IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PADA REAKTOR WETLAND

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIA FOUND IN WETLAND REACTOR

1*Karina Patria Soedjatmiko dan ² Herto Dwi Ariesyady

1,2 Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung Jl Ganesha 10 Bandung 40132 *1karina.soedjatmiko@gmail.com dan 2herto@ftsl.itb.ac.id

Abstrak: Salah satu unsur dalam pengolahan air limbah menggunakan reaktor constructed wetland adalah degradasi polutan oleh mikroorganisme yang terdapat pada tanah. Mikroorganisme membutuhkan nutrient berupa zat organik untuk proses metabolisme, sehingga dapat memanfaatkan zatzat organik yang terdapat dalam air limbah. Studi ini dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengetahui karakteristik bakteri yang ditemukan pada reactor wetland tersebut dan menganalisis sifat bakteri berupa kurva tumbuh. Bakteri diisolasi dari tanah pada reaktor, kemudian diidentifikasi menggunakan API 20 NE dan dan diukur kurva tumbuhnya menggunakan metode tidak langsung. yaitu dengan spektrofotometri hingga tercapai fase stasiuner, kemudian diinokulasi ke dalam air limbah domestik untuk mengukur kemampuan bakteri untuk hidup dalam air limbah. Dari kesembilan bakteri yang diisolasi, seluruhnya bersifat Gram negatif dan berbentuk batang atau batang pendek. Identifikasi bakteri menunjukkan bahwa bakteri berasal dari genus Aeromonas, Pseudomonas, Empedobacter, Moraxella, Vibrio, Ralstonia, dan Brevundimonas, Kurva tumbuh untuk masing-masing bakteri menunjukkan bahwa pada bakteri Aeromonas hydrophilia tidak didapat fase lag atau fase lag kurang dari satu jam. Sedangkan dalam perhitungan laju pertumbuhan eksponensial (K), mean doubling time (g), dan konstanta laju pertumbuhan spesifik (μ), didapat bahwa bakteri ini juga memiliki nilai g yang paling kecil. Bakteri yang diinokulasi ke dalam air limbah menunjukkan bahwa seluruh bakteri dapat menyisihkan COD, dengan penurunan COD terbesar oleh Moraxella dan terkecil oleh Pseudomonas luteola.

Kata kunci: wetland, bakteri, API 20 NE, kurva tumbuh, air limbah domestik

Abstract: One element in treating wastewater using a constructed wetland reactor is the degradation of pollutants by microorganisms found in soil. Microorganisms require various organic substrates to fuel metabolic processes, which can utilize organic substances found in wastewater. This study is conducted to identify and characterize the bacteria found in the wetland reactor and to analyze the bacteria characteristics by mapping a growth chart for each of the bacteria. The bacteria is isolated from the reactor and identified using API 20 NE, and the growth curve is measured using spectrophotometry up to a stationary phase. The bacteria is then inoculated into domestic wastewater to measure the ability of the bacteria to live in wastewater. All nine bacteria that were isolated were Gram negative and were rods or short rods. Identification of the bacteria showed that the bacteria were from the genus Aeromonas, Pseudomonas, Empedobacter, Moraxella, Vibrio, Ralstonia, and Brevundimonas. The growth curve showed that the bacteria Aeromonas hydrophilia did not experience a lag phase or the lag phase was very short. This bacteria also had the shortest mean doubling time (g). Wastewater samples which were inoculated with bacteria showed a decrease of COD in all samples, with the largest decrease by the bacteria Moraxella and the lowest by Pseudomonas luteola.

Key words: wetland, bacteria, API 20 NE, growth curve, domestic wastewater

PENDAHULUAN

Constructed wetland atau lahan basah buatan merupakan salah satu cara untuk mengolah air limbah, baik air limbah domestik maupun industri, terutama untuk mengurangi beban polutan organik yang terdapat dalam air limbah. Metode pengolahan air limbah dengan wetland termasuk salah satu metode yang hemat biaya dengan operasional yang minimum, dengan merancang keadaan yang menyerupai lahan basah di alam yang memanfaatkan proses alami yang terjadi antara vegetasi, mikroba, dan substrat. Wetland biasanya ditandai dengan adanya air di permukaan atau dekat permukaan tanah, dengan aliran yang sangat lambat. Aliran yang lambat ini memungkinkan pengendapan sedimen dalam air saat air mengalir melewati wetland (Davis, 2011).

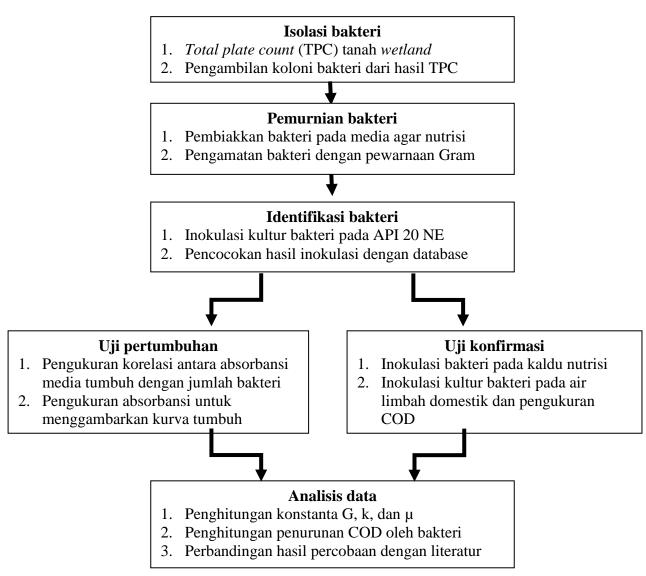
Selain proses sedimentasi, ada beberapa proses yang berperan dalam penurunan jumlah polutan dalam air, yaitu absorpsi oleh tanaman, adsorpsi, filtrasi, volatisasi, dan degradasi oleh mikroorganisme. Umumnya mikroorganisme ini tumbuh melekat pada akar tanaman dan menguraikan zat-zat organik yang terdapat dalam air sebagai sumber untuk proses metabolisme. Beberapa genus bakteri yang sering ditemukan dan berperan terutama dalam penguraian zat organik adalah *Pseudomonas, Flavobacterium, Archromobacter*, dan *Alcaligenes* (Jorgensen *et al.*, 2005), dan bakteri lain seperti *Acinetobacter, Arthrobacter, Bacillus, Micrococcus*, dan *Serratia* (Udotong *et al.*, 2008). Bakteri berperan dalam banyak proses degradasi polutan, misalnya proses anaerob seperti denitrifikasi, metanogenesis, dan reduksi sulfat (Balasooriya, 2008), dan proses aerob seperti fiksasi nitrogen dan degradasi zat organik menjadi hasil samping atau *by-product* metabolisme dan zat kimia dalam air, sehingga menambah ketersediaan senyawa nitrat, sulfat, fosfat, dan logam-logam esensial (Chaudhuri dan Thakur, 2006).

Dalam penelitian ini, bakteri yang terdapat dalam tanah pada wetland akan diidentifikasi dan dianalisis. Bakteri pada wetland atau pada tanah biasanya sangat sulit untuk diidentifikasi secara menyeluruh, terutama dalam kondisi laboratorium, karena dari seluruh bakteri yang terdapat pada tanah, 96% hingga 99% dari bakteri tersebut tidak akan tumbuh dalam kondisi laboratorium, sehingga gambaran mengenai bakteri yang terdapat pada tanah, khususnya wetland, sangat terbatas. Kebanyakan spesies bakteri yang terdapat di alam belum pernah diidentifikasi, dan hal ini hanya akan dapat dilakukan jika ditemukan teknologi baru (Chaudhuri dan Thakur, 2006).

Reaktor yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan sistem *sub-surface flow* dengan menggunakan tanaman *Typha latifolia* sebagai media tanaman. Air yang diolah berasal dari IPAL Bojongsoang.

METODOLOGI

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1 Metodologi penelitian

Sample tanah diambil dari reaktor *wetland* dan bakteri yang terdapat di sampel tanah tersebut diisolasi dengan cara *total plate count* (TPC). Sampel tanah diencerkan dengan air destilasi steril hingga derajat 10⁻⁷. Isolasi kemudian dilakukan dengan menginokulasi hasil pengenceran pada media agar nutrisi (Oxoid) secara *pour plate* dengan tujuan koloni bakteri akan tumbuh terpisah sehingga lebih mudah untuk diamati dan dimurnikan.

Setelah bakteri diisolasi, selanjutnya bakteri dimurnikan dengan cara mengambil koloni bakteri dengan morfologi yang berbeda-beda dengan jarum inokulasi yang steril, kemudian koloni tersebut diinokulasi pada agar nutrisi dengan cara *streak*. Pola *streak* berupa *four-way streak* yang bertujuan agar koloni bakteri dari *streak* akan terpisah-pisah. Koloni yang sudah dibiakkan pada media kemudian diberi pewarnaan Gram dan diamati di bawah mikroskop untuk diketahui sifat Gram dan mengamati jika koloni bakteri yang dibiakkan sudah murni. Koloni yang sudah murni dibiakkan kembali pada agar nutrisi miring.

Identifikasi bakteri yang sudah murni dilakukan dengan menggunakan API 20 NE yang khusus untuk bakteri yang bersifat Gram negatif, karena sampel bakteri yang didapat seluruhnya bersifat Gram negatif. API 20 NE merupakan produk buatan Biomerieux yang menggunakan serangkaian uji biokimia untuk mengidentifikasi bakteri. Hasil dari uji biokimia dapat diamati

secara visual dengan pengamatan perubahan warna pada media, dan hasil uji biokimia kemudian dicocokkan dengan database bakteri untuk memperoleh spesies bakteri tersebut.

Pembuatan kurva tumbuh dilakukan dengan metode tidak langsung, yaitu dengan pengukuran dengan spektrofotometer. Kurva standar untuk tiap bakteri dibuat dahulu agar diketahui korelasi antara jumlah bakteri dengan absorbansi media tumbuh, dengan cara membiakkan bakteri pada media tumbuh dan mengukur absorbansi media dan jumlah bakteri dengan cara TPC dengan konsentrasi bakteri yang berbeda-beda. Selanjutnya, media tumbuh berupa kaldu nutrisi (Oxoid) diinokulasi dengan 5% v/v bakteri dan diukur absorbansinya hingga dapat diamati fase log dari tiap bakteri.

Dari kurva tumbuh yang dibuat, maka dapat dihitung nilai laju pertumbuhan eksponensial (K), *mean doubling time* (g), dan konstanta laju pertumbuhan spesifik (μ). Perhitungan dilakukan dari pengamatan fase log dengan menggunakan persamaan (1), (2), dan (3) (Sterritt dan Lester, 1988):

$$K = \frac{\log_{10} Nt - \log_{10} No}{0.301t} \tag{1}$$

$$g = 1/K \tag{2}$$

$$\mu = 0.693K\tag{3}$$

Bakteri yang sudah dimurnikan pun diinokulasi ke dalam air limbah domestik, untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk bertahan hidup dalam air limbah domestik dan kemampuan untuk mendegradasi polutan di dalam air tersebut, yang diketahui melalui pengukuran COD (*Chemical Oxygen Demand*) pada sampel air dengan jangka waktu 3 dan 7 hari setelah inokulasi ke dalam air limbah.

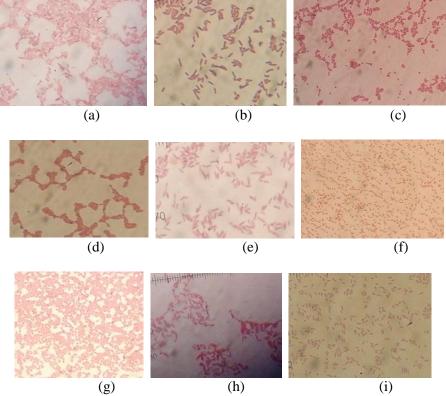
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri dilakukan tiga kali, yaitu pada awal *running* reaktor, pada awal perubahan debit air yang memasuki reaktor, dan di akhir *running*. Dari masing-masing isolasi bakteri diambil tiga koloni bakteri yang tampak memiliki morfologi yang berbeda-beda. Masing-masing bakteri yang belum diidentifikasi diberi nama B1 hingga B9. Hasil pengamatan bakteri secara visual dan dengan mikroskop ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1 Hasil pengamatan kultur bakteri murni

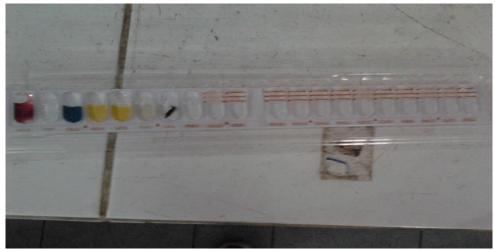
Sampel bakteri	Gram	Bentuk	Pigmen
B1	Negatif	Batang	Tidak berpigmen
B2	Negatif	Batang	Kuning
B3	Negatif	Batang pendek	Tidak berpigmen
B4	Negatif	Batang pendek	Tidak berpigmen
B5	Negatif	Batang	Tidak berpigmen
B6	Negatif	Batang pendek	Kuning
B7	Negatif	Batang pendek	Tidak berpigmen
B8	Negatif	Batang	Tidak berpigmen
B9	Negatif	Batang	Kuning

Pengamatan bakteri dengan mikroskop dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Pengamatan bakteri (a) B1; (b) B2; (c) B3; (d) B4; (e) B5; (f) B6; (g) B7; (h) B8; (i) B9

Bakteri yang sudah diisolasi seluruhnya bersifat Gram negatif, sehingga digunakan peralatan API 20 NE (Biomerieux) untuk mengidentifikasi bakteri tersebut. API 20 NE digunakan untuk mengidentifikasi bakteri dengan cara uji biokimia. Hasil dari uji biokimia tersebut dapat diamati secara visual dan kemudian dimasukkan ke dalam program Apiweb untuk dicocokkan dengan database bakteri yang ada untuk mengetahui spesies bakteri tersebut. Tingkat kecocokan sampel bakteri dengan bakteri yang terdapat dalam database program dianggap valid jika tingkat kecocokan mencapai 80% atau lebih. Ketidakcocokan hasil API 20 NE dapat terjadi karena setiap uji biokimia memiliki persentase kemungkinan untuk positif atau negatif dan tidak memiliki kepastian hasil 100%. Contoh API 20 NE yang sudah memiliki hasil dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Contoh hasil API 20 NE

Hasil API 20 NE yang sudah diinokulasi dan diinkubasi direkam dan dimasukkan ke dalam program Apiweb. Hasil spesies bakteri yang diidentifikasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Nama spesies sampel bakteri

Tabel 2 I tama spesies samper bakteri				
Sampel bakteri	Nama spesies			
B1	Stenotrophomonas maltophilia			
B2	Empedobacter brevis			
В3	Aeromonas hydrophila			
B4	Pseudomonas luteola			
B5	Moraxella sp.			
B6	Vibrio alginolyticus			
B7	Aeromonas hydrophila			
B8	Ralstonia pickettii			
B9	Brevundimonas vesicularis			

Spesies-spesies bakteri yang telah ditemukan kebanyakan ditemukan pada air atau tanah yang terkontaminasi, sehingga cocok dengan kondisi di mana bakteri diisolasi. *Stenotrophomonas maltophilia* merupakan bakteri yang sering ditemukan pada *rhizosphere* atau di tanah sekitar akar tanaman. Bakteri ini dapat ditemukan secara luas di lingkungan alami (Pages *et al.*, 2008).

Empedobacter brevis (sebelumnya dikenal sebagai *Flavobacterium breve*) dapat ditemukan di lingkungan tanah, air, maupun pada tanaman. *E. brevis* sering ditemukan pada tanah yang lembab, dan sebelumnya ditemukan pada *rhizopshere* atau lingkungan akar tanaman (Panaiyadiyan dan Chellaia, 2011).

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri yang sering ditemukan di lingkungan perairan, seperti danau, sungai, air laut, efluen air limbah domestik, dan air baku untuk air minum (http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/pathogens-pathogenes/aeromonas_hydrophila-eng.php).

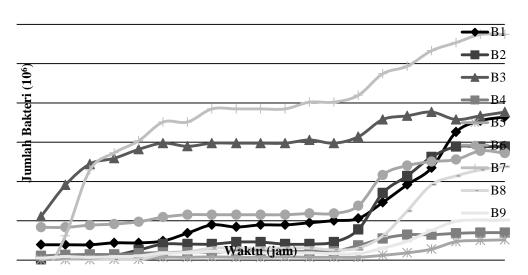
Pseudomonas luteola merupakan bakteri yang terdapat dalam air atau lingkungan lembab dan tidak biasa terdapat pada manusia (http://www.usmicrosolutions.com/referencelibrary/bacteriallibrary.html).

Vibrio alginolyticus sering ditemukan pada air asin atau pada makhluk perairan seperti ikan (Molitoris et al., 1985). Kehadiran bakteri ini di sampel yang diambil dari reaktor wetland dapat disebabkan oleh kehadiran ikan dalam air limbah yang memasuki IPAL Bojongsoang, atau karena air yang berasal dari peternakan ikan turut masuk ke dalam air tersebut.

Ralstonia pickettii merupakan bakteri yang sering ditemukan di daerah lembab seperti tanah, sungai, dan danau. Bakteri ini mudah tumbuh dalam lingkungan dengan kondisi yang beragam, dari lingkungan dengan jumlah nutrien yang minimal (olgiotrofik), dan juga dapat hidup dalam lingkungan dengan pencemaran logam berat yang tinggi (http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Ralstonia_pickettii).

Brevundimonas vesicularis sering ditemukan pada tanah yang lembab dan pada air limbah, dan memiliki kemiripan dengan Pseudomonas aeruginosa yang dapat hidup dalam kondisi beragam dengan jumlah nutrien yang sedikit maupun banyak (olgiotrofik).

Kurva tumbuh diukur dengan cara tidak langsung, yaitu dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 610 nm. Kaldu nutrisi yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri sebanyak 5% v/v diinkubasi dan diukur absorbansinya setiap jam hingga tercapai fasa log dan stasioner. Pengukuran pada penelitian ini dilakukan selama 20 jam. Hasil kurva tumbuh dapat dilihat pada Gambar 4.



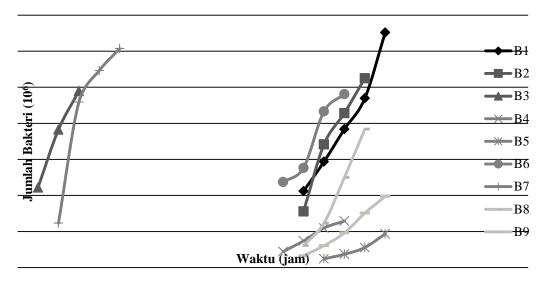
Gambar 4 Kurva tumbuh bakteri

Kurva tumbuh bakteri menunjukkan bahwa waktu lag untuk pertumbuhan bakteri cukup lama, kecuali untuk bakteri B3 dan B7. Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan waktu lag yang lama. Pertama, jumlah bakteri yang diinokulasi ke dalam media pada awal perhitungan kurva tumbuh hanya sedikit, sehingga membutuhkan waktu lama untuk mencapai fase log. Kedua, bakteri yang diinokulasi ke dalam media dapat bersifat rusak, sehingga membutuhkan waktu lama untuk bereproduksi dan mencapai fase log. Ketiga, bakteri yang diinokulasi ke dalam media masih dalam fase beradaptasi dengan media baru, sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk terbiasa dengan media tersebut dan mencapai fase log.

B3 dan B7 yang tidak memiliki fase lag dapat disebabkan karena bakteri yang diinokulasi ke dalam media masih dalam fase log atau dalam keadaan baik, sehingga tidak membutuhkan banyak waktu untuk bereproduksi. Kemungkinan lain adalah fase lag terjadi pada satu jam pertama, sehingga pada pengukuran kurva tumbuh fase lag tidak teramati. B3 dan B7 kemungkinan jugaakan lebih cepatberadaptasi dengan media lain seperti air limbah, karena fase lag yang cepat dapat menunjukkan bahwa bakteri ini membutuhkan sedikit waktu untuk beradaptasi.

Waktu lag yang cepat atau tidak ada dapat bermanfaat jika diinokulasi ke dalam media air limbah. Dengan waktu lag yang cepat, maka waktu yang dibutuhkan untuk menguraikan zat organik dalam air seharusnya menjadi lebih cepat, sehingga bakteri ini akan lebih efisien waktu jika dilihat dari sisi pandang efisiensi pengurangan polutan.

Fasa log dari kurva tumbuh bakteri digunakan untuk menghitung konstanta K, g, dan μ , di mana fasa log tiap bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Fase log dari kurva tumbuh bakteri

Dari fase log masing-masing bakteri, maka konstanta g dan K untuk setiap bakteri dapat dihitung menggunakan rumus (1), (2), dan (3). Hasil perhitungan konstanta tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Konstanta pertumbuhan bakteri

Bakteri	K (jam ⁻¹)	g (jam)	μ (jam ⁻¹)
B1	0,45	2,24	0,31
B2	0,59	1,68	0,41
B3	0,66	1,52	0,46
B4	0,52	1,91	0,36
B5	0,74	1,35	0,51
B6	0,38	2,65	0,26
B7	1,38	0,73	0,95
B8	1,37	0,73	0,95
B9	0,83	1,20	0,58

Dari data tersebut, dapat dilihat bahwa bakteri B7 juga memiliki *mean doubling time* yang paling cepat. *Mean doubling time* yang singkat artinya bakteri tersebut membutuhkan waktu yang lebih sedikit untuk bereproduksi, sehingga dalam satu periode waktu bakteri ini dapat bereproduksi lebih banyak dan memiliki populasi yang lebih besar dibandingkan bakteri lainnya.

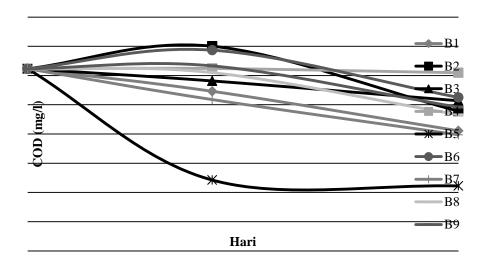
Nilai μ menunjukkan laju pertumbuhan spesifik bakteri, yang mencerminkan pertumbuhan bakteri selama masih ada substrat. Nilai ini berbanding lurus dengan laju pertumbuhan eksponensial (K), di mana dianggap bahwa selama masih ada substrat, maka pertumbuhan log akan terus terjadi karena kondisi masih optimal untuk pertumbuhan bakteri, dan jumlah bakteri yang mati dapat diimbangi oleh bakteri yang bereproduksi.

Bakteri yang sudah diisolasi dibiakkan dalam kaldu nutrisi (Oxoid) dan kemudian diinokulasi ke dalam air limbah domestik untuk mengetahui kemampuan bakteri mendegradasi polutan di dalam air. Sampel air limbah diinkubasi pada suhu ruang untuk mengetahui kemampuan degradasi pada suhu ruang. Parameter yang diukur adalah COD (Chemical Oxygen Demand). Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Pengukuran COD pada air limbah yang diinokulasi

Sampel	COD (mg/l)				
~p •1	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-7		
B1	311,60	273,05	205,50		
B2	311,60	350,17	239,06		
В3	311,60	290,78	256,85		
B4	311,60	312,06	304,80		
B5	311,60	121,21	111,11		
B6	311,60	343,43	262,63		
B7	311,60	258,86	198,63		
B8	311,60	304,96	232,88		
B9	311,60	316,50	245,79		

Dari pengukuran yang dilakukan, dapat dilihat bahwa seluruh bakteri memiliki kemampuan tertentu untuk mendegradasi polutan dalam air limbah. Kemampuan degradasi yang paling besar ditunjukkan oleh sampel bakteri B5, dan kemampuan paling kecil ditunjukkan oleh B4. Penggambaran perubahan COD dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6 Penurunan COD oleh sampel bakteri

Adanya penurunan nilai COD pada seluruh sampel menunjukkan bahwa seluruh bakteri ini memiliki kemampuan untuk hidup dalam air limbah dan memanfaatkan senyawa yang terdapat dalam air untuk proses metabolisme. Besarnya penurunan COD tidak sebesar penurunan COD pada reaktor *wetland* secara keseluruhan, yang memiliki efisiensi penyisihan COD total sebesar 43% hingga 79%. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat pada tanah *wetland* bukan merupakan satu-satunya faktor dalam penurunan COD pada air limbah, dan terdapat proses lain yang lebih berpengaruh dalam penyisihan COD, misalnya sedimentasi atau absorpsi dan adsorpsi oleh tanaman.

Kinerja bakteri sampel dalam menyisihkan COD pada percobaan ini tidak memperhitungkan kompetisi dengan bakteri dan mikroorganisme lain yang terdapat pada tanah reaktor. Pada kondisi reaktor yang sesungguhnya, kinerja bakteri akan dipengaruhi oleh kehadiran bakteri dan mikroorganisme lain yang terdapat dalam tanah sehingga terdapat

kompetisi antar bakteri, yang dapat menimbulkan kinerja bakteri yang berbeda dibandingkan keadaan laboratorium.

KESIMPULAN

Bakteri yang sudah diisolasi dari wetland dimurnikan dan diamati untuk mengetahui sifat dari bakteri tersebut. Dari bakteri yang sudah didapat, seluruh bakteri tersebut bersifat Gram negatif dan berbentuk batang atau batang pendek. Bakteri yang didapat berasal dari genus yang beragam, yaitu Aeromonas, Moraxella, Pseudomonas, Empedobacter, Stenotrophomonas, Ralstonia, Vibrio, dan Brevundimonas. Seluruh bakteri ini dapat ditemukan pada tanah dan/atau lingkungan perairan, sehingga wajar ditemukan pada reaktor wetland pada penelitian ini.

Kurva tumbuh yang dibuat menunjukkan bahwa dua bakteri, B3 dan B7, tidak memiliki waktu lag atau waktu lag bakteri ini sangat cepat. Hal ini dapat disebabkan karena waktu lag terjadi dalam satu jam pertama, bakteri yang diinokulasi masih dalam keadaan log atau dalam keadaan yang tidak rusak, atau bakteri dapat cepat beradaptasi dengan media.

Dari nilai K, g, dan µ yang didapat, B7 terhitung juga memiliki nilai g (*mean doubling time*) yang paling singkat. Hal ini menunjukkan bahwa B7 dapat bereproduksi dengan cepat di dalam media.

Dari uji konfirmasi dengan inokulasi bakteri pada air limbah domestik, dapat dilihat bahwa bakteri B5 memiliki kemampuan paling baik menguraikan zat organik yang terdapat dalam air. Pada seluruh inokulasi bakteri ditemukan penurunan zat organik, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat hidup dengan baik dalam air yang serupa dengan air limbah domestik.

DAFTAR PUSTAKA

- Balasooriya, W.K., K. Denet, J. Peters, N. E. C. Verboest, dan P. Boecks. 2008. *Vegetation composition and soil microbial community structural changes along a wetland hydrological gradient*. Copernicus Publications: Hydrology and Earth System Science, 12, 277-291, 2008.
- Chaudhuri, S. Ray dan A. R. Thakur. 2006. *Microbial genetic resource mapping of East Calcutta wetlands*. Current Science, Vol. 91, No. 2, 25 July 2006
- Davis, Luise. 2011. *A Handbook of Constructed Wetlands*. USDA-Natural Resources Conservation Services.
- http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/pathogens-pathogenes/aeromonas_hydrophila-eng.php (Diakses 22 Agustus 2011)
- http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Ralstonia_pickettii (Diakses 22 Agustus 2011)
- http://www.usmicro-solutions.com/referencelibrary/bacteriallibrary.html (Diakses 22 Agustus 2011)
- Jorgensen, S. E. et al. 2005. Waste Stabilization Ponds and Constructed Wetland Design Manual. UNEP-IETC: Copenhagen.
- Molitoris, E., S. W. Joseph, M. I. Krichevsky, W. Sindhuhardja, dan R. R. Colwell. 1985. *Characterization and Distribution of* Vibrio alginolyticus *dan* Vibrio parahaemolyticus *isolated in Indonesia*. Applied and Environmental Microbiology, Dec. 1985, p. 1388-1394
- Pages, Delphine, Jerome Rose, Sandrine Conrod, Stephane Cuine, Patrick Carrier, Thierry Heulin, dan Wafa Achouak. 2008. *Heavy Metal Tolerance in* Stenotrophomonas maltophila. PloS ONE 3(2): e1539.doi:10.1371/journal.pone.0001539
- Panaiyadayan, P. dan S. R. Chellaia. 2011. *Biodiversity of Microorganisms Isolated from Rhizosphere Soils of Pachamalai Hills, Tamilnadu, India*. Research Journal of Forestry, 5: 27-35.
- Sterritt, R. M. dan Lester, J. N. 1988. *Microbiology for Environmental dan Public Health Engineers*. St. Edmundsbury Press Ltd: Suffolk.

- Udotong, Ime R., Ofonime U. M. John, dan Justina I. R. Udotong. 2008. *Microbiological and Physiochemical Studies of Wetland Soils in Eket, Nigeria*. World Academy of Science, Engineering and Technology 44 2008.
- Zeller, Simon L. 2007. Host plant selectivity of rhizobacteria in a crop-weed model system. Institute of Environmental Sciences, University of Zurich.