

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Pasir Sarang dan Cangkang Telur Penyu Lekang (*Lepidochelys olivaceae* L.) yang Menetas dan Gagal Menetas

Isolation and Characterization of Bacteria from Nest Sand and Egg Shell of Olive Ridley (*Lepidochelys olivacea* L.) Hatched and Failed to Hatch

Osmia Hidayat, Fuji Astuti Febria^{*)}, dan Nasril Nasir

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Limau Manis Padang-25163

*) Koresponden: febria_fa@yahoo.com

Abstract

Isolation and Characterization of Bacteria from nest sand and egg shell of Olive Ridley (*Lepidochelys olivacea* L.) which hatched and failed to hatch in Pariaman turtle conservation site, West Sumatra were conducted from December 2012 to September 2013 in Microbiology Laboratory, Andalas University and Laboratory of Provincial Health Department, West Sumatra. The aim of this study was to identify species of bacteria found at egg shells and nest sand of Olive Ridley in Pariaman. The result found 4 species of bacteria: *Bacillus cereus* and *Klebsiella* sp. from sand nest that hatched; while *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp. and *Shigella* sp. were identified from sand nest that failed to hatch. Bacteria isolates from egg shell that hatched were identified as *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp. While *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. and *Shigella* sp. were identified from egg shell that failed to hatch.

Keywords: isolation, bacteria, nest sand, egg shell, Olive Ridley

Pendahuluan

Semua jenis penyu laut di dunia telah ditetapkan sebagai spesies yang langka dan dilindungi. Dalam *Red Data Book IUCN (The International Union for Conservation of Nature and Natural Resource)*, jenis-jenis penyu tersebut telah dicatat dalam kategori terancam punah (Nuitja, 1992). Di Indonesia juga telah dilakukan peningkatan populasi dan penangkaran penyu, termasuk di penangkaran penyu yang terletak di Kota Pariaman. Pada lokasi ini terdapat 3 jenis penyu, yaitu penyu sisik, penyu hijau dan penyu lekang.

Pembantaian penyu dan pengambilan telur penyu secara liar di Indonesia telah mendorong kearah kepunahan penyu, sebab secara alamiah keberhasilan hidup penyu hanya 1% dari seluruh telur yang dihasilkan (Partomo, 2004). Selain itu, gagal menetas pada telur penyu juga menjadi salah satu faktor menurunnya populasi penyu. Hal ini dapat terjadi karena adanya perubahan lingkungan, predator dan serangan

mikroorganisme (Baran *et al.*, 2001; Phillot *et al.*, 2001).

Kehadiran mikroba pada pasir sarang penyu dapat mempengaruhi proses penetasan telur. Sebagaimana diketahui telur penyu memiliki struktur yang lunak dan mempunyai pori-pori yang berfungsi untuk pertukaran gas dan penyerapan air. Meskipun pori-pori penting untuk kelangsungan hidup embrio, tetapi juga berpotensi terinfeksi bakteri dan jamur karena mikroba dapat masuk melalui pori-pori dan mengkontaminasi telur tersebut (Al-Bahry *et al.*, 2011).

Umumnya bakteri yang menginfeksi penyu adalah *Escherichia coli*, *Aeromonas*, *Enterobacter* sp., *Proteus morgani*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Serratia* sp., *Pseudomonas*, *Plavobacterium*, *Horaxella*, *Micrococcus*, dan *Vibrio alginolyticus* (Lauckner, 1980), tetapi bakteri yang sering mengkontaminasi telur kebanyakan dari golongan Enterobacteriaceae seperti *Escherichia coli*, *Shigella*, *Enterobacter* dan *Proteus*. Bakteri ini ditemukan di

tanah, air, udara, saluran pencernaan manusia dan hewan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat pada pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang (*Lepidochelys olivacea* L.) yang menetas dan gagal menetas.

Metode Penelitian

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda survei serta pengambilan sampel pasir dan cangkang telur penyu Lekang digunakan teknik *purposive sampling*. Pelaksanaan penelitian meliputi; isolasi dan pembiakan bakteri yang dilakukan di laboratorium.

Cara Kerja

Sampel pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang diambil dari 3 sarang buatan di penangkaran penyu Kota Pariaman. Pengambilan sampel cangkang telur yang menetas dan gagal menetas sebanyak 10 butir pada masing-masing inkubator dan dipisahkan dari pasir yang menempel pada cangkang. Begitu juga dengan pengambilan sampel pasir sarang yang menetas dan gagal menetas dengan cara menguas pasir yang menempel pada masing-masing sampel cangkang. Kemudian masing-masing sampel dimasukkan ke dalam plastik sampel steril secara terpisah.

Isolasi Bakteri dari Sampel Pasir dan Cangkang Telur

Pengisolasian bakteri dari sampel pasir dilakukan dengan metode *pour plate* menggunakan media NA. Dilakukan pengenceran sampel pasir sampai 10^{-3} kemudian dituang pada media NA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Hal yang sama dilakukan pada sampel cangkang telur, dimana terlebih dahulu cangkang di rendam dalam *backer glass* yang berisi *aquadest* steril. Isolat yang diperoleh dimurnikan dan dilabel pada NA miring sebagai stok bakteri.

Pengamatan Makroskopis / Mikroskopis

Pengamatan yang dilakukan terhadap isolat bakteri meliputi pengamatan makroskopis

dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dengan memperhatikan bentuk koloni, permukaan koloni, warna koloni dan pinggiran koloni Sedangkan secara mikroskopis dilihat bentuk sel bakteri. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora serta uji biokimiawi. Hasil dari reaksi uji biokimiawi yang terjadi dicocokkan dengan kunci determinasi (Buchanan dan Gibbons, 1974; Cowan dan Steel's 1974).

Analisa Data

Data yang diperoleh meliputi; makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri, hasil uji biokimiawi isolat bakteri, identifikasi jenis bakteri dan keberadaan jenis-jenis bakteri pada masing-masing sampel dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Pengisolasian bakteri pada pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas di penangkaran penyu Kota Pariaman didapatkan 17 isolat bakteri; 4 isolat dari pasir sarang telur menetas, 5 isolat dari pasir sarang telur gagal menetas, 3 isolat dari cangkang telur menetas dan 5 isolat dari cangkang telur gagal menetas.

Pada sampel pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang gagal menetas lebih banyak ditemukan bakteri dibandingkan sampel dari pasir sarang dan cangkang telur yang menetas. Bruner and Gillespie (1973) melaporkan, pada telur penyu terkandung berbagai zat-zat makanan yang sangat cocok untuk pertumbuhan embrio yang mana zat-zat makanan ini juga cocok untuk pertumbuhan bakteri. Dengan demikian bakteri yang ada di dalam telur akan berkembang dengan cepat sehingga telur ini akan cepat membusuk. Foti *et al.*, (2009); Santoro *et al.*, (2006); Phillot (2001) juga menambahkan telur yang telah dikontaminasi oleh bakteri dapat mengalami kegagalan dalam menetas. Sebagai contoh, ditemukannya bakteri di dalam telur penyu Tempayan (*Caretta caretta*) yang menyebabkan rendahnya tingkat penetasan dan mempengaruhi kualitas penyu (Wyneken *et al.*, 1988).

Hasil isolasi cangkang telur dan pasir sarang telur penyu yang gagal menetas dan yang menetas, didapatkan biakan bakteri yang ditumbuhkan pada medium miring NA. Berikut Tabel pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis isolat-isolat bakteri hasil isolasi pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang.

Tabel 1 menunjukkan bahwa makroskopis koloni bakteri yang didapat berbeda-beda. Bentuk-bentuk koloni tersebut yaitu sirkuler (bulat), opaque (transparan) dan ireguler (bulat tak beraturan). Bakteri dengan bentuk koloni sirkuler (bulat), permukaan flat (datar) dan pinggiran entire (rata) banyak ditemukan pada masing-masing isolat. Menurut Waluyo (2007), bentuk koloni bakteri yang berbeda-beda merupakan ciri khas dari spesies bakteri tertentu. Selain itu, besar kecilnya koloni, mengkilat tidaknya koloni, halus dan kasarnya permukaan koloni juga merupakan sifat-sifat yang khas dari bakteri tersebut.

Pengamatan mikroskopis menunjukkan seluruh isolat bakteri memiliki bentuk sel basil dengan hasil pewarnaan Gram menunjukkan Gram

positif dan Gram negatif. Menurut Fardiaz (1989), pada bakteri Gram positif dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang larut oleh aseton alkohol sehingga warna biru zat kristal violet tetap dipertahankan saat pewarnaan. Sedangkan bakteri Gram negatif umumnya memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Lipid dapat larut oleh aseton alkohol sehingga zat kristal violet pada dinding sel bakteri tidak dapat dipertahankan dan mengikat zat warna merah yang mengindikasikan Gram negatif (Lay, 1994).

Pada Tabel 2 dapat dilihat uji biokimiawi yang dilakukan pada beberapa isolat pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas. Berdasarkan hasil uji biokimiawi, pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan 4 jenis bakteri yang mencirikan *Bacillus cereus*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., dan *Klebsiella* sp. Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri pada medium penyubur dan medium spesifik. Berikut keberadaan jenis bakteri pada masing-masing sampel disajikan pada Tabel 3.

Tabel 1. Makroskopis dan mikroskopis isolat dari pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas.

Kode isolate	Makroskopis			Mikroskopis		
	Bentuk Koloni	Permukaan	Pinggiran	Warna	Bentuk sel	Pewarnaan Gram
PM 1	opaque	flat	entire	abu-abu	basil	negatif
PM 4	opaque	flat	entire	abu-abu	basil	negatif
PTM 9	opaque	flat	entire	abu-abu	basil	negatif
PM 2	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
PTM 5	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
PTM 6	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
CM 12	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
CTM 13	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
CTM 14	sirkuler	flat	entire	putih susu	basil	positif
PM 3	ireguler	convex	entire	putih susu	basil	negatif
PTM 7	ireguler	convex	entire	putih susu	basil	negatif
CM 10	ireguler	convex	entire	putih susu	basil	negatif
CM 11	ireguler	convex	entire	putih susu	basil	negatif
CTM 15	ireguler	convex	entire	putih susu	basil	negatif
PTM 8	opaque	convex	undulate	abu-abu	basil	negatif
CTM 16	opaque	convex	undulate	abu-abu	basil	negatif
CTM 17	sirkuler	convex	entire	abu-abu	basil	negatif

Keterangan:

PM = Pasir sarang telur menetas,

PTM = Pasir sarang telur gagal menetas,

CM = Cangkang telur menetas

CTM = Cangkang telur gagal menetas

Tabel 2. Uji biokimiawi masing-masing isolat bakteri pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas

Bahan Uji Biokimiawi	Kode Isolat											
	PM 2	PTM 6	CM 12	CTM 13	PTM 8	CTM 16	CTM 17	PM 3	PTM 7	CM 11	CTM 15	
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Laktosa	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	
Manitol	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Motilitas	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
Sitrat	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
Methyl-red	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
Vogesproska user	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	

Keterangan: + = bereaksi, - = tidak bereaksi

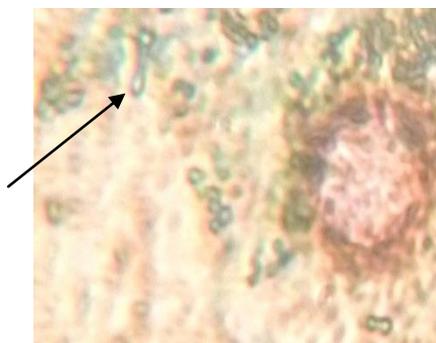
Tabel 3. Keberadaan jenis-jenis bakteri pada masing-masing sampel

Jenis	Pasir Sarang Telur		Cangkang Telur	
	Menetas	Gagal Tetas	Menetas	Gagal Tetas
<i>Bacillus cereus</i>	√	√	√	√
<i>Shigellasp.</i>	-	√	-	√
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-	√
<i>Klebsiellasp.</i>	√	√	√	√

Keterangan: √ = ditemukan, - = tidak ditemukan

Endospora

Setelah dilakukan uji spora terhadap isolat *Bacillus cereus* didapatkan hasil seperti Gambar 1.

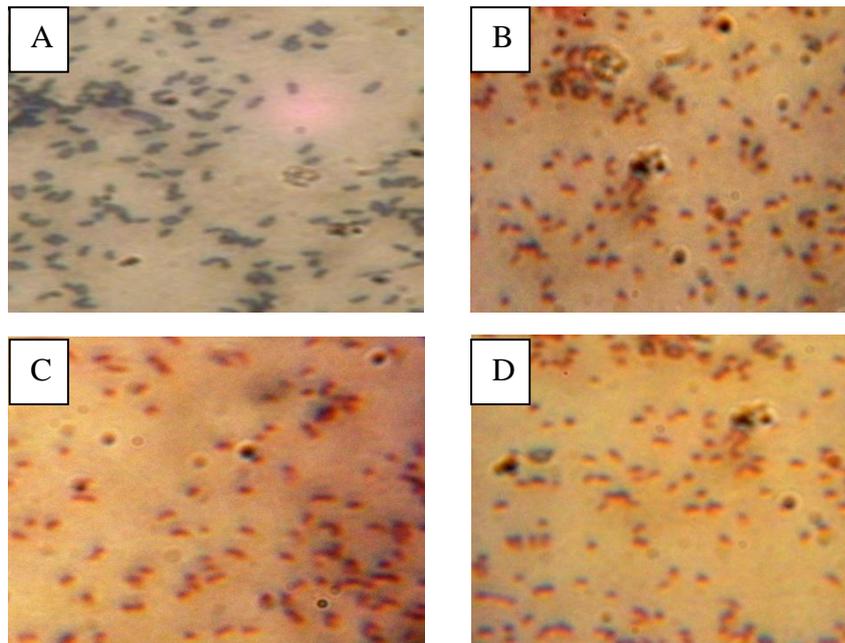
Gambar 1. Hasil uji endospora isolat *Bacillus cereus*

Pada Gambar 1 diatas terlihat spora pada sel bakteri. Hatmanti (2000), menyatakan endospora pada isolat *Bacillus cereus* berbentuk bulat dan pembentukan endospora pada bakteri merupakan bentuk pertahanan dirinya terhadap perubahan kondisi tempat hidupnya. Pernyataan ini juga didukung oleh Mubarik *cit* Lestari (2013), bahwa ciri-ciri umum kelompok genus *Bacillus* adalah berbentuk batang, menghasilkan endospora, Gram positif, mampu menghidrolisis pati, kasein dan uji katalase positif.

Bacillus cereus ditemukan pada hasil isolasi pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas. *Bacillus cereus* memiliki ciri-ciri makroskopis bentuk koloninya bulat, permukaan datar dan pinggiran rata. Sedangkan ciri-ciri mikroskopisnya bakteri ini berbentuk sel batang dan bersifat Gram

positif (Gambar 2 a). Pada uji biokimiawi, *Bacillus cereus* dapat memfermentasi glukosa, maltosa dan sukrosa tetapi bakteri ini tidak dapat memfermentasi laktosa dan manitol pada medium gula-gula, tidak dapat membentuk indol dan H₂S, bersifat motil, tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan hasil reaksi negatif pada uji MR dan VP. Menurut Cowan and Steel's (1974), secara makroskopis koloni

Bacillus pada medium Nutrient Agar berwarna putih susu, berspora sub-terminal, berukuran 2,2-6,1 µm, umumnya tahan terhadap panas, tidak mengandung sitokrom pada rantai respirasinya, tidak memberikan reaksi pada uji OF, tidak mampu menguraikan urea, tidak dapat membentuk asetoin, tidak mampu menghidrolisis gelatin dan katalase positif.



Gambar 2. Bentuk sel bakteri; a) *Bacillus cereus*, b) *Shigella* sp., c) *Salmonella* sp. dan d) *Klebsiella* sp.

Ditemukannya *Bacillus* pada isolasi pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas membuktikan adanya pengaruh bakteri ini terhadap gagal menetasnya telur meskipun dalam penelitian ini belum dibuktikan secara langsung. Seperti kasus yang terjadi di Costa Rica, dimana genus *Bacillus* telah dikaitkan dengan gagal menetasnya telur penyu Tempayan (Awong-Taylor, 2007) dan telur penyu Belimbing di taman konservasi Parque Nacional Marino las Baulas (Soslau *et al.*, 2011).

Shigella sp. ditemukan pada hasil isolasi pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang gagal menetas. *Shigella* sp. memiliki ciri-ciri makroskopis bentuk koloninya bulat, transparan, permukaan cembung dan pinggiran bergelombang. Sedangkan mikroskopis bakteri ini berbentuk sel batang dan bersifat Gram

negatif (Gambar 2 b). Pada uji biokimiawi, *Shigella* sp. dapat memfermentasi glukosa, laktosa, manitol, maltosa dan sukrosa pada medium gula-gula, tidak dapat membentuk indol, hasil reaksi negatif pada motilitas, tidak membentuk H₂S, tidak dapat menggunakan sitrat dan hasil reaksi positif pada uji MR dan VP. Menurut Cowan and Steel's (1974), secara makroskopis koloni *Shigella* pada medium Nutrient Agar berwarna keabu-abuan, berukuran sekitar 2-3µm x 0,5-0,7 µm dengan diameter kira-kira 2 mm dalam waktu inkubasi selama 24 jam. Menurut Nugroho (1996), *Shigella* merupakan bakteri berbentuk batang pendek, tidak berflagel, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, tidak bergerak dan merupakan bakteri patogen usus yang dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler. Berdasarkan kasus yang terjadi di taman konservasi Parque

Nacional Marino las Baulas, *Shigella* ini telah terbukti dapat membangun sistem pertahanan terhadap antibiotika dan terisolasi pada kulit penyu yang dapat menyebabkan infeksi (Work *et al.*, 2003).

Salmonella sp. ditemukan pada hasil isolasi cangkang telur penyu Lekang yang gagal menetas. *Salmonella* sp. memiliki ciri-ciri makroskopis koloninya bulat, permukaan cembung dan pinggiran rata. Sedangkan ciri-ciri mikroskopisnya berbentuk sel batang dan bersifat Gram negatif (Gambar 2 c). Dari hasil uji biokimiawi *Salmonella* sp. dapat memfermentasi glukosa, laktosa, manitol dan maltosa tetapi tidak dapat memfermentasi sukrosa pada medium gula-gula, tidak dapat membentuk indol, hasil reaksi negatif pada motilitas, dapat membentuk H₂S, dapat menggunakan sitrat, hasil reaksi positif pada uji MR dan negatif pada uji VP. Menurut Cowan and Steel's (1974), secara makroskopis koloni *Salmonella* pada medium Nutrient Agar berwarna abu-abu jernih, permukaan koloninya basah dan umumnya pada media agar *Salmonella* memiliki diameter 2-4 mm. Sama halnya yang terjadi di Parque Nacional Marino las Baulas, *Salmonella* juga menyerang penyu, tetapi bakteri ini terisolasi dari penyu sisik, penyu hijau dan penyu tempayan yang menyebabkan infeksi pada sisik penyu tersebut (Glazerbrook dan Campbell, 1990).

Klebsiella sp. ditemukan pada hasil isolasi pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang gagal menetas. *Klebsiella* sp. memiliki ciri-ciri makroskopis bentuk koloninya bulat tak beraturan, permukaan cembung dan pinggiran rata. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis bakteri ini berbentuk sel batang dan bersifat Gram negatif (Gambar 2 d). Pada uji biokimiawi, *Klebsiella* sp. dapat memfermentasi glukosa, laktosa, manitol, maltosa dan sukrosa pada medium gula-gula, tidak dapat membentuk indol, hasil reaksi negatif pada motilitas, tidak dapat membentuk H₂S, dapat menggunakan sitrat, hasil reaksi negatif pada uji MR dan positif pada uji VP. Menurut Cowan and Steel's (1974), secara makroskopis koloni *Klebsiella* pada medium Nutrient Agar

berwarna putih susu, sel berbentuk ovoid sampai batang dan berukuran 0,8-1,7 µm, bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Buchanan dan Gibbons (1975) selanjutnya menyatakan bahwa *Klebsiella* tersebar secara merata di alam yaitu di tanah dan di air, bahkan bakteri ini juga ditemukan di saluran pencernaan manusia. Menurut Ko *et al.*, (2002), *Klebsiella* telah dikenal dalam dunia medis sebagai organisme patogen. Seperti kasus yang terjadi di taman konservasi Parque Nacional Marino las Baulas, *Klebsiella* juga ditemukan dan diidentifikasi sebagai bakteri patogen yang menyerang penyu Hijau yang diisolasi dari saluran kloaka penyu tersebut (Aguierre *et al.*, 1994).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang bakteri pada pasir sarang dan cangkang telur penyu Lekang yang menetas dan gagal menetas di penangkaran penyu Kota Pariaman, didapatkan beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada pasir sarang telur penyu Lekang yang menetas hanya ditemukan *Bacillus cereus* dan *Klebsiella* sp. sedangkan pada pasir telur yang gagal menetas ditemukan *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp. dan *Shigella* sp.
2. Bakteri *Bacillus cereus* dan *Klebsiella* sp. ditemukan pada cangkang telur yang menetas dan gagal menetas. *Salmonella* sp. dan *Shigella* sp. Hanya ditemukan pada cangkang telur yang gagal menetas.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr.phil.nat Nurmiati, Dr. Indra Junaidi Zakaria dan Dr. phil.nat Periadnadi yang telah banyak memberikan sumbangan pemikiran dalam penelitian ini. Kemudian kepada Bapak Citra dan Wawan petugas penangkaran penyu Kota Pariaman yang telah memberikan izin melakukan penelitian.

Daftar Pustaka

- Aguirre, A. A., G. H. Balazs, B. Zimmerman and T. R. Spraker. 1994. Evaluation of Hawaiian Green Turtles (*Chelonia mydas*) for Potential Pathogens Associated with Fibropapillomatosis. *Journal of Wildlife Diseases*. 30 (1): 8-15.
- Al-Bahry, S. N., I. Mahmoud, Y. Melghit and K. Al-Amri. 2011. Analysis of Elemental Composition of the Eggshell Before and After Incubation in the Loggerhead Turtle *Caretta caretta* in Oman. *Microscopy and Microanalysis*. (17): 1-9.
- Awong-Taylor, J., K. S. Craven., L. Griffiths., C. Bass and M. Muscarella. 2007. Comparison of Biochemical and Molecular Methods for the Identification of Bacterial Isolates Associated with Failed Loggerhead Sea Turtle Eggs. *Journal of Applied Microbiology*. 104: 1244-1251.
- Baran, E. and J. Cain. 2001. Ecological Approaches of Flood-fish Relationships Modelling in the Mekong River Basin. In: Koh H.L., and A. Hasan (Eds.) Proceedings of the National Workshop on Ecological and Environmental Modelling, University Sains Malaysia. Penang, Malaysia. 3-4 September 2001.
- Buchanan, R. E. and N. E. R. Gibbons. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore. The Williams and Wilkins Company. New York.
- Bruner, D. W. and J.H.Gillespie. 1973. *Hagan's Infectious Diseases of Domestic Animal*. 6th ed. With Special Reference to Etiology, Diagnosis, and Biology Therapy. Cornell University Press. Ithaca and London.
- Cowan S. T. and K. J. Steel's. 1974. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed. Cambridge University Press. London.
- Fardiaz, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan*. Bogor. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Foti, M., C. Giacopello, T. Bottari, V. Fisichella, D. Rinaldo and C. Mammina. 2009. Antibiotic Resistance of Gram Negatives Isolates from Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in the Central Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*. 58: 1363-1366.
- Glazebrook, J. S., R. S. F. Campbell and A. T. Thomas. 1993. Studies on an Ulcerative Stomatitis-obstructive-rhinitis Disease Complex in Hatchling and Juvenile Sea Turtles *Chelonia mydas* and *Caratta caretta*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 16: 133-147.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* sp. *Oseana*. 25 (1) : 31-41.
- Ko, W. C. 2002. Community-Acquired *Klebsiella pneumonia* Bacteremia: Global Differences in Clinical Patterns. National Cheng Kung University Medical College. Taiwan.
- Lay, B. W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratoium*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lauckner, G. 1880. *Diseasis of Marine Mammals. Vol IV. Part 2*. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg. pp 553-564.
- Lestari, W. 2013. *Pengaruh KonsentrasiInokulum dan Jenis Medium terhadap Produksi Protease Alkali Bacillus sp. Isolat MI.2,3*. Tesis Pascasarjana, Universitas Andalas. Padang.
- Nuitja, N. 1992. *Biology dan Ekologi Pelestarian Penyu Laut*. IPB Press. Bogor.
- Nugroho, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Partomo. 2004. Evaluasi Kebijakan Perlindungan Penyu Hijau di Indonesia. Seminar Konservasi Penyu Laut di Suaka Margasatwa Cikepuh Pusat Penyelamatan Satwa Cikananga. Sukabumi. KSDA Jawa Barat. Sukabumi.
- Phillot, A. D. and C. J. Parmenter. 2001. Influence of Diminished Respiratory Surfacearea on Survival of Sea Turtle

- Embryos. *Journal of Experimental Zoology*. 289: 317-321.
- Santoro, M., , G. Hernadez, M. Caballero and F. Garcia. 2006. Aerobic Bacterial Flora of Nesting Green Turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 37 (4): 549-552.
- Soslou, G., J. R. Spotila., A. Chun., S. Yi and K. T. Weber. 2011. Potentially Lethal Bacteria in Leatherback Turtle Eggs in the Wild Threaten both Turtles and Conservationists. *Microbiology Letters*. 410: 101-106.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum edisi revisi*. UMM Press: Malang.
- Work, T. M., G. H. Balaz., M. Wolcott and R. Morris. 2003. Bacteria in Free-ranging Hawaiian Green Turtles *Chelonia mydas* with Fibropapillomatosis. *Diseases of Aquatic Organisms*. 53: 41-46.
- Wyneken, J., T. J. Burt and D.E. Pederson. 1988. Egg Failure in Natural and Relocated Sea Turtle Nests. *Journal of Herpetology*. 22 (1): 88-96.