

ISSN: 1907 - 1965

JURNAL ENTROPI

Volume 4 Nomor 1 Februari 2009

Jurusan Pendidikan Kimia
Fakultas Matematika dan IPA
Universitas Negeri Gorontalo

ISSN 1907-1965



9 771907 196578

Jurnal Entropi adalah wadah informasi bidang ilmu kimia berupa hasil penelitian, studi kepustakaan maupun tulisan ilmiah terkait. Terbit pertama kali tahun 2006 dengan frekuensi terbit dua kali setahun pada bulan Februari dan Agustus.

Ketua Penyunting:

Prof. DR. Ishak Isa, M.Si

Wakil Ketua Penyunting:

Masrid Pikoli, S.Pd, M.Pd
Suleman DUengo, S.Pd

Penyunting Pelaksana:

Dra. Nety Ischak, M.Kes
Hendrik Iyabu, S.Fd

Penyunting Ahli:

Prof. DR. Amiruddin Pravita, Apt. (Universitas Airlangga Surabaya)
DR. Sanusi Gugule, Drs., M. Si (Universitas Negeri Manado)
Dra. Astin P. Lukum, M. Si (Universitas Negeri Gorontalo)
Dra. Nurhayati Bialangi, M. Si (Universitas Negeri Gorontalo)
Drs. Mangara Sihalolo, M.Pd (Universitas Negeri Gorontalo)

Tata Usaha:

Yusnar Lebi, S.Pd
Erni Isa, S.Pd
Dahlan Lukum

Alamat Redaksi/Penerbit:

Jurusian Kimia Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo 96128
Telp. (0435) 823939

e-mail: jurnalentropi@ung.ac.id

Jurnal Entropi diterbitkan oleh Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Gorontalo.

JURNAL ENTROPI

Volume 4, Nomor 1, Februari 2009

DAFTAR ISI

Pertumbuhan Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i> L) Melalui Pemberian Pakan Alternatif dan Pemotongan Sirip Ekor	Margaretha Solang	(1-15)
Inventarisasi Hama dan Cara Penanggulangannya di Balai Benih Ikan (BBI) Kota Gorontalo	Yuniarti Koniyo	(16-25)
Bokshi Dari Bahan Dasar Eceng Gondok dan Kiambang Serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Kacang Tanah	Jusna Ahmad	(26-37)
Pembentukan Biofilm Oleh (<i>Escherichia coli</i>) dan Resistensinya Terhadap Klorin	Yuliana Retnowati; Lilan Dama	(38-51)
Identifikasi Kemampuan Siswa Kelas XI SMA Negeri 2 Gorontalo Dalam Memahami Materi Bilangan Kuantum dan Konfigurasi Elektron Unsur	Joni S. Appulembang, Opir Rumape, Nurhayati Bialangi	(52-61)
Studi Kemampuan Siswa Kelas XI SMA Negeri 3 Gorontalo Dalam Memahami Konsep Laju Reaksi.	Kholifah, Astin P. Lukum, Mangara Sihaloho	(62-73)
Kajian Rasio Ikan dan Tepung Pada Sosis Kakap Merah (<i>Lutjanus altifrons</i>)	Rieny Sulistijowati S	(74-87)
Kemampuan Dalam Memecahkan Soal-Soal Kinetika Kimia Oleh Mahasiswa Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo	Sabihah Toana., Ishak Isa., La Alia	(88-97)
Meningkatkan Hasil Belajar Siswa Melalui Penerapan Metode Role Play Pada Pembelajaran Gerak Melingkar	Dewi Diana Paramata	(98-116)

PEMBENTUKAN BIOFILM OLEH *Echerichia coli* DAN RESISTENSIYA TERHADAP KLORIN

(Biofilm Formation by *Echerichia coli* and Its Resistance to Chlorine)

Yuliana Retnowati; Lilan Dama

Staf Pengajar Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan IPA
Universitas Negeri Gorontalo

ABSTRACT

The objective of this study were to detect biofilm formation by *Echerichia coli* on the paralon pipe surface and to determinate sensitivity of planktonic bacteria and biofilm resistance to chlorine treatment. The study used experiment method. The biofilm formation detected spectrophotometrically at 590 nm of wave length. The sensitivity of planktonic cell and the resistance of sessil/biofilm cell to chlorine compound determined by counting of the total cell that survive after chlorine treatment at 1, 5 and 10 minutes. The study successfully detecting biofilm formation by *E. coli*. The biofilm was not formed on the paralon pipe surface but on the bottom of the growth tube as the flock of cell biomass. The formation of biofilm by *E. coli* was rising along period of incubation. The total of planktonic cell was decrease after 10 minutes exposed by chlorine compound, as same as the sessil cell. The sessil cell/biofilm of *E. coli* was more resistance to chlorine compound (CaOCl_2) at 20 mgL^{-1} than the planktonic cell.

Keyword: biofilm, *Echerichia coli*, resistance, chlorine

PENDAHULUAN

Echerichia coli merupakan mikroorganisme yang pertama dinyatakan sebagai patogen enterik di tahun 1982. *Echerichia coli* diidentifikasi merupakan penyebab diare, *hemoragik colitis, hemolytic uremic syndrome* dan *thrombotic thrombocytopenic purpura* pada anak-anak. Infeksi oleh *E. coli* dapat disebabkan karena adanya pencemaran *E. coli* pada makanan atau pada air minum. Uji mikrobiologi pada air minum umumnya didasarkan pada monitoring keberadaan total coliform

dan *Echerichia coli*. Deteksi *Echerichia coli* merupakan indikasi adanya kontaminasi fekal dan lebih lanjut lagi mengindikasikan kualitas air yang buruk.

Secara umum pengukuran kualitas air mengacu pada kehadiran bakteria planktonik, mayoritas bakteria indigenous lingkungan akuatik yang melekat pada partikel padat atau permukaan. Di dalam sistem distribusi air, untuk mempertahankan kualitas air dari pencemaran mikroorganisme sering digunakan desinfektan. Desinfektan yang umum digunakan adalah asam hipoklorus (HClO) dan monokloramine (NH_2Cl).

Di dalam sistem distribusi air, umumnya bakteri menghasilkan biofilm yang melekat pada permukaan pipa. Penghasilan biofilm memungkinkan makanan/nutrien menjadi lebih terkonsentrasi dan secara metabolismik menjadi lebih aktif daripada hidup bebas sebagai sel tunggal. Biofilm juga memungkinkan menjadi perlindungan dari agen desinfeksi, meliputi asam hipoklorus dan monokloramin. Biofilm dapat di definisikan sebagai komunitas bakteria sessile pada sel yang hidup berlekatan satu sama lain atau pada permukaan. *E. coli* diketahui mampu menghasilkan eksopolisakarida (EPS), yang merupakan barier fisik untuk melindungi sel dari stres lingkungan. EPS juga dilibatkan dalam adesi dan pembentukan biofilm. EPS dapat berperan sebagai film penghubung pada permukaan inert, mempengaruhi penlekatannya sel sebagai adesiv atau anti-adesiv, dan mempengaruhi pembentukan struktur tiga dimensi biofilm.

Perlekatan bakteri dipengaruhi oleh permukaan sel dan media penlekatannya yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan lain. Pembentukan biofilm dan resistensi lainnya pada sel terhadap aktivitas biosida dipengaruhi oleh struktur ekstraseluler, seperti fimbriae, flagela, dan EPS, yang mengellingsi sel.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi pembentukan biofilm oleh *E. coli* pada permukaan pipa paralon dan menentukan sensitivitas bakteri planktonik dan resistensi biofilm dengan perlakuan klorin.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode Deskriptif.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi erlenmeyer, colony counter (suntex), spectrophotometer (spectronic 20; milton roy company), cuvet, tabung reaksi, autoclave, oven (memmert), incubator (carbolite), vortex (thermoline maximic plus), petri dish

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi biakan murni *E.coli*, Kaporit (CaOCl_2), medium Lactosa Broth, medium Nutrient Agar, pipa paralon, aquades

Teknik Pengumpulan Data

1. Pembentukan Biofilm

Biakan murni *E.coli* ditumbuhkan pada 25 ml medium Lactosa Broth selama 24 jam atau sampai dicapai nilai OD 0,6 (setara dengan 10^6 CFU/ml). Suspensi bakteri sebanyak 10 ml dimasukkan dalam 100 ml medium Lactosa Broth yang didalamnya ditambahkan potongan pipa paralon (2x2 cm) steril sebagai media perlekatan biofilm. Diinkubasi selama 96 jam. Pembentukan biofilm oleh bakteri *E.coli* diamati secara bertahap pada setiap interval waktu 24 jam.

2. Pengukuran Biofilm

Fase liquid dipipet atau dikeluarkan dari erlenmeyer dipindahkan ke erlenmeyer steril. Fase liquid digunakan untuk uji sensitivitas sel planktonik terhadap klorin. Biofilm yang tertinggal di erlenmeyer ditambah 1 ml 0,5% kristal violet dan diwarnai selama 10-20 menit. Zat warna dilepaskan dengan cara menambah aquades dan dicuci selama 1 menit. Di ulangi sampai empat kali. Biofilm kemudian diisi dengan 3 ml 95% ethanol untuk melarutkan biofilm. Suspensi dipindahkan ke dalam kuvet. Kadar biofilm diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 590 nm. Pengukuran dilakukan pada 3 kali ulangan.

3. Sensitivitas sel planktonik terhadap klorin

Suspensi bakteri pada langkah (2) diukur sebanyak 10 ml dan ditentukan nilai optical density (OD) dan dibuat sampai OD 0,6. Suspensi OD 0,6 sebanyak 9 ml dipindahkan kedalam tabung reaksi steril. Larutan (1 ml) mengandung klorin bebas konsentrasi 2 mg/L ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi sel dan dicampur secara merata, menghasilkan konsentrasi klorin 0,2 mg/L.

Pada 1, 5 dan 10 menit, 1 ml suspensi sel yang terklorinasi ditanam pada medium Nutrient Agar dengan metode *pour plate* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C sebelum koloni dihitung.

4. Perlakuan biofilm dengan klorin

Biofilm yang dibentuk pada permukaan pipa paralon diperlakukan dengan larutan klorin konsentrasi 0,2 mg/L. Setelah perlakuan untuk 1, 5 dan 10 menit, masing-masing biofilm dilepaskan dan dilarutkan dalam 5 ml aquades steril kemudian di vortex pada kecepatan maksimum selama 1 menit. Suspensi sebanyak 1 ml ditanam pada medium Nutrient Agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C untuk menentukan populasi sel yang mampu hidup.

Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh di analisis secara deskriptif.

1. Pengukuran pembentukan Biofilm

Biofilm yang terbentuk oleh *E.coli* ditentukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 590 nm pada interval waktu 24 jam selama 96 jam inkubasi. Hasil pembacaan OD terukur diplot sebagai kurva/grafik waktu inkubasi vs OD biofilm.

2. Sensitivitas sel planktonik terhadap klorin

Sensitivitas sel planktonik *E.coli* ditentukan dengan mendeskripsikan jumlah bakteri yang diperoleh pada setiap waktu pengamatan.

3. Resistensi biofilm terhadap klorin

Resistensi biofilm ditentukan dengan mendeskripsikan jumlah bakteri yang diperoleh pada setiap waktu pengamatan.
Jumlah sel = Jumlah koloni terhitung $\times 1 / \text{faktor pengenceran}$
Satuan : CFU/ml (Atlas, 1997).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Pembentukan Biofilm

Biofilm merupakan mikrolingkungan yang terdiri dari sel-sel mikroorganisme yang melekat erat ke suatu permukaan sehingga berada dalam keadaan diam (sesil), tidak mudah lepas atau berpindah tempat (irreversible). Uji coba pembentukan biofilm oleh *E.coli* pada permukaan

pipa paralon sebagai media perlekatan pada medium Laktosa Broth di Laboratorium Mikrobiologi belum menunjukkan hasil yang cukup memuaskan, dalam artian biofilm yang dimaksudkan sebagai suatu tekstur berlendir yang melekat pada suatu permukaan tidak dicapai. Pertumbuhan *E.coli* selama 96 jam inkubasi pada suhu 37°C tidak menunjukkan pembentukan biofilm yang melekat pada permukaan pipa paralon tetapi membentuk gumpalan-gumpalan (flok-flok) pada dasar medium dan bersifat stabil. Yang berarti gumpalan-gumpalan tersebut tidak melarut/tersuspensi bila tabung tempat pertumbuhan digoyang (gambar 1).



Gambar 1: Morfologi agregat massa sel yang dibentuk oleh *E.coli* pada dasar tabung pertumbuhan pada medium Laktosa Broth selama 96 jam inkubasi suhu 37°C.

Gumpalan-gumpalan pada dasar tabung pertumbuhan yang dibentuk oleh *E.coli* selama masa inkubasi kemungkinan merupakan wujud bentukan massa sel yang membentuk konsorsium yang kompak, yang pada dasarnya mengarah pada pembentukan biofilm. Pembentukan biofilm oleh mikroba pada suatu permukaan bertujuan untuk mempertahankan eksistensinya pada suatu lingkungan mengalir, untuk mempertahankan diri dari faktor-faktor lingkungan yang merugikan pertumbuhannya dan lebih memudahkan mikroba untuk mendapatkan nutrient untuk pertumbuhannya. Pada percobaan ini massa lendir/biofilm tidak secara sempurna dibentuk oleh *E.coli* kemungkinan karena medium pertumbuhannya selama masa inkubasi dalam kondisi tidak bergerak/statis, sehingga tidak merangsang sel untuk membentuk film. Hal tersebut juga terjadi karena nutrient yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *E.coli* sudah cukup tersedia pada lingkungan pertumbuhannya.

2. Pengukuran Kadar Biofilm

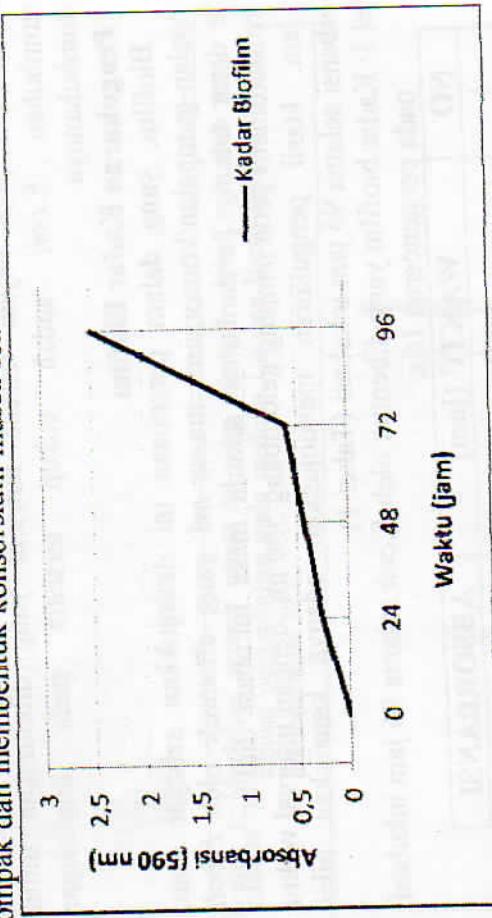
Biofilm, yang dalam percobaan ini ditunjukkan sebagai suatu gumpalan-gumpalan/konsorsium massa sel yang dibentuk oleh *E.coli* pada dasar tabung pertumbuhan selama masa inkubasi diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 590 nm dengan interval waktu 24 jam. Hasil pengukuran menunjukkan adanya kenaikan nilai absorbansi selama 96 jam inkubasi (Tabel 1).

Tabel 1: Kadar biofilm yang dibentuk oleh *E.coli* selama 96 jam inkubasi pada pengenceran 10x.

NO	WAKTU (jam)	ABSORBANSI
1	0	0
2	24	0.25
3	48	0.42
4	72	0.60
5	96	2.5

Kenaikan nilai absorbansi selama 96 jam masa inkubasi yang ditetapkan dengan interval waktu 24 jam menunjukkan bahwa selama 96 jam massa inkubasi terjadi penambahan jumlah massa sel yang membentuk konsorsium berupa gumpalan-gumpalan. Hal tersebut

mengindikasikan adanya aktivitas bakteri *E. coli* untuk mempertahankan diri pada kondisi lingkungan yang mulai terjadi stress nutrient (data lebih nampak bila dilakukan pengukuran kadar substrat pertumbuhan / total karbon selama inkubasi). Gumpalan-gumpalan pada dasar tabung pertumbuhan dibentuk dengan tujuan untuk lebih memudahkan sel menangkap nutrient yang mulai menurun ketersedianya karena kondisi inkubasi dengan menerapkan model *batch culture*. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa *E. coli* melakukan mekanisme adaptasi biologi khususnya adaptasi genetik yang mengkode sistem metabolismenya. Adaptasi genetik bakteri *E. coli* dilakukan dengan cara mengaktifkan gen yang mengkode untuk pembentukan suatu substansi ekstraseluler selama pertumbuhannya yang menyebabkan sel planktonik menjadi lebih kompak dan membentuk konsorsium massa sel.



Gambar 2: Grafik kadar biofilm yang dibentuk oleh *E. coli* selama 96 jam inkubasi.

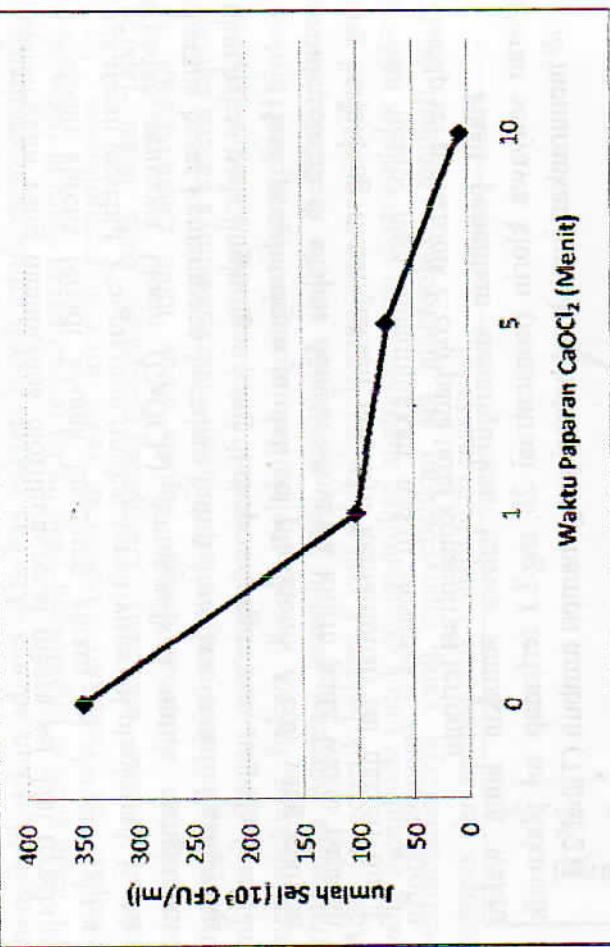
3. **Sensitivitas Sel Planktonik *E. coli* terhadap Senyawa Klorin**
Sel planktonik merupakan istilah yang menunjukkan sel bakteri yang hidup bebas menyebar pada medium pertumbuhan tanpa membentuk agregat/konsorsium massa sel. Sel planktonik pada umumnya bersifat lebih sensitif terhadap faktor lingkungan (fisik atau kimia)

dibandingkan yang membentuk biofilm/agregat massa sel. Hal tersebut disebabkan karena terjadi kontak langsung antara sel dengan faktor lingkungan tersebut. Pengukuran tingkat sensitivitas sel planktonik *E. coli* terhadap senyawa klorin (CaOCl_2) dimaksudkan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan bertahan hidup / survive bakteri *E. coli* yang hidup bebas pada lingkungan yang di ekspos dengan senyawa klorin. Hasil penghitungan jumlah sel planktonik *E. coli* yang mampu tumbuh setelah di ekspos dengan senyawa klorin pada waktu paparan yang berjangan menunjukkan lamanya kemampuan sel bakteri untuk bertahan hidup, juga menunjukkan waktu desinfeksi senyawa klorin terhadap sel planktonik *E. coli* pada taraf konsentrasi tertentu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu paparan senyawa klorin (konsentrasi 20 mg/L) terhadap sel planktonik *E. coli* menurunkan jumlah sel bakteri yang mampu tumbuh (Tabel 2).

NO	WAKTU (menit)	JUMLAH SEL (10^3 CFU/ml)
1	0	350
2	1	102
3	5	74
4	10	7

Penurunan jumlah sel planktonik *E. coli* dengan waktu paparan senyawa klorin yang berjangan menunjukkan kecepatan kemampuan senyawa klorin untuk membunuh / desinfeksi. Senyawa klorin diketahui mempunyai berbagai mekanisme untuk membunuh sel bakteri diantaranya adalah kemampuannya bereaksi dengan molekul organik sel, seperti enzim, protein, lipid, nukleotida dan mengganggu metabolisme.



Gambar 3 : Grafik penurunan jumlah sel planktonik *E. coli* yang dipaparkan dengan senyawa klorin (CaOCl_2) 20 mg/L pada waktu paparan yang berjari-jari.

4. Perlakuan Biofilm / Sel Sessil dengan Senyawa Klorin

Biofilm yang diproduksi oleh sel bakteri *E. coli* dalam penelitian ini ditunjukkan sebagai suatu agregat/gumpalan pada dasar tabung percobaan pertumbuhan, dilakukan uji resistensinya terhadap senyawa klorin. Biofilm pada umumnya dihasilkan oleh mikroba dengan tujuan sebagai barier pertahanan terhadap faktor lingkungan yang kurang menguntungkan untuk pertumbuhan. Struktur yang menyusun biofilm umumnya mengandung substansi ekstraseluler yang dihasilkan oleh sel bakteri selama pertumbuhan, yang menyebabkan sel plantonik terkumpul dalam suatu struktur yang kompak.

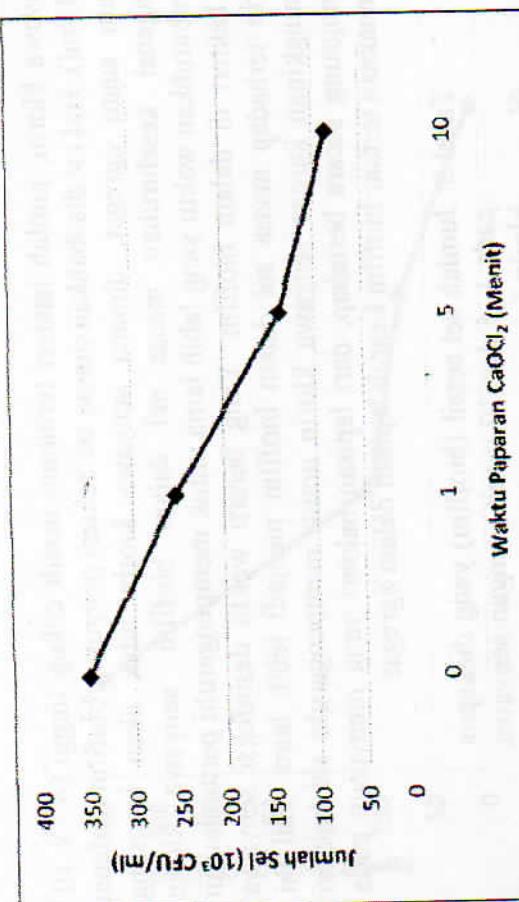
Hasil penelitian uji resistensi biofilm terhadap senyawa klorin dengan waktu paparan yang bervariasi menunjukkan penurunan jumlah yang tidak begitu drastis. Pada akhir waktu paparan biofilm dengan

senyawa klorin, jumlah bakteri terhitung masih cukup tinggi (85×10^3 CFU/ml). Hal ini disebabkan massa sel bakteri penyusun biofilm terdapat dalam suatu agregat, dimana senyawa klorin tidak akan langsung mengenai keseluruhan massa sel dalam biofilm. senyawa klorin membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri di dalam biofilm. Yang berarti waktu desinfeksi senyawa klorin terhadap massa sel dalam biofilm menjadi lebih lama. Hal ini kemungkinan karena senyawa klorin untuk mempengaruhi sel bakteri berlangsung secara bertahap, dari lapisan bakteri yang menyusun pada permukaan terluar biofilm kearah lapisan dalam agregat.

Tabel 3: Jumlah sel sessil (biofilm) yang diekspos pada 1, 5 dan 10 menit dengan senyawa klorin.

NO	WAKTU (menit)	JUMLAH SEL (10^3 CFU/ml)
1	0	350
2	1	253
3	5	139
4	10	85

Data pada tabel 3 juga membuktikan bahwa biofilm/agregat yang dibentuk oleh bakteri *E. coli* menyebabkan sel bakteri menjadi lebih resisten terhadap pengaruh senyawa klorin pada konsentrasi 20 mg/L. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pada sistem distribusi air minum, untuk tujuan membunuh bakteri pencemar dalam hal ini *E. coli* harus menggunakan konsentrasi yang lebih dari 20 mg/L tetapi harus memperhatikan kadar ambang batas untuk kesehatan konsumen. Hal tersebut disebabkan karena bakteri *E. coli* mampu menghasilkan massa sel yang kompak sebagai barier pertahanan terhadap faktor lingkungan yang mempengaruhi eksistensinya di alam.

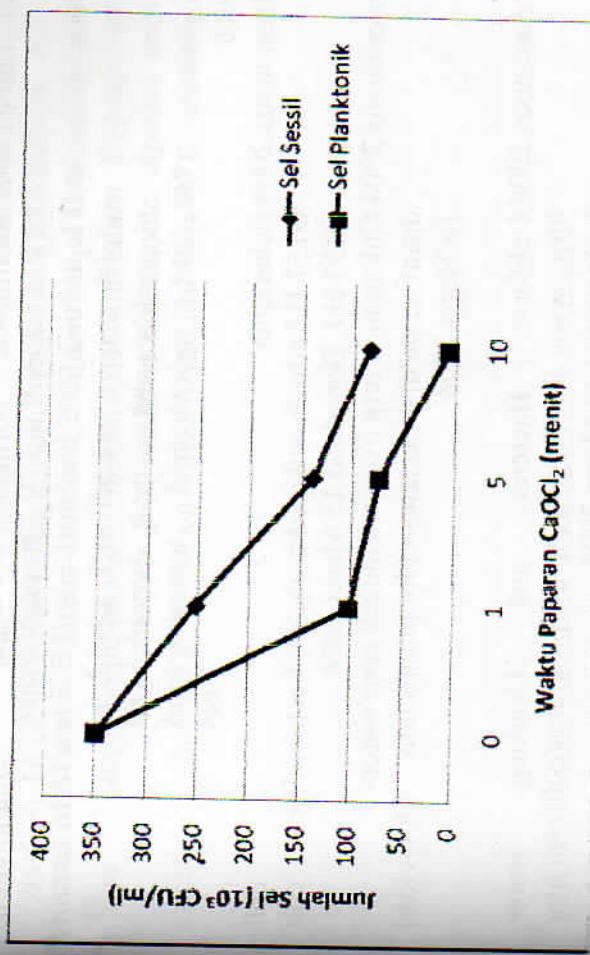


Gambar 4 : Grafik penurunan jumlah sel sessil *E. coli* yang di ekspos dengan senyawa klorin (CaOCl₂) 20 mg/L pada waktu paparan yang berjengjang.

Berdasar hasil penghitungan jumlah sel bakteri (sel planktonik dan sel sessil) yang mampu survive pada perlakuan dengan senyawa klorin CaOCl₂ dengan waktu paparan yang berjengjang, menunjukkan bahwa sel sessil/biofilm lebih mampu bertahan terhadap senyawa klorin dibandingkan sel planktonik. Hal tersebut membuktikan bahwa biofilm/agregat yang dibentuk oleh *E. coli* selama masa pertumbuhan, selain sebagai barier pertahanan terhadap stress nutrient dapat juga digunakan sebagai barier pertahanan terhadap senyawa klorin yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh sel bakteri.

Tabel 4: Perbandingan Jumlah sel planktonik dan sel sessil (biofilm) yang diekspos pada 1, 5 dan 10 menit dengan senyawa klorin (CaOCl₂).

NO	WAKTU (menit)	JUMLAH SEL (10^3 CFU/ml)	
		Sel Plantonik	Sel Sessil
1	0	350	350



Gambar 5 : Perbandingan penurunan jumlah sel planktonik dan sel sessil *E. coli* yang di ekspos dengan senyawa klorin (CaOCl₂) 20 mg/L pada waktu paparan yang berjengjang.

SIMPULAN

1. Bakteri *Escherichia coli* mampu membentuk biofilm / agregat sel yang kompak pada dasar tabung pertumbuhan selama masa inkubasi 96 jam.
2. Kadar biofilm/agregat sel yang dibentuk oleh bakteri *Escherichia coli* meningkat seiring dengan peningkatan waktu inkubasi.
3. Sel planktonik *Escherichia coli* bersifat sensitif terhadap senyawa klorin CaOCl₂ pada konsentrasi 20 mg/L.

4. Sel sessil/biofilm *Escherichia coli* bersifat lebih resisten terhadap senyawa klorin CaOCl₂ pada konsentrasi 20 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous.2008.Biofilm.<http://en.wikipedia.org/wiki/biofilm>. Download 15 Maret 2008
- Anonimous.2008.Biofilm Formation and Quantitation. <http://biology.fullerton.edu/> Download 15 Maret 2008
- Anonimous.2008.hypochlorous acid http://en.wikipedia.org/wiki/hypochlorous_acid Download 15 Maret 2008
- Anonimous.2008.coliform <http://www.nor.org> Download 15 Maret 2008
- Anonimous.2008.Escherichia coli http://en.wikipedia.org/wiki/escherichia_coli Download 15 Maret 2008
- Anonimous.2008.Chloramine <http://www.lenntech.com/water-disinfection/disinfectants-chloramines.htm>. Download 16 Maret 2008
- Anonimous.2008.Coliform Bacteria and Drinking water. <http://www.doh.wa.gov/chp/cdw/programs/coliiform.htm> Download 15 Maret 2008
- Atlas R.M. 1997. Principles of Microorganisms. 2nd Ed. WM.C.Brown. Publishers.
- Atlas R.M and R. Bartha. 1998. Microbial Ecology "Fundamental and Applications" 4th Ed. An Imprint of Addison Wesley Longman. Inc.
- It Jamilah.2003.Biofilm, sebagai mikrolingkungan bakteri yang unik: seberapa jauh kita mengenalnya?. Download 15 Maret 2008
- Jee-Hoon Ryu and L.R Beuchat.2005.Biofilm Formation by *Escherichia coli* O157:H7 on Stainles Steel: Effect of Expopolysaccharide and Curli production on Its
- Resistance to chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*.p 247-257, vol.71, No.1 Lynch J.M and J.E. Hobbie. 1988. Microorganisms in Action : Concepts and Applications in Microbial Ecology. 2nd. Ed. Blackwell Scientific Publications.
- Madigan M.T, J.M. martinko, and J. Parker. 2000. Biology of Microorganisms. 9th Ed. Prentice hall International, Inc.
- Williams M.M and E.B Braun-Howland.2003.Growth of *Escherichia coli* in Model Distribution system Biofilm Exposes to Hypochlorous Acid or Monochloramine. *Applied and Environmental Microbiology* p.5463-5471, vol.69, No.9