

---

**JURNAL METAMORFOSA**  
*Journal of Biological Sciences*  
ISSN: 2302-5697  
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

---

**Optimasi Periode Kultur *Vibrio cholerae* Ogawa pada Medium BHIB untuk Meningkatkan Daya Simpan Kultur**

**Optimization Growth Conditions of *Vibrio cholerae* Ogawa in Medium BHIB to Extend Shelf Life of Working**

Suta Arta<sup>1\*</sup>, Retno Kawuri<sup>2</sup>, Ida Bagus Gde Darmayasa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Magister Ilmu Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Udayana

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali

\*Email: yanmuda@yahoo.co.id

## INTISARI

Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) berkewajiban untuk menguji setiap produk pangan dari cemaran bakteri patogen sebelum diedarkan untuk mencegah terjadinya wabah penyakit yang ditularkan lewat makanan termasuk salah satunya *Vibrio cholerae*. Dalam proses pengujian produk pangan terhadap cemaran *V. cholerae*, terdapat masalah dalam hal ketahanan hidup kultur kerja *V. cholerae*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Pola Faktorial. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan waktu pertumbuhan maksimal kultur *V. cholerae* Ogawa pada media (*Brain Heart Infusion Broth*) BHIB pada suhu 37°C serta untuk mendapatkan kombinasi derajat keasaman (pH) dan konsentrasi NaCl yang tepat pada medium BHIB untuk meningkatkan umur kultur kerja *V. cholerae* Ogawa yang disimpan pada suhu kulkas (4-8°C). Penelitian diawali dengan re-identifikasi isolat kemudian dilakukan uji kurva tumbuh dengan inkubasi 37°C selama 15 jam pada medium BHIB. Setelah diperoleh pola pertumbuhannya pada medium BHIB, penelitian dilanjutkan dengan menguji ketahanan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB yang dimodifikasi dengan kombinasi pH (5,6,7,8, dan 9) dan konsentrasi NaCl (0,1,2, dan 3%) pada penyimpanan suhu kulkas (4-8°C). Hasil penelitian uji kurva tumbuh pada medium BHIB menunjukkan bahwa fase log (pertumbuhan maksimal) terjadi pada jam ke-5. Hasil uji ketahanan pada medium BHIB yang dimodifikasi dengan kombinasi pH dan konsentrasi NaCl menunjukkan bahwa kombinasi pH 9 dan NaCl 3% merupakan kombinasi terbaik untuk meningkatkan umur daya simpan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB. Pada kombinasi tersebut *V. cholerae* Ogawa mampu bertahan sampai hari ke-51 pada penyimpanan suhu kulkas (4-8°C).

Kata kunci: *V. cholerae* Ogawa, optimasi, medium BHIB, daya simpan.

## ABSTRACT

The National Agency of Drug and Food Control (NA-DFC) has an obligation to test safety of every food product from a possible contamination of pathogenic bacteria before these products are circulated on a market. *Vibrio cholerae* is one of many bacteria that are screened for its presence in food products. During the safety test, the low shelf life of a working culture is the main problem encountered in detecting *V. cholerae*. In this research, experiments were conducted to obtain the maximum growth time of *V. cholerae* Ogawa strain in BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*) media at 37°C and to find the right

combination of pH and NaCl concentration on BHIB media under refrigerator temperature (4-8°C). This research was run under laboratory experimental condition by applying Completely Randomized Design (CRD) Factorial. The experiment started by re-identification of *V. cholerae* isolates, followed by testing growth curve under incubation temperature of 37°C for 15 hours in BHIB medium. After identifying the growth curve pattern in BHIB medium, the study was continued by testing the resistance of *V. cholerae* Ogawa on modified BHIB medium using different combinations of pH (5,6,7,8, and 9) and NaCl concentrations (0,1,2 and 3% ) under refrigerator temperature. The growth curve test in BHIB medium showed that the log phase (maximum growth) of *V. cholerae* Ogawa occurred after 5 hours. The endurance test in modified BHIB medium showed that pH 9 and 3% of NaCl were the best combination to increase the shelf life of *V. cholerae* Ogawa up to 51 days under refrigerator temperature.

Keywords: *V. cholerae* Ogawa, optimization, BHIB medium, shelf life.

## PENDAHULUAN

Kolera merupakan masalah utama kesehatan masyarakat terutama di negara berkembang seperti Afrika, Asia dan Amerika Selatan. Penyakit ini ditandai oleh diare yang hebat dengan tinja menyerupai air cucian beras (rice water), yang dengan cepat dapat menimbulkan dehidrasi dan apabila tidak segera ditolong dapat menimbulkan kematian (Dziejman et al., 2002).

Brain Heart Infusion Broth merupakan media baku yang digunakan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Denpasar dalam pembuatan kultur kerja *V. cholerae*. Kultur kerja merupakan istilah yang sering digunakan oleh penguji di Laboratorium Pengujian Mikrobiologi BBPOM. Kultur kerja berisi bakteri yang dijadikan kontrol positif dalam melaksanakan setiap uji. Bakteri kontrol positif ini telah ditentukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) kemudian didistribusikan ke BBPOM yang berada dibawahnya dalam bentuk leufililat (PPOMN, 2006).

*Vibrio cholerae* tumbuh dengan baik pada agar Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) dengan pH sekitar 8,5-9,5 dan menghasilkan koloni berwarna kuning (Brooks et al., 2013). Medium ini merupakan medium spesifik untuk menumbuhkan *V. cholerae* (Faruque et al., 1998). Media TCBS mengandung beberapa zat diantaranya sodium thiosulfate dan sodium chloride dengan konsentrasi tinggi (Brooks et al., 2013). Media diperkaya yang sering digunakan untuk menumbuhkan *V. cholerae* sebelum ditanam ke

media TCBS adalah Alkaline Peptone Water (APW). Dalam 1 liter media cair ini mengandung peptone 10 gr dan sodium chloride 10 gr dengan pH 8,6 (Huq et al., 2012). Sementara itu komposisi 1 liter media BHIB terdiri dari brain infusion solids 12,5 gr, beef heart infusion solids 5 gr, proteose peptone 10 gr, glucose 2gr, sodium chloride 5, disodium phosphate 2,5 gr, dan dengan pH  $7,2 \pm 0,2$  (Oxoid, 2016). Jika diperhatikan, terdapat perbedaan kandungan nutrisi antara medium APW dan TCBS yang dikenal sebagai media spesifik untuk *V. cholerae* dengan media BHIB yang umum digunakan sebagai media kultur kerja di BBPOM, perbedaan nutrisi ini tentunya juga akan menyebabkan perbedaan fase pertumbuhan *V. cholerae*.

Proses pengujian produk pangan terhadap cemaran *V. cholerae*, terdapat permasalahan dalam hal umur kultur kerja *V. cholerae*, dimana kultur hanya bertahan sekitar 14 hari. Untuk mengatasi masalah tersebut, setiap 3 hari sebelum dilakukan pengujian, dilakukan pengkulturan ulang bakteri *V. cholerae* untuk dijadikan kultur kerja. Umur kultur kerja *V. cholerae* yang ditambah dengan meningkatnya jumlah produk pangan yang diuji terhadap cemaran *V. cholerae* dari tahun ke tahun, maka semakin sering pula dilakukan pengkulturan bakteri *V. cholerae* sebagai kultur kerja. Hal tersebut menambah pekerjaan tenaga penguji untuk membuat kultur kerja, sehingga perlu dilakukan beberapa upaya terhadap kultur kerja *V. cholerae* tersebut untuk meningkatkan umur kultur kerja *V. cholerae*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan waktu pertumbuhan maksimal kultur *V. cholerae* Ogawa pada media BHIB pada suhu 37°C dan untuk mendapatkan kombinasi derajat keasaman (pH) dan persentase penambahan NaCl yang tepat pada medium BHIB untuk meningkatkan umur kultur kerja *V. cholerae* Ogawa yang disimpan pada suhu kulkas (4-8°C)

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Pola Faktorial antara kombinasi pH dan konsentrasi NaCl pada medium BHIB. Leufilisat *V. cholerae* Ogawa yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Denpasar yang telah dikonfirmasi kemurniannya menggunakan uji pada medium TCBS (Oxoid), pewarnaan Gram, dan uji API 20E.

### Kurva Tumbuh *V. cholerae* Ogawa pada Medium BHIB

Metode yang digunakan yaitu metode *plating* dengan cara 1 mL *V. cholerae* Ogawa (1 Mc Farland dengan NaCl 0,85%) diinokulasikan pada medium BHIB dengan volume 9 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Setiap satu jam selama 15 jam dilakukan penumbuhan pada media *Plate Count Agar* (Oxoid) terhadap kultur *V. cholerae* Ogawa. Penghitungan koloni dilakukan menggunakan teknik angka lempeng total bakteri (ALTB). Rumus menghitung Jumlah mikroorganisme =

$$\text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

### Ketahanan *V. cholerae* pada Berbagai pH dan Konsentrasi NaCl di Medium BHIB

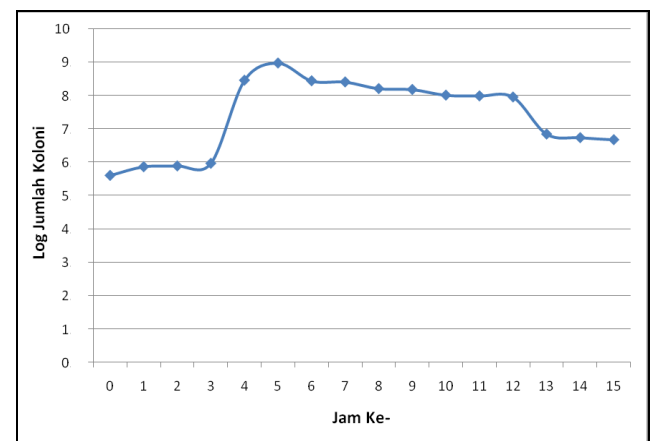
Uji dilanjutkan dengan menumbuhkan *V. cholerae* Ogawa pada media BHIB yang sudah dimodifikasi dengan berbagai kombinasi pH (5,6,7,8 dan 9) dan konsentrasi NaCl (0,1,2, dan 3%). Sebanyak 1 mL *V. cholerae* Ogawa ditumbuhkan pada medium BHIB dengan volume 9 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C (selama waktu terbaik hasil penelitian A)

kemudian kultur disimpan pada suhu kulkas (4-8°C) dan setiap 3 hari dilakukan penumbuhan pada media PCA untuk mendapatkan kombinasi pH dan konsentrasi NaCl terbaik dalam meningkatkan umur daya simpan *V. cholerae*.

## HASIL

### Pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada Medium BHIB

Hasil menunjukkan pertumbuhan bakteri *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB sejak jam ke-0 yaitu ( $39 \times 10^4$  CFU/mL) dan mencapai pertumbuhan yang maksimal pada jam ke-5 yaitu ( $92 \times 10^7$  CFU/mL). Kemudian *V. cholerae* mengalami fase penurunan pada jam ke-6 hingga jam-jam selanjutnya, data terakhir pada jam ke-15 menunjukkan pertumbuhan sebesar  $46 \times 10^4$  CFU/mL.



Gambar 1. Pola Pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada Media BHIB Selama 15 Jam (Keterangan: Data pertumbuhan koloni telah dikonversi ke dalam bentuk Log)

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui fase-fase pertumbuhan *V. cholerae* pada media BHIB. Pada jam ke-0 *V. cholerae* baru mengalami fase lag. Kemudian pada jam ke-1 sampai jam ke-5 bakteri berada pada fase logaritmik dan puncak tertinggi pertumbuhan berada pada jam ke-5. Berdasarkan Grafik tersebut, fase stasioner terlihat sejak jam ke-6 hingga jam ke-12. Setelah jam ke-12 hingga jam ke-15 mulai terlihat penurunan pertumbuhan *V. cholerae* pada media BHIB. Meskipun penelitian hanya dilakukan selama 15 jam pengamatan, tetapi dapat dipastikan setelah

15 jam inkubasi, pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada media BHIB akan mengalami penurunan.

### ***Vibrio cholerae* Ogawa pada Medium BHIB dengan Berbagai Kombinasi pH dan Konsentrasi NaCl**

#### ***Pengamatan Hari Ke-0***

Berdasarkan hasil penelitian terkait pola pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB, pertumbuhan *V. cholerae* usia 5 jam adalah pertumbuhan yang tertinggi, maka

sebelum dimasukkan ke dalam kulkas dilakukan penghitungan jumlah koloni yang selanjutnya dijadikan sebagai data hari ke-0.

Hasil uji Anova yang dilakukan pada data hari ke-0, diperoleh hasil bahwa kombinasi perlakuan pH dan NaCl berpengaruh secara bermakna terhadap pertumbuhan *V. cholerae* pada medium BHIB ( $p < 0,05$ ). Data deskriptif pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB hari ke-0 tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada Media BHIB Hari Ke-0

NaCl (%)	pH				
	5	6	7	8	9
0	17,781±0,005 <sup>a</sup>	18,088±0,104 <sup>b</sup>	18,723±0,025 <sup>e</sup>	18,497±0,094 <sup>c</sup>	19,563±0,038 <sup>h</sup>
1	18,058±0,036 <sup>ab</sup>	18,238±0,030 <sup>b</sup>	18,766±0,010 <sup>e</sup>	18,664±0,130 <sup>de</sup>	19,442±0,027 <sup>g</sup>
2	18,128±0,015 <sup>b</sup>	18,551±0,097 <sup>cd</sup>	18,752±0,018 <sup>e</sup>	18,787±0,026 <sup>e</sup>	20,351±0,052 <sup>j</sup>
3	18,268±0,051 <sup>b</sup>	19,182±0,023 <sup>f</sup>	19,421±0,009 <sup>g</sup>	19,718±0,014 <sup>i</sup>	20,625±0,003 <sup>k</sup>

Keterangan: \*Nilai rata-rata dari 3 kali ulangan pada kolom dan baris yang sama dengan notasi huruf yang berbeda menunjukkan nilai rata-rata yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ), berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA). \*\*Data telah dikonversi dalam bentuk Ln

Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat jumlah pertumbuhan koloni yang terendah terdapat pada kombinasi pH 5 dan NaCl 0% sebesar 17,781±0,005 ( $52 \times 10^6$  CFU/mL), kemudian diikuti dengan kombinasi pH dan NaCl lainnya. Jumlah yang tertinggi terdapat pada kombinasi pH 9 dan NaCl 3% sebesar 20,625±0,003 ( $90 \times 10^7$  CFU/mL). Hasil analisis uji Duncan menunjukkan perlakuan pH dan NaCl memberikan pengaruh yang bervariasi terhadap pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB, dan kombinasi pH 9 dengan konsentrasi NaCl 3% berpengaruh

secara bermakna terhadap pertumbuhan *V. cholerae* pada medium BHIB hari ke-0 ( $p < 0,05$ ).

#### ***Pengamatan Hari Ke-48***

Berdasarkan uji Anova yang dilakukan pada data hari ke-48, diperoleh hasil bahwa kombinasi perlakuan pH dan NaCl berpengaruh secara bermakna terhadap pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB ( $p < 0,05$ ). Data deskriptif pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB hari ke-48 tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada Media BHIB Hari Ke-48

NaCl (%)	pH				
	5	6	7	8	9
0	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>
2	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	2,53±0,40 <sup>c</sup>
3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	0,77±1,33 <sup>ab</sup>	2,30±1,33 <sup>bc</sup>	2,76±0,40 <sup>c</sup>

Keterangan: \*Nilai rata-rata dari 3 kali ulangan pada kolom dan baris yang sama dengan notasi huruf yang berbeda menunjukkan nilai rata-rata yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ), berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA). \*\*Data telah dikonversi dalam bentuk Ln

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat analisis uji Duncan menunjukkan pH 5, 6, dan 7 dengan penambahan NaCl 0%, 1%, 2% dan 3% menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ). Berbeda halnya dengan kombinasi pH 9 dan NaCl 3% berpengaruh secara bermakna terhadap pertumbuhan *V. cholerae* Ogawa pada medium BHIB hari ke-48 ( $p < 0,05$ ). Terdapat beberapa perlakuan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni. Jumlah koloni tertinggi terdapat pada kombinasi pH 9 dan NaCl 3% sebesar  $2.76 \pm 0,40$  (16 CFU/mL).

#### **Pengamatan Hari Ke-51**

Pada pengamatan hari ke-51 hanya perlakuan pH 9 dengan konsentrasi NaCl 3% yang masih dapat bertahan hidup bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Berdasarkan uji statistik sejak pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-48, perlakuan pH 9 dan NaCl 3% merupakan kombinasi yang terbaik untuk meningkatkan umur simpan kultur kerja *V. cholerae* Ogawa. Peningkatan umur daya simpan ini jauh lebih panjang bila dibandingkan dengan penyimpanan pada medium BHIB yang tidak dimodifikasi berdasarkan instruksi kerja (IK) PPOMN yaitu sekitar 2 minggu.

#### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan maksimal *V. cholerae* Ogawa di medium BHIB pada suhu 37°C terdapat pada jam ke-5, kombinasi konsentrasi NaCl sebesar 3% dan derajat keasaman (pH) 9 merupakan kombinasi yang signifikan untuk meningkatkan umur kultur kerja *V. cholerae* Ogawa serta pada medium BHIB yang dimodifikasi dengan pH 9 dan konsentrasi NaCl 3%, *V. cholerae* Ogawa mampu bertahan sampai pengambilan data ke-17 atau hari ke-51 sejak disimpan pada suhu kulkas (4-8°C).

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada drh. Rian Ka Praja, S.KH., M.Biomed (IKD), drh. Annisa Putri Cahyani, S.KH., M.P., dan Gde Palguna

Reganata, M.Si. yang telah membantu selama penelitian.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Adeleye, I.A., F.V. Daniels and V.A. Enyinnia. 2010. Characterization and Pathogenicity of *Vibrio Spp.* Contaminating Seafoods In Lagos, Nigeria. *Internet Journal of Food Safety*. Vol.12:1-9.
- Arunagiri, K., K. Jayashree and T. Sivakumar. 2013. Isolation and identification of Vibrios from marine food resources. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. Vol. 2 (7): 217-232.
- Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. and Mietzner, T.A. 2013. *Medical Microbiology 26<sup>th</sup> Edition*. McGraw-Hill Companies Inc.
- Bakeeva, L., K. Chumakov, A. Drachev, A. Metlina, and V. Skulachev. 1986. The sodium cycle. III. *Vibrio alginolyticus* resembles *V. cholerae* and some other vibriones by flagellar motor and ribosomal 5S-RNA structures. *Biochim.Biophys. Acta*, 850, 466-472.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2010. *Laboratory Methods for the Diagnosis of Vibrio cholerae*. [cited September 3, 2016] Available from: URL: <https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-6.pdf>.
- Dibrov, P. 2005. The Sodium Cycle in *Vibrio cholerae*: Riddles in the Dark. *Biochemistry (Moscow)*, Vol. 70, No. 2: 150-153.
- Downes F. P. and Ito K. 2001. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th Ed., APHA. Washington D.C.
- Dziejman, M., E. Balon, D. Byod, C.M. Fraser, J.F. Heidelberg, and J.J. Mekalanos. 2002. Comparative Genomic Analysis of *Vibrio cholerae* Genes that Correlate With Cholera Endemic and Pandemic Diseases. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 99 (2):1556-1561.
- Faruque, S.H.M., M.J. Albert and J.J. Mekalanos. 1998. Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*.

- Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 62 (4): 1301-1314.
- Harris, J.R., C.C. Elizabeth, A. Aglae, C. Jean, B. Cheryl, P.B. Michele. 2009. Field evaluation of Crystay VC Rapid Dipstick test for cholera during a cholera outbreak in Guinea-Bissau. *Trop Med Int Health*. 14(9): 1117–21.
- Huq, A., A.P. West, E.B. Small, I. Huq, R.R. Colwell. 1984. Influence of Water Temperature, Salinity, and pH on Survival and Growth of Toxigenic *Vibrio cholerae* Serovar O1 Associated with Live Copepods in Laboratory Microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 48(2): 420-424.
- Huq, A., B.J. Haley, E. Taviani, A. Chen, N.A. Hasan and R.R. Colwell. 2012. Detection, Isolation, and Identification of *Vibrio cholerae* from the Environment. *Curr Protoc Microbiol.* Chapter: Unit 6A.5. doi:10.1002/9780471729259.mc06a05s26.
- Lesmana, M. 2003. *Vibrio & Campylobacter*. Jakarta: Universitas Trisakti; 4-23.
- Meiyanti, O.C. Salim, J.E. Surjawidjaja and M. Lesmana. 2011. Alkaline peptone water plus 0.5% agar suitable for transport of *Vibrio cholerae*. *Univ Med.* 30 (2): 95-101.
- Oxoid. 2016. *Brain Heart Infusion Broth*. Available from: [http://www.oxoid.com/au/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM1135&org=3&c=au&lang=EN](http://www.oxoid.com/au/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1135&org=3&c=au&lang=EN) accessed 18 August, 2016.
- Pelczar, J.M. dan E.C.S. Chan. 2013. *Dasar - dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional (PPOMN). 2006. *Prosedur Operasional Baku Metode Analisis Mikrobiologi Suplemen 2000 Edisi 2006*. BPOM RI, Jakarta.
- Rohani M.Y., D. Hasnidah, and K.H. Ong. 1998. Evaluation of the Cholera Spot Test: a chromatographic immunoassay for the rapid detection of Cholera antigen. *Malaysian J Path.* 20(1): 31-33.
- Rojas A.Y. and T.C. Hazen. 1989. Survival of *Vibrio cholerae* In Treated and untreated Rum Distillery Effluents. *Wat. Res.* Vol. 23, No. 1: 103-113.
- Sariadji, K., M.Wati, Syamsidar, A. Novi, Sundari, Khariri, Sunarno. 2015. Waktu Regenerasi Bakteri *Vibrio cholerae* pada Medium APW. *Bul. Penelit. Kesehat.* 43(1): 35-40.
- Sariadji, K., Sunarno, P. Nelly, M. Wati, Khariri, M.S. Sundari dan N. Amalia. 2013. Evaluasi Medium Pengayaan *Vibrio cholerae* untuk Diagnosis Kolera Menggunakan Immunochromatographic Strip Test. *Bul. Penelit. Kesehat.* 41(1):11-17
- Singleton, F.L., T R. Atwell, T S. Jangi, and R. R. Colwell. 1982. Effects of Temperature and Salinity on *Vibrio cholerae* Growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(5): 1047-1058.
- Uchiyama, H., T. Todoroki And S. Matsui. 1986. Effects of Salinity on the Survival of Non-O1 *Vibrio cholerae* under Environments of Low Temperature. The 2nd China Japan Congress of Microbiology (Shanghai-Symposium 986)