

Biodiversitas bakteri indigen dan kontribusinya dalam pengelolaan lingkungan tercemar: Studi kasus beberapa wilayah di Indonesia

Biodiversity of indigenous bacteria and its contribution in the management of contaminated environment: A case study several regions in Indonesia

MUNAWAR[∇], ELFITA[∞]

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32 Indralaya, Ogan Ilir 30662, Sumatera Selatan. Tel. +62- 711-580056, Fax. +62-711-580268, [∇]email: mu_na_war@yahoo.com, [∞]elfita69@gmail.com.

Manuskrip diterima: 12 Mei 2015. Revisi disetujui: 19 Juli 2015.

Abstrak. Munawar, Elfita. 2015. Biodiversitas bakteri indigen dan kontribusinya dalam pengelolaan lingkungan tercemar: Studi kasus beberapa wilayah di Indonesia. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1359-1363*. Bakteri merupakan kelompok makhluk hidup berukuran renik, namun demikian menempati dua domain dari tiga domain dalam sistem klasifikasi. Hal ini berarti bakteri mempunyai keanekaragaman yang sangat tinggi baik secara morfologi, fisiologi, dan potensi. Beberapa lokasi tercemar di tiga propinsi yaitu Propinsi Sumatera Selatan, Propinsi Jambi, dan Propinsi Papua Barat telah dilakukan eksplorasi mikroba dan dipelajari kontribusinya dalam pengelolaan lingkungan tercemar. Metode yang digunakan meliputi tahapan isolasi dan identifikasi bakteri, uji potensi, dan penerapan dalam mengatasi lingkungan tercemar di lapangan. Biodiversitas bakteri yang diperoleh adalah *Nitrosococcus* sp. (P1.1.); *Enterococcus* sp. (P2.3.); *Planococcus* sp. (P4.5.); *Micrococcus* sp. (LC.I4); *Bacillus* sp. (LC.VI3); *Pseudomonas* sp. (LC.II7); dan *Xanthomonas* sp. (LC.III10); *Bacillus coagulan*; *B. slentimorbus*; *B. spasteuri*; *B. freudenreichii*; *Pseudomonas freudenreichii*; *P. aeruginosa*; merupakan bakteri indigen yang berkontribusi dalam pemulihan lingkungan tercemar limbah cair dan padat dari kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi di Propinsi Sumatera Selatan. Bakteri indigen yang ditemukan di Propinsi Jambi meliputi *P. pseudoalcaligenes*; *B. sphaericus*; *B. Megaterium*; *B. Cereus*; *B. mycoides*; dan *Xanthobacter autotrophicus* berkontribusi dalam pemulihan lingkungan tercemar limbah padat dari kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi. Sedangkan *P. fluorescens*; *P. aeruginosa*; *B. coagulan* merupakan bakteri indigen yang berkontribusi dalam pemulihan lingkungan tercemar limbah padat dari kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi di Propinsi Papua Barat. Waktu yang diperlukan untuk memulihkan lingkungan tercemar limbah minyak bumi oleh bakteri tersebut tidak lebih dari delapan bulan, sehingga masih memenuhi ketentuan yang berlaku yaitu maksimum delapan bulan. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa setiap lokasi tersebut ditemukan biodiversitas bakteri indigen yang dapat digunakan dalam memulihkan lingkungan yang telah tercemar oleh limbah minyak bumi dari kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi.

Kata kunci: biodiversitas, bakteri indigen, lingkungan tercemar

Abstract. Munawar, Elfita. 2015. Biodiversity of indigenous bacteria and its contribution in the management of contaminated environment: A case study several regions in Indonesia. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1359-1363*. Bacteria are a microscopic organism, however, occupy the two domains of three domains in the classification system. This means that the bacteria have a very high diversity both in morphology, physiology, and potential. Some polluted locations in the three provinces, i.e.: South Sumatra, Jambi, and West Papua have been carried out exploration and studied microbial contribution in the management of contaminated environments. Methods used include the stages of isolation and identification of bacteria, potential test and application in addressing contaminated environment in the field. Bacterial biodiversity acquired is *Nitrosococcus* sp. (P1.1.), *Enterococcus* sp. (P2.3.), *Planococcus* sp. (P4.5.), *Micrococcus* sp. (LC.I4), *Bacillus* sp. (LC.VI3), *Pseudomonas* sp. (LC.II7), and *Xanthomonas* sp. (LC.III10), *Bacillus coagulan*, *B. slentimorbus*, *B. spasteuri*, *B. freudenreichii*, *Pseudomonas freudenreichii*, *P. aeruginosa*, its indigenous bacteria that contribute to the restoration of environments polluted of liquid and solid waste from exploration activities and production of petroleum in the province of South Sumatra. Indigenous bacteria found in Jambi include *P. pseudoalcaligenes*, *B. sphaericus*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. mycoides*, and *Xanthobacter autotrophicus* contribute to the restoration of environments polluted by solid waste from exploration activities and production of petroleum. While bacteria of *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, and *B. coagulan* is indigenous bacteria that contribute to the environmental restoration of contaminated of solid waste from exploration activities and production of petroleum in the province of West Papua. The time required to restore the environment polluted by petroleum waste by bacteria not more than eight months, so that meet the applicable provisions, namely a maximum of eight months. Based on these results it can be concluded that each of these locations is found indigenous bacterial biodiversity that can be used to restore the environment that has been polluted by waste oil from exploration and production of petroleum.

Keywords: biodiversity, indigenous bacteria, environment polluted

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan salah satu anggota dunia mikroba yang bersifat kosmopolitan, artinya mudah ditemukan di berbagai lingkungan baik terestrial maupun akuatik yang merupakan penghuni asli (indigen) pada habitat di lingkungan tersebut. Menurut Tortora et al., (2010) berdasarkan sistem klasifikasi tiga domain, bakteri merupakan kelompok mikroba yang menempati dua dari tiga domain yang ada yaitu domain *Eubacteria* merupakan kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif, dan domain *Archaea* merupakan kelompok bakteri yang hidup pada lingkungan ekstrim. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri menempati sekitar 67% dari sistem klasifikasi makluk hidup yang ada.

Bakteri tidak hanya dominan menempati sistem klasifikasi, tetapi bakteri juga mempunyai keanekaragaman yang sangat tinggi baik secara morfologi, fisiologi, dan potensi. Salah satu potensi yang dimiliki oleh bakteri adalah mampu menggunakan material yang terdapat pada habitatnya sebagai sumber nutrisi dengan cara memetabolismenya, termasuk material yang berupa bahan pencemar seperti minyak bumi yang mencemari lingkungan baik terestrial maupun akuatik.

Teknik isolasi bertahap menggunakan minyak bumi sebagai sumber karbon merupakan teknik yang tepat untuk mengisolasi bakteri dari lingkungan yang terkontaminasi minyak bumi yang mampu menggunakan hidrokarbon minyak bumi sebagai sumber karbonnya. Beberapa bakteri yang diperoleh melalui teknik isolasi bertahap termasuk dalam genera *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, dan *Micrococcus*. Bakteri indigen dari tanah terkontaminasi limbah minyak bumi dapat digunakan untuk proses bioremediasi limbah minyak bumi dengan teknik *biopile* (Munawar et al. 2012; Munawar dan Zaidan 2013). Menurut Atlas (1981) mikroorganisme yang dapat memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon pada lingkungan tidak tercemar minyak hanya sekitar 0,1%, tetapi pada lingkungan yang tercemar minyak meningkatkan hingga 100% dari komunitas mikroba yang ada pada lingkungan tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian tentang kajian biodiversitas bakteri indigen di beberapa lokasi di Indonesia yang tercemar minyak bumi dan kontribusinya terhadap pengelolaan lingkungan yang tercemar minyak bumi. Lokasi yang dipilih terdiri atas tiga propinsi yaitu Propinsi Sumatera Selatan pada koordinat E= 104° 07' 17,4" dan S= 003° 15' 42,3", Propinsi Jambi pada koordinat E= 103 ° 30' 07,10". S=001 ° 46' 26,00", dan Propinsi Papua Barat pada koordinat E=131° 29' 47,1" BT dan S=001° 07' 25,6" dengan pertimbangan lokasi tersebut merupakan penghasil minyak yang dikelola Pertamina. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis-jenis bakteri indigen di beberapa lokasi tercemar minyak bumi di Indonesia dan mengetahui kemampuannya dalam mengurangi cemaran minyak yang ada di lingkungan tersebut.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan identifikasi bakteri indigen petrofilik

Isolasi bakteri indigen petrofilik dilakukan terhadap sampel berupa tanah, air, dan sedimen yang diambil dari tiga lokasi yang tercemar hidrokarbon petroleum yaitu dari Propinsi Sumatera Selatan (E= 104° 07' 17,4"; S= 003° 15' 42,3"), Propinsi Jambi (E= 103 ° 30' 07,10"; S=001 ° 46' 26,00"), dan Propinsi Papua Barat (E=131° 29' 47,1" BT dan S=001° 07' 25,6"). Masing-masing jenis sampel dari setiap lokasi selanjutnya dilakukan isolasi terhadap bakteri indigen petrofilik. Setiap jenis sampel dikultur dalam medium Zobell cair, selanjutnya ditumbuhkan dalam medium selektif yang hanya mempunyai satu sumber karbon berupa hidrokarbon petroleum (Munawar 1999; Widjajanti et al. 2006). Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter secara morfologi yang meliputi morfologi koloni dan sel, serta serangkaian uji-uji fisiologi yang biasa digunakan untuk identifikasi bakteri. Karakteristik setiap isolat yang diperoleh dicocokkan dengan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan dan Gibbons 1974; Holt et al. 2000).

Persiapan kultur bakteri indigen petrofilik

Masing-masing isolat bakteri yang diperoleh dari setiap lokasi dibuat kultur campur menggunakan medium *Mineral Salt Medium* (MSM) cair (Mehrasbi et al. 2003). Selanjutnya dilakukan penggantian kultur sesuai dengan volume yang dibutuhkan di lapangan. Penggantian volume kultur menggunakan *Soil Extract Medium* (SEM) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan dengan menambahkan sumber C, N, P, dan K dengan ratio C: N: P: K adalah 100: 10: 1: 0,1. (Margesin dan Schinner 2001).

Persiapan Pilot Unit bioremediasi di lapangan

Proses bioremediasi dilakukan dalam suatu *mixing cell* yang berukuran 50 m x 12 m x 0,3 m. Limbah atau tanah yang tercemar hidrokarbon petroleum sebelum dilakukan proses bioremediasi terlebih dahulu dipreparasi. Preparasi dilakukan dengan cara menambahkan tanah segar hingga konsentrasi *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) ≤ 15%, selanjutnya ditambahkan agen pengembang berupa serbuk gergaji sebanyak 5% dan ditambah nutrisi berupa sumber N, P, dan K dengan memperhitungkan konsentrasi TPH sebagai sumber C, sehingga diperoleh ratio C: N: P: K adalah 100: 10: 1: 0,1. (Margesin dan Schinner 2001).

Ekstraksi TPH dari tanah tercemar hidrokarbon petroleum

Sampel berupa tanah diambil dari setiap *Mixing Cell* terdiri atas beberapa titik dan setiap titik sampling diambil bagian atas, tengah dan bawah. Sampel dalam satu *Mixing Cell* dikomposit baru dilakukan analisis konsentrasi TPH. Sampel tanah komposit diambil sebanyak 10 g dan diekstraksi menggunakan heksan, metil klorida, dan kloroform masing-masing 100 ml. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut digabungkan dan ditimbang sebagai TPH secara gravimetri (Misiira et al. 2001; Minai-Tehrabi dan Herfatmanesh 2007).

Penghitungan populasi bakteri selama proses bioremediasi

Penghitungan populasi bakteri dilakukan pada sampel yang sama dengan untuk perhitungan TPH. Sampel tanah diambil secara aseptik sebanyak 10 g, diencerkan dalam larutan NaCl 0,85% sebanyak 99 ml, selanjutnya dibuat seri pengenceran sampai 10⁻¹⁰. Mulai pengenceran 10⁻² sampai 10⁻¹⁰ diambil 1 ml menggunakan metode *pour plate* dikultur dalam medium *Oil Agar* (OA). Kultur dalam medium OA diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan koloni yang tumbuh berdasarkan *Standard Plate Count* (SPC) (Ayotamuno et al. 2007).

Pemantauan proses bioremediasi

Setiap *Mixing Cell* di semua lokasi dilakukan pemantauan terhadap suhu, kelembaban, dan pH. Pengukuran suhu dilakukan dengan *soil thermometer*, pengukuran kelembaban dan pH dilakukan menggunakan *soil tester*. Kelembaban dipertahankan 50% - 70% dengan menyemprotkan air atau mengurangi air jika berlebih, sedangkan pH dipertahankan pada nilai 6 - 8 unit dengan cara menambahkan zat kapur jika terlalu asam dan menambahkan sulfur jika terlalu basa.

Analisis data

Data yang ada meliputi karakter morfologi baik koloni maupun sel bakteri, dan karakter biokimia digunakan untuk melakukan identifikasi bakteri, sedangkan data populasi bakteri petrofilik dan konsentrasi TPH dianalisis secara deskriptif dengan membuat grafik hubungan antara dua data tersebut dengan waktu (minggu).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biodiversitas bakteri

Hasil isolasi bakteri petrofilik dan identifikasi menunjukkan bahwa pada setiap lokasi ditemukan bakteri yang mampu memanfaatkan hidrokarbon minyak bumi sebagai sumber karbon dan energinya dengan cara mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi menjadi senyawa yang lebih sederhana. Jenis-jenis bakteri yang diperoleh dari tiga lokasi adalah: *Nitrosococcus* sp. (P1.1.); *Enterococcus* sp. (P2.3.); *Planococcus* sp. (P4.5.); *Micrococcus* sp. (LC.I4); *Bacillus* sp. (LC.VI3); *Pseudomonas* sp. (LC.II7); dan *Xanthomonas* sp. (LC.III10); *Bacillus coagulan*; *B. slentimorbus*; *B. spasteuri*; *B. freudenreichii*; *Pseudomonas freudenreichii*; *P. aeruginosa* dari lokasi di Propinsi Sumatera Selatan. Bakteri indigen yang ditemukan di Propinsi Jambi meliputi *P. pseudoalcaligenes*; *B. sphaericus*; *B. Megaterium*; *B. Cereus*; *B. mycoides*; dan *Xanthobacter autotrophicus*. Sedangkan *P. flourescens*; *P. aeruginosa*; dan *B. coagulan* merupakan bakteri indigen yang ditemukan di Propinsi Papua Barat.

Jumlah jenis yang diperoleh dari propinsi Sumatera Selatan paling banyak, yaitu 13 jenis bakteri yang terbagi dalam tujuh genera yaitu *Nitrosococcus*; *Enterococcus*; *Planococcus*; *Micrococcus*; *Bacillus*; *Pseudomonas* dan

Xanthomonas. Propinsi Jambi diperoleh enam jenis bakteri yang terbagi dalam tiga genera yaitu *Pseudomonas*; *Bacillus*, dan *Xanthobacter*, sedangkan dari propinsi Papua Barat hanya diperoleh tiga jenis bakteri yang terbagi ke dalam dua genera yaitu *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Jenis-jenis bakteri yang ditemukan di tiga lokasi menunjukkan hanya terbagi ke dalam tujuh genera yaitu *Nitrosococcus*; *Enterococcus*; *Planococcus*; *Micrococcus*; *Bacillus*; *Pseudomonas* dan *Xanthomonas*. Tujuh genera tersebut merupakan genera bakteri yang sering ditemukan di lingkungan terkontaminasi minyak bumi dan bersifat petrofilik artinya mampu memanfaatkan hidrokarbon petroleum sebagai sumber karbon dan energinya (Mandri dan Lin 2007; Mittal dan Singh 2009; Udeani et al. 2009; Boboye, et al. 2010; Sebiomo et al. 2010; Sivaraman et al. 2011; Sun et al. 2010; Badrunnisa et al. 2011; Khan et al. 2011).

Selanjutnya dari jenis bakteri yang ditemukan dilakukan seleksi terhadap kemampuan dalam mendegradasi hidrokarbon petroleum pada masing-masing lokasi. Seleksi dilakukan dengan melakukan uji potensi pada setiap jenis bakteri. Hasil seleksi menunjukkan bahwa dari lokasi Sumatera Selatan diperoleh tiga jenis bakteri yang mempunyai potensi tinggi dalam mendegradasi hidrokarbon petroleum yaitu *Pseudomonas flourescens*, *Bacillus pasteurii*, dan *Bacillus freudenreichii*. Lokasi Jambi terdapat tiga jenis bakteri yang terseleksi yaitu *P. pseudoalcaligenes*, *B. Cereus* dan *Xanthobacter autotrophicus* dari enam jenis bakteri yang diperoleh, sedangkan dari lokasi Papua Barat semua jenis yang diperoleh yaitu *Pseudomonas flourescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus coagulan* terseleksi mampu mendegradasi hidrokarbon petroleum dengan baik.

Konsentrasi TPH dan populasi bakteri petrofilik

Konsentrasi TPH selama proses bioremediasi di lokasi Sumatera Selatan yang berlangsung selama 16 minggu menunjukkan penurunan dan pada akhir proses konsentrasi TPH < 1%, sedangkan populasi bakteri petrofilik mengalami dinamika tetapi populasi paling rendah masih menunjukkan jumlah yang cukup banyak masih > 10⁶ cfu/gram, hal ini menunjukkan bahwa populasi bakteri petrofilik yang ada masih mampu melakukan degradasi hidrokarbon petroleum hingga konsentrasi TPH masih bisa turun. Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Sumatera Selatan dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 2. Menunjukkan Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Jambi. Pada Gambar 2 terlihat bahwa Konsentrasi TPH selama proses bioremediasi di lokasi Jambi yang berlangsung selama 7 minggu menunjukkan penurunan dan pada akhir proses konsentrasi TPH di atas 1%, sedangkan populasi bakteri petrofilik mengalami peningkatan hingga minggu ke tujuh menunjukkan jumlah > 10⁹ cfu/gram, hal ini menunjukkan bahwa populasi bakteri petrofilik yang ada masih mampu melakukan

degradasi hidrokarbon petroleum, sehingga jika waktunya diperpanjang maka kemungkinan akan terjadi penurunan konsentrasi TPH sampai pada batas aman yaitu < 1% (KepMen LH No. 128 2003).

Konsentrasi TPH selama proses bioremediasi di lokasi Papua Barat yang berlangsung selama 6 minggu menunjukkan penurunan dan pada akhir proses konsentrasi TPH < 1%, sedangkan populasi bakteri petrofilik mengalami peningkatan hingga minggu ke lima, tetapi pada minggu ke enam populasi bakteri menurun cukup drastis namun masih menunjukkan jumlah yang cukup banyak masih > 10⁶ cfu/gram. Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Papua Barat dapat dilihat pada Gambar 3.

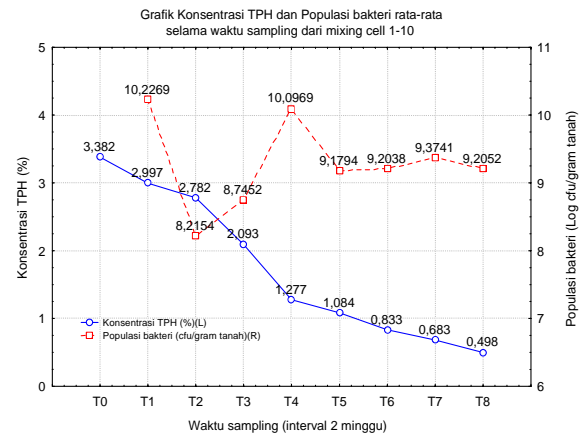
Berdasarkan hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di tiga lokasi yaitu Sumatera Selatan, Jambi dan Papua Barat (Gambar 1-3) diketahui laju degradasi TPH pada masing-masing lokasi. Laju degradasi TPH masing-masing lokasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Rata-rata laju degradasi TPH dari tiga lokasi sebesar 1,29 (%/hari). Beberapa penelitian bioremediasi menunjukkan laju degradasi TPH bervariasi yaitu 0,53-0,83%/hari (Thouand et al. 1999); 0,27%/hari (Misiiria et al. 2001); 0,26-0,43%/hari (Mehrabani et al. 2003); 0,24%/hari (Minai-Tehrani dan Herfatmanesh 2007); dan 0,07%/hari (Hafiludin 2011), secara umum berdasarkan hasil penelitian terdahulu tersebut menunjukkan laju degradasi TPH rata-rata sekitar 0,16 %/hari. Laju degradasi rata-rata TPH pada penelitian ini adalah 1,29 artinya lebih cepat sekitar 8 kali dibanding laju degradasi pada proses bioremediasi pada beberapa literatur tersebut.

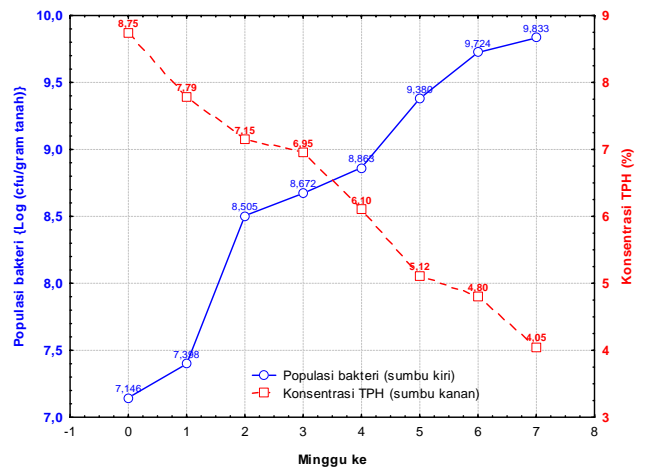
Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa biodiversitas bakteri indigen yang terdapat di lokasi Sumatera Selatan, Jambi dan Papua Barat mampu mengurangi cemaran hidrokarbon petroleum secara efektif, sehingga dapat berkontribusi dalam upaya pemulihkan lingkungan yang terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi.

Tabel 1. Laju degradasi TPH oleh kultur campur bakteri petrofilik pada masing-masing lokasi

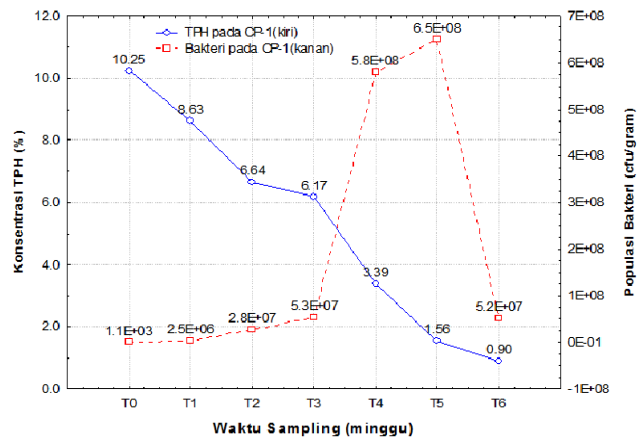
Lokasi	Konsentrasi TPH (%)		Waktu Penurunan (minggu)	Laju degradasi (%/minggu)	Laju degradasi (%/hari)
	Awal	Akhir			
Sumatera Selatan	3,38	0,50	14,00	85,27	6,09
Jambi	8,75	4,65	8,00	46,86	5,86
Papua Barat	10,25	0,90	6,00	91,22	15,20



Gambar 1. Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Sumatera Selatan



Gambar 2. Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Jambi



Gambar 3. Hubungan antara waktu dengan Konsentrasi TPH dan Populasi bakteri petrofilik pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi di lokasi Papua Barat

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PT Pertamina EP Region Sumatera, PT Pertamina EP Jambi, PT Pertamina EP Rigion KTI-Filed Papua yang telah memberi dukungan baik dana maupun fasilitas selama kegiatan penelitian berlangsung. Disamping itu ucapan terima kasih disampaikan juga kepada Pusat Penelitian Lingkungan Hidup (PPLH) Universitas Sriwijaya yang telah memfasilitasi selama kegiatan penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas RM. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon: an environmental perspective. *Microbiol Rev* 45: 180-200.
- Ayotamuno MJ, Okparanma RN, Nwenwka EK, Agaji SOT, Probert S. 2007. Bioremediation of a sludge containing hydrocarbons. *Appl Energy* 85 (9): 936-943.
- Badrunnisa S, Shantaram M, Pai VR. 2011. Isolation Characterization And Identification Of Bacteria From Coolant Oils. *International J Appl Biol Pharm Technol* 2 (3): 444-452.
- Boboye B, Olukunle OF, Adetuyi FC. 2010. Degradative activity of bacteria isolated from hydrocarbon-polluted site in Ilaje Ondo State Nigeria. *African J Microbiol Res* 4 (23): 2484-2491
- Buchanan RE, Gibbons NE. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th. The William and Wilkins Company, Baltimore.
- Hafiluddin. 2011. Bioremediasi tanah tercemar minyak dengan teknik bioaugmentasi dan biostimulasi. *Embryo* 8 (1): 47-52.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. A Wolters Kluwer Company, Tokyo.
- Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup. 2003. Tentang Tata Cara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi Secara Biologis. Nomor 128. Jakarta.
- Khan JK, Rizvi SHA. 2011. Isolation and characterization of microorganism from oil contaminatinated sites. *Adv Appl Sci Res* 2 (3): 455-460.
- Mandri T, Lin J. 2007. Isolation and Characterization of Engine Oil Degrading Indigenous Microorganism in Kwazulu-Natal, South Africa. *African J Biotechnol* 6 (1): 23-27.
- Margesin R, Schinner F. 2001. Bioremediation: natural attenuation and Biostimulation of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Appl Environ Microbiol* 67 (7): 3127-3133.
- Mehrasbi MR, Haghighi B, Shariat M, Naseri S, Naddafi K. 2003. Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Soil. *Iranian J Publ Health* 32 (3): 28-32.
- Minai-Tehrani D, Herfatmanesh A. 2007. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fraction of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil: A Pilot Study. *Bioremed J* 11 (2): 71-76.
- Misiira S, Jyot J, Kuiuad R.C, Lal B. 2001. Evaluation of Inoculum Addition to Stimulate in situ Bioremediation of oily-sludge-contaminated soil. *Appl Environ Microbiol* 67 (4): 1675-1681
- Mittal A, Singh P. 2009. Isolation of Hydrocarbon Degradaing Bacteria from Soils Contaminated with Crude Oil Spills. *Indian J Exp Biol* 47: 760-765.
- Munawar, Aditiawati P, Astuti DI. 2012. Sequential Isolation of Saturated Aromatic Resinic and Asphaltic Fractions Degrading Bacteria from Oil Contaminated Soil in South Sumatera. *Makara J Sci* 16 (1): 58-64.
- Munawar, Zaidan. 2013. Bioremediasi limbah minyak bumi dengan teknik biopile di lapangan Klamono Papua. *Sains & Matematika* 1 (2): 41-46
- Munawar. 1999. Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rhizosfir dari Hutan Bakau di Cilacap dalam Mendegradasi Residu Minyak. [Tesis]. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Sebiomo A, Bankole SA, Awosanya AO. 2010. Determination of the ability of microorganisms isolated from mechanic soil to utilise lubricating oil as carbon source. *African J Microbiol Res* 4 (21): 2257-2264.
- Sivaraman C, Ganguly A, Nikolausz M, Mutnuri S. 2011. Isolation of hydrocarbonoclastic bacteria from bilge oil contaminated water. *Int J Environ Sci Tech* 8 (3): 461-470.
- Sun R, Jin J, Sun G, Liu Y, Liu Z. 2010. Screening and degrading characteristics and community structure of a high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterial consortium from contaminated soil. *J Environ Sci* 22 (10): 1576-1585.
- Thouand G, Bauda P, Oudot J, Kirsch G, Sutton C, Vidalie JF. 1999. Laboratory evaluation of crude oil biodegradation with commercial or natural microbial inocula. *Can J Microbiol* 45 (2): 106-115.
- Tortora GC, Funke BR, Case CL. 2010. *Microbiology an introduction*. 10th ed. Pearson Benjamin Cummings. Toronto.
- Widjajanti H, Munawar, Nofiah. 2006. Isolasi, seleksi, dan karekterisasi bakteri hidrokarbonoklastik dari limbah cair kegiatan eksplorasi minyak bumi. *J Pengelolaan Lingkungan dan Sumberdaya Alam* 5 (4): 22-23