



ARTIKEL RISET

URL artikel: <http://jurnal.fkmumi.ac.id/index.php/woh/article/view/woh3108>

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Tanah *Burkholderia Pseudomallei* Penyebab Melioidosis Di Kota Makassar

^KNur Faidah Munir¹, Nur Wahyuni Munir²

¹ Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Program Studi Agroindustri, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan

²Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muslim Indonesia

Email Penulis Korespondensi (^K): nurfaidahmunir@gmail.com

nurfaidahmunir@gmail.com¹, nurwahyuni.munir@umi.ac.id²

(085255668909)

ABSTRAK

Burkholderia pseudomallei adalah jenis bakteri saprofit, bersifat patogen *oportunistik*, dan sebagai agen penyebab penyakit *melioidosis*. Bakteri ini banyak ditemukan hidup di tanah, air, maupun pada sawah pertanian. Kasus kejadian penyakit *melioidosis* telah banyak dilaporkan di wilayah negara Asia, namun belum banyak informasi spesifik mengenai kejadian penyakit tersebut di Indonesia. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri tanah *Burkholderia pseudomallei* di Kota Makassar. Pengambilan sampel dilakukan secara acak di 11 kecamatan di Kota Makassar, yaitu Mamajang, Tamalate, Rappocini, Mariso, Bontoala, Wajo, Biringkanaya, Manggala, Tamalanrea, Tallo, dan Makassar. Analisis data menggunakan metode kualitatif deskriptif dalam bentuk gambar dan tabel. Kultivasi isolat menggunakan medium selektif *Ashdown Agar*. Identifikasi bakteri menggunakan pengecatan *gram*, dan beberapa uji biokimiawi. Hasil penelitian diperoleh sebanyak 100 isolat sampel, masing-masing 28 isolat sampel positif *Burkholderia pseudomallei* dan 72 isolat bakteri jenis lain. Penelitian disimpulkan bahwa terdapat persebaran bakteri *Burkholderia pseudomallei* di Kota Makassar, sehingga disarankan dapat menjadi acuan untuk penelitian lanjutan tentang penyakit melioidosis.

Kata kunci: Identifikasi; *burkholderia pseudomallei*; *melioidosis*

PUBLISHED BY :

Public Health Faculty
Universitas Muslim Indonesia

Address :

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI)
Makassar, Sulawesi Selatan.

Email :

jurnal.woh@gmail.com, jurnalwoh.fkm@umi.ac.id

Phone :

+62 85255997212

Article history :

Received 28 Desember 2019

Received in revised form 23 Januari 2020

Accepted 24 Januari 2020

Available online 25 Januari 2020

licensed by [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei is a type of saprophytic bacteria, is an opportunistic pathogen, and as a causative agent of melioidosis. These bacteria are found living in soil, water, and agricultural fields. Cases of melioidosis have been widely reported in Asian countries, but there is not much specific information regarding the incidence of these diseases in Indonesia. The study aims to identify the soil bacteria *Burkholderia pseudomallei* in Makassar City. Sampling was carried out randomly in 11 districts in Makassar City, namely Mamajang, Tamalate, Rappocini, Mariso, Bontoala, Wajo, Biringkanaya, Manggala, Tamalanrea, Tallo, and Makassar. Data analysis uses descriptive qualitative methods in the form of figures and tables. Cultivation of isolates using selective medium Ashdown Agar. Identification of bacteria using gram staining, and several biochemical tests. The results were obtained as many as 100 isolates of samples, each of 28 isolates of *Burkholderia pseudomallei* positive samples and 72 isolates of other types of bacteria. The study concluded that there was a spread of the *Burkholderia pseudomallei* bacterium in Makassar City, so it was suggested to be a reference for further research on melioidosis.

Keywords: Identification; *burkholderia pseudomallei*; melioidosis

PENDAHULUAN

Burkholderia pseudomallei (*B. pseudomallei*) adalah bakteri gram negatif yang sangat menular dan merupakan patogen oportunistik.¹ Bakteri ini dapat hidup di tanah dan air sehingga dapat menginfeksi manusia maupun binatang melalui inhalasi, konsumsi, atau *inokulasi perkutan*.^{2,3} Tingkat keparahan penyakit bervariasi dari infeksi kronis menyerupai tuberkulosis, sepsis akut, dan kemerahan.⁴ Manajemen klinis dipersulit oleh resistensi antibiotik dan angka kematian tinggi meskipun diagnosis yang tepat disertai pengobatan.⁵

Burkholderia pseudomallei merupakan agen penyebab penyakit melioidosis dan telah banyak dilaporkan di beberapa negara seperti Amerika, Australia, dan beberapa negara di Asia Tenggara, namun jarang dilaporkan di Indonesia.^{6,7} Sebuah studi pemodelan terbaru memperkirakan bahwa sebanyak 20.000 kasus *melioidosis* pada manusia per tahun di Indonesia, dengan sekitar 10.000 kematian potensial setiap tahunnya. Meski demikian, *melioidosis* di Indonesia masih belum diketahui. Jaringan *melioidosis* Indonesia dibentuk selama lokakarya *melioidosis* pertama pada tahun 2017 dan ditemukan 101 kasus *melioidosis* (99 manusia dan dua kasus pada hewan) yang sebelumnya dilaporkan dan tambahan 45 kasus *melioidosis* pada manusia. Adapun sebaran dari 146 kasus yang dikonfirmasi, yaitu ditemukan di Sumatra (n = 15), Jawa (n = 104), Kalimantan (n = 15), Sulawesi (n = 11) dan Nusa Tenggara (n = 1). Secara keseluruhan, 15 (36%) kasus adalah anak-anak (usia < 15 tahun) dan 27 (64%) adalah orang dewasa (usia 15 tahun), dimana kematian keseluruhan adalah 43%.⁸

Salah satu studi mengamati pola resistensi *B. pseudomallei* dari isolat klinis di Dr. Saiful Rumah Sakit Umum Anwar, Malang-Indonesia selama periode 2011 hingga 2013. Isolat dikonfirmasi sebagai *B. pseudomallei* menggunakan VITEK-2. Uji sensitivitas antimikroba menunjukkan beberapa isolat resisten terhadap *ceftazidime* dan *meropenem*. Resistensi terhadap asam *amoksisilin-klavulanat*, *kotrimoksazol* dan *doksisisiklin* juga ditemukan dalam tingkat tinggi.⁹

Dari studi literatur, ditemukan hanya tujuh laporan kasus *melioidosis* di Indonesia dan lima diantaranya sebelum tahun 1960. Pada tahun 2013-2014 ditemukan tiga kasus *melioidosis* di Makassar,

Sulawesi Selatan, Indonesia, dimana dua pasien dinyatakan meninggal. Seluruh pasien terlambat mendapatkan antimikroba untuk *meliooidosis* karena diagnosis yang kurang tepat sebelumnya.¹⁰

Melioidosis adalah penyakit endemik di seluruh Indonesia dengan mortalitas tinggi, namun studi sebelumnya belum ada yang melakukan penelitian pada tanah sebagai salah satu media penularan *meliooidosis*. Oleh karena itu, tujuan penelitian adalah untuk melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *Burkholderia pseudomallei* di Kota Makassar sebagai salah satu kota besar di Indonesia.

METODE

Tanah diambil pada 60 titik lokasi yang tersebar pada 11 kecamatan di Kota Makassar (5°07'55.39" LS dan 119°28'19.08" BT). Penentuan lokasi ini dilakukan secara acak dengan memperhatikan kondisi lingkungan setempat. Sampel tanah diambil sebanyak 100 gram, masing-masing pada permukaan tanah dan pada kedalaman 30 cm. Selanjutnya digunakan untuk mengisolasi *B. pseudomallei* sekaligus mengkaraktisasinya dengan menggunakan beberapa uji biokimia. Karakterisasi pada tanah juga dilakukan dengan menganalisis berbagai faktor lingkungan tanah seperti jenis tanah, warna tanah, pH tanah, kedalaman, dan kelembaban tanah. Keasaman tanah dikategorikan tanah asam dan tanah basa. Jenis tanah dikategorikan *Alfisol*, *Aridisol*, *Entisol*, *Histosol*, *Inceptisol*, *Mollisol*, *Oxisol*, *Spodosol*, *Ultisol*, dan *Vertisol*.¹¹

Medium *ashdown agar* dengan melarutkan sebanyak 10 gram TSB (*Tryptone Soya Broth*), 15 gram agar, 40 ml *glycerol*, 5 ml kristal *violet*, 5 ml *netral red* ke dalam *aquadest* 1000 mL, lalu dipanaskan hingga larut dan disterilisasi dengan *autoklaf* pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah agak dingin, ditambahkan sebanyak 0.8 ml *gentamicin* lalu dibiarkan hingga larut. Untuk membuat medium *ashdown broth*, dilakukan cara yang sama tanpa menggunakan agar. Sampel tanah dimasukkan ke dalam botol yang berisi *aquadest* steril sebanyak 200 ml. Tanah tersebut didiamkan selama 18–24 jam pada suhu kamar. Setelah itu diambil 1 ml dimasukkan ke dalam medium *ashdown broth* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya *inokulum* diambil sebanyak 0.1 ml, kemudian diinokulasikan secara goresan ke dalam cawan petri yang berisi medium *ashdown agar* lalu diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan uji pengecatan gram. Berdasarkan ciri-ciri pertumbuhan koloninya (koloni merah muda keunguan), koloni bakteri yang diduga *B. pseudomallei* selanjutnya diuji dengan menggunakan pengecatan gram dan uji-uji biokimia untuk lebih memastikannya.¹²

Isolat yang diduga *B. pseudomallei* dilakukan pengujian produksi asam dan gas dengan menggunakan medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), uji *motilitas* dengan menggunakan medium SIM (*Sulfid Indol Motility*), dan dilanjutkan dengan uji biokimia lainnya meliputi uji *katalase*, *oksidase*, dan *arginine dihydrolase*. Dilakukan pula pengecatan gram dan uji *aglutinasi lateks*. Isolat tersebut diinokulasi ke dalam masing-masing medium dan dilakukan pengamatan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Analisis data menggunakan metode kualitatif deskriptif dalam bentuk gambar dan tabel.¹²

HASIL

Tabel 1. Karakterisasi Sampel Tanah Ditemukan Bakteri *Burkholderia Pseudomallei* Pada 11 Kecamatan di Kota Makassar

Kecamatan	Jumlah isolat	Jenis tanah	Warna	pH	Kelembaban (%)
Mamajang	6	Alfisol, Inceptisol	Kuning kecokelatan	4.6 – 6.5	20 – 60
Tamalate	22	Alfisol, Inceptisol	Kuning kecokelatan	4.5 – 7.2	10 – 60
Rappocini	8	Alfisol, Inceptiso	Cokelat kehitaman	4.8 – 6.8	10 – 60
Mariso	0	Inceptisol	Cokelat kehitaman	7.0	10
Bontoala	2	Alfisol	Kuning kecokelatan	4.8 – 6.4	20 – 60
Wajo	4	Alfisol, Inceptisol	Kuning kecokelatan	5.2 – 6.8	20 – 50
Biringkanaya	29	Alfisol, Inceptisol	Kuning kecokelatan	6.0 – 7.2	0 – 10
Manggala	26	Alfisol, Inceptisol	Cokelat kehitaman	4.8 – 6.8	10 – 40
Tamalanrea	1	Alfisol, Inceptisol	Cokelat kehitaman	4.8 – 6.4	40 – 60
Tallo	2	Alfisol, Inceptisol	Kuning kecokelatan	5.8	40
Makassar	0	Alfisol, Inceptisol	Cokelat kehitaman	4.6 – 5.4	40 – 60

Tabel 1 menunjukkan hubungan antara faktor lingkungan dengan pertumbuhan *B. pseudomallei*. Pengambilan sampel tanah dilakukan secara acak dengan memperhatikan kondisi lingkungan setempat. Bakteri *Burkholderia pseudomallei* diteliti di 11 kecamatan di Kota Makassar dengan meninjau jumlah isolat, jenis tanah, warna, pH, dan kelembaban tanah.

Bentuk morfologi dari *Burkholderia pseudomallei* yang diisolasi dari tanah di kecamatan di Kota Makassar, setelah diinokulasi dengan metode tabur (*surface*) dan diinkubasi selama 3x24 jam, disajikan pada gambar 1.

Gambar 1. Koloni *Burkholderia Pseudomallei* Pada Medium *Ashdown Agar* Yang Diisolasi Dari Tanah Di Kecamatan Tamalate Kota Makassar

Hasil identifikasi *Burkholderia pseudomallei* dari sampel tanah yang diambil secara acak di 11 kecamatan di Kota Makassar disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi *Burkholderia Pseudomallei*

PG	UJI BIOKIMIA							LA	Isolat	Jumlah
	K	O	I	ADH	M	TSIA				
						Slant	Butt			
Bacill (-)	+	+	-	+	+	Merah	merah	+	<i>B. Pseudomallei</i>	28
Bacill (+)	-	-	-	+	+	merah	merah	-	A	16
Bacill (+)	+	-	-	+	-	merah	merah	-	B	13
Bacill (-)	-	-	-	+	+	merah	merah	-	C	2
Coccus (+)	+	-	-	-	+	merah	merah	-	D	3
Coccus (+)	-	-	-	+	+	merah	merah	-	E	5
Coccus (+)	-	-	-	+	+	hitam	hitam	-	F	1
Coccus (+)	-	-	-	+	+	kuning	kuning	-	G	2
Coccus (-)	-	-	-	+	+	merah	merah	-	H	14
Coccus (-)	+	-	-	-	+	variabel	variabel	-	I	5
Coccus (-)	+	-	-	+	+	kuning	kuning	-	J	8
Coccus (-)	+	-	-	+	-	merah	kuning	-	K	3

Keterangan: PG = Pengecatan Gram; K = *Katalase*; O = *Oksidase*; I = *Indol*; ADH = *Arginine Dehydrolase*; M = *Motil*; LA = *Latex Aglutinasi*

PEMBAHASAN

Burkholderia pseudomallei merupakan salah satu jenis bakteri tanah yang pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Jumlah mikroorganisme yang terdapat di dalam tanah umumnya lebih banyak daripada di air maupun udara. Aktivitas mikroorganisme di dalam tanah (terutama bakteri) sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungannya. Perubahan lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan fisiologi dari mikroorganisme tersebut. Beberapa faktor abiotik yang mempengaruhi pertumbuhan populasi mikroorganisme di dalam tanah antara lain jenis tanah, warna tanah, kadar keasaman (pH), kelembaban, dan kedalaman tanah.⁵

Berdasarkan hasil karakterisasi tanah, diperoleh bahwa jenis tanah sampel di Kota Makassar ada dua jenis, yaitu *alfisol* dan *inceptisol*. Karakteristik tanah berjenis *alfisol*, berwarna kuning kecokelatan merupakan jenis tanah yang baik sebagai tempat pertumbuhan *Burkholderia pseudomallei*, sedangkan tanah *inceptisol* berwarna coklat kehitaman juga dapat ditumbuhi oleh *B. pseudomallei* dan jenis bakteri lain. Dari sepuluh jenis tanah yang terdapat di Indonesia menurut Sistem Taksonomi Tanah USDA 1975, jenis tanah *mollisol* dan *inceptisol* merupakan jenis tanah yang mendominasi tanah di bagian Sumatera, Kalimantan Timur, Sulawesi, Maluku, dan Papua.⁶ Adapun jenis tanah andisol banyak terdapat di daerah Sumatera Utara, Jawa, dan Maluku. Namun, secara umum jenis tanah *alfisol* merupakan jenis tanah yang terdapat hampir di seluruh Indonesia termasuk Sulawesi Selatan.

Berdasarkan pada tabel 1 diperoleh kisaran pH tanah kota Makassar antara 4.5–7.2 dan kelembaban relatif tanah berkisar 0–60%, kisaran pH dan kelembaban relatif tanah tersebut sesuai untuk pertumbuhan *B. pseudomallei*. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *B. pseudomallei* berkisar antara 6.5–7.5, dengan kelembaban relatif tanah berkisar 10–20%.^{7,8,9,10}

Koloni *Burkholderia pseudomallei* pada 11 kecamatan di Kota Makassar ditemukan umumnya terdapat/tumbuh pada jenis tanah *alfisol* yang berwarna cokelat kehitaman, meliputi Kecamatan Mamajang, Tamalate, Rappocini, Wajo, Bontoala, Biringkanaya, dan Makassar. Variasi warna tanah sangat tergantung pada kadar organik tanah. Semakin tinggi kadar organik tanah, maka semakin gelap pula warna tanahnya. Tanah berwarna kuning banyak mengandung besi oksida, sedangkan yang berwarna cokelat atau gelap banyak mengandung karbon, nitrogen, fosfat, dan beberapa unsur lain yang penting untuk pertumbuhan bakteri tanah.^{8,11,12,13,14,15}

Sampel tanah yang diambil untuk mengisolasi *Burkholderia pseudomallei* kebanyakan diambil dari daerah persawahan yang tidak terkena paparan sinar ultraviolet secara langsung. Hal ini dilakukan berdasarkan atas hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa bahwa *B. pseudomallei* tidak aktif setelah 7.75 menit berada di bawah paparan sinar ultraviolet sebesar 4.65 W/m² dengan panjang gelombang 254 nm.⁹

Hasil karakterisasi sampel tanah di Kota Makassar kemudian dilanjutkan dengan identifikasi bakteri menggunakan beberapa uji biokimia, pengecatan gram, dan uji *aglutinasi lateks*. Hal ini dilakukan karena tidak tertutup kemungkinan terdapat pertumbuhan jenis bakteri lain pada medium selektif *ashdown agar*.

Secara morfologi, koloni *Burkholderia pseudomallei* berwarna merah muda dan berupa bintik-bintik setelah diinkubasi selama 24 jam. Bentuk koloni datar dan berubah menjadi merah muda keunguan setelah beberapa hari. Setelah diinkubasi selama tiga hari, biasanya terdapat flora lain pada ujung koloni.¹⁰ Koloni dewasa *Burkholderia pseudomallei* pada formulasi medium agar padat yang mengandung *gliserol* umumnya terlihat mengkerut setelah diinkubasi beberapa hari pada suhu 23.59°C. Dari hasil penelitian ini ditemukan koloni serupa seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.

Hasil identifikasi, uji biokimia, pengecatan gram, dan *aglutinasi lateks* *Burkholderia pseudomallei* yang diisolasi dari 11 kecamatan di Kota Makassar diperoleh sebanyak 28 isolat positif *Burkholderia pseudomallei* dari 100 isolat tanah. Hasil uji biokimia spesifik untuk *Burkholderia pseudomallei*, yang menunjukkan reaksi positif adalah uji *katalase*, *oksidase*, *arginine dihidrolase*, uji motilitas SIM (*Sulfid Indol Motility*), dan TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) bereaksi negatif terhadap uji *indol*. *Burkholderia pseudomallei* merupakan bakteri gram negatif berbentuk *basil* (batang) dengan reaksi positif terhadap uji *aglutinasi lateks*. Penyebaran pertumbuhan *Burkholderia pseudomallei* di Kota Makassar lebih banyak ditemukan pada jenis tanah *alfisol* dengan warna tanah cokelat kehitaman pH 6.5–7.2 dan kelembaban berkisar antara 0–20 %.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian menyimpulkan bahwa setelah dilakukan pengambilan sampel secara acak di 11 kecamatan di Kota Makassar, kulturisasi isolat menggunakan medium selektif *ashdown agar*, dan identifikasi bakteri menggunakan pengecatan *gram* serta beberapa uji biokimiawi, diperoleh hasil penelitian sebanyak 100 isolat sampel, dimana masing-masing 28 isolat sampel positif *Burkholderia pseudomallei* dan 72 isolat bakteri jenis lain. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat persebaran bakteri *Burkholderia pseudomallei* di Kota Makassar, sehingga disarankan dapat menjadi referensi acuan untuk penelitian lanjutan tentang dampak penyebaran *Burkholderia pseudomallei* terhadap penyakit Melioidosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ginther et al. Identification Of Burkholderia Pseudomallei Near-Neighbor Species In The Northern Territory Of Australia. PLoS Negl. Trop. Dis. 2015; 9: e0003892.
2. Currie BJ, Kaestli M. Epidemiology: A Global Picture Of Melioidosis. Nature. 2016; 529:290–291.
3. Wiersinga et al. Melioidosis. Nat. Rev. Dis. Primers. 2018;4:17107.
4. Randall LB, Dobos K, Papp-Wallace KM, Bonomo RA, Schweizer HP. Membrane-Bound Penicillin-B-Lactamase Of Burkholderia Pseudomallei. Antimicrob. Agents Chemother. 2015;60:1509–1514.
5. Rhodes KA, Schweizer HP. Antibiotic Resistance In Burkholderia Species. Drug Resist. Update. 2016;28:82–90.
6. Hemarajata P, Baghdad JD, Hoffman R, Humpries RM. Burkholderia Pseudomallei: Challenges For Microbiology Laboratory. J. Clin. Microbiol. 2016. <https://doi.org/10.1128/JCM.01636-16>
7. Benoit TJ, Blaney DD, Doker TJ, Gee JE, Elrod MG, Rolim DB, Inglis TJ, Hoffmaster AR, Bower WA, Walke HT. A Review of Melioidosis Cases in the Americas. Am J Trop Med Hyg 2015;93: 1134-1139.
8. Tauran PM, Wahyunie S, Saad F, Dahesihdewi A, Graciella M, Muhammad M, Aryati A. Emergence Of Melioidosis In Indonesia And Today's Challenges. Trop. Med. Infect. Dis. 2018;3: 32. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed3010032>
9. Irmawati-Rahayu, Noorhamdani AS, Santoso S. Resistance Pattern Of Burkholderia Pseudomallei From Clinical Resistance Pattern Of Burkholderia Pseudomallei From Clinical Isolates At dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang-Indonesia. Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease 2014;1(1):17-20.
10. Tauran PM, Sennang N, Rusli B, Wiersinga WJ, Dance D. Emergence Of Melioidosis In Indonesia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2015;93(6): 1160–1163. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0292>.
11. Engelkirk PG, Duben-Engelkirk. Laboratory Diagnosis Of Infectious Diseases: Essentials Of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2018.
12. Howard K, Inglis TJJ. Novel Selective Medium for Isolation Of Burkholderia Pseudomallei, 2017: 41(7): 3312–3316. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.7.3312>.
13. Ristiati Ni Putu, Muliadihardja Sanusi dan Nurlita Frieda. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiosis Dari Dalam Tanah. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Sains & Humaniora. 2018;1(1):68-80.

14. Purwaningsih, Sri. *Populasi Bakteri Rhizobium Di Tanah Pada Beberapa Tanaman Dari Pulau Buton, Kabupaten Muna, Propinsi Sulawesi Tenggara*. J. Tanah Trop., 2018;14(1): 65-70.
15. Priadie, Bambang. *Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air*. Jurnal Ilmu Lingkungan. 2012;10(1):38-48.