

## Efektivitas Bioremediasi Air Laut yang Terkontaminasi Minyak Mentah menggunakan *Oil Spill Dispersant* (OSD) dan *Bacillus subtilis* CYA27

Kurnia Yati<sup>1\*</sup>, Moh. Yani<sup>2</sup>, Anas Miftah Fauzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Multidisiplin, Program Studi Bioteknologi, IPB University  
<sup>2</sup>Departemen Ilmu Teknologi Industri, Fakultas Pertanian, IPB University  
Jl. Dramaga kampus IPB, Dramaga, Bogor, Jawa Barat 16680 Indonesia  
Corresponding author, e-mail: kurniyati86@gmail.com

**ABSTRAK:** Tumpahan minyak di perairan merupakan permasalahan lingkungan yang serius dan memerlukan penanganan yang cepat serta efektif. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas kombinasi oil spill dispersant (OSD) dan bakteri *Bacillus subtilis* CYA27 dalam proses bioremediasi minyak bumi pada skala laboratorium. Dua jenis OSD digunakan, yaitu Bio-OSD berbahan dasar olein sawit dan non-Bio-OSD berbasis turunan minyak bumi. Bioremediasi dilakukan dengan variasi rasio OSD terhadap minyak (Dispersant to Oil Ratio/DOR) sebesar 0,1:1, 0,5:1, dan 1:1. Efektivitas biodegradasi dievaluasi melalui pengukuran total petroleum hydrocarbon (TPH) dan analisis GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan Bio-OSD + *B. subtilis* CYA27 pada DOR 0,5:1 menghasilkan efisiensi degradasi tertinggi, yaitu sebesar 68,5%. Ini ditandai dengan hilangnya senyawa hidrokarbon rantai panjang (C16–C44) pada kromatogram GC-MS. Fase eksponensial pertumbuhan *B. subtilis* CYA27, yang terjadi antara jam ke-3 hingga jam ke-45, menunjukkan peningkatan signifikan dalam jumlah sel. Selama proses bioremediasi, nilai pH tetap berada dalam kisaran optimal (7,15–8,59), yang mendukung aktivitas metabolik bakteri. Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi antara Bio-OSD dan *B. subtilis* CYA27 merupakan pendekatan yang efektif dan berpotensi sebagai strategi berkelanjutan dalam penanggulangan tumpahan minyak di lingkungan perairan.

**Kata kunci:** Bioremediasi; *Bacillus subtilis* CYA27; *Oil Spill Dispersant*; Total petroleum hidrokarbon

### ***Effectiveness of Bioremediation of Crude Oil-Contaminated Seawater using Oil Spill Dispersant (OSD) and Bacillus subtilis CYA27***

**ABSTRACT:** The oil spills in aquatic environments represent a serious ecological threat that requires rapid and effective mitigation. This study evaluated the effectiveness of combining oil spill dispersant (OSD) and *Bacillus subtilis* CYA27 for crude oil bioremediation under laboratory conditions. Two types of OSD were tested: Bio-OSD derived from palm olein and non-Bio-OSD based on petroleum derivatives. Bioremediation was conducted at dispersant-to-oil ratios (DOR) of 0.1:1, 0.5:1, and 1:1. Biodegradation efficiency was assessed through total petroleum hydrocarbon (TPH) measurement and GC-MS analysis. The treatment with Bio-OSD and *B. subtilis* CYA27 at a DOR of 0.5:1 achieved the highest degradation efficiency (68.5%), characterized by the disappearance of long-chain hydrocarbons (C16–C44) in the GC-MS chromatogram. The exponential growth phase of *B. subtilis* CYA27, occurring between 3 and 45 h, was marked by a significant increase in cell density. Throughout bioremediation, pH remained within the optimal range (7.15–8.59), supporting bacterial metabolic activity. The findings demonstrate that the combined application of Bio-OSD and *B. subtilis* CYA27 is an effective and sustainable strategy for mitigating oil spills in aquatic environments.

**Keywords:** Bioremediation; *Bacillus subtilis* CYA27; oil spill dispersant; Total petroleum hidrokarbon

## PENDAHULUAN

Kegiatan pengolahan minyak bumi, seperti eksplorasi, produksi, distribusi, dan pemanfaatannya menghasilkan limbah yang berdampak negatif terhadap kualitas lingkungan, baik langsung maupun

tidak langsung. Keberadaan minyak yang terlalu lama di perairan membuat sifat fisik dan kimia minyak berubah menyebabkan beberapa komponen minyak mengendap di dasar laut dan sebagian minyak mengapung di atas permukaan (Al-marri *et al.*, 2023). Minyak yang mengapung akan mencemari pantai akibat pengaruh dari pasang surut, gelombang dan arah angin yang membawa polutan. Hal ini dapat mengganggu organisme fotosintetik baik di permukaan maupun di dasar laut. Keberadaan minyak yang berlangsung lama di perairan dapat menghambat masuknya cahaya, serta peningkatan efek toksik dari *crude oil* (De-Miguel-Jimenez *et al.*, 2021). Minyak yang mencemari permukaan air akan membentuk lapisan kedap yang menghambat pertukaran gas dan masuknya sinar matahari, sehingga menghambat proses degradasi alami (Adofo *et al.*, (2022).

*Crude oil* didominasi oleh hidrokarbon aromatik dan alifatik yang termasuk dalam kelompok bahan pencemar yang sulit terdegradasi, memiliki kelarutan yang rendah, dan bersifat non polar (Sattar *et al.*, 2022). Keberadaan limbah minyak bumi di perairan laut menjadi masalah serius bagi lingkungan karena tingkat toksisitas tinggi serta berdampak pada kelangsungan hidup organisme akuatik. Beberapa teknik telah dilakukan untuk mengatasi tumpahan minyak di perairan yaitu dengan metode fisika, kimia, dan biologi. Ekstraksi fisik menggunakan perangkap minyak, penguapan, dan pemisahan dengan membran ultrafiltrasi. Penanganan secara kimia dilakukan dengan mendispersi tumpahan minyak menggunakan bahan kimia dengan penggunaan surfaktan (Colvin *et al.*, 2020). Teknik penanganan tumpahan minyak dapat dilakukan dengan cara kombinasi teknik kimia dan biologi untuk mempercepat penanganan kontaminasi minyak di lingkungan.

Teknik bioremediasi merupakan solusi efektif untuk mengatasi tumpahan minyak di laut dengan memanfaatkan bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon. Bakteri menggunakan senyawa hidrokarbon untuk sumber makanan dan energi. Selain itu, bakteri memiliki sifat adaptasi yang baik terhadap lingkungan tercemar minyak sehingga bakteri dapat mengaktifkan enzim-enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan dan meningkatkan laju biodegradasi (Rabodonirina *et al.*, 2019; Kaur & Gupta 2024). Peningkatan proses bioremediasi air tercemar minyak bumi dapat menggunakan surfaktan sebagai pengemulsi. Surfaktan merupakan senyawa kimia yang terdiri dari molekul amfipatik mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik. Molekul tersebut dapat mengurangi tegangan permukaan dan antar muka, menyebabkan minyak pecah menjadi butiran mikro emulsi, sehingga hidrokarbon larut dalam air (Surubbo *et al.*, 2022; Yadav *et al.*, 2021).

Surfaktan merupakan bahan yang dapat disintesis dari minyak bumi maupun minyak nabati, salah satunya minyak kelapa sawit. Surfaktan yang digunakan untuk formulasi *oil spill dispersant* (OSD) adalah surfaktan dietanolamida (DEA) dan metil ester sulfonat (MES) (Adlina *et al.*, 2017). Fungsi OSD mengurangi tegangan permukaan antarmuka air dan minyak, sehingga membentuk tetesan minyak berukuran kecil yang lebih mudah dibiodegradasi oleh bakteri (Liu dan Callies 2019). Berdasarkan hasil penelitian Aziz *et al.* (2020), pemberian OSD yang disintesis dari turunan minyak sawit bersama *Bacillus megaterium* mampu mendegradasi hidrokarbon pada tanah tercemar minyak bumi sebesar 54,30%. Hal ini menunjukkan potensi surfaktan berbasis minyak nabati sebagai alternatif yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Cahyani *et al.* (2022) melaporkan bahwa pemberian OSD SBRC dan bakteri *Bacillus subtilis* CYA27 mampu mendegradasi cemaran minyak bumi pada pasir hingga 56,36%. Berdasarkan temuan tersebut, maka perlu dilakukan uji bioremediasi pada perairan laut untuk mengevaluasi kemampuan degradasi oleh *Bacillus subtilis* CYA27 pada cemaran minyak bumi menggunakan OSD.

Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas dua jenis *oil spill dispersant* (OSD) dalam proses dispersi minyak di lingkungan perairan, yaitu OSD berbahan dasar olein sawit (nabati) dan OSD berbahan dasar petroleum (sintetik). Penelitian ini mengkaji kemampuan biodegradasi *Bacillus subtilis* CYA27 terhadap senyawa-senyawa hasil dispersi dari masing-masing jenis OSD, guna menilai potensi bioremediasi secara terpadu antara agen kimia dan biologis.

## MATERI DAN METODE

Uji bioremediasi dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan sumber daya Lahan Fakultas Pertanian IPB. Air laut diperoleh dari laut Jawa Barat Bekasi dan di sterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 120°C. Kontaminan yang digunakan berupa

*crude oil* jenis medium light (2%). *Oil spill dispersant* (OSD) yang digunakan terdiri dari dua jenis, yaitu non-Bio-OSD berbahan dasar petroleum (komersial) dan Bio-OSD berbahan dasar olein sawit, yang mengandung Dietanolamida (DEA) dan Metil Ester Sulfonat (MES) (Paten No. IDP000057788). Peralatan utama yang digunakan meliputi autoklaf, *stirrer*, *shaker*, spektrofotometer, mikroskop, *laminar air flow* dan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS).

Isolat bakteri yang digunakan adalah *B. subtilis* CYA27, hasil isolasi dari pantai tercemar *crude oil* penelitian Cahyani *et al.* (2022). Peremajaan isolat dilakukan dengan menumbuhkan *B. subtilis* CYA27 pada media nutrient broth (NB) selama tiga hari, kemudian sel bakteri dipanen menggunakan centrifuge. Sebanyak 1 mL kultur bakteri diinokulasikan ke dalam erlenmeyer 1000 mL yang berisi 100 mL media oil broth dengan tambahan yeast extract. Kultur bakteri diinkubasi selama 24 jam pada *shaker* (120 rpm, 30°C), kemudian dijemur dan *optical density* (OD<sub>600</sub>) diukur serta populasi bakteri dihitung menggunakan metode cawan tuang. Kurva standar dibuat dengan memplot OD<sub>600</sub> (sumbu x) terhadap jumlah koloni (CFU/mL, sumbu y). Kurva pertumbuhan diperoleh dari pengukuran OD<sub>600</sub> secara berkala selama inkubasi, dengan waktu sebagai sumbu x dan OD sebagai sumbu y.

Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi kinerja *oil spill dispersant* (OSD) dalam mendispersikan minyak di perairan, serta mengkaji kemampuan biodegradasi *B. subtilis* CYA27 dalam mengakumulasi senyawa hasil dispersi OSD. percobaan dilakukan menggunakan erlenmeyer 1000 mL dengan kapasitas kerja 150 mL. Pengujian dilakukan dengan rasio antara penambahan OSD terhadap jumlah cemaran *crude oil* (*Dispersant to Oil Ratio/DOR*) sebesar 0,1:1; 0,5:1 dan 1:1, (Tabel 1). OSD dan *crude oil* dicampur, campuran dihomogenkan selama 30 menit. Kultur *B. subtilis* CYA27 ditambahkan sebanyak 9% v/v ke dalam masing-masing erlenmeyer, dan campuran kembali dihomogenkan menggunakan *shaker* 120 rpm pada suhu ruang. Parameter biodegradasi diamati selama 14 hari. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan pH dan pertumbuhan populasi bakteri yang diukur pada hari ke-0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, dan 14. Analisis total petroleum hidrokarbon dan analisis komponen minyak dilakukan sebelum dan setelah bioremediasi, menggunakan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS AGILENT 5973).

Nilai pH diukur menggunakan *hand electrode* pH mengacu pada standar pengukuran meter air dan limbah bagian 11 cara uji derajat keasaman (pH) SNI 2019. Pengukuran pertumbuhan populasi bakteri dilakukan untuk mengetahui total populasi mikroba yang digunakan sebagai agen biodegradasi setelah inokulasi pada air yang tercemar *crude oil* dan penambahan *oil spill dispersant* (OSD). Perhitungan dilakukan secara langsung menggunakan *petroff-hausser counting chamber*. Kemudian, dilakukan perhitungan sel sebanyak 5 kotak dengan mikroskop (Vembadi *et al.*, 2019). Hasil dari perhitungan pertumbuhan populasi bakteri dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Number of Bacteria/mL} = \frac{\text{Number of cells counted}}{\text{Volume of area counted}}$$

**Tabel 1.** Komposisi dari masing-masing perlakuan uji Bioremediasi

Perlakuan	Kode		<i>Dispersant to Oil Ratio</i> (DOR)
Kontrol	S0P1		-
Bio-OSD	S1P0	S1P1	0,1:1
	S2P0	S2P1	0,5:1
	S3P0	S3P1	1:1
non-Bio-OSD	N1P0	N1P1	0,1:1
	N2P0	N2P1	0,5:1
	N3P0	N3P1	1:1

Analisis TPH dilakukan dengan uji total hidrokarbon pada sampel berdasarkan pengukuran TPH cair USEPA Method nomor 9071B :1999. Kadar minyak dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\%TPH = \frac{\text{Residue weight}}{\text{Sample Weight}} \times 100\%$$

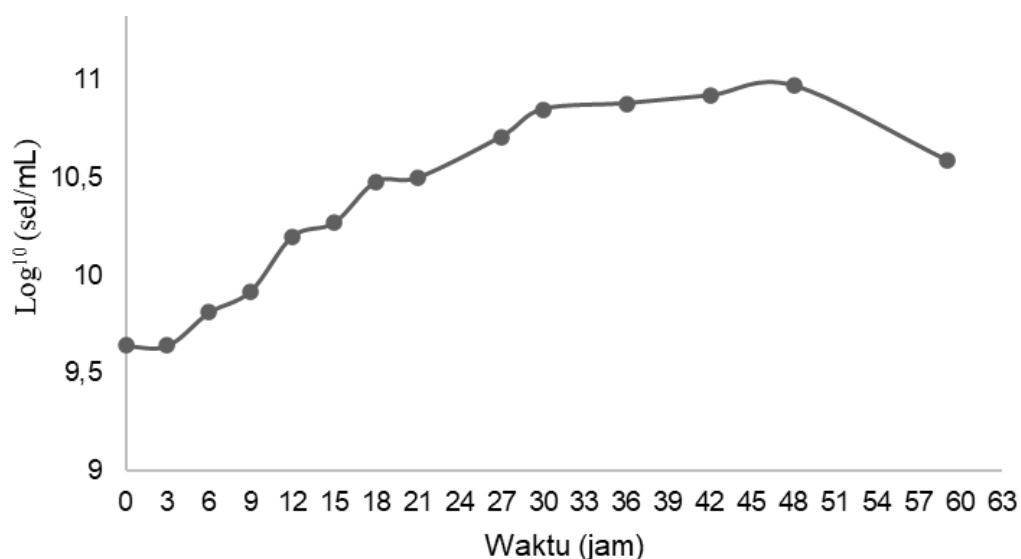
Analisis data statistik dilakukan menggunakan program SPSS (*Statistical Package For The Social Sciences* Fersi 25). Data dianalisis dengan analisis varians (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva pertumbuhan populasi *B. subtilis* CYA27 menggambarkan dinamika pertumbuhan bakteri dari fase adaptasi hingga fase kematian (Gambar 1). Pola pertumbuhan khas terlihat dari jam ke-0 hingga jam ke-54. Pertumbuhan dimulai dengan fase lag (jam 0-3), dimana bakteri beradaptasi terhadap lingkungan baru tanpa peningkatan jumlah sel yang signifikan. Pertumbuhan logaritmik yang pesat terjadi pada fase eksponensial (jam ke-3 hingga ke-45) karena kondisi lingkungan mendukung secara optimal.

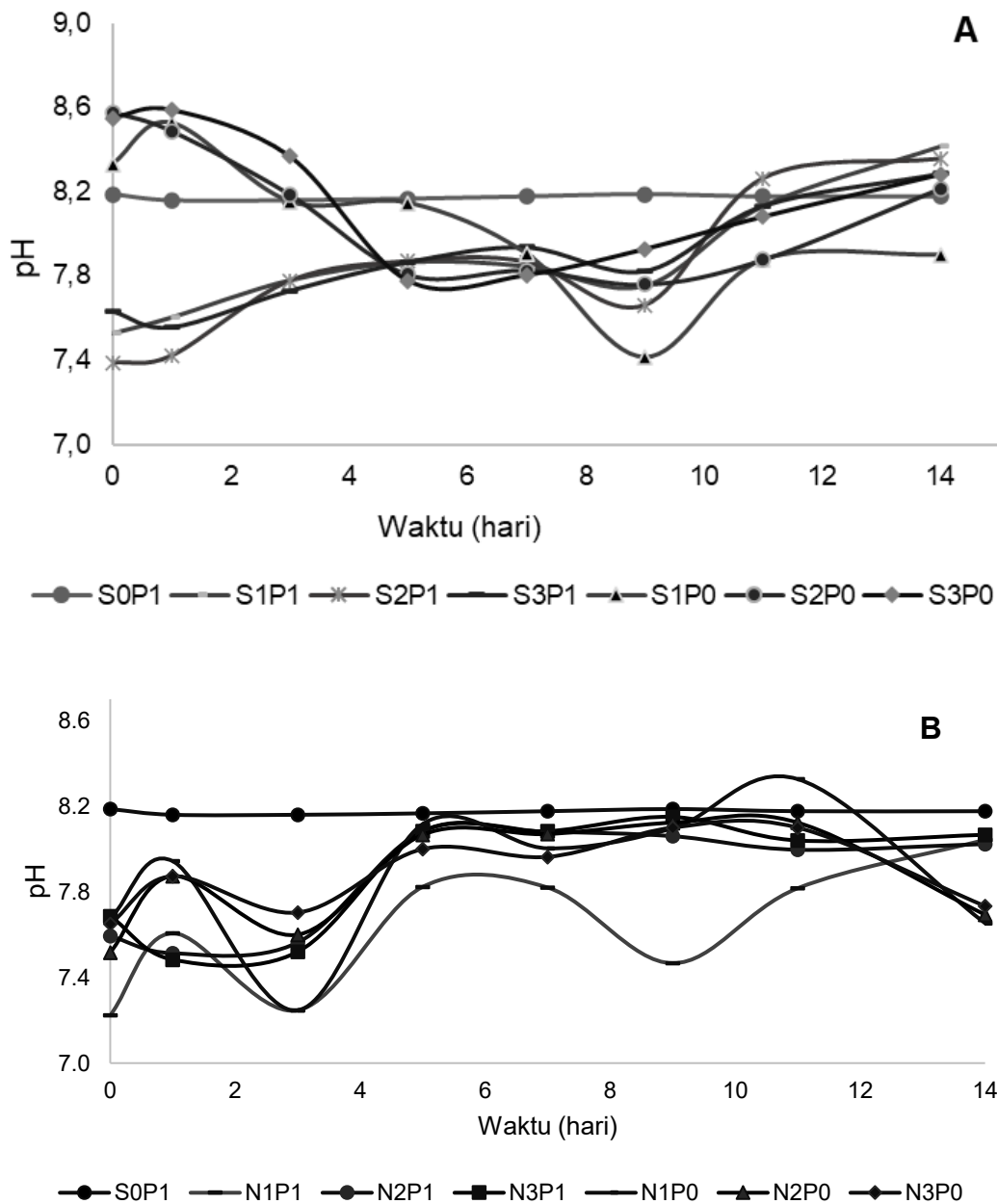
Pertumbuhan melambat dan mencapai fase stasioner (jam 45-48) di mana jumlah sel yang terbentuk sama dengan jumlah sel mati. Fase kematian (jam 48-54) ditandai dengan penurunan tajam jumlah sel akibat kekurangan sumber daya dan kondisi lingkungan yang tidak mendukung. Proses bioremediasi menggunakan *B. subtilis* CYA27 diawali dengan penentuan kurva pertumbuhan untuk memperoleh waktu inkubasi yang optimal. Penambahan *B. subtilis* CYA27 sebagai agen pendegradasi dilakukan pada fase eksponensial, karena pada fase ini bakteri menunjukkan laju pembelahan sel yang tinggi, telah beradaptasi dengan lingkungan, serta memiliki aktivitas metabolisme yang maksimal.

Proses bioremediasi menggunakan *B. subtilis* CYA27 diawali dengan penentuan kurva pertumbuhan untuk memperoleh waktu inkubasi yang optimal. Penambahan *B. subtilis* CYA27 sebagai agen pendegradasi dilakukan pada fase eksponensial, karena pada fase ini bakteri menunjukkan laju pembelahan sel yang tinggi, telah beradaptasi dengan lingkungan, serta memiliki aktivitas metabolisme yang maksimal (Eghtesadi *et al.*, 2024).



**Gambar 1.** Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* CYA27

Nilai pH merupakan parameter penting yang mempengaruhi reaksi kimia, seperti hidrolisis dan oksidasi-reduksi. Pengukuran awal pH Bio-OSD menunjukkan pH dengan kisaran 7,20-8,60. Hasil ini merupakan pH tahap awal pertumbuhan bakteri pendegradasi (Gambar 2 A). Pengamatan hari berikutnya sampai hari ke-14 menunjukkan nilai pH berfluktuasi pada kisaran 7,15-8,59. Sementara itu, nilai pH non-Bio-OSD pada pengukuran awal berada pada kisaran 7,20-8,25 (Gambar 2 B). Secara keseluruhan, hari pertama sampai dengan hari ke-14 pengamatan non-Bio-OSD menunjukkan nilai pH berfluktuasi berada pada kisaran 7,61-8,33. Kedua pH pada sampel Bio-OSD dan non-Bio-OSD menunjukkan pH berfluktuasi jika dibandingkan dengan pH kontrol yaitu air (S0P1) yang cenderung konstan. Nilai pH mempengaruhi cara kerja bakteri pada proses adaptasi karena proses degradasi berlangsung secara bertahap, *B. subtilis* CYA27 memiliki nilai pH optimal yaitu di atas pH 8. Hasil ini mengindikasikan bahwa kedua OSD masih berada pada kondisi optimum untuk pertumbuhan *B. subtilis* CYA27.

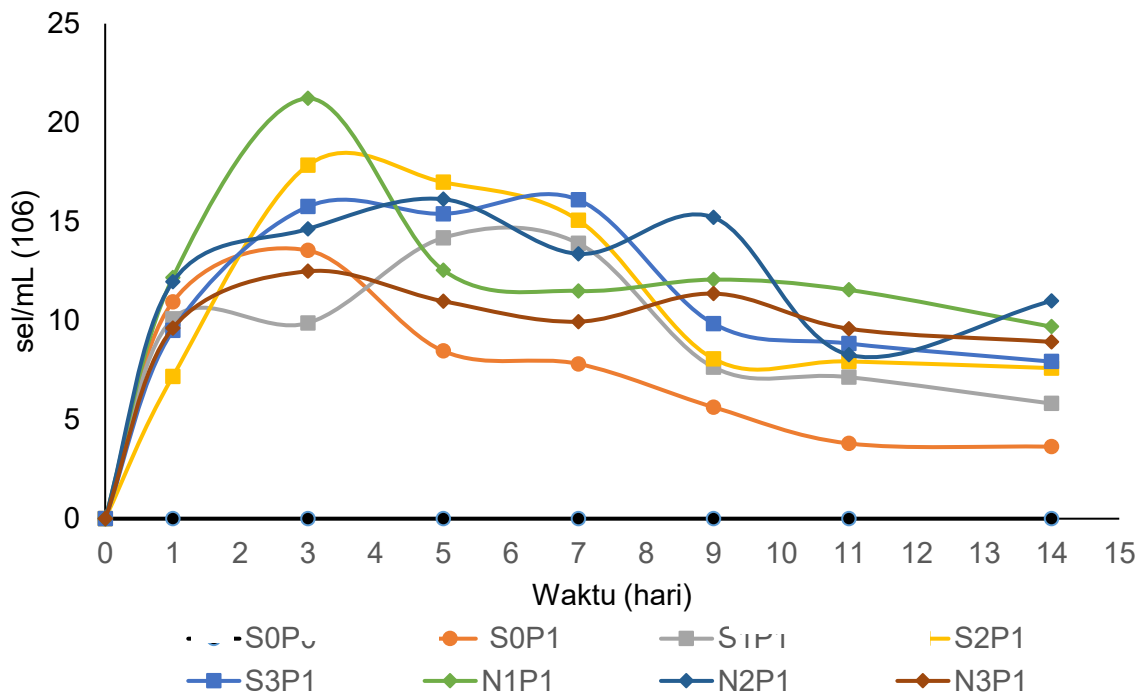


**Gambar 2.** Nilai perubahan pH bioremediasi pada Bio-OSD (A) dan non-Bio-OSD (B)

Nilai pH yang memenuhi standar bioremediasi penting menunjang aktivitas enzimatik bakteri selama proses biodegradasi. Kisaran pH untuk Bio-OSD dan non-Bio-OSD berada pada kisaran 5,07–9,12, sehingga mendukung proses degradasi hidrokarbon secara efisien. Berdasarkan Ubani dan Astagana (2024) fluktuasi pH terjadi karena aktivitas mikroba yang melepaskan metabolit dengan efek pH asam atau basa yang disebabkan oleh penggunaan nutrisi dan degradasi *crude oil*. Peningkatan pH selama proses degradasi menunjukkan adanya aktivitas metabolik bakteri melalui mekanisme pompa hidrogen, yang berperan dalam menjaga keseimbangan keasaman pada lingkungan. Mekanisme tersebut melibatkan pertukaran ion kalium (K<sup>+</sup>) dari dalam sel dengan ion hidrogen (H<sup>+</sup>) di lingkungan, sehingga tingkat keasaman menurun (Nugroho 2016). Fluktuasi pH selama proses degradasi dapat disebabkan oleh berbagai faktor salah satunya adalah konsentrasi dan jenis polutan yang digunakan. Konsentrasi polutan dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme *B. subtilis* CYA27, karena beberapa senyawa polutan dapat terurai menjadi produk bersifat asam dan produk lain yang bersifat basa (Kumari & Candra 2023).

**Perubahan populasi bakteri pada bioremediasi air laut tercemar *crude oil***

Pertumbuhan mikroorganismen merupakan indikator terjadinya proses biodegradasi. Pengamatan awal menunjukkan populasi bakteri berada pada kisaran 12 x 10<sup>6</sup> sel/mL hingga 70 x 10<sup>6</sup> sel/mL (Gambar 3). Pengaruh waktu pada proses bioremediasi terhadap perubahan populasi bakteri pada semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, yang mengalami penurunan jumlah sel lebih awal. Hari ketiga pengamatan untuk semua perlakuan bioremediasi menunjukkan fluktuasi jumlah sel yang cukup signifikan, berkisar antara 9,8 x 10<sup>6</sup> sel/mL hingga 21x10<sup>6</sup> sel/mL. Kenaikan jumlah sel pada percobaan mengindikasikan sebagian bakteri memasuki fase eksponensial, yang disebabkan oleh aktivitas pembelahan sel bakteri yang mulai cepat. Namun, seiring berjalannya waktu, jumlah sel bakteri pada semua perlakuan mulai menunjukkan penurunan yang signifikan, meskipun pada sampel kontrol, yaitu air + *B. subtilis* CYA27 (S0P1), penurunan jumlah sel terjadi lebih cepat. Hal ini mengindikasikan bahwa *B. subtilis* CYA27 memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap lingkungan tercemar.



**Gambar 3.** Pengaruh waktu bioremediasi air tercemar *crude oil* terhadap perubahan populasi bakteri

Awal inokulasi (hari ke-0 hingga hari ke-1), populasi bakteri sebagian besar menunjukkan fase lag, merupakan fase terjadinya sedikit atau tidak ada peningkatan jumlah sel. Hasil menunjukkan *B. subtilis* CYA27 sedang beradaptasi terhadap senyawa hidrokarbon yang terkandung pada media. Menurut Yahya *et al.* (2025) bakteri pendegradasi hidrokarbon membutuhkan waktu adaptasi sebelum mampu memecah rantai karbon secara efektif, hal tersebut berkaitan dengan penurunan konsentrasi TPH yang relatif kecil pada dua hari pertama. Peningkatan populasi bakteri setelah fase lag, yang mencapai puncak pada hari ke-3 hingga ke-7, menunjukkan bahwa bakteri telah memasuki fase eksponensial dan mulai aktif memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon

Proses adaptasi bakteri terhadap hidrokarbon sering kali melibatkan aktivitas enzim spesifik diantaranya monooksigenase, dioksigenase, dan alkana hidroksulase. Enzim berperan dalam memecah senyawa hidrokarbon menjadi senyawa sederhana dan tidak sulit untuk didegradasi. Enzim tersebut akan terinduksi ketika bakteri mulai terpapar senyawa hidrokarbon (Karishma *et al.*, 2024). Dalam kondisi tertentu, paparan awal hidrokarbon dapat memicu bakteri untuk menggunakan senyawa tersebut sehingga meningkatkan laju degradasi bakteri karena sistem metaboliknya telah terbentuk. *Bacillus* sp. diketahui mampu memproduksi biosurfaktan yang digunakan untuk emulsi dan pemecahan senyawa *crude oil* (Abubakar *et al.*, 2023).

*Bacillus* sp. mampu memanfaatkan hidrokarbon sebagai substrak pertumbuhan melalui pelepasan enzim seperti glikolipid dan asam ekstraseluler, memecah rantai panjang karbon hidrogen dalam hidrokarbon menjadi bentuk sederhana (Elhamrouni *et al.*, 2025). Berdasarkan Ezhilkumar *et al.* (2023) bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat memetabolisme senyawa organik mudah menguap yang mudah dijumpai pada lingkungan terkontaminasi minyak. VOC merupakan salah satu senyawa yang mampu dioksidasi melalui respirasi seluler sehingga menghasilkan energi (ATP).

Bakteri pendegradasi hidrokarbon seperti *Bacillus* sp. mempunyai mekanisme dalam mendegradasi *crude oil* yang melibatkan bakteri terlebih dahulu memproduksi biosurfaktan. Senyawa ini terdiri dari senyawa amfipatik dapat menurunkan tegangan permukaan antara air dan minyak, sehingga bakteri mudah mengakses dan mengakumulasi *crude oil* (Massarweh & Abushaikha 2024). Selanjutnya bakteri mendegradasi hidrokarbon melalui tahap oksidasi, bakteri mulai menggunakan enzim tertentu untuk menguraikan senyawa tersebut dalam kondisi aerobik. Terjadi mineralisasi menghasilkan produk akhir CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O jika degradasi sempurna. Terbentuk senyawa antara dan asam organik jika proses degradasi tidak lengkap (Kuang *et al.*, 2022).

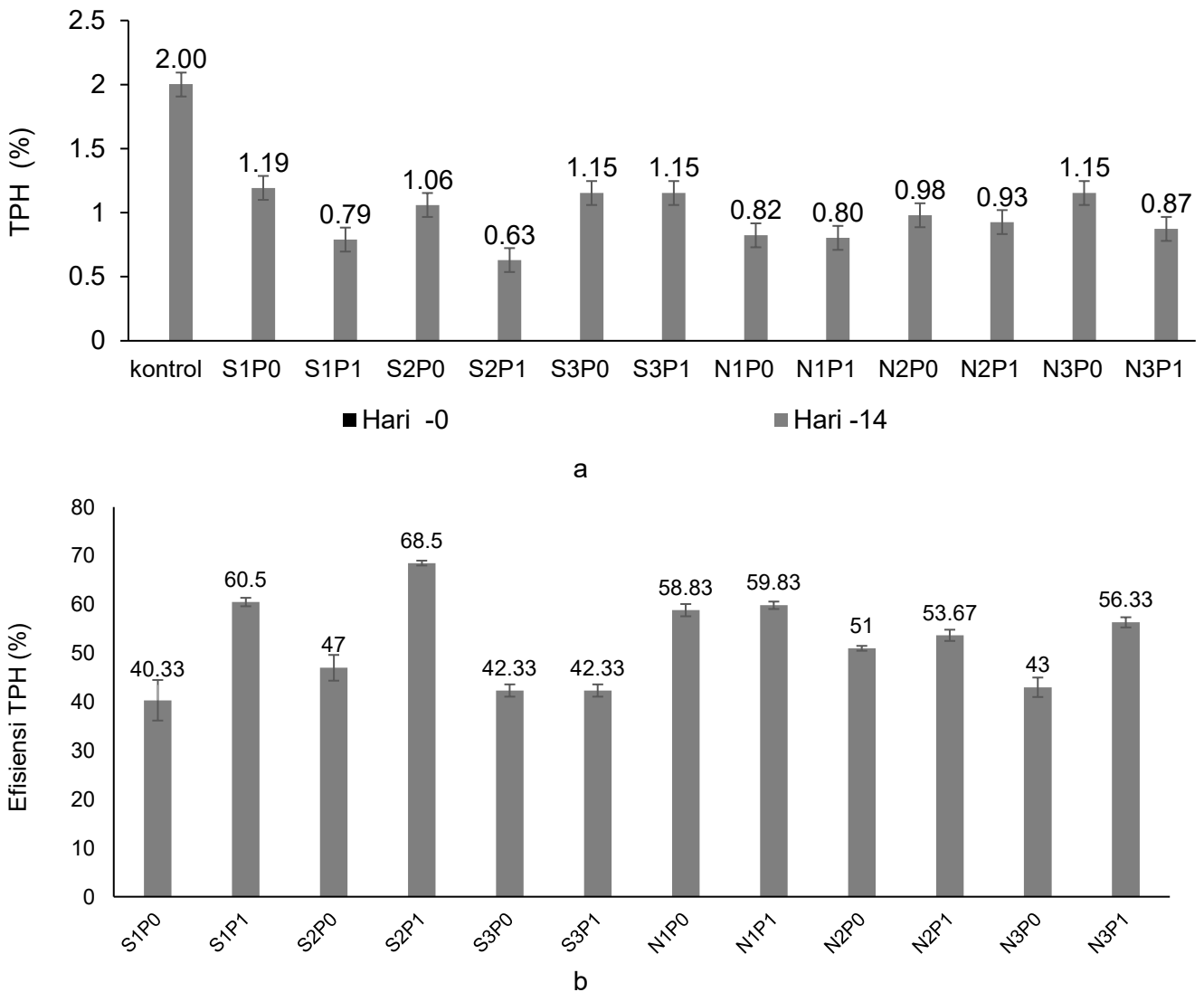
Penurunan konsentrasi senyawa hidrokarbon dalam media yang disebabkan aktivitas bakteri mengakumulasi menyebabkan laju degradasi juga ikut menurun (Yadav *et al.*, 2021). Berdasarkan Ganesa *et al.* (2021), banyak variabel yang mempengaruhi laju degradasi diantaranya perbedaan *dispersan to oil ratio* (DOR) pada masing-masing perlakuan dan sifat dari polutan yang digunakan. Penelitian ini menunjukkan penambahan *B. subtilis* CYA27, baik dengan Bio-OSD dan non-Bio OSD, dapat memperpanjang fase pertumbuhan dan menunda fase kematian bakteri.

Hasil pengukuran efisiensi penurunan TPH bioremediasi menggunakan produk Bio-OSD dan non-Bio-OSD dengan tambahan bakteri *B. subtilis* CYA27 (Gambar 4). Degradasi TPH di hari ke 14 mengindikasikan perlakuan jenis OSD dan DOR OSD berpengaruh signifikan terhadap penurunan TPH. Hasil analisis menunjukkan penambahan Bio-OSD maupun non-Bio-OSD, secara signifikan meningkatkan efisiensi degradasi hidrokarbon. Perlakuan dengan persentase degradasi tertinggi pada perlakuan S2P1 (DOR 0,5:1) sebesar 68,5%, untuk degradasi terendah pada perlakuan S1P0 (DOR 0,1:1) sebesar 40,33%. Kelompok dengan penambahan non-Bio-OSD menunjukkan persentase degradasi tertinggi pada N1P1 (DOR 0,1:1) sebesar 59,83% untuk efisiensi terendah perlakuan N3P0 (DOR 1:1) sebesar 42,33%. Perlakuan dengan penambahan *B. subtilis* CYA27 cenderung menunjukkan penurunan degradasi TPH lebih signifikan jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan bakteri.

Nilai TPH merupakan parameter penting dalam menentukan keberhasilan bioremediasi terhadap cemaran *crude oil*. OSD berperan penting meningkatkan luas permukaan kontak antara bakteri dan minyak dengan cara memecah minyak menjadi partikel kecil (Surobbo *et al.*, 2022). Pemecahan senyawa hidrokarbon oleh OSD memungkinkan bakteri mudah mengakses dan mendegradasi senyawa hidrokarbon pada media. Spesies *B. subtilis* merupakan jenis bakteri yang umum ditemukan pada ekosistem perairan tercemar minyak bumi dan memiliki kemampuan untuk

memanfaatkan hidrokarbon sebagai substrak pertumbuhannya (Rabodonerina *et al.*, 2019; Tadesco *et al.*, 2024).

Penggunaan OSD dalam bioremediasi bertujuan untuk mempercepat cara kerja bakteri dalam mengakumulasi sumber kontaminan. Bio-OSD merupakan pendispersi yang terbuat dari olein sawit sebagai bahan baku utama dalam pembuatan surfaktan. Olein sawit mengandung asam lemak yang mudah didegradasi bakteri. Methyl Ester Sulfonate (MES) merupakan komponen utama dari Bio-OSD yang disintesis dari olein sawit. Senyawa ini memiliki karakteristik biodegradabilitas tinggi serta bersifat anionik yang efektif dalam mengemulsi minyak (Elvina *et al.*, 2016; Adlina *et al.*, 2017). Dispersan jenis non-Bio-OSD disintesis dari turunan minyak bumi mengandung senyawa alkana yang merupakan komponen hidrokarbon jenuh memiliki struktur kimia rantai lurus atau bercabang yang sederhana dan terdiri dari atom karbon (C) dan atom hidrogen (H). Struktur tersebut yang membuat alkana stabil dan banyak ditemukan pada produk turunan dari *crude oil* (Gallego *et al.*, 2022). Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) merupakan bahan yang digunakan dalam produk non-Bio-OSD yang disintesis dari *crude oil*. Biodegradasi senyawa LAS akan terjadi secara efektif di lingkungan perairan jika digunakan dalam konsentrasi yang rendah. Namun, penggunaan dalam konsentrasi tinggi LAS dapat menghambat kerja bakteri dalam mendegradasi karena bersifat toksik bagi bakteri terutama pada senyawa alkana rantai panjang (Liu & Callies 2019).



**Gambar 4.** Nilai TPH (a) dan Efisiensi penurunan TPH (b) pada masing-masing perlakuan bioremediasi



Analisis lanjut menggunakan uji tukey menunjukkan bahwa perlakuan Bio-OSD (DOR 0,5:1) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Hasil ini mengindikasikan Bio-OSD berbahan dasar olein sawit dapat diakumulasi dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri yang menunjukkan sifat biodegradabel. Selain itu, spesies *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang banyak ditemui pada kondisi lingkungan tercemar minyak bumi yang membuat bakteri ini memiliki kemampuan untuk bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrim (Tomathran *et al.*, 2022).

Perbandingan beberapa penelitian terdahulu terkait penerapan bioremediasi terhadap pencemaran *crude oil* menggunakan *oil spill dispersant* dan bakteri (Tabel 2). Media bioremediasi yang digunakan dalam penelitian yaitu tanah, air, maupun sistem bioslurry. Formulasi dispersan dan jenis bakteri yang digunakan menunjukkan pengaruh signifikan terhadap efektivitas biodegradasi. Penelitian oleh Chanif *et al.* (2017) mencatat efisiensi tertinggi sebesar 89,62% pada media tanah dengan kontaminasi minyak 13%, menggunakan *Pseudomonas* IPBCC.b11662 dan OSD berbasis SBRC, menunjukkan kemampuan bakteri dalam mendegradasi. Sementara itu, *B. subtilis* CYA27 menunjukkan degradasi tinggi pada media tanah sebesar 66,33% (Cahyani *et al.*, 2022) dan jika dilihat dari hasil efisiensi penelitian saat ini dengan media pencemar menggunakan air laut nilai efisiensi sebesar 68,5% pada konsentrasi minyak yang sama dengan pencemar tanah yaitu 2%.

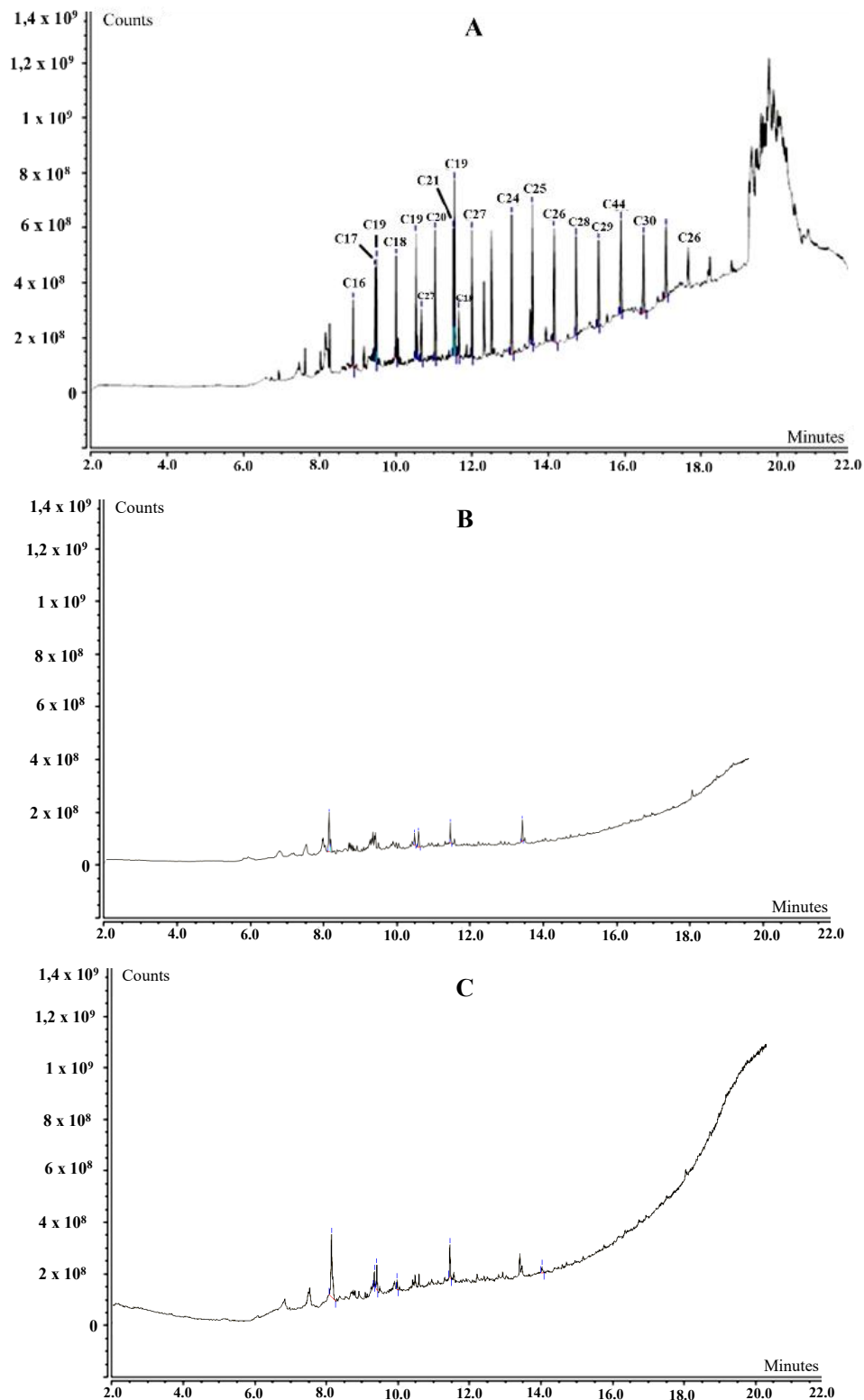
Media bioslurry, Aziz *et al.* (2020) melaporkan nilai efisiensi 54,30% menggunakan *Bacillus megaterium* pada cemaran berat (105.000 mg/kg), yang mengindikasikan bahwa sistem tertutup seperti reaktor lumpur juga dapat mendukung degradasi meski dalam kondisi beban pencemar tinggi. Adlina *et al.* (2017) menunjukkan bahwa biostimulasi tanpa penambahan bakteri spesifik tetap efektif mendegradasi dengan nilai 48,7% menggunakan mikroorganisme lokal pada tanah yang terkontaminasi 5,49% minyak dengan penambahan OSD berbasis kelapa sawit. Jika dibandingkan studi terdahulu, hasil pada penelitian ini yang menggunakan Bio-OSD dan *B. subtilis* CYA27 pada media air laut menunjukkan efisiensi tertinggi kedua, yang mengindikasikan bahwa formulasi dispersan berbahan olein sawit mampu meningkatkan bioavailabilitas minyak dan mendukung aktivitas biodegradasi bakteri secara optimal di lingkungan perairan.

## Perubahan Senyawa Hidrokarbon

Degradasi *crude oil* dapat terjadi selama proses bioremediasi karena adanya aktivitas bakteri yang memanfaatkan karbon pada minyak sebagai substrak pertumbuhan. Selain itu, degradasi juga dapat terjadi karena proses penguapan, oksidasi oleh senyawa kimia serta foto oksidasi. Berdasarkan hasil kromatogram sebelum perlakuan (Gambar 5 A), minyak mentah menunjukkan kandungan hidrokarbon rantai sedang hingga panjang dengan rentang karbon C16 hingga C44, ditandai dengan banyaknya puncak intensitas tinggi pada waktu retensi antara 6 hingga 18 menit.

**Tabel 2.** Ringkasan degradasi TPH oleh bakteri dalam berbagai studi bioremediasi yang menggunakan dispersan untuk mengatasi tumpahan minyak.

Literatur	Bioremediasi	Dispersan	Bakteri	Degradasi TPH (%) dan <i>initial concentration</i>
Penelitian saat ini (2025)	Air laut	Bio-OSD	<i>Bacillus subtilis</i> CYA27	68,5% ( <i>initial</i> TPH: 2%)
Cahyani <i>et al.</i> , (2022)	Tanah	OSD sbrc	<i>Bacillus subtilis</i> CYA27	66,33% ( <i>initial</i> TPH: 2%)
Aziz <i>et al.</i> , (2020)	<i>Bioslurry</i>	OSD sbrc	<i>Bacillus megaterium</i>	54,30% ( <i>initial</i> TPH: 105.000 mg/kg)
Adlina <i>et al.</i> , (2017)	Tanah	OSD sbrc	Indigenous bacteria	48,7% ( <i>initial</i> TPH: 5,49%)
Chanif <i>et al.</i> , (2017)	Tanah	OSD sbrc	<i>Pseudomonas</i> IPBCC.b11662	89,62% ( <i>initial</i> TPH: 13%)



**Gambar 5.** Kromatografi GC-MS (A) *crude oil*, (B) S2P1, dan (C) N1P1 setelah 14 hari bioremediasi.

Senyawa hidrokarbon yang teridentifikasi berdasarkan waktu retensi tersebut antara lain: n-Hexadecane (C16) pada retensi sekitar 6,5 menit, Hexadecane, 2,6,10-trimethyl- (7,2 menit),

Octadecane (C18) (8,2 menit), Nonadecane (C19) (8,9 menit), Eicosane (C20) (9,6 menit), Heneicosane (C21) (10,3 menit), n-Tetracosane (C24) (12,5 menit), Pentacosane (C25) (13,2 menit), n-Hexacosane (C26) (13,8 menit), Heptacosane (C27) (14,5 menit), Octacosane (C28) (15,0 menit), Nonacosane (C29) (15,5 menit), n-Triacontane (C30) (16,3 menit), dan Tetratetracontane (C44) pada puncak tertinggi di sekitar 17,6 menit. Puncak-puncak ini menunjukkan keberadaan senyawa hidrokarbon jenuh (alkana) rantai panjang yang umumnya ditemukan dalam fraksi berat minyak mentah (Gambar 5 A).

Terjadi penurunan drastis terhadap intensitas maupun jumlah puncak senyawa hidrokarbon setelah proses bioremediasi dengan Bio-OSD (Gambar 5 B). Hilangnya puncak-puncak ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut telah mengalami degradasi, diduga kuat karena efek sinergis antara kemampuan emulsifikasi Bio-OSD dan aktivitas mikroorganisme selama bioremediasi. Selain itu, senyawa seperti asam heksadecanoat (hexadecanoic acid) dan beberapa senyawa ester juga tidak terdeteksi kembali, yang mengindikasikan bahwa biodegradasi berlangsung tidak hanya pada alkana tetapi juga pada senyawa turunannya sehingga muncul puncak-puncak kecil baru. Data kromatogram GC-MS sejalan dengan hasil analisis TPH, yang menunjukkan bahwa efisiensi tertinggi diperoleh pada perlakuan menggunakan Bio-OSD.

Perlakuan dengan non-Bio-OSD beberapa senyawa masih menunjukkan keberadaan yang signifikan (Gambar 5 C). Puncak senyawa berat seperti C26–C44 masih terdeteksi pada waktu retensi yang sama, menandakan bahwa proses degradasi belum berlangsung sempurna. Dalam proses ini, sebagian senyawa terurai menjadi senyawa antara senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek. Hal ini menyebabkan munculnya puncak-puncak baru pada kromatogram, berupa hidrokarbon berat dan ringan, yang sebelumnya tidak terdeteksi (Liu *et al.*, 2022). Senyawa yang masih tersisa di akhir bioremediasi dapat dikategorikan sebagai senyawa yang paling sulit terdegradasi. Meskipun bakteri memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon, proses mineralisasi berlangsung bertahap. Hal ini disebabkan oleh kestabilan ikatan tunggal karbon (C-C) pada senyawa alkana rantai panjang, yang sulit diuraikan oleh bakteri, sehingga memperlambat proses degradasi (Ravi *et al.*, 2022).

## KESIMPULAN

Efektivitas bioremediasi tumpahan minyak di perairan dapat ditingkatkan melalui penggunaan OSD, baik berbahan alami (Bio-OSD) maupun sintetis (non-Bio-OSD), yang masing-masing mendukung aktivitas bakteri secara berbeda. Bio-OSD berbahan dasar olein sawit menunjukkan biodegradabilitas total petroleum hidrokarbon tinggi dengan nilai efisiensi 68,5%, didukung oleh hasil GC-MS yang menunjukkan senyawa-senyawa yang memiliki jumlah atom karbon berkisar antara C16 - C44 terpecah menjadi senyawa dengan rantai karbon ringan dan beberapa senyawa tidak terdeteksi setepatrelah proses bioremediasi. Kombinasi OSD dengan bakteri *B. subtilis* CYA27 untuk bioremediasi menunjukkan kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang mengandung hidrokarbon. Fase eksponensial merupakan fase terbaik menambahkan kultur bakteri sebagai agen bioremediasi. Hal ini berkaitan erat dengan proses degradasi TPH, karena peningkatan aktivitas bakteri setelah fase adaptasi akan berdampak pada penurunan konsentrasi TPH secara signifikan. Sejalan dengan respon metabolik dari perubahan pH normal pada kisaran 7,15-8,59 masih berada dalam rentang pH optimal bagi aktivitas bakteri untuk memproduksi enzim tertentu yang membantu senyawa hidrokarbon terpecah. Secara keseluruhan, pendekatan kombinasi *B. subtilis* CYA27 dan OSD, terutama Bio-OSD, memberikan hasil yang menjanjikan dalam menangani tumpahan minyak di perairan secara ramah lingkungan dan berkelanjutan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Inovasi IPB atas dukungan pendanaan melalui Skema Riset Kolaborasi Nasional Tahun 2024 Nomor: 46/IT3D10/PT.01.03/P/B/2023 dan seluruh staff serta teknisi Laboratorium Bioteknologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

---

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abubakar, A., Abioye, O.P., Aransiola, S.A., Maddela, N.R., & Prasad, R. 2024. Crude oil biodegradation potential of lipase produced by *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hydrocarbon contaminated soil. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 6: 26–32. DOI: 10.1016/j.eneco.2023.12.001.
- Adlina, S., Hambali, E., & Yani, M. 2017. Oil spill dispersant formulation from Diethanolamine (DEA) and Methyl Ester Sulfonate (MES) for bioremediation process, *Chemical and Process Engineering*, 53(1): 1–12.
- Adofo, Y.K., Nyankson, E., & Agyei-Tuffour, B. 2022. Dispersants as an oil spill clean-up technique in the marine environment: a review, *Heliyon*, 8(8): 1–19. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10153.
- Al-Marri, S., Eldos, H.I., Ashfaq, M.Y., Saeed, S., Skariah, S., Varghese, L., Mohamoud, Y.A., Sultan, A.A., & Raja, M.M. 2023. Isolation, identification, and screening of biosurfactant-producing and hydrocarbon-degrading bacteria from oil and gas industrial waste. *Biotechnology Reports*, 39: 1–14. DOI: 10.1016/j.btre.2023.e00804.
- Aziz, M.A., Yani, M., & Syakti, A.D. 2020. Optimization and performance test of oil spill dispersant at bioremediation of contaminated soil with heavy oil by bioslurry technique. *Journal of Tropical Soils*, 25: 1–10. DOI: 10.5400/jts.2020.v25i1.1-10.
- Cahyani, C.N., Ismayana, A., & and Yani, M. 2022. Crude oil biodegradation potential using *Acinetobacter baumannii* CYA20 and *Bacillus subtilis* CYA27 from the Bekasi coast, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences*, 29: 1–11. DOI: 10.4308/hjb.29.5.701-711.
- Chanif, I., Hambali, E., & Yani, M. 2017. Kinerja *oil spill dispersant* dalam proses bioremediasi tanah tercemar minyak bumi (studi kasus tanah tercemar minyak bumi lapangan xyz), *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 27(3): 336–344
- Colvin, K.A., Lewis, C., & Galloway, T.S. 2020. Current Issues Confounding the Rapid Toxicological Assessment of Oil Spills. *Chemosphere*, 245: 1–12. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125585.
- DeMiguel-Jiménez, L., Etxebarria, N., Lekube, X., Izagirre, U., & Marigómez, I. 2021. Influence of dispersant application on the toxicity to sea urchin embryos of crude and bunker oils representative of prospective oil spill threats in arctic and sub-arctic seas, *Marine Pollution Bulletin*, 172: 1–13. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2021.112922.
- Eghtesadi, N., Olaifa, K., Pham, T.T., Capriati, V., Ajunwa, O.M., & Marsili, E. 2024. Osmoregulation by choline based deep eutectic solvent induces electroactivity in *Bacillus subtilis* biofilms. *Enzyme and Microbial Technology*, 17: 1–10. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2024.110485.
- Elhamrouni, I.A., Ishak, M.Y., Kadhum, S.A., Wan Johari, W.L., Halimoon, N., Jaber, S.M., & Alhammadi, E. 2025. Optimization and modeling of used engine oil hydrocarbons degradation by *Ochrobacterium Intermedium* LMG 3301 using response surface methodology. *Advances in Environmental Sciences*, 13: 1–16. DOI: 10.1016/j.teadva.2025.200121.
- Elvina, W., & Hambali, E. 2017. Formulasi dispersan minyak bumi dari surfaktan dietanolamida (Dea) dan Metil Ester Sulfonat (Mes). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 26(1): 104–110. DOI: 10.24961/j.tek.ind.pert.2016.26.1.104.
- Ezhilkumar, P., Sivakumar, V.M., & Thirumarimurugan, M. 2023. Newly isolated formaldehyde degrading *Bacillus cereus* from effluent of sipcot industrial area: identification and process parameter studies. *Desalination Water Treat*, 287: 191–199. DOI:10.5004/dwt.2023.29392.
- Gallego, J.L.R., Peña-Álvarez, V., Lara, L.M., Baragaño, D., Forján, R., Colina, A., Prosenkov, A., & Peláez, A.I. 2022. Effective bioremediation of soil from the burgan oil field (kuwait) using compost: a comprehensive hydrocarbon and dna fingerprinting study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 247(1): 1–13. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114267.
- Ganesan, M., Mani, R., Sai, S., Kasivelu, G., Awasthi, M.K., Rajagopal, R., Wan Azelee, N.I., Selvi, P.K., Chang, S.W., & Ravindran, B. 2022. Bioremediation by oil degrading marine bacteria: an overview of supplements and pathways in key processes, *Chemosphere*, 303(1): 1–11. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114267.
-

- Institut Pertanian Bogor. 2019. Surfaktan dietanolamida (DEA) dan Sodium metil ester sulfonat (SMES) dari olein serta penggunaannya sebagai dispersan minyak bumi Paten No. IDP000057788. Direktorat jendral kekayaan intelektual, kemenkumham RI. <https://pdki-indonesia.dgip.go.id>
- Karishma, S., Saravanan, A., Deivayanai, V.C., Ajithkumar, U., Yaashikaa, P.R., & Vickram, A.S. 2024. Emerging strategies for enhancing microbial degradation of petroleum hydrocarbons: prospects and challenges. *Bioresource Technology Reports*, 26: 1–15. DOI: 10.1016/j.biteb.2024.101866.
- Kaur, M., & Gupta, R. 2024. Lipase production from thermotolerant *Bacillus subtilis* TP06 by statistical approach and its application in bioplastic degradation. *The Microbe*, 3: 1–8. DOI: 10.1016/j.microb.2024.100093.
- Kuang, S., Su, Y., Wang, H., Yu, W., Lang, Q., & Matangi, R. 2018. soil microbial community structure and diversity around the aging oil sludge in yellow river delta as determined by high-throughput sequencing. *Archaea*, 10: 1–11. DOI: 10.1155/2018/7861805.
- Kumari, B., & Chandra, R. 2023. Benzo[a]Pyrene degradation from hydrocarbon-contaminated soil & their degrading metabolites by *Stutzerimonas stutzeri* (LOBP-19A), *Waste Management Bulletin*, 1(1): 115–127. DOI: 10.1016/j.wmb.2023.07.006.
- Liu, S., Sun, R., Cai, M., Kong, Y., Gao, Y., Zhang, T., Xiao, X., Qiao, Y., Xue, J., & Huang, G. 2022. petroleum spill bioremediation by an indigenous constructed bacterial consortium in marine environments, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 241(1): 1–12. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.113769.
- Liu, Z., & Callies, U. 2019. implications of using chemical dispersants to combat oil spills in the german bight depiction by means of a bayesian Network. *Environmental Pollution*, 248(1): 1–12. DOI:10.1016/j.envpol.2019.02.063.
- Massarweh, O., & Abushaikha, A.S. 2024. Towards environmentally sustainable oil recovery: the role of sustainable materials. *Energy Reports*, 12: 95–119. DOI: 10.1016/j.egy.2024.06.013.
- Nugroho, A. 2010. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Makara Journal of Technology*, 10(1): 82–89. DOI: 10.7454/mst.v10i2.427.
- Rabodonirina, S., Rasolomampianina, R., Krier, F., Drider, D., Merhaby, D., Net, S., & Ouddane, B. 2019. Degradation of fluorene and phenanthrene in pahs-contaminated soil using *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from oil spill sites, *Journal of Environmental Management*, 232: 1–7. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.11.005.
- Sarubbo, L.A., Silva, M.D.G.C., Durval, I.J.B., Bezerra, K.G.O., Ribeiro, B.G., Silva, I.A., Twigg, M.S., & Banat, I.M. 2022. Biosurfactants: production, properties, applications, trends, and general perspectives. *Biochemical Engineering Journal*, 181: 1–7. DOI: 10.1016/j.bej.2022.108377.
- Sattar, S., Hussain, R., Shah, S.M., Bibi, S., Ahmad, S.R., Shahzad, A., Zamir, A., Rauf, Z., Noshad, A., & Ahmad, L. 2022. composition, impacts, and removal of liquid petroleum waste through bioremediation as an alternative clean-up technology: a review, *Heliyon*, 8(10): 1–10. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e11101.
- SNI [Standar Nasional Indonesia]. 2019. SNI 6989.11:2019 air dan limbah – bagian 11: cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan pH meter. Jakarta:BSN.
- Tadesco, P., Balzano, S., Coppola, D., Esposito, F.P., De Pascale, D., & Denaro, R. 2024. Bioremediation for the recovery of oil polluted marine environment, opportunities and challenges approaching the blue growth, *Marine Pollution Bulletin*, 200(1): 1–11. DOI:10.1016/j.marpolbul.2024.116157.
- Ubani, O., & Atagana, H.I. 2024. Biotreatment of crude oil waste sludge using a novel bacterial formula, *Environmental Challenges*, 15: 1–13. DOI: 10.1016/j.envc.2024.100943.
- USEPA [United States Environmental Protection Agency]. 1999. Method 9071B, n-Hexane Extractable Material (HEM) for sludge, sediment, and solid samples. Washington DC: U.S. EPA. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/9071b>.

- Vembadi, A., Menachery, A., & Qasaimeh, M.A. 2019. cell cytometry: review and perspective on biotechnological advances. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7: 1–7. DOI:10.3389/fbioe.2019.00147.
- Yadav, S., Khan, Mohd.A., Sharma, R., Malik, A., & Sharma, S. 2021. Potential of Formulated *Dyadobacter jiangsuensis* strain 12851 for enhanced bioremediation of chlorpyrifos contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213: 1–12. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112039.
- Yahya, H., Hamdan, Abd.M., Marlina, T., Darnas, Y., & Ashari, T.M. 2025. The effectiveness of cow manure in remediation of top soil contaminated by engine oil waste, *Cleaner Waste Systems*, 11: 1–6. DOI: 10.1016/j.clwas.2025.100306.