

PENGARUH PENGADUKAN BERTAHAP TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI HALOFILIK DENGAN NUTRISI *Artemia salina* PADA PEMBUATAN GARAM

(*The Effect of Gradually Stirring On Halophilic Bacteria Growth with Artemia salina Nutrition for Salt Production*)

Nilawati, Muryati dan Marihati

Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri
Jl. Ki Mangun Sarkono No. 6, Semarang, 50136
e-mail: nilawati bbtppi@yahoo.co id

Naskah diterima 23 Desember 2013, revisi akhir 6 Maret 2014 dan disetujui untuk diterbitkan 3 April 2014

ABSTRAK. Bakteri halofilik merupakan mikroorganisme yang habitatnya berada pada kadar garam tinggi. Kehadiran bakteri halofilik dalam kristalisasi garam dapat meningkatkan kemurnian NaCl. Bakteri ini agar dapat berkembang biak harus ada nutrisi yang mengandung sumber karbon dan nitrogen, *Artemia salina* mengandung unsur tersebut dimana kandungan protein 52% dan karbohidrat 15,49%. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perkembangan pertumbuhan bakteri halofilik dengan menggunakan nutrisi *Artemia salina* untuk proses pembuatan garam. Penelitian ini menggunakan tiga variabel yaitu jenis, waktu dan lama pengadukan. Pengadukan meliputi aerasi dan stirer. Waktu pengadukan yaitu ½, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam. Lama pengadukan terdiri dari hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6 dan ke-7. Hasil perlakuan yang terbaik untuk analisa transmittan dan mikrobiologi adalah perlakuan dengan aerasi 6 jam pada hari ketujuh yang nilainya masing-masing 33% transmittan dan $2,25 \times 10^3$ colony forming unit per mililiter untuk jumlah mikroba.

Kata kunci: aerasi, *Artemia salina*, bakteri halofilik, stirer

ABSTRACT. Halophilic bacteria are microorganisms whose habitat is at high salt content. Halophilic bacteria in the presence of salt crystallization can increase the purity of NaCl. Nutrients that contain carbon and oxygen must be available for the survival of bacteria, where *Artemia salina* contains 52% protein and 15.49% carbohydrate. The purpose of this study was to determine the development of the growth of halophilic bacteria using nutrient *Artemia salina* for salt production. Three variables were used in this reserach: the first variables includes aeration and stirrer, the second variable was stirring time (½, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours) and the third variable was mixing period, there were consisted of 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th, 6th and 7th day. The best treatment for transmittance and microbial analysis were 6 hours and seven days of aeration, each point was 33% transmittance and $2,25 \times 10^3$ colony forming unit per mililiter for microbiology analysis.

Keywords: aeration, *Artemia salina*, halophilic bacteria, stirer

1. PENDAHULUAN

Garam merupakan salah satu produk inferior yang hanya diproduksi oleh negara-negara tropis seperti Indonesia. Garam bahan baku diproduksi oleh petani garam dan PT. Garam. Beberapa tahun terakhir ini, Indonesia harus mengimpor garam, namun pada tahun 2012 surplus

garam. Pada tahun 2012 produksi garam nasional mencapai 2,02 juta ton sementara kebutuhan untuk garam konsumsi 1,5 juta ton.

Dalam memproduksi garam, kemurnian NaCl sangat diperlukan, seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Marihati, dkk., (2012^a). Peningkatan

kemurnian garam dilakukan dengan menggunakan bakteri halofilik pada meja kristalisasi dengan hasil kemurnian NaCl mencapai hingga 97-98,55%. Untuk menumbuhkembangkan bakteri ini dibutuhkan nutrisi. Media atau nutrisi yang biasa digunakan untuk bakteri halofilik adalah *Luria Berthani (LB)*, karena media ini harganya mahal (lebih kurang 2,8 juta rupiah per kilogram) maka dicari alternatif pengganti LB yaitu *Artemia salina* (lebih kurang 200 ribu rupiah per kilogram) dimana kandungan protein 52% dan karbohidrat 15,49%. Ini merupakan sumber nitrogen dan karbon bagi bakteri halofilik.

Bakteri halofilik merupakan jenis mikroorganisme yang habitatnya berada pada kadar garam tinggi. Bakteri halofilik dapat diklasifikasikan berdasarkan kadar garam yang dibutuhkan diantaranya jenis halofil rendah yang tumbuh optimal pada 2-5% NaCl, jenis halofil sedang yang tumbuh optimal pada 5-20 NaCl dan untuk jenis halofil yang ekstrim (kadar garam tinggi) tumbuh optimal pada kadar garam sekitar 20-30% NaCl (Dassarma, 2001). Menurut Falb, dkk. (2008), jenis bakteri halofilik Archea berupa *Halobacterium salinarum*, *Haloarcula marismortui*, *Haloquadratum walsbyi* dan *haloalkaliphile Natronomonas pharaonis* mempunyai kebutuhan nutrisi yang berbeda dan tingkat mendegradasi senyawa-senyawa organik yang berbeda seperti gliserol, pentosa dan folat.

Kualitas garam NaCl selain dipengaruhi oleh kebersihannya juga dipengaruhi oleh terikutnya senyawa-senyawa lain yang tidak dikehendaki, terutama CaSO₄, MgSO₄ dan MgCl₂ dalam kristal garam. Dua mekanisme yang dianggap sebagai penyebab utama adanya ketidakmurnian kristal NaCl, yaitu kopresipitasi (pengendapan kristal pada saat yang bersamaan) dengan timbulnya kristal-kristal garam NaCl dan penempelan lindi induk pada kristal garam. Rendahnya mutu garam NaCl disebabkan karena ikut terkristalnya garam-garam Fe, Ca (pada kekentalan 24^oBe) dan garam Mg, K (pada kekentalan 26,25-29,5^oBe), peristiwa ini

dikenal sebagai kopresipitasi (Marihati, dkk., 2012^a).

Bakteri halofilik agar tetap hidup membutuhkan nutrien-nutrien seperti karbon (C), oksigen (O) dan nitrogen (N) yang merupakan elemen utama penyusun sel bakteri tersebut. Media *Luria Berthani* terdiri dari Tripton, *Yeast extract* dan NaCl. Media *Yeast extract* dan Tripton ini mengandung karbon (C), nitrogen (N), asam amino dan vitamin yang dibutuhkan bakteri halofilik untuk tumbuh dan berkembang biak. Dalam penelitian ini, untuk menumbuhkembangkan bakteri halofilik digunakan *Artemia salina*. Hasil analisa laboratorium Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri (2012), *Artemia salina* mengandung protein 52,76%, lemak 4,87%, karbohidrat 15,40%, serat 4,86% dan abu 11,26%. *Artemia salina* atau udang renik air asin adalah sejenis plankton yang merupakan makanan bermutu tinggi bagi berbagai jenis ikan, udang dan kepiting (Mudjiman, 1988). *Artemia salina* juga sebagai biota akuatik yang khas karena bersifat *eury-polihalin* (tahan dan menyukai kadar garam tinggi). Warna tubuh *Artemia Salina* tergantung dari konsentrasi garam dimana warnanya hijau ke merah bila konsentrasi garam rendah, berwarna hijau dan merah bila konsentrasi tinggi (Dumitrascu, M., 2011). Kehadiran *Artemia salina* pada bak peminihan dalam proses pembuatan garam dapat berpengaruh positif yaitu pertama dapat memangsa plankton penyebab kekeruhan sehingga dapat meningkatkan kecerahan air dan mempercepat evaporasi, kedua adalah bangkai *Artemia salina* yang mati (detritus organik) dapat menjadi pakan alami bakteri halopilik di meja penggaraman sehingga dapat meningkatkan kemurnian NaCl dan mutu garam (Marihati, dkk, 2013).

Penelitian tentang penumbuh-biakan bakteri halofilik dengan proses aerasi kontinyu selama 7 hari telah dilakukan oleh Marihati, dkk, (2012^b), namun perbedaan dengan penelitian ini adalah aerasi yang dilakukan tidak kontinyu dan setiap harinya hanya dilakukan beberapa jam saja selama 7 hari.

Selain sistem aerasi, pada penelitian ini juga dilakukan tanpa aerasi yaitu dengan stirer. Aerasi merupakan proses peningkatan kandungan oksigen pada suatu lingkungan air dengan tujuan untuk menjadikan organisme hidup dan berkembang biak, sedangkan stirer merupakan proses pengadukan tanpa memasukkan selang udara ke dalam larutan. Penggunaan aerasi bertahap pada penelitian ini diharapkan dapat menghemat energi listrik, karena aerasi tidak dilakukan secara terus menerus. Perbedaan penelitian Marihati, dkk. (2012^b) dengan penelitian yang dilakukan ini adalah pada proses aerasi penuh dan aerasi secara bertahap, persamaannya adalah jumlah hari aerasi yaitu 7 hari dan nutrisi yang digunakan adalah *Artemia salina*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pengadukan, waktu dan lama pengadukan bertahap terhadap pertumbuhan bakteri halofilik dengan menggunakan *Artemia salina* sebagai nutrisi. Dengan menggunakan proses aerasi dan stirer bertahap maka diharapkan dapat menghemat energi listrik. Juga dapat digunakan sebagai data dalam pembuatan starter halofilik yang selanjutnya starter ini dapat digunakan dalam pembuatan garam dengan NaCl tinggi. Pada ladang garam, starter halofilik digunakan sebagai pengkaya yang disebarkan pada kolam pengkayaan sebelum masuk ke meja kristalisasi.

2. METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bittern, tripton, *yeast extract*, NaCl, *Artemia salina* yang diambil dari Pamekasan Madura, urea dan gula halus, air garam tua 20^oBe diambil dari PT. Garam Sampang Madura. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu inkubator, shaker, autoclave, laminar air flow, erlenmeyer, beaker glass, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, stirer, aerator dan botol aerasi.

Penelitian ini menggunakan tiga variabel yaitu jenis pengadukan, waktu dan lama pengadukan. Jenis pengaduk terdiri dari aerasi dan stirer. Waktu pengadukan

adalah ½, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam. Lama pengadukan terdiri dari hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6 dan ke-7. Masing-masing perlakuan menggunakan satu jenis formulasi dari hasil penelitian Marihati, dkk. (2012^b) yaitu tiap 500 ml larutan terdiri dari 450 ml air garam tua 20^oBe, 50 ml *Luria Berthani*, gula halus 1,5 gram, urea 0,5 gram, *Artemia salina* 2,25 gram. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 2 kali ulangan. Semua perlakuan kemudian diaerasi dan distirer pada hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6 dan ke-7 dan setiap harinya diaerasi dan distirer selama ½, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam.

Larutan starter bakteri halofilik dilakukan uji transmittan dan uji mikrobiologi. Uji transmittan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 590 nm. Analisa mikrobiologi terhadap jumlah bakteri halofilik dengan metode *Total Plate Count* (SNI 2897:2008) dengan memakai media *Plate Count Agar* ditambah 10% NaCl 99% kemudian diinkubasi selama 2 hari, selanjutnya dibaca dengan *Coloni counter*.

Metode Analisis Hasil

Data hasil analisa laboratorium ditabulasi dan diolah dengan metode SPSS (Santosa, 2000 dan Pratisto, A., 2002). Perlakuan yang terpilih adalah perlakuan yang mempunyai nilai transmittan yang terkecil dan jumlah bakteri halofilik (*Total Plate Count*) yang tertinggi nilainya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Transmittan

Nilai transmittan adalah besarnya sinar radiasi yang melewati zat dan ditangkap detektor, Transmittan merupakan kebalikan dari absorban sedangkan nilai absorban adalah besarnya sinar radiasi yang terserap oleh zat yang diukur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai transmittan akibat dari pengaruh perlakuan aerasi dan stirer dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Secara keseluruhan, nilai transmittan dari perlakuan aerasi lebih rendah dari perlakuan stirer, nilai rata-rata aerasi adalah 49,40 sedangkan dengan stirer rata-

ratanya 60,41. Hal ini menunjukkan bahwa larutan perlakuan dengan aerasi lebih keruh atau kental dibandingkan stirer. Kekeruhan tersebut disebabkan adanya

pertumbuhan mikroba yang mengalami proses mekanisme pemecahan bahan-bahan organik seperti karbohidrat dan protein.

Tabel 1. Pengaruh aerasi terhadap uji transmittan (%)

Waktu	Ulangan	Hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
½ jam	1	67	60	56	50	46	45	39
	2	62	60	60	52	52	46	37
1 jam	1	65	57	56	50	46	45	39
	2	64	67	63	52	47	45	46
2 jam	1	65	63	56	46	47	46	38
	2	64	61	59	50	47	40	36
3 jam	1	64	61	57	43	45	41	39
	2	63	63	59	52	43	41	40
4 jam	1	63	63	53	41	40	39	37
	2	64	65	59	52	45	40	42
5 jam	1	63	61	53	42	40	37	35
	2	57	54	50	43	41	36	30
6 jam	1	56	58	42	37	37	33	32
	2	55	50	47	41	38	34	33

Rata-rata transmittan aerasi: 49,40%

Tabel 2. Pengaruh stirer terhadap uji transmittan (%)

Waktu	Ulangan	Hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
½ jam	1	77	86	80	80	78	75	62
	2	81	78	77	74	69	58	51
1 jam	1	79	76	74	70	69	65	49
	2	79	74	71	71	60	57	42
2 jam	1	76	75	61	61	60	60	40
	2	77	73	69	68	61	50	42
3 jam	1	75	73	71	59	58	49	31
	2	77	70	63	55	53	51	38
4 jam	1	72	72	61	50	49	45	39
	2	73	71	66	50	47	45	37
5 jam	1	73	71	61	53	54	39	36
	2	74	68	64	52	50	40	37
6 jam	1	74	70	56	46	42	37	36
	2	69	63	59	46	43	40	32

Rata-rata transmittan stirer : 60,41%

Untuk perlakuan stirer, kemungkinan oksigen yang masuk lebih sedikit sehingga pertumbuhan bakteripun tidak maksimal. Bakteri halofilik merupakan bakteri yang dapat hidup di air garam dengan konsentrasi rendah, sedang dan tinggi dan untuk kelangsungan hidupnya memerlukan karbon, nitrogen dan oksigen. Menurut Syariffauzi (2009)

dan Todar (2004), faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah penyediaan nutrisi yang sesuai untuk kultivasi bakteri, faktor fisika dan faktor kimia. Hal ini didukung dari hasil analisa statistik bahwa jenis pengaduk berupa aerasi dan stirer memberikan perbedaan yang nyata dimana F hitung 506,412 sig<0,05. Proses pengadukan

dengan aerasi dan stirer dapat dilihat pada Gambar 1.



(a)



(b)

Gambar 1. Perlakuan pengadukan: (a) aerasi dan (b) stirer

Untuk Lama Pengadukan, hasil analisa transmittan menunjukkan terjadi penurunan yang berarti, larutan bertambah keruh dan bertambah kekentalannya. Nilai rata-rata untuk lama pengadukan adalah 54,00. Hasil F hitung diperoleh 288,313 sig<0,005. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6 dan ke-7 memberikan perbedaan yang nyata terhadap nilai transmittan.

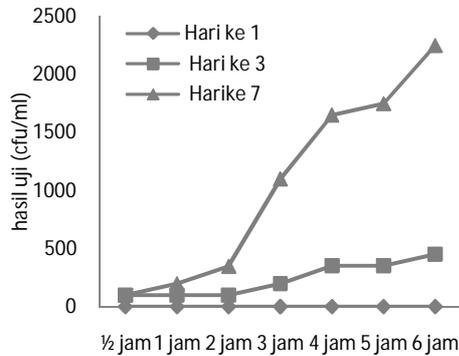
Untuk variabel waktu, nilai rata-rata transmittan adalah 54,9, untuk uji statistik antar waktu memberikan perbedaan yang nyata dimana F hitungnya 72,763 sig<0,05, tingkat kepercayaan 95% (tersaji pada Tabel 3). Jika dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* maka lama pengadukan akan memberikan perbedaan yang nyata setiap harinya dengan nilai tingkat signifikansi 5% atau tingkat kepercayaannya 95%. Begitu juga dengan variabel waktu memberikan perbedaan yang nyata setiap waktu dengan nilai tingkat signifikansi 5%. Menurut Oren, A. (2010), terjadinya kekeruhan larutan karena bakteri halofilik jenis *Dumalibella* menghasilkan senyawa-senyawa organik berupa gliserol, glisin betain, ektoin, laktat, asetat dan dihidroksiaseton. Selain itu bakteri halofilik mengandung enzim protease yang berfungsi untuk menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino (Rejeki dan Wuryuni, 2009).

Tabel 3. Anova hasil uji transmittan terhadap larutan stater bakteri halofilik

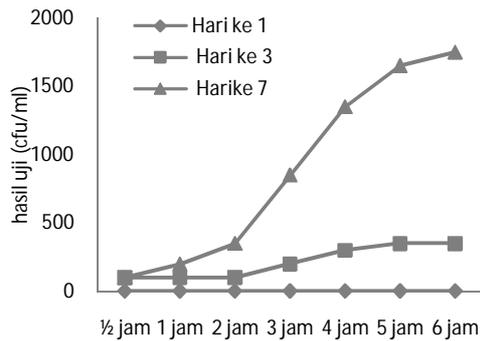
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34155,658	97	352,120	30,020	0,000
Intercept	590811,842	1	590811,842	50369,344	0,000
Waktu	5120,908	6	853,485	72,763	0,000
Jenis	5940,005	1	5940,005	506,412	0,000
Lama Pengadukan	20290,765	6	3381,794	288,313	0,000
Waktu * jenis	1110,602	6	185,100	15,781	0,000
Waktu * hari	782,235	36	21,729	1,852	0,000
Jenis* hari	506,459	6	84,410	7,196	0,000
Waktu* Jenis* Lama Pengadukan	404,684	36	11,241	0,958	0,544
Error	1149,500	98	11,730		
Total	626117,000	196			
Corrected Total	35305,158	195			

Uji Mikrobiologi

Hasil uji mikrobiologi terhadap jumlah bakteri halofilik dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3 dimana semakin lama di-aerasi dan distirer maka jumlah bakterinya semakin banyak.



Gambar 2. Pengaruh pengadukan aerasi terhadap pertumbuhan bakteri halofilik



Gambar 3. Pengaruh pengadukan stirer terhadap pertumbuhan bakteri halofilik

Pengujian mikrobiologi hanya dilakukan pada awal, pertengahan dan akhir proses pembuatan stater bakteri halofilik yaitu hari ke-1, ke-3 dan ke-7. Pada hari ke-1 belum ada pertumbuhan bakteri halofilik. Untuk variabel jenis pengadukan berupa aerasi dan stirer maka perlakuan aerasi lebih baik dari stirer dimana jumlah bakteri yang tumbuh lebih banyak. Untuk aerasi rata-rata bakteri yang tumbuh $6,39 \times 10^2$ koloni/ml. Sedangkan perlakuan stirer sebanyak $5,46 \times 10^2$ koloni/ml.

Apabila dilanjutkan analisa statistik maka perlakuan aerasi dan stirer berbeda nyata dengan F hitung 30,727 sig<0,05. Sesuai dengan uji transmittan bahwa perlakuan jenis pengadukan juga berbeda nyata. Untuk perlakuan waktu, semakin lama waktu aerasi dan stirer maka jumlah bakteri semakin meningkat, hal ini didukung dari hasil uji statistik bahwa variabel waktu berpengaruh nyata terhadap jumlah mikroba (bakteri halofilik) dengan F hitung 409,601 sig <0,05 (Tabel 4). Lama Pengadukan (hari ke-1, ke-3 dan ke-7) memberikan perbedaan yang nyata juga dengan F hitung 1928,909 sig <0,05. Antara variabel saling berinteraksi dimana variabel waktu dan variabel jenis pengadukan, kemudian variabel jenis pengadukan berinteraksi dengan variabel hari serta variabel jenis pengadukan berinteraksi dengan variabel hari. Hasil analisa statistik uji mikrobiologi tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Anova hasil uji mikrobiologi terhadap larutan stater bakteri halofilik

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	22447142,9	27	831375,661	211,623	0,000
Intercept	19682857,1	1	19682857,14	5010,182	0,000
Waktu	9642142,857	6	1607023,810	409,061	0,000
Jenis	120714,286	1	120714,286	30,727	0,000
Lama Pengadukan	7577857,143	1	7577857,143	1928,909	0,000
Waktu * jenis	129285,714	6	21547,619	5,485	0,001
Waktu * hari	4847142,857	6	807857,143	205,636	0,000
Jenis* hari	71428,571	1	71428,571	18,182	0,000
Waktu* Jenis* Lama Pengadukan	58571,429	6	9761,905	2,485	0,000
Error	110000,00	28	3928,571		0,000
Total	42240000,0	56			0,000
Corrected Total	22557142,9	55			0,047

4. KESIMPULAN

Perlakuan terbaik pada pembuatan stater halofilik dengan menggunakan nutrisi *Artemia salina* yaitu untuk parameter transmittan yang nilainya paling kecil adalah perlakuan dengan aerasi selama 6 jam pada hari ketujuh. Begitu pula untuk parameter mikroba dimana bakteri tumbuh paling banyak pada perlakuan dengan aerasi selama 6 jam pada hari ketujuh.

Untuk penelitian selanjutnya disarankan perlakuan aerasi selama 6 jam pada hari ketujuh dapat dijadikan sebagai stater bakteri halofilik dalam pembuatan garam guna meningkatkan kemurniaan NaCl.

DAFTAR PUSTAKA

- Dumitrascu, M. (2011). *Artemia salina* SC Biosafety SRL-D. *Balneo-Research Journal*, 2(4), 119-122.
- DasSarma, S. & Arora, P. (2001). *Halophiles: Encyclopedia of life sciences*. USA: Nature Publishing Group.
- Falb, M., Muller, K., Königsmaier, L., Oberwinkler, T., Horn, P., Gronau, S., Gonzales, O., Pfeiffer, F., Bornberg-Bauer, E., & Oesterhelt, D. (2008). Metabolism of Halophilic Archaea. *Extremophiles*. 12(2), 177-196.
- Marihati, Nani, H., Muryati, Nilawati, Danny W., Syarifudin, M. & Edy, N. (2013). *Artemia Salina* sebagai Bahan Utama Media Halofilik dalam Pembuatan Garam NaCl Kemurnian Tinggi untuk Industri Garam Beryodium. *Jurnal Media Gizi Mikro Indonesia*, 4(2), 85-93.
- Marihati. (2012). Pengaruh Bakteri Halofilik Terhadap Kemurnian NaCl Garam Rakyat Guna Penerapan *Green Industry* di Industri Berbasis Garam Rakyat. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 2(1), 59-66.
- Marihati, Nani, H., Asyari, Suwito, Muryati, Nilawati, Danny, W., Syarifudin, M., Edy, N., Winarno, Fajar, A.H., Nelviyanti & Rahayu. (2012). *Pilot Project Peningkatan Mutu dan Produktivitas Garam Rakyat dengan Peladangan Garam Sistem Salt House Berbasis Biomanajemen Bakteri Halofilik dan Artemia salina*. Laporan Akhir Pengembangan dan Aplikasi Hasil Litbang Teknologi Industri, Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri, Badan Pengkajian dan Kebijakan Iklim dan Mutu Industri, Semarang.
- Mudjiman & Ahmad. (1988). *Udang Renik Air Asin*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara
- Oren, A. (2010). Thoughts on the "Missing Link" Between Saltworks Biology and Solar Salt Quality. *Global NEST Journal*, 2(4), 417-425.
- Pratisto, A. 2002. *Statistik Menjadi Mudah dengan SPSS 17*. Jakarta: PT.Elex Media Komputindo.
- Rejeki, D. S., Asy'ari, M., & Wuryanti. (2009, Desember 22). *eprints: Diponegoro University Institutional Repository*. Dipetik Oktober 12, 2012, dari Diponegoro University Institutional Repository Web site: <http://eprints.undip.ac.id/2905/>
- Santosa, (2000). *Statistik Parametrik* (ed. 1). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Badan Standardisasi Nasional. (2008). *SNI 2897:2008 Metode Uji Cemar Mikroba*. Jakarta: BSN
- Syariffauzi. (2009). *Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri*. Diambil kembali Juli 23, 2011, dari <http://syariffauzi.wordpress.com/tag/faktor-faktor-yang-mempengaruhi-pertumbuhan-bakteri/>.
- Todar, K. (2012). *Table of Content: Structure and Function of Prokaryotes*. Diambil kembali dari Todar's Online Textbook of Bacteriology Web site: <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>
- Unicef. (2006). *Report Feasibility Study on Iodozation Using Hand Spray*. Jakarta: Ministry of Industri. Seameo-Tropmed RCCN-University of Indonesia.