

**VARIASI KONSENTRASI SUMBER KARBON DAN SUMBER NITROGEN
PADA PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI
AGENS BIOREMEDIASI MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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



Oleh

**RINI ISROMARINA
08081004001**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
MEI 2012**

S
579.307

R. 22/605/28166

Rini

V

2012

**VARIASI KONSENTRASI SUMBER KARBON DAN SUMBER NITROGEN
PADA PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI
AGENS BIOREMEDIASI MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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



Oleh

**RINI ISROMARINA
08081004001**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
MEI 2012**

LEMBAR PENGESAHAN

**VARIASI KONSENTRASI SUMBER KARBON DAN SUMBER NITROGEN PADA
PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI AGENS
BIOREMEDIASI MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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

Oleh

**RINI ISROMARINA
08081004091**

Pembimbing II,



Dra. Hary Widjajanti, M.Si.
NIP. 196112121987102001

**Inderalaya, Mei 2012
Pembimbing I,**



Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 1963060331992032001

Mengetahui:

Ketua Jurusan Biologi,




Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc.
NIP. 195909091987031004

LEMBAR PERSEMBAHAN

...niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat...

(Q.S Al- Mujadillah : 11)

(yaitu) orang-orang yang beriman dan hati mereka menjadi tentram dengan mengingat Allah. Ingatlah, hanya dengan mengingat Allah-lah hati menjadi tentram.

(Q.S Ar-Ra'd : 28).

Kesuksesan adalah milik orang yang fokus pada impian, mampu memanfaatkan peluang dan berani menjalankan prosesnya..

Kupersembahkan karyaku untuk :

Dinnku Islam

Yang terkasih Ibu Farida dan Bapak Sak Uri A.Ma.Pd atas pengorbanan, kasih sayang, dan iringan doa yang tiada hentinya hanya Allah SWT yang dapat membalasnya

Kakak-kakakku tersayang Hendri Marta S.pd, Nobersa Fahlevi, Junai Novi Rahmali dan adikku

Sandika Okta Mutahir

Seluruh dosen dan staf di Jurusan Biologi FMIPA

Almamaterku

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur kehadirat Allah SWT Tuhan semesta alam yang telah menganugerahkan rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul variasi konsentrasi sumber karbon dan nitrogen pada produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agen bioremediasi minyak bumi. Shalawat dan salam kepada teladan terbaik Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan pengikutnya yang semoga selalu istiqomah hingga akhir zaman.

Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa selesainya skripsi ini selalu mendapat bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dra. Muharni, M.Si dan Dra. Hary Widjajanti, M.si yang telah membimbing, meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dengan sabar dan ikhlas sehingga selesainya penulisan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Kedua orang tuaku Ibu Farida dan Bapak Sak Uri, A.Ma.Pd.
2. Drs Muhammad Irfan, M.T sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc sebagai Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
4. Dra. Nina Tanzerina, M.Si sebagai dosen pembimbing akademik.

5. Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si dan Dra. Nita Aminasih, MS sebagai dosen pembahas yang telah banyak memberikan saran dalam skripsi ini.
6. Dr. Salni, M.Si sebagai dosen pembahas yang telah memberikan saran dalam skripsi ini.
7. Drs. Munawar, M.Si yang telah membimbing, memberikan masukan, meluangkan waktu untuk pengolahan data statistik dalam skripsi ini dan Drs. Hanifa Marisa, MS yang telah membantu kelancaran penelitian ini.
8. Seluruh Dosen dan staf Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat terutama bagi penulis, seluruh pembaca, dan sebagai kemajuan ilmu pengetahuan di masa depan. Aamiin.

Inderalaya, Mei 2012

Penulis

CONCENTRATION VARIATION OF CARBON AND NITROGEN SOURCES TOWARD BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Pseudomonas alcaligenes* AS A PETROLEUM BIOREMEDIATION AGENT

By:
Rini Isromarina
08081004001

ABSTRACT

Research about 'Concentration variation of carbon and nitrogen sources toward biosurfactant production by *Pseudomonas alcaligenes* as a petroleum bioremediation agent' had been conducted in December 2011 until March 2012, in Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Sriwijaya University. This research aimed to know the biosurfactant production with addition of concentration of carbon sources (crude oil) and nitrogen sources (urea and yeast extract) by *Pseudomonas alcaligenes* as petroleum bioremediation agent. This research used Factorial Group Randomized Design with 28 treatments and 2 replications. Concentration variation of crude oil used was without crude oil, 0.5 g, 1 g, and 1.5 g. Concentration of nitrogen sources (urea and yeast extract), was without nitrogen, 0.1 g, 0.2 g, and 0.3 g. Data were analyzed by using Anova ($\alpha : 5\%$) and with test honestly significant difference (HSD). The result of the research showed that biosurfactant product of exopolysaccharide (EPS) fraction at the high was obtained on C₁N₁ (0.5 g *crude oil* + 0.1 g *yeast extract*), was 2.38 g/L with each of bacterial cell number $1,5 \cdot 10^6$ cfu/mL and emulsification index 0,60. Biosurfactant product of exopolysaccharide (EPS) fraction at the low was obtained on C₀N₀ (without crude oil and wiyh out nitrogen), was 0.36 g/L with each of bacterial cell number $9,0 \cdot 10^9$ cfu/mL and emulsification index 0,71.

Keyword : biosurfactant, exopolysaccharide, emulsification index

VARIASI KONSENTRASI SUMBER KARBON DAN NITROGEN TERHADAP PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI AGENS BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI

Oleh:
Rini Isromarina
08081004001

ABSTRAK

Penelitian tentang “Variasi konsentrasi sumber karbon dan nitrogen pada produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agens bioremediasi minyak bumi” telah dilaksanakan pada bulan Desember 2011 sampai dengan bulan Maret 2012, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi biosurfaktan dengan variasi konsentrasi sumber karbon (*crude oil*) dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan urea) oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agen bioremediasi minyak bumi. Variasi konsentrasi *crude oil* yang digunakan yaitu tanpa *crude oil*, 0,5 g, 1 g, dan 1,5 g. Variasi konsentrasi sumber nitrogen (urea dan *yeast extract*), yaitu tanpa nitrogen, 0,1 g, 0,2 g, dan 0,3 g. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial dengan 28 perlakuan dan 2 ulangan. Data dianalisis menggunakan Anava (α :5%) dan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk biosurfaktan fraksi eksopolisakarida (EPS) yang tinggi didapatkan pada perlakuan C_1N_1 (0,5 g *crude oil* + 0,1 g *yeast extract*), yaitu 2,38 g/L dengan jumlah sel bakteri $1,50 \cdot 10^6$ cfu/mL dan indeks emulsifikasi 0,60. Produk biosurfaktan fraksi EPS paling rendah didapatkan pada perlakuan C_0N_0 (tanpa *crude oil* dan tanpa nitrogen) yaitu 0,36 g/L dengan jumlah sel bakteri $9,01 \cdot 10^9$ cfu/mL dan indeks emulsifikasi 0,71.

Kata kunci: biosurfaktan, eksopolisakarida, indeks emulsifikasi

DAFTAR ISI



	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Perumusan masalah.....	3
1.3. Hipotesis.....	4
1.4. Tujuan penelitian.....	4
1.5. Manfaat penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Bioremediasi	5
2.2. Bakteri hidrokarbonoklastik.....	6
2.3. Biodegradasi.....	7
2.4. Mekanisme biodegradasi oleh bakteri hidrokarbonoklastik.....	11
2.5. Biosurfaktan	14
2.6. Jenis-jens biosurfaktan yang dihasilakn mikroorgannisme.....	18
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Waktu dan tempat	19
3.2. Alat dan bahan.....	19
3.3. Rancangan percobaan.....	19
3.4. Cara kerja	20
3.4.1. Pembuatan medium.....	20
3.4.2. Peremajaan bakteri	20
3.4.3. Pembuatan inokulum bakteri.....	20

3.4.4. Produksi biosurfaktan.....	21
3.4.5. Pengukuran produksi biosurfaktan.....	21
3.4.6. Pengukuran indeks emulsifikasi.....	22
3.5. Variabel pengamatan.....	22
3.6. Analisis data.....	22
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Jumlah sel bakteri.....	23
4.2. Produksi biosuraktan.....	26
4.3. Indeks emulsifikasi.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	34
5.2. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Jenis-jenis biosuraktan dan mikroorganismenya	18
Tabel 4.1. Pengaruh variasi konsentrasi sumber karbon (<i>crude oil</i>) dan sumber nitrogen (<i>yeast extract</i> dan urea) terhadap rata-rata jumlah sel bakteri	24
Tabel 4.2. Pengaruh variasi konsentrasi sumber karbon (<i>crude oil</i>) dan sumber nitrogen (<i>yeast extract</i> dan urea) terhadap produksi biosurfaktan.....	27
Tabel 4.3. Pengaruh variasi konsentrasi sumber karbon (<i>crude oil</i>) dan sumber nitrogen (<i>yeast extract</i> dan urea) terhadap indeks emulsiikasi (IE).....	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Degradasi alkana oleh <i>Acinobacter</i> sp	12
Gambar 2.2. Degradasi senyawa hidrokarbon dalam kondisi anaerob	13
Gambar 3. Kurva standar <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	40
Gambar 4. Gambar salah salah satu kelompok bioreaktor di <i>rotary</i> <i>shaker</i>	45
Gambar 5. Gambar salah satu kelompok bisosurfaktan fraksi EPS.....	46
Gambar 6. Biosurfaktan fraksi EPS dalam tabung reaksi.....	46
Gambar 7. Indeks emulsifikasi biosurfaktan.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi medium SMSS dan ZoBell.....	40
Lampiran 2. Kurva standar <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	41
Lampiran 3. Analisis varian (ANAVA) Jumlah Sel Bakteri ..	42
Lampiran 4. Analisis varian (ANAVA) Produksi Biosurfaktan.....	43
Lampiran 5. Analisis varian (ANAVA) Indeks Emulsifikasi.....	44
Lampiran 6. Lampiran gambar.....	45

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kebutuhan surfaktan semakin meningkat seiring dengan proses-proses yang membutuhkan senyawa aktif permukaan. Surfaktan banyak dibutuhkan antara lain dalam proses bioremediasi, industri petrokimia, dan dalam meningkatkan perolehan minyak bumi *Enhanced Oil Recovery* (EOR) (Zajic *et al.* 1983 dalam Nugroho 2006: 312). Salah satu industri yang paling potensial dalam mengaplikasikan biosurfaktan ini adalah industri minyak, biosurfaktan digunakan dalam biodegradasi minyak bumi. Penambahan surfaktan terbukti mampu meningkatkan efisiensi degradasi hidrokarbon, karena surfaktan dapat meningkatkan kelarutan minyak dalam air (Devianto & Kardena 2010: 2)

Penanggulangan pencemaran minyak bumi yang aman adalah dengan menggunakan biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroba pendegradasi minyak bumi. Selain dapat membantu peningkatan degradasi minyak bumi juga tidak toksik terhadap lingkungan, sehingga keberadaan biosurfaktan dapat menjadi alternatif pengganti senyawa-senyawa surfaktan kimia pengaktif permukaan (Van Dyke *et al.* 1991: 241).

Biosurfaktan merupakan senyawa amfipatik yang dihasilkan oleh metabolisme mikroba. Mikroba yang ada di lingkungan minyak bumi mampu mendegradasi hidrokarbon dan menghasilkan metabolit berupa biosurfaktan, biopolimer, asam, biomassa, dan gas. Biosurfaktan dapat digunakan untuk mempercepat bioremediasi lingkungan yang tercemar minyak bumi, yaitu dengan meningkatkan daya kelarutan minyak bumi. Selanjutnya minyak bumi didegradasi oleh sel-sel mikroorganisme, melalui pembentukan butiran-

minyak bumi (misel) yang terdispersi dalam air (Dunvjak *et al.* 1983 dalam Nugroho 2009: 111).

Pada penelitian Astuti *et al.* (2001: 1) menunjukkan bahwa produksi biosurfaktan oleh bakteri hidrokarbonoklastik dipengaruhi oleh penambahan *crude oil* sebagai sumber karbon dan nitrogen (*yeast extract* dan urea). Bakteri hidrokarbonoklastik yang diberi kode B5 menghasilkan biosurfaktan tertinggi diperoleh pada konsentrasi *crude oil* 2 g/150 ml yaitu 1,99 g/L, penambahan 0,1 g/150 mL urea menghasilkan biosurfaktan 3,60 g/L, dan penambahan 0,1 g/150 mL *yeast extract* mampu menghasilkan biosurfaktan 3,9 g/L.

Biosurfaktan yang dihasilkan masing-masing mikroba berbeda bergantung pada jenis mikroba dan nutrien yang dikonsumsi. Demikian pula untuk jenis mikroba yang sama, jumlah surfaktan yang dihasilkan berbeda berdasarkan nutrien yang dikonsumsi (Nugroho 2006: 2). Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa elemen makro yang memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan adalah elemen karbon dan nitrogen (Horowitz *et al.* 2005: 10). Karbon adalah unsur yang paling mendasar bagi kehidupan bakteri dan diperlukan dalam jumlah yang lebih besar daripada unsur lainnya (Vidali 2001: 4). Nitrogen merupakan komponen utama protein dan asam nukleat, yaitu sebesar kurang lebih 10 persen dari berat kering sel bakteri (Brooks *et al.* 2001: 90). Menurut Shuler & Kargi dalam Suryatmana *et al.* (2004: 8), produksi biosurfaktan berhubungan dengan pertumbuhan sel bakteri, dimana produksi biosurfaktan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah sel bakteri.

Genus *Pseudomonas* telah dikenal luas sebagai salah satu kelompok mikroba yang memiliki kemampuan yang tinggi dalam mendegradasi minyak bumi (Aditiawati 2001: 2). Hal ini diperkuat Irianto dkk. (2003: 1) salah satu genus bakteri yang mampu mendegradasi

hidrokarbon adalah genus *Pseudomonas*. Menurut (Anonim 2012: 1) *Pseudomonas alcaligenes* merupakan bakteri hidrokarbonoklastik yang berbentuk batang, bersifat gram negatif, mempunyai flagel dan tidak berkapsul.

Biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri hidrokarbonoklastik memiliki kemampuan untuk membentuk emulsi antara dua cairan yang tidak dapat bercampur seperti air dengan minyak. Uji indeks emulsifikasi (IE_{24}) bertujuan untuk mengetahui kemampuan emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan oleh suatu isolat bakteri dalam waktu 24 jam (Cooper 1987: 3). Menurut Ni'matuzzahroh *et al.* (2002: 1), produk biosurfaktan yang dihasilkan bakteri *Pseudomonas* sp. dapat meningkatkan emulsifikasi hidrokarbon di dalam air dan mampu menurunkan tegangan permukaan supernatan kultur bakteri.

Berdasarkan penelitian Mirfat (2011: 28-29) ada 3 jenis bakteri yang digunakan untuk memproduksi biosurfaktan yaitu *Bacillus sphaericus var rotans*, *Pseudomonas alcaligenes*, dan *Pseudomonas saccharophyla*. Dari ketiga bakteri tersebut *Pseudomonas alcaligenes* menghasilkan biosurfaktan fraksi eksopolisakarida tertinggi yaitu 1,9 g/L pada medium SMSS. Sedangkan biosurfaktan fraksi asam lemak belum terdeteksi dari supernatan ketiga kultur bakteri tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang variasi konsentrasi sumber karbon (*crude oil*) dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan *urea*) untuk mengetahui produksi biosurfaktan oleh bakteri *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agens bioremediasi minyak bumi.

1.2. Rumusan Masalah

Produksi biosurfaktan tergantung pada jenis bakteri, substrat, dan lingkungan. Penambahan berbagai konsentrasi sumber karbon dan nitrogen yang merupakan komponen utama untuk pertumbuhan bakteri dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan. Pada

konsentrasi karbon dan nitrogen tertentu dapat memproduksi biosurfaktan dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi sumber karbon (*crude oil*) dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan *urea*) untuk mengetahui produksi biosurfaktan oleh bakteri *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agens bioremediasi minyak bumi.

1.3. Hipotesis

Pada konsentrasi sumber karbon dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan *urea*) tertentu dapat memproduksi biosurfaktan dalam jumlah yang tinggi.

1.4. Tujuan penelitian

Mengetahui produksi biosurfaktan dengan variasi konsentrasi sumber karbon dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan *urea*) oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agens bioremediasi minyak bumi.

1.5. Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa variasi konsentrasi sumber karbon (*crude oil*) dan sumber nitrogen (*yeast extract* dan *urea*) dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai agens bioremediasi limbah minyak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiawati, P., M.R. Pikoli & D.I Astuti. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta. 1-5 hlm.
- Anonim. 2012. *Pseudomonas alcaligenes*. <http://crymata.blogspot.com/2011/03/media-untuk-pseudomonas-.html>. 14 Maret 2012.
- Amellal, N., G. Burtin, F. Bartoli & Heulin. 1998. Colonization of Wheat Roots by An Exopolysaccharide-Producing *Pantoea agglomerans* Strain and Its Effect on Rhizosphere Soil Aggregation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (10). 3740-3747
- Astuti, D.I., P. Aditiawati & R.S Budiarti. 2001. Optimasi Konsentrasi *Crude Oil* dan Sumber Nitrogen pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonklastik dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta. 1-5 hlm.
- Atlas, R.M. 1995. Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*. 31 : 178-182.
- Brooks, G. F., Butel, G. F. Morse, S. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-1. Penerjemah. Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E., B., Mertaniasih, N., M., Harsono, S., Alimsardjono, L. Salemba Medika. Jakarta : 528 hlm.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation*. 3 : 351-368
- Datsgheib, S.M.M., M.A. Amoozegar, E. Elahi, S. Asad & I.M. Banat. 2008. Bioemulsifier production by a Halothermophilic *Bacillus* strain With Potential Applications in Microbially enhanced Oil Recovery. *Biotechnol. Lett.* 30: 263-270
- Desai, J.D. & I.M. Banat. 1997. Microbiol Production of Biosurfactans and Their Commercial Potential. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61 (1): 47-64.
- Devianto, L.A. & E. Kardena. 2010. Pengaruh Glukosa terhadap Produksi Biosurfaktan oleh *Azotobacter vinelandii* dan Pengaruh Biosurfaktan terhadap Biodegradasi TPH oleh Konsorsium Bakteri Petrofilik. *Biotechnology*. 8(1): 47-64.
- Diah, P. 2008. Mekanisme Kerja Bakteri *Pseudomonas* sp. dalam Proses Bioremediasi Minyak Bumi. <http://orpiu.com/2008/12.mekanisme-kerja-bakteri-pseudomonas-sp.html>. 11 April 2012

- Duvnjak, Z., Cooper, D.G & Kosaric, N. 1983. Effect of Nitrogen Source an Surfactans Production by *Arthobacter paraffineus* ATCC 19558. *Microbiol Enhanced Oil Recovery*. 66-71
- Dyke, V., H.Lee, & J.T. Trevor. 1991. Application of Microbial Surfactans. *Biotech*. 9: 241-252.
- Ghazali MF, Zaliha NR, Abdul RN, Salleh AB, & Basri M. 2004. Biodegradation of Hdrocarbons in Soil by Microbial Consortium. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 54: 61-67
- Guatam, K.K & V.K.Tyagi. 2006. Microbial Surfaktants: A Review. *J.Oleo. Sci*. 55(4): 155-166 .
- Hess, A., B. Zarda, D. Hahn, A. Haner, D. Starx, P.Honener & J. Zeyer. 1997. In situ Analysis of Denitrifying Toluene and n-xylene Degrading Bacteria in a Diesel Fuel-Contaminated Laboratory Aquifer Column. *App Environ Microbiol*. 6: 2136-2141
- Horowitz, A., D. Gutnick & E. Rosenberg. 2005. Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil. *Applied Microbiology*. 30 (1): 10-19.
- Iwabuchi, N., M. Sanairi, M. Urai, C. Itoh, H. Anza, & S.Harayama. 2002. Extra Cellular Polysacharides of *Rhodococcus rhodochrous* S-2 Stimulate The Degradation of Aromatic Components in Crude oil by Indigenous Marine Bacteria. *J. Appl. Environ. Microbiol*. 68: 2337-2343
- Johnson, J.S., J.K .Woolhouse, H.Prommer, A.D. Barry & N. Christofi. 2003. Contribution of Anaerobic Microbial Activity to Natural Attenuation of Benzene in Groundwater. *Engineering Geology*. 70 : 343-349
- Jutono, J. Soedarsono, D. Suhadi & Susanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. UGM Press. Yogyakarta: 232 hlm.
- Kadarwati, S. 2008. Karakterisasi Biosurfaktan yang Dihasilkan Oleh Bakteri *Providencia rettgeri* dan *Bacillus subtilis* Reservoir Minyak di Indonesia. *Lembaran Publikasi Lemigas*. 42(3): 16-26.
- Kim, J.S., B.L. Reuhs, M.M. Rahman, B. Riddley & R.W. Carlson.1996. Separation of Bacterial Capsular and Lipopolysaccharides by Preparative Electrophoresis. *Glycobiology*. 6(4) : 433-437
- Kosaric, N., Neil, C.C. Gray and Cairns, W.L. 1983. Microbial Emulsifier and De-emulsifier. *Biotechnology*. Vol 3

- Lasari, D.P. 2011. Bakteri Pengolah Limbah Minyak Bumi yang Ramah Lingkungan. <http://www.esdm.go.id/berita/artikel/3507-bakteri-pengolah-limbah-minyak-bumi-yang-ramah-lingkungan.html>. 18 Agustus 2011.
- Lotfabad, T.B., M. Shourian, R. Roostaazad, A.R. Najafabadi, M.R. Adelzadeh & K.A. Noghabi. 2009. An efficient biosurfactan-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. MR01, Isolated from oil Eccavation areas in South of Iran, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 69 (2): 183-193.
- Mangkoediharjo, S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak Remediasi. *Di dalam Makalah Seminar Nasional Teori dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS*. Surabaya. 1-9 hlm.
- Mirfat. 2011. Penapisan, Produksi dan Kemampuan Emulsifikasi Biosurfaktan Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Kawasan Mangrove Tercemar Minyak Bumi. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. 47 hlm. (tidak dipublikasi)
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif Pengolahan Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap* . Bidang Ilmu Mikrobiologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. 1-37 hlm.
- Munawar. 1999. Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rizosir dari Hutan Bakau di Cilacap dalam Mendegradasi Residu Minyak Bumi. *Tesis Magister Bidang Khusus Mikrobiologi Program Studi Biologi*. ITB. Bandung. xvi + 94 hlm. (tidak dipublikasi)
- Nababan, B. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara. xi+62 hlm.
- Nugroho, A. 2006. Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. *Biodiversitas*. 7 (4): 312-316.
- Nugroho, A. 2007. Dinamika Populasi Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik: Studi Kasus Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Skala Laboratorium. *Jurnal Ilmu Dasar*. 8 (1): 13-23.
- Nugroho, A. 2009. Produksi Gas Hasil Biodegradasi Minyak Bumi: Kajian Awal Aplikasinya dalam *Microbial Enhanced Oil Recovery* (MEOR). *Makara Sains*. 13 (2): 111-116.
- Putheti, R.R & M.L. Patil. 2009. Pharmaceutil Formulation Development of Floating and Swellable Sustained Drug Delivery Systems: a review, *E-J. Sci. Technol*. 4(2): 1-12.

- Rashedi H, Jamshidi E, Assadi MM, Bonakdarpour B. 2005. Isolation and Production of Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Iranian Southern Wells Oil. *Int J. Environ. Sci. Tech.* Vol. 2 No. 2:121-127.
- Ratih, S. & R. Eviyati. 2007. Pestisida Organik Berbahan Aktif Bakteri Agensia Hayati yang Efektif Mengendalikan Pustul Kedelai. *Jurnal Agrijati.* 6(1): 30-34.
- Santosa, D.A., D. Saidi, I. Anas & H. Noegroho. 1999. Kemampuan Bakteri dari Air Hitam Kalimantan Tengah dalam Merombak Minyak Bumi dan Solar. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan.* 2 (2): 1-7 .
- Silvia, S & J. Jusfah. 2010. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Menggunakan Isolat Bakteri dari Limbah Minyak Bumi PT Cevron Pacivic Indonesia. *Makalah Ilmiah Teknik Lingkungan dan Biologi Universitas Andalas.* Sumatera Barat. 1-10.
- Suryatmana, P., K. Edwan, R. Enny & Wisjnuaprpto. 2004. Karakteristik Bio-surfaktan dari *Azotobacter chroococcum*. Di dalam *Laporan akhir dan Seminar Evaluasi RUT XI.* Kementrian Riset dan Teknologi RI. Serpong. 1-18 hlm.
- Suryanto, D. 2009. Prospek Keanekaragaman Hayati Mikroba (Microbial Bioprospecting) Sumatera Utara. Pidato *Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap.* Bidang Mikrobiologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. 1-40 hlm.
- Udiharto. 1993. Pengaruh Aktivitas *Bacillus stearothermophilus* Terhadap Tegangan Permukaan *Crude oil.* *Lembaran Publikasi LEMIGAS.* Jakarta
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry.* IUPAC 73 (7): 1163-1172.
- Warsito, K. 2011. Isolasi dan Potensi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Laut Sibolga dan Tanjung Balai Sumatra Utara dalam Mendegradasi Naftalen. *Skripsi.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatra Utara. 85 hlm.
- Whang, L., P.G. Liu, C. Ma & S. Cheng. 2009. Application of Rhamnolipid and Surfactin for Enhanced diesel biodegradation- Effect of ph and Ammonium, *J.Hazard. Mater.* 164 (2-3): 1045-1050.
- Widjajanti, H., M. Ridho & Munawar. 2008. Upaya Rehabilitasi Hutan Mangrove: Studi Modelling Bioremediasi Menggunakan Agens Biologis Indigenus untuk Menurunkan Bahan Pencemar di Hutan Mangrove Wilayah Propinsi Sumatera Selatan. *Laporan Penelitian Universitas Sriwijaya.* 1-41 hlm.
- Wong HC, Chin Hong Lim, Nolem GC. 1997. *Design of Remediation Systems.* Lewis Publishers. New York.

- Wulan, P., Gozan, M., Arby., B & B. Achmad. Penentuan Rasio Optimum C:N:P Sebagai Nutrisi pada Proses Biodegradasi Benzena-Toluena dan *Scale Up* Kolom Bioregenerator. UI. Jakarta: 8 hlm.
- Zam, S.I. 2006. Bioremediasi Limbah Pengilangan Minyak Bumi PERTAMINA UP II Sungai Pakning dengan Menggunakan Bakteri Indigen. *Tesis*. Abstrak, Program Studi Bioteknologi. Institut Teknologi Bandung. 1-6 hlm.
- Zulkifliani. 1993. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Oleh *Pseudomonas* sp. Gamma Cobalt-60 Dalam Medium Air Laut yang Diperkaya Nitrogen dan Fosfor. *Skripsi*. FMIPA Universitas Andalas. xv + 70 hlm (tidak dipublikasi)