

SKRIPSI :

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

ARIF SUBAGYO

**PENGARUH pH TERHADAP DAYA HIDUP
KUMAN PASTEURELLA MULTOCIDA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1989**



PENGARUH pH TERHADAP DAYA HIDUP
BUNYI PASTORELLA MALTOTENS



SKRIPSI :

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

ARIF SUBAGYO

**PENGARUH pH TERHADAP DAYA HIDUP
KUMAN PASTEURELLA MULTOCIDA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

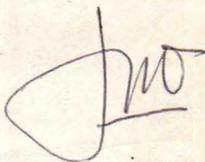
1989

PENGARUH pH TERHADAP DAYA HIDUP KUMAN
PASTEURELLA MULTOCIDA

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI
SEBAGIAN SYARAT GUNA MEMPEROLEH
GELAR DOKTER HEWAN

ARIF SUBAGYO
NGAWI - JAWA TIMUR



drh. Didik Handijatno, M.S.
Pembimbing utama



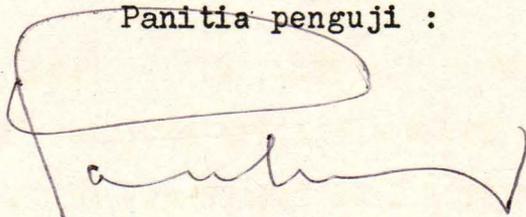
Dr. Sarmanu, M.S.
Pembimbing kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A

1989

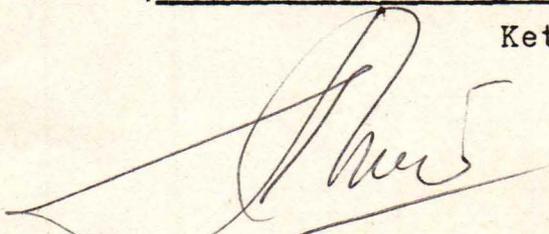
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik scope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN

Panitia penguji :



(Prof. Dr. Soehartojo Hardjopranjoto, M.sc)

Ketua



drh. Rochiman Sasmita, M.S.

Sekretaris



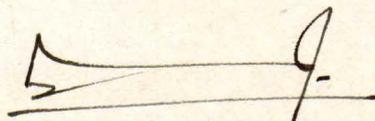
drh. Ratih Ratnasari, S.U.

Anggota



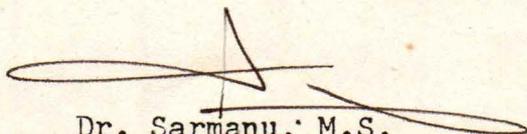
Dr. Sri Subekti

Anggota



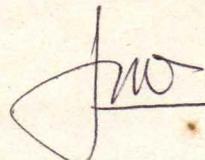
drh. Moh. Moenif, M.S

Anggota



Dr. Sarmanu, M.S.

Anggota



drh. Didik Handijatno, M.S.

Anggota

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah S.W.T, karena atas rahmatNYa maka naskah seminar yang berjudul " Pengaruh pH terhadap daya hidup kuman Pasteurella multocida" dapat penulis selesaikan.

Terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada bapak drh. Didik Handijatno, M.S. (sebagai pembimbing I) dan bapak Dr. Sarmanu, M.S. (sebagai pembimbing II) yang telah membimbing dan memberikan saran-saran dari awal hingga selesainya penulisan naskah ini. Demikian juga terimakasih penulis sampaikan kepada seluruh staf pengajar dan karyawan di Laboratorium Bakteriologi yang telah membantu demi kelancaran hingga penulisan naskah ini selesai.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah ini masih jauh dari sempurna, namun demikian penulis berharap mudah-mudahan tulisan yang sederhana ini bisa bermanfaat bagi pembaca. Penulis dengan senang hati akan menerima segala kritik dan saran demi sempurnanya karya tulis ini.

Surabaya, Desember 1988

Penulis.

DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang Penelitian	1
2. Identifikasi Masalah	3
3. Tujuan Penelitian	4
4. Kegunaan Penelitian	4
5. Kerangka Penelitian	4
6. Hipotesis	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
1. Tinjauan Kuman	6
1.1. Sejarah	6
1.2. Morfologi dan sifat pewarnaan	7
1.3. Pertumbuhan	8
1.4. Morfologi	9
1.4.1. Koloni fluorescent	9
1.4.2. Koloni biru	9
1.4.3. Koloni intermediate	10
1.5. Sifat biokimiawi	10
1.6. Sifat resistensi terhadap bahan kimia dan fisik	11
1.7. Serotipe	12

2. Tinjauan Pengaruh pH Terhadap Kuman	13
2.1. pH	13
2.2. Larutan penyangga	14
2.3. Pengaruh pH terhadap kuman	15
2.3.1. Pengaruh terhadap membran sel.....	15
2.3.2. Pengaruh terhadap enzim.....	16
BAB III. MATERI DAN METODA PENELITIAN	18
1. Materi.....	18
2. Tempat dan Tanggal Penelitian.....	18
3. Metoda Penelitian	18
3.1. Pembuktian isolat kuman	19
3.2. Penyediaan larutan penyangga.....	22
3.3. Pemupukan pada media cair.....	22
3.4. Penghitungan jumlah kuman.....	23
3.5. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan kuman.	24
BAB IV. HASIL PENELITIAN	25
BAB V. PEMBAHASAN.....	30
BAB VI. KESIMPULAN.....	35
BAB VII. RINGKASAN	36
DAFTAR PUSTAKA	38

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
I. . Pengolahan Data	41
II . Pembuatan larutan penyangga	48

DAFTAR TABEL

	halaman
I . Jumlah koloni kuman yang bertahan hidup karena pengaruh berbagai perlakuan pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan penyangga serta hasil Uji Jarak Berganda Duncan..	26

DAFTAR GAMBAR

	halaman
1. Diagram garis pengaruh pH terhadap daya hidup kuman <u>P. multocida</u>	44
2. Diagram batang pengaruh lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH terhadap daya hidup kuman <u>P. multocida</u>	45
3. Diagram batang pengaruh interaksi antara pH dan lamanya waktu kontak terhadap daya hidup kuman <u>P. multocida</u>	46

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Penelitian

Usaha peternakan di Indonesia merupakan salah satu usaha yang cukup penting dan tak jarang merupakan salah satu sumber perekonomian bagi sebagian masyarakat. Sehingga cukup beralasan jika pemerintah turut campur dalam menangani subsektor peternakan ini.

Pengembangan subsektor peternakan akan berhasil jika didukung oleh cukup tersedianya pakan, bibit serta pengawasan kesehatan yang baik. Usaha pengembangan peternakan dapat mengalami hambatan bahkan kegagalan oleh karena beberapa faktor diantaranya wabah penyakit. Di antara penyakit yang cukup penting adalah penyakit bakterial yang disebut PASTEURELLOSIS.

Pasteurellosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman Pasteurella multocida yang dapat menyerang beberapa hewan piaraan misalnya sapi, kerbau, babi dan unggas. Kerugian yang disebabkan oleh penyakit ini pada hewan piaraan cukup besar. Pada unggas kerugian yang ditimbulkan dapat mengakibatkan kematian ayam 10 - 20 %, sedang pada itik dapat mencapai 50 %, demikian juga pada kalkun (Anonymous, 1982). Pada hewan lain seperti sapi, kerbau, babi kerugian yang ditimbulkan dapat menyebabkan penurunan berat badan serta kehilangan tenaga kerja untuk membantu pertanian dan pengangkutan. Kerugian yang disebabkan pasteurellosis pada hewan seperti sapi, kerbau, babi di Indonesia diperkirakan

mencapai 5,4 milyar rupiah tiap tahun (Anonymous, 1982).

Untuk menangani penyakit ini ada beberapa jalan yang dapat dilakukan antara lain dengan pencegahan penyakit. Hal ini dapat dilakukan dengan jalan vaksinasi, tetapi jika agen penyakit tersebut pada hewan sudah menimbulkan penyakit maka dapat dilakukan pengobatan dengan antibiotik atau golongan sulfa (Siegmund, 1979).

Selain itu jika kuman ini mencemari peralatan dan kandang, maka kita dapat memberantasnya dengan menggunakan desinfektan atau bahan-bahan kimia lainnya. Dalam penggunaan bahan kimia ini selain sifat khusus dari bahan kimia tersebut, pH juga ikut memegang peran yang cukup penting dalam proses mematikan agen penyakit.

Agar kita lebih pasti dalam menentukan agen penyakit ini sehingga dapat mendukung diagnose, maka kita perlu mengisolasi dan mengidentifikasi agen penyakit ini. Dalam mengisolasi P. multocida kadang-kadang kita kesulitan untuk menumbuhkan kuman ini, hal ini mungkin terkontaminasi oleh kuman lain atau juga pada plate tersebut tidak dijumpai adanya pertumbuhan kuman dan ini mestinya tidak kita harapkan. dalam hal ini ternyata pH lingkungan memegang peran yang cukup penting sehingga kadang-kadang kuman tersebut tidak tumbuh. Dengan mengetahui sifat-sifat P. multocida yang ternyata dipengaruhi oleh pH maka kita dapat mengatur pH tersebut untuk

untuk menumbuhkan atau mematikan kuman ini.

Sedang sifat kuman P. multocida ini antara lain termasuk kuman Gram negatif, berbentuk batang pendek. Pada pewarnaan methylen biru tampak bipoler, tidak membentuk spora dan tidak bergerak (non motil). Kuman ini mudah rusak pada suhu 60°C selama 10 menit dan kuman ini yang tertinggal dalam karkas yang busuk mampu bertahan selama 3 bulan. Kuman ini dapat tumbuh pada kisaran pH 6,2 sampai 9 (Hofstad dkk, 1984; Merchant dan Packer, 1971). Bahkan salah satu sero type I (B) oleh Bain telah ditunjukkan bahwa sel kuman ini tidak rusak pada kisaran pH 4,5 sampai 9,5 (Soltys, 1963).

Dari sifat-sifat tersebut tampak bahwa pH lingkungan berperan cukup penting untuk pertumbuhan kuman ini. Jika pH lingkungan tidak sesuai maka akan menghambat atau bahkan dapat mematikan kuman ini.

2. Identifikasi Masalah

Dari gambaran yang telah diuraikan di atas maka dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut :

1. Apakah daya hidup dan pertumbuhan kuman P. multocida dipengaruhi oleh pH lingkungan?
2. Apakah waktu juga berperan dalam mempengaruhi pertumbuhan kuman P. multocida?

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah :

1. Untuk mendapatkan gambaran pada pH berapa kuman P. multocida tumbuh baik

2. Untuk mengetahui sampai pada pH berapa kuman P. multocida masih mampu bertahan dan pada pH berapa kuman tersebut benar-benar mati.

4. Kegunaan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan akan dapat melengkapi informasi tentang pengaruh pH terhadap pertumbuhan kuman P. multocida. Dari penelitian ini diharapkan pula kita akan dapat memilih bahan kimia yang cocok yang dapat dipergunakan untuk memberantas P. multocida berdasarkan daya hidup kuman terhadap pH.

5. Kerangka penelitian

Kuman P. multocida ini untuk pertumbuhannya memerlukan nutrisi dan pH lingkungan yang cocok. Jika pH lingkungan ini tidak cocok maka pertumbuhan kuman akan terhambat atau bahkan kuman akan mati. Untuk itulah pH lingkungan diatur sesuai dengan kebutuhan kita. Untuk pertumbuhan optimal kuman ini memerlukan pH antara 7,2 sampai 7,4. Tetapi kuman ini masih dapat tumbuh pada kisaran pH 6,2 sampai 9,0. Pada pH 7 kuman ini mampu bertahan hidup 5 sampai 100 hari dan pada pH 8 kuman ini mampu bertahan hidup selama 24 sampai 85 hari. Semua yang tersebut diatas ditumbuhkan pada media baik itu berupa darah, serum darah, bangkai ataupun media buatan. Sedang dalam penelitian ini kuman dikontakkan dengan larutan pH tanpa media selama 5, 15 dan 25 menit kemudian setelah itu baru ditanam pada media buatan pH netral.

6. Hipotesis

Berdasarkan sifat-sifat tersebut di atas maka dapat dikemukakan hipotesis sebagai berikut :

1. Hipotesis 0 : Daya hidup kuman P. multocida tidak banyak dipengaruhi oleh pH lingkungan.

Hipotesis 1 : Daya hidup kuman P. multocida sangat dipengaruhi oleh derajat pH lingkungan.

2. Hipotesis 0 : Daya hidup kuman P. multocida dalam berbagai derajat pH lingkungan tidak banyak dipengaruhi oleh waktu.

Hipotesis 1 : Daya hidup kuman P. multocida dalam berbagai derajat pH lingkungan sangat dipengaruhi oleh waktu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan Kuman

1.1. Sejarah

Pasteurellosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman Pasteurella multocida yang dapat menyerang beberapa hewan piaraan misalnya sapi, kerbau, babi dan unggas.

Hofstad dkk, 1984 menyatakan dalam bukunya, bahwa penyakit ini pertama kali dipelajari oleh Chabert (1782) di Perancis dan Maillet (1836). Huppe (1886) menggunakan istilah Hemorrhagic septicemia untuk menyebut penyakit yang disebabkan oleh mikro organisme bipolar dan Lignieres (1900) memberikan nama tambahan setelah Pasteurella sesuai dengan nama hewan yang diserang, misalnya pada sapi disebut Pasteurella bovine pada domba disebut Pasteurella ovine dan sebagainya.

Pasteur (1880 - 1881) mengisolasi, memurnikan serta menyelidiki untuk digunakan memproduksi kekebalan. Kemudian Merchant dan Packer, 1971 dalam bukunya menyatakan, bahwa studi perbandingan pada strain kuman ini yang diisolasi dari hewan yang berbeda didapat suatu kenyataan bahwa semua strain tersebut mempunyai sifat morfologi, biokimia, serologi dan patologi yang sama, Lehman dan Neumann menyebutnya Bacillus hemorrhagicae septicemia. Gay dkk (1936) menyarankan penggunaan nama Pasteurella pluriseptica atau septica. Topley dan Wilson (1936) menyarankan penggunaan nama

Pasteurella septica dan menyebut hewan yang terkena jika perlu. Rosenbusch dan Merchant (1938) menggunakan nama Pasteurella multocida untuk menyebut organisme penyebab Hemorrhagic septicemia.

*Sudana, 1982 dalam bukunya menyatakan, bahwa kejadian pasteurellasis pada unggas di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh Bubesman (1921) pada ayam, kemudian menyusul pada entok dan itik (1952). Selanjutnya berturut-turut isolasi Pasteurella dilakukan oleh Utoyo (1952), pada burung oleh Sri Purnomo(1970) pada ayam oleh Soebronto dkk (1977), Masduki Partadiredja (1979) dan Sri Purnomo (1979) pada itik.

Sedang kejadian pasteurellosis pada ayam di Surabaya tahun 1972 pernah dilaporkan oleh Maes (Sadik dan Soelistyanto, 1979).

1.2. Morfologi dan sifat pewarnaan

Pasteurella multocida adalah bakteri yang berbentuk batang pendek gemuk atau coccoid dengan ukuran lebar antara 0,25 sampai 0,4 mikro meter dan panjang antara 0,6 sampai 2,6 mikro meter. Setelah mengalami penanaman berulang-ulang pada media agar, organisme ini mempunyai kecenderungan berbentuk batang, rantai dan filamen dengan berbagai ukuran panjang. Sifat kuman ini antara lain Gram negatif, non motil, bipoler dan tidak membentuk spora. Organisme ini memiliki kapsul ketika baru diisolasi dari kasus penyakit dan

kapsul tersebut sebagian besar terdiri atas asam hyalurinic (Cowan dan Steel's, 1973; Hagan dan Bruner , 1961; Hofstad dkk, 1984; Merchant dan Packer, 1971).

1.3. Pertumbuhan

Pasteurella multocida tumbuh baik pada suasana aerobik dan anaerobik dengan suhu optimal 37°C. Kuman ini dapat tumbuh optimal pada pH 7,2 sampai 7,4, tetapi masih dapat tumbuh pada kisaran pH 6,2 sampai 9. Pada media cair pertumbuhan maksimal dicapai dalam waktu 16 sampai 24 jam dan pada media cair tampak keruh merata. Pada pupukan yang lebih tua terdapat endapan terutama dari koloni yang bersifat rough dan pada pupukan yang lebih tua lagi terdapat selaput pada permukaan cairan. Pertumbuhan akan lebih baik jika ditambahkan serum darah pada media tersebut (Hagan dan Bruner, 1961; Hofstad dkk, 1984; Merchant dan Packer, 1971). Namun demikian tidak semua serum darah dapat digunakan karena ada serum darah dari beberapa hewan yang menghambat pertumbuhan kuman P. multocida. Penghambatan ini sebagian besar dilakukan oleh serum dari darah kuda, sapi, domba dan kambing. Sedang serum darah dari darah ayam, itik, babi dan kerbau sedikit atau bahkan tidak menghambat sama sekali (Hofstad dkk , 1984).

Media yang cocok dan sering digunakan untuk pemupukan P. multocida adalah tryptose agar

(Anonymous, 1971; Curtis, 1980). Sedang untuk menyuburkan pupukan tersebut dapat ditambahkan darah atau serum darah pada agar tersebut. Pada agar darah P. multocida tidak menyebabkan hemolisis dan pada media Mac-Conkey kuman ini tidak tumbuh (Anonymous, 1971).

1.4. Morfologi koloni

Pada prinsipnya ada tiga bentuk koloni kuman P. multocida yang dapat ditemui pada agar plate. Koloni kuman tersebut antara lain :

1.4.1. Koloni fluorescent

Koloni fluorescent ukurannya sedang dan mempunyai sifat tersendiri, virulen (Hagan dan Bruner, 1961). Koloni bentuknya bulat dengan garis tengah (2 - 3 mm), halus, cembung, translusen mengkilap dan cenderung untuk menyatu. Koloni kuman warnanya agak putih, sel kuman berkapsul. Koloni fluorescent ini diperoleh dari isolasi kasus akut (Merchant dan Packer, 1971).

1.4.2. Koloni biru

Koloni biru mempunyai ukuran kecil dan mempunyai sifat tersendiri. Kuman ini virulensinya rendah terhadap tikus dan dapat bersifat autoaglutinin (Hagan dan Bruner, 1961). Bentuknya bulat dengan garis tengah (1 - 2 mm), halus, cembung atau datar, translusen dan tidak membentuk kelompok.

Sel dari kuman ini tidak membentuk kapsul dan umumnya virulensinya rendah. Koloni kuman ini diperoleh dari kasus kronis. Koloni biru ini disebut juga koloni rough (Merchant dan Packer, 1971).

1.4.3. Koloni intermediate

Koloni intermediate ini bentuk dan sifatnya terletak antara koloni fluorescent dan koloni biru. Koloni intermediate ini disebut juga koloni mucoid (Merchant dan Packer, 1971).

Hedleston, Watko dan Rebers (1964) menyatakan bahwa penanaman berulang-ulang koloni fluorescent sering mengalami disosiasi ke koloni biru dan koloni biru kadang-kadang mengalami disosiasi ke koloni abu-abu, tetapi kedua koloni tersebut umumnya dapat kembali ke koloni fluorescent jika dipasasekan ke kelinci (Anonymous, 1971).

1.5. Sifat biokimiawi

Strain dari spesies ini menunjukkan variasi yang besar dalam memfermentasikan karbohidrat. P. multocida memfermentasikan glukose, galaktose, mannose dan manitol. Hasil yang bervariasi didapat dalam memfermentasikan laktose, xylose, arabinose, dulcitol, sorbitol dan fruktose. Kuman ini tidak memecah rafinose, rhamnose, inositol, salisin dan dextrin. Fermentasi menghasilkan asam tanpa membentuk gas, urease tidak diproduksi dan indol selalu dihasilkan (Merchant dan Packer, 1971).

1.6. Sifat resistensi terhadap bahan kimia dan fisik

P. multocida mudah mati pada suhu 60° C selama 10 menit. Organisme yang infeksiif dan tertinggal dalam karkas yang membusuk dapat bertahan selama 3 bulan. Stok kuman akan cepat mati setelah disimpan dalam refrigerator, tetapi sebagian kultur kuman masih dapat bertahan hidup untuk beberapa bulan sampai tahun jika disimpan dalam temperatur kamar. Sebagian kultur kuman akan turun virulensinya jika ditanam pada media buatan, tetapi umumnya virulensi kuman ini dapat diperbaiki dengan mempasasakan pada hewan percobaan (Merchant dan Packer, 1971). Kultur kuman ini cepat mati oleh sebab itu pemindahan kultur dilakukan dua kali sebulan. Beberapa penulis menduga bahwa organisme ini banyak hidup sapropit, serta hidup normal pada membran mukosa (Hagan dan Bruner, 1961).

Das (1958) menyatakan bahwa darah dari tikus yang terinfeksi organisme ini dan melekat pada cotton swab dapat bertahan selama 118 jam, tetapi mati setelah 166 jam. Lapisan darah yang mengandung kuman ini dapat bertahan setelah 24 jam, tetapi mati setelah 30 jam. Das juga melaporkan bahwa darah yang terinfeksi dan mengecap pada tabung gelas yang terletak pada ruang yang dingin, organisme ini akan tahan hidup selama 221 hari. Skidmore (1932) meneliti bahwa organisme ini tahan hidup pada darah ayam kering

yang menempel pada gelas selama 8 hari, tetapi mati pada hari ketigapuluh pada temperatur kamar. Dimov dalam eksperimennya (1964) meneliti bahwa P. multocida cepat mati pada tanah dengan kelembaban kurang 40 %. Pada kelembaban 50% dan temperatur 20°C kuman ini tahan hidup. Sebuah kultur kuman tahan hidup tanpa mengalami penurunan virulensinya selama 113 hari pada tanah dengan kelembaban 50 % pada temperatur 3°C pada pH 7,15, dikutip dari Hofstad dkk, 1984. Bain (1959) telah menunjukkan bahwa strain type I resisten terhadap hyaluronidase dan sel kuman tidak rusak pada pH 4,5 sampai 9,5 (Soltys, 1963).

Organisme ini peka terhadap antibiotik, tetapi kuman ini juga resisten terhadap beberapa antibiotik seperti streptomisin, basitrasin, neomisin dan viomisin. Preparat sulfa khususnya sulfathiazole, sulfamethazine dan sulfamerazine adalah efektif untuk pengobatan penyakit ini (Merchant dan Packer, 1971).

1.7. Serotype

Para peneliti sejak lama telah berusaha untuk mengklasifikasikan kuman ini. Walau pada kenyataannya kuman ini menunjukkan sifat-sifat yang sama, tetapi ada juga perbedaannya. Berdasarkan perbedaan-perbedaan inilah para ahli berusaha mengelompokkan sifat-sifat yang sama dalam satu grup.

Orang yang pertama-tama berusaha mengelompokkan P. multocida ini dalam beberapa serotype adalah

Rosenbusc dan Merchant (1939). Mereka mengelompokkan P. multocida dalam tiga kelompok yaitu grup I, II, dan III berdasarkan fermentasi dan aglutinasi. Kemudian disusul oleh Little dan Lyon (1943) telah mengelompokkan juga dalam tiga kelompok yaitu grup 1, 2 dan 3. berdasarkan slide aglutinasi test. Roberts (1947) berdasarkan mouse protection test telah mengelompokkan dalam empat kelompok yaitu grup I, II, III, IV dan dilengkapi menjadi lima oleh Hudson (1954) yaitu grup V. Carter (1955) telah membagi P. multocida ini dalam lima kelompok yaitu grup A, B, C, D, dan E berdasarkan hemaglutinasi proteksi (Bain, 1963). Terakhir Namioka dan Bruner (1963) berdasarkan Hemaglutinasi test dan aglutinasi test telah mengelompokkan P. multocida dalam empat serotype yaitu 5:A, 8:A, 9:A dan 2:D yang dihubungkan dengan kolera pada unggas (Hofstad dkk, 1984).

2. Tinjauan Pengaruh pH Terhadap Kuman

2.1. pH

Sorensen (1909) telah mengemukakan bahwa pH adalah sebagai nilai perbandingan logaritmis dari konsentrasi ion hydrogen, dikutip dari Cruickshank, 1975 dan Porter, 1950. Penyebutan pH ini (p) merupakan standart untuk potzen yang berarti kekuatan, adalah merupakan indeks atau logaritmis dan (H) adalah merupakan konsentrasi ion hydrogen. Jadi definisi diatas dapat di-

dinyatakan dalam persamaan berikut.

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]}$$

Nilai pH suatu larutan dapat terganggu keseimbangannya oleh temperatur. Dengan meningkatnya temperatur maka disosiasi ion H^+ akan meningkat sehingga menyebabkan pH turun (Porter, 1950). Untuk itu diperlukan larutan penyangga.

2.2. Larutan penyangga

Larutan penyangga adalah suatu larutan yang tidak hanya penting untuk pengencer mikro organisme dengan sebuah kisaran pH tertentu, tetapi juga penting untuk menjaga kisaran pH yang sama. Larutan pH ini mempunyai kecenderungan untuk mempertahankan perubahan konsentrasi ion hydrogen (Cruickshank, 1975). Larutan penyangga tersebut dibuat dari campuran asam lemah dengan garamnya atau alkali lemah dengan garamnya (Cruickshank, 1975; Giese, 1973).

Larutan penyangga biasanya ditujukan untuk mempertahankan daya hidup, mempertahankan perubahan konsentrasi ion hydrogen dan hanya berefek ringan terhadap pengenceran.

Larutan penyangga adalah larutan yang cocok dan ideal untuk digunakan sebagai bahan biologi karena larutan ini tidak beracun dan tidak mengganggu fisiologi sel, tidak mempengaruhi atau bereaksi dengan organisme hidup (Cruickshank, 1975).

2.3. Pengaruh pH terhadap kuman

Untuk pertumbuhan yang baik kuman memerlukan nutrisi dan lingkungan yang cocok, lebih-lebih lagi untuk ditumbuhkan pada media buatan. Dalam pemupukan pada media buatan pH media tersebut berperan cukup penting untuk pertumbuhan kuman. Karena jika pH tersebut tidak cocok akan menghambat atau bahkan mematikan kuman. Jadi untuk pertumbuhan kuman ini pH memegang peran yang penting. Sedang pH tersebut mempengaruhi kuman melalui beberapa cara.

2.3.1. Pengaruh pH terhadap membran sel

Dalam hal ini yang berperan penting dalam mempengaruhi sel kuman adalah konsentrasi ion hydrogen (H^+) dan konsentrasi ion hidroksil (OH^-). Ion hydrogen secara tidak langsung mempengaruhi permeabilitas dan metabolisme sel (Lamana, 1959).

Pada sel yang berperan mengatur permeabilitas sel adalah membran sel atau disebut juga membran sitoplasma. Kita ketahui bahwa membran sitoplasma pada sel kuman adalah merupakan suatu lapisan yang tipis terletak diantara dinding sel dan protoplasma. Membran ini tersusun dari fosfolipid dan protein yang membentuk suatu model mosaik cairan (Volk dan Wheller, 1988).

Sedang fungsi membran ini adalah sebagai membran yang semipermeabel yang secara selektif

mengontrol masuk keluarnya bahan yang diperlukan dan membuang zat-zat sisa yang tidak diperlukan (Frobisher, 1962; Pelczar dan Reid, 1972; Volk dan Wheller, 1988). Dalam hal ini ion hydrogen dapat mempengaruhi proses bakterial dengan berkompetisi dengan ion nutrisi pada tempat penyerapan sel. Pada konsentrasi ion hydrogen yang cukup tinggi akan dapat menyebabkan hidrolisis (Lamana, 1959).

2.3.2. Pengaruh terhadap enzim

Enzim adalah merupakan suatu katalis hayati, fungsinya untuk mempercepat laju reaksi, sedang enzim itu sendiri tidak ikut campur dalam proses reaksi (Giese, 1973; Pelczar dan Chan, 1986; Volk dan Wheller, 1988). Enzim dalam menjalankan fungsinya diperlukan dalam jumlah sedikit, tetapi keberadaannya sangat diperlukan. Bahkan dikatakan dengan adanya enzim pada suatu reaksi kimia maka reaksi tersebut dapat berlangsung beberapa ribu sampai juta kali lebih cepat dibanding yang tanpa menggunakan enzim (Pelczar dan Chan, 1986; Volk dan Wheller, 1988).

Enzim yang mempunyai kemampuan unik tersebut tersusun atas protein murni atau gabungan antara protein dengan gugus kimia lainnya. Seperti semua protein maka enzim akan terdenaturasi oleh panas, terpresipitasi oleh etanol atau

garam-garam organik yang berkonsentrasi tinggi (Pelczar dan Chan, 1986).

Sedang fungsi enzim itu sendiri antara lain :
(1) Untuk merombak dan mengoksidasi bahan makan untuk menyediakan energi. (2) Menggunakan energi ini untuk sintesis bahan-bahan baru untuk kepentingan sel (Volk dan Wheller, 1988). Sedang target kerja enzim tersebut terletak pada substrat sehingga dengan adanya enzim tersebut laju reaksi dapat dipercepat. Disini enzim tersebut bekerja dengan jalan menurunkan energi aktivasi untuk reaksi tersebut, sehingga dengan diturunkannya energi aktivasi tersebut akan mempercepat laju reaksi (Giese, 1973 ; Pelczar dan Chan, 1986; Volk dan Wheller, 1988).

Enzim adalah suatu katalis hayati yang fungsinya antara lain untuk mempercepat laju reaksi. Untuk mencapai laju optimum suatu reaksi memerlukan suasana yang mendukung. Suasana yang mendukung kerja enzim antara lain pH dan temperatur yang sesuai. Hal ini karena enzim tersusun atas asam amino yang merupakan pusat aktif enzim dan ini harus dalam keadaan ionisasi yang tepat agar menjadi aktif. Dengan meningkatnya temperatur maka aktivitas enzim akan meningkat sampai temperatur maksimum. Aktivitas enzim tersebut akan menurun setelah temperatur maksimum dicapai dan terus menurun bersamaan dengan meningkatnya suhu (Volk dan Wheller, 1988).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

1. Materi

1.1. Isolat kuman

Isolat kuman P. multocida diambil dari stok kuman di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang dipelihara dan dipertahankan kemurniannya di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

1.2. Pengadaan larutan penyangga

Untuk perlakuan terhadap kuman diperlukan larutan penyangga dengan pH 4 sampai pH 10, sedang cara pembuatannya tertera pada lampiran II.

2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian pengaruh pH terhadap daya hidup kuman P. multocida ini dilakukan di Laboratorium bakteriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 7 juli 1988 sampai tanggal 7 september 1988.

3. Metode

Pada penelitian ini menggunakan rancangan split plot dengan meneliti 7 pengaruh pH pada petak utama (pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) dan 3 pengaruh waktu (5, 15 dan 25 menit) serta 4 kali ulangan, kemudian ditanam pada media agar dengan pH netral. Untuk mengetahui perbedaan atas perlakuan dilakukan uji F, hasilnya tidak bermakna jika $P > 0,01$. Untuk mengetahui perbedaan antara pengaruh pada perlakuan dilakukan

Uji Jarak Berganda Duncan (Stell dan Torrie, 1980).

3.1. Pembuktian isolat kuman

Setelah isolat P. multocida diisolasi pada media tryptose agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pemeriksaan laboratoris bakteriologis untuk membuktikan isolat kuman. Pemeriksaan ini meliputi :

3.1.1. Pemeriksaan mikroskopis

3.1.1.1. Pemeriksaan preparat nativ

Pemeriksaan preparat nativ bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan kuman. Caranya koloni kuman diambil dengan ose dari media tryptose agar, diletakkan pada gelas obyek tempat kuman, lalu ditutup dengan gelas penutup. Kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi.

3.1.1.2. Pewarnaan sederhana (methylen biru)

Pewarnaan dengan methylen biru ini bertujuan untuk mengetahui bentuk serta golongan kuman. Caranya koloni kuman diambil dengan ose, lalu dibuat preparat ulas pada gelas obyek, difiksasi diatas nyala api bunsen lalu diwarnai dengan methylen biru selama 1 - 3 menit, cuci dengan air kran, keringkan dengan kertas penghisap. Kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi.

3.1.1.3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui sifat Gram

suatu kuman, apakah kuman tersebut termasuk kuman Gram positif atau Gram negatif. Caranya koloni kuman diambil dengan ose, dibuat preparat ulas pada gelas obyek, difiksasi diatas nyala api bunsen, lalu diwarnai dengan carbol gentian violet selama 2 menit, zat warna dibuang lalu ditetesi dengan lugol selama 1 menit, dilunturkan dengan alkohol aceton dan dicuci dengan air kran, dikeringkan dengan kertas penyerap. Kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi.

3.1.2. Pemupukan kuman

Pemupukan kuman dilakukan pada media tryptose agar, media tryptose agar darah dan media Mac-Conkey agar. Dengan menggunakan ose koloni kuman diambil kemudian dipupukkan pada cawan petri yang berisi media agar dengan cara digores, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

3.1.3. Uji biokimiawi

3.1.3.1. Pemupukan pada Tryple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pemupukan pada media TSIA ini bertujuan untuk melihat ada tidaknya pembentukan H_2S dan ada tidaknya pembentukan gas sebagai hasil fermentasi karbohidrat. Caranya dengan menggunakan nedle, koloni kuman diambil lalu dipupukkan dengan cara digores pada permukaan miring dan tusukan pada daerah dibawahnya sampai ke dasar tabung. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

3.1.3.2. Uji pada media semi solid agar

Uji pada media semi solid agar ini bertujuan untuk mengetahui pergerakan kuman dan pembentukan indol. Dengan menggunakan nedle koloni kuman diambil lalu dipupukkan pada media semi solid agar dengan cara ditusukkan pada media tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu ditest dengan ditetesi 3 - 5 tetes khloroform dikocok dan dibiarkan selama 15 menit lalu ditetesi dengan reagen kovact.

3.1.3.3. Uji katalase

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kuman dalam memproduksi katalase yang ditandai dengan pelepasan gelembung setelah dicampur dengan H_2O_2 3 %. Caranya dengan menggunakan ose koloni kuman diambil dan ditaruh pada gelas obyek, lalu di atasnya ditetesi H_2O_2 3 % sebanyak 3 tetes dan keduanya dicampur.

3.1.3.4. Uji gula-gula

Uji gula-gula ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kuman dalam memfermentasikan gula-gula. Uji gula gula ini terdiri dari glukose, galaktose, laktose, mannose dan manitol. Caranya koloni kuman diambil dengan menggunakan ose lalu dimasukkan kedalam tabung gula-gula. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Cottral, 1978; Jang, 1978).

3.1.3.5. Uji biologis

Caranya koloni kuman diambil dengan menggunakan ose

dari media agar plate dan dipupukkan pada media cair (nutrien broth) lalu diinkubasi pada 37°C selama 18 - 24 jam. Setelah itu dilihat hasilnya jika pada media itu menjadi keruh berarti ada pertumbuhan kuman. Dari suspensi kuman ini diambil 0,2 ml, lalu diinjeksikan pada mencit intraperitoneal. Diharapkan setelah 24 - 48 jam mencit tersebut mati. Mencit tersebut diseksi dan diambil darahnya dari jantung untuk diisolasi dan diidentifikasi terhadap adanya kuman P. multocida.

3.2. Penyediaan larutan penyangga

Untuk menyiapkan larutan penyangga dilakukan seperti-cara terlampir. Dari larutan ini diambil sebanyak 25 ml kemudian disterilkan, setelah itu dibiarkan sampai dingin, lalu diukur pH nya dengan pH meter. Diambil lagi larutan penyangga sebanyak 15 ml kemudian ditambahkan NaCl fisiologis sebanyak 15 ml lalu disterilkan. Setelah itu dibiarkan dingin kemudian diukur pH nya dengan pH meter. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan sebelum dan sesudah penambahan NaCl fisiologis.

3.3. Pemupukan pada media cair

Kuman ini diambil dari isolat yang telah dibuktikan terhadap P. multocida pada agar miring tryptose, kemudian dipindahkan dengan jalan ditambahkan sedikit media cair kemudian digoyang-goyangkan supaya koloni

kuman larut bersama media cair. Suspensi kuman ini dipindahkan ke tabung atau botol media cair yang telah disiapkan sebelumnya. Kemudian dikubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam.

3.4. Penghitungan jumlah kuman

Penghitungan jumlah kuman ini menggunakan metode Koch. Pada penghitungan jumlah kuman ini yang perlu disiapkan antara lain 10 tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis (0,9 %) steril masing-masing sebanyak 4,5 ml dan cawan petri steril sebanyak 10 buah. Kemudian diambil suspensi kuman dari stok kuman sebanyak 0,5 ml dimasukkan tabung I, dicampur sampai homogen maka pada tabung I ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Dari tabung I tersebut diambil 0,5 ml dimasukkan ke tabung II dicampur sampai homogen, kemudian diambil 0,5 ml dimasukkan ke tabung III, maka tabung ke II dan III merupakan pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} . Kemudian dibuat pengenceran lagi secara seri sampai pengenceran 10^{-10} . Langkah selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} diambil 0,1 ml dimasukkan dalam cawan petri I, lalu dituangi tryptose agar cair yang telah disiapkan sebelumnya dengan panas $40 - 45^{\circ}\text{C}$ sebanyak 10 - 15 ml. Kemudian digoyang-goyangkan supaya kuman bercampur dengan agar, setelah itu dibiarkan agar tersebut dingin dan membeku. Selanjutnya dilakukan pekerjaan yang sama pada pengenceran selanjutnya

sampai pengenceran 10^{-10} . Setelah itu cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Langkah selanjutnya adalah penghitungan jumlah koloni kuman yang tumbuh pada agar plate dengan menggunakan penghitung koloni kuman (Coloni Counter). Sisa kuman pada stok disimpan pada lemari es.

3.5. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan kuman

Stok kuman yang telah dihitung jumlah permilimeternya diambil 0,5 ml. Suspensi kuman ini diencerkan dengan NaCl fisiologis sampai pengenceran 10^{-6} (Beisher, 1983). Kemudian diambil pengenceran 10^{-6} sebanyak 1 ml dimasukkan botol yang telah disiapkan sebelumnya. Botol tersebut berisi 1 ml larutan pH yang telah disterilkan. Kemudian dicampur sampai homogen tunggu 5 menit lalu diambil 0,1 ml lalu dimasukkan ke cawan petri yang telah disiapkan sebelumnya. Kemudian pada cawan petri tersebut ditambahkan tryptose agar cair dengan panas $40 - 45^{\circ}\text{C}$ sebanyak 10 - 15 ml, lalu digoyang-goyangkan cawan tersebut biar kuman tersebut tercampur rata dengan agar. Dilakukan hal serupa pada menit ke 15 dan 25, demikian juga pada pH lain. Dibiarkan supaya agar tersebut dingin dan membeku lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Setelah itu dihitung jumlah kuman yang tumbuh dengan menggunakan penghitung koloni kuman.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

1. Hasil Pembuktian Kuman

Pada pemeriksaan mikroskopis kuman ini berbentuk batang pendek, bipoler, non motil dan termasuk Gram negatif. Pemupukan pada TSIA kuman ini membentuk asam, asam tanpa membentuk H_2S dan gas. Pemupukan pada media semi solid setelah dites dengan reagen kovac didapatkan hasil positif dengan terbentuk cincin warna merah-ungu. Pada uji katalase didapatkan hasil positif dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara. Pada uji gula-gula hasil positif terjadi dengan terbentuknya asam. Hasil ini didapat pada uji glukose, galaktose, mannose, manitol dan sukrose. Sedang hasil negatif didapat pada uji laktose. Pemupukan pada media tryptose agar koloni tumbuh dengan permukaan cembung, halus, warnanya jernih agak kebiruan. Pemupukan pada media tryptose agar darah koloni kuman tumbuh subur dengan permukaan rata, halus, warnanya jernih dan tidak menyebabkan hemolisis. Pada media Mac-Conkey kuman ini tidak tumbuh. Pada uji biologis setelah 48 jam mencit mati dan setelah diisolasi dan diidentifikasi kuman dari darah jantung didapatkan kuman yang serupa dengan kuman yang diinjeksikan pada mencit tersebut.

2. Jumlah stok kuman setelah dihitung dengan menggunakan metode Koch didapatkan jumlah kuman $2,57 \times 10^9$ kuman tiap ml.

3. Hasil yang diperoleh dari penghitungan jumlah koloni kuman pada media agar plate dalam berbagai perlakuan pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH disajikan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 1. Jumlah koloni kuman yang bertahan hidup karena pengaruh berbagai perlakuan pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH serta hasil Uji Jarak Berganda Duncan.

pH	Waktu (menit)			Rata-rata
	5	15	25	
4	0	0	0	0 e**
5	76	0	0	6,33e**
6	801	645	518	163,66 ^{bc} **
7	921	845	786	212,66 ^a **
8	837	711	568	176,33 ^b **
9	783	609	456	154 ^c **
10	376	154	84	51,16 ^d **
Rata-rata	135,50 ^a *	105,86 ^b *	86,14 ^c *	

Keterangan : * Superskrip pada huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

** Superskrip pada huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Dari hasil yang ditunjukkan tabel 1 tampak bahwa pada pH 4 semua kuman mati dalam berbagai perlakuan waktu. Pada pH 5 kuman masih hidup pada menit ke 5,

tetapi setelah waktu diperpanjang menjadi 15 dan 25 menit semuanya mati. Pada perlakuan terhadap larutan dengan pH lainnya menunjukkan bahwa kuman tersebut masih bertahan hidup. Pada pH 7 menunjukkan jumlah kuman yang bertahan hidup paling banyak dan bertindak sebagai kontrol. Kemudian menyusul banyaknya jumlah kuman yang bertahan hidup sesuai dengan banyaknya adalah pada pH 8, 6, 9 dan 10.

Hasil Analisa Sidik Ragam menunjukkan bahwa perlakuan terhadap derajat pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan ber-pH berpengaruh sangat nyata. Hasil Analisis Sidik Ragam lainnya menunjukkan bahwa interaksi antara kuman dengan pH larutan juga berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$).

3.1. Pengaruh pH

Hasil Uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa pH 7 (212,66 koloni) berbeda sangat nyata dengan hasil yang dicapai pH 8 (176,33 koloni). Jumlah kuman yang tumbuh pada pH 6 (163,66 koloni) tidak berbeda nyata dengan hasil yang dicapai pH 8 dan 9 (154 koloni). Hasil yang dicapai pH 9 berbeda sangat nyata dengan hasil yang dicapai pH 10 (51,16 koloni). Pada pH 4 (0) ternyata semua kuman tidak didapati hidup. dan hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan hasil yang dicapai pH 5 (6,33 koloni). Hasil pH 4 dan 5 tersebut berbeda sangat nyata dengan hasil pH 10.

3.2. Pengaruh waktu

Hasil Uji Jarak Berganda Duncan terhadap pengaruh waktu kontak menunjukkan lamanya waktu kontak 5 menit (135,50 koloni) berbeda sangat nyata dengan hasil yang dicapai waktu kontak 15 menit (105,86 koloni). Jumlah kuman yang tumbuh pada waktu kontak 15 menit berbeda sangat nyata dengan jumlah kuman yang tumbuh pada waktu kontak 25 menit (86,14 koloni).

3.3. Pengaruh interaksi

Hasil Uji Jarak Berganda Duncan interaksi pH dan lamanya waktu kontak sebagai berikut. Pada interaksi perlakuan pH 5 selama 15, 25 menit dan pH 4 dengan lamanya waktu kontak 5, 15 dan 25 menit tidak menunjukkan adanya pertumbuhan kuman. Pada interaksi perlakuan pH 5 selama 5 menit ada sejumlah kuman yang tumbuh (19 koloni) dan hasil ini berbeda sangat nyata dengan hasil pada pH 10 selama 25 menit (21 koloni). Hasil interaksi perlakuan pH 10 selama 15 menit (38,50 koloni) berbeda sangat nyata dengan hasil pH 10 selama 25 menit, juga berbeda sangat nyata dengan pH 10 selama 5 menit (94 koloni).

Pada interaksi perlakuan ini hasil tertinggi pada pH 7 selama 5 menit (230,25 koloni) hasil ini berbeda sangat nyata dengan hasil interaksi pH 7 selama 15 menit (211,25 koloni). Hasil interaksi pH 8 selama 5 menit (209,25 koloni) tidak berbeda nyata

dengan hasil pH 7 selama 15 menit dan pH 6 selama 5 menit (200,25 koloni), tetapi hasil pH 6 selama 5 menit berbeda sangat nyata dengan hasil interaksi pH 7 selama 15 menit. Hasil interaksi pH 7 selama 25 menit (196,25 koloni) tidak berbeda nyata dengan hasil interaksi pH 6 selama 5 menit dan pH 9 selama 5 menit Tetapi hasil interaksi pH 7 selama 25 menit berbeda sangat nyata dengan hasil interaksi pH 8 selama 5 menit.

BAB V

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian tentang pengaruh pH terhadap daya hidup kuman P. multocida maka dapat disajikan pembahasan sebagai berikut :

1. Pembuktian isolat kuman P. multocida

Pada pembuktian kuman P. multocida berdasarkan sifat yang ditunjukkan antara lain kuman ini berbentuk batang pendek, bipoler, non motil, Gram negatif dan sifat biokimiawi yang ditunjukkan antara lain memfermentasi glukose, galaktose, mannose dan manitol serta tidak memfermentasikan laktose. Hasil yang diperoleh tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Merchant dan Packer (1971). Sifat lain pada pembuktian kuman ini adalah koloni kuman ini jernih kebiruan, pada agar darah tidak menyebabkan hemolisis dan pada media Mac Conkey tidak tumbuh. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Hagan dan Bruner (1961) dan Anonymous (1971).

2. Pengaruh pH

Pada perlakuan dengan pH 4 setelah ditumbuhkan pada agar tidak didapati adanya pertumbuhan kuman. Sedangkan pada pH 5 setelah ditumbuhkan pada agar didapati kuman yang tumbuh rata-rata 6,33 koloni, tetapi kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata. Pada perlakuan pH 10 jumlah kuman yang tumbuh rata-rata 51,16 koloni. Jumlah tersebut berbeda sangat nyata dengan kuman pada pH 9 (154 koloni).

Pada pH 6 jumlah kuman yang tumbuh rata-rata 163,66 koloni. Hasil ini tidak berbeda nyata jika dibanding kuman yang tumbuh pada pH 9 dan pH 8 (176, 33 koloni), tetapi jumlah kuman yang tumbuh pada pH 8 berbeda sangat nyata dengan jumlah kuman yang tumbuh pada pH 9. Jumlah kuman yang tumbuh pada pH 7 (212,66 koloni) dan jumlah tersebut berbeda sangat nyata dengan hasil yang dicapai pada pH 8 ($P < 0,01$).

Dari hasil diatas tampak bahwa pada pH 7 kuman ini cocok dengan pH tersebut sehingga pada pH tersebut jumlah kuman yang tumbuh paling banyak dan jumlah kuman ini menurun pada pH 8, 6, 9 dan seterusnya. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Hofstad dkk (1984) dan Merchant dan Packer (1971)) bahwa kuman P. multocida tumbuh subur pada pH 6,2 sampai 9. Sedang pada pH 10 masih lebih banyak didapati pertumbuhannya dibanding pada pH 5. Dari hasil diatas tampak bahwa kuman P. multocida paling banyak tumbuh pada perlakuan pH 7. Kemudian menurun jumlahnya bersamaan dengan meningkatnya derajat keasaman dan kebasaan.

3. Pengaruh Waktu

Waktu kontak antara kuman dengan larutan ber-pH selama 5 menit yang dalam penelitian ini merupakan waktu terendah dan jumlah kuman yang bertahan hidup rata-rata 135,50 koloni. Kemudian menyusul perlakuan waktu 15 menit dengan jumlah kuman yang tumbuh

rata-rata 105,86 koloni dan waktu terpanjang pada penelitian ini yaitu 25 menit dengan jumlah kuman yang bertahan hidup rata-rata 86,14 koloni. Dari ketiga perlakuan tersebut tampak hasil yang diperoleh pada perlakuan 5 menit berbeda sangat nyata dengan perlakuan 15 menit dan waktu kontak 15 menit berbeda sangat nyata dengan perlakuan 25 menit ($P < 0,01$). Pengaruh waktu pada perlakuan ini tampak semakin lama waktu kontak antara kuman dengan larutan ber-pH akan menyebabkan jumlah kuman yang bertahan hidup makin sedikit. Hal ini dapat dijelaskan jika pada awal kontak jumlah kuman untuk perlakuan sama, diperlakukan pada larutan dengan pH yang sama (misalnya pada pH 4) maka lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan ber-pH tersebut akan mempengaruhi daya hidup kuman. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1988).

4. Pengaruh Interaksi

Hasil yang dicapai pada interaksi perlakuan antara derajat pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan dengan pH tertentu sebagai berikut. Pada pH 4 dengan lamanya waktu kontak 5, 15 dan 25 menit dan pH 5 dengan lamanya waktu kontak 15 dan 25 menit semuanya menekan pertumbuhan kuman sehingga pada interaksi perlakuan tersebut tidak dijumpai adanya kuman yang tumbuh. Pada interaksi perlakuan pH 5 selama 5 menit ada sejumlah kuman dengan jumlah rata-rata 19 koloni

dan hasil ini berbeda sangat nyata dengan perlakuan pH 5 dengan lama kontak lebih panjang, tetapi jumlah kuman yang bertahan hidup pada pH 5 selama 5 menit tersebut tidak berbeda nyata dengan hasil yang dicapai pada interaksi perlakuan pH 10 selama 25 menit (21 koloni).

Hasil tertinggi pada interaksi perlakuan ini dicapai pada interaksi perlakuan pH 7 selama 5 menit (230,25 koloni). Kemudian dengan meningkatnya derajat keasaman, kebasaan dan meningkatnya waktu kontak antara kuman dengan pH menyebabkan turunnya jumlah kuman yang tumbuh. Sehingga kuman yang tumbuh pada pH 7 selama 15 menit (211,25 koloni) dan hasil ini berbeda sangat nyata dengan hasil pada pH 7 selama 5 menit, tetapi hasil ini tidak berbeda nyata dengan hasil pada pH 8 selama 5 menit (209,25 koloni). Jumlah kuman yang tumbuh pada pH 8 selama 5 menit tidak berbeda nyata dengan hasil yang dicapai pada pH 6 selama 5 menit (200,25 koloni) ($P < 0,01$).

Dari hasil diatas tampak bahwa pada suasana asam kuman ini kurang tahan sehingga pada pH 4 kuman ini mati semua dalam berbagai perlakuan waktu dan pada pH 5 kuman ini masih ada yang tumbuh, tetapi setelah waktu kontak diperpanjang 15 dan 25 menit tidak dijumpai adanya kuman yang tumbuh. Demikian pada suasana basa pada pH 10 dengan lamanya kontak 5 menit masih banyak kuman yang tumbuh, tetapi dengan meningkatnya waktu kontak

antara kuman dengan larutan pH 10 mengakibatkan jumlah kuman yang tumbuh makin sedikit. Sedang pada interaksi perlakuan pH 7 dengan lamanya waktu kontak 5 menit memberikan hasil terbanyak dan jumlah ini menurun bersamaan dengan meningkatnya waktu kontak. Bersamaan meningkatnya derajat keasaman dan kebasaan maka akan menyebabkan turunnya jumlah kuman yang tumbuh. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Merchant dan Packer (1971).

BAB VI

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian pengaruh derajat pH terhadap daya hidup kuman P. multocida maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. pH lingkungan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan kuman.
2. Makin asam atau makin basa maka akan menekan daya hidup kuman.
3. Lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan dengan pH tertentu dapat meningkatkan jumlah kematian kuman .
4. Interaksi pH dengan lamanya waktu kontak berpengaruh terhadap daya hidup kuman.
5. Kuman P. multocida akan lebih mudah mati pada suasa asam dibanding suasana basa.

Saran-saran

1. Perlu kiranya dilakukan penelitian serupa dengan jarak pH lebih pendek.
2. Larutan penyangga dengan pH 7 dapat digunakan sebagai pengencer kuman dengan memberikan harapan hidup yang baik dengan waktu yang pendek.
3. Perlu dicarikan larutan pengencer yang paling baik sehingga tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan kuman.

BAB VII

R I N G K A S A N

Pasteurellosis adalah suatu penyakit bakterial yang disebabkan oleh kuman Pasteurella multocida. Kuman ini dalam pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh lingkungan lebih-lebih lagi jika ditumbuhkan pada media buatan, maka kuman tersebut akan memerlukan media yang cocok. Selain itu juga memerlukan pH, suhu dan waktu inkubasi yang sesuai.

Pasteurellosis adalah penyakit yang disebabkan oleh P. multocida. Kuman ini dapat menyerang hewan piaraan seperti sapi, kerbau dan unggas. Untuk menanggulangi penyakit ini dapat dilakukan vaksinasi untuk pencegahan, ataupun kalau hewan sudah menunjukkan gejala sakit dapat dilakukan pengobatan dengan antibiotik atau preparat sulfa. Kalau penyakit sudah menyerang suatu peternakan dan kuman sudah mencemari peralatan dan kandang dapat dilakukan pembersihan terhadap peternakan tersebut dengan menggunakan desinfektan ataupun bahan-bahan kimia lainnya.

Karena kuman P. multocida dalam pertumbuhannya dipengaruhi oleh pH lingkungan maka penulis melakukan penelitian tentang pengaruh pH terhadap daya hidup kuman P. multocida galur lokal. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian split-plot dengan meneliti 7 pengaruh pH (pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) pada petak utama,

3 pengaruh waktu (5, 15 dan 25 menit) pada anak petak serta 4 kali ulangan. Untuk mengetahui adanya perbedaan atas perlakuan dilakukan uji F, hasilnya tidak bermakna jika $P > 0,01$. Untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan (Stell dan Torrie, 1980).

Penelitian ini dilakukan dengan jalan mengontakkan kuman P. multocida dengan larutan pH tertentu dan lamanya waktu kontak 5, 15 dan 25 menit. Kemudian setelah dikontakkan kuman tersebut ditanam pada media agar lalu diinkubasi pada 37°C selama 24 sampai 48 jam.

Dari penelitian ini didapatkan hasil sebagai berikut. Pada pH 4 kuman mati semua, pH 5 (6,33 koloni), pH 6 (163,66 koloni), pH 7 (212,66 koloni), pH 8 (176,33 koloni), pH 9 (154 koloni) dan pH 10 (51,66 koloni).

Setelah dilakukan Uji F ternyata pH, waktu kontak dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap daya hidup kuman P. multocida. Setelah dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan diperoleh hasil sebagai berikut. Pada perlakuan pH didapatkan pH 7 merupakan pH terbaik kemudian pH 8, 6 dan seterusnya, sedang pH 4 dan 5 paling jelek. Pada perlakuan waktu didapatkan waktu 5 menit paling baik kemudian menyusul waktu kontak 15 dan 25 menit. Pada interaksi perlakuan didapatkan hasil pH 7 selama 5 menit merupakan waktu terbaik kemudian menyusul pH 7 selama 15 menit dan waktu yang banyak menyebabkan kematian kuman pH 4 selama 5, 15, 25 menit serta pH 5 selama 15 dan 25 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1982. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I. Dirjen Peternakan. Departemen Pertanian Jakarta. Hal 34 - 44.
- Anonymous, 1982. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid IV. Dirjen Peternakan. Departemen Pertanian Jakarta. Hal 75 - 79.
- Anonymous, 1974. Farmakope Indonesia. Cetakan ke I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta. Hal 1051 - 1072.
- Anonymous, 1971. Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Quantifying Avian Pathogens, National Academy of Sciences Washington. Hal 167 - 173.
- Bain. R.V.S, 1963. Hemorrhagic Septicemia. Food and Agricultural of the United Nation. Rome. Hal 30 - 41.
- Beisher. L. 1983. Microbiology in Practice. 3th ed. Harper & Row Publisher. New York. Hal 69 - 72.
- Cottral. G.E. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Mikrobiology. 1st ed. Comstock Publishing Associates a Division of Cornell University Press. Ithaca and London. Hal 413 - 415.
- Cowan. S.T. dan Steel's, 1975. Manual for the Identification of Medical Bacteriology. 2nd ed. Cambridge University Press. Hal 94 - 97.
- Cruickshank. R.J.P.D; B.P. Marnion; R.H.A. Swain, 1975. Medical Microbiology. Vol I. 12th ed. Churchill Livingstone. Hal 82 - 95.
- Frobisher. M; 1962. Fundamental of Microbiology. 7th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Hal 150 - 167.

- Giese. A.C, 1973. Cell Physiology. 4th ed. W.B. Saunders Company. Hal 195 - 212.
- Hagan. W.A. dan D.W. Bruner, 1961. The Infektious Disease of Domestic Animal. 4th ed. Bailliere, Tindall and Cox. London. Hal 237 - 247.
- Hofstad. M.S; H. John Barnes; B.W. Calnek; W.M. Reid; ✓
H.W. Yoder, 1984. Disease of Poultry. 8th ed. Iowa State University Press. Ames Iowa. Hal 141 - 155.
- Jang. S.SE. L. Biberstein dan D.C. Hirsh, 1978. A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mikology. Revised Edition. Hal 75 - 86.
- Lamana. C; M.F. Mallete, 1959. Basic Bacteriology and Its Biological and Chemical Background. 2nd ed. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. Hal 180 - 235.
- Merchant. I.A. dan R.A. Packer, 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. The Iowa State University Press Ames. Iowa. U.S.A. Hal 335 - 351.
- Pelczar. M.J. dan E.C.S. Chan, 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid I. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo; Teja Imas.S; Sutarmi Tjitrosomo; Sri Lestari Angka. U.I. Press. Jakarta. Hal 317 - 341.
- Pelczar. M.J. dan E.C.S. Chan, 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 2. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo; Teja Imas.s; Sutarmi Tjitrosomo; Sri Lestari Angka. U.I. Prees. Jakarta. Hal 447 - 460.
- Pelczar. M.J. dan Roger. D. Reid, 1972. Microbiology. 3thed Mc-Graw Hill Book Company. Hal 79 - 106.
- Porter. J.G, 1950. Bacterial Chemistry and Physiology. 5th ed. John Wiley & Son Inc. Hal 64 - 89.

- Sadik. A dan Soelistyanto, 1979. Penggunaan Vaksin Kolera Ayam Bentuk Oil Adjuvant dan Suspensi. Bulletin Vetma. No: 1, th I. Hal 21 - 28.
- Salle. A.J, 1961. Fundamental Principles of Bacteriology. 5th ed. Mc-Graw Hill Book Company Ink. Hal 232 - 263.
- Siegmund. O.H, 1979. The Merk Veterinary Manual. A Hand Book of Diagnosis and Therapy for the Veterinarian. 5th ed. Published by Merk & Co Ink. Rahway, N Y. U.S.A. Hal 1069 - 1079.
- Soltys. M.A, 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animal. 1st ed. Balliere Tindall & Cox Ltd London. Hal 274 - 263.
- Steel. R.G.D. dan James H Torrie, 1980. Principles and Procedures of Statistics. 2nd ed. Mc-Graw Hill Book Co. New York. U.S.A. Hal 377 - 400.
- Sudana. I.G, 1982. Laporan Tahunan Hasil Penyidikan Penyakit Hewan di Indonesia Periode Tahun 1976-1981. Direktorat Kesehatan Hewan, Dirjen Peternakan, Departemen Pertanian. Jakarta. Hal 162 - 166.
- Volk. W.A. dan M.F. Wheller, 1988. Mikrobiologi Dasar. edisi 5. Penterjemah Markham. Penerbit Erlangga Jakarta. Hal 42 - 79.

Lampiran I. Pengolahan data

Hasil yang diperoleh dari penghitungan jumlah koloni kuman P. multocida pada media agar plate dalam berbagai perlakuan pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH.

pH	Waktu	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4		
4	5'	0	0	0	0	0	0
	15'	0	0	0	0	0	0
	25'	0	0	0	0	0	0
	Jumlah	0	0	0	0	0	0
5	5'	15	1	12	48	76	6,33
	15'	0	0	0	0	0	0
	25'	0	0	0	0	0	0
	Jumlah	15	1	12	48	76	6,33
6	5'	187	206	201	207	801	200,25
	15'	151	163	160	171	645	161,25
	25'	118	132	129	139	518	129,25
	Jumlah	456	501	490	517	1964	163,66
7	5'	219	231	221	250	921	230,25
	15'	206	215	206	218	845	211,25
	25'	183	201	197	205	786	196,25
	Jumlah	608	647	624	673	2552	212,66
8	5'	197	211	210	219	837	209,25
	15'	167	179	176	189	711	177,25
	25'	127	145	142	154	568	142
	Jumlah	491	535	528	562	2116	176,33
9	5'	183	197	201	202	783	195,75
	15'	139	151	156	163	609	152,25
	25'	97	114	118	127	456	123
	Jumlah	419	462	475	492	1848	154
10	5'	97	111	81	87	376	94
	15'	43	47	29	35	154	38,5
	25'	21	25	20	19	84	21
	Jumlah	161	183	130	140	614	51,66
Jumlah		2150	2329	2259	2432	9170	
Rata - rata		102,38	110,90	107,57	115,81		

Jumlah kuman P. multocida yang bertahan hidup karena pengaruh berbagai perlakuan pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH.

pH	Waktu (menit)			Jumlah	Rata-rata
	5	15	25		
4	0	0	0	0	0
5	76	0	0	76	6,33
6	801	645	518	1964	163,66
7	921	845	786	2552	212,66
8	837	711	568	2116	176,33
9	783	609	456	1848	154
10	376	154	84	614	51,16
Jumlah	3794	2964	2412	9170	
Rata-rata	135,50	105,86	86,14		

$$FKK = \frac{9170^2}{84}$$

$$= 1001058,3$$

$$JK_{pH} = \frac{0^2 + 0^2 + \dots + 84^2}{12} - FK$$

$$= \frac{18645332}{12} - 1001058,3 = 552749,37$$

$$JK_P = \frac{0^2 + 0^2 + \dots + 84^2}{4} - FK$$

$$= \frac{6404556}{4} - 1001058,3 = 600080,7$$

$$JK_W = \frac{3794^2 + 2964^2 + 2412^2}{28} - FK$$

$$= 34565,84$$

$$\begin{aligned} \text{JKT}_1 &= \frac{0^2 + 0^2 + 15^2 + \dots + 140^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{4674116}{3} - 1001058,3 = 556980,37 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKS}_1 &= 556980,37 - 552719,37 \\ &= 4261 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT}_2 &= 0^2 + 0^2 + \dots + 18^2 - \text{FK} \\ &= 1606672 - 1001058,3 \\ &= 605613,7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKI} &= 600080,7 - 552719,37 - 34565,84 \\ &= 12795,49 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKS}_2 &= 605613,7 - 34565,84 - 12795,49 - 556980,37 \\ &= 1272 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam pengaruh pH dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan pH larutan penyangga terhadap daya hidup kuman P. multocida.

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kwadrat	Kwadrat tengah	F hitung	F tabel 1 %
pH	6	552719,37	92119,89	454,02**	3,81
Sisa	21	4261	202,90	.	
Total 1	27	556980,37			
Anak petak					
Waktu	2	34565,84	17282,92	570,58**	5,15
Interaksi	12	12795,49	1066,29	35,19**	2,64
Sisa 2	42	1272	30,29		
Total	83	605613,70			

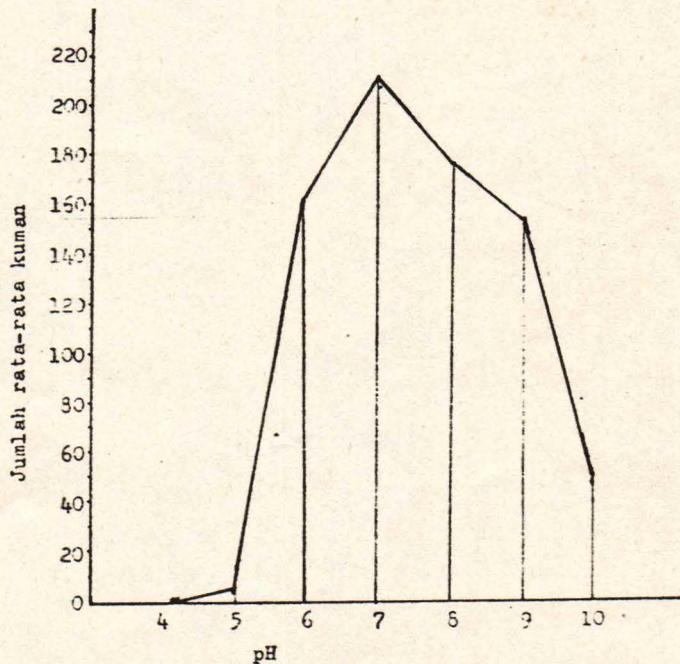
Keterangan : **) berarti berbeda sangat nyata

Uji Jarak Berganda Duncan pengaruh pH terhadap daya hidup kuman P. multocida.

Perlakuan (pH)	Rata-rata	Perlakuan (pH)							SSR 1 %	LSR 1 %	Notasi
		7	8	6	9	10	5	4			
7	212,66	-	36,33*	49**	58,66*	161,50*	206,33*	212,66*	4,29	30,54	a
8	176,33		-	12,67	22,33	125,17*	170**	176,33*	4,23	30,12	b
6	163,66			-	9,66	112,50*	157,33*	163,66*	4,16	29,62	bc
9	154				-	102,84*	147,67*	154**	4,09	29,12	c
10	51,16					-	44,83*	51,16*	3,98	28,38	d
5	6,33						-	6,33	3,81	27,33	e
4	0							-			e

$$Sx = \sqrt{\frac{202,90}{4}}$$

$$= 7,12$$



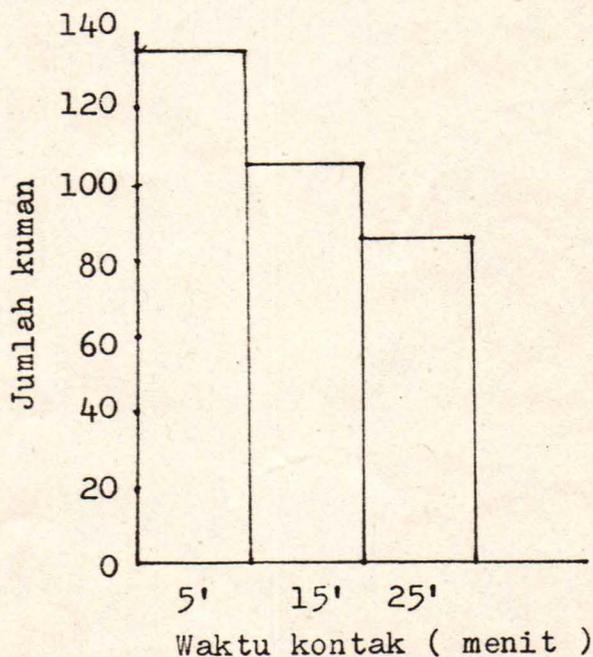
Gambar 1. Diagram garis pengaruh pH terhadap daya hidup kuman P. multocida.

Uji Jarak Berganda Duncan pengaruh lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan penyangga terhadap daya hidup kuman P. multocida.

Waktu	Rata-rata	Waktu (menit)			SSR 1%	LSR 1%	Notasi
		135,50	105,86	86,14			
5'	135,50	-	29,64**	49,86**	3,98	10,94	a
15'	105,86		-	19,72**	3,81	10,31	b
25'	86,14			-			c

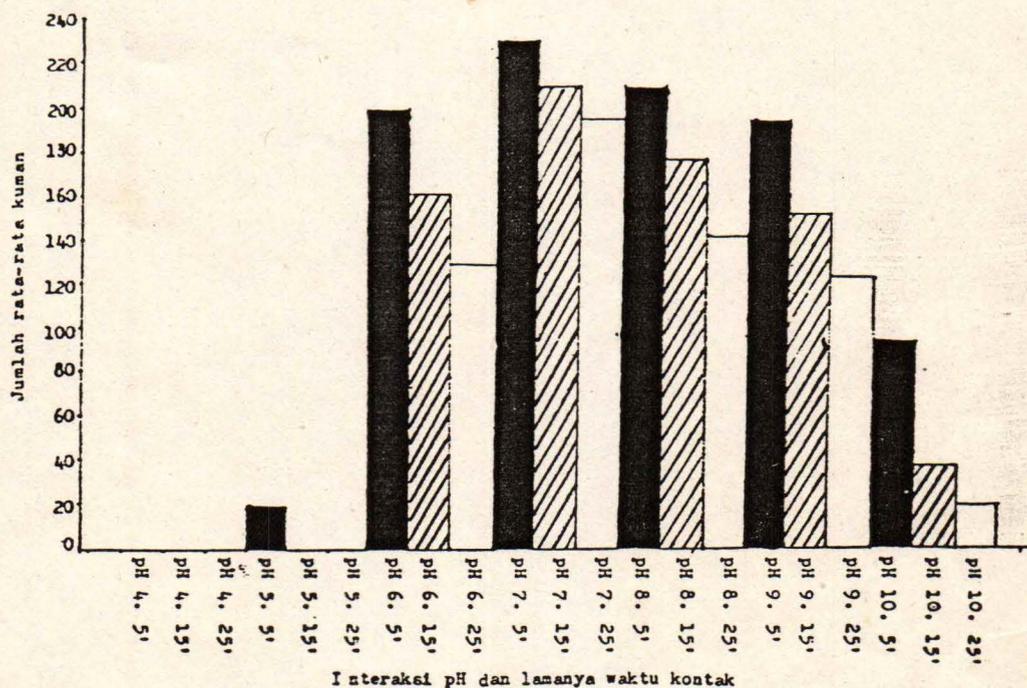
$$S_x = \sqrt{\frac{30,29}{4}}$$

$$= 2,75$$



Gambar 2. Diagram batang pengaruh lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan pH terhadap daya hidup kuman P. multocida.

Gambar 3. Diagram batang pengaruh interaksi antara pH dan lamanya waktu kontak terhadap daya hidup kuman P. multocida.



Keterangan :

- Lamanya waktu kontak 5 menit.
- Lamanya waktu kontak 15 menit.
- Lamanya waktu kontak 25 menit.

Perlakuan (pH, waktu)	Rata-rata	Perlakuan (pH dan waktu dalam menit)																				P	SSR 1 %	LSR 1 %	Notasi			
		7. 5'	7. 15'	8. 5'	6. 5'	7. 25'	9. 5'	8. 15'	6. 15'	9. 15'	8. 25'	6. 25'	9. 25'	10. 5'	10. 15'	10. 25'	5. 15'	5. 5'	5. 25'	4. 5'	4. 15'					4. 25'		
pH 7. 5'	230,25	-	19**	21**	30**	33,75*	34,50*	52,50*	69**	78**	88,25*	101**	107,25*	136,25*	191,75*	209,25*	211,25*	230,25*	230,25*	230,25*	230,25*	21	4,60	12,65	a			
pH 7. 15'	211,25	-	-	2	11	14,75*	15,50*	33,50*	50**	59**	69,25*	82**	88,25*	117,25*	172,75*	190,25*	192,25*	211,25*	211,25*	211,25*	211,25*	20	4,58	12,59	b			
pH 8. 5'	209,25	-	-	-	9	12,75*	13,50*	31,50*	48**	57**	67,25*	80**	86,25*	115,25*	170,75*	188,25*	190,25*	209,25*	209,25*	209,25*	209,25*	19	4,57	12,57	bc			
pH 6. 5'	200,25	-	-	-	-	3,75	4,50*	22,50*	39**	48**	58,25*	71**	77,25*	106,25*	161,75*	179,25*	181,25*	200,25*	200,25*	200,25*	200,25*	18	4,56	12,54	c			
pH 7. 25'	196,50	-	-	-	-	-	0,75	18,75*	35,25*	44,25*	54,50*	67,25*	73,50*	102,50*	158**	175,50*	177,50*	196,50*	196,50*	196,50*	196,50*	17	4,55	12,51	cd			
pH 9. 5'	195,75	-	-	-	-	-	-	18**	34,50*	43,50*	53,75*	66,50*	72,75*	101,75*	157,25*	174,75*	176,50*	195,50*	195,50*	195,50*	195,50*	16	4,53	12,46	d			
pH 8. 15'	177,75	-	-	-	-	-	-	-	16,50*	25,50*	35,75*	48,50*	54,75*	83,75*	139,25*	156,75*	154,75*	177,75*	177,75*	177,75*	177,75*	15	4,51	12,40	e			
pH 6. 15'	161,25	-	-	-	-	-	-	-	-	9	19,25*	32**	38,25*	67,25*	122,75*	140,25*	142,25*	161,25*	161,25*	161,25*	161,25*	14	4,50	12,38	f			
pH 9. 15'	152,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23**	29,25*	58,25*	113,75*	131,25*	133,25*	152,25*	152,25*	152,25*	152,25*	13	4,47	12,29	gh			
pH 8. 25'	142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,25	23**	29,25*	58,25*	113,75*	131,25*	133,25*	152,25*	12	4,45	12,24	i			
pH 6. 25'	129,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,75*	19**	48**	103,50*	121**	123**	142**	142**	142**	142**	11	4,42	12,16	t
pH 9. 25'	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,25	35,25*	90,75*	108,25*	110,25*	129,25*	129,25*	129,25*	129,25*	10	4,40	12,10	ij
pH 10. 5'	94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29**	84,50*	102**	104**	123**	123**	123**	123**	9	4,36	11,99	k
pH 10. 15'	38,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,50*	73**	75**	94**	94**	94**	94**	8	4,33	11,91	l
pH 10. 25'	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,50*	19,50*	38,50*	38,50*	38,50*	38,50*	7	4,29	11,80	m
pH 5. 5'	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	21**	21**	21**	21**	6	4,23	11,63	no
pH 5. 15'	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19**	19**	19**	19**	5	4,16	11,44	o
pH 5. 25'	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4,09	11,25	o
pH 4. 5'	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3,98	10,95	o
pH 4. 15'	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3,81	10,48	o
pH 4. 25'	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3,81	10,48	o

Uji Jarak Berganda pengaruh interaksi antara pH larutan penyangga dan lamanya waktu kontak antara kuman dengan larutan penyangga terhadap daya hidup kuman P. multocida.

$$Sx = \sqrt{\frac{30,29}{4}}$$

$$= 2,75$$

Lampiran II. Pembuatan larutan penyangga

Cara pembuatannya

- pH 4. 41 ml asam asetat 0,2 M dicampur dengan 9 ml *Na asetat* sodium asetat 0,2 M, lalu ditambahkan aquadest sampai mencapai volume 100 ml.
- pH 5. 14,8 ml asam asetat 0,2 M dicampur dengan 35,2 ml sodium asetat 0,2 M. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume mencapai 100 ml.
- pH 6. 87,7 ml larutan sodium fosfat monobasik ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,2 M dicampur dengan 12,3 ml sodium fosfat dibasik (Na_2HPO_4) 0,2 M. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume mencapai 200 ml.
- pH 7. Larutan sodium fosfat monobasik ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,2 M sebanyak 39 ml dicampur dengan 61 ml sodium fosfat dibasik (Na_2HPO_4) 0,2 M. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume mencapai 200 ml.
- pH 8. Larutan sodium fosfat manobasik ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,2 M sebanyak 5,3 ml dicampur dengan 94,7 ml sodium fosfat dibasik (Na_2HPO_4) 0,2 M. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume 200 ml.
- pH 9. Asam borak (H_3BO_3) 0,2 M dan potasium chlorida (KCl) 0,2 M sebanyak 50 ml dicampur dengan 21,30 ml sodium hidroksida (NaOH) 0,2 N. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume 1000 ml.

pH 10. Asam borak (H_3BO_3) 0,2 M dan potasium chlorida (KCl) 0,2 M sebanyak 50 ml dicampur dengan 43,9 ml sodium hydroksida (NaOH) 0,2 N. Kemudian ditambahkan aquadest sampai volume 200 ml.

Pembuatan bahan larutan penyangga

0,2 M larutan asam asetat

11,55 ml asam asetat pekat ditambah aquadest sampai volume 1000 ml.

0,2 M larutan sodium asetat

Dilarutkan 16,4 gram CH_3COONa atau 27,2 gram $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 ml aquadest.

0,2 M larutan sodium phosphat monobasik

Dilarutkan 31,2 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 ml aquadest.

0,2 M larutan sodium phosphat dibasik

Dilarutkan 28,39 gram Na_2HPO_4 atau 71,1 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 ml aquadest.

0,2 M asam borak dan 0,2 M potasium chlorida

Dilarutkan 12,269 gram asam borak dan 14,911 gram potasium chlorida dalam 1000 ml aquadest.

0,2 N larutan sodium hydroksida

Dilarutkan 8,001 gram NaOH dalam 1000 ml aquadest (Anonymous, 1974; Cruickshank, 1975; Porter, 1950).



- 1 AUG 1990

07 MAR 1991

07 MAR 1991

~~24 SEP 1991~~

27 SEP 1992

30 JUL 1993

12 DEC 1994

26 FEB 1995

13 MAR 1995

28 MAR 1995

07 MAY 1997

20 MAY 1997

04 JUN 1997