

**BIOREMEDIASI *SLUDGE* MINYAK BUMI MENGGUNAKAN
KULTUR CAMPUR BAKTERI INDIGEN PADA MEDIUM
DENGAN RASIO N:P YANG BERBEDA**

SKRIPSI

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



Oleh :

EKA HANDIANA

09053140030

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

NOVEMBER 2009

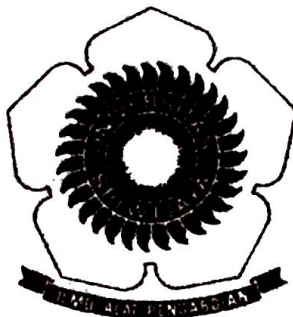
S
579.307
Han
b
C-091608
2009

**BIOREMEDIASI SLUDGE MINYAK BUMI MENGGUNAKAN
KULTUR CAMPUR BAKTERI INDIGEN PADA MEDIUM
DENGAN RASIO N:P YANG BERBEDA**



SKRIPSI

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



Oleh :

EKA HANDIANA

09053140030

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NOVEMBER 2009**

LEMBAR PENGESAHAN

**BIOREMEDIASI *SLUDGE* MINYAK BUMI MENGGUNAKAN
KULTUR CAMPUR BAKTERI INDIGEN PADA MEDIUM
DENGAN RASIO N:P YANG BERBEDA**

SKRIPSI

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

Oleh :

EKA HANDIANA

09053140030

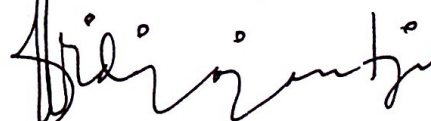
Inderalaya, 19 November 2009

Pembimbing II,



**Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si
NIP. 19640711 198903 2 001**

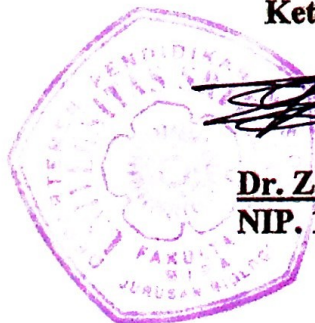
Pembimbing I,



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

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



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

LEMBAR PERSEMBAHAN

"Terima kasih ya Rabb, karena rahmatmu aku bisa melawati satu tahapan dalam hidupku walaupun dengan tertatih namun engkau tetap membimbingku dalam cahayamu"

"Lupakan kegagalan, tetapi ambilah hikmahnya karena harapan di masa depan masih terbentang luas dan begitu cerah"

"Every dark light is followed by a light morning "

Ku persembahkan karya kecilku ini untuk yang tercinta:

- *Dien-ku (Al Islam)*
- *Ibuku Agusdiana S, Pd. dan Bapakku Ir. M. Johanuddin atas iringan doa dan kasih sayangnya*
- *Adikku Dwindi Rymadhona*
- *Seseorang yang selalu menjadi matahariku*
- *Sahabat dan orang-orang yang pernah didekatku*
- *Almamater*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga atas kehendak dan izin-Nya Skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat dan salam dihaturkan kepada Rasulullah SAW, beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi berjudul **Bioremediasi *Sludge* Minyak Bumi Menggunakan Kultur Campur Bakteri Indigen Pada Medium Dengan Rasio N:P Yang Berbeda** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penulis menyelesaikan tugas akhir ini telah mendapatkan bimbingan, petunjuk, arahan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada Dra. Hary Widjajanti, M.Si dan Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bantuan, masukan serta saran selama penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Drs. Muhammad Irfan, M. T selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Zazili Hanafiah, M. Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi terima kasih atas bimbingan dan bantuan yang telah diberikan selama ini.
3. Dra. Muharni, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Biologi serta selaku dosen pembahas yang telah memberikan koreksi, masukan dan bimbingannya terhadap tulisan ini.

BIOREMEDIATION OF OIL SLUDGE USING MIXED CULTURE OF INDIGENOUS BACTERIA ON MEDIUM WITH DIFFERENT RATIO OF N AND P

By

EKA HANDIANA
09053140030

ABSTRACT

A research about bioremediation of oil sludge using mixed culture of indigenous bacteria on medium with different ratio of N and P has been done on April to September 2009 in Microbiology of Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, University of Sriwijaya. The aims of this research were to know the influence of sludge concentration and ratio N and P to bacterial cell number and percentage degrade of *Total Petroleum Hidrokarbon* (TPH) at the end of bioremediation process using mixed culture indigenous bacteria. Bacterium mixed culture that is applied were *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp1., and *Pseudomonas* sp4.. The experiment design that is used was completely factorial randomized design with two factors, those were N:P ratio and sludge concentration with four reflications. The observed variables were bacterial cell number and percentage degrade of *Total Petroleum Hidrokarbon* (TPH) at the end of bioremediation process. Data were analyzed with analysis of variance, if there were significant differences, will be continued with DNMRT at 5% level. The results showed that the average of cell number on sludge concentration was $9,2 \times 10^4$ cfu/ml, while on ratio N:P was $2,9 \times 10^4$ cfu/ml. The best combination treatment was 5% sludge concentration with N:P ratio = 5:1 with degradation gratuity value 78,42%.

Key word: Bioremediation, Ratio N:P, indigenous bacteria



BIOREMEDIASI *SLUDGE* MINYAK BUMI MENGGUNAKAN KULTUR CAMPUR BAKTERI INDIGEN PADA MEDIUM DENGAN RASIO N:P YANG BERBEDA

Oleh

EKA HANDIANA
09053140030

ABSTRAK

Penelitian mengenai Bioremediasi *Sludge* Minyak Bumi Menggunakan Kultur Campur Bakteri Indigen Pada Medium dengan Rasio N:P yang berbeda telah dilakukan pada bulan April - September 2009 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *sludge* dan rasio N:P terhadap jumlah sel bakteri dan persentase degradasi *Total Petroleum Hidrokarbon* (TPH) pada akhir proses bioremediasi dengan menggunakan kultur campur bakteri indigen. Kultur campur bakteri yang digunakan yaitu *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp1., dan *Pseudomonas* sp4. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor yaitu rasio N:P dan konsentrasi *sludge* dengan 4 kali ulangan. Variabel yang diamati yaitu jumlah sel bakteri dan persentase degradasi *Total Petroleum Hidrokarbon* (TPH) pada akhir proses bioremediasi. Data dianalisis varians, jika terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut DN MRT pada taraf 5%. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa pada konsentrasi *sludge* 5% diperoleh rata-rata jumlah sel bakteri sebesar $9,2 \times 10^4$ cfu/ml, sedangkan pada rasio N:P= 5:1 sebesar $2,9 \times 10^4$ cfu/ml. Kombinasi perlakuan terbaik adalah konsentrasi *sludge* 5% dan ratio N:P=5:1 dengan nilai persentase degradasi TPH sebesar 78,42%.

Kata kunci: Bioremediasi, Rasio N:P, Bakteri Indigen



DAFTAR ISI

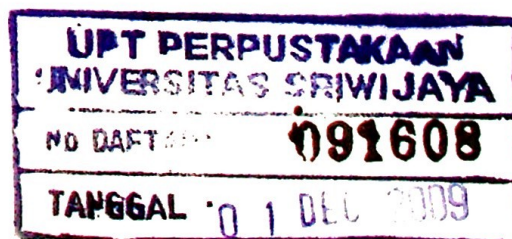
	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRACT	v
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Hipotesis.....	5
1.4. Manfaat Penelitian	5

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Minyak Bumi	6
2.1.1. Komposisi Minyak Bumi.....	7
2.1.2. <i>Sludge</i> Minyak Bumi.....	9
2.2. Bioremediasi	10
2.3. Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon	12
2.4. Mekanisme Biodegradasi Senyawa Hidrokarbon	16
2.5. Faktor yang Mempengaruhi Degradasi Senyawa Hidrokarbon	21
2.6. Optimalisasi Bakteri Indigen dengan Penambahan N & P.....	24



BAB III. METODE PENELITIAN

3. 1. Waktu dan Tempat	27
3.2 . Alat dan Bahan	27
3.3 . Rancangan Penelitian	28
3.4. Cara Kerja	
3.4.1. Pengambilan Sampel <i>Sludge</i>	28
3.4.2. Peremajaan Kultur Isolat.....	29
3.4.3. Uji Kemampuan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon.....	29
3.4.4. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri	30
3.4.5. Pembuatan Inokulum Kultur Campur	31
3.4.6. Pembuatan Medium Perlakuan.....	31
3.4.7. Inokulasi Kultur Campur Ke Medium Perlakuan.....	32
3.4.8. Variabel Pengamatan	32
3.5. Analisis Data	33

BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

4. 1. Jumlah Sel Bakteri Selama Pada Akhir Proses Bioremediasi	34
4.2. Persen Degradasi <i>Total Petroleum Hidrokarbon</i> (TPH).....	40
4.3. Hubungan Antara Jumlah Sel Bakteri dan Persentase Degradasi <i>Total Petroleum Hidrokarbon</i> (TPH) Pada Akhir Proses Bioremediasi.....	44

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Rata-rata jumlah sel bakteri pada konsentrasi <i>sludge</i> 5% dan 10%.....	35
Tabel 4.2. Rata-rata jumlah sel bakteri pada berbagai rasio N:P.....	36
Tabel 4.3. Persentase degradasi TPH pada kombinasi konsentrasi <i>sludge</i> dan rasio N:P.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Biodegradasi hidrokarbon dan intermediet yang dihasilkan	17
Gambar 2.2. Degradasi hidrokarbon alkana melalui oksidasi terminal	19
Gambar 2.3. Degradasi hidrokarbon alkana melalui oksidasi subterminal.....	19
Gambar 2.4. Beberapa senyawa antara yang dihasilkan pada degradasi senyawa aromatik.....	20
Gambar 4.1. Hubungan antara konsentrasi <i>sludge</i> dan rasio N:P terhadap persentase degradasi TPH pada akhir proses bioremediasi	43
Gambar 4.2. Garis regresi antara persentase degradasi TPH dengan log jumlah sel bakteri pada akhir proses bioremediasi.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Analisis varian pengaruh rasio N:P dan konsentrasi <i>sludge</i> terhadap jumlah akhir sel bakteri.....	55
Lampiran 2. Analisis varian pengaruh rasio N:P dan konsentrasi <i>sludge</i> terhadap persentase degradasi <i>Total Petroleum Hidrokarbon</i> (TPH)	56
Lampiran 3. Kurva pertumbuhan dan waktu generasi terpendek <i>Micrococcus</i> sp.	58
Lampiran 4. Kurva pertumbuhan dan waktu generasi terpendek <i>Pseudomonas</i> sp. 1	59
Lampiran 5. Kurva pertumbuhan dan waktu generasi terpendek <i>Pseudomonas</i> sp. 4	60
Lampiran 6. Kurva pertumbuhan dan waktu generasi terpendek <i>Bacillus</i> sp.	61
Lampiran 7. Komposisi medium yang digunakan	62
Lampiran 8. Perhitungan rasio N:P dari KNO ₃ dan K ₂ HPO ₄ dalam medium perlakuan	62
Lampiran 9. Bakteri pendegradasi hidrokarbon.....	65
Lampiran 10. Kultur tunggal bakteri untuk pembuatan kurva pertumbuhan.....	66
Lampiran 11. Kultur campur bakteri pendegradasi hidrokarbon.....	67
Lampiran 12. Medium perlakuan.....	68

BAB I

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Minyak bumi merupakan sumber energi utama untuk memenuhi kebutuhan masyarakat pada saat ini maupun pada masa yang akan datang, sehingga akan meningkatkan kegiatan eksplorasi, eksploitasi, pengolahan, pengangkutan dan penyimpanan. Meningkatnya kegiatan produksi minyak bumi yang dilakukan, menyebabkan semakin banyak pula limbah yang dihasilkan, salah satu limbah yang dihasilkan yaitu *sludge*. Limbah yang dihasilkan dari proses produksi apabila tidak ditangani dengan baik akan menyebabkan pencemaran lingkungan.

Sludge minyak bumi dikategorikan sebagai bahan berbahaya dan beracun (B3), sesuai dengan PP. No. 18 dan PP. No. 85 Thn 1999. Limbah B3 harus diproses untuk mengubah karakteristik dan komposisi limbah menjadi tidak berbahaya dan beracun. Komponen utama penyusun limbah minyak bumi adalah senyawa hidrokarbon dan sejumlah kecil senyawa non-hidrokarbon (Doerffer 1992: 8). Senyawa hidrokarbon ini dapat bersifat mutagenik dan karsinogenik pada manusia. Menurut Fahrudin (2004: 2), adanya minyak di perairan dapat mengurangi transmisi cahaya matahari serta menghambat masuknya oksigen dari udara ke air yang mengakibatkan kematian bagi organisme akuatik.

Sludge minyak bumi mengandung senyawa hidrokarbon yang sangat berbahaya, oleh karena itu sebelum dibuang ke lingkungan perlu dilakukan pengolahan supaya limbah tersebut dapat memenuhi nilai Baku Mutu Lingkungan

(KepMen LH. No. 128 2003: 5). Salah satu cara yang digunakan dalam mengelola *sludge* yang dihasilkan dari kegiatan produksi minyak bumi adalah dengan teknik bioremediasi. Bioremediasi merupakan suatu teknologi yang ramah lingkungan, efektif serta ekonomis (Alexander, 1981 dalam Gonzalez *et al.* 2008: 2).

Teknik pengolahan limbah minyak bumi dengan bioremediasi umumnya menggunakan mikroba sebagai agen bioremediasi. Salah satu mikroba yang digunakan dalam proses bioremediasi adalah bakteri hidrokarbonoklastik. Bakteri hidrokarbonoklastik mampu mendegradasi komponen minyak bumi karena kemampuannya mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikannya sebagai sumber karbon dan energi (Alexander 1977: 211). Komponen hidrokarbon akan diuraikan oleh bakteri dengan mendegradasi senyawa polutan melalui aktifitas metabolismenya, diantaranya melalui proses oksidasi untuk tumbuh dan hidup (Eweis *et al.* 1998: 109).

Kegiatan bioremediasi limbah minyak bumi dapat dilakukan dengan memanfaatkan aktivitas mikroba indigen, yaitu mikroba yang sejak semula terdapat pada daerah yang terkontaminasi. Pemanfaatan mikroba indigen lebih menguntungkan, karena tidak membutuhkan waktu adaptasi yang lama dan dapat mempersingkat waktu bioremediasi (Chaineau *et al.* 2005: 3).

Berdasarkan hasil isolasi dan seleksi Sary (2009) didapatkan 10 isolat bakteri yang mempunyai kemampuan dalam menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon, kemudian dilakukan uji kemampuan untuk mendapatkan bakteri yang mempunyai kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi hidrokarbon. Berdasarkan hasil uji kemampuan dalam menurunkan nilai TPH, maka didapatkan empat isolat terbaik yang kemudian diidentifikasi sebagai *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp.,

Pseudomonas sp1., dan *Pseudomonas* sp4.. Keempat bakteri tersebut akan digunakan sebagai kultur campur bakteri indigen untuk proses bioremediasi. Menurut Alexander (1994: 282-283), interaksi antar spesies mikroorganisme dalam kultur campur sangat penting dalam proses degradasi senyawa hidrokarbon. Pada degradasi hidrokarbon terjadi reaksi kompleks yang melibatkan banyak enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Hal ini sejalan dengan pendapat Prpich & Daugulis (2005: 338) penggunaan kultur campur dalam mendegradasi hidrokarbon lebih baik daripada kultur satu jenis mikroba, karena kerja sinergis dari kultur mikroba akan berpengaruh terhadap proses degradasi hidrokarbon.

Secara alami kecepatan degradasi hidrokarbon minyak bumi oleh bakteri berjalan sangat lambat. Untuk meningkatkan aktivitas mikroba dalam proses degradasi dapat dilakukan dengan mengoptimalkan faktor-faktor lingkungan seperti nutrien, misalnya dengan penambahan unsur C, N dan P (Irianto *et al.* 1999: 4-5). *Sludge* minyak bumi mengandung sumber karbon (C) yang berlimpah, tetapi rendah kandungan unsur lain seperti nitrogen (N), dan fosfor (P) sehingga ketersediaan unsur-unsur tersebut menjadi faktor pembatas bagi degradasi hidrokarbon. Untuk meningkatkan kemampuan dalam mendegradasi hidrokarbon, dapat dilakukan dengan cara mensuplai sumber nitrogen dan fosfor yang cukup dan seimbang. Menurut Zaifbio (2009: 1) penambahan nutrien berupa nitrogen dan fosfor ke lingkungan yang tercemar limbah minyak bumi dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme dalam menguraikan polutan.

Unsur N dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk sintesis asam amino yang merupakan monomer protein, purin, pirimidin, koenzim dan sebagai aktivator bagi

pertumbuhan sel. Unsur P dibutuhkan sebagai komponen ATP, fosfolipid, koenzim dan asam nukleat (DNA dan RNA) (Prescott *et al.* 2005: 96-105). Nitrogen selain sebagai komponen pembentuk enzim, juga merupakan penyusun struktur sel sehingga komposisi di dalam sel akan lebih besar dibandingkan dengan fosfor. Menurut Timotius (1982: 29), nitrogen diperlukan dalam jumlah yang besar, kira-kira 10-15% dari berat kering sel bakteri. Oleh karena itu, sesuai dengan kebutuhan sel maka unsur N dibutuhkan lebih banyak dibandingkan dengan unsur P.

Penambahan nutrisi berupa nitrogen dan fosfor merupakan faktor penting untuk pertumbuhan bakteri. Medium pertumbuhan bakteri disarankan memenuhi rasio C:N:P sebesar 120:10:1 (Thomas *et al.* 1992 dalam Munawar 1999: 12). Pemberian sumber fosfor pada biodegradasi limbah minyak bumi mempunyai hubungan dengan penggunaan sumber nitrogen, dimana rasio antara nitrogen dan fosfor tidak boleh kurang dari 5:1 (Rosenberg & Gutnick 1986: 906).

Berdasarkan informasi di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang proses bioremediasi *sludge* minyak bumi menggunakan bakteri indigen secara *in vitro* pada medium dengan rasio N:P yang berbeda.

1.2. Perumusan Masalah

Proses degradasi limbah minyak bumi oleh bakteri secara alami berjalan sangat lambat, untuk meningkatkan kemampuan degradasinya maka perlu ditambahkan sejumlah bahan organik dan nutrisi. Beberapa nutrisi penting yang dibutuhkan oleh bakteri dalam mendegradasi limbah minyak bumi adalah C, N dan P. *Sludge* minyak bumi mengandung unsur C yang berlimpah, tetapi unsur N dan P rendah. Untuk

meningkatkan kemampuan bakteri dalam mendegradasi *sludge* minyak bumi, maka perlu dilakukan penambahan unsur N dan P. Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh konsentrasi *sludge* dan rasio N:P terhadap jumlah sel bakteri dan persentase degradasi TPH pada akhir proses bioremediasi dengan menggunakan kultur campur bakteri indigen.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *sludge* dan rasio N:P terhadap jumlah sel bakteri dan persentase degradasi TPH pada akhir proses bioremediasi dengan menggunakan kultur campur bakteri indigen.

1.4. Hipotesis

Konsentrasi *sludge* dan rasio N:P yang tepat akan meningkatkan jumlah sel bakteri dan persentase degradasi TPH pada akhir proses bioremediasi dengan menggunakan kultur campur bakteri indigen.

1.5. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam pengembangan teknik bioremediasi khususnya tentang penambahan sumber C, N dan P yang tepat bagi pertumbuhan bakteri indigen dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.

2.1.1. Komposisi Minyak Bumi

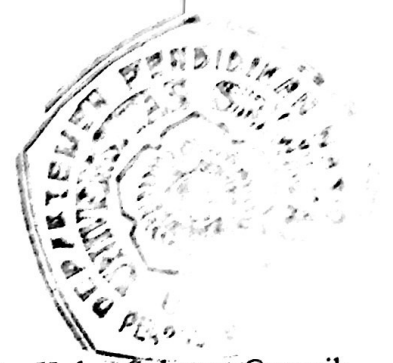
Menurut Meyer & Speigt (1991: 35), minyak bumi maupun produknya merupakan campuran kompleks senyawa organik yang terdiri atas senyawa hidrokarbon (lebih dari 90%) dan sisanya adalah non-hidrokarbon. Senyawa hidrokarbon digolongkan menjadi senyawa alkana (parafin), sikloalkana (naftalena), alkena (olefin), dan aromatik, sedangkan senyawa non-hidrokarbon terdiri atas belerang, nitrogen, dan oksigen.

A. Komponen Hidrokarbon

Menurut Doerffer (1992: 9), senyawa hidrokarbon yang terkandung di dalam minyak bumi dapat dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan struktur atom hidrogen dan karbon yang menyusunnya, yakni alkana, naftalena, aromatik dan alkena.

- a. Alkana, dengan rumus umum C_2H_{2n+2} disebut juga parafin. Senyawa ini terdapat secara luas dalam minyak bumi dan merupakan senyawa hidrokarbon jenuh yang terdiri atas parafin berupa rantai karbon panjang dan lurus serta isoparafin rantai karbon bercabang, normal parafin banyak terdapat dalam fraksi ringan minyak bumi. Sedangkan isoparafin banyak didominasi oleh yang bercabang satu. Pada suhu kamar, molekul alkana yang mengandung kurang dari lima atom karbon berbentuk gas yang mengandung 5-15 atom karbon akan berbentuk padat (Udiharto 1992: 466).
- b. Naftalena merupakan senyawa hidrokarbon jenuh dengan struktur cincin tunggal atau banyak dengan rumus umum C_nH_{2n} bersifat stabil dan tahan terhadap oksidasi (Koesoemadinata 1980: 83).

DAFTAR PUSTAKA



- Agustiyan, D., Hartati, I., Erni, N.P., Oedjijono. 2004. Pengaruh pH dan Substrat Organik Terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Bakteri Pengoksidasi Amonia. *Biodiversitas*. 5 (2): 43-47 hlm.
- Alexander, M. 1977. *Introduction To Soil Microbiology*. Edisi II. John Wiley and Sons. Toronto. 467 hlm.
- Anonim. 2009. Nutrisi Untuk Bakteri Pengolahan Limbah. *Artikel*. 16 hlm.
- Alexander, M. 1994. *Biodegradation and Bioremediation*. Edisi II. Academic Press, USA. 453 hlm.
- Atlas, R.M & Bartha, R. 1997. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications 4th ed*. Benjamin Cumming Publishing, Co. Inc. Redwood City. California. 563 hlm.
- Atlas, R.M. & Bartha, R. 1987. Transport dan Transformation of Petroleum Biological Processes. *Dalam* Boesch, D.F. & Rabalais, N.N (eds). Long-Term Environmental Effects of Offshore Oil and Gas Development. *Elsevier Applied Science Publishers*, Ltd. New York. 47 hlm.
- Bollag, W.B & Bollag, J.M. 1992. *Biodegradation dalam Encyclopedian of Microbiology*. Academic Press Inc. New York. 269 hlm.
- Brooks, G. F., Butel, G. F., Morse, S. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi I. Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E., B., Mertaniasih, N., M., Harsono, S., Alimsardjono, L. (penterjemah). Salemba Medika. Jakarta. 528 hlm.
- Chaineau, C. H., Rougeux, G., Yepremian, C. & Oudot. 2005. Effect of Nutrient Concontration on the Biodegradation of Crude Oil and Associated Microbial Populations in the Soil. *Artikel*. Soil Biology & Biochemistry. 8 hlm.
- Churchill, S.A., R.A. Griffin, L.P. Jones, & P.F. Churchill. 1995. Biodegradation and Bioremediation. *Journal Enviro..* (24): 19-28.
- Dewi, R.S. 2005. Optimasi Penggunaan Surfaktan Linear Alkylbenzena Sulfonat (LAS) dan Nisbah C/N pada Bioremediasi Tanah Tercemar Limbah Minyak Bumi. *Tesis S-2*. Pasca Sarjana IPB. Bogor. 83 hlm. (Tidak dipublikasikan).
- Doerffer, J. W. 1992. *Oil Spill Response in the marine Environment*. Pergamon Press. Tokyo. 391 hlm.

- Edward & Tarigan, M.S. 2000. Kualitas Perairan Teluk Tapak Tuan, Kabupaten Aceh Selatan Ditinjau dari Kandungan Logam Berat. Hg, Pb, Cd, Cu, Zn, As, Cr, Se & Ni. *Makalah Seminar Kelautan*. Jakarta. 16 hlm.
- Ehrlich, H.L & Brierley, C.L. 1990. *Microbial Mineral Recovery*. McGraw-Hill, Inc. R.R. Donnelley & Sons Company. USA. 454 hlm.
- Ehrlich, H. L. 1990. *Geochemistry*. Second Edition. Maecel Dekker, Inc. USA. 646 hlm.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.PY. & Schroeder, E.D. 1998. *Bioremediation Principles*. Mcgraw-hill international editions. Civil engineering series. Singapore. 296 hlm.
- Fahrudin. 2004. Dampak Tumpahan Minyak Pada Biota Laut. *Artikel*. Program Studi Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan. IPB. Bogor. 3 hlm.
- Fan, C.Y & Tafuri, A.N. 1994. Engineering Application of Biooxidation Processes for Treating Petroleum-Contaminated Soil. *Dalam* Wise, D.L & Trantolo, D.J. Remediation of Hazardous Waste Contaminated Soils. Marcel Dekker, Inc. New York. 276 hlm.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Manajemen PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 185 hlm.
- Floodgate, G.D. 1972. Biodegradation of Hydrocarbons in The Sea. *Dalam*: R. Mitchell (ed). John, W. & Sons. Water Pollution Microbiology. Inc. New York. 157-171 hlm.
- Gunalan, 1996. Penerapan Bioremediasi pada Pengolahan Limbah dan Pemulihan Lingkungan Tercemar Hidrokarbon Petroleum. *Majalah Sriwijaya*. Universitas Sriwijaya Palembang. 32(1): 1-9.
- Gonzalez, R., Fava, F., & Varaldo, P. 2008. A Review on Slurry Bioreactors for Bioremediation of Soils and Sediments. *Article Microbial*. 18 hlm.
- Hadioetomo, R.S. 1995. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta. 163 hlm.
- Hanafiah, K.A. 2001. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Penerbit PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 238 hlm.
- Herlina, L. 2005. Pengaruh *Bacillus* Penghasil Biosurfaktan dalam Mendegradasi Minyak Bumi pada Limbah Cair Industri Minyak Bumi. *Tesis S-2*. Pasca Sarjana IPB. Bogor. 72 hlm. (Tidak dipublikasikan).

- Irianto, A., Oedjijono, & Sukanto. 1999. Bioremediasi In Vitro Tanah Tercemar Hidrokarbon Menggunakan *Bacillus* Strain Lokal. *Laporan Hasil Penelitian*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto: 1- 13 hlm.
- Isnaeni, A. 2008. Bioremediasi Limbah Sludge Minyak Bumi Skala Laboratorium Menggunakan Bakteri Indigen Hidrokarbonoklastik. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. 59 hlm. (Tidak Dipublikasikan).
- Kadarwati, S. 1994. Aktivitas Mikroba dalam Transformasi Substansi di Lingkungan Situs Hidrokarbon. *Lembaran Publikasi Lemigas*. 2: 12-20 hlm.
- Knezevich, V., Koren O., Rosenberg E, E.Z. 2006. Petroleum Bioremediation in Seawater Using Guano as The Fertilizer. *Journal Bioremediation*. 10 (3): 83-91 hlm.
- KepMen LH. No. 128. 2003. *Tentang Tata Cara persyatan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminan Oleh Minyak Bumi Secara Biologis*. Jakarta. 32 hlm.
- Kirom, A. A., & Gylmn, T. 2004. Pantai Balikpapan Tercemar, Siapa Bertanggungjawab? *Artikel Gali-gali*. Sekretariat Jaringan Advokasi Tambang. Jakarta. (47): 2 hlm.
- Koesomadinata. 1980. *Geologi Minyak dan Gas Bumi* Jilid I. Edisi ke-3. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 123 hlm.
- Leahy, J.G., & Colwell, R.R. 1990. *Microbial Degradation of Hydrocarbon in the Environment*. Department of Microbiology University of Maryland, College Park. Maryland. 157 hlm.
- Mangkoedihardjo, S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak (Remediation Technologies Selection for Oil-Polluted Marine Ecosystem). *Seminar Nasional dan Teknologi*. ITS. Surabaya. 9 hlm.
- Manuel, A., Navarro, Petro-Tech Peruana S.A., Sandra Vanegas. 1996. Bioremediation of Polluted Soil With Heavy Hydrocarbons Onshore Locations From Lobitos, Talara – Peru. *Journal Enviro.* 13 hlm.
- Marjaka, W. & Nugraha, H. 2005. *Pemanfaatan Sludge Minyak pada Industri Migas Indonesia*. Asisten Deputi Urusan Pertambangan, Energi dan Migas. Deputi Bidang Pengendalian Dampak Lingkungan Sumber Institusi. Kementerian Lingkungan Hidup Jakarta. 24 hlm.
- Mason, C.F. 1996. *Biology of Freshwater Polution*. Third Edition. Longman Singapore Publishers Ltd. Singapore. 356 hlm.

- Meyer, R.F., & Speight. 1991. *The Future Of Heavy Crude and far Sands*. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung. 284 hlm.
- Millen, M.C. S., Lambertz, D. 1998. *Lessons Learned on E&P Biotreatment*. Health, environment and Safety Group. Chevron Research and Technology Company. Richmond California. 132 hlm.
- Mitchell, R. 1972. *Water Pollution Microbiology*. Jhon Wiley & Sons. Inc. USA. 171 hlm.
- 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).
- Munawar. 2000. Optimalisasi Sumber Nitrogen (KNO_3) pada Medium Pertumbuhan Bakteri Pengurai Hidrokarbon. *Jurnal Penelitian Sains*. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. 8: 15-22.
- Munawar. 2002. Pengaruh Pemberian Fasilitas Aerasi pada Proses Bioremediasi Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Penelitian MIPA*. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. 5: 56 hlm.
- Munawar. 2007. *Kursus Singkat Analisis Data Menggunakan Statistika 6*. Jurusan Biologi Universitas Sriwijaya. 52 hlm (Tidak dipublikasikan).
- Munawar, Mukhtasor, & Surtiningsih, T. 2007. Bioremediasi Tumpahan Minyak Mentah dengan Metode Biostimulasi Nutrien Organik di Lingkungan Pantai Surabaya Timur. *Jurnal Berk. Penel. Hayati*. (13): 91-96 hlm
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif Untuk Pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap Dalam Bidang Mikrobiologi*. Universitas Sumatera Utara. 37 hlm
- Nugroho, S. H. 2008. Degradasi Minyak Bumi Via "Tangan" Mikroorganisme. *Artikel*. Departemen Biokimia. IPB. Bogor. 5 hlm.
- Nugroho, A. 2006. Bioremediasi *Sludge* Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Jurnal Teknologi*. 10 (2): 82-89.
- Pelczar, M.J & Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-dasar mikrobiologi I*. Hadioetomo, R.S. T. Imas, S. S. Tjitrosomo & S.L. Angka (penterjemah). Penerbit UI press. Jakarta. 443 hlm.

- Prpich, G.P. & Daugulis, A.J. 2005. Enhanced Biodegradation of Phenol By A Microbial In A Solid-liquid Two Phase Partitioning Bioreactor. *Biodegradation*. 16: 329-339 hlm.
- Prescott, Lansing W., Harley, Jhon P., Klein, Donald A. 2005. *Microbiology*. Sixth Edition. McGraw Hill. Boston. 912 hlm.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara. Jakarta. 286 hlm.
- Raudati, E. 1996. Mikrobiologi Industri. *Diklat*. Universitas Sriwijaya. 99 hlm.
- Rossiana, N., Sumiarsa, D., & Salim, H. 2002. Bioremediasi Lumpur Minyak Bumi dengan Kascing. *Journal Biotika*. FMIPA-UNPAD. Bogor. 3: 10 hlm.
- Rosenberg, E & D.L. Gutnick. 1986. *The hydrocarbon Oxiding Bacteria*. The Prokaryota: 903-912 hlm.
- Saidi, D., Iswandi, A., Noegroho, H., Dewi, A.S. 1999. Kemampuan Bakteri dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah dalam Merombak Minyak Bumi dan Solar. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*. 2 (2). 1-7 hlm.
- Shaheen, E. I. 1992. *Tecnology of Environmental Pollution Control*. Second Edition. Penn Well Books. USA. 557 hlm
- Sharpley, J.M. 1966. *Elementary Petroleum Microbiology*. Gulf Publishing Company Texas. 37-109 hlm.
- Soedarsono, K. 1989. *Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Proses Waste Water Treatment*, Departemen Mikrobiologi. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 98 hlm.
- Suardana, P., Deddy, S., Eddy, S. 2002. Pengaruh Surfaktan Linear Alkylbenzena Sulfonat dalam Mempercepat Bioremediasi Limbah Minyak Bumi (Studi Kasus Pengelolaan Limbah minyak Duri, PT Caltex Pacific Indonesia). *Simposium Nasional*. 11 hlm.
- Suryanto, D. 2003. Biodegradasi Aerobik Senyawa Hidrokarbon Aromatik Monosiklis Oleh Bakteri. *Artikel*. Universitas Sumatera Utara. 11 hlm.
- Thomas, J.M., Ward, C.H., Raymond, R.L., Wilson., J.T & Loehr, R.C. 1992. Bioremediation. Dalam: *Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press, Inc. 1: 369-385 hlm.
- Timotius, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. 205 hlm.

- Udiharto, M. 1992. Aktivitas mikroba Dalam Mendegradasi Minyak. *Proceeding Diskusi Ilmiah VII Hasil Penelitian Lemigas*. Jakarta. 464 – 467 hlm.
- Volk & Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar* Edisi Kelima. Jilid 1. Soenarto (penterjemah). Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hlm.
- Wrenn, B.A., J.R. Haines, A.D. Venosa, M. Kadkhodayan & M.T Suidan. 1994. Effect Of Nitrogen Source On Crude Oil Biodegradation. *Journal of industrial Microbiology*. (13): 276-286 hlm.
- Wulan, P., Misri, G., Berly, A., Bustomy, B. 2007. Penentuan Rasio Ptimum C:N:P Sebagai Nutrisi Pada Proses Biodegradasi Benzena-Toluena dan *Scale Up* Kolom Bioregenerator. *Journal Teknologi*. Universitas Indonesia. 8 hlm
- Zaifbio. 2009. Nutrisi Mikroba, Sebuah Esensi Dasar Untuk Kehidupan Mikroba. *Artikel Mikrobiologi*. Jakarta. 15 hlm.
- Zulkifliani. 1993. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Oleh *Pseudomonas Sp Gamma Cobalt-60* Dalam Medium Air Laut yang Diperkaya Nitrogen dan Fosfor. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. 70 hlm. (Tidak Dipublikasikan).