

# Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah Di Kelurahan Kampung Melayu Jakarta Timur

## *Isolation And Characterization Of Soil Bacteria In Kampung Melayu, East Jakarta*

Inherni Marti Abna<sup>1</sup>, Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih<sup>1</sup>, Mellova Amir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

\*Email: [inherni.martiabna@esaunggul.ac.id](mailto:inherni.martiabna@esaunggul.ac.id)

### ABSTRAK

Lingkungan perkotaan terutama di kota besar seperti DKI Jakarta merupakan lingkungan pemukiman padat penduduk. Kepadatan penduduk dengan komposisi penduduk yang beragam menyebabkan rendahnya sanitasi dan kesadaran tentang kebersihan lingkungan. Rendahnya sanitasi dan kebersihan lingkungan ini menjadi tempat yang sangat baik bagi mikroorganisme untuk berkembang biak, terutama mikroorganisme yang berpotensi menyebabkan penyakit (patogen). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jumlah populasi bakteri di tanah dalam wilayah Kelurahan Kampung Melayu Jakarta Timur di berbagai titik pengambilan sampel. Metode yang digunakan yaitu observasi dengan mengambil sampel tanah di Kelurahan Kampung Melayu kemudian menghitung jumlah koloni bakteri dan menganalisis morfologi koloni bakteri dan bentuk sel bakteri yang diperoleh. Parameter yang diukur adalah populasi bakteri, morfologi koloni bakteri, pewarnaan Gram dan identifikasi bentuk sel bakteri. Hasil penelitian adalah total populasi bakteri sampel yaitu (KM1)  $5,6 \times 10^8$  CFU kemudian sampel (KM2)  $1,25 \times 10^9$  CFU, sampel (KM3)  $7,9 \times 10^8$  CFU dan (KM 4)  $1,75 \times 10^9$  CFU. Setelah dilakukan pemurnian kultur didapatkan empat isolat murni dengan tiga bentuk coccus dan satu bentuk bacillus yang terdiri atas satu bakteri Gram Negatif dan tiga bakteri Gram Positif. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut hingga tingkat genus dan spesies.

**Kata kunci:** Analisis ,Bakteri Tanah, Kampung Melayu

### ABSTRACT

The urban environment, especially in big cities like Jakarta, is a densely populated residential environment. Population density with diverse population composition causes low sanitation and awareness about environmental cleanliness. The lack of sanitation and environmental hygiene is a good place for microorganisms to breed, especially microorganisms that have the potential to cause disease (pathogens). This study aims to determine the number of bacterial populations in Kampung Melayu by using various sampling points. The method used is observation by taking soil samples in the area and then counting the number of bacterial colonies and analyzing bacterial morphology obtained macroscopically and microscopically. The parameters measured were bacterial population, morphology of bacterial colonies, Gram staining and identification of bacterial cell shapes. The results of the study were the total bacterial population of the (KM1) sample which was  $5,6 \times 10^8$  CFU, the (KM2) sample which was  $1,25 \times 10^9$  CFU, the (KM3) sample which was  $7,9 \times 10^8$  CFU,

and the (KM4) sample which was  $1,75 \times 10^9$  CFU. After culture purification, this study obtained four pure isolates with three forms of coccus and one form of bacillus consisting of one Gram-negative bacteria and three Gram-positive bacteria. Further research is needed at the genus and species level.

**Keyword :** Analysis, Soil Bacteria, Kampung Melayu

## PENDAHULUAN

Indonesia saat ini menghadapi masalah tingginya kejadian penyakit menular. Salah satu media penularan mikroorganisme patogen adalah tanah. Beragam aktivitas manusia dilakukan di atas tanah. Bekerja, bermain, bercocoktanam, bersosialisasi dilakukan di atas tanah. Manusia sering lalai untuk menjaga kebersihan lingkungan tanah sebagai upaya untuk mencegah penularan penyakit, terutama yang tinggal di pemukiman padat penduduk seperti di lingkungan perkotaan seperti DKI Jakarta. Kepadatan penduduk dengan komposisi penduduk yang beragam menyebabkan rendahnya sanitasi dan kesadaran tentang kebersihan lingkungan. Rendahnya sanitasi dan kebersihan lingkungan ini menjadi tempat yang sangat menyenangkan bagi mikroorganisme untuk berkembang biak, terutama mikroorganisme yang berpotensi menyebabkan penyakit (patogen).

Kampung Melayu merupakan kawasan permukiman yang padat penduduk yang terletak di Jakarta Timur. Penduduk yang tinggal di Kampung

Melayu rata-rata berpendidikan dan berpenghasilan rendah, sehingga kualitas lingkungan semakin menurun. Jumlah penduduk yang menempati Kampung Melayu pada tahun 2010 diketahui sebanyak 10.022 jiwa dengan luas area  $\pm 47,63 \text{ m}^2$ , sehingga didapat kepadatan per-Ha sekitar 1.317 jiwa/Ha. Kampung Melayu menjadi kawasan yang amat padat setiap tahunnya karena ada saja pendatang baru yang tinggal di sana (1).

Tanah merupakan lingkungan kompleks yang ditempati oleh beraneka ragam mikroorganisme. Karakteristik lingkungan tanah bervariasi menurut letak dan iklimnya. Tanah juga memiliki kedalaman, sifat-sifat fisik, komposisi kimiawi dan asal yang berbeda. Komposisi tanah terdiri dari materi non organik 45% (Si, Al, Fe, Ca, Mg, K, Na, P, dan lain-lain), materi organik 5% (karbohidrat, protein, lipid, dan lain-lain), air (25%) dan udara (25%) (2)(3).

Populasi mikrobiologis tanah dibedakan dalam tiga golongan besar, yaitu: 1) Autochthonous: golongan ini dapat dikatakan sebagai mikroba setempat pada tanah tertentu, selalu hidup dan

berkembang di tanah tersebut 2) Mikroba zimogenik: golongan mikroba yang berkembang di bawah pengaruh perlakuan-perlakuan khusus pada tanah, seperti penambahan bahan organik dan pemupukan. 3) Mikroba transient (penetap sementara): terdiri dari organisme-organisme yang ditambahkan ke dalam tanah, secara disengaja seperti dengan inokulasi leguminosa, atau yang tidak secara disengaja seperti mikroorganisme yang dapat menghasilkan penyakit tanaman dan hewan (2)(4).

Penghuni utama dari mikroorganisme tanah meliputi bakteri (termasuk aktinomiset), cendawan, dan protozoa. Dari ketiga mikroorganisme tersebut bakteri merupakan mikroorganisme yang jumlahnya paling banyak terdapat di dalam tanah. Dalam setiap gram tanah diperkirakan terdapat 60.000 spesies yang berbeda dan jumlahnya mencapai milyaran sel bakteri (5). Jumlah dan tipe bakteri yang terdapat di tanah sangat dipengaruhi oleh letak geografis, suhu, pH, kandungan bahan organik, tipe tanah, kultivasi, aerasi, dan kelembapan tanah (3)(6).

Bakteri merupakan kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel. Organisme ini termasuk ke dalam golongan prokariota dan berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran

besar dalam kehidupan manusia. Beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberikan manfaat dibidang pangan, pengobatan, dan industri. Bakteri dapat ditemukan di hampir semua tempat: di tanah, air, udara, dalam simbiosis dengan organisme lain maupun sebagai agen parasit (patogen), bahkan dalam tubuh manusia (7)(8)(9).

## METODE PENELITIAN

### Alat

Cawan petri 50 ml, tabung reaksi, pembakar bunsen, jarum ose, corong kaca, erlenmeyer 1000 ml, erlenmeyer 500 ml, bekker glass 500 ml, bekker glass 1000 ml, autoklaf, timbangan listrik, inkubator, lemari pengering (*oven*), *freezer*, lemari pendingin suhu 0-4°C, lemari asam, kompor listrik, *waterbath*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, pH meter (Backman), spatula, vortex, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, laminar air flow, pipet tip, mikropipet, mikroskop, kaca objek, kaca penutup, dan labu semprot.

### Bahan

Sampel tanah, air suling, medium pertumbuhan Nutrient Agar (NA), larutan fisiologis (NaCl 0,9%), alkohol 70%, medium pewarnaan Gram (alkohol 96%, kristal violet, iodium, safranin), kapas,

kertas label, aluminium foil, benang, kain kasa, kertas saring, fenol.

## **Prosedur Kerja**

### *Persiapan Sampel Tanah*

Sampel tanah (Top Soil) diambil dari 4 titik yang berbeda di sekitar Kelurahan Kampung Melayu Jakarta Timur. Permukaan tanah di lokasi/titik pengambilan dibersihkan. Tanah digali dengan sendok tanah atau spatula sedalam 10 cm. Selanjutnya sampel tanah diambil lalu dimasukkan ke dalam botol yang telah disterilkan dan diberi label KM1, KM2, KM3 dan KM 4. Sampel tanah kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Esa unggul untuk dilakukan analisa (10).

### *Persiapan Alat*

Tabung reaksi yang telah berisi aquades 9 ml dan tip pipet 1000  $\mu$ l disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Cawan petri dan gelas ukur yang akan digunakan juga disterilkan dalam oven pada suhu 180 °C selama 1 jam.

### *Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)*

Ditimbang secara seksama beef ekstrak 3 gr, pepton 5 gr, dan agar bacto 15 gr, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer glass 500 ml, lalu dilarutkan

dengan 500 ml air suling, lalu dipanaskan hingga mendidih sambil dihomogenkan. Selanjutnya medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Medium didinginkan selanjutnya disimpan dalam refrigerator. Medium ini selanjutnya digunakan untuk medium isolasi bakteri.

### *Isolasi Bakteri Tanah*

Sebanyak 1 gram sampel tanah dimasukkan ke dalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 ml (pengenceran  $10^{-1}$ ). Suspensi sampel dari pengenceran  $10^{-1}$  kemudian di pindahkan 1 ml ke pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sampai pada pengenceran  $10^{-7}$ . Setelah pengenceran dilakukan, pada pengenceran terakhir di pipet sebanyak 1 ml suspensi menggunakan mikropipet kemudian ditumbuhkan pada cawan petri yang mengandung media NA (Nutrient Agar) dengan metode tuang. Biakan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam (11).

### *Perhitungan Total Plate Count (TPC) dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Tanah*

Setelah diinkubasi, dilakukan perhitungan bakteri dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Syarat perhitungan bakteri dengan metode TPC

adalah jumlah koloni dalam petri berisi 25-250 koloni. Rumus menghitung jumlah koloni adalah sebagai berikut: Jumlah koloni/ml = 1/volume sampel x 1/faktor pengenceran x jumlah koloni dalam cawan. Setelah jumlah koloni dihitung, dilakukan pengambilan koloni tunggal yang terdapat dalam petri kemudian diinokulasikan kembali ke media NA yang baru untuk selanjutnya diinkubasi selama 18 jam. Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis dan morfologi sel bakteri secara mikroskopis. Koloni tunggal yang tumbuh kemudian diberi label kode isolat dan dikarakterisasi lebih lanjut (11).

#### *Pembuatan Kultur Murni Bakteri Tanah*

Biakan bakteri diinokulasikan dengan menggunakan media NA (Nutrient Agar) pada cawan petri dan NA miring pada tabung reaksi sebagai stok, disimpan di refrigerator pada suhu 4°C.

#### *Identifikasi Morfologi Secara Makroskopik*

Koloni bakteri diinokulasikan dengan cara menggoreskan secara quadran pada medium NA dalam cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Pengamatan Makroskopik pada medium NA (Nutrient

Agar) dalam cawan petri meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni, dan warna koloni.

#### *Identifikasi Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram*

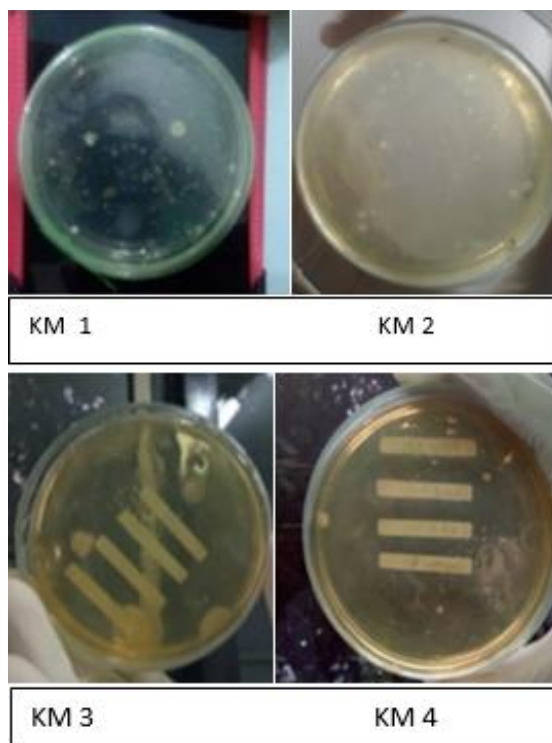
Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96% kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya isolat aktif diambil secara aseptik dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Preparat kemudian difiksasi kembali di atas lampu spiritus. Setelah dingin, preparat ditetesi cat Gram A (kristal violet) 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah itu, preparat ditetesi dengan cat Gram B (Iodium) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan larutan Gram C (Alkohol 96 %) selama 30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan cat Gram D (Safranin) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel di bawah mikroskop dengan pembesaran tertentu.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Morfologi Bakteri

Isolasi bakteri dari sampel tanah yang berasal dari wilayah Kelurahan

Kampung Melayu ditandai dengan terbentuknya koloni pada Gambar 1. Setelah melalui tahap pemurnian diperoleh 4 koloni bakteri isolat terpilih.



Gambar 1. Koloni bakteri sampel tanah pada medium NA

Tahapan isolasi merupakan tahapan terpenting, diawali dengan pengenceran sampel tanah sampai pengenceran  $10^{-7}$  kemudian dilanjutkan dengan menumbuhkan bakteri pada medium NA secara *pour plate methode*. Setiap koloni yang tumbuh pada medium NA dipilih yang mempunyai bentuk koloni tunggal dan diberi kode isolat KM. Isolat terpilih diinokulasikan kembali ke

medium NA dalam cawan petri untuk dilakukan pemurnian dengan *streak quadrant method*. Koloni tunggal yang tumbuh kemudian dipindahkan ke medium NA miring.

Pengamatan secara makroskopis pada medium NA didapatkan bahwa bakteri tumbuh dengan baik pada medium. Hasil pengamatan morfologi koloni isolat bakteri disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi Koloni Bakteri Tanah Isolat Terpilih

Kode Isolat	Bentuk	Ukuran	Permukaan	Warna	Margin
KM 1	Bulat	Besar	Mengkilap	Putih Susu	Curled
KM 2	Bulat	Kecil	Pudar	Putih Susu	Rata
KM 3	Bulat	Besar	Pudar	Putih Susu	Undulate
KM 4	Bulat	Kecil	Mengkilap	Putih Susu	Rata

Berdasarkan Tabel 1. tersebut, koloni yang tumbuh setelah diinkubasi selama 24 jam didapatkan 4 jenis koloni yang diambil pada titik lokasi yang berbeda secara random. Koloni pada lokasi satu pada isolat (KM1) memiliki ciri-ciri makroskopik yaitu bentuk bulat, ukuran besar, permukaan mengkilap, warna putih susu, dan margin curled. Sedangkan pada isolat (KM2) bentuk bulat, ukuran kecil, permukaan pudar, warna putih susu, dan margin rata. Pada isolat (KM3) yang diambil pada titik lokasi 3 memiliki bentuk bulat, ukuran besar, permukaan pudar, warna putih susu dan margin undulate, sedangkan pada isolat (KM4) memiliki ciri-ciri bentuk bulat, ukuran kecil, permukaan mengkilap, warna putih susu, dan tepi rata.

Koloni bakteri memiliki bermacam-macam bentuk pada medium padat diantaranya bundar, bundar dengan tepian seperti kerang, bundar dengan tepian timbul, keriput, konsentris, tak beraturan dan menyebar, berbenang-benang, bentuk L, bundar dengan tepian menyebar, filiform, rizoid dan kompleks.

Tepian koloni bakteri ada yang licin, berombak, berlekuk, tak beraturan, sikat bercabang, seperti wol, seperti benang dan seperti ikat rambut. Permukaan koloni dapat rata, timbul rata, melengkung, mencembung, membukit dan serupa kawah. Pada warna koloni bakteri pada umumnya berwarna keputihan atau kekuningan (4)(9)(5).

#### Jumlah Bakteri

Setelah dilakukan perhitungan jumlah bakteri secara Total Plate Count (TPC) didapatkan data seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri Per Gram Tanah

No.	Kode Isolat	Jumlah Bakteri (CFU/ g tanah)
1.	KM 1	$5,6 \times 10^8$
2.	KM 2	$1,25 \times 10^9$
3.	KM 3	$7,9 \times 10^8$
4.	KM 4	$1,75 \times 10^9$

Data pada Tabel 2. menunjukkan bahwa jumlah bakteri pada isolat sampel (KM2) dan (KM4) lebih banyak dibanding dengan jumlah bakteri pada isolat sampel (KM1) dan (KM3). Jumlah bakteri

terbanyak didapatkan pada isolat sampel (KM 4) yaitu sebanyak  $1,75 \times 10^9$  CFU. Sedangkan jumlah bakteri paling sedikit ditemukan pada isolat sampel (KM1) yaitu sebanyak  $5,6 \times 10^8$  CFU.

Banyak sedikitnya jumlah bakteri pada tanah sangat dipengaruhi oleh kandungan nutrisi bakteri pada tanah tersebut. Aneka macam bahan organik sangat dibutuhkan untuk kelangsungan hidup bakteri. Makin banyak bahan organik tersedia maka populasi bakteri makin tinggi. Oksigen dari udara bebas juga sangat berpengaruh penting untuk pernafasan bakteri aerob, karena proses pernapasan bertujuan untuk membongkar zat makanan untuk menjadi energi bagi mikroorganisme. Rendahnya kadar oksigen menyebabkan sedikitnya populasi dan aktivitas mikroorganisme tanah yang berpengaruh pada pertukaran ion dalam tanah menjadi rendah (9).

Beberapa mikroba di dalam tanah bersifat patogen bagi manusia seperti bakteri, protozoa, jamur, virus, sehingga tanah secara langsung dapat mempengaruhi kesehatan manusia dalam bentuk penyakit bawaan tanah (*soil-borne disease*) (12).

*Soil-borne disease* dipengaruhi oleh zat-zat yang terkandung dalam tanah baik yang berasal dari tanah itu sendiri maupun yang berasal dari luar tanah

sebagai akibat pengotoran ataupun pencemaran. Tanah sebagai penerima limbah padat yang dapat mengandung patogen dalam konsentrasi tinggi (13). Limbah ini dibuang ke tanah baik secara langsung maupun setelah melalui proses pengolahan. Limbah–limbah ini dapat berupa buangan hasil kegiatan domestik, industri, maupun kegiatan perkotaan. Dengan demikian tanah menjadi vektor utama penyebab penyakit pada manusia karena manusia dapat kontak dengan tanah secara permanen baik secara langsung maupun tidak langsung melalui makanan, air dan udara (14).

#### Identifikasi Bakteri Isolat Terpilih

Keempat bakteri isolat terpilih diidentifikasi secara mikroskopis melalui pengecatan Gram. Hasil pengecatan Gram keempat isolat disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Identifikasi Bakteri Tanah Secara Mikroskopik

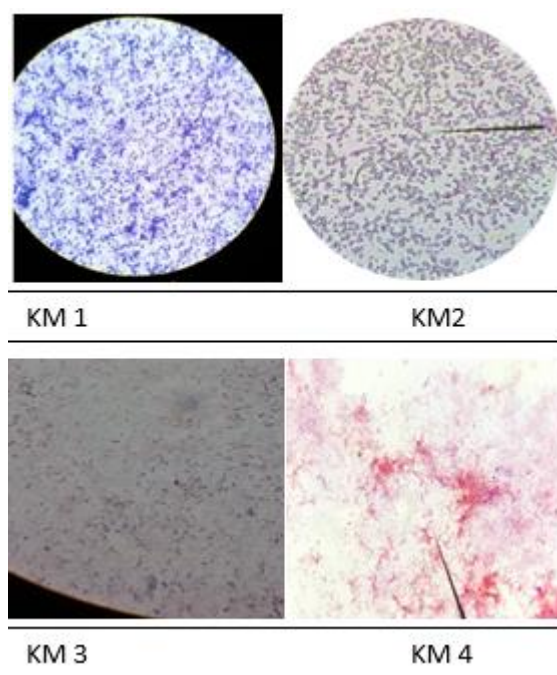
No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	KM 1	Coccus	Gram Positif
2.	KM 2	Coccus	Gram Positif
3.	KM 3	Bacillus	Gram Positif
4.	KM 4	Coccus	Gram Negatif

Berdasarkan Tabel 3. tersebut, telah dilakukan pengecatan Gram dan diperoleh data sampel (KM1) bentuk coccus Gram positif, sampel (KM2)



bentuk coccus Gram positif, sampel (KM 3) bentuk bacillus Gram positif, dan sampel (KM 4) bentuk coccus Gram negatif.

Gambar sel bakteri setelah dilakukan pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini:



Gambar2. Sel Bakteri Tanah Berdasarkan Pengecatan Gram

Terdapatnya perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan, sedangkan dinding sel pada bakteri Gram negatif banyak mengandung lippopolisakarida (15)(9). Dalam pengecatan Gram, sel-sel yang tidak dapat melepaskan warna dan

akan tetap berwarna seperti warna kristal violet yaitu biru-ungu disebut bakteri Gram positif, sedangkan sel-sel yang dapat melepaskan kristal violet dan mengikat safranin sehingga berwarna merah muda disebut bakteri Gram negatif (11).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan pada sampel tanah di wilayah Kelurahan Kampung Melayu Jakarta Timur, didapatkan 4 isolat bakteri dengan rata-rata populasi bakteri yaitu sampel (KM1)  $5,6 \times 10^8$  CFU, kemudian sampel (KM2)  $1,25 \times 10^9$  CFU, sampel (KM3)  $7,9 \times 10^8$  CFU dan sampel (KM 4)  $1,75 \times 10^9$  CFU. Setelah dilakukan identifikasi mikroskopis, didapatkan tiga bentuk sel bakteri berbentuk coccus dan satu bentuk bacillus yang terdiri atas satu bakteri Gram negatif dan tiga bakteri Gram positif.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada:

1. Dr. Ir. Arief Kusuma, Among Praja, MBA, IPU, selaku Rektor Universitas Esa Unggul Jakarta.
2. Dr. Aprilita Rina Yanti Eff, M. Biomed, Apt, selaku Dekan Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul

Jakarta.

3. Dr. Sri Teguh Rahayu, M.Farm., Apt, selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Esa Unggul Jakarta.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Laporan Bulanan Pelaksanaan Kegiatan Kelurahan Jakarta: Kelurahan Kampung Melayu. Jakarta; 2012.
2. Hanafiah, Kemas, Ali, Dkk. Ekologi Dan Mikrobiologi Tanah. Jakarta: Rajawali Press; 2003.
3. Adriyani, Yunilda. Ilmu Tanah. Jakarta: Gramedia; 2008.
4. Campbell NA, Reece JB, Mitchell L. Biologi. Jilid 2. 5th ed. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2003.
5. Reid G, Wong P. Soil Bacteria Basic. State of New South Wales; 2005.
6. Davies C, Williams B. Genus Bacillus in Bergeys Manual of Systematics Bacteriology sneath. Baltimore: Williams and Wikins Company; 1999.
7. Michael JP, E.C.S. C. Dasar Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia; 2009.
8. Jawetz, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC; 2013.
9. Dwijoseputro D. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan; 2005.
10. Saraswati R, Husen E, Simanungkalit RDM. Pengambilan Contoh Tanah untuk Analisis Mikroba, Dalam: Metode Analisa Biologi Tanah. Bogor; 2007.
11. Cappucino JG, Sherman N. Microbiology: A Laboratory Manual. New York: Pearson Benjamin Cummings; 2008.
12. Selinus O, Alloway B, Centeno JA, Finkelman RB, Fuge R, Lindh U, et al. Essentials of Medical Geology: Impact of The Natural Environment on Public Health. United State of America: Elsevier; 2005. 486–487 p.
13. Slamet, Soemirat J. Kesehatan Lingkungan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 1996.
14. Ganeshamurthy A, Varalaksmi L., Sumangala H. Environmental Risks Associated With Heavy Metal Contamination in Soil, Water and plants in Urban and Periurban Agriculture. J Horticulture. 2008;3:1–30.
15. Waluyo. Mikrobiologi Umum. Malang: UMM press; 2004.