

KEMAMPUAN ISOLAT TUNGGAL DAN KONSORSIUM AKTINOMISETES LOKAL RIAU DALAM MENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI

ABILITY OF SINGLE AND CONSORTIUM ACTINOMYCETES RIAU ON DEGRADATION OF CRUDE OIL

Novalita Dwi Fanny, Tetty Marta Linda*, Atria Martina

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau
Jl HR. Subrantas KM 12,5 Panam, Pekanbaru, Indonesia-28293

e-mail : novalitadwi.fanny@gmail.com; tria_mt05@yahoo.com

*correspondent author : tetty.martalinda@gmail.com

ABSTRACT

Pollution of crude oil on environmental can have an effect of nutrient uptake on plants and balance of ecosystems. Biodegradation. is one way to reduce petroleum pollution. The purpose of this research were determine the potential growth of actinomycetes local Riau (L11 and L121) in crude oil hydrocarbons at concentrations of 0%, 2%, 5% and to observe their ability to degrade crude oil hydrocarbons at concentrations of 5%. This research observed the growth of each actinomycetes local Riau and the percentage of crude oil degradation by a single isolate and a consortium with gravimetric method. The results showed that the growth of L11 and L121 total population was not significantly different at crude oil addition of 2% and 5% but significantly different from 0% (without crude oil). Test degradation of crude oil using single isolate gave significantly different results for the consortium isolates. Percentage of degradation crude oil by L11 was 23.5%, L121 was 19.2% and consortium isolate (L11 + L121) was 31.9% with an incubation time of 10 days in a minimum medium salts. These two actinomycetes local Riau can be developed as biodegradation agents for crude oil on soil and water.

Keywords: Actinomycetes, Biodegradation, Consortium, Crude Oil, Gravimetry

PENDAHULUAN

Eksplorasi, transportasi dan pengolahan minyak bumi memiliki potensi sebagai sumber pencemaran di lingkungan yang dapat mengkontaminasi udara, tanah dan air (Shahaby *et al*, 2015). Menurut Hu Guangji (2013), minyak bumi terdiri dari golongan alkana (40-52%), aromatik (28-31%), *asphaltenes* (8-10%) dan resin (7-22,4%). Pencemaran minyak bumi menyebabkan terakumulasinya senyawa hidrokarbon yang sulit untuk diuraikan di lingkungan (Latha *et al*, 2012), karena mengandung 50-95% senyawa hidrokarbon yang toksik dan dalam beberapa kasus bersifat karsinogenik terhadap tumbuhan, hewan maupun

manusia (Connell & Miller, 2011). Salah satu dampak pencemaran minyak bumi yaitu terjadinya gangguan penyerapan hara pada tanaman dan mempengaruhi keseimbangan ekosistem daratan (Prayitno *et al*, 2012). Banyak cara yang dilakukan untuk menghilangkan senyawa hidrokarbon minyak bumi yang tumpah di lingkungan baik secara fisika, kimia, maupun biologi. Salah satu alternatif yang lebih efektif, efisien, ekonomis dan ramah lingkungan adalah secara biologi yaitu biodegradasi (Baker & Herson, 2011).

Biodegradasi merupakan proses penguraian senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh aktifitas mikro-

organisme diantaranya dapat menggunakan jamur, bakteri dan aktinomisetes. Saat ini banyak peneliti yang menggunakan aktinomisetes pada proses degradasi minyak bumi, karena aktinomisetes diketahui menghasilkan enzim yang mampu menguraikan senyawa hidrokarbon minyak bumi seperti peroksidase, lakase oleh *Actinomyces viscosus* dan *Actinomyces israelii* (Folasade & Kevin, 2016), hidroksilase, oksigenase (Nilanjana & Preethy, 2011), lipase (Jayesree et al., 2014) oleh *Rhodococcus* sp. dan memiliki spora yang tahan terhadap kekeringan (Thampayak et al., 2008). Hasil penelitian Burghal et al., (2015), lima isolat aktinomisetes dari genus *Streptomyces* yang diisolasi dari tanah terkontaminasi hidrokarbon yaitu *Streptomyces variabilis*, *Streptomyces cellulosae*, *Streptomyces parvus*, *Streptomyces bacillaris*, *Streptomyces flavoviridis* mampu mendegradasi minyak mentah dengan presentase 52-72,3 % dalam *Mineral Salt Medium* dengan penambahan 1 % minyak mentah selama 10 hari inkubasi. Pertumbuhan mikroorganisme ditan- dai dengan peningkatan populasi dan pH media. Sesuai dengan penelitian Shekhar el al., (2014), bahwa *Streptomyces* sp. tumbuh baik dalam *mineral salt medium + 10 % minyak bumi* dengan total populasi 7,60 log cfu/mL selama inkubasi 10 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pertumbuhan isolat aktinomisetes lokal Riau dalam hidrokarbon minyak bumi pada konsentrasi 0 %, 2 %, 5 % dan mengetahui kemampuannya dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi pada konsentrasi 5 %.

METODE PENELITIAN

Peremajaan Isolat Aktinomisetes

Aktinomisetes yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium

Biologi FMIPA UR yang diisolasi dari tanah gambut di Desa Langkai Siak Riau. Isolat ditumbuhkan pada cawan petri yang berisi medium *Starch Casein Agar* (SCA) dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Isolat yang sudah tumbuh disimpan pada agar miring untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

Persiapan Inokulum

Isolat aktinomisetes yang sudah tumbuh pada medium SCA (Prapagdee et al. 2008) diambil masing - masing 4 disk dengan ukuran 6 mm, lalu dimasukkan ke dalam 100 mL medium SCB dan diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 30°C selama 3 hari. Selanjutnya kultur dibuat seri pengenceran hingga diperoleh inokulum sebanyak 10⁸ cfu/mL (Burghal et al., 2015). Inokulum digunakan untuk uji potensi pertumbuhan dan uji degradasi isolat aktinomisetes pada minyak bumi.

Potensi Pertumbuhan Pada Minyak Bumi

Kultur isolat aktinomisetes sebanyak 1 mL (10⁸ cfu/mL) di masukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL *Minimal Salts Medium* (MSM) dengan penambahan masing-masing 0 %, 2 %, 5 % (v/w) minyak bumi dengan 3 ulangan, diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 30°C selama 3 hari. Selanjutnya setiap perlakuan dilakukan pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ dan ditanam secara *pour plate* dengan masing - masing 3 ulangan pada cawan petri yang berisi medium SCA dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Koloni aktinomisetes yang tumbuh dihitung dalam cfu/mL (Komarawidjaja, 2009).

Uji Degradasi Minyak Bumi

Uji degradasi yang dilakukan dengan variasi perlakuan isolat aktino misetes tunggal L121, L11 serta isolat konsorsium L21 dan L11. Masing-masing sumber inokulum setiap perlakuan sebanyak 1 mL (10^8 cfu/mL) diinokulasi ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL media MSM dengan pH 7 ditambah 5 % (v/w) minyak bumi dan diinkubasi dalam *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 10 hari. Kemampuan degradasi isolat aktinomisettes terhadap minyak bumi dilihat dari konsentrasi penurunan minyak bumi melalui perhitungan gravimetri (Burghal *et al.*, 2015).

Setiap perlakuan, setelah 10 hari inkubasi diekstrak dengan memasukkan 10 mL larutan n-heksan lalu dikocok selama 15 menit dan dipindahkan ke dalam corong pemisah. Setelah larutan terpisah, terdapat 3 lapisan yaitu minyak, n-heksan dan air. Air dibuang lalu lapisan minyak dan n-heksan dipindahkan ke dalam erlenmeyer yang sudah ditambahkan 0,8 g natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4) (Latha *et al.*, 2012). Selanjutnya dilakukan penyaringan dan ditampung ke dalam labu evaporator yang sebelumnya dioven pada suhu 100°C selama 30 menit. Larutan diuapkan menggunakan rotari evaporator pada suhu 70°C selama 60 menit. Labu evaporator yang telah diuapkan didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya sampai konstan (Prabhakaran *et al.*, 2014).

Metode gravimetri dilakukan untuk mengukur residu minyak yang tinggal di dalam labu evaporator setelah pengujian. Presentase degradasi dihitung dengan rumus menurut John dan Okpokwasili, (2012).

$$\% \text{ degradasi} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat minyak pada kontrol (g)
b = berat minyak pada perlakuan (g)

Analisis Data

Data dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan *One-way ANOVA* dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata 5% menggunakan SPSS versi 16,0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Potensi Pertumbuhan Pada Minyak Bumi

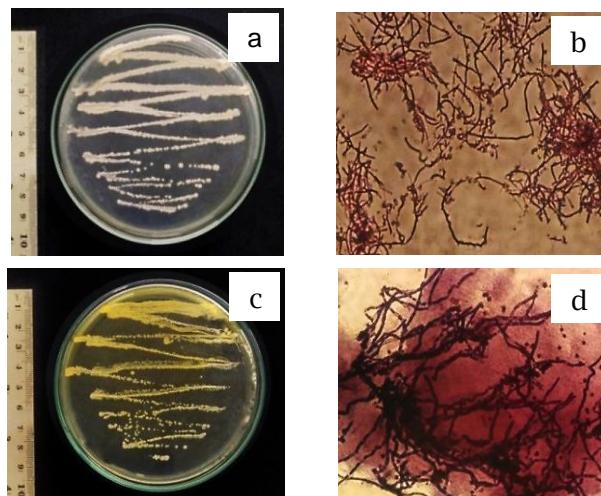
Koloni dan hifa dari isolat aktinomisettes lokal L121 dan L11 disajikan pada Gambar 1. Pengamatan makroskopis koloni memiliki permukaan kasar, koloni bulat dan tepi tidak rata. L11 memiliki pigmen warna kuning. Pengamatan mikroskopis isolat L121 dan L11 memiliki hifa yang panjang dan tidak memiliki septa, berfilamen dengan percabangan yang banyak. Hasil penelitian Pesrita *et al.*, (2017) melaporkan isolat L11 dan L121 memiliki aktivitas selulase pada carboxymethyl cellulose medium (CMC) dan medium ampas tebu. Namun ke dua isolat tersebut tidak memiliki aktivitas proteolitik (Linda *et al.*, 2016).

Potensi pertumbuhan isolat aktinomisettes dengan konsentrasi minyak bumi 0 %, 2 % dan 5 % pada MSM ditentukan dari perhitungan total populasi (cfu/mL) (Gambar 2). Hasil uji ANOVA pada masing-masing isolat menunjukkan potensi pertumbuhan dengan penambahan minyak bumi berbeda nyata pada setiap perlakuan ($P < 0,05$). Hasil uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) potensi pertumbuhan isolat L11 dan L121 menunjukkan total populasi tidak berbeda nyata dengan penambahan 2

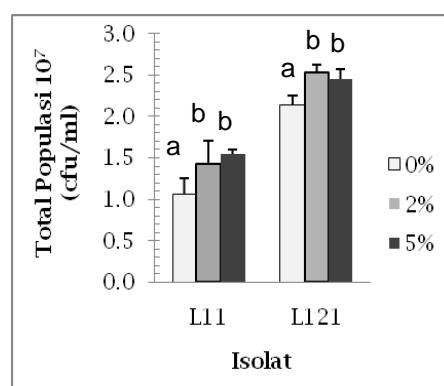
% dan 5 % minyak bumi tetapi berbeda nyata terhadap 0 % minyak bumi.

Potensi pertumbuhan isolat L121 lebih tinggi daripada isolat L11. Perbedaan pertumbuhan tersebut disebabkan adanya perbedaan aktivitas masing-masing isolat dalam memanfaatan minyak bumi sebagai sumber karbon. Diduga setiap isolat aktinomisetes memotong rantai hidrokarbon minyak bumi melibatkan berbagai enzim seperti hidroksilase, oksigenase (Nilanjana & Preethy, 2011), lipase (Jayesree *et al.*, 2014), peroksidase dan lakase (Folasade &

Kevin, 2016) menjadi komponen organik untuk pertumbuhannya (Nababan, 2008). Selain itu adanya perbedaan waktu penggandaan (*doubling time*) pada masing-masing isolat. Isolat L121 diduga memiliki *doubling time* lebih cepat dibanding isolat L11. Hal lain diduga masing-masing isolat memiliki perbedaan dalam memanfaatkan fosfor, nitrogen dan makronutrien yang terkandung dalam media sebagai nutrisi untuk pertumbuhan selnya.



Gambar 1. Koloni dan hifa isolat aktinomisetes (perbesaran 400x). a. pertumbuhan isolat L121; b. bentuk sel isolat L121; c. pertumbuhan isolat L11; d. bentuk sel isolat L11.



Gambar 2. Total populasi isolat aktinomisetes L11 dan L121 pada konsentrasi 0%, 2%, 5% dengan waktu inkubasi 5 hari. (Catatan : Potensi pertumbuhan masing-masing isolat aktinomisetes dianalisis secara terpisah.)

Total populasi isolat L11 pada konsentrasi 0 % ($0,96 \times 10^7$ cfu/mL),

isolat L121 ($2,14 \times 10^7$ cfu/mL). Konsentrasi 2 % isolat L11 ($1,43 \times 10^7$ cfu/mL), isolat

L121 ($2,53 \times 10^7$ cfu/mL). Konsentrasi 5 %, populasi isolat L11 ($1,55 \times 10^7$ cfu/mL), L121 ($2,45 \times 10^7$ cfu/mL). Pada penelitian ini, setiap isolat aktinomiseta dengan perlakuan konsentrasi minyak bumi memiliki pertumbuhan populasi yang berbeda. Hal ini sama dengan laporan penelitian Shekhar *et al.*, (2014), dimana total populasi *Streptomyces* sp. (1,91 log cfu/mL), *Nocardia* sp. (3,91 log cfu/mL) dalam 100 mL *mineral salt medium* + 5 % minyak bumi dengan waktu inkubasi 5 hari. Selain itu, perbedaan jumlah populasi dijumpai pada penelitian Silvia (2010), total populasi *Bacillus* sp. ($3,3 \times 10^5$ cfu/mL), *Corynebacterium* sp ($6,3 \times 10^5$ cfu/mL) dalam 100 mL medium basal + 2 % minyak bumi pada suhu 30°C dengan waktu inkubasi 1 hari.

Dua isolat aktinomiseta mampu tumbuh pada konsentrasi minyak bumi yang berbeda. Pada konsentrasi 0 % (tanpa penambahan minyak bumi) isolat aktinomiseta dapat tumbuh karena medium yang digunakan mengandung makro/mikro nutrien seperti S, P, K, N, H, Mg, Ca, Fe yang dapat menunjang pertumbuhan kedua isolat. Pada konsentrasi 2 % dan 5 % hidrokarbon minyak bumi isolat aktinomiseta dapat memanfaatkan hidrokarbon dan turunannya sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya.

Uji Degradasi 5% Minyak Bumi

Pada pengujian degradasi minyak bumi dengan perlakuan isolat tunggal dan isolat konsorsium dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil uji ANOVA menunjukkan persentase degradasi minyak bumi berbeda nyata pada setiap perlakuan ($P < 0,05$). Hasil uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) menunjukkan persentase degradasi isolat tunggal berbeda nyata terhadap isolat konsorsium. Presen-

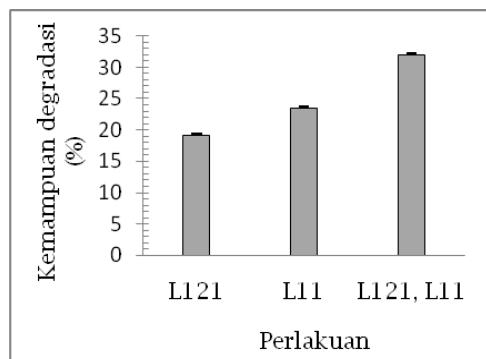
tase degradasi pada L11 sebesar 23,5 %, isolat L121 sebesar 19,2 % dan isolat konsorsium (L121 dan L11) sebesar 31,9%. Kemampuan degradasi isolat konsorsium pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan menggunakan isolat tunggal. Kemampuan degradasi isolat tunggal lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Burghal *et al.*, (2015), dimana isolat *Streptomyces* sp. (A4, A5, A15, A19, A58 dan A75) dengan persentase degradasi sebesar 52 % - 72 % dengan penambahan 1 % minyak bumi selama waktu inkubasi 10 hari.

Sudrajat *et al.*, (2015) melaporkan persentase degradasi minyak bumi pada isolat tunggal FMC2 (74 %), BMC6 (67 %), BMC2 (54 %) dan degradasi minyak bumi pada isolat campuran (BMC6, BMC2, FMC2) lebih tinggi yaitu sebesar 89,10 %. Pada penelitian ini diduga kedua isolat aktinomiseta memiliki sinergisme untuk menghasilkan enzim yang dapat merombak struktur hidrokarbon minyak bumi. Selain itu isolat konsorsium diduga menghasilkan enzim yang bervariasi dalam jenis dan tingkat penguraian serta jumlah lebih banyak dibandingkan dengan isolat tunggal.

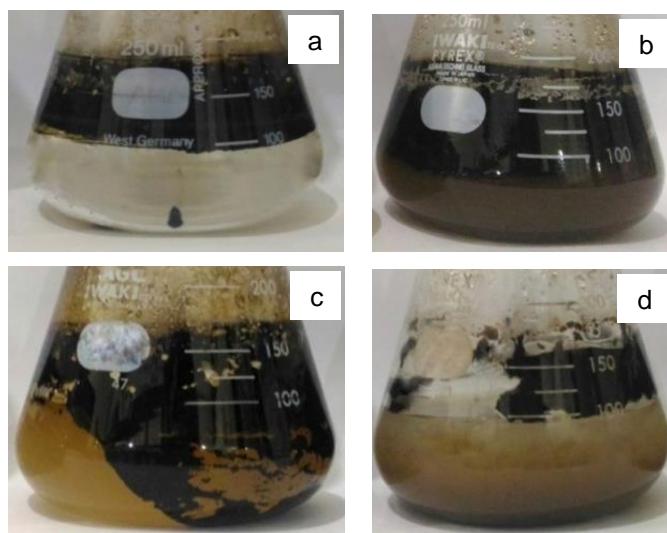
Pada proses degradasi minyak bumi terjadi perubahan media yang diinokulasi oleh isolat aktinomiseta diakhir inkubasi (Gambar 4). Hal ini diduga adanya aktivitas metabolisme dari isolat aktinomiseta yang menyebabkan meningkatnya biomassa sel dan penguraian senyawa hidrokarbon minyak bumi sehingga terjadinya kekeruhan pada media. Minyak yang awalnya menyatu dan membentuk lapisan di permukaan media secara perlahan terpecah menjadi butiran-butiran kecil disebabkan oleh mikroba tersebut menghasilkan biosurfaktan. Biosurfaktan dapat membantu melepaskan senyawa hidrokarbon dalam

senyawa organik dan meningkatkan konsentrasi senyawa hidrokarbon

dalam media degradasi melalui emulsifikasi (Gautam & Tyagi, 2006).



Gambar 3. Persentase degradasi isolat tunggal dan konsorsium aktinomisetes pada 100 mL MSM mengandung 5% minyak bumi dengan waktu inkubasi 10 hari.



Gambar 4. Biodegradasi minyak bumi pada MSM dengan penambahan 5% minyak bumi. a. Kontrol; b. L121; c. L11; d. Konsorsium L121 dan L11 setelah 10 hari inkubasi.

Menurut Pizzul *et al.*, 2007 *Rhodococcus* sp mampu menghasilkan glikolipid yaitu *trehalose lipids*. Selain itu, peningkatan kelarutan senyawa hidrokarbon dalam media degradasi disebabkan oleh enzim *membrane-bound oxygenase* yang dihasilkan oleh mikroba untuk meningkatkan kontak langsung antara minyak dan mikroba sehingga mikroba dapat memanfaatkan minyak bumi sebagai sumber karbon (Yani & Yusuf, 2011).

Perubahan pH juga merupakan indikator yang dapat menentukan terjadinya proses biodegradasi

mikroba dalam merombak senyawa hidrokarbon (Ristiati *et al.*, 2016). Hasil penelitian menunjukkan pH pada kontrol (7,0), L121 (7,65), L11 (6,85) dan isolat konsorsium (L121+L11) pH 7,58. Perubahan pH terjadi diduga disebabkan oleh aktivitas metabolisme sel yang membentuk metabolit-metabolit asam selama proses degradasi hidrokarbon minyak bumi meningkat (Sudrajat *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Potensi pertumbuhan isolat L11 dan L121 menunjukkan total

populasi tidak berbeda nyata dengan penambahan 2 % dan 5 % minyak bumi namun berbeda nyata terhadap 0 % (tanpa minyak bumi). Kemampuan degradasi pada perlakuan isolat tunggal berbeda nyata terhadap perlakuan isolat konsorsium. Persentase degradasi tertinggi oleh isolat konsorsium (L121, L11) sebesar 31,9 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker K.H., Herson D.S. 2011. *Microbiology and Biodegradation*. McGrawHill Inc. In Bioremediation. Toronto.
- Burghal A.A., Kuther H.M., Nadia A.A. 2015. Isolation and Identification of *Actinomycetes* Strains from Oil Refinery Contaminated Soil, Basrah-Iraq. *International Journal of Innovations in Engineering and Technology* 5 : 20-27.
- Gautam K.K., Tyagi V.K. 2006. Microbial Surfactants : A Review. *Journal of Oleo Science* 55(4) : 155-166.
- Folasade M.O., Kevin I.E. 2016. Assessment of Crude Oil Degradation Efficiency of Newly Isolated *Actinobacteria* Reveals Untapped Bioremediation Potentials. *Journal Bioremediation* 20(2) : 133-143.
- Hu Guangji, Jianbing L., Guangming Z. 2013. Recent Development in The Treatment of Oily Sludge from Petroleum Industry : A Review. *Journal of Hazardous Materials* 261 : 470-490.
- Jayesree N., Norazah M.N., Abdul L.I. 2014. Characterization of Lipase Producing *Rhodococcus* sp. from Peninsular Malaysia. *Journal of Life Sciences and Technologies* 2(1) : 12-19.
- John R.C., Okpokwasili G.C. 2012. Crude Oil Degradation and Pasmid Profile of Nitrifying Bacteria Isolated from Impacted Mangrove Sediment in the Niger Delta of Nigeria. *Bulletin of Environment Contamination Toxicology* 88(6) : 1020-1026.
- Komarawidjaja W. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal Dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *Jurnal Teknik Lingkungan* 10(1) : 114-119.
- Latha R., Kalaivani R. 2012. Bacterial Degradation of Crude Oil by Gravimetric Analysis. *Advances in Applied Science Research* 3(5) : 2789-2795.
- Linda T.M., Martina A., Febrianti B.L., Herlinda, Tabri. 2016. Seleksi Aktinomiseta Penghasil Protease dari Tanah Gambut Desa Langkai, Siak, Riau. *Jurnal Riau Biologia* 1(10) : 62-66.
- Nababan B. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar Dari Laut Belawan [tesis]. Medan : Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Sumatera Utara.
- Nilanjana D., Preethy C. 2011. Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants : an Overview. *Research Biotechnology Research International* 1-13.
- Pesrita A., Linda T.M., Devi S. 2017. Seleksi dan Aktivitas Enzim Selulase Aktinomiseta Lokal Riau pada Media Lignoselulosa Ampas Tebu. *Jurnal Riau Biologia* 2(1) : 8-13.
- Pizzul L., Pilar C.M., Stenstrom J. 2007. Effect of Rapeseed Oil on The

- Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil by *Rhodococcus wratislaviensis*. *International Biodegradation Biodegradation* 59 : 111-118.
- Prabhakaran P., Sureshbabu A., Rajakumar S., Ayyasamy P.M. 2014. Bioremediation of Crude Oil in Synthetic Mineral Salts Medium Enriched with Aerobic Bacterial Consortium. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* 3(2) : 9236-9242.
- Prapagdee B., Chutima K., Skorn M. 2008. Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* Against Phytopathogenic Fungi. *International Journal of Biological Sciences* 4(5) : 330-337.
- Prayitno J., Radianti P., Sri H. 2012. Formulasi Konsorsium Mikroba Asal Pertambangan Minyak Siak Riau yang Efektif Dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon. *Jurnal Teknik Lingkungan* 13(2) : 123-130.
- Ristiati N.P., Sanusi M., Putra I.M.G.P. 2016. Uji Kemampuan Degradasi Minyak Solar oleh Konsorsium Bakteri Hasil Preservasi Dengan Kombinasi Metode Liofilisasi Metode Gliserol. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*.
- Shahaby A.F., Abdulla A.A., Adel E.E.T. 2015. Bioremediation of Petroleum Oil by Potential Biosurfactant-Producing Bacteria Using Gravimetric Assay. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4(5) : 390-403.
- Shekhar S.K., Godheja J., Modi D.R., Peter J.K. 2014. Growth Potential Assessment of *Actinomycetes* Isolated from Petroleum Contaminated Soil. *Journal Bioremediation Biodegradation* 5 : 1-8.
- Silvia S. 2010. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Menggunakan Isolat Bakteri dari Limbah Minyak Bumi PT. Chevron Pacific Indonesia [skripsi]. Teknik Lingkungan, Universitas Andalas.
- Sudrajat D., Nana M., Tri R.D.L. 2015. Isolasi dan Aplikasi Mikroba Indigen Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah*. Yogyakarta.
- Thampayak I., Cheetah N., Pathom-Aree W., Leelapornpisid P., Lumyong S. 2008. Isolation and Identification of Biosurfactant Producing *Actinomycetes* from Soil. *Research Journal of Microbiology* 3 : 499-507.
- Yani M., Yusuf A. 2011. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *Jurnal Teknik Industri Pertambangan* 19(1) : 40-44