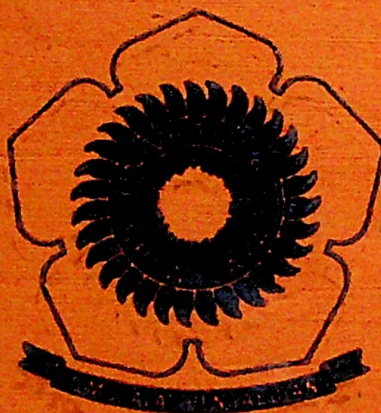


**VARIASI pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI BIOSURFAKTAN
OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI BAKTERI PENDEGRADASI
MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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



Oleh

**AYU FATIMATUL PUTRI
08081004006**

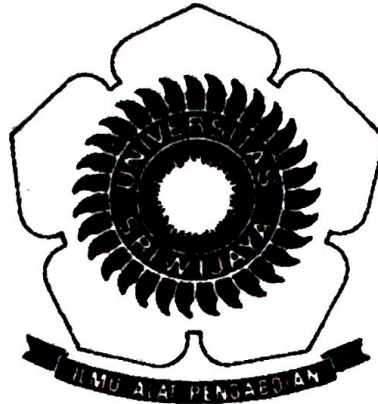
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
MEI 2012**

R. 24723/25289

**VARIASI pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI BIOSURFAKTAN
OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI BAKTERI PENDEGRADASI
MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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



S
579.307
Ayu
V
2012
C1. 121721.

Oleh

**AYU FATIMATUL PUTRI
08081004006**

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

LEMBAR PENGESAHAN

**VARIASI pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH
Pseudomonas alcaligenes SEBAGAI BAKTERI PENDEGRADASI
MINYAK BUMI**

SKRIPSI

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

Oleh

**AYU FATIMATUL PUTRI
08081004006**

Pembimbing II,



**Dra. Hary Widiajanti, M. Si.
NIP. 196112121987102001**

**Indralaya, Mei 2012
Pembimbing I,**



**Dra. Muharni, M. Si.
NIP. 196306031992032001**

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi




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

LEMBAR PERSEMBAHAN

"dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran."

(An-Nahl : 13)

Ku persembahkan karya tulisku ini untuk:

- ❖ **Agama dan Ilmu Pengetahuan**
- ❖ **Kedua Orangtuaku (Ummi dan Buya)**
- ❖ **Ayuk, Kakak, Adik, dan keluargaku tersayang**
 - ❖ **Sahabat Terbaik**
 - ❖ **Staf Dosen Biologi FMIPA**
 - ❖ **Almamaterku**

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT. atas rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi akhir zaman, Nabi Muhammad SAW. beserta keluarga, sahabat, dan pengikutnya.

Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Dra. Muharni, M. Si. dan Dra. Hary Widjajanti, M. Si. yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran sehingga penulisan skripsi ini terselesaikan tepat waktu.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua Ibu Nur'aini dan Bapak Zainal Arifin, atas do'a dan semangat cintanya.
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. selaku dosen Pembimbing Akademik.
5. Dra. Sri Pertiwi Estuningsih, M. Si. dan Dra. Nita Aminasih, M. Si. sebagai dosen pembahas yang telah banyak memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini.
6. Seluruh staf dosen di Jurusan Biologi FMIPA, atas curahan ilmu dan pengetahuan yang diberikan.

7. Pak Nanang, Mbak Desi, dan Uni Nia yang telah banyak membantu dalam segala hal.
8. Sahabat-sahabat terbaikku “The Gradag” (Nyeng Outa’, Nyeng Ouya’, dan Nyeng Ouyin) dan My Beloved Sista (Kak Dhila) yang telah menyemangatiku.
9. Teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi, mbak Rini, Bening, Chik, Mak Erni, Bu Guru Meli, Bu Boss Margaret, Mamah Tiara, Amel, Fenky, Ricky, Zika, dan Ferry. Terima kasih atas kebersamaan dan kerja samanya.
10. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2008 (Iqbal, Arif, Bang Rambe, Indra, GMG, Ningrat’s Famz,dkk yang tak bisa disebutkan satu persatu) terima kasih atas segala bantuan dan kenangannya. Seluruh rekan mahasiswa angkatan 2009, 2010, 2011.

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

Inderalaya, Mei 2012

Penulis

THE VARIATION OF pH AND TEMPERATURE ON BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Pseudomonas alcaligenes* AS A PETROLEUM DEGRADING BACTERIA

By:
Ayu Fatimatul Putri
08081004006

ABSTRACT

Biosurfactant production is strongly influenced by the type of bacteria, substrate, and also environmental factors. Biosurfactant production increase is related to pH and temperature for the existing series with enzyme activity in the biosurfactant producing bacteria. This research aims to determine the effect of variations in pH and temperature on biosurfactant production by *Pseudomonas alcaligenes* as degrading petroleum. The research was conducted to provide pH and different temperatures, namely at a temperature of 30°C, 40°C, and 50°C with a pH 6, 6.5, and 7. The variables measured were the number of bacterial cells, biosurfactant production and biosurfactant emulsification index. The results showed that on average of the highest number of bacterial cells is achieved at the treatment temperature of 50°C and pH 7 is equal to $9.0 \cdot 10^7$ cfu/mL. The highest biosurfactant product is achieved at the treatment temperature of 40°C, where *Pseudomonas alcaligenes* biosurfactant produced by 1.21 g/L. The highest emulsification index (0.75) achieved in the treatment of 50°C.

Key words: biosurfactant, emulsification index, petroleum degrading bacteria.

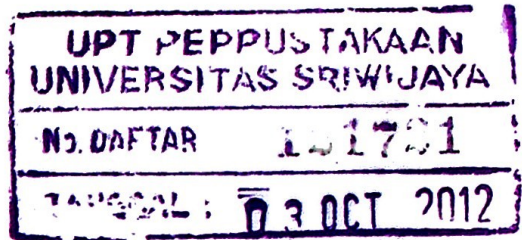
**VARIASI pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI BIOSURFAKTAN
OLEH *Pseudomonas alcaligenes* SEBAGAI BAKTERI PENDEGRADASI
MINYAK BUMI**

**Oleh:
Ayu Fatimatul Putri
08081004006**

ABSTRAK

Produksi biosurfaktan sangat dipengaruhi oleh jenis bakteri, substrat, dan juga faktor lingkungan. Peningkatan produksi biosurfaktan sangat berkaitan dengan pH dan suhu karena berhubungan dengan serangkaian aktivitas enzim yang ada pada bakteri penghasil biosurfaktan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari variasi pH dan suhu terhadap produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas alcaligenes* sebagai pendegradasi minyak bumi. Penelitian dilakukan dengan memberikan pH dan suhu yang berbeda-beda, yaitu pada suhu 30°C, 40°C, dan 50°C dengan pH 6, 6,5 dan 7. Variabel yang diukur adalah jumlah sel bakteri, produksi biosurfaktan, dan indeks emulsifikasi biosurfaktan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel bakteri tertinggi dicapai pada perlakuan suhu 50°C dan pH 7 yaitu sebesar $0,9 \cdot 10^8$ cfu/mL. Produk biosurfaktan tertinggi dicapai pada perlakuan suhu 40°C, dimana *Pseudomonas alcaligenes* memproduksi biosurfaktan sebesar 1,21 g/L. Indeks emulsifikasi tertinggi dicapai pada perlakuan suhu 50°C sebesar 0,75.

Kata kunci: biosurfaktan, indeks emulsifikasi, bakteri pendegradasi.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan 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	8
2.3. Biosurfaktan	10
2.4. Kelebihan Biosurfaktan dibandingkan dengan Surfaktan Kimia	15
2.5. Mekanisme Biodegradasi Hidrokarbon oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik ..	16
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat	21
3.2. Alat dan Bahan	21
3.3. Rancangan Percobaan	21
3.4. Cara Kerja	22
3.4.1. Pembuatan Media	22
3.4.2. Peremajaan Bakteri	22
3.4.3. Pembuatan Inokulum Bakteri	22
3.4.4. Produksi Biosurfaktan	22
3.4.5. Pengukuran Produksi Biosurfaktan	23
a. Ekstraksi Biosurfaktan Fraksi Asam Lemak	23
b. Ekstraksi Biosurfaktan Fraksi Eksopolisakarida	23
3.4.6. Pengukuran Indeks Emulsifikasi (E ₂₄)	24
3.5. Variabel Pengamatan	24
1. Jumlah Sel Bakteri	24

2. Produksi Biosurfaktan	24
3. Indeks Emulsifikasi	24
3.6. Analisis Data	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Jumlah Sel Bakteri	25
4.2. Produksi Biosurfaktan	27
4.3. Indeks Emulsifikasi	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	34
5.2. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Jenis biosurfaktan dan mikroorganismenya	14
Tabel 4.1. Rata-rata jumlah sel bakteri <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	25
Tabel 4.2. Produksi biosurfaktan fraksi eksopolisakarida dari <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	27
Tabel 4.3. Pengukuran indeks emulsifikasi	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Pembentukan biosurfaktan	12
Gambar 2.2. Struktur rhamnolipid	13
Gambar 2.3. Jalur perubahan naftalen menjadi katekol oleh bakteri	18
Gambar 2.4. Mekanisme perubahan katekol menjadi senyawa yang dapat digunakan oleh mikroba	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium	39
Lampiran 2. Kurva Standar <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	40
Lampiran 3. Hasil ANOVA ($\alpha : 5\%$) untuk Jumlah Sel Bakteri	41
Lampiran 4. Hasil ANOVA ($\alpha : 5\%$) untuk Produksi Biosurfaktan	42
Lampiran 5. Hasil ANOVA ($\alpha : 5\%$) untuk Indeks Emulsifikasi	43
Lampiran 6. Produksi Biosurfaktan	44
Lampiran 7. Pengukuran Indeks Emulsifikasi	45

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penelitian mengenai surfaktan dan biosurfaktan telah banyak berkembang dalam beberapa tahun terakhir. Surfaktan digunakan secara luas dalam industri perminyakan untuk mempermudah pembersihan tumpahan minyak. Akan tetapi, umumnya surfaktan yang digunakan merupakan surfaktan sintetik yang tidak dapat didegradasi secara biologis dan dapat bersifat toksik terhadap lingkungan. Biosurfaktan kemudian muncul sebagai salah satu solusi terbaik karena memiliki kemampuan untuk didegradasi secara biologis, dapat diproduksi menggunakan bahan baku yang ekonomis, dan dapat digunakan dalam kondisi ekstrim (Bitticaca 2009: 1).

Daya tarik biosurfaktan meningkat akhir-akhir ini, karena sangat potensial dalam menurunkan tegangan antarmuka pada konsentrasi rendah dan homogen. Biosurfaktan ini sangat bervariasi sehingga sangat luas fungsinya, ramah lingkungan, disintesis oleh berbagai mikroba (kemungkinan memproduksinya melalui fermentasi), dan potensi penerapannya dalam perlindungan lingkungan, perolehan minyak, kesehatan, dan proses industri makanan (Kadarwati 2008: 19).

Biosurfaktan dapat dipergunakan untuk mempercepat remediasi lingkungan yang tercemar oleh tumpahan minyak bumi, yaitu dengan meningkatkan daya kelarutan minyak bumi. Selain untuk remediasi, biosurfaktan juga dapat dimanfaatkan dalam teknologi MEOR (*Microbial Enhanced Oil Recovery*) untuk meningkatkan perolehan minyak bumi (Astuti *et al.* 2001: 1).

Biosurfaktan dihasilkan oleh mikroorganisme hidrokarbonoklastik, yaitu mikroorganisme yang mampu mendegradasi senyawa dalam hidrokarbon minyak bumi dengan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi pertumbuhannya. Mikroorganisme ini juga menghasilkan bioproduk lain seperti asam lemak, gas, dan biopolimer yang dapat meningkatkan porositas dan permeabilitas batuan reservoir formasi klastik dan karbonat, ketika bakteri ini menguraikan minyak bumi (Lasari 2010: 1).

Biosurfaktan mempunyai molekul amfipatik yang unik karena mempunyai struktur yang kompleks, yang terdiri dari gugus hidrofilik dan hidrofobik. Hal ini menyebabkan biosurfaktan mampu mereduksi tegangan permukaan dan antar permukaan (Desai & Banat 1997: 47). Biosurfaktan mempunyai banyak kelebihan, seperti biodegradabilitas, tingkat toksisitas yang rendah, dan digunakan sebagai kontrol lingkungan. Penggunaan biosurfaktan untuk melindungi lingkungan perairan sejak sejumlah strain bakteri dapat menghasilkan biosurfaktan (Maneerat 2005: 1264).

Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba seperti pH, suhu, agitasi, dan ketersediaan oksigen mempengaruhi produksi biosurfaktan melalui pertumbuhan sel. Pada *Arthrobacter paraffineus* dan *Pseudomonas* sp. strain DSM-2874, suhu menyebabkan perubahan komposisi biosurfaktan yang dihasilkan. Bakteri termofilik seperti *Bacillus* sp. tumbuh dan menghasilkan biosurfaktan pada suhu di atas 40°C. Perlakuan panas pada beberapa biosurfaktan disebabkan tidak adanya perubahan yang cukup dalam sifat biosurfaktan seperti penurunan permukaan ketegangan dan tegangan antarmuka dan indeks emulsifikasi, semuanya tetap stabil setelah di autoklaf pada suhu 120°C selama 15 menit (Desai & Banat 1997: 55).

Kondisi pH netral mendukung produksi biosurfaktan. Hal ini berkaitan erat dengan rangkaian reaksi yang melibatkan kerja enzim dalam proses metabolisme. Produksi biosurfaktan berasosiasi dengan pertumbuhan, dimana apabila laju pertumbuhan tinggi maka laju produksi biosurfaktan pun meningkat, dan laju pertumbuhan sangat tergantung kondisi pH. Laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada pH netral. Kualitas biosurfaktan yang dihasilkan dapat diukur dari indeks emulsifikasi pada variasi tingkat pengenceran biosurfaktan (Suryatmana *et al.* 2004: 8).

Berdasarkan penelitian Mirfat (2011: 35) mengenai produksi biosurfaktan didapatkan produksi tertinggi pada jam ke-48, dimana *Pseudomonas alcaligenes* mencapai indeks emulsifikasi (E_{24}) sebesar 0,6 dengan kuantitas biosurfaktan 1,9 g/L pada medium SMSS dengan pH 6,5 dan suhu 40°C. Produksi ini masih tergolong sangat rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Suryatmana (2004: 6), dimana hasil produksi biosurfaktan dari bakteri *Azotobacter chroococcum* pada suhu 28°C dan pada pH netral sebesar 7,64 g/L, sementara pada pH 4 dan pH 9 masing-masing sebesar 5,52 g/L dan 5,55 g/L.

1.2. Rumusan Masalah

Produksi biosurfaktan sangat dipengaruhi oleh jenis bakteri, substrat dan juga faktor lingkungan misalnya pH dan suhu. Peningkatan produksi biosurfaktan sangat berkaitan dengan pH dan suhu yang sesuai karena setiap mikroorganisme mempunyai pH dan suhu optimum yang berbeda-beda untuk pertumbuhan sel. Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian mengenai pengaruh pH dan suhu dari bakteri hidrokarbonoklastik yaitu *Pseudomonas alcaligenes* untuk meningkatkan produksi biosurfaktan.

1.3. Hipotesis

Pada pH dan suhu tertentu dapat meningkatkan produksi biosurfaktan yang terbaik dari bakteri hidrokarbonoklastik yaitu *Pseudomonas alcaligenes*.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan (pH dan suhu) terhadap produksi biosurfaktan dari *Pseudomonas alcaligenes*.

1.5. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini agar dapat dijadikan sebagai sumber informasi dalam produksi biosurfaktan yang terbaik oleh *Pseudomonas alcaligenes*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Ruwaida, A. S., I. M. Banat, S. Haditirto, S. Salem and M. Kadri. 1991. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria-Product Characterization an Evaluation. *Acta Biotechnol.* 11: 315-324.
- Agustiani, E.D. 1998. Penapisan Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Sumur Minyak Bumi. *Skripsi*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Amellal, N., G. Burtin, F. Bartoli & T. Heulin. 1998. Colonization of Wheat Roots by An Exopolysaccharide-Producing *Pantoea agglomerans* Strain and Its Effect on Rhizosphere Soil Aggregation. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 64(10). 3740-3747.
- Anonim. 2011. Bioremediasi. <http://id.wikipedia.org/wiki/Bioremediasi>. 2 Oktober 2011.
- Astuti, D.I., Aditiawati, P. & Budiarti, R.S. 2001. Optimasi Konsentrasi "Crude Oil" dan Sumber Nitrogen pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional LATMI*. 1-5 hlm.
- Atlas, R.M. 1995. Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*. 31: 178-182.
- Caldwell, M.E., R.M. Garrett, R.C. Prince & J.M. Suflita. 1998. Anaerobic Biodegradation of Longchain N-Alkanes Under Sulfate-Reducing Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 32 (14): 2191-2195.
- Cerninglia, C.E. 1992. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Biodegradation*. 3: 351-368.
- Dastgheib, S.M.M., M.A. Amoozegar, E. Elahi, S. Asad & I.M. Banat. 2008. Bioemulsifier production by halothermophilic *Bacillus* strain with potential applications in microbially enhanced oil recovery. *J. Biotechnol. Lett.* 30: 263-270.
- Desai, J.D. & I.M. Banat. 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *Microbial Mol Biol Rev.* 61 (1): 47-64.
- Dyahphe. 2008. Mekanisme Kerja Bakteri *Pseudomonas* sp. dalam Proses Bioremediasi. <http://orpiu.blogspot.com/2008/11/mekanisme-kerja-bakteri-pseudomonas-sp.html>. 19 April 2012.
- Diswanto, E. & E. Kardena. 2010. Isolasi dan Karakterisasi *Pseudomonas* sp. dari Tanah Tercemar Hidrokarbon Minyak Bumi Sumatera dan Jawa. *Biotechnol.* 7: 1-10.

- Fatimah. 2007. Uji Produksi Biosurfaktan *Pseudomonas* sp. pada Substrat yang Berbeda. *J. Berk. Penel. Hayati*. 12: 181–185.
- Gaman, P. & Sherrington, K. B. 1994. *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Edisi Kedua. Yogyakarta: UGM Press. xi + 317 hlm.
- Gautam, K.K. & V.K. Tyagi. 2006. Microbial Surfactants : A Review. *J. Oleo.S.ci* 55 (4): 155-166.
- Goyal, A.K. & G.J. Zylstra. 1997. Genetics of Naphtalene and Phenanthrene Degradation by *Comamonas testosteroni*. *J. Ind. Microbial. Biotechnol.* 19 (5): 401-407.
- Hadioetomo, R. S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: Gramedia Pustaka. 163 hlm.
- Head, I.M. & R.P.J. Swannell. 1999. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants in Marine Habitats. *Current Opinion in Biotechnol.* 10 : 234-239.
- Kim, J.S., B.L. Reuhs, M.M. Rahman, B. Ridley & R.W. Carlson, 1996. Separation of Bacterial Capsular and Lipopolysaccharides by Preparative Electrophoresis. *J. Glycobiology*. 6 (4): 433-437.
- Komarawidjaja, W. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *J. Tek. Ling.* 10(1): 114-119.
- Kosaric, N. Neil, C.C., Gray and Cairns, W.L. 2001. Microbial Emulsifiers dan Diemulsifiers dalam H.J. Rehm and G. Reed. *J. Biotechol.* 3: 295-304.
- Krisno, A. 2011. Pemanfaatan Bakteri *Pseudomonas* untuk Bioremediasi Akibat Pencemaran Minyak Bumi.
<http://aguskrisnoblog.wordpress.com/2011/12/30/pemanfaatan-bakteripseudomonas-untuk-bioremediasi-akibat-pencemaran-minyak-bumi>. 07 April 2012.
- Lasari, D.P. 2010. 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>. 20 Oktober 2011.
- Leahy, J.G. & R.R Colwell. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in The Environment. *J. Microbial Rev.* 54(3): 305-315.
- Leng, L.S., Misrani, M., Irene, K.P.T. 2003. Biosurfactants Production by Palm Oil-Utilising Microorganism. *Seminar Penyelidikan Jangka Pendek*. 1-3 hlm.
- Maneerat, S. 2005. Biosurfactants from marine microorganisms. *Technol.* 27(6) : 1263-1272.

- Mangkoedihardjo, 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*. 1-46 hlm.
- Mulligan CN, Chow TYK, and Gibbs BF. 1989. The Production of Surfactin by *Bacillus subtilis* Grown on Peat Hydrolysate. *J. Appl Microbiol Biotechnol*. 31: 486.
- Nasrullah, N. 2011. Pengaruh Suhu Rendah terhadap Bakteri Gram Positif. <http://www.scribd.com/doc/11495502/Pengaruh-Suhu-Rendah-Terhadap-Bakteri-Gram-Positif>. 19 April 2012.
- Nitschke, M. & G. M. Pastore. 2002. Biosurfactantes: Propriedadese Aplicacoes. *Química Nova*. 25: 772-776.
- Nugroho, A. 2006. Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. *Biodiversitas*. 7(4): 312-316.
- Rachman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Rahman K. S. M., Rahman T. J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R., and Banat I. M. 2003. Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *J. Bioresour. Technol*. 90: 150-168.
- Salihu, A., I. Abdulkadir & M.N. Almustapha. 2009. An Investigation for Potential Development on Biosurfactants. *J. Biotechnol. Mol. Bio. Reviews*. 3(5): 111-117.
- Semple, K.T. & R.B. Cain. 1996. Biodegradation of Phenols by the Algae *Ochromonas danica*. *Appl. Environ. Microbiol*. 62(4): 1265-1273.
- Sheppard, J.D. & D.G. Cooper. 1991. The Respons of *Bacillus subtilis* ATCC 21332 to Manganese During Continous Phase Growth. *J. Appl. Microbiol. Techno*. 35: 72-26.
- Suryatmana, P., K. Edwan, R. Enny & Wisjnuaprpto. 2004. Karakteristik Biosurfaktan dari *Azotobacter chroococcum*. *Laporan Akhir dan Seminar Evaluasi RUT XI*. Kementrian Riset dan Teknologi RI. Serpong. 1-18 hlm.
- Van Dyke., Lee. H., Trevor, J.T. 1991. Application of Microbial Surfactants Use for Biological Soil Remediation. *Biodegradation*. 8: 401-417.

- Vater J, Kablitz B, Wilde C, Franke P, Mehta N, and Cameotra SS. 2002. Matrix assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight Mass Spectrometry of Lipopeptide biosurfactant in Whole Cell and Culture Filtrates of *Bacillus subtilis* C-1 Isolated from Petroleum Sludge. *J. Appl. Environ. Microbiol* 68: 6210-6219
- Warsito, K. 2011. Isolasi dan Potensi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Laut Sibolga dan Tanjung Balai Sumatera Utara dalam Mendegradasi Naftalen. *Skripsi*. 85 hlm.
- Yani, M. & Akbar, Y. 2010. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *J. Tek. Ind. Pert.* 19(1): 40-44.
- Yudhabuntara, D. 2008. Pengendalian Mikroorganisme dalam Bahan Pangan. <http://milkordie.blogspot.com/2008/05/pengendalian-mikroorganisme-dalam-bahan.html>. 19 April 2012.
- 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.

