Albany New york. 462 hlm.
- Doerffer, J.W. 1992. *Oil Spill Response in the Marine Environment*. Pergamon Press. Tokyo. 391 hlm.
- Donlon, D.L. and Bauder, J. W. 2008. A General Essay on Bioremediation of Contaminated Soil. *Article*. 2. <http://www.er.doe.gov/production/ober/nabir/needshtml>. 15 Maret 2009.
- Dunn, K., G.V. Chilingarian, and T.F. Yen. 2000. Bitumens: *Liquid Chromatography*. Academic Press. Los Angeles.
- Effendi, A.K., 2006. Treatability Test of Oil-contaminated Soil Using Bio-Augmented Bacteria. *Jurnal Infrastruktur dan Lingkungan Binaan*. II(2): 41-47.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.Y., Schroeder, E.D. 19988. *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill. Singapore. 296 hlm.

- Farrington, J. W., Meyers, 1975. The chemical society. *environment chemistry*. 1(1): 109.
- Dalam: Marsaoli, M. 2004. Kandungan bahan Organik, N-Alkana, Aromatik, dan Total Hidrokarbon dalam Sedimen di Perairan Raha Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara. *Makara Sains*. 8(3): 116-122.
- Fedorak, P.M., Foght, J.M., and Westlake, D.W.S. 1983. Comparative Studies on Microbial Degradation of Aromatics and Saturates in Crude Oil *dalam* Aditiawati, P., Pikoli, M.R., Astuti, D.I. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta: 1-8.
- Ginting, R.C.B., Saraswati, R., Husein, E. 2009. Mikroorganisme Pelarut Fosfat. *Jurnal*. <http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/buku/pupuk/pupuk7.pdf>. 4 Januari 2010.
- Hadi, S.N. 2003. Degradasi Minyak Bumi Via Tangan Mikroorganisme. *Artikel*. Mahasiswa Pasca Sarjana Departemen Biokimia IPB. 4. <http://www.chemistry.org/?sect=artikel&ext=64>. 15 Februari 2009.
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta:163 hlm.
- Hanafiah, K.A. 2005. *Dasar-dasar Ilmu Tanah*. RajaGrafindo Persada. Jakarta: 360 hlm.
- Handayanto.E. & Hairiah.K. 2007. *Biologi Tanah Landasan Pengelolaan Tanah Sehat*. Pustaka Adipura. Yogyakarta: 196 hlm.
- Harayama, S., Klahira, H., Kasai, Y., Shutaubo, K.. 1999. Petroleum Biodegradation in Marine Environments. *Journal Molec. Mikrobiol. Biotechnol*. 1(1): 63-70.
- Harayama, S., Sigiura, K., Asaumi, M., Shimauchi, T., Goto, M., Sasaki, S. & Ishihara, M.. 1995. Biodegradation of Crude Oil. *Program and abstract in the First Asia- Pasific Marine Biotechnology Conferention*. Shimizu, Shizuoka, Japan. 19-24. *Dalam*: Aditiawati, P., Pikoli, M.R., Astuti, D.I. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta: 1-8.
- Hasanudin & M, Gonggo B. 2004. Pemanfaatan Mikrobia Pelarut Fosfat dan Mikoriza Untuk Perbaikan Fosfor Tersedia, Serapan Fosfor Tanaha (Ultisol) dan Hasil Jagung (pada Ultisol. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. Prodi Ilmu Tanah FP Universitas Bengkulu. 6(1): 8-13.

- Horowitz, A., Gutnick D., Rosenberg, E. 1975. Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil. *Applied Microbiology*. 30(1): 10-19. *Dalam:* Pikoli, M.R., Aditiawati, P., Astuti, D.I. 2000. Isolasi Bertahap dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceedings Institut Teknologi Bandung*. 1-8. <http://www.lp.itb.ac.id/product/vol32no2/Mega/mega.html>. 18 April 2009.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi*. Jilid I. Yrama Widya. Bandung: 256 hlm.
- Jutono, J., Soedarsono., Hartadi, S., Kabirun, S. & Susanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi)*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta: 232 hlm.
- KepMen LH. No. 128. 2003. *Tentang Tata Cara persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminan Oleh Minyak Bumi Secara Biologis*. Jakarta. 32 hlm.
- Lay, B.M. & Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali. Jakarta Utara: 376 hlm.
- Lorenz, M.G. & Wackernagel, W. 1991. High Frequency of Natural Genetic Transformation of *Pseudomonas stutzeri* in Soil Extract Supplemented with a Carbon/Energy and Phosphorus Source. *Applied and Environmental Microbiology*. 57(4): 1246-1251.
- Mangkoediharjo, S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak. *Seminar Nasional dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS*. Surabaya: 1-8. <http://www.its.ac.id/personal/files/pub/176-sarwoko-enviro-Seminar%20kelautan%20ITS.pdf>. 15 Februari 2009.
- Munawar, 1999. Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rizosfir Dari Hutan Bakau di Cilacap Dalam Mendegradasi Residu Minyak Bumi. *Tesis Magister Bidang Khusus Mikrobiologi*. Program Studi Biologi, Institut Teknologi Bandung. 94 hlm. (Tidak Dipublikasikan).
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi suatu teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi*. FMIPA USU. Medan: 21 hlm.
- Nugroho, A. 2006. Biodegradasi *Sludge* Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos. Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Makara Teknologi*. 10(2): 82-89.

- Pelczar, M.J., Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Jilid I. Ratna Siri hadioetomo., Teja Imas., S. Sutarmi Tjitrosomo., Sri Lestari Angka. UI-Press. Jakarta: iii+443 hlm.
- Pikoli, M.R., Aditiawati, P., Astuti, D.I. 2000. Isolasi Bertahap dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceedings Institut Teknologi Bandung*. 1-8. <http://www.lp.itb.ac.id/product/vol32no2/Mega/mega.html>. 18 April 2009.
- Premono, M.E., Anas, I., Soepardi, G., Hadioetomo, R.S., Saono, S., Sisworo, W.H.. 1994. Isolasi dann Seleksi Jasad Renik Pelarut Fosfat dari Perkebunan Tebu. *Jurnal*. XXX(3-4): 25-29.
- Premono, M.E., Moawad, A.M., Viek, P.L.G. 1996. Effect Of Phosphate-Solublizing *Pseudomonas pitida* on the Growth of Maize and its Survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science*. 11: 13-23. Dalam: Sitepu, I.R., Hashidoko, Y., Santoso, E., Tahara, S. 2009. *Potent Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from Dipterocarps Grown In Peat Swamp Forest In Central Kalimantan and Their Possible Utilization For Biorehalibitation of Degraded Peatland* 1-6. <http://www.geog.le.ac.uk/carbopeat/media/pdf/yogyapapers/p17.pdf>. 6 April 2009.
- Prescott, L.M., Harley, John P., Klein, Donald A. 1993. *Microbiology*. Second Edition. Wm. C. Brown Publishers. United State of America : xxxii + 912 hlm.
- Prihatini, T. 2009. Mikroorganisme Meningkatkan Efisiensi Pemupukan posfat. *Artikel Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanah dan Akrolimat*. Bogor: 1-2.
- Prijambada, I.D., Widada, J. 2006. Mitigasi dan Bioremediasi Lahan Tambang Minyak. *Seminar Nasional PKRLT Fakultas Pertanian UGM*. 1-2.
- Rao, N.S.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi kedua. Herawati Susilo (penterjemah). Universitas Indonesia Press. Jakarta: 352 hlm.
- Rodiah & A. Madjid. Dasar-dasar Ilmu Tanah. [Http://dasar2ilmutanah.blogspot.com](http://dasar2ilmutanah.blogspot.com). 6 April 2010.
- Rosenberg, E. & Ron, E. Z. 1998. Bioremediation of Petroleum Contamination. *Bioremediation Principles and Aplication*. Cambridge University Press. Cambridge 100-124 hlm. Dalam: Mangkoediharjo, S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak. *Seminar Nasional dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS*. Surabaya: 1-8. <http://www.its.ac.id/personal/files/pub/176-sarwoko-enviro-Seminar%20kelautan%20ITS.pdf>. 15 Februari 2009.

- Rosenberg, E. & Ron, E. Z. 1998. Bioremediation of Petroleum Contamination. *Bioremediation Principles and Application*. Cambridge University Press. Cambridge 100-124 hlm. *Dalam:* Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi suatu teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi*. FMIPA USU. Medan: 21.
- Sigiura, K., Ishihara, M., Shimauchi, T., Harayama, S. 1997. Physicochemical Properties and Biodegradability of Crude Oil. *Envirom. Sci. Technol.* 31: 45-51. *Dalam:* Aditiawati, P., Pikoli, M.R., Astuti, D.I. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional LATMI*. Yogyakarta: 1-8.
- Siswadi, A.D. & Permatasari, G. 2010. Ekstraksi Asphaltene dari Minyak Bumi. Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro. 1-6. http://eprints.undip.ac.id/3216/1/andara_tiw_i_pdf.pdf. 8 April 2010.
- Soedarsono, K. 1989. *Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Proses Waste Water Treatment*, Departemen Mikrobiologi. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 98 hlm.
- Sugiyono. 2010. *Statistika Untuk Penelitian*. Alfabeta. Bandung. 389 hlm.
- Suliasih & Rahmat. 2007. Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Posfat oleh Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. *Biodiversitas*. 36 (1): 23-26.
- Suliasih & Widawati, S. 2005. Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing and Nitrogen Fixing Bacteria from Soil in Wamena Biological Garden, Jayawijaya, Papua. *Biodiversitas. Microbiology Division, Research Center of Biologi*. Indonesia Institute of Sciences Bogor. 6(5): 175-177.
- Suriawiria, U. 1990. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung. 237 hlm.
- Syakti, A.D. 2005. Multi-proses Remediasi Didalam Penangan Tumpahan Minyak (*Oil Spill*) di Perairan Laut dan Pesisir. PKSPL-IPB. 10. http://pksplipb.or.id/index.php?option=com_content&task=view&id=39&Itemid=1. 13 Februari 2009.
- Tehrani, D.M., Herfatmanesh, A. 2007. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fraction of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil: A Pilot Study. *Bioremediation Journal*. 11(2): 71-76.
- Vasquez, D. & Mansoori G.A. 2000. Identification and Measurement of Petroleum Precipities. *J. Petrol. Sci. & Engineering*. 26: 49-56.

- Vilain, S., Luo, Y., Hildreth, M.B., & Brozel, V.S. 2006. Analysis of the Life Cycle of The Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied & Environmental Microbiology*. USA. 72(7): 4970-4977.
- Walker, J.D. & Colwell. 1974. Micobial Petroleum Degradation: Use of Mixed Hydrocarbon Substrates. *Appl. Microbial* 27(6): 1053-1060. *Dalam:* Aditiawati, P., Pikoli, M.R., Astuti, D.I. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta: 1-8.
- Winarso, S. 2005. *Kesuburan Tanah. Dasar Kesehatan dan Kualitas Tanah*. Gaya Media. Yogyakarta: 269 hlm.
- Wrenn, B.A., Haines, J.R., Venosa, A.D., Kadhodayan, M., Sudain, M.T. 1994. Effect of Nitrogen Source on Crude Oil Biodegradation. *J. Indust. Microbiol.* 13: 279-286. *Dalam:* Tehrani, D.M., Herfatmanesh, A. 2007. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fraction of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil: A Pilot Study. *Bioremediation Journal*. 11(2): 71-76.
- Yutaka, E. 1993. *Isolasi dan Identifikasi Terbatas BPF*. Biologi FMIPA. IPB. Bogor: 14.
- ZoBell, C. E. dan Prokop, J. 1966. Microbial oxidation of mineral oils in Barataria Bay bottom deposits. *Z. Allg. Mikrobiol.* (6): 143-150.
- Zuhra, C.F. 2003. Penyulingan, Pemrosesan dan Penggunaan Minyak Bumi. Jurusan Kimia FMIPA USU. 1-11. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/kimia-fatimah2.pdf>. 15 Februari 2009.