

Kajian Penggunaan Bakteri *Bacillus subtilis* dalam Penanganan Tumpahan Minyak Mentah

Kusdini¹, Kastilon², Rokky Gumanti³, Reflis⁴, Satria P. Utama⁵

^{1,2,3}Program Studi Pengelolaan Sumber Daya Alam, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu, Indonesia

^{4,5}Dosen Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu, Indonesia

Email: ¹clickdian@gmail.com, ²kastilonsirad123@gmail.com, ³rgvarg27@gmail.com ,
⁴reflis@unib.ac.id, ⁵satria_pu@yahoo.com

Abstract

*The global demand for energy is driving increased exploration, production and processing of crude oil, increasing the risk of oil spills during these processes and contaminating marine habitats and biota. As hazardous and toxic substances, oil spills require effective and comprehensive management. Bioremediation uses the metabolism of microbes to break down hydrocarbons and convert contaminants into harmless compounds. One species of hydrocarbon-degrading bacteria suitable for bioremediation is *Bacillus subtilis*. Its adaptability to changes in temperature, salinity, and oxygen levels, as well as its resistance to environmental stress, make it an ideal choice for bioremediation as a sustainable and efficient solution to oil pollution in marine ecosystems. This study aims to explore the potential use of *Bacillus subtilis* as an alternative for managing crude oil spills, particularly in Indonesian waters.*

Keywords: Bioremediation, Hydrocarbon, Pollution, *Bacillus Subtilis*, Oil Spill.

Abstrak

*Kebutuhan global akan energi mendorong peningkatan eksplorasi, produksi, dan pengolahan minyak bumi, yang meningkatkan risiko tumpahan minyak selama proses tersebut, mencemari habitat dan biota laut. Sebagai bahan berbahaya dan beracun, tumpahan minyak perlu ditangani secara efektif dan komprehensif. Bioremediasi memanfaatkan metabolisme mikroba untuk mendegradasi hidrokarbon dan mengubah polutan menjadi senyawa yang tidak berbahaya. Salah satu spesies bakteri hidrokarbonoklastik yang dapat digunakan untuk bioremediasi adalah *Bacillus subtilis*. Adaptabilitasnya terhadap perubahan suhu, salinitas, dan oksigen, serta resiliensinya terhadap tekanan lingkungan, menjadikannya pilihan yang ideal untuk bioremediasi sebagai solusi berkelanjutan dan efisien dalam mengatasi pencemaran minyak di ekosistem laut. Kajian ini dilakukan untuk mengetahui potensi penggunaan *Bacillus subtilis* sebagai alternatif penanganan tumpahan minyak mentah, khususnya di perairan Indonesia.*

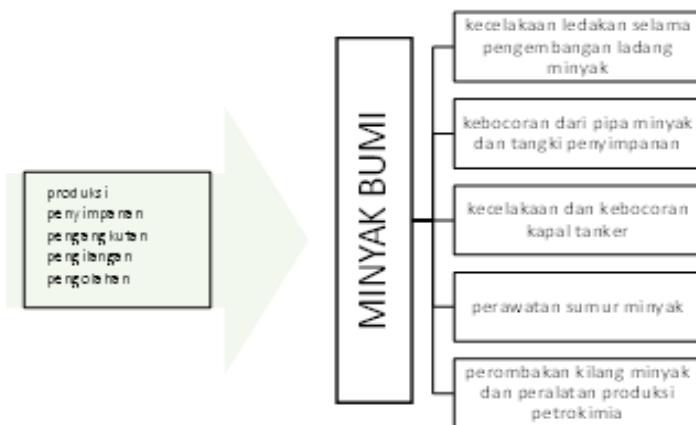
Kata Kunci: Bioremediasi, Hidrokarbon, Polusi, *Bacillus Subtilis*, Tumpahan Minyak

1. PENDAHULUAN

Minyak bumi masih menjadi sumber energi utama untuk kebutuhan industri, transportasi, dan rumah tangga, dengan permintaan global yang terus meningkat. Hal ini mendorong perluasan kegiatan eksplorasi, produksi, dan pengolahan minyak di banyak negara, termasuk Indonesia. Namun, aktivitas ini meningkatkan risiko pencemaran laut akibat tumpahan minyak, yang dapat berdampak serius pada ekosistem laut dan masyarakat pesisir. Pencemaran laut dapat membahayakan organisme laut dengan menyebabkan kerusakan fisik, mengganggu reproduksi, dan mengganggu proses biologis yang penting, merusak habitat mengurangi keanekaragaman hayati, dan melemahkan ketahanan ekosistem terhadap tekanan lingkungan seperti perubahan iklim. Bahan pencemar yang terakumulasi di jaringan hewan laut dan bertahan di lingkungan dapat

menyebabkan bioakumulasi dan biomagnifikasi di sepanjang rantai makanan, yang pada berpotensi menimbulkan risiko bagi kesehatan manusia melalui konsumsi makanan laut yang terkontaminasi.

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 1999 tentang Pengendalian Pencemaran dan/atau Perusakan Laut pasal 1 ayat (2) menjelaskan bahwa pencemaran laut adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan laut oleh kegiatan manusia sehingga kualitasnya turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan laut tidak sesuai lagi dengan baku mutu dan/atau fungsinya. Salah satu masalah lingkungan yang sering terjadi adalah tumpahan minyak mentah di perairan. Minyak mentah merupakan Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) karena bersifat toksik dan karsinogenik, sehingga minyak mentah dapat berbahaya bagi ekosistem laut maupun kepada masyarakat yang bertempat tinggal di dekat pantai (Wardhani dan Titah, 2020). Tumpahan minyak juga berbahaya bagi lingkungan karena berpotensi besar membunuh flora dan fauna dan menyebabkan kerusakan jangka panjang pada habitat laut.



Gambar 1. Penyebab tumpahan dan pembuangan hidrokarbon minyak bumi yang sering terjadi (Xu et al., 2018)

Sejak tahun 2018, tercatat empat kasus tumpahan minyak di wilayah perairan Indonesia yang mengakibatkan kerugian besar bagi masyarakat dan lingkungan. Pada Maret 2018, tumpahan minyak dari pipa Pertamina yang dipecahkan jangkar kapal MV Ever Judger dan mengakibatkan lima ribu liter minyak mencemari perairan Teluk Balikpapan, serta memicu kebakaran yang menyebabkan kematian lima orang nelayan (Lautsehat.ID, 2021). Kemudian, pada Juli 2019, sumur YYA-1 milik PHE ONWJ mengalami kebocoran 51 ribu barel minyak mencemari wilayah perairan dan sepanjang pantai di Karawang sampai sejauh 52 mil (Wicaksono, 2019). Selanjutnya, Ladjar dan Maullana (2020) melaporkan mengenai tumpahan minyak sepanjang dua kilometer di wilayah Pulau Pari di Kabupaten Kepulauan Seribu hingga pada Agustus 2020, di mana cemaran minyak yang berhasil dikumpulkan masyarakat sebanyak 380 karung dengan berat masing-masing 15-20 kilogram. Terakhir, pencemaran minyak yang rutin terjadi di Batam-Bintan Kepulauan Riau, yang telah merugikan sektor perikanan setempat dan merusak habitat mangrove perairan Nongsa Batam (Sahputra, 2022). Di Perairan Bintan, penelitian Puspitasari et al. (2020) menggunakan data citra satelit Sentinel-1, mengkonfirmasi wilayah tersebut telah tercemar 1.767 barel tumpahan minyak dan diperkirakan akan menyebar ke 20 titik di sekitar Pulau Bintan.

Rehabilitasi perairan tercemar tumpahan minyak, terutama yang kontaminasinya menyebar seperti kasus di Pulau Bintan, memerlukan nilai finansial yang besar, seperti biaya kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh tumpahan minyak di Teluk Balikpapan

di tahun 2018 mencapai 17 miliar lebih (Huda et al. (2022), belum termasuk biaya respon tumpahan dan biaya sosial-ekonomi. Dengan frekuensi dan besarnya dampak yang ditimbulkan, upaya menanggulangi pencemaran air laut karena tumpahan minyak perlu dilakukan dengan serius, termasuk penggunaan alternatif metode yang lebih efisien. Metode pemulihan cemaran minyak bumi secara mekanis kurang efektif karena paling banyak hanya dapat menghilangkan sekitar 40 persen minyak dari tumpahan dalam kondisi ideal (Clark dan Gleim, 2023), sedangkan penggunaan bahan kimia pendispersi dapat bereaksi dengan minyak dan menghasilkan material yang lebih berbahaya bagi kehidupan laut (Center for Biological Diversity, diakses 2024).

Di antara metode pemulihan lingkungan, bioremediasi adalah salah satu yang paling murah, aman dan efektif untuk membersihkan lahan atau perairan yang terpapar limbah pertambangan atau industri seperti minyak mentah yang biasanya terkait dengan proses eksplorasi dan produksi minyak dan gas. Bioremediasi juga merupakan salah satu metode yang direkomendasikan Pemerintah Indonesia untuk menanggulangi limbah berbahaya, melalui Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor 6 Tahun 2021 Tentang Tata Cara dan Persyaratan Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun. Bioremediasi dinilai dapat menghasilkan pembersihan yang lebih optimal karena mengubah pencemar menjadi senyawa tidak toksik dan mikroba yang digunakan akan mati dengan sendirinya saat pencemar habis terdegradasi (Wardhani dan Titah, 2020).

Proses bioremediasi dapat terjadi secara alami atau diakselerasi dengan penambahan bakteri tertentu atau bahan tambahan untuk meningkatkan laju degradasi hidrokarbon pembentuk minyak bumi. Jika mikroorganisme lokal secara kuantitas dan/atau kualitas kurang untuk mendegradasi jumlah pencemar yang terkandung, maka dilakukan bioaugmentasi atau penambahan kultur mikroba tunggal atau campuran (konsorsium) yang diformulasikan khusus secara terkontrol, disertai dengan pemantauan lingkungan pertumbuhan yang ideal di mana bakteri terpilih ini dapat hidup dan bekerja (A Citizen's Guide to Bioremediation, 2012). Bioaugmentasi adalah metode yang paling sesuai dan efisien untuk menangani limbah minyak dalam skala besar, karena mikroba yang dikulturkan secara khusus diisolasi dan biasanya berasal dari lingkungan yang sama dan dapat dibiakkan dalam jumlah besar (Yasmin dan Wulansarie, 2017).

Beberapa genus bakteri pendegradasi hidrokarbon (hidrokarbonoklastik) yang diketahui misalnya *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Alteromonas*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, dan *Rhodococcus* (Chaerun et al., 2004; Xu et al., 2017; Oktavia et al., 2022; Khastini et al., 2022). *Bacillus subtilis* adalah bakteri hidrokarbonoklastik gram positif, berbentuk batang, bersel satu, berukuran 0,5–2,5 μm x 1,2–10 μm , bereaksi katalase positif, bersifat aerob obligat atau anaerob fakultatif, dan heterotrof.



Gambar 1. Bakteri *Bacillus subtilis* di bawah mikroskop (Foto: [Microbz](#))

Bacillus subtilis dapat diisolasi dari berbagai lingkungan, baik di darat maupun perairan, sehingga bisa dikatakan species ini memiliki daya adaptasi yang luas untuk tumbuh di beragam lingkungan. Seperti semua spesies di genusnya, *Bacillus subtilis* juga mampu membentuk endospora dorman yang sangat resisten untuk merespons kekurangan nutrisi dan tekanan lingkungan lainnya (Earl et al., 2008).

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Studi Literatur

Metode yang digunakan dalam kajian ini adalah metode atau pendekatan kepustakaan, atau studi pustaka atau telaah literatur. Menurut Zed (2017), studi pustaka atau kepustakaan dapat diartikan sebagai serangkaian kegiatan yang berkenaan dengan metode pengumpulan data pustaka, membaca dan mencatat serta mengolah bahan penelitian. Ciri utama penelitian kepustakaan, yaitu peneliti berhadapan langsung dengan teks atau data angka dan bukan dengan pengetahuan langsung dari lapangan, dan umumnya data pustaka berupa sumber sekunder yang tidak dibatasi ruang dan waktu.

Sumber pustaka yang digunakan dalam metodologi ini berupa jurnal nasional maupun internasional, buku, tesis, lembar fakta, makalah seminar dan laman situs yang mendukung dan terkait dengan topik studi, sedangkan studi literatur yang digunakan meliputi teori-teori mengenai bioremediasi, minyak mentah, proses biodegradasi, faktor-faktor penting bioremediasi dan data penelitian terdahulu terkait degradasi *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) oleh bakteri *Bacillus subtilis* pada air laut.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi lingkungan di lokasi yang akan dipulihkan berperan penting dalam keberhasilan proses pembersihan cemaran minyak bumi melalui metode bioaugmentasi. Penggunaan mikroorganisme yang didatangkan dari ekosistem lain bergantung pada beberapa faktor, di antaranya oksigen, salinitas, pH, suhu, kuantitas dan kualitas nutrisi (Paniagua-Michel dan Rosales, 2015; Wardhani dan Titah, 2020). Faktor-faktor utama ini akan mempengaruhi kinerja mikroorganisme yang melakukan degradasi, sehingga perlu dilakukan penilaian sebelum proses degradasi dilakukan.

3.1 Oksigen

Ketersediaan oksigen sangat penting karena merupakan akseptor elektron untuk respirasi aerob yang dilakukan bakteri karbonoklastik, dan penambahan oksigen dapat meningkatkan laju degradasi beberapa kali lipat dibandingkan laju degradasi yang terjadi secara alami (Clu-In, diakses 2024). Oksigen merupakan faktor penting karena biodegradasi melibatkan enzim oksigenase agar molekul hidrokarbon dapat digunakan oleh mikroba sebagai sumber karbon untuk metabolisme sel. Kekurangan oksigen akan membuat proses biodegradasi tidak berjalan sempurna, sehingga perlu adanya kontrol terkait jumlah oksigen yang ada pada media tercemar saat dilakukan proses bioremediasi menggunakan mikroba (Bhaktinagara, 2015 dalam Wardhani dan Titah, 2020).

B. subtilis merupakan bakteri aerob yang membutuhkan kadar oksigen yang tinggi. (Alotaibi et al., 2021 dalam Khastini et al., 2022). Namun, diketahui bahwa *B. subtilis* dapat tumbuh dengan menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron, bukan oksigen. Ini mengkonfirmasi bahwa *B. subtilis* memang dapat tumbuh secara anaerobik (Earl et al., 2008). Ini berarti *B. subtilis* dapat beradaptasi dan bertahan hidup dalam berbagai lingkungan, termasuk yang kekurangan oksigen. Fleksibilitas ini meningkatkan potensi penggunaan *B. subtilis* dalam bioremediasi lingkungan yang terkontaminasi hidrokarbon,

baik di lingkungan aerobik maupun anaerobik, sehingga memperluas jangkauan aplikasinya dalam berbagai kondisi lingkungan.

3.2 Salinitas

Salinitas memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus subtilis*, yang merupakan bakteri hidrokarbonoklastik. Tingkat salinitas yang tinggi dapat mempengaruhi tekanan osmotik di sekitar dinding sel bakteri, mempengaruhi metabolisme, aktivitas enzim, serta ketersediaan nutrisi. *B. subtilis* diketahui memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap berbagai kondisi salinitas, yang memungkinkan bakteri ini tetap efektif dalam kondisi lingkungan yang bervariasi, termasuk air laut. Menurut Wu et al. (2022) menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu mempertahankan stabilitas biosurfaktannya, surfaktin, dalam rentang salinitas yang luas, sehingga tetap efektif dalam kondisi lingkungan laut yang tinggi salinitasnya. Adaptabilitas ini menjadikan *B. subtilis* sangat berguna dalam bioremediasi di berbagai ekosistem perairan yang terkontaminasi minyak bumi.

3.3 pH

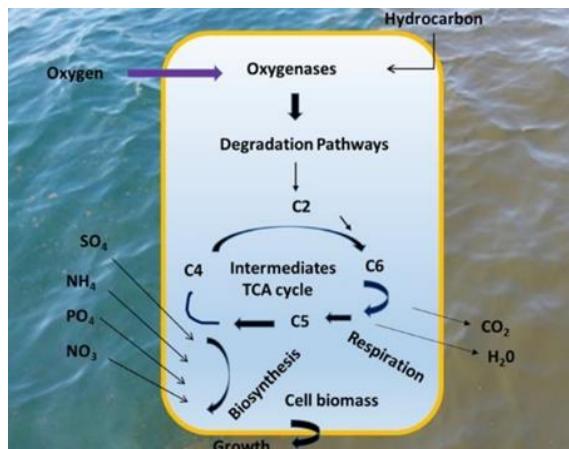
pH memiliki pengaruh penting terhadap mikroorganisme dengan memengaruhi pertumbuhan sel, aktivitas enzimatik, transport nutrien, produksi metabolit sekunder, dan stabilitas genetik. Mikroorganisme memiliki rentang pH optimal untuk pertumbuhan, dengan pH yang terlalu asam atau basa dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan sel. Menurut Archer dan Law (2012), *B. subtilis* tumbuh optimal pada pH netral hingga sedikit alkali (sekitar pH 7 hingga 8), sementara perairan Indonesia umumnya memiliki pH berkisar antara 7,7 hingga 8,2 (Rizki et al., 2015). Kondisi pH perairan Indonesia yang sedikit basa ini sangat sesuai dengan kisaran pH optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas *B. subtilis*.

3.4 Suhu

Suhu memengaruhi pertumbuhan, metabolisme, dan aktivitas mikroba dengan mengatur aktivitas enzim dan struktur sel. Rentang suhu optimal meningkatkan efisiensi biologis, sementara di luar rentang ini, aktivitas mikroba melambat atau bahkan rusak. Dalam bioremediasi, pengaturan suhu lingkungan menjadi kunci dalam memaksimalkan hasil degradasi polutan oleh mikroba. Menurut Arifin (2019), rentang suhu optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas *B. subtilis* berkisar antara 25°C hingga 37°C, di mana bakteri ini paling efisien dalam melakukan proses biologisnya. Suhu permukaan laut di wilayah Indonesia mempunyai kisaran 26,0°C hingga 31,5°C (Syaifulah, 2015), cukup mendukung aktivitas *B. subtilis*.

3.5 Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)

Bakteri hidrokarbonoklastik seperti *B. subtilis* menggunakan berbagai senyawa hidrokarbon (*Total Petroleum Hydrocarbon/TPH*) yang terdapat dalam minyak bumi dan sebagai sumber nutrisi dalam proses degradasi, baik koloni bakteri tunggal atau konsorsium. Proses degradasi TPH bervariasi tergantung jenis dan jumlah mikroba yang terlibat, serta kondusif atau tidaknya lingkungan sekitarnya. Jalur degradasi hidrokarbon melibatkan berbagai komunitas mikroba yang memecah senyawa tersebut baik secara aerobik maupun anaerob, dengan bantuan enzim dan unsur seperti nitrat atau sulfat (Gambar 2). Aktivitas mikroba ini memastikan pemecahan hidrokarbon menjadi senyawa yang lebih sederhana dan tidak beracun, dan berperan penting dalam bioremediasi air laut. Dalam proses ini mikroba membutuhkan sulfat, fosfat, amonium, dan nitrat dan akan melepas CO₂ dan H₂O ke lingkungan.



Gambar 3. Mekanisme utama yang terlibat dalam biodegradasi aerobik hidrokarbon minyak bumi di lingkungan laut (Paniagua-Michel dan Rosales, 2015)

3.6 F. Surfaktin

B. subtilis menghasilkan biosurfaktan tergolong lipopeptida yang memiliki stabilitas yang baik pada rentang pH yang luas, suhu tinggi dan salinitas tinggi, yang disebut surfaktin Menurut Wu et al. (2022). Biosurfaktan ini esensial dan penting sebagai stimulan proses biodegradasi karena surfaktin akan memecah hidrokarbon menjadi ukuran yang lebih kecil (Paniagua-Michel dan Rosales, 2015) dan mengurangi tegangan permukaannya (Nikolova dan Gutierrez, 2021) sehingga lebih mudah dicerna. Dibandingkan dengan surfaktan yang dihasilkan dari proses kimia, biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme memiliki sifat stabil secara fisika dan kimia, tidak toksik dan mudah terurai (Ciccylionia dan Nawfa dalam Zia dan Linda, 2023). Kemampuan menghasilkan surfaktin ini membuat *B. subtilis* superior dibanding bakteri non-produsen biosurfaktan, karena akan mengakselerasi proses degradasi yang dilakukan *B. subtilis*.

Tabel 1. Penilaian kinerja *B. subtilis* pada faktor-faktor lingkungan utama yang mempengaruhi proses degradasi

Parameter lingkungan	Karakteristik <i>B. subtilis</i>	Penilaian
Oksigen	Aerob maupun anaerob (Earl et al., 2008), adaptif pada lingkungan dengan atau tanpa kadar oksigen	Adaptif pada lingkungan dengan atau tanpa oksigen
Salinitas	Mampu mempertahankan stabilitas biosurfaktannya (surfaktin) dalam rentang salinitas yang luas Wu et al., 2022	Daya tahan yang baik terhadap perbedaan salinitas
pH	Tumbuh optimal pada pH 7-8 (Archer dan Law, 2012)	Sangat sesuai untuk perairan Indonesia
Suhu	Optimal pada 25°C hingga 37° (Arifin, 2019)	Sesuai untuk perairan Indonesia
Biodegradasi minyak mentah	<p><i>B. subtilis</i> tunggal: 82% pada konsentrasi 2% minyak mentah dengan metode penyisihan (Wardhani dan Titah, 2020); 60–80% pada konsentrasi 2% (Titah et al., 2021); 85% pada konsentrasi 1% minyak mentah (Tao et al., 2017)</p> <p>Konsorsium <i>B. subtilis</i> dengan <i>Pseudomonas</i> sp.: <i>B. subtilis</i> dan <i>Pseudomonas putida</i> 73,2% pada konsentrasi 5% (Wardhani dan Titah, 2020); <i>B. subtilis</i> dan <i>Pseudomonas putida</i> 66.29% pada konsentrasi 5% (Titah et al., 2021); <i>B. subtilis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 63.05-75.06% pada konsentrasi 3% (Wu et al., 2023)</p>	Baik secara tunggal maupun konsorsium, <i>B. subtilis</i> menunjukkan performa yang baik atau sangat baik

Baik secara tunggal maupun dalam bentuk konsorsium, *B. subtilis* menunjukkan performa yang baik atau sangat baik dalam mendegradasi Total Petroleum Hydrocarbon (TPH). Sebagai individu, *B. subtilis* mampu mendegradasi TPH dengan persentase antara 60-85% pada konsentrasi minyak mentah 1-2%, sedangkan dalam konsorsium dengan *Pseudomonas* sp., degradasi berada dalam kisaran 63.05-75.06% pada konsentrasi minyak mentah 3-5% (Wardhani dan Titah, 2020; Titah et al., 2021; Tao et al., 2017). Kemampuan adaptasi *B. subtilis* terhadap variasi ketersediaan oksigen dan salinitas di wilayah perairan terbuka yang sulit dikontrol juga turut berkontribusi pada peningkatan resiliensinya dalam proses degradasi. Mikroba ini menunjukkan kinerja optimal pada rentang pH dan suhu yang sesuai dengan kondisi perairan di Indonesia pada umumnya. Dengan kemampuan tersebut, *B. subtilis* tidak hanya efisien dalam proses biodegradasi TPH tetapi juga memiliki potensi untuk diaplikasikan dalam bioremediasi lingkungan yang tercemar minyak di kawasan perairan Indonesia. Adaptabilitas, ketahanan, kemudahan mereplikasi dari populasinya yang melimpah di alam menjadikan *B. subtilis* unggul untuk strategi bioremediasi yang berkelanjutan, mengingat kondisi lingkungan perairan Indonesia yang dinamis dan variatif.

4. KESIMPULAN

Penggunaan bakteri hidrokarbonoklastik penghasil biosurfaktan adalah faktor-faktor penting yang dapat membantu dalam mengakselerasi proses biodegradasi. Baik secara tunggal maupun konsorsium, *B. subtilis* menunjukkan performa yang baik atau sangat baik dalam mendegradasi TPH. *B. subtilis* juga adaptif terhadap ketersediaan oksigen salinitas di wilayah perairan terbuka yang sulit dikontrol meningkatkan resiliensinya dalam mendegradasi. *B. subtilis* optimal di rentang pH dan suhu yang sesuai dengan perairan Indonesia pada umumnya, sehingga bisa diaugmentasikan di kondisi perairan yang bervariasi. Penggunaan bakteri hidrokarbonoklastik penghasil biosurfaktan adalah dapat membantu dalam mengakselerasi proses degradasi yang lebih ramah lingkungan. Kondisi-kondisi ini membuat *B. subtilis* berpotensi untuk dijadikan alternatif penanganan limbah tumpahan minyak mentah, khususnya di perairan Indonesia.

REFERENCES

- Archer, D., dan Law, J. (2012). Effect of pH on the Growth and Enzyme Activity of *Bacillus subtilis*. *Journal of Microbial Ecology*, 67(3), 456-463. doi:10.1007/s00248-012-0123-7
- Arifin, R.R. (2019). Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* from rhizosphere soil and its potential as phosphate solubilizing bacteria. *J. Degrad. Min. Lands Manage.* DOI: 10.15243/jdmlm.2019.022.334.
- Chaerun, S. K., Tazaki, K., Asada, R., and Kogure, K. (2004). Bioremediation of coastal areas 5 years after the Nakhodka oil spill in the Sea of Japan: isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria. *Environ. Int.* 30, 911–922. doi: 10.1016/j.envint.2004.02.007
- Clark, J. dan Gleim, S. (9 Juni 2023). How do you clean up an oil spill?. Diakses pada 16 mei 2024 dari: <http://science.howstuffworks.com/environmental/greenscience/cleaning-oil-spill.htm>
- Center for Biological Diversity. Dispersants. Diakses 16 Mei 2024 dari: https://www.biologicaldiversity.org/programs/public_lands/energy/dirty_energy_development/oil_and_gas/gulf_oil_spill/dispersants.html
- Earl, A.M., Losick, R. dan Kolter, R. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.* National Institute of Health. doi:10.1016/j.tim.2008.03.004.

- Huda, E.H., Harahap, R.G. dan Putri, D.L. (2022). Perhitungan Kerugian Tumpahan Minyak di Kecamatan Balikpapan Barat Tahun 2018. Prosiding The 13th Industrial Research Workshop and National Seminar, 13-14 Juli 2022. Bandung.
- Lautsehat.ID. (2021). Empat Kasus Tumpahan Minyak di Indonesia. Diakses pada 16 Mei 2024 dari: <https://lautsehat.id/peristiwa/lautsehat/4-kasus-tumpahan-minyak-di-perairan-indonesia/>
- Ladjar, B.M.W., dan Maullana, I. (2020). Fakta dan Temuan Gumpalan Minyak Cemari Perairan di Pulau Pari. Kompas. Diakses pada 16 Mei 2024 dari: <https://megapolitan.kompas.com/read/2020/08/12/07393231/fakta-dan-temuan-gumpalan-minyak-cemari-perairan-di-pulau-pari?page=all>.
- Khastini, R.O., Zahranie, L.R., Rozma, R.A. dan Saputri, Y.A. 2022. Review: Peranan Bakteri Pendegradasi Senyawa Pencemar Lingkungan Melalui Proses Bioremediasi. Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi. Vol. 10, No. 1, June 2022; Page, 345-360 <https://ejournal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist>
- Pemerintah Indonesia. (1999). Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 1999 Tentang Pengendalian Pencemaran dan/atau Perusakan Laut.
- Pemerintah Indonesia. (2021). Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2021 Tentang Tata Cara dan Persyaratan Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun.
- Oktavia, R., Nurcahyani, E., Wahyuningsih, S. dan Sumardi. (2022). Kemampuan *Bacillus* sp. Sebagai Bioremediasi Bahan Pencemar. Jurnal Bioterididik: Wahana Ekspresi Ilmiah. <http://dx.doi.org/10.23960/jbt.v10i2.23919>
- Puspitasari, T.A., Fuad, M.A. dan Parwati, E. (2020). Prediksi Pola Persebaran Tumpahan Minyak Menggunakan Data Citra Satelit Sentinel-1 di Perairan Bintan, Kepulauan Riau. Jurnal Penginderaan Jauh Vol. 17 No. 2 Desember 2020: hal 89-102.
- Sahputra, Y.E. (10 Desember 2022). Tumpahan Minyak Hitam Kembali Cemari Laut Batam, Siapa Pelakunya?. Diakses pada 16 Mei 2024 dari: <https://www.mongabay.co.id/2022/12/10/tumpahan-minyak-hitam-kembali-cemari-laut-batam-siapa-pelakunya/>
- Rizki, T.Y., Tito, C.K, dan Setiawan, A. 2015. Variasi pH di Perairan Indonesia. Balai Penelitian dan Observasi Laut. Bali
- Syaifulah M.D. (2015). Suhu Permukaan Laut Perairan Indonesia dan Hubungannya Dengan Pemanasan Global. Jurnal Segara. DOI:10.15578/segarav11i2.7356
- Tao, K., Liu, X., Chen, X., Hu, X., Cao, L., dan Yuan, X. (2017). Biodegradation of crude oil by a defined co-culture of indigenous bacterial consortium and exogenous *Bacillus subtilis*. Bioresour. Technol. 2017, 224, 327–332. [CrossRef]
- Titah, H.S., Pratikno, H., Purwanti, I.P. dan Wardhani, W.K. (2021). Biodegradation of Crude Oil Spill Using *Bacillus Subtilis* and *Pseudomonas Putida* in Sequencing Method. Journal of Ecological Engineering 2021, 22(11), 157–167. <https://doi.org/10.12911/22998993/142913>.
- Wardhani, W.K. dan Titah, H.S. (2020). Studi Literatur Alternatif Penanganan Tumpahan Minyak Mentah Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* (Studi Kasus: Tumpahan Minyak Mentah Sumur YYA-1). Jurnal Teknik ITS Vol. 9, No. 2. Semarang.
- Wicaksono, P.E. (29 Juli 2019). Laut Karawang Tercemar 51 Ribu Barel Minyak. Diakses pada 16 Mei 2019 dari: <https://www.liputan6.com/bisnis/read/4024605/sumur-pertamina-bocor-laut-karawang-tercemar-51-ribu-barel-minyak?page=2>
- Wu, B., Xiu, J., Yu, L., Yi, L., and Ma, Y. 2022. Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* SL and its potential for enhanced oil recovery in low permeability reservoirs. Nature Portfolio. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12025-7>

Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., Gao, X., Li, F., Li, H., and Yu, H. (2018). Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A PerspectiveAnalysis. *Front. Microbiol*, 9(Article 2885), 1-11.

Yasmin, Z. dan Wulansarie, R. (2017). Review Perbandingan Pencemaran Minyak Di Perairan Dengan Proses Bioremediasi Menggunakan Metode Biostimulus Dan Bioaugmentasi. *Jurnal Reka Buana* Volume 3 No 1, September 2017 - Februari 2018.

Zed, M. (2017). Metode Penelitian Kepustakaan. Yayasan Pustaka Obor Indonesia. Jakarta.