

**Analisis Kemampuan Biodegradasi Hidrokarbon Petroleum Oleh Isolat Bakteri Laut Dari Kolom Air Pelabuhan Paotere Makassar Secara *In Vitro***

**Asrianty Mas'ud**

*Program Studi Pendidikan Biologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung  
email: anthyhanah@gmail.com*

**Abstrak**

Telah dilakukan penelitian tentang analisis kemampuan biodegradasi hidrokarbon petroleum oleh isolat bakteri laut dari kolom perairan pelabuhan Paotere Makassar secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan biodegradasi hidrokarbon petroleum secara kuantitatif oleh isolat bakteri laut dari kolom air di Pelabuhan Paotere, Makassar. Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu isolasi bakteri pendegradasi dan kuantitatifikasi biodegradasi hidrokarbon. Terdapat 3 (tiga) jenis isolat yaitu isolat A berbentuk batang (Gram negatif), isolat B berbentuk bulat (Gram negatif), dan isolat C berbentuk bulat (Gram positif). Kemampuan biodegradasi hidrokarbon dari ketiga isolat berturut-turut tertinggi adalah isolat B (83,91%), isolat A (80,53%) dan isolat C (72,86%).

*Kata kunci: Biodegradasi, Bioremediasi, Hidrokarbon, Minyak Bumi*

***Biodegradation Capability Analysis of Petroleum Hydrocarbon by Marine Bacteria Isolate From Territorial Water Column of Paotere Port Makassar as In Vitro***

**Abstract**

The research about the biodegradation capability analysis of petroleum hydrocarbon by marine bacteria isolate from territorial water column of Paotere port Makassar as *in vitro* was conducted. The aim of this research was to know the biodegradation capability of petroleum hydrocarbon quantitatively by marine bacteria isolate from water column in Paotere port, Makassar. This research consist of two phases of working, those are characteristic of hydrocarbon degraded bacteria and quantitative process of hydrocarbon biodegradable from degraded bacteria. The result shows there are three different isolates ; isolate A in bacilli shape (Gram negative), isolate B in coccus shape (Gram negative), and isolate C in coccus shape (Gram positive) and the capability to degrading hydrocarbon from the highest respectively are isolate B (83,91%), isolate A (80,53%), and isolate C (72,86%).

*Keywords: Biodegradation, Bioremediation, Hydrocarbon, Crude Oil*

**PENDAHULUAN**

Kebutuhan energi aktivitas kehidupan manusia masih berlanjut menggunakan sumber energi hidrokarbon (fosil) yang bersumber dari minyak bumi. Berbagai kegiatan eksplorasi, eksploitasi, transportasi, penyimpanan, dan pengolahan serta distribusi minyak bumi maupun minyak olahan masih sering menimbulkan dampak negatife berupa kebocoran dan/atau tumpahan minyak ke lingkungan. Dalam mata rantai eksploitasi sampai pada distribusi minyak bumi melalui lingkungan

laut, menimbulkan berbagai dampak. Dampak tersebut antara lain tumpahan minyak bumi di laut, yang menimbulkan pencemaran multidimensi terhadap makhluk hayati laut, perikanan, dan turisme, yang pada gilirannya mengakibatkan kerusakan laut yang serius (Edwards and White, 1999). Akibat terjadinya berbagai kebocoran dan/atau tumpahan minyak bumi diperairan laut maka usaha penanggulangan terus dilakukan walaupun belum intensif.

Minyak bumi dan produknya yang telah mengalami olahan mengandung berbagai senyawa kompleks hidrokarbon yang mempunyai ribuan variasi senyawa. Keragaman senyawa hidrokarbon yang terkandung dalam minyak bumi menghasilkan keragaman kualitas fisik kimia. Komposisi dan karakteristik minyak bumi telah dideskripsikan secara rinci oleh berbagai ahli antara lain Jokuty, *et al* (2000). Pengetahuan mengenai karakteristik minyak bumi, dan karakteristik lingkungan laut, adalah prasyarat untuk dapat memprediksi sifat tumpahan minyak bumi di laut dan perlakuan pemulihan pencemarannya. Keragaman karakteristik minyak bumi dan pengalaman kejadian pencemaran minyak bumi di laut menunjukkan bahwa metodologi pemulihan pencemaran bersifat "site-specific" (Xueqing, 2001). Dalam upaya pemulihan pencemaran minyak bumi di laut diperlukan suatu metode yang tepat untuk mengatasi masalah pencemaran oleh petroleum pada daerah kolom air laut, salah satunya dapat dengan proses biodegradasi (Cohen, 2002).

Biodegradasi hidrokarbon merupakan proses biologis yang aktif dan kompleks, yang aspek kualitatif dan kuantitatifnya tergantung kepada sifat alami dan jumlah hidrokarbon, kondisi lingkungan, dan komponen komunitas mikroba (Leahy and Colwell, 1990; Nicholson *et al.*, 1992).

Bioremediasi merupakan teknik yang potensial untuk mengatasi daerah terkontaminasi bahan pencemar (Blasco *et al.*, 1997; Laine and Jorgensen, 1996). Teknologi bioremediasi menggunakan mikroorganisme untuk mengolah minyak bumi melalui mekanisme biodegradasi alamiah atau meningkatkan mekanisme biodegradasi alamiah dengan menambahkan mikroorganisme, nutrient, donor electron dan/atau akseptor elektron (USEPA, 2001). Mikroorganisme yang digunakan untuk bioremediasi dapat mendegradasi hidrokarbon menjadi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dan air (H<sub>2</sub>O) sebagai hasil akhir (Atlas, 1992).

Proses penanggulangan polusi oleh senyawa hidrokarbon dapat dilakukan dengan cara fisik seperti penjarangan lapisan minyak yang mengapung, pengendapan, dan penyaringan serta evaporasi. Sedangkan penanggulangan dengan cara kimiawi dapat dilakukan dengan menambahkan bahan kimia sebagai pengemulsi (surfaktan) yang menimbulkan terjadinya emulsifikasi. Kedua cara tersebut masih belum efisien karena hanya merubah wujud dari bahan pencemar dan dapat menghasilkan produk yang berbahaya (Husain, 2006). Oleh karena itu, penanggulangan secara biologis dengan menggunakan mikroorganisme dianggap lebih aman karena senyawa tersebut digunakan oleh mikroorganisme dalam pertumbuhannya (Husain, 2006).

## **METODE PENELITIAN**

### **Teknik Ekstraksi Hidrokarbon**

Mengambil sampel yang berasal dari kultur II sebelum diekstraksi sebanyak 50 ml, selanjutnya ditambahkan dengan CHCl<sub>3</sub> dan methanol-KOH 0,5 N masing-masing sebanyak 100 ml. Sampel yang telah difluks selama 3-4 jam didinginkan lalu disaring dengan menggunakan corong Buchner. Kemudian filtrat dipisahkan dengan menggunakan corong pisah sebanyak 3 kali (setiap penyaringan ditambahkan kloroform sebanyak 10 ml). Filtrat dievaporasi dengan rotavapor hingga kering lalu ditimbang beratnya. Hasil ekstraksi berupa Ekstrak Bahan Organik (EBO).

### Analisa Biodegradasi Secara Kuantitatif

Ekstrak Bahan Organik (EBO) yang telah ditimbang beratnya, dihitung persentase biodegradasinya.

### Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan melakukan penggolongan bakteri, menghitung nilai absorbansi dan kemampuan isolat bakteri mendegradasi secara kuantitatif .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon (Petroleum)

#### Tahap Kultur I

Setelah pertumbuhan bakteri pada masa prakultur I kemudian diinokulasikan ke medium fase kultur dengan menggunakan media yang sama dengan fase prakultur I. Pada tahap ini masa inkubasi yang diperoleh relatif lebih cepat dibandingkan dengan masa inkubasi pada masa prakultur I yaitu hanya 8x24 jam. Menurut Volk dan Wheeler (1993) dalam Idris (2005), bahwa bakteri dalam jumlah kecil pada lingkungan alam akan sukar untuk diisolasi, akan tetapi bila ditumbuhkan dalam substrat yang cocok serta lingkungan yang menunjang pertumbuhan mikroba terkait, maka pertumbuhan akan dapat berjalan optimal.

#### Pertumbuhan Bakteri pada Media Agar Padat

##### Pemisahan Koloni Bakteri yang Berbeda

Setelah pertumbuhan bakteri pada tahap kultur I, selanjutnya dilakukan penanaman bakteri pada media agar cawan. Hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan bakteri pendegradasi hidrokarbon berupa koloni yang benar-benar baik, murni dan terpisah. Pertumbuhan koloni tersebut dapat diamati pada gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni bakteri pada media agar padat yang ditambahkan petroleum.

#### Pemurnian Bakteri

Hasil dari karakterisasi koloni bakteri dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Karakteristik Koloni Isolat Bakteri

Isolat	Ciri Pertumbuhan			
	Elevasi	Tepi Koloni	Bentuk Koloni	Warna
A	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Putih susu
B	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>	<i>Circular</i>	Putih susu

C	Convex	Entire	Irregular	Putih susu
---	--------	--------	-----------	------------

Keterangan:

- *Circular* : bulat
- *Raised* : rata
- *Irregular* : tidak beraturan
- *Convex* : cembung
- *Undulate* : bergelombang
- *Entire* : rata

Tabel 2. Jenis isolat pada setiap stasiun pengambilan sampel.

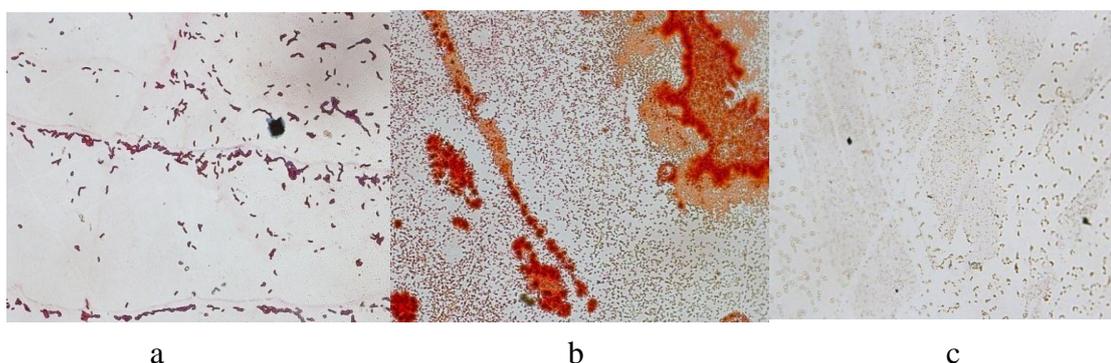
Stasiun		Jenis Isolat		
		A	B	C
I	1	√	-	√
	2	√	√	√
II	1	-	√	√
	2	-	√	√

### Identifikasi Bakteri Dengan Pengecatan Gram

Tabel 3. Karakteristik morfologi sel bakteri

Isolat	Morfologi Sel Bakteri	
	Bentuk Sel	Gram
A	Batang	Negatif
B	Bulat	Negatif
C	Bulat	Positif

Untuk lebih jelasnya bentuk sel dari ketiga isolat tersebut dicantumkan pada gambar 2 berikut:



Gambar 2. Hasil pengamatan gram dari ketiga isolat bakteri yang diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 1000x. Ket; a. Isolat A (Gram Negatif), b. Isolat B (Gram Negatif), c. Isolat C (Gram Positif).

Bakteri gram negatif mengandung lipid dengan persentase lebih tinggi daripada bakteri gram positif, selain itu dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis dari dinding sel bakteri gram positif. Pada

saat proses pewarnaan dengan pemberian cat kristal violet bakteri gram negatif tidak dapat mengikat dengan kuat cat utama sehingga saat pemberian alkohol menyebabkan lipid terekstraksi yang mengakibatkan besarnya daya rembes atau permeabilitas dinding sel gram negatif. Pada saat sel bakteri diberi cat lawan yaitu safranin maka sel akan menyerap cat tersebut yang mengakibatkan sel bakteri gram negatif akan berwarna merah (Pelczar dan Chan, 1986).

### **Uji Kapasitas Biodegradasi**

Menurut Harayama *et al* (1995) bahwa bakteri yang mampu mendegradasi seluruh komponen minyak bumi secara keseluruhan dapat diperoleh dengan tetap memanfaatkan komponen minyak bumi yang masih tersisa pada media pertumbuhan secara/dengan melanjutkan pertumbuhan secara lengkap dari bakteri yang sama.

#### ***Tahap Kultur II***

Adanya perubahan pada media kultur ini setelah beberapa hari inkubasi membuktikan adanya aktivitas pertumbuhan bakteri pada substrat (petroleum) yang diberikan. Kondisi kultur dari ketiga isolat bakteri dapat diamati pada *gambar 3*, 4 dan 5. Demikian pula pengamatan perubahan kondisi fisik dan kimia (emulsi) dari kultur dicantumkan pada Tabel 4. Pengamatan secara visual ini memungkinkan dapat meyakini dan memahami bahwa terjadi berbagai proses selama terjadi biodegradasi petroleum oleh bakteri secara *in vitro* (Husain, 2008; Husain dan Budi, 2007).



Gambar 3. Tahap Kultur II awal inkubasi 1x24 jam; Ket: K (Kontrol), A (Isolat A), B (Isolat B), C (Isolat C).



Gambar 4. Tahap Kultur II pada saat inkubasi 6x24 jam; Ket: K (Kontrol), A (Isolat A),

B (Isolat B), C (Isolat C).



Gambar 4. Tahap Kultur II akhir inkubasi 12x24 jam; Ket: K (Kontrol), A (Isolat A), B (Isolat B), C (Isolat C).

Tabel 4. Hasil pengamatan pada perubahan warna kultur dan kondisi substrat petroleum selama inkubasi.

Waktu Inkubasi (hari)	Isolat Bakteri	Pengamatan	
		Warna Kultur	Kondisi Petroleum
T0	A	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
	B	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
	C	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
	Kontrol	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
T1	A	Sedikit Keruh	Petroleum menyebar pada permukaan dan sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	B	Sedikit Keruh	Petroleum menyebar pada permukaan dan sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	C	Sedikit Keruh	Petroleum menyebar pada permukaan dan sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
T3	A	Kuning keruh	Petroleum banyak menyebar pada permukaan, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer.
	B	Putih keruh	Petroleum sedikit menyebar pada permukaan, banyak melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran
	C	Kuning keruh	Petroleum sedikit melekat pada dinding erlenmeyer, banyak membentuk butiran
	Kontrol	Bening	Petroleum yang masih utuh menyebar dipermukaan
T5	A	Krem	Petroleum sedikit berkurang, sebagian berada dipinggir, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer.

	B	Krem	Petroleum sedikit berkurang, sebagian berada dipinggir, banyak melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran, sedikit endapan.
	C	Krem	Petroleum sedikit berkurang, sebagian berada dipinggir, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran, sedikit endapan.
	Kontrol	Bening	Sebagian petroleum menyebar dipermukaan, dan sebagian lagi melekat pada dinding erlenmeyer.
T7	A	Coklat muda	Petroleum hampir sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran.
	B	Coklat keruh	Petroleum hampir sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran, sedikit endapan.
	C	Coklat muda	Petroleum hampir sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer, membentuk butiran, sedikit endapan.
	Kontrol	Bening	Sebagian petroleum menyebar dipermukaan, dan sebagian lagi melekat pada dinding erlenmeyer.
T9	A	Coklat	Petroleum sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, butiran petroleum mengapung.
	B	Coklat	Petroleum sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, sedikit endapan.
	C	Coklat keruh	Petroleum sebagian berkurang, sebagian berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, sedikit endapan.
	Kontrol	Bening	Sebagian petroleum menyebar dipermukaan, dan sebagian lagi melekat pada dinding erlenmeyer.
T11	A	Coklat	Petroleum sebagian berkurang, sedikit berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, butiran petroleum banyak yang mengapung.
	B	Coklat	Petroleum sebagian berkurang, sedikit berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, banyak endapan.
	C	Coklat	Petroleum sebagian berkurang, sedikit

			berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, sedikit endapan.
	Kontrol	Bening	Sebagian petroleum menyebar dipermukaan, dan sebagian lagi melekat pada dinding erlenmeyer.
T12	A	Coklat tua	Petroleum sebagian berkurang, sedikit berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, butiran petroleum sedikit mengendap.
	B	Coklat tua	Petroleum sebagian berkurang, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, sedikit endapan.
	C	Coklat tua	Petroleum sebagian berkurang, sedikit berada dipinggir, sebagian petroleum yang melekat pada dinding terlepas dari dinding erlenmeyer karena terjadi emulsifikasi, membentuk butiran, sedikit endapan.
	Kontrol	Bening	Sebagian petroleum menyebar dipermukaan, dan sebagian lagi melekat pada dinding erlenmeyer.

Dari hasil pengamatan diatas, menunjukkan bahwa kemampuan bakteri dalam memanfaatkan petroleum yang ada sebagai sumber karbon mendukung aktifitas bakteri hidrokarbonokslatik. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna untuk tiap isolat yang pada awal inkubasi masih berwarna bening, kemudian setelah beberapa hari inkubasi (6 x 24 jam) kondisi kultur menjadi berubah warna dengan warna kultur menjadi coklat muda pada isolat A (Gambar 5). Hasil pengamatan pada tahap kultur 2 (Gambar 3 – 5) untuk isolat B pada awal inkubasi berwarna bening, dan semakin keruh (berwarna krem) pada saat inkubasi 6 x 24 jam. Perubahan warna pada kultur terus terjadi hingga akhir inkubasi 12 x 24 jam menjadi coklat tua. Demikian halnya pada isolat C yang mengalami perubahan kultur dari bening menjadi coklat tua hingga akhir inkubasi seperti yang terjadi pada kultur isolat A. Menurut Salle (1961) karakteristik yang mencolok dari sebagian besar bakteri laut yang dikultur adalah berwarna kuning hingga kecoklatan, merah muda dan hijau.

**Pengukuran Pertumbuhan Bakteri**

Hasil pengukuran serapan selama proses inkubasi yang berjangka waktu 288 jam (12 hari) tersebut dari masing-masing isolat bakteri dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon

Waktu Inkubasi (Jam)	Nilai Densitas Optik Bakteri Pada 610 nm		
	Isolat A	Isolat B	Isolat C
0 (T0)	0,027	0,023	0,027
24 (T1)	0,066	0,155	0,338

48 (T2)	0,388	0,421	0,469
72 (T3)	1	0,62	0,639
96 (T4)	1,302	1,046	0,639
126 (T5)	1,532	1,222	0,745
148 (T6)	1,398	1,532	1,097
160 (T7)	1,532	1,532	1,097
192 (T8)	1,699	1,699	1,532
216 (T9)	1,532	1,699	1,532
240 (T10)	1,699	1,699	1,699
264 (T11)	1,532	1,699	1,699
288 (T12)	1,532	1,699	1,699

### Uji Kuantitatif

Hasil penimbangan berat petroleum untuk uji kuantitatif untuk setiap isolat bakteri, dapat dilihat pada Tabel 6 dibawah ini:

Tabel 6. Hasil analisis kuantitatif biodegradasi petroleum jenis Angsi

Isolat	Berat Awal (Gram)	Berat Akhir (Gram)	B1-B2	Persentase Biodegradasi (%)
Kontrol	0,4282	0,4253	0,0029	-
A	0,4285	0,0805	0,3480	80,53%
B	0,4283	0,0660	0,3623	83,91%
C	0,4283	0,1133	0,3150	72,86%

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa hasil identifikasi bakteri dengan pengecetan Gram didapatkan bahwa isolat A (berbentuk batang) adalah bakteri Gram negatif dan isolat B (berbentuk bulat) merupakan bakteri Gram negatif, sedangkan isolat C (berbentuk bulat) termasuk golongan bakteri Gram positif. Pertumbuhan bakteri pada substrat hidrokarbon petroleum selama 12 hari (288 jam) menunjukkan isolat A dengan nilai densitas optik yaitu 1,532, isolat B diperoleh adalah 1,699, dan nilai untuk isolat C dengan densitas optik yang tertinggi yaitu 1,699. Kemampuan biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri pada pengujian secara kuantitatif terbesar terjadi pada isolat B yaitu 83,91%, selanjutnya pada isolat A yaitu 80,53% dan terendah pada isolat C yaitu 72,86%.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Atlas, Ronal M., 1995. *Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spill*. University of Louisville. USA.
- Blasco, R., M. Mallavarapu, R. Wittich, K.N. Timmis, and D.H. Pieper, 1997. *Evidence that formation of protoanemonin from metabolites of 4-chlorobiphenyl-cometabolizing microorganisms*. Journal Appl. Environ. Microbiol. Hal 30.
- Cohen, Y., 2002. *Bioremediation of Oil By Marine Microbial Mats*. journal Springer- Verlag and SEM. Hal 55-56.
- Edwards, R. and White, I., 1999. *The Sea Empress oil spill: environmental impact and recovery Proceedings of 1999 International Oil Spill Conference*. American Petroleum Institute, Washington DC.
- Harayama, and Vankateswaran k., 1995. *Sequential Enrichment Of Microbial Populations Exhibiting Enhanced Biodegradation Of Crude Oil*. can.j. Microbial.
- Husain, D.R., 2006. *Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas nautica Strain 617 Pada Hidrokarbon Tetradekana*. Jurnal Penelitian Enjiniring.
- Husain, D.R., 2006. *Teknologi Bioremediasi Untuk Penanggulangan Hidrokarbon Petroleum*. Jurnal Penelitian Enjiniring UNHAS. Makassar.
- Husain, D.R. dan Budi, P., 2007. *The Capacity Of Tropical Marine Bacteria In Biodegradation The Petroleum Hydrocarbon And N-Alkane Eicosane*. Makassar.
- Husain, D.R., 2008. *Protein, Lemak dan Karbohidrat Seluler Bakteri Laut Pseudomonas nautica 617 Selama Pertumbuhan Pada Hidrokarbon Tetradekana*. Jurnal Penelitian. Makassar.
- Jokuty, P., Whiticar, S.P., Wang, Z., Fingas, M., Lambert, P., Fieldhouse, B., dan Mullin, J., 2000. *A Catalogue of Crude Oil and Product Properties*. Environment Protection Service. Environment Canada. Ottawa. ON.
- Laine, M.M. and K.S. Jorgensen, 1996. *Straw compost and bioremediated soil as inocula for the bioremediation of chlorophenol-contaminated soil*. Journal Appl. Environ. Microbiol. Hal 21.
- Leahy, J.G dan Colwell, R.R., 1990. *Microbial Degradation of Hydrocarbon in The Environment*. Microbiology Review.
- Nicholson, F.D.K., S.L. Woods, J.D. Istok, and D.C. Peeks, 1992. *Reductive dechlorination of chlorophenols by a pentachlorophenol-acclimated methanogenic consortium*. Appl. Environ. Microbiol.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S., 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Salle, A.J., 1961. *Fundamental Principle Of Bacteriology*. Prof Of Bacteriology Universitas Of California. Los Angeles. Mcgrow. Hill Book Company inc. New york.
- United States Environmental Protection Agency. 2001. *Use of Bioremediation at Superfund Sites*. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati.