

**KEANEKARAGAMAN JENIS BAKTERI PERAIRAN DASAR BERDASARKAN
TIPE TUTUPAN PERMUKAAN PERAIRAN DI RAWA PENING**

Riska Apriliana, Siti Rudiyantri ^{*}), Pujiono Wahyu Purnomo

Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

ABSTRAK

Rawa Pening merupakan danau air tawar di Jawa Tengah yang mengalami masalah penurunan kualitas air karena peningkatan jumlah Eceng Gondok. Tujuan penelitian untuk identifikasi bakteri dan membedakan serta menghubungkan antara jenis bakteri perairan dasar dengan kandungan hidrogen sulfida (SNI 6989.70.2009) serta bahan organik total (SNI 06-6989.22.2009) di perairan tertutup dan tidak tertutup Eceng Gondok di Rawa Pening. Penelitian dilakukan pada bulan November 2013 hingga Januari 2014, menggunakan metode penelitian deskriptif dan metode sampling sistematis. Pengambilan sampel dilakukan di 6 titik lokasi sebanyak 3 ulangan di perairan dasar dan permukaan untuk aspek kualitas air. Sampel untuk identifikasi bakteri tanpa ulangan di perairan dasar. Hasil menunjukkan bahwa bakteri di perairan tidak tertutup dan tertutup Eceng Gondok terdapat 6 spesies. Kesimpulan dari penelitian ini adalah jenis bakteri perairan dasar di perairan tertutup dan tidak tertutup Eceng Gondok adalah *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus megaterium*, *Citrobacter freundii*, *Kurthia zopfii*, *Listeria monocytogenes*, dan *Micrococcus nishinomiyaensis*. Bakteri *C. freundii* merupakan bakteri patogen sistem pencernaan hewan berdarah panas yang secara khas hanya terdapat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Oleh karena itu, *C. freundii* dapat diasumsikan bahwa perairan tidak tertutup Eceng Gondok tercemar dengan limbah patogenik feses hewan berdarah panas atau manusia. Kandungan bahan organik total tidak memiliki perbedaan yang signifikan antara perairan tertutup (12,33 – 18,53 mg/l) dengan tidak tertutup Eceng Gondok (12,73 – 15,93 mg/l), namun kandungan hidrogen sulfida perairan tertutup (0,077 – 0,117 ppm) lebih tinggi dibanding tidak tertutup Eceng Gondok (0,020 – 0,076 ppm). Analisis regresi menunjukkan $R^2 = 0,502$ (perairan tidak tertutup Eceng Gondok) dan $R^2 = 0,078$ (perairan tertutup Eceng Gondok), sehingga kandungan bahan organik total dengan hidrogen sulfida memiliki hubungan yang rendah di perairan tertutup Eceng Gondok dan kuat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok.

Kata kunci: Jenis Bakteri, Perairan Dasar, Rawa Pening

ABSTRACT

Rawa Pening is the largest in Central Java. Which experiences a decline in water quality as marked by fast increasing number of water hyacinth in near bottom. The purpose of this to study identify the near bottom bacteria and to assess the relationship between the near bottom bacteria for to the content of hydrogen sulfide (SNI 6989 70.2009) as well as to the total organic matter (SNI 06-6989 22.2009). This analysis were conducted for water covered with water hyacinth compared to the open waters in Rawa Pening. This study conducted in November 2013 until January 2014, using descriptive research methods combined with systematic sampling method. Triplicate was conducted at 6 points in the bottom and surface water for environmental aspect. Sampling for identification of near bottom bacteria was conducted only once in at each point. The results found 6 species near bottom bacteria covered and opened waters. Based on the results of the study, it can be concluded that the types of bottom waters bacteria that found in the waters covered with water hyacinth and open waters i.e *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus megaterium*, *Citrobacter freundii*, *Kurthia zopfii*, *Listeria monocytogenes* and *Micrococcus nishinomiyaensis*. In this study *C. freundii* only found in open waters. This bacteria is specific in the digestive tract of homothermic animals, including human being, therefor by presence *C. Freundii* this study assumed that sampling locations in open waters in Rawa Pening injured get polluted from fecal materials of homothermic animals and human being. Total content of organic material has no signification difference between the open waters (12,73 – 15,93 mg/l) with covered water hyacinth (12,33 – 18,53 mg/l), but the content of hydrogen sulphide is higher in water covered with water hyacinth (0,077 – 0,117 ppm) compared with open water (0,020 – 0,076 ppm), Regression analysis showed $R^2 = 0.502$ (open waters) and $R^2 = 0.078$ (covered with water hyacinth), therefor total organic matter content with hydrogen sulfide has a low correlation in covered with water hyacinth and the strong correlation in open waters.

Keywords: Types of Bacteria, Ground Waters, Rawa Pening

^{*}) Penulis Penanggungjawab

A. PENDAHULUAN

Rawa Pening merupakan salah satu danau di Jawa Tengah yang mengalami masalah penurunan kualitas air. Masalah tersebut disebabkan karena faktor polutan dari luar Rawa Pening yang berasal dari daerah aliran sungai dan kegiatan pertanian serta perikanan maupun proses-proses kimia yang terjadi di dalam Rawa Pening itu sendiri seperti proses penguraian bahan organik. Terdapat sembilan daerah aliran sungai yang mengalir menuju Rawa Pening antara lain sungai Rengas, Torong, Panjang, Parat, Sraten, Legi, Galeh, Ringis, dan Kedungringin. Sub-daerah aliran sungai tersebut membawa beragam polutan dalam aliran air yang berasal dari beberapa kegiatan masyarakat berupa pertanian dan aktivitas rumah tangga yang menghasilkan limbah cair. Penggunaan pestisida dan pupuk dalam kegiatan pertanian serta aktivitas rumah tangga yang menghasilkan limbah detergen mengalir melalui sub-daerah aliran sungai kemudian masuk ke dalam danau Rawa Pening yang dapat menyebabkan perairan kaya akan kandungan bahan organik sehingga menjadi penyebab munculnya hidrogen sulfida di perairan dasar.

Proses penguraian bahan organik berlangsung secara aerob memerlukan oksigen terus-menerus dan dapat berlangsung pada kondisi anaerob ketika tidak terdapat oksigen. Oleh karena itu, mikroorganisme yang dapat melakukan penguraian bahan organik dalam kondisi aerob dan anaerob ialah bakteri anaerob fakultatif, Menurut Effendi (2003), bahwa mikroorganisme yang dapat melakukan proses penguraian bahan organik dalam kondisi aerob dan anaerob ialah bakteri anaerob fakultatif. Bakteri pengurai memiliki batasan kemampuan menguraikan bahan organik dalam kondisi anaerob sehingga penguraian tidak dapat berlangsung secara sempurna, hal ini sesuai dengan pendapat Effendi (2003), bahwa proses penguraian bahan organik pada kondisi anaerob dikatakan tidak sempurna karena tidak menghasilkan karbondioksida dan air. Apabila jumlah limbah bahan organik melebihi batas kapasitasnya, sedangkan faktor lingkungan kurang mendukung, seperti suhu, oksigen terlarut, pH, dan bahan organik yang sulit terurai oleh bakteri secara sempurna maka akan berdampak buruk bagi kondisi perairan di Rawa Pening.

Tujuan dan manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui jenis bakteri perairan dasar tertutup Eceng Gondok dan perairan tidak tertutup Eceng Gondok di Rawa Pening;
2. Mengetahui perbedaan kandungan hidrogen sulfida dan bahan organik total antara perairan tertutup Eceng Gondok dengan perairan tidak tertutup Eceng Gondok di Rawa Pening; dan
3. Mengetahui hubungan antara kandungan hidrogen sulfida dan bahan organik total dengan jenis bakteri perairan dasar di kawasan perairan tertutup Eceng Gondok dan tidak tertutup Eceng Gondok di Rawa Pening

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah memberi informasi tentang kondisi lingkungan di perairan danau Rawa Pening berdasarkan jenis bakteri perairan dasar dan aspek lingkungan perairan. Selanjutnya, hal tersebut diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pemanfaatan perairan danau Rawa Pening

B. MATERI DAN METODE PENELITIAN

1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas alat dan bahan penelitian. Alat yang digunakan adalah GPS digunakan untuk menentukan titik koordinat lokasi penelitian; *water grab sampler* jenis *Van Dorn sampler* dengan volume 2000 ml digunakan untuk pengambilan sampel air untuk mengukur kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida; spit suntik dengan volume 100 cc digunakan untuk pengambilan sampel air untuk identifikasi bakteri; selang kecil diameter 0,5 cm digunakan sebagai penghubung spit suntik ke perairan dasar; lakban digunakan sebagai perekat selang kecil dengan tongkat kedalaman; botol *polyethylene* dengan volume 200 ml digunakan sebagai wadah/tempat sampel air untuk identifikasi bakteri; botol *polyethylene* dengan volume 600 ml digunakan sebagai wadah/tempat sampel air untuk mengukur kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida; pH *paper* digunakan untuk mengukur pH; termometer air raksa dengan ketelitian 0,1°C digunakan untuk mengukur suhu perairan; *Secchi disk* digunakan untuk mengukur kecerahan; tongkat kedalaman dengan ketelitian 1 cm digunakan untuk mengukur kedalaman perairan; *cool box* digunakan sebagai tempat penyimpanan sementara botol-botol sampel air; botol *Winkler* dengan volume 250 ml digunakan sebagai wadah/tempat sampel air untuk titrasi oksigen terlarut; gelas ukur dengan volume 50 ml digunakan sebagai wadah/tempat untuk mengukur sampel air saat akan melakukan titrasi oksigen terlarut; gelas Erlenmeyer dengan volume 250 ml digunakan untuk tempat/wadah saat titrasi oksigen terlarut; pipet tetes digunakan untuk mengambil reagen oksigen terlarut; mikropipet dengan ketelitian 100 µl digunakan untuk memindahkan air sampel pada media kultur; cawan Petri digunakan wadah/tempat media kultur; *spreader* digunakan untuk meratakan bakteri yang akan dikultur; Bunsen digunakan untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari bakteri luar; *hotplate magnetic stirrer* digunakan untuk menghomogenisasikan larutan; tabung Durham digunakan sebagai wadah/tempat media kultur dan media uji biokimia; autoklaf digunakan untuk sterilisasi alat; inkubator dengan suhu 35°C digunakan untuk inkubasi isolat; jarum ose digunakan untuk mengambil bakteri dari media; jarum lurus digunakan untuk mengambil koloni bakteri untuk proses pemurnian; preparat digunakan untuk meletakkan

spesimen; mikroskop binokuler digunakan untuk mengamati pewarnaan Gram; minyak imersi digunakan untuk memperjelas pengamatan pewarnaan Gram saat di mikroskop; *biological safety cabinet* digunakan untuk bekerja secara aseptis sehingga inokulasi bakteri dapat dilakukan secara steril; *beaker glass* digunakan sebagai wadah/tempat alkohol dan sisa air saat mengukur dengan pewarnaan Gram; kertas label digunakan untuk menandai cawan Petri. Bahan yang digunakan adalah reagen MnSO_4 0,025 N sebanyak 72 ml, NaOH 6 N dalam KI 0,025 N sebanyak 72 ml, H_2SO_4 6 N sebanyak 72 ml, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,025 N sebanyak 144 ml dan amilum 1% sebanyak 3,6 ml digunakan sebagai pereaksi sampel air saat titrasi; reagen KMnO_4 0,01 N sebanyak 271 ml, asam sulfat 8 N bebas zat organik sebanyak 90 ml, dan asam oksalat 0,01 N sebanyak 180 ml digunakan sebagai pereaksi sampel air saat titrasi; NaOH 4 N sebanyak 36 ml digunakan sebagai pengikat sampel air agar tidak mudah menguap; reagen asam sulfat-amina 0,025 N sebanyak 9 ml, larutan FeCl_3 0,05 N sebanyak 2,7 ml, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,025 N sebanyak 28,8 ml digunakan sebagai pereaksi sampel air saat pengenceran; akuades sebanyak 5000 ml digunakan untuk mensterilkan pipet tetes dan wadah/tempat oksigen terlarut; sodium thiosulfat 10% sebanyak 72 ml digunakan untuk menghilangkan klor pada botol *polyethylen* ukuran 200 ml; *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 500 ml digunakan sebagai media kultur dan media pemurnian; *microbiologie bactident oxidase* sebanyak 23 buah digunakan untuk uji oksidase; H_2O_3 3% sebanyak 23 ml digunakan untuk uji katalase; KOH 3% sebanyak 23 ml digunakan untuk uji Gram; *methyl-red* sebanyak 23 ml digunakan untuk reagen uji *methyl-red* (MR), α -naphthol sebanyak 23 ml dan KOH 40% sebanyak 23 ml digunakan sebagai reagen uji *Voges Proskauer* (VP); parafin cair steril sebanyak 23 ml digunakan untuk melapisi larutan uji O/F; cairan kovak sebanyak 6 ml digunakan untuk uji indol; *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) sebanyak 400 ml, *Motility Indol Ornithin* (MIO) sebanyak 400 ml, *thioglycolate* sebanyak 400 ml, *Oksidatif-Fermentatif* (OF) sebanyak 300 ml, indol sebanyak 150 ml, urea sebanyak 400 ml, gelatin sebanyak 400 ml, *Sulphide Indole Motility* (SIM) sebanyak 400 ml, *citrate* sebanyak 400 ml, *Lysin Indol Agar* (LIA) sebanyak 400 ml, *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) sebanyak 400 ml, glukosa sebanyak 400 ml, sukrosa sebanyak 400 ml, laktosa sebanyak 400 ml, mannitol sebanyak 400 ml digunakan untuk uji biokimia; Gram A sebanyak 23 ml, Gram B sebanyak 23 ml, Gram C sebanyak 23 ml, Gram D sebanyak 23 ml, digunakan sebagai uji pewarnaan Gram; akuades secukupnya digunakan untuk sterilisasi dan pewarnaan Gram.

2. Metode Penelitian

Menurut Nazir (1988), metode deskriptif adalah metode yang dilakukan dengan tujuan utama untuk membuat gambaran atau deskriptif tentang suatu keadaan. Penelitian ini bertujuan untuk menggambarkan perbedaan jenis bakteri dan aspek kualitas lingkungan perairan diantara perairan tertutup Eceng Gondok dengan perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Metode sampling yang digunakan adalah metode sistematis sampling untuk pengambilan sampel air. Metode sistematis sampling yaitu metode pengambilan sampel yang ditentukan terlebih dahulu melalui beberapa pertimbangan tertentu (Hadi, 1979 dalam Wibowo, 2004).

3. Penentuan lokasi sampling

Penentuan titik lokasi sampling pada dua stasiun adalah sebagai berikut:

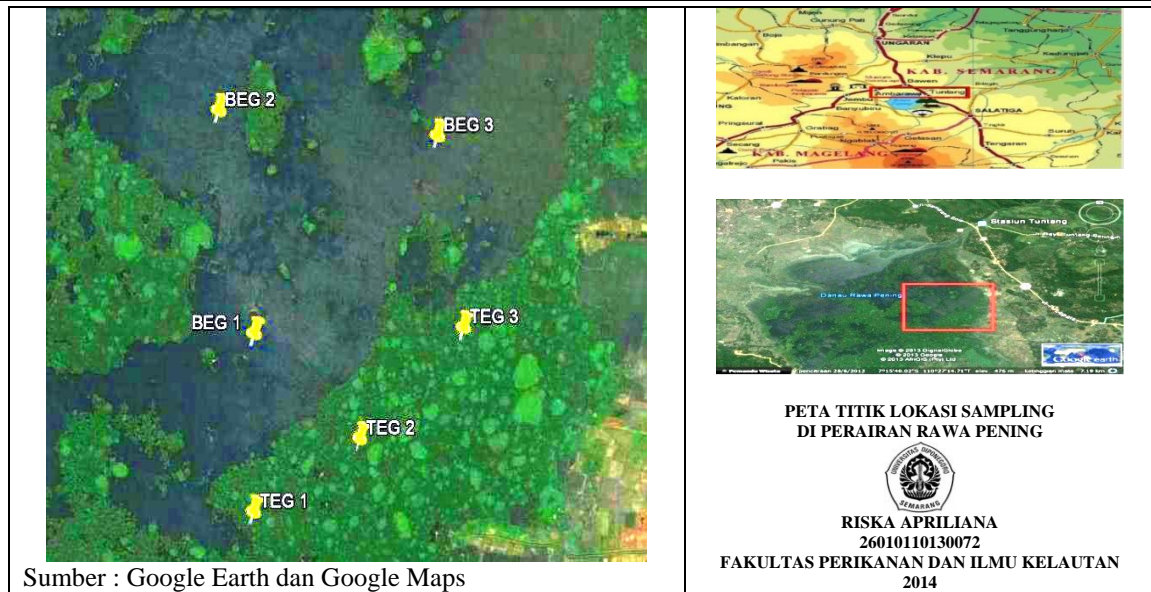
a. stasiun I (kawasan perairan tidak tertutup Eceng Gondok)

Stasiun I adalah lokasi dimana perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan perairan yang tidak digunakan untuk budidaya dengan menggunakan Keramba Jaring apung (KJA). Namun, lokasi ini cukup berdekatan dengan lokasi budidaya dengan menggunakan Keramba Jaring Apung (KJA) serta di lokasi ini memungkinkan untuk dilewati tanaman Eceng Gondok. Pada stasiun I terdapat 3 titik lokasi pengambilan sampel yaitu titik 1 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'28,33''$ dan E $110^{\circ}26'42,78''$. Titik 2 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'13,65''$ dan E $110^{\circ}26'42,78''$. Titik 3 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'15,99''$ dan E $110^{\circ}26'56,65''$.

b. stasiun II (kawasan perairan tertutup Eceng Gondok)

Stasiun II adalah lokasi dimana perairan tertutup oleh Eceng Gondok. Lokasi tersebut sering digunakan untuk kegiatan pemotongan batang Eceng Gondok. Eceng Gondok dimanfaatkan warga sekitar untuk bahan kerajinan. Aktivitas tersebut menghasilkan limbah berupa sisa akar dan daun Eceng Gondok yang dapat menyebabkan pendangkalan dan sedimentasi di perairan. Selain itu, Eceng Gondok yang membusuk juga akan mempengaruhi kualitas air di perairan dasar. Pada stasiun II terdapat 3 titik lokasi pengambilan sampel yaitu titik 1 pada koordinat S $07^{\circ}17'39,70''$ dan E $110^{\circ}26'42,49''$. Titik 2 pada koordinat S $07^{\circ}17'35,18''$ dan E $110^{\circ}26'50,47''$. Titik 3 pada koordinat S $07^{\circ}17'28,26''$ dan E $110^{\circ}26'58,32''$.

Titik lokasi sampling pada masing-masing stasiun dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Peta Titik Lokasi Sampling di Perairan Rawa Pening

4. Teknik Pengambilan Sampel

Tahapan pengambilan sampel air pada penelitian ini adalah menentukan titik koordinat lokasi sampling dengan menggunakan GPS. Pengambilan sampel air dilakukan pada tiga titik di dua stasiun yang berbeda yaitu stasiun I (kawasan perairan tidak tertutup Eceng Gondok) dan stasiun II (kawasan perairan tertutup Eceng Gondok) selama 3 minggu dengan selang waktu pengambilan sampel air dan pengukuran parameter fisika-kimia secara *in-situ* setiap seminggu sekali. Pengambilan sampel air untuk identifikasi bakteri perairan dasar hanya dilakukan pada minggu pertama, sedangkan pengambilan sampel air untuk menguji kandungan hidrogen sulfida, menguji kandungan bahan organik total serta pengukuran parameter fisika-kimia secara *in-situ* dilakukan pada minggu pertama, minggu kedua dan minggu ketiga. Pengukuran parameter fisika-kimia dilakukan secara vertikal yaitu di permukaan dan perairan dasar, sedangkan pengambilan sampel air untuk identifikasi bakteri, menguji kandungan bahan organik total, dan menguji kandungan hidrogen sulfida hanya dilakukan di perairan dasar.

Teknik sampling yang pertama dilakukan pada penelitian ini adalah pengukuran parameter fisika seperti suhu air, kecerahan, dan kedalaman serta melakukan pengukuran parameter kimia yaitu oksigen terlarut dan pH, kemudian dilanjutkan pengambilan sampel air untuk identifikasi bakteri, mengukur kandungan bahan organik total dan mengukur kandungan hidrogen sulfida.

Pengambilan sampel air untuk identifikasi bakteri dengan menggunakan spit suntik dengan volume 100 cc yang dihubungkan dengan selang kecil kemudian direkatkan pada tongkat kedalaman, adapun panjang selang sesuai dengan kedalaman masing-masing di setiap titik lokasi sampling. Botol yang digunakan sebagai wadah/tempat untuk identifikasi bakteri adalah botol *polyethylene* dengan volume 200 ml yang terlebih dahulu ditambahkan sodium tiosulfat 10% sebanyak 4 tetes, kemudian disterilkan di laboratorium pada oven suhu 121°C selama ± 30 menit. Botol yang telah terisi air kemudian disimpan ke dalam *cool box*. Menurut Waluyo (2005), bila sampel air untuk pemeriksaan bakteri mengandung sisa klor akan mempengaruhi reaksinya terhadap bakteri yang terdapat di dalam sampel air sehingga analisis tidak dapat memberikan gambaran mikrobiologi sebenarnya dari sampel air yang diambil. Untuk mengatasi hal ini terdapat suatu prosedur yang umum dilaksanakan, yaitu dengan menambahkan sodium tiosulfat 10% ke dalam botol sampel. Zat ini akan menghancurkan sisa klor yang masih ada. Penambahan sodium tiosulfat 10% tidak akan memberikan pengaruh terhadap mikroorganisme dalam sampel air, baik terdapat klor maupun pun tidak.

Pengambilan sampel air untuk mengukur kandungan hidrogen sulfida dan mengukur kandungan bahan organik total menggunakan *water grab sampler* jenis *Van Dorn sampler* dengan volume 2000 ml. Botol yang digunakan sebagai wadah/tempat untuk mengukur kandungan bahan organik total dan mengukur kandungan hidrogen sulfida adalah botol *polyethylene* dengan volume 600 ml. Sampel air yang digunakan untuk mengukur kandungan hidrogen sulfida, setelah botol terisi air kemudian ditambahkan NaOH 4 N sebanyak ± 2 ml hingga pH air sampel mencapai >9 , kemudian langsung disimpan ke dalam *cool box*, sedangkan sampel air untuk mengukur kandungan bahan organik total, setelah botol terisi air kemudian langsung disimpan ke dalam *cool box*. Botol-botol yang telah terisi air, baik untuk identifikasi bakteri, mengukur kandungan hidrogen sulfida dan mengukur kandungan bahan organik total kemudian disimpan dalam *cool box* yang berisi es curah dengan suhu $\pm 4^\circ\text{C}$ hingga sampel air tersebut sampai di laboratorium untuk dianalisis.

5. Prosedur kerja teknik identifikasi bakteri

a. Sterilisaasi alat

Sterilisasi peralatan dilakukan dengan cara membersihkan seluruh peralatan yang akan digunakan pada kegiatan identifikasi bakteri. Peralatan disterilkan dengan menggunakan dua macam sterilisasi yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Proses sterilisasi disesuaikan dengan jenis peralatan yang digunakan. Peralatan yang telah digunakan kemudian dibersihkan kembali dan disimpan dalam rak atau tempat yang sudah disterilkan dan bebas dari kontaminasi.

b. Teknik kultur bakteri

Sampel air yang telah diambil dari perairan dasar Rawa Pening kemudian dikultur pada media *Nutrient Agar* sebanyak 100 μ m dengan menggunakan mikropipet dengan metode *spread plate* dan *streak quadrant*. Pada metode *spread plate*, kultur diratakan dengan spreader, sedangkan metode *streak quadrant*, kultur diratakan dengan jarum lurus. Kultur biakan selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35 – 37°C dan diamati setelah 24 jam atau 48 jam (Palezar, 2008).

c. Pemurnian bakteri

Koloni yang tumbuh kemudian dimurnikan sampai diperoleh isolat murni. Satu koloni isolat bakteri diambil dari cawan petri secara aseptis dan diinokulasikan ke permukaan medium *Nutrient Agar* dengan metode *streak plate* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35 – 37°C selama 24 jam atau 48 jam. (Palezar, 2008). Menurut Huda (2012), bahwa koloni bakteri dapat dikatakan murni jika koloni-koloni pada ujung goresan (*streak*) berbentuk sama. Jika masih terdapat koloni yang berbeda pada ujung goresan (*streak*) maka perlu dilakukan goresan (*streak*) ulang pada setiap koloni-koloni yang berbeda tersebut sampai diperoleh koloni murni.

d. Pengamatan makrokopis

Pengamatan makrokopis adalah pengamatan bentuk pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh di permukaan *Nutrient Agar*. Adapun pengamatan makrokopis meliputi bentuk koloni bakteri berupa titik-titik, bulat, berbenang, tak teratur, serupa akar, serupa kumparan; permukaan koloni berupa rata, timbul datar, melengkung, membukit, serupa kawah; tepi koloni berupa utuh, berombak, bergerigi, berbenang; warna koloni berupa keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

e. Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri meliputi karakteristik morfologi dan uji biokimia. Buku panduan yang digunakan dalam identifikasi bakteri ialah *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th ed.* (Halt et al., 1994). Tahapan identifikasi diawali dengan pewarnaan gram dengan tujuan untuk mengetahui bentuk bakteri (basil atau kokus atau spiril), gram positif atau negatif pada saat pengamatan di mikroskop, selanjutnya uji presumtif bertujuan untuk mengetahui bakteri termasuk dalam kategori oksidase atau tidak, katalase atau tidak, dan termasuk gram positif atau negatif pada saat pengamatan secara visual. Uji presumtif terdiri dari uji oksidase, uji katalase dan uji gram, kemudian dilanjutkan uji biokimia bertujuan untuk mengetahui reaksi-reaksi yang ditimbulkan isolat bakteri setelah dimurnikan dan diinkubasi selama 24 jam atau 48 jam sehingga dapat digunakan untuk menentukan spesies dari masing-masing isolat. Uji biokimia terdiri dari uji O/F, uji TSIA, uji SIM, uji LIA, uji *citrate*, uji MR-VP, uji *thioglycolate*, uji urea, uji indol, uji MIO, uji gelatin, uji gula-gula (glukosa, sukrosa, laktosa, dan mannitol)

6. Evaluasi Data

Evaluasi data menggunakan perangkat lunak Ms.Excel 2007 dan SPSS 19. Data yang diperoleh dari pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data bahan organik total dan hidrogen sulfida dianalisis menggunakan uji kesamaan dua rata-rata: uji dua pihak dan uji chi-kuadrat dengan menggunakan perangkat lunak Ms.Excel 2007 dan perhitungan rumus secara manual. Menurut Priyatno (2013), uji normalitas termasuk dalam uji asumsi dasar yang dilakukan untuk mengetahui tingkat kenormalan data yang digunakan terdistribusi normal atau tidak. Tingkat kenormalan data sangat penting karena dengan data yang terdistribusi normal, maka data tersebut dapat mewakili populasi. Menurut Priyatno (2013), kriteria pengujian untuk evaluasi data uji normalitas adalah sebagai berikut: jika nilai signifikansi >0,05, maka distribusi data dinyatakan normal dan jika nilai signifikansi <0,05, maka distribusi data dinyatakan tidak normal.

Menurut Nugroho (2011), uji chi-kuadrat digunakan untuk menguji hipotesis deskriptif bila terdapat kelas pada data. Menurut Sudjana (1992), kriteria pengujian untuk evaluasi data uji chi-kuadrat adalah sebagai berikut : jika $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$, maka H_0 diterima dan jika $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$, maka H_0 ditolak. Hipotesis untuk evaluasi data uji chi-kuadrat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : Tidak terdapat ketergantungan kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida antara pengulangan titik lokasi sampling dengan perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok.

H_1 : Terdapat ketergantungan kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida antara pengulangan titik lokasi sampling dengan perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok.

Menurut Nugroho (2011), uji kesamaan dua rata-rata: uji dua pihak digunakan untuk menguji populasi dan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara 2 variabel yang dianggap memiliki

hubungan atau membandingkan 2 hal yang sama namun berasal dari populasi yang berbeda. Menurut Sudjana (1992), kriteria pengujian untuk evaluasi data uji kesamaan dua rata-rata: uji dua pihak adalah sebagai berikut: jika $-t_{tabel} < t_{hitung} < t_{tabel}$, maka H_0 diterima dan jika $-t_{tabel} > t_{hitung} > t_{tabel}$, maka H_0 ditolak. Hipotesis untuk evaluasi data uji kesamaan dua rata-rata: uji dua pihak dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H_0 : Tidak terdapat perbedaan kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida antara perairan yang tidak tertutup Eceng Gondok dengan perairan yang tertutup Eceng Gondok
 H_1 : Terdapat perbedaan kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida antara perairan yang tidak tertutup Eceng Gondok dengan perairan yang tertutup Eceng Gondok

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Keadaan Umum Lokasi Sampling

Danau Rawa Pening merupakan ekosistem perairan tawar di Jawa Tengah yang terletak 45 km sebelah selatan Semarang dan 9 km sebelah barat laut Salatiga. Secara geografis danau Rawa Pening terletak pada $07^{\circ}04' - 07^{\circ}30'LS$ dan $110^{\circ}11' - 110^{\circ}44'BT$ dengan ketinggian 460 m di atas permukaan laut. (DPU, 2008 dalam Jayanti, 2009).

Lokasi sampling terdiri dari dua stasiun, stasiun I yaitu kawasan perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan stasiun II merupakan kawasan yang tertutup Eceng Gondok. Stasiun I merupakan kawasan perairan tidak tertutup Eceng Gondok yang letaknya berada ditengah danau Rawa Pening. Pada stasiun ini tidak terdapat tanaman Eceng Gondok, namun tidak menutup kemungkinan menjadi kawasan Eceng Gondok dan sebagai jalur perlintasan tanaman Eceng Gondok. Selain itu, pada stasiun ini sering dimanfaatkan nelayan untuk menangkap ikan menggunakan jaring. Pada stasiun I terdapat 3 titik pengambilan sampel yaitu titik 1 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'28,33''$ dan E $110^{\circ}26'42,78''$. Titik 2 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'13,65''$ dan E $110^{\circ}26'42,78''$. Titik 3 terletak pada koordinat S $07^{\circ}17'15,99''$ dan E $110^{\circ}26'56,65''$.

Stasiun II merupakan salah satu kawasan tertutup Eceng Gondok yang letaknya sedikit ke tengah perairan Rawa Pening. Kondisinya terdapat Eceng Gondok yang tumbuh subur, sehingga terjadi pendangkalan akibat pengendapan dan penumpukan sisa-sisa akar, daun dan batang Eceng Gondok. Pada stasiun II terdapat 3 titik pengambilan sampel yaitu titik 1 pada koordinat S $07^{\circ}17'39,70''$ dan E $110^{\circ}26'42,49''$. Titik 2 pada koordinat S $07^{\circ}17'35,18''$ dan E $110^{\circ}26'50,47''$. Titik 3 pada koordinat S $07^{\circ}17'28,26''$ dan E $110^{\circ}26'58,32''$

2. Hasil

a. Jenis bakteri

Hasil pengamatan jenis bakteri yang diperoleh dari perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok tersaji pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Jenis Bakteri di Perairan Tidak Tertutup dan Tertutup Eceng Gondok

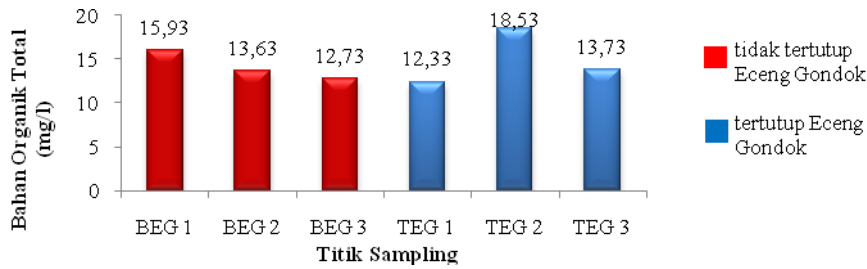
Lokasi	Jenis Bakteri		
	Titik 1	Titik 2	Titik 3
Tidak Tertutup Eceng Gondok	<i>Bacillus megaterium</i> ; <i>Kurthia zopfii</i> ; <i>Micrococcus nishinomiyaensis</i> .	<i>Kurthia zopfii</i> ; <i>Micrococcus nishinomiyaensis</i>	<i>Aeromonas hydrophyla</i> ; <i>Citrobacter freundii</i>
Tertutup Eceng Gondok	<i>Aeromonas hydrophyla</i> ; <i>Bacillus megaterium</i> ; <i>Kurthia zopfii</i> ; <i>Micrococcus nishinomiyaensis</i>	<i>Bacillus megaterium</i> ; <i>Kurthia zopfii</i> ; <i>Micrococcus nishinomiyaensis</i> .	<i>Kurthia zopfii</i> ; <i>Listeria monocytogenes</i>

Sumber: Labaoratorium Balai KIPM Semarang, (2013)

Menurut Purnamawati (2009), kelimpahan bakteri pada perairan dasar yang teridentifikasi sebagian besar termasuk dalam bakteri anaerob fakultatif yang membantu dalam proses penguraian bahan organik sehingga akan mengikat karbondioksida pada perairan.

b. Bahan organik total (*Total Organic Matter*)

Hasil analisis bahan organik yang diperoleh dari perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok tersaji pada Gambar 2 diagram batang hasil analisis rerata kandungan bahan organik total.

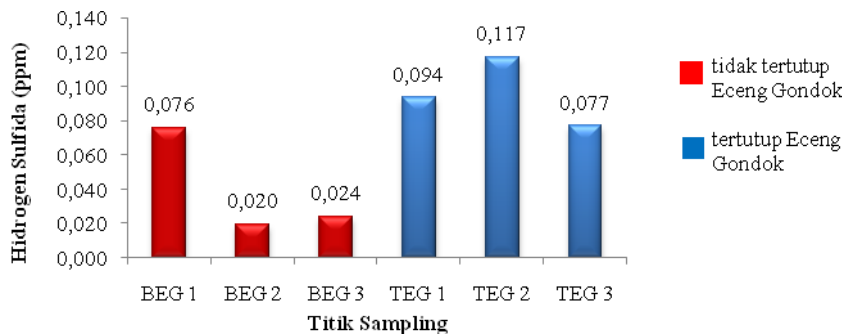


Gambar 2. Diagram Batang Rerata Kandungan Bahan Organik Total di Perairan Tidak Tertutup Eceng Gondok dan Tertutup Eceng Gondok.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) Nomor: 416/MenKes/Per/IX/1990 tentang syarat-syarat dan pengawasan kualitas air menyatakan bahwa untuk parameter bahan organik total kadar maksimum yang diperbolehkan yaitu 10 mg/l. Jika kandungan bahan organik total melebihi baku mutu air maka dapat mengganggu organisme perairan.

c. Hidrogen sulfida

Hasil analisis kandungan hidrogen sulfida dari perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok tersaji pada Gambar 3 diagram batang rerata kandungan hidrogen sulfida



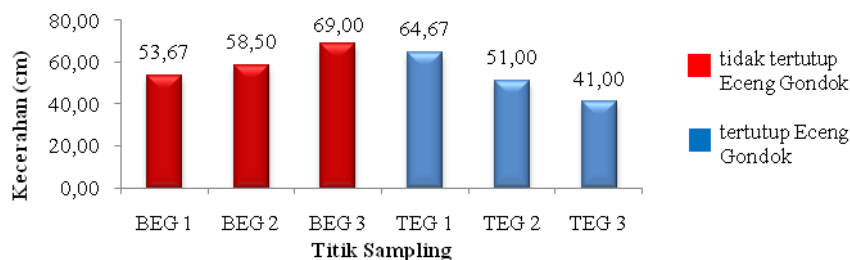
Gambar 3. Diagram Batang Rerata Kandungan Hidrogen Sulfida di Perairan Tidak Tertutup Eceng Gondok dan Tertutup Eceng Gondok.

Menurut Triani (2005), penurunan kadar hidrogen sulfida dipengaruhi oleh sedikitnya populasi bakteri pengoksidasi sulfur anorganik. Rerata kandungan hidrogen sulfida di perairan tertutup Eceng Gondok dapat membahayakan organisme perairan karena kisaran rerata kandungan hidrogen sulfida melebihi standar baku mutu air yaitu sebesar 0,077 – 0,117 ppm. Menurut Effendi (2003), kadar hidrogen sulfida lebih dari 0,002 ppm dianggap membahayakan bagi kelangsungan hidup organisme perairan, hal tersebut sesuai dengan pendapat

Parameter kualitas perairan

a. Kecerahan

Hasil pengukuran nilai kecerahan perairan di lokasi penelitian tersaji pada Gambar 4 diagram batang rerata kecerahan



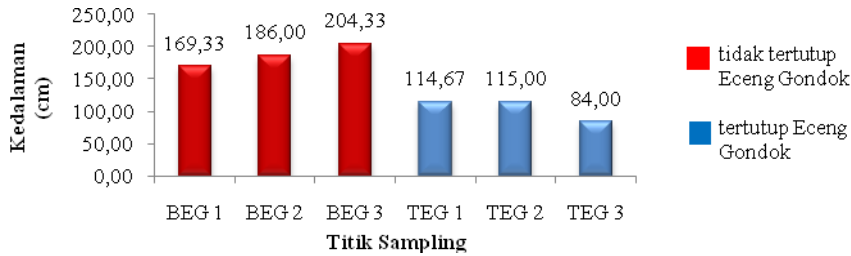
Gambar 4. Diagram Batang Rerata Kecerahan di Perairan Tidak Tertutup dan Tertutup Eceng Gondok

Kekeruhan menunjukkan tingkat kejernihan suatu perairan dan dapat mempengaruhi pengukuran kecerahan. Semakin kecil tingkat kecerahan suatu perairan maka akan semakin sulit cahaya matahari yang masuk ke dalam perairan dasar. Apabila cahaya matahari sulit masuk ke perairan dasar maka proses fotosintesis akan terhambat dan konsentrasi oksigen terlarut mengalami penurunan karena bakteri melakukan proses penguraian bahan organik terus-menerus, adapun bahan organik dapat berasal dari tumbuhan air yang mati dan limbah rumah tangga. Disisi lain, oksigen yang dihasilkan dalam proses fotosintesis oleh tumbuhan air sebagian besar di lepas ke udara ketika tumbuhan air itu mati. Menurut Odum (1993), bakteri air memiliki peranan penting sebagai pengurai bahan organik menjadi bahan anorganik yang dapat digunakan kembali oleh produsen. Oksigen yang dihasilkan dalam proses fotosintesis sebagian besar dilepas ke udara ketika

tumbuhan air itu mati maka oksigen di dalam air di gunakan oleh bakteri dalam proses penguraian bahan organik sehingga jumlah oksigen berkurang dan dapat menekan kehidupan organisme perairan.

b. Kedalaman

Hasil pengukuran kedalaman perairan di lokasi penelitian tersaji pada Gambar 5 diagram batang rerata kedalaman sebagai penjelasan tabel di atas tersaji.



Gambar 5. Diagram Batang Rerata Kedalaman di Perairan Tidak Tertutup dan Tertutup Eceng Gondok

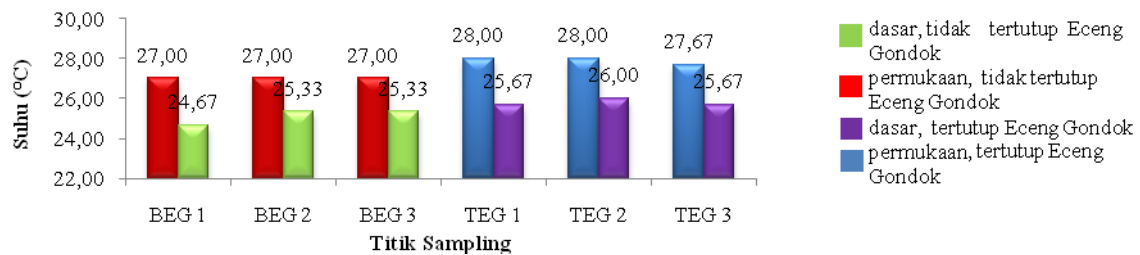
Kedalaman suatu perairan di pengaruhi oleh banyak sedikitnya bahan organik yang mengendap di perairan dasar serta tumbuhan air yang berada di permukaan perairan. Kedalaman sangat berkaitan erat dengan oksigen terlarut dan suhu yaitu semakin bertambah kedalaman perairan, maka suhu perairan menurun dan konsentrasi oksigen terlarut berkurang. Akan tetapi, suhu perairan dapat meningkat jika kondisi kedalaman perairan dangkal yang disebabkan karena tingginya jumlah bahan organik yang mengendap di perairan dasar mengakibatkan jumlah bakteri yang memanfaatkan bahan organik meningkat dan berkurangnya jumlah oksigen di perairan. Menurut Effendi (2003), proses respirasi tumbuhan dan hewan, mengakibatkan hilangnya oksigen di perairan yang terjadi karena dimanfaatkan mikroba untuk menguraikan bahan organik.

c. pH

Hasil pengukuran pH perairan secara *in-situ* di lokasi penelitian di semua titik lokasi sampling sebesar 7 sehingga rerata pH di lingkungan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok di permukaan perairan maupun perairan dasar adalah 7. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi perairan dalam keadaan normal dan baik untuk kegiatan perikanan dan kehidupan biota perairan lainnya. Menurut Effendi (2003), sebagian besar biota perairan sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai pH sekitar 7-8,5. Bakteri yang ditemukan di perairan Rawa Pening dapat tumbuh pada pH 7. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dalam membantu proses penguraian bahan organik berlangsung pada kondisi perairan dengan pH 7 (netral). Menurut Effendi (2003), pada umumnya bakteri tumbuh dengan baik pada pH netral dan alkalis. Oleh karena itu, proses penguraian bahan organik berlangsung lebih cepat pada kondisi pH netral dan alkalis.

d. Suhu

Hasil pengukuran suhu perairan di lokasi penelitian tersaji pada Gambar 6 diagram batang rerata suhu

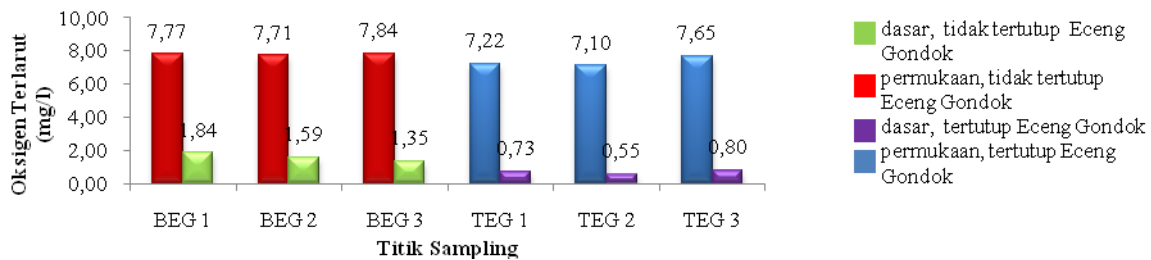


Gambar 6. Diagram Batang Rerata Suhu di Perairan Tidak Tertutup dan Tertutup Eceng Gondok

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa di perairan tertutup Eceng Gondok kisaran rerata suhu di perairan dasar maupun permukaan perairan menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibanding perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Hal tersebut dikarenakan meningkatnya suhu perairan dapat mempengaruhi kecepatan penguraian bahan organik, tetapi jika masukan bahan organik ke dalam perairan melebihi kapasitas kemampuan bakteri untuk menguraikan bahan organik maka akan terjadi kondisi kekurangan oksigen. Menurut Effendi (2003), aktivitas mikroorganisme memerlukan suhu optimum yang berbeda-beda. Kecepatan penguraian bahan organik meningkat pada kisaran suhu 5 – 35°C. Pada kisaran suhu ini, setiap peningkatan 10°C akan meningkatkan proses penguraian bahan organik dan konsumsi oksigen menjadi dua kali lipat.

e. Oksigen terlarut (Dissolved Oxygen)

Hasil pengukuran nilai oksigen terlarut perairan di lokasi penelitian tersaji pada Gambar 7 diagram batang rerata oksigen terlarut



Gambar 7. Diagram Batang Rerata Oksigen Terlarut di Perairan Tidak Tertutup dan Tertutup Eceng Gondok

Menurut Purnamawati (2009), penurunan nilai oksigen terlarut menggambarkan adanya perubahan bakteri pengurai yang terdapat di perairan dasar sehingga memungkinkan munculnya kelompok bakteri anaerob fakultatif.

3. Pembahasan

Berdasarkan dari hasil uji chi-kuadrat baik bahan organik total maupun hidrogen sulfida menunjukkan bahwa hasil nilai uji adalah $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$, maka H_0 diterima, artinya tidak terdapat ketergantungan kandungan bahan organik total dan hidrogen sulfida antara pengulangan titik lokasi sampling dengan perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok. Oleh karena itu, pada saat melakukan pengulangan di tiap lokasi sampling pada perairan tidak tertutup Eceng Gondok dan tertutup Eceng Gondok kandungan bahan organik total maupun hidrogen sulfida selama tiga minggu dengan selang waktu seminggu sekali nilainya relatif seragam karena kedua lokasi memiliki peranan, pengaruh dan kondisi perairan relatif sama. Berdasarkan hasil perhitungan uji kesamaan dua rata-rata: uji dua pihak untuk kandungan bahan organik total menunjukkan bahwa hasil uji adalah $t_{hitung} < t_{tabel}$, maka H_0 diterima, artinya tidak terdapat perbedaan kandungan bahan organik total antara perairan tidak tertutup Eceng Gondok dengan tertutup Eceng Gondok. Hal tersebut ditandai dengan kisaran rerata kandungan bahan organik total di perairan tidak tertutup Eceng Gondok dengan perairan tertutup Eceng Gondok nilainya relatif seragam, sedangkan untuk kandungan hidrogen sulfida menunjukkan bahwa hasil uji adalah $t_{hitung} > t_{tabel}$, maka H_0 ditolak, artinya terdapat perbedaan kandungan hidrogen sulfida antara perairan tidak tertutup Eceng Gondok dengan tertutup Eceng Gondok. Hal tersebut ditandai dengan kisaran rerata kandungan hidrogen sulfida di perairan tidak tertutup Eceng Gondok lebih kecil (0,020 – 0,076 ppm) dibanding di perairan tertutup Eceng Gondok (0,077 – 0,117 ppm).

Kandungan bahan organik dan kandungan hidrogen sulfida tertinggi terdapat pada titik 2 perairan tertutup Eceng Gondok, kandungan bahan organik sebesar 18,53 mg/l, sedangkan kandungan hidrogen sulfida sebesar 0,117 ppm. Hal tersebut karena pada titik lokasi sampling digunakan nelayan untuk menangkap ikan dengan perahu solar (mesin) dan jumlah Eceng Gondok yang sangat banyak pada lokasi tersebut mengakibatkan jumlah bahan organik tinggi karena terjadi proses pembusukan sisa-sisa daun, akar dan batang Eceng Gondok. Jumlah bahan organik yang tinggi akan digunakan bakteri sebagai nutrisi makanan pada proses penguraian bahan organik, sehingga jumlah bakteri yang menguraikan bahan organik meningkat seiring meningkatnya jumlah bahan organik yang masuk ke dalam perairan. Proses penguraian bahan organik dilakukan oleh bakteri aerob sehingga memerlukan oksigen. Jumlah oksigen terlarut akan semakin berkurang di perairan jika jumlah bakteri aerob bertambah pada saat terjadi proses penguraian bahan organik yang mengakibatkan terjadi kondisi anoksik di perairan. Proses penguraian bahan organik dalam kondisi anoksik kemudian digantikan dengan bakteri anaerob fakultatif. Akan tetapi, penguraian bahan organik pada kondisi anoksik tidak dapat berjalan secara sempurna dan dapat menimbulkan senyawa berbahaya seperti hidrogen sulfida, bahkan jumlah hidrogen sulfida dapat meningkat seiring bertambahnya bahan organik dan menurunnya oksigen terlarut. Analisis regresi menunjukkan $R^2 = 0,502$ (perairan tidak tertutup Eceng Gondok) dan $R^2 = 0,078$ (perairan tertutup Eceng Gondok), sehingga kandungan bahan organik total dengan hidrogen sulfida memiliki hubungan yang rendah di perairan tertutup Eceng Gondok dan kuat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Oleh karena itu, tidak selalu ditemukan bakteri produksi sulfida di setiap titik yang mengalami peningkatan dan penurunan bahan organik total dan hidrogen sulfida baik di perairan tertutup maupun tidak tertutup Eceng Gondok. Bakteri *C. freundii* merupakan bakteri patogen sistem pencernaan hewan berdarah panas yang secara khas hanya terdapat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Oleh karena itu, *C. freundii* dapat diasumsikan bahwa perairan tidak tertutup Eceng Gondok tercemar dengan limbah patogenik feses hewan berdarah panas atau manusia.

D. KESIMPULAN

1. Jenis bakteri perairan dasar yang ditemukan di perairan tertutup Eceng Gondok adalah *Kurthia zopfii*, *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus nishinomiyaensis*, dan *Listeria monocytogenes* dan perairan tidak tertutup Eceng Gondok adalah *Kurthia zopfii*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus nishinomiyaensis*, *Aeromonas hydrophyla*, dan *Citrobacter freundii*. Bakteri *C. freundii*

- merupakan bakteri patogen sistem pencernaan hewan berdarah panas yang secara khas hanya terdapat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok. Oleh karena itu, *C. freundii* dapat diasumsikan bahwa perairan tidak tertutup Eceng Gondok tercemar dengan limbah patogenik feses hewan berdarah panas atau manusia;
2. Tidak terdapat perbedaan kandungan bahan organik total antara perairan tertutup dengan tidak tertutup Eceng Gondok ($t_{hit} < t_{tabel}$), namun terdapat perbedaan kandungan hidrogen sulfida antara perairan tertutup dengan tidak tertutup Eceng Gondok ($t_{hit} > t_{tabel}$); dan
 3. Analisis regresi menunjukkan $R^2 = 0,502$ (perairan tidak tertutup Eceng Gondok) dan $R^2 = 0,078$ (perairan tertutup Eceng Gondok), sehingga kandungan bahan organik total dengan hidrogen sulfida memiliki hubungan yang rendah di perairan tertutup Eceng Gondok dan kuat di perairan tidak tertutup Eceng Gondok.

Ucapan Terima Kasih Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dudung Daenuri S.St.Pi. dan Riri Rofikoh S.St.Pi. selaku pembimbing lapangan yang telah memberikan saran, petunjuk, perhatian, dan waktunya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik serta Dr. Ir. Suryanti, M.Pi., Dr. Ir. Max R. Muskananfolo, M.Sc., Prof. Norma Afiati, M.Sc., P.hD., dan Dra. Niniek Widyorini, M.S., selaku tim penguji Ujian Akhir Program yang telah memberikan saran dan kritik sehingga jurnal dapat menjadi lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Kanisius, Yogyakarta, 256 hlm.
- Halt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A.S., James, T.S., dan Stanley, T.W. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed., Williams dan Wilkins, Baltimore, London, 787 p.
- Huda, C dan M. Salni. 2012. Penapisan Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. Maspari Jurnal. FMIPA, Universitas Sriwijaya, Riau, 4(1): 69-76 hlm.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia, Jakarta, 544 hlm.
- Nugroho, Y.A. 2011. It's Easy, Olah Data dengan SPSS. Skripta Media Kreatif. Yogyakarta, 135 hlm.
- Odum, P.E. 1993. Fundamental Of Ecology. W.B. Saunders Company Philadepha, 500 pp.
- Palezar, M.J.Jr. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi 1. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 442 hlm. (diterjemahkan oleh Ratna, S.H., Sutami, S.T., dan Sri, L.A.).
- Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes). 1990. Peraturan menteri kesehatan (Permenkes) Nomor: 416/MenKes/Per/IX/1990 Tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air. 16 hlm.
- Priyatno, D. 2013. Mandiri Belajar Analisis Data dengan SPSS. PT. Buku Seru, Media Kom, Yogyakarta, 123 hlm.
- Purnamawati. 2009. Tingkat Perombakan Bahan Organik Sedimen Waduk Cirata Pada Kondisi Anaerobik Skala Laboratorium. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 100 hlm.
- Sudjana. 1992. Metoda Statistika Ed.5. Penerbit Tarsito, Bandung, 505 hlm.
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Lingkungan. Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, 386 hlm.
- Wibowo, E.K. 2004. Beberapa Aspek Bio-Fisika Kimia Tanah di Daerah Mangrove Desa Pasar Banggi Kabupaten Rembang. [Tesis]. Program Pascasarjana, Universitas Diponegoro, Semarang, 129 hlm.