

Aplikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik asal Rizosfer Mangrove pada Tanah Tercemar Minyak Bumi

Application of Hydrocarbonoclastic Bacteria Isolates from Mangrove Rhizosphere on Petroleum Polluted Soil

Nuni Gofar^{1,2*)}

¹Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya

²Pusat Unggulan Riset Pengembangan Lahan Suboptimal (PUR-PLSO) Unsri

*)Penulis untuk korespondensi: Tel./Faks. +62711352879, email: nigofar@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was aimed at studying the ability of hydrocarbonoclastic bacteria to reduce total petroleum hydrocarbon of petroleum polluted soil. The hydrocarbonoclastic bacteria were isolated from rhizosphere of mangrove grown on petroleum contaminated soil in Sungsang, Sumatra Selatan. The samples were taken using a defined sampling method from the oil contaminated areas. Soil samples around the roots of mangrove plants were randomly taken in the contaminated area. Isolates obtained from the isolation and selection of bacteria from mangrove forests were overhauled at the laboratory-scale using oil-enriched medium following a completely randomized design. Nine isolates of hydrocarbonoclastic bacteria were found to be capable of growing on petroleum contained medium in vitro. Two best isolates in degrading petroleum hydrocarbon compound were *Pseudomonas alcaligenes* (I₅) and *Alcaligenes faecalis* (I₈). *P. alcaligenes* and *A. faecalis* were able to decrease TPH up to 63% and 70% respectively. The ability of these isolates in degrading hydrocarbon compound was 6.5-7.0 times higher than the control.

Key words: hydrocarbonoclastic bacteria, hydrocarbon compounds, mangrove

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mempelajari kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik asal rizosfer mangrove dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak bumi. Bakteri hidrokarbonoklastik diisolasi dari rizosfer mangrove yang tumbuh pada tanah terkontaminasi minyak bumi di daerah Sungsang Sumatera Selatan. Contoh tanah sumber bakteri hidrokarbonoklastik diambil dari rizosfer mangrove secara acak pada area yang terkontaminasi minyak bumi. Isolasi dan seleksi bakteri hidrokarbonoklastik dilakukan pada skala laboratorium menggunakan media yang diperkaya dengan minyak bumi. Isolat-isolat berkemampuan tumbuh pada medium mengandung minyak bumi diaplikasikan pada tanah tercemar minyak bumi dengan rancangan acak lengkap. Ditemukan 9 isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu tumbuh pada medium mengandung minyak bumi secara in vitro. Dua isolat terbaik dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi adalah *Pseudomonas alcaligenes* (I₅) dan *Alcaligenes faecalis* (I₈). *P. alcaligenes* dan *A. faecalis* mampu menurunkan TPH berturut-turut sebesar 63 dan 70%. Kemampuan kedua isolat dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon 6,5-7,0 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Kata kunci: Bakteri hidrokarbonoklastik, senyawa hidrokarbon, mangrove

PENDAHULUAN

Ekosistem mangrove merupakan daerah peralihan antara darat dan laut yang terdapat di sepanjang pantai yang terlindung dan muara sungai. Selain mengalami penurunan luas, hutan mangrove juga mengalami penurunan kualitas lingkungan akibat pencemaran, salah satunya pencemaran minyak akibat eksplorasi minyak bumi. Untuk menanggulangi masalah pencemaran minyak bumi di kawasan mangrove, teknologi yang direkomendasikan adalah teknik bioremediasi yang memanfaatkan bakteri hidrokarbonoklastik (Mangkoedihardjo, 2005). Bakteri tersebut mampu menggunakan PAH (*polycyclic aromatic hydrocarbon*) sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi selama proses bioremediasi tanah tercemar minyak bumi dan mendegradasinya secara lengkap hingga terbentuk senyawa akhir yang stabil dan tidak beracun (Zam, 2006) serta karbondioksida dan air (Ling, 2006).

Kelompok bakteri merupakan agens bioremediasi yang banyak digunakan terutama karena bakteri memiliki kecepatan reproduksi yang tinggi dan bakteri merupakan kelompok mikroba yang mudah beradaptasi dengan lingkungan, sehingga memungkinkan dapat menggunakan residu minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi (Koswara, 2003; Foght, 2008).

Menurut Desai dan Vyas (2006), mikroba pendegradasi hidrokarbon secara alami terdapat dimana-mana dan relatif lebih tinggi jumlahnya pada tanah tercemar minyak bumi dibandingkan pada tanah tidak tercemar. Hasil penelitian Gofar *et al.* (2011) telah menemukan 3 isolat kapang hidrokarbonoklastik indigen asal hutan mangrove Sumatera Selatan tercemar minyak bumi yang terbukti mampu mendegradasi minyak bumi secara *in vitro*. Ketiga isolat tersebut diidentifikasi sebagai *Aspergillus fumigatus*, *A. Parasiticus*, dan *Chrysonilia sitophila*. Selain kapang, eksplorasi bakteri hidrokarbonoklastik asal rizosfer tanaman mangrove Sumatera

Selatan yang tercemar minyak bumi penting juga dilakukan untuk mengetahui potensi bakteri indigen dalam merombak minyak bumi. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk mempelajari kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik asal rizosfer mangrove dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak bumi perlu dilakukan. Dari isolasi dan pengujian kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik dalam merombak minyak bumi yang mencemari tanah diharapkan akan diperoleh isolat-isolat bakteri yang berkemampuan tinggi merombak hidrokarbon minyak bumi dan memperkaya keanekaragaman hayati yang bermanfaat untuk menanggulangi pencemaran lingkungan.

BAHAN DAN METODE

Contoh tanah sumber isolat bakteri hidrokarbonoklastik diambil dari rizosfer tumbuhan mangrove asal areal pasang surut Kabupaten Banyuasin pada bulan Januari 2010. Sampel tanah sumber isolat diambil dengan metode *purposive sampling* dari rizosfer tumbuhan mangrove yang tumbuh di daerah tercemar minyak bumi. Contoh tanah tercemar minyak bumi untuk pengujian kemampuan isolat bakteri hidrokarbonoklastik diambil di desa Talang Jimar, Prabumulih pada kedalaman 0-20 cm. Aplikasi isolat bakteri hidrokarbonoklastik terpilih pada tanah tercemar minyak bumi berkadar 7,2% TPH (*total petroleum hydrocarbon*) dilakukan dalam percobaan pot menggunakan rancangan acak lengkap.

Sampel tanah asal rizosfer tanaman mangrove Sumatera Selatan ditimbang sebanyak 4,5 g dan disuspensikan dalam 45 mL medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) cair, lalu diinkubasi selama 5 hari pada suhu 30°C dengan laju pengocokan 100 rpm. Terhadap contoh tanah yang telah mengalami pengayaan ini dilakukan pengenceran sampai tingkat 10^{-6} . Dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} diambil sebanyak 1 mL, dicampur dengan medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) padat

dengan metode *pour plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 hari. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dan mempunyai ciri yang berbeda, dipindahkan pada medium nutrisi agar (NA) padat dalam cawan petri menggunakan jarum ose dengan cara goresan (*streak plate*) dan diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 5 hari. Selanjutnya koloni yang sudah murni diinokulasikan ke dalam medium Zobell miring untuk penyimpanan.

Isolat bakteri yang diperoleh diseleksi berdasarkan kemampuan mendegradasi residu minyak bumi dalam dua tahap, yaitu: Seleksi tahap I: Isolat-isolat bakteri yang telah murni diinokulasikan pada medium Zobell padat dalam cawan Petri, kemudian kertas saring yang telah diolesi residu minyak bumi diletakkan di atas permukaan medium, kultur diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 hari. Tumbuhnya koloni isolat bakteri pada permukaan medium Zobell yang diolesi residu minyak bumi menunjukkan isolat tersebut mampu bertahan hidup dan tumbuh pada lingkungan yang mengandung residu minyak bumi. Seleksi tahap II: Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada seleksi tahap I diinokulasikan pada medium Soemarti cair dalam tabung reaksi dan ditambahkan residu minyak bumi sebanyak 0,3 mL, lalu diinkubasi pada *shaker incubator* (100 rpm) pada suhu 30°C selama 5 hari. Terbentuknya lapisan berwarna putih diantara fase media (cair) dan fase residu menunjukkan isolat tersebut tumbuh dan mempunyai kemampuan menggunakan residu minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi. Selanjutnya, isolat bakteri yang sudah diketahui mampu mendegradasi residu disebut sebagai isolat terpilih dan dibuat kultur persediaan dengan medium NA.

Kegiatan selanjutnya adalah pengujian kemampuan isolat bakteri hidrokarbonoklastik hasil isolasi pada tanah tercemar minyak bumi. Satu ose isolat bakteri hidrokarbonoklastik terpilih diinokulasi ke 10 mL medium NB, diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang.

Contoh tanah tercemar minyak bumi untuk pengujian ini disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Pencemaran tanah dengan minyak bumi steril dilakukan dengan konsentrasi 10% w/w tanah, yaitu 30 g minyak bumi dicampur dengan 270 g tanah dan diaduk rata. Bakteri pada media MB diinokulasikan masing-masing 0,5% v/v tanah yang telah dicemari tersebut, lalu diinkubasikan selama 1 bulan.

Peubah yang diamati dari percobaan ini adalah kadar TPH, persen biodegradasi senyawa minyak bumi, kadar CO₂ yang dilepas yang diamati pada 7, 14, 21 dan 28 hari inkubasi. Data dianalisis dengan sidik ragam rancangan acak lengkap dan dilanjutkan dengan uji BNT_{0,05}.

HASIL

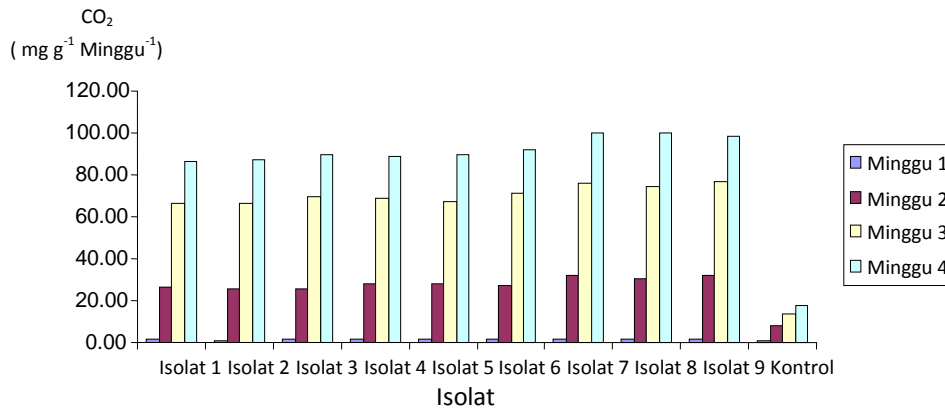
Diperoleh 30 isolat bakteri hidrokarbonoklastik asal rizosfer mangrove tercemar minyak bumi yang mampu hidup pada medium mengandung minyak bumi. Dari hasil seleksi dalam 2 tahap seperti yang dijelaskan dalam bahan dan metode, diperoleh sebanyak 9 isolat yang mampu mendegradasi minyak bumi (selanjutnya diberi kode I₁ sampai I₉), lalu yang dilanjutkan dengan pengujian kemampuan mendegradasi minyak bumi pada tanah tercemar minyak bumi.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa inokulasi isolat bakteri hidrokarbon pada tanah tercemar minyak bumi berpengaruh nyata terhadap pelepasan CO₂. Pengaruh aplikasi bakteri hidrokarbonoklastik pada tanah tercemar minyak bumi terhadap rata-rata pelepasan CO₂ minggu disajikan dalam Tabel 1. Adapun total produksi CO₂ yang dihasilkan pada 1, 2, 3, dan 4 minggu setelah inkubasi disajikan pada Gambar 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pelepasan CO₂ berkisar 6,5 sampai 7 kali akibat inokulasi berbagai bakteri hidrokarbonoklastik dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, peningkatan produksi CO₂ terlihat jelas pada minggu ke-2 dan ke-

3, terutama akibat inokulasi isolat 8 dan 9. Pada minggu ke-4 inkubasi, evolusi CO₂ mengalami penurunan yang disebabkan aktivitas bakteri dalam merombak minyak bumi mulai menurun. Peningkatan pelepasan CO₂ mengindikasikan aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik dalam merombak minyak bumi.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa inokulasi bakteri hidrokarbon berpengaruh nyata terhadap kadar TPH (Total Petroleum Hidokarbon). Rata-rata TPH pada tanah tercemar minyak bumi pada 2 dan 4 MSI (Minggu setelah inkubasi) disajikan pada Tabel 2. Pada pengukuran TPH minggu kedua terlihat

bahwa ke sembilan isolat menyebabkan penurunan TPH yang berbeda nyata terhadap kontrol. Kadar TPH paling rendah pada pengamatan minggu ke empat dijumpai pada tanah yang diaplikasi dengan isolat I₅ dan I₈. Pengaruh inokulasi isolat bakteri hidrokarbonoklastik pada tanah tercemar minyak bumi terhadap rata-rata persentase penurunan TPH mingguan jugadisajikan dalam Tabel 2. Terlihat pada Tabel 2 bahwa persentase penurunan TPH pada tanah tercemar yang diinokulasi isolat bakteri hidrokarbonoklastik jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (tanpa inokulasi).



Gambar 1. Produksi CO₂ akibat inokulasi berbagai isolat

Tabel 1. Pengaruh berbagai isolat bakteri hidrokarbonoklastik terhadap pelepasan CO₂ setiap minggu

Kode Isolat	Rata-rata minggu 1	Rata-rata minggu 2	Rata-rata minggu 3	Rata-rata minggu 4
mg CO ₂ kg ⁻¹ minggu ⁻¹			
I ₁	8,80 bc	17,62 b	40,16 bc	20,02 b
I ₂	8,03 b	17,20 b	41,30 c	20,32 b
I ₃	9,08 bc	16,80 b	43,68 d	20,16 b
I ₄	10,80 cd	17,06 b	41,14 b	19,67 b
I ₅	10,78 cd	17,06 b	39,20 b	22,56 cd
I ₆	9,75 bcd	17,20 b	44,01 d	20,65 bc
I ₇	11,88d	19,88 c	44,17 d	23,85 de
I ₈	8,80 bc	21,21 c	44,50 d	25,13 e
I ₉	10,80 cd	21,21 c	44,96 d	21,44 bc
K	3,87 a	3,99 a	5,90 a	3,99 a
Uji BNT 0.5	2,7	1,6	1,5	2,1

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf uji 5%.

Tabel 2. Rata-rata kadar TPH (%) tanah tercemar minyak bumi pada 2 dan 4 MSI

Kode isolat	TPH (%) pada		Biodegradasi TPH (%)	
	2 MSI	4 MSI	2 MSI	4 MSI
I ₁	4,25 a	3,85 ab	41,0	46,5
I ₂	3,75 a	3,16 ab	48,0	56,1
I ₃	4,50 a	4,23 b	37,5	41,2
I ₄	4,43 a	3,83 ab	38,5	46,8
I ₅	3,60 a	2,68 ab	50,0	63,0
I ₆	3,71 a	3,16 ab	48,5	56,1
I ₇	4,04 a	3,16 ab	43,9	56,1
I ₈	3,81 a	2,18 a	47,1	70,0
I ₉	4,32 a	4,15 ab	40,0	42,4
K	6,78 b	6,50 c	5,8	9,7
BNT _{0,05}	1,31	2,08		

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada uji BNT_{0,05}.

PEMBAHASAN

Produksi CO₂ pada tanah tercemar minyak bumi akibat inokulasi berbagai isolat bakteri hidrokarbonoklastik lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol pada setiap minggu. Gas CO₂ yang diukur merupakan hasil perombakan senyawa minyak bumi oleh bakteri hidrokarbonoklastik. Menurut Leahy dan Colwell (1990), hasil proses biodegradasi senyawa hidrokarbon kompleks umumnya berupa CO₂ dan metana yang kurang berbahaya dibandingkan minyak pada konsentrasi yang sama serta senyawa sederhana lainnya. Proses pemecahan rantai hidrokarbon oleh bakteri dapat berlangsung karena adanya reaksi enzimatis. Menurut Fritsche dan Hofritchter (2009), kebanyakan bakteri memproduksi enzim oksigenase sehingga dapat mendegradasi hidrokarbon. Hal ini disebabkan kemampuan bakteri mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikan hidrokarbon sebagai donor elektronnya untuk selanjutnya mendegradasi hidrokarbon menjadi H₂O dan CO₂.

Peningkatan CO₂ tertinggi terjadi pada minggu ketiga dan setelah minggu keempat pelepasan CO₂ menurun kembali (Gambar 1). Menurut Noegroho (1999), penurunan produksi CO₂ sejalan dengan lamanya waktu inkubasi, akibat

menurunnya kadar minyak bumi sumber karbon.

Laju penurunan TPH tinggi pada 2 minggu pertama setelah inkubasi dan selanjutnya menurun pada 4 minggu setelah inkubasi (Tabel 2). Menurut Walker dan Colwell (1974) dalam Nugroho (2006), keanekaragaman dan kelimpahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di alam memiliki hubungan yang linear dengan peningkatan kadar polusi hidrokarbon. Isolat bakteri hidrokarbon dapat memanfaatkan minyak bumi sedemikian rupa sehingga kelimpahannya semakin meningkat. Dengan demikian, proses degradasi hidrokarbon berlangsung efektif yang dibuktikan dengan semakin tingginya persentase degradasi. Senyawa hidrokarbon yang tertumpah di alam mengalami degradasi secara alamiah karena faktor-faktor lingkungan, meskipun laju degradasinya berlangsung lambat. Pada penelitian ini, tanah tercemar minyak bumi yang tidak diinokulasi dengan bakteri hidrokarbonoklastik masih mengalami proses degradasi, namun laju degradasinya lebih lambat dibandingkan jika diinokulasi dengan bakteri hidrokarbonoklastik. Setelah 4 minggu masa inkubasi, persentase penurunan TPH pada kontrol rata-rata hanya 9,72% sedangkan penurunan TPH pada 4 minggu masa inkubasi berkisar antara 41-70%.

Minyak bumi mengandung ratusan komponen senyawa karbon tergantung daerah asalnya, baik berupa rantai alifatik, aromatik, dan senyawa non hidrokarbon seperti naftenat, fenol, tiol dan senyawa sulfur (Lestari, 2003). Perubahan senyawa karbon rantai panjang tersebut menjadi senyawa rantai pendek dan pelepasan CO₂ disebabkan aktivitas bakteri yang diinokulasikan.

Sebelum inokulasi isolat bakteri hidrokarbon, kandungan TPH awal tanah tercemar minyak bumi adalah 7,2%. Setelah 2 dan 4 MSI, terjadi penurunan kadar TPH pada semua perlakuan, termasuk kontrol. Penurunan TPH disebabkan karena bakteri hidrokarbon memerlukan minyak bumi sumber karbon sebagai sumber energi untuk aktivitasnya. Pada 2 dan 4 MSI, semua isolat mampu menurunkan kadar TPH secara nyata dibanding kontrol. Dari Tabel 1 dan Tabel 2, isolat bakteri hidrokarbonoklastik terbaik dalam menurunkan TPH adalah I₅ dan I₈ mampu mendegradasi minyak bumi 6,5 kali (65%) untuk isolat I₅ dan 7 kali (70%) untuk isolat I₈ dibandingkan dengan kontrol.

Terhadap isolat bakteri I₅ dan I₈ yang terbukti berkemampuan tinggi menurunkan kadar TPH dilakukan karakterisasi dan identifikasi. I₅ teridentifikasi sebagai *Pseudomonas alcaligenes* dengan ciri morfologi sel berbentuk batang, gram negatif, tidak menghasilkan spora, dan tidak motil. Dari hasil uji biokimia, terjadi reaksi positif pada hidrolisis pati, memproduksi katalase, bereaksi positif pada uji TSI, simmon's sitrat dan reduksi nitrat. I₈ teridentifikasi sebagai *Alcaligenes faecalis* dengan ciri morfologi mikroskopis sel berbentuk bulat, gram negatif, dan tidak menghasilkan spora serta bersifat motil. Hasil uji biokimia menunjukkan bakteri ini mampu menghidrolisis kasein, bereaksi positif terhadap uji metil merah dan uji Simmon's sitrat. Kedua bakteri tergolong bakteri aerobik. Menurut Foght (2008), bakteri aerobik berpotensi lebih baik dibandingkan bakteri anaerobik dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.

Penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Ramsay *et al.* (2000), Ibrahim *et al.* (2008) dan Widjajanti (2012) yang menemukan isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi dari kawasan mangrove yang berasal dari genus *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Bacillus* dan *Enterobacter*. Widjajanti *et al.* (2010) berhasil mengisolasi 16 spesies bakteri pendegradasi minyak bumi yang berpotensi sebagai agen bioremediasi, yaitu *Alcaligenes eutropus*, *Bacillus cereus*, *B. firmus*, *B.licheniformis*, *B. polymyxa*, *Enterobacter agglomerans*, *Flavobacterium thalophilum*, *Pseudomonas alcaligenes*, *P. aureofaciens*, *P. epacia*, *P. diminuta*, *P. mendocina*, *P. pseudomallei*, *P. saccharophila* dan *P. syringae*. Fritsche dan Hofritchter (2009) mengungkapkan bahwa bakteri yang dominan dalam biodegradasi hidrokarbon alifatik, hidrokarbon aromatik, hidrokarbon polisiklik aromatik, dan senyawa terklorinasi lainnya adalah dari genus *Pseudomonas*, *Alcaligenes* dan *Bacillus*.

KESIMPULAN

Ditemukan 9 isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu tumbuh pada medium mengandung minyak bumi secara in vitro. Dua isolat terbaik dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi adalah *Pseudomonas alcaligenes* (I₅) dan *Alcaligenes faecalis* (I₈). *P. alcaligenes* dan *A. faecalis* mampu menurunkan TPH berturut-turut sebesar 63 dan 70%. Kemampuan kedua isolat dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon 6,5-7,0 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Nasrul Harahap sebagai mahasiswa yang membantu dalam pengumpulan data untuk penelitian dan penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Desai A, Vyas P. 2006. Applied Microbiology: Petroleum and hydrocarbon microbiology. Dept. of Microbiology, M.S. Univ. of Baroda, Vadodara.
- Foght J. 2008. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbon: Pathways and prospects. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 15: 93-120.
- Fritsche W, Hofrichter M. 2009. An aerobic degradation by microorganisms. [Http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf](http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf) f. 02/05/2009.
- Gofar N. 2011. Characterization of petroleum hydrocarbon decomposing fungi isolated from mangrove rhizosphere. *J. of Tropical Soils.* 16(1): 39-45.
- Ibrahim ML, UJJ Ijah, SB Manga, AB Rabah. 2008. Occurrence of hydrocarbon utilizing bacteris in the rhizosphere of *Eucalyptus camaldulensis*, *Lablab purpureus* and *Moringa oleifera*. *Int. J. of Pure and Appl. Sci.* 2(3): 21-26.
- Koswara A. 2003. Kemampuan isolat bakteri dari tanah tercemar pelumas dalam Mendegradasi pelumas bekas. Tesis pada Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) ITB, Bandung (tidak dipublikasikan).
- Leahy JG, Colwell RR. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. *Microbiological Rev:* 305-315.
- Lestari Y. 2003. Bioremediasi lahan terkontaminasi senyawa hidrokarbon. *Prosiding seminar Bioremediasi dan REhabilitasi Lahan Skitar Perminyakan dan Pertambangan.* Forum Bioremediasi IPB, Bogor.
- Ling GC. 2006. Biodegradation ability and community structure of bacteria in mangrove sediment contaminated by Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Doctor of Phylosophy Dissertation. City Univ. of Hongkong.
- Mangkoedihardjo S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak. Seminar Nasional Teori dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS, Surabaya. p. 1-9.
- Noegroho H. 1999. Pengaruh aerasi pada bioproses limbah kilang minyak. Lembaran Publikasi Lemigas, Jakarta.
- Nugroho A. 2006. Biodegradasi *sludge* minyak bumi dalam skala mikrokosmos. *Makara Teknologi.* 10(2): 82-89.
- Ramsay MA, RPJ Swannells, WA Shipton, NC Duke and RT Hill. 2000. Effect of bioremediation on the microbial community in oiled mangrove sediments. *Marine Pollution Bull.* 41: 413-419.
- Widjajanti H, I Anas, N Gofar and MR Ridho. 2010. Screening of petroleum hydrocarbons degrading bacteria as a bioremediating agents from mangrove areas. *Proceeding of International Seminar, workshop on integrated lowland development and management.* ISBN no. 978-979-25-8652-7. March 18-20, 2010.
- Widjajanti H. 2012. Bioremediasi minyak bumi menggunakan bakteri dan kapang hidrokarbonoklastik dari kawasan mangrove tercemar minyak bumi. [Disertasi] Program Doktor Ilmu Pertanian PPs Universitas Sriwijaya (tidak dipublikasikan).
- Zam SI. 2006. Bioremediasi Limbah Pengilangan Minyak Bumi PERTAMINA UP II Sungai Pakning dengan Menggunakan Bakteri Indigen. [Tesis]. Program Studi Bioteknologi Institut Teknologi Bandung, Bandung (tidak dipublikasikan).