
Bioaugmentation Effect of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. Isolates on Lowering Used Lubricating Oil- Contaminated Soil pH

Mutia Dwi Herakasih*, Yuni Ahda

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang

mutiadwiherakasih08@gmail.com

ABSTRACT:The purpose of this study was to look at the effect of bioengineering on the pH value of used oil contaminated soil. This research was conducted from February to April 2018. This study used *Pseudomonas* sp. Isolates. and *Bacillus* sp. from previous research by Ahda and Fitri (2016). The bacterial formulations are *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp, and consortium. The number of bioaugmentation used in this study was 6 times the fermentation. Calculation of pH values is done once a week and carried out for 42 days of the study period. The results of this study indicate that bioaugmentation affects the pH value of used oil contaminated soil.

Keywords: Bioaugmentation of Bacillus sp., Pseudomonas sp., pH, Hydrocarbons.



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author and Universitas Negeri Padang.

1. PENDAHULUAN

Oli adalah salah satu turunan minyak bumi yang berkontribusi terhadap pencemaran lingkungan (Jayanthi *et al.*, 2015). Oli biasanya digunakan pada perbengkelan otomotif sebagai bahan pelumas pada mesin kendaraan. Sejauh ini, oli yang telah digunakan pada perbengkelan otomotif kurang dikelola dengan baik sehingga menjadi limbah yang dapat menimbulkan pencemaran lingkungan seperti pencemaran tanah (Brown *et al.*, 2017). Oli yang tercecer atau tumpah ke tanah mengakibatkan turunnya struktur dan produktivitas tanah (Shen *et al.*, 2016). Tanah yang tercemar oli ditandai dengan warnanya yang hitam, serta bau yang menyengat. Tanah yang terkontaminasi oli menyebabkan sulitnya tumbuhan hidup di atasnya

sebab sifat unsur hara yang terdapat pada tanah akan berkurang (Shen *et al.*, 2016). Selain itu oli yang merembes masuk kedalam tanah dapat menyebabkan tertutupnya suplai oksigen dan meracuni mikroba tanah sehingga mengakibatkan kematian mikroba tersebut (Adamsk *et al.*, 2017).

Kasus pencemaran hidrokarbon pada tanah tercemar oli bekas ini telah mendorong banyak peneliti untuk mencari solusi yang tepat dalam menindaklanjuti kerusakan lingkungan yang berkelanjutan (Ebadi *et al.*, 2018). Metode pengelolaan lingkungan tercemar hidrokarbon yang banyak digunakan yaitu secara kimia dan fisika (Putri *et al.*, 2013). Metode ini sangat efektif untuk tujuan jangka pendek, namun membutuhkan banyak biaya dan menimbulkan dampak negatif pada lingkungan dan ekosistem (Dashti *et al.*, 2015). Untuk itu perlu dicari cara penanggulangan pencemaran hidrokarbon yang tidak berbahaya dan relatif lebih murah. Bioremediasi merupakan salah satu alternatif penanggulangan pencemaran hidrokarbon yang ramah lingkungan. Bioremediasi adalah teknik pemulihan lingkungan secara biologi dengan memanfaatkan organisme untuk mengurai atau menyerap bahan kontaminasi yang berbahaya menjadi produk yang tidak berbahaya seperti karbondioksida dan air (Solomon *et al.*, 2011). Bioremediasi menjadi suatu proses yang memiliki arti penting bagi rehabilitasi lingkungan yang tercemar oleh oli bekas (Ghaly *et al.*, 2013).

Salah satu jenis bioremediasi adalah bioaugmentasi. Bioaugmentasi merupakan penambahan mikroorganisme alami ataupun yang telah direkayasa secara genetik ke lingkungan tercemar untuk melengkapi populasi yang telah ada, dengan tujuan mempercepat laju pemulihan kontaminan tanah ataupun air (Garbisu, 2016).

Mikroorganisme yang memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon dikenal dengan istilah mikroorganisme hidrokarbonoklastik (Sayuti, 2015). Keberadaan mikroorganisme tersebut tersebar luas di alam (Mohanty *et al.*, 2013). Ahda dan Fitri (2016) telah berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon pada tanah tercemar oli bekas di kota padang. Adapun bakteri yang telah berhasil diisolasi yaitu *Bacillus* sp1, *Bacillus* sp2 dan *Alcaligenes* sp.

Pada saat proses degradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme hidrokarbonoklastik berlangsung, mikroorganisme tersebut akan menghasilkan metabolit-metabolit berupa asam - asam organik (terutama asam glukonat, piruvat, sitrat dan suksinat) yang terbentuk dari metabolisme gula (Gosalam *et al.*, 2008). Selain itu hidrokarbon yang berakhir didegradasi akan diubah menjadi asam lemak primer dan akan masuk ke jalur β - oksidasi dan membebaskan CO₂. Hal ini dapat mempengaruhi derajat keasaman (pH) tanah.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh bioaugmentasi isolat *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. yang telah berhasil diisolasi oleh Ahda dan Fitri tahun 2016 terhadap nilai pH pada tanah tercemar oli bekas.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dari Februari Sampai April 2018 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang. Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam faktorial.

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoclave, jarum inokulasi, tabung reaksi, shaker, *polybag*, pipet tetes, pipet volumetrik, kertas label, rak tabung reaksi, timbangan analitik, *sprayer*, inkubator, saringan diameter 2 mm, batang pengaduk, korek api, gunting, erlemeyer, aluminium foil, bunsen spiritus, *hot plate*, *vortex*, *Beaker glass*, spektrofotometer, pH meter, kapas, kain kasa, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *warping*, alkohol 70%, tanah subur, medium Nutrient Agar (NA), Mineral Salt Medium (MSM), Nutrient Broth (NB), oli bekas, kompos kotoran sapi, aquades, isolat bakteri *Bacillus* sp., dan bakteri *Pseudomonas* sp.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Pembuatan Media

Media yang digunakan ialah media *Nutrien Agar*, *Nutrien broth*, dan MSM (*mineral salt medium*). MSM dibuat dengan melarutkan *aquadest* dan bahan-bahan berikut: 1,2 g NH_4Cl ; 1,6 g K_2HPO_4 ; 0,4 g KH_2PO_4 ; 0,1 g NaCl ; 1 g KNO_3 ; 20 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,05 g FeCl_3 , 1 ml vitamin dan 1 ml larutan *trace elemen*. Larutan *trace elemen* mengandung bahan-bahan berikut per liter nya: 50 mg MnCl_2 ; 300 mg H_3BO_3 , 1,1 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 190 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 2 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 24 mg $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 18 mg $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 42 mg $\text{ZnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Masing masing bahan dilarutkan dengan *aquadest* sampai volumenya menjadi 1 liter, pH medium diatur sebesar 7,3 kemudian medium disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Medium ini digunakan sebagai medium pertumbuhan selektif bagi bakteri hidrokarbon.

2.2.2 Perbanyak Isolat Bakteri

Isolat bakteri yang diinokulasikan ke tanah tercemar oli bekas terlebih dahulu diperbanyak di laboratorium isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah

Pseudomonas sp. (B6), *Bacillus* sp. (E1) dan konsorsium kedua bakteri. Masing-masing isolat ditumbuhkan pada media Nutrient Agar (NA) selama 2 hari. Selanjutnya media *Nutrient Broth* (NB) digunakan untuk perbanyakan awal sel. Koloni tunggal bakteri yang tumbuh di media NA dipindahkan dengan ose ke media NB steril dalam erlenmeyer 30 ml kemudian di inkubasi di atas shaker dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37⁰ C selama 24 jam hingga mencapai fase eksponensial. Selanjutnya masing-masing kultur dipindahkan ke dalam 450 ml medium MSM.

2.2.3. Setting Bioaugmentasi

Tanah sebanyak 1000 gram ditempatkan dalam wadah berpori dan ditambahkan masing-masing 50 ml oli bekas, kemudian diaduk sampai homogen. Dalam hal ini konsentrasi oli bekas di tanah sebanyak 5%. Biarkan pada suhu ruang selama 48 jam untuk volatilisasi komponen-komponen racun minyak. Isolat bakteri kemudian ditempatkan dalam masing-masing wadah tanah yang terkontaminasi oli bekas sebanyak 43 ml. Kelembapan diatur sampai 60% kemampuan tanah menyerap air dan diinkubasi pada suhu ruang (28⁰C). Kontrol yang digunakan adalah tanah yang diberi oli bekas namun tidak ditambahkan isolat bakteri.

Pemberian isolat bakteri untuk B1 dilakukan hanya pada hari ke 0, untuk perlakuan B2 dilakukan pada hari ke 0 dan 7, untuk perlakuan B3 dilakukan pada hari ke 0,7 dan 14. Untuk B4 dilakukan pada hari ke 0,7,14,21. Untuk B5 dilakukan pada hari ke 0,7,14,21,28. Untuk perlakuan B6 dilakukan pada hari 0,7,14,21,28,dan 35.

2.2.4. Perhitungan pH

pH tanah diukur pada hari ke 7, ke 14, ke 21, ke 28 ke 35 dan hari ke 42. Pengukuran dilakukan dengan pH meter. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan *buffer* 4 dan 7. Pengukuran dilakukan dengan mengambil 1 gram sampel tanah perlakuan ditambahkan 9 mL akuades dengan pH 7. Sampel dan aquades dihomogenkan dengan menggunakan vorteks kemudian disaring. Sampel kemudian diukur dengan menggunakan pH meter.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan nilai pH dilakukan dalam waktu 42 hari. Nilai dari pH diukur pada hari ke 7, ke 14, ke 21, ke 28 ke 35 dan hari ke 42 hari. Data nilai pH disajikan sebagai berikut:

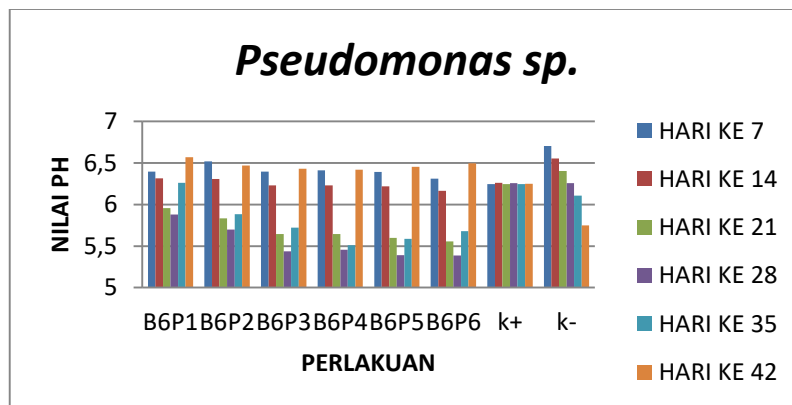
Data rata - rata nilai pH pada hari ke 7 samapai hari ke 42 dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Data rata - rata nilai pH pada hari ke 7 samapai hari ke 42

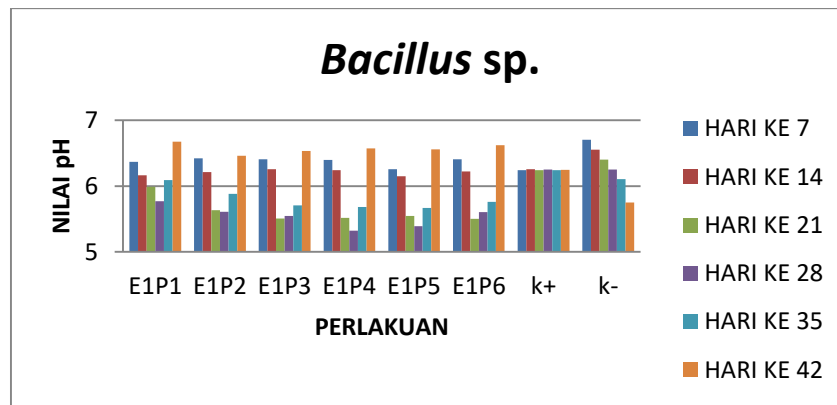
Waktu	Jenis bakteri	Bioaugmentasi
-------	---------------	---------------

		B1	B2	B3	B4	B5	B6
Hari Ke 7	<i>Pseudomonas sp.</i>	6,395	6,520	6,395	6,410	6,390	6,310
	<i>Bacillus sp.</i>	6,370	6,425	6,410	6,400	6,260	6,360
	Konsorsium	6.410	6,220	6,265	6,360	6,270	6,240
Hari Ke 14	<i>Pseudomonas sp.</i>	6,315	6,305	6,230	6,230	6,220	6,165
	<i>Bacillus sp.</i>	6,165	6,215	6,260	6,245	6,150	6,225
	Konsorsium	6.265	6,140	6,135	6,180	6,150	6,140
Hari Ke 21	<i>Pseudomonas sp.</i>	5,955	5,835	5,645	5,645	5,600	5,555
	<i>Bacillus sp.</i>	5,990	5,635	5,510	5,520	5,545	5,505
	Konsorsium	5,235	5,880	5,895	5,770	5,845	5,795
Hari Ke 28	<i>Pseudomonas sp.</i>	5,880	5,700	5,435	5,455	5,39	5,385
	<i>Bacillus sp.</i>	5,770	5,610	5,545	5,325	5,490	5,605
	Konsorsium	5,600	5,680	5,480	5,495	5,485	5,520
Hari Ke 35	<i>Pseudomonas sp.</i>	6,350	5,580	5,720	5,535	5,585	5,568
	<i>Bacillus sp.</i>	6,090	5,885	5,710	5,685	5,670	5,760
	Konsorsium	5,750	5,730	5,675	5,720	5,545	5,655
Hari Ke 42	<i>Pseudomonas sp.</i>	6,570	6,470	6,430	6,420	6,455	6,495
	<i>Bacillus sp.</i>	6,675	6,460	6,535	6,575	6,560	5,625
	Konsorsium	6,500	6,470	6,59	6,610	6,440	6,460

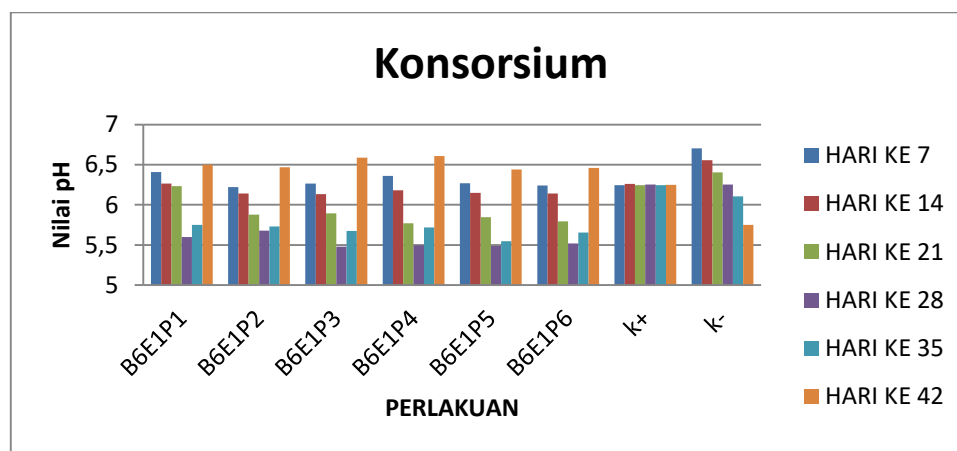
Gambar 1. grafik pH pada bioaugmentasi isolat *Pseudomonas sp.*



Gambar 2. grafik pH pada bioaugmentasi isolat *Bacillus sp.*



Gambar 2. grafik pH pada bioaugmentasi isolat konsorsium *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.*



Nilai pH untuk perlakuan B1 sampai B6 dari hari ke 7 sampai hari ke 21 cenderung mengalami penurunan kemudian mengalami kenaikan pH pada hari ke 28 sampai ke hari 42. Akan tetapi kecepatan penurunan nilai pH antar perlakuan berbeda-beda. Dari tabel dapat dilihat bahwa kecepatan penurunan nilai pH tercepat pada hari ke 7 adalah perlakuan konsorsium + bioaugmentasi 2 dengan nilai pH menjadi 6.220 dari pH awal sebelum didegradasi adalah 6,700 yang berarti kecepatan penurunan nilai pH nya adalah 0,48. Sedangkan pada hari ke 14 penurunan pH tercepat terjadi pada perlakuan *Pseudomonas sp* + bioaugmentasi 2 dengan nilai pH menjadi 6.305 dari pH pada hari ke 7 adalah 6,520 yang berarti kecepatan penurunan pH nya adalah 0,215. Pada hari ke 21 penurunan nilai pH tercepat terjadi pada perlakuan konsorsium + bioaugmentasi 1 dengan nilai pH menjadi 5,235 dari pH hari ke 14 adalah 6,265 yang berarti kecepatan turunnya nilai pH adalah 1,03. Pada hari ke 28 kenaikan nilai pH tercepat terjadi pada perlakuan konsorsium+ Bioaugmentasi 3 dengan nilai pH menjadi 5,580 dari pH pada hari ke 21 adalah 5,895 yang berarti kecepatan kenaikan nilai pH nya adalah 0,415. Pada hari ke 35 kenaikan nilai pH tercepat terjadi pada perlakuan *Pseudomonas sp.* + Bioaugmentasi 1 dengan nilai pH 6,350 dari pH dihari ke 28 adalah 5,580 yang berarti kecepatan kenaikan nilai pH nya sebesar 0,470. Pada

hari ke 42 kenaikan nilai pH tercepat terjadi pada perlakuan *Pseudomonas* sp + Bioaugmentasi 6 dengan nilai pH 6,495 dari pH pada hari ke 35 adalah 5,528 yang berarti kenaikan nilai pH nya sebesar 0,927.

Hasil analisis anova pada taraf 5% dinyatakan bahwa jenis bakteri, frekuensi bioaugmentasi dan interaksi antara jenis bakteri dengan jenis bakteri berbeda nyata pada taraf 5%. Berdasarkan data yang diperoleh jenis bakteri dan bioaugmentasi berpengaruh terhadap nilai pH tanah tercemar oli bekas. Jenis bakteri yang paling cepat menurunkan nilai pH adalah konsorsium *Pseudomonas* sp. dengan *Bacillus* sp. sedangkan jenis bakteri yang paling cepat menaikkan kembali nilai pH yang terlalu asam adalah *Pseudomonas* sp. Untuk pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH, bioaugmentasi mempengaruhi nilai pH tanah. Hal ini bisa dilihat pada tabel bahwa semakin banyak bioaugmentasi yang diberikan tanah cenderung semakin asam.

Dari tabel dan grafik di atas terlihat bahwa hasil pengukuran nilai pH selama 42 hari pengamatan menunjukkan bahwa nilai pH tanah tidak selalu bersifat asam. Nilai pH cenderung mengalami penurunan pada hari ke-7 sampai pada hari 28 kemudian pH mengalami kenaikan pada hari 35 sampai 42. Penurunan pH disebabkan oleh aktivitas bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam atau karena terakumulasinya asam organik (terutama asam glukonat, piruvat, sitrat dan suksinat) yang terbentuk dari metabolisme gula Gosalam *et al.*, (2008). Biodegradasi hidrokarbon khususnya alkana yang terdapat dalam minyak bumi akan membentuk alkohol dan selanjutnya menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga pH tanah turun (Prayitno, 2017). Nilai pH optimum yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam mendegradasi hidrokarbon berkisar 5,0 — 7,8 (Dibble, 1979) Hal itu disebabkan pada kisaran pH tersebut, zat-zat makanan bagi mikroorganisme mudah larut dalam air dan mengoptimalkan kerja enzim oksigenase yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam mendegradasi hidrokarbon.

Pada penelitian ini pH tanah awal sebelum didegradasi adalah 6,70. Penurunan nilai pH yang drastis diduga disebabkan proses bioaugmentasi yang menyebabkan semakin banyaknya metabolit asam yang dihasilkan oleh bakteri atau karena terakumulasinya asam organik (terutama asam glukonat, piruvat, sitrat dan suksinat) yang terbentuk dari metabolisme gula. Akan tetapi Peningkatan pH terjadi hari ke 35 dan 42. Rata rata nilai pH nya adalah 6,50. Hal ini diduga karena aktivitas mikroorganisme yang mulai beradaptasi dengan lingkungan asam dan berusaha mengembalikan keadaan lingkungan menjadi optimum dengan melakukan mekanisme pompa hidrogen. Gosalam *et al.* (2008) menyebutkan bahwa peningkatan

pH dapat disebabkan adanya perombakan protein oleh sel-sel bakteri yang telah mati atau perombakan gugus-gugus samping rantai hidrokarbon yang berikatan dengan gugus-gugus tertentu yang akan menghasilkan senyawa atau ion yang bersifat basa.

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nugroho, (2006) yang melakukan bioremediasi tanah tercemar minyak bumi, hasil penelitiannya menunjukkan nilai pH selama 150 hari penelitian tidak selalu dalam kondisi asam, peningkatan nilai pH terjadi pada hari ke-40 hingga hari ke-80 dengan rata-rata 5 dari 9 perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan nilai pH. Terjadinya peningkatan pH pada penelitian ini diduga disebabkan oleh adanya kemampuan bakteri dalam melakukan respon toleransi asam. Beberapa bakteri memiliki kemampuan untuk melakukan upaya homeostatis terhadap keasaman lingkungan sebatas masih dalam toleransi adaptasinya. Caranya dengan melakukan pertukaran kation K^+ dari dalam sel dan menukarnya dengan H^+ yang banyak terdapat di lingkungannya, sehingga keasaman lingkungan dapat dikurangi.

Sehubungan dengan proses bioaugmentasi yang dilakukan dapat dilihat bahwa teknik bioaugmentasi dalam mendegradasi oli bekas berpengaruh terhadap nilai pH tanah. Semakin banyak jumlah bioaugmentasi yang diberikan maka pH tanah akan menjadi asam, akan tetapi bakteri memiliki teknik pertahanan diri saat berada dalam lingkungan yang asam. Walaupun demikian mikroorganisme juga memiliki batas keasaman yang dapat di tolerir oleh mikroorganisme untuk bertahan hidup. Bakteri akan melakukan mekanisme pompa hidrogen untuk mengembalikan kondisi lingkungan kedalam kondisi optimum. Menurut (Zhu, 2001) Mayoritas mikroorganisme tanah akan tumbuh dengan subur pada pH antara 6 sampai 8.

4. KESIMPULAN

Bioremediasi tanah tercemar oli bekas dengan teknik bioaugmentasi memberikan pengaruh terhadap nilai pH tanah. Dimana semakin banyak jumlah bioaugmentasi yang diberikan akan membuat tanah semakin asam. Akan tetapi kemampuan dari mikroorganisme dapat menaikkan kondisi lingkungannya kembali menjadi normal dengan mekanisme pompa hidrogen. Jenis bakteri yang paling cepat dalam menurunkan nilai pH adalah konsorsium *Pseudomonas* sp. + *Bacillus* sp. sedangkan jenis bakteri yang paling cepat menaikkan pH tanah adalah isolat tunggal *Pseudomonas* sp.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan artikel ini. Terima kasih kepada Ibu Dr. Yuni Ahda M.Si, yang sudah

membimbing dalam pelaksanaan penelitian serta memberikan ide dan saran dalam penulisan artikel. Terima kasih kepada semua pihak yang telah ikut berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril maupun materiil demi lancarnya penelitian dan penulisan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, F. V., Niyamugobudo, A., Sylvetes, O. P. (2017) Bioremediation of crude oil contaminated soil using agriculturated wastes. *Procedia Manufacturing*. (8) 459-464.
- Ahda, Y., M, Azhar., L, Fitri, A, Afrida, G, S, Ahda, W, N, Alifa, D Handayani, D, H, Putri, Irdawati, M, Chatri. (2018). Biodegradation Capability Of Some Bacteria Isolates To Use Lubricant Oil In Vitro. *IOP Conf Series;Material Science and Enggineering* 335. 012134.
- Brown, D. L., Cologgi, K. F., Gee, A. C., Ulrich. (2017). Oil Spill Science and Technology (Second Edition). *Gulf Professional*. Pages 699-729.
- Dashti, N., Nedaa A., Majida K., Husain A., Naser S., Samir R. (2015). Olive Pomace Harbors Bacteria With The Potential For Hydrocarbon Biodegradation, Nitrogen-Fixation And Mercury Resistance: Promising material For Waste-Oil Bioremediation. *Journal of Environmental Management*. 155: 49-57.
- Dibble jt ., bartha r., (1979). Effect of Environmental parameters on the Biodegradation of oil sludge, *appl. Environ. Microbiol*, 37: 729 — 739.
- Ebadi A., Nayer, K.S., Mohsen, O., Maryam, H., Reza, G. N. (2018). Remediation Of Saline Soils Contaminated With Crude Oil Using The Halophyte *Salicornia Persica* In Conjunction With Hydrocarbon-Degrading Bacteria. *Journal of environmental management*. 219,260-268.
- Garbisu C., Olatz G., Lur E., Elisabeth G., Itziar A. (2017). Plasmid-Mediated Bioaugmentation for the Bioremediation of Contaminated Soils. *fronties of microbiology*. 8:1966.
- Ghally, A.E., Yusran, A., Dave, D. (2013). Effects of Biostimulation and Bioaugmentation on The Degradation of Pyrene in Soil. *Jurnal of bioremediation and biodegradation*.
- Gosalam, S., Akbar T., dan Silvana J.L. (2008). Uji Kemampuan Bakteri dari Perairan dalam Mendegradasi Senyawa Minyak Solar. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin*.

- Jayanthi, R & Hemashenpagam, N. (2015). Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading bacteria from oil contaminated soil samples. *International Journal Of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences*. Vol. V No. 2.
- Nugroho A. (2006). Biodegradasi sludge minyak bumi dalam skala mikrokosmos: Simulasi sederhana sebagai kajian awal bioremediasi land treatment, Universitas Trisakti, Jakarta.
- Mohanti, S, Jublee Jasmine, and SuparnaMukherji.2013. Practical Considerations and Challenges Involved in surfactant Enhanced Bioremediation of Oil. *BioMed Research International* Volume 2013, Article ID 328608, 16 pages
- Putri, M.D., Firdaus, A., Zulkifliani. (2013). Bioremediasi Tanah yang Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Metode Bioventing terhadap penurunan kadar petroleum hidrokarbon dan BTEX. Skripsi. UI.
- Prayitno, J. (2017). The Effectiveness of Microbial Consortia for Bioremediation of Oil-Contaminated Soil Using Bench-Scale Landfarming Technology. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. Vol. 18, No 2, Juli 2017, 208-215.
- Shen, W., Zhu, N., Cui, J., Wang, H., Dang, Z., Wu, P., Luo, Y., Shi, C. (2016). Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 124(2016)120–128.
- Solomon, E. P. Berg, L. R., Martin, D. W. (2011). Biology, ninth Edition. Boston : *Brooks/ Cole Publishing*.
- Zhu, X., A. D. Venosa, M. T. Suidan dan K. Lee.(2001). Guidelines For The Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands. U.S. *Environmental Protection Agency, Cincinnati*