

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kehidupan Mikroba Dalam Air

Mudatsir

Abstrak. Mikroba adalah organisme yang mampu beradaptasi dan hidup pada berbagai jenis lingkungan. Salah satu tempat lingkungan hidup mikroba adalah air. Banyak faktor yang mempengaruhi mikroba di dalam air. Secara umum ada dua faktor yang mempengaruhi kehidupan mikroba di dalam air yaitu faktor biotik dan faktor abiotik. Faktor abiotik antara lain temperature air, konduktivitas, arus, kekeruhan, cahaya, pH, salinitas, *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), dan *Chemical Oxygen Demand* (COD). Di samping biotik juga merupakan suatu aspek yang mempengaruhi mikroba di air. Mikroba berinteraksi dengan organisme lain di dalam komunitas air. Di antara kelompok mikroba di dalam air akan berkompetisi dalam mendapatkan makanan dan berinteraksi antar organisme. Faktor-faktor biologi tersebut mempengaruhi kehidupan mikroba dalam suatu perairan. (JKS 2007; 1: 23-30)

Kata Kunci: Mikroba, biotik, abiotik dan interaksi

Abstract. Microbes are organisms that are able to adapt and live in various kinds of environments. One of the microbial environments is water. Many factors affect the microbes in the water. Generally, there are two factors that affect microbial life in the water, biotic factors and abiotic factors. Abiotic factors including water temperature, conductivity, stream, turbidity, light, pH, salinity, *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) and *Chemical Oxygen Demand* (COD). In addition to biotics is also an aspect that affects microbes in water. Microbes interact with other organisms in the water community. Among the group of microbes in the water, there will be a competition in getting food and in inter-organism interaction. These biological factors affect microbial life in the waters. (JKS 2007; 1: 23-30)

Keywords: Microbe, biotic, abiotic, interaction

Pendahuluan

Mikroba adalah salah satu golongan makhluk hidup yang terdapat dalam suatu ekosistem dan sebagai penyusun keanekaragaman hayati di dalam ekosistem tersebut. Mikroba merupakan salah satu organisme yang mempunyai keanekaragaman spesies yang sangat tinggi. Mikroba menempati 60 persen lebih biomassa dan telah hidup berevolusi paling tidak 3,8 miliar tahun. Untuk mempertahankan kehidupannya sebagai salah satu komponen ekosistem, mikroba harus berinteraksi dengan lingkungannya.¹ Berdasarkan *World Data Center for Microorganism* (WDCM) dari 58 negara di dunia tercatat 815.568 koleksi mikroba, yang terdiri dari bakteri 343.253 (42%),

jamur 372.304 (46%), virus 14.376 (1,8%) dan lainnya 85.641 (10,5%). Asia Tenggara merupakan kawasan yang mempunyai keanekaragaman mikroba yang paling tinggi di dunia.²

Mikroba dapat dijumpai di berbagai macam habitat. Hal ini membuktikan bahwa mikroba adalah organisme yang mampu beradaptasi dengan segala jenis lingkungan. Beberapa habitat yang baik untuk organisme tingkat tinggi juga dapat menunjang pertumbuhan mikroba. Ada organisme tingkat tinggi yang tidak dapat tumbuh pada suatu habitat tapi mikroba dapat bertahan hidup bahkan dapat berkembang biak. Mikroba dapat hidup pada permukaan tubuh dari organisme tingkat tinggi ataupun pada bagian dalam dari hewan, tumbuhan dan manusia.^{3,4}

Kehidupan mikroba di dalam suatu ekosistem perairan dipengaruhi oleh faktor biotik dan faktor abiotik. Oleh karena itu, untuk mempelajari kehidupan, penyebaran, sifat dan kegunaan mikroba dalam suatu perairan air harus diperhatikan faktor

biotik dan abiotik. Faktor lingkungan penting diperhatikan dalam rangka untuk pengendalian mikroba.⁵

Dalam tulisan ini akan dibahas tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba di air. Faktor tersebut meliputi faktor abiotik dan (temperature air, konduktivitas, arus, kekeruhan, cahaya, pH, salinitas, *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), kadar oksigen terlarut atau *Chemical Oxygen Demand* (COD)). Faktor biotik meliputi kompetisi untuk mendapatkan makanan dan interaksi antara organisme.

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kehidupan Mikroba Dalam Air

1. Faktor Abiotik

Beberapa faktor abiotik meliputi faktor yang mempengaruhi kehidupan mikroba yang terdapat dalam air antara lain temperatur, konduktivitas, arus, kekeruhan, kecerahan, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut, salinitas dan total bahan organik.

Temperatur air

Temperatur air sangat berpengaruh terhadap proses kimia dan biologi perairan. Apabila temperatur meningkat, akan semakin rendah daya kelarutan oksigen di dalam air. Dengan meningkatnya temperatur, konsumsi oksigen lebih meningkat.^{4,6} Mikroba yang hidup di air mempunyai toleransi yang berbeda terhadap temperatur, tergantung jenis mikrobanya dan tingkat aklimisasinya. Walaupun mikroba dapat hidup bertahan pada temperatur yang tinggi tetapi pada tingkat tertentu kenaikan temperatur menyebabkan kematian. Penurunan temperatur yang mendadak dapat menyebabkan terganggunya metabolisme mikroba tetapi lama-kelamaan mikroba tersebut akan beradaptasi mengatasi keadaan dan mampu bertahan hidup.³

Ada tiga kelompok mikroba dibedakan berdasarkan temperatur yaitu mikroba psikofilik, mesofilik dan termofilik. Kisaran suhu pertumbuhan ketiga golongan mikroba tersebut dapat dilihat pada tabel berikut ini

Tabel 1. Penggolongan mikroba berdasarkan suhu pertumbuhannya⁵

Golongan Mikroba	Minimum (°C)	Optimum (°C)	Maksimum (°C)
Psikofilik	-10 s.d +6	-10 s.d +20	+20 s.d +30
Mesofilik	+10 s.d +15	+30 s.d +40	+40 s.d +50
Termofilik	+25 s.d +45	+50 s.d 75	+75 s.d +93

Dari sudut kesehatan suhu air sebaiknya sejuk atau tidak panas terutama agar tidak terjadi pelarutan zat kimia yang menyebabkan gangguan kesehatan bila dikonsumsi. Kenaikan suhu air dapat menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut. Kadar oksigen terlarut yang terlalu rendah mengakibatkan terjadinya degradasi secara anaerobik sehingga menimbulkan bau tidak enak pada air.⁶

Konduktivitas

Daya hantar listrik atau *conductivity* adalah suatu angka yang menunjukkan kemampuan air untuk menghantar arus listrik. Besarnya daya hantar listrik ditentukan oleh kadar ion dan temperatur air limbah. Parameter ini dapat digunakan sebagai petunjuk adanya kadar mineral dan salinitas (keasinan). Besarnya daya hantar listrik juga ditentukan oleh kandungan zat padat terlarut. Oleh karena itu semakin besar padatan terlarut dalam air limbah maka semakin tinggi daya hantar listriknya. Pada umumnya padatan terlarut total di dalam air adalah 0,65 kali nilai daya hantar listrik. makin besar kadar ion di dalam air maka semakin tinggi angka daya hantar listriknya.⁷

Konduktivitas atau daya hantar listrik menunjukkan bilangan yang menyatakan kemampuan air untuk menghantarkan arus listrik. Konduktivitas juga memberikan gambaran tentang tingkatan mineralisasi total dari padatan terlarut dan dapat digunakan untuk menilai pengaruh berbagai ion dalam kesetimbangan reaksi dan pengaruhnya secara fisiologis terhadap mikroorganisme yang terdapat di air.⁸

Arus

Arus air merupakan salah satu faktor yang cukup besar pengaruhnya terhadap kualitas air, khususnya terhadap proses difusi oksigen dari udara dan penimbunan bahan organik. Kekuatan besarnya kecepatan arus air dapat menimbulkan riak atau gelombang pada permukaan air, yang akan mengakibatkan proses difusi oksigen dari udara ke dalam air. Arus air juga dapat

mengakibatkan pengadukan air dari permukaan ke dasar air sehingga akan menghilangkan kemungkinan terjadinya pelapisan temperatur air, menghindari kondisi anaerob di dasar air serta dapat mengencerkan senyawa-senyawa hasil metabolisme. Secara tidak langsung arus air juga mencegah tertimbunnya bahan-bahan organik di tempat-tempat tertentu pada bagian sungai atau kolam.⁶

Kekeruhan

Kekeruhan atau turbiditas menunjukkan kadar bahan-bahan yang melayang di dalam air yang dapat mengganggu penetrasi cahaya matahari ke dalam air. Nilai kekeruhan yang tinggi akan memperkecil penetrasi cahaya matahari ke dalam air, sehingga dapat menghambat proses fotosintesis oleh tumbuhan air. Kurangnya penetrasi cahaya matahari dapat menurunkan produktivitas perairan. Kekeruhan air disebabkan oleh adanya partikel-partikel kecil yang bersifat koloidal dan mempunyai ukuran 10 nm-10 μ m.³

Kekeruhan air disebabkan karena adanya zat organik dan anorganik yang menyerap cahaya dengan frekwensi yang berlainan. Bila senyawa yang larut dalam air menimbulkan warna, maka warna yang ditimbulkan disebut warna sejati, tetapi bila warna air terjadi karena pengaruh zat yang tersuspensi (keruh), maka warna tersebut disebut warna ikutan. Warna air sumur dapat disebabkan karena warna yang berasal dari cucian. Air minum sebaiknya tidak berwarna, hal ini bertujuan untuk mencegah keracunan berbagai zat kimia maupun mikroorganisme yang berwarna. Bila air keruh menunjukkan adanya senyawa-senyawa organik yang bila dilakukan proses khlorinasi terhadap air tersebut akan mengakibatkan terbentuknya khloroform yang dapat membahayakan kesehatan bila dikonsumsi.⁶

Cahaya

Kemampuan cahaya matahari untuk menembus sampai ke dasar perairan dipengaruhi oleh kecerahan dan kekeruhan air. Semakin tinggi kecerahan atau semakin rendah kekeruhan maka semakin tinggi penetrasi cahaya matahari masuk ke perairan. Dengan demikian proses fotosintesis di air tersebut dapat berlangsung dan memudahkan interaksi mikroorganisme yang membutuhkan oksigen.⁹

Indikasi yang sering digunakan suatu perairan adanya mikroba ditandai masih ada pertumbuhan alga di perairan tersebut. Hal tersebut dapat diukur secara dengan mengetahui tingkat kompensasi. Tingkat kompensasi dapat ditentukan dengan cara kultur alga dalam botol selama 24 jam. Sejumlah bakteri fototrof, misalnya bakteri hijau dan bakteri ungu menggunakan energy dengan cara mereduksi CO₂. Tetapi mikroba anaerob tidak mampu mendissosiasi H₂O dengan menggunakan berbagai macam senyawa organik, misalnya hidrogen donor. Demikian juga terjadi pada bakteri yang dapat tumbuh di semua semua kondisi air anaerob dimana masih dapat cahaya untuk menjaga keseimbangan fotosintesis dengan baik. Bila radiasi sinar matahari tinggi, bakteri hijau dan bakteri ungu kemampuannya menjadi lebih sedikit. Hal ini juga terdapat spesies fitoplankton memiliki kedalaman optimum pada musim panas dan beberapa meter di bawah permukaan air.⁵

Pada beberapa bakteri efek cahaya dapat merusak sel bakteri. Efek tersebut biasanya berasal dari sinar ultraviolet yang berasal dari sinar matahari. Sebagai contoh panjang gelombang 366-436 nm dapat menghambat oksidasi nitrit pada bakteri *Nitrobacter winogradsky*. Cahaya merah juga memiliki efek menghambat pertumbuhan mikroba. Contohnya *Micrococcus denitrificans* menjadi inaktif dan akhirnya mati karena cahaya.⁵

Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) merupakan ukuran daya aktif ion hidrogen di dalam air. Batas toleransi mikroorganisme di air terhadap pH air bervariasi dan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti temperatur, oksigen terlarut, alkalinitas, adanya berbagai ion dan kation serta jenis organisme yang hidup di dalamnya.⁶ Kebanyakan mikroba yang terdapat di air hidup pada pH optimum 6,0-8,0, meskipun beberapa mikroba memiliki pH optimum 3,0 dan beberapa mikroba lainnya memiliki pH optimum 10,5.³

Bila derajat keasaman air netral, tidak bersifat asam atau basa akan mencegah terjadinya pelarutan logam berat dan korosi jaringan pada distribusi air minum. Air yang masih segar dari pegunungan biasanya memiliki pH yang lebih tinggi. Semakin lama pH air akan semakin menurun dan semakin bersifat asam, hal ini disebabkan penambahan bahan-bahan organik yang kemudian membebaskan CO₂.⁶

Pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme banyak dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen, misalnya pH media. Hanya sebagian kecil bakteri dapat tumbuh pada pH 3 atau dibawahnya. Contohnya, bakteri kelompok asidofilik, yaitu *Thiobacillus thiooxydans* dan *Thiobacillus ferrooxidans* dapat bertahan pada pH 1. Demikian juga dengan bakteri termofilik, *Sulpholobus acidocaldarius*, masih dapat ditemukan pada sulfur panas dengan pH 1,6-3,0. Demikian juga dengan beberapa bakteri lainnya masih dapat tumbuh pada pH 8-9, misalnya bakteri *Vibrio cholera* dan *Vibrio parahaemolyticus*.¹⁰

Salinitas

Salinitas dalam perairan dapat diartikan sebagai konsentrasi total ion-ion terlarut dalam perairan. Ion-ion yang memberikan kontribusi utama adalah natrium klorida, kalium klorida, sulfat, bikarbonat. Pada air laut kadar garam dipengaruhi oleh masuknya air tawar ke dalam perairan, evaporasi dan transpirasi tumbuhan dan

plankton. Apabila masuk ke air tawar dan laju evapotranspirasi tinggi, maka salinitas dalam suatu perairan akan menurun. Kehidupan mikroba di air tergantung kepada kemampuan mikroba itu bertahan terhadap salinitas air tersebut.³

Salinitas dapat memperpanjang waktu generasi bakteri dan jamur. Seringkali salinitas juga menyebabkan perubahan morfologis dan fisiologis mikroba. Beberapa bakteri laut yang semula mempunyai bentuk batang atau bentuk koma pada salinitas optimal menjadi lebih panjang pada konsentrasi garam lebih 5% dan akhirnya menjadi bentukan filamen. Bakteri luminous yang telah diisolasi dari Laut Arab tumbuh optimal pada kadar garam lebih kurang 3% berbentuk batang, panjang 1-2 um pada kadar garam 1% berbentuk kokus, dan pada kadar garam 7,5% berbentuk filament dengan panjang lebih 100 um. Perubahan salinitas menyebabkan perubahan mekanisme reproduktif. Sel-selnya masih dapat tumbuh walaupun tidak dapat membelah.⁵ Bakteri dari genus *Vibrio* merupakan bakteri halofilik bersifat patogen misalnya *Vibrio vulnificus* berasal dari air laut. Bakteri ini dapat menyebabkan lesi kulit yang hebat pada orang yang menangani kerang atau hewan laut lainnya, dan kadang-kadang juga dapat menyebabkan enteritis, bakteremia, dan kematian pada orang yang lemah atau berusia lanjut. Beberapa *vibrio* lainnya juga menyebabkan penyakit pada manusia seperti *Vibrio mimicus* menyebabkan diare setelah memakan makanan laut yang belum dimasak, biasanya tiram mentah. *Vibrio cholerae* dan *Vibrio fluvialis* menyebabkan diare. *Vibrio parahaemolyticus* menyebabkan infeksi mata, telinga, atau luka setelah terkena air laut. *Vibrio damsela* juga menyebabkan infeksi luka.^{13,14,18}

Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Muslimin menjelaskan bahwa *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) adalah banyaknya oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh

mikroorganisme untuk mendegradasi bahan organik.¹⁵ Nilai BOD ini dapat digunakan untuk mengestimasi efek pencemaran senyawa organik dalam sungai.¹² Parameter pencemaran senyawa organik seperti BOD dan COD adalah parameter umum yang sering digunakan untuk menunjukkan tingkat pencemaran organik dari suatu pencemar seperti yang bersumber dari sumber domestik, lahan pertanian, perikanan dan industri. Tingkat pencemaran suatu perairan juga akan mempengaruhi habitat mikroba dalam ekosistem tersebut.^{5,6}

Chemical Oxygen Demand (COD)

Chemical oxygen demand (COD) adalah banyaknya oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat kimia dalam ppm cairan. COD dapat dipergunakan sebagai petunjuk untuk memperkirakan jumlah zat anorganik yang tereduksi di dalam air. Oleh karena itu diterapkan tolak ukur lain untuk menyatakan kebutuhan oksigen yang diperlukan pada reaksi oksidasi secara kimiawi. Bagi mikroba anaerob dalam suatu perairan biasanya akan cenderung terdapat pada dasar dari perairan tersebut untuk menghindari oksigen. Sedangkan bagi mikroba aerob biasanya akan menempati bagian permukaan dari suatu perairan.^{5,6}

Sumber oksigen terlarut di dalam air adalah difusi dari udara dan aliran air. Namun demikian ketersediaan oksigen terlarut di dalam air akan dikurangi dengan adanya proses difusi, respirasi organisme yang terdapat di air dan reaksi-reaksi kimia yang memerlukan oksigen. Kadar oksigen terlarut untuk kehidupan mikroorganisme sangat tergantung jenis mikrobanya. Bagi mikroba yang bersifat aerob kadar oksigen terlarut yang ideal berkisar antara 5-7 mg/l. Kadar oksigen terlarut rendah dalam jangka waktu yang lama dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba.¹¹

Oksigen terlarut (DO) digunakan sebagai tolak ukur kandungan senyawa organik dan anorganik. Tolak ukur ini dipilih

karena kebutuhan oksigen untuk reaksi yang dilakukan oleh sel ini setara dengan konsentrasi senyawa organik yang dirombak. Perombakan ini terus berlangsung selama oksigen di dalam air masih tersedia sehingga menghasilkan sel baru untuk berlangsungnya pertumbuhan sel.¹²

Oksigen terlarut merupakan parameter yang penting untuk mengukur kualitas air. Umumnya reaksi-reaksi biokimia dalam air dapat terjadi karena adanya oksigen terlarut. Penggunaan oksigen terlarut oleh mikroorganisme untuk mendegradasi zat-zat organik dalam jumlah banyak mengakibatkan berkurangnya jumlah oksigen terlarut dalam air, akibatnya mikroorganisme aerob mati sehingga mikroorganisme anaerob yang tersisa dapat menyebabkan air menjadi bau.¹²

Apabila kandungan oksigen terlarut dalam air dapat memenuhi kebutuhan, maka air yang menerima beban itu dinyatakan air yang dapat memurnikan diri (*self purification*). Jika kadar oksigen terlarut air mendekati nol, maka mikroorganisme yang berperan dalam perombakan adalah mikroorganisme anaerobik, sehingga dapat menimbulkan bau yang kurang baik akibat adanya pembentukan H_2S dan NH_3 . Warna limbah secara visual tampak hitam.⁷

2. Faktor Biotik

Disamping faktor fisika dan kimia yang merupakan faktor abiotik, faktor biotik juga merupakan suatu aspek yang mempengaruhi mikroba di air. Mikroba berinteraksi dengan organisme lain di dalam komunitas air. Di antara kelompok mikroba di dalam air akan kompetisi dalam mendapatkan makanan dan berinteraksi antar organisme.⁵

Kompetisi untuk mendapatkan makanan

Kompetisi adalah interaksi antara mikroorganisme yang merupakan persaingan akibat keterbatasan makanan yang tersedia. Di samping itu ada pula mikroorganisme yang menghasilkan

berbagai substansi yang dapat menghambat organisme lain.¹⁷ Kompetisi nutrient antar mikroba memainkan peran dan mempengaruhi mikroflora dalam suatu habitat. Mikroba yang berhasil dalam interaksi dengan lingkungannya adalah mikroba yang lebih cepat mendapatkan nutrient-nutrien untuk sumber makanannya.⁶

Beberapa mikroba di air memiliki pertumbuhan yang berbeda, beberapa lainnya memiliki kecepatan yang lebih dalam pembelahan sel dibandingkan yang lain. Hasil metabolisme dari mikroba di dalam suatu perairan dapat menghambat pertumbuhan kompetitornya. Misalnya terjadinya perubahan pH, atau ketika menghasilkan substansi zat aktif. Jika akumulasi dari sejumlah produk metabolisme terlalu banyak maka dapat mengganggu mikroba lain sebagai kompetitornya. Pada kondisi lingkungan yang ekstrim, kompetisi nutrient di bawah kondisi normal, misalnya dalam air dengan temperature tinggi, salinitas atau pH yang ekstrim, dalam kondisi ini hanya beberapa mikroba yang dapat menggunakan nutrient yang ada.⁵

Interaksi antara organisme

Terdapat tiga jenis interaksi antar organisme, yaitu mutualisme, komensalisme dan parasitisme. Mutualisme adalah bentuk hubungan yang saling menguntungkan kedua belah pihak. Komensalisme adalah bentuk interaksi antara satu organisme mendapat keuntungan, sedangkan yang lain tidak dirugikan ataupun mendapatkan keuntungan. Sedangkan parasitisme adalah interaksi bila salah satu pihak mendapat keuntungan sedang pihak lain dirugikan.^{16,17}

Beberapa mikroorganisme parasit menyerang bakteri dan fungi dan menghancurkannya. Bakteriofaga juga dapat berpengaruh dalam interaksi terhadap mikroflora di dalam air. Faktor biologi lebih sulit dipelajari dibandingkan faktor abiotik. salinitas, temperatur dan

faktor-faktor abiotik lainnya dapat diukur dengan akurat. Hal ini berbeda faktor biotik dimana interaksi mikroba dengan mikroba lainnya atau organisme lainnya tidak dapat diukur dengan akurat, biasanya hanya berdasarkan prediksi dari interaksi mikroba tersebut dengan lingkungan biotik lainnya.⁵

Kesimpulan

1. Faktor abiotik yang mempengaruhi kehidupan mikroba di air terdiri dari konduktivitas, arus, kekeruhan, cahaya, pH, salinitas, *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), dan *Chemical Oxygen Demand* (COD).
2. Faktor biotik yang mempengaruhi kehidupan mikroba di air meliputi kompetisi untuk mendapatkan makanan dan interaksi antara organisme.

Daftar Pustaka

1. Helianti, I. Genom Mikroba, Proyek Masa Depan Manusia. *Kompas*, 27 April 2003.
2. Komagata K. Microbial Diversity and the Role of Culture Collection. *Pure Appl. Chem.* 1998: 70:1-8
3. Brock, MD and Madigan, A. *Fundamentals Aquatic Ecology*. Blackwell Scientific Publication. 1991.
4. Rheinheimer, G. 1992. *Aquatic Microbiology* 4th. New York, Brisbane, Toronto: John Wiley & Sons. Chichester, 1992.
5. Waloyo, L. Mikrobiologi Lingkungan Malang: UMM Press. 2005.
6. Suriawiria, U. *Mikrobiologi Air*. Bandung: Angkasa. 2003.
7. Rochelle, PA.. Environmental Molecular Microbiology: In trodution. In: Rochelle, PA (eds). *Environmental Molecular Microbiology: Protocols and Application*. California: Hirizon, Scientific Press. 2001: 1-13.
8. Yunita. Keanekaragaman Komunitas Mikrozoobenthos di Perairan Sungai Satui Kalimantan Selatan. Bandung: PPs ITB.. 1988.
9. Neumann, M; Robbecke, RS; Hagenau, C and Behringer, K. Comparison of Methos for Isolation of Mycobacteria from Water. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997: 63: 547-552.
10. Zulkifli, H., *Biologi Lingkungan*, Jakarta: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pembinaan Sarana Kuliah,. 1998
11. Rivera, ING; Chun, J; Anwar H; Sack, RB and Cowel, RR.. Genotypes Associated with Virulence in Environmental Isolates of *Vibrio cholerae*. *App. Environ. Microbiol.* 2001: 67. 6: 2421-2429.
12. Vital, M; Peter HF; Hammes, F and Egli, T. Growth of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa Eltor in freshwater. *Microbiol.* 2007: 153: 1993-2001
13. Suharto. Flora Normal Serta Hubungan Kuman dengan Hospes dan Lingkungannya. Dalam: Syahrurrahman A; Chatim A; Soebandrio, A dd. (eds). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. 1994: 27-32.
14. Greub, G and Raoult.. Microorganisms Resistant to Free-Living Amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004: 17: 413-433.
15. Berg, SG and Black, WC. Cooling Towers-A Potential environmental Source of Slow-Growing Mycobacterial Species. *AIHA J.* 2003: 64: 238-24.