

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
DARI DAGING KALENG
YANG DIAFKIR

S K R I P S I

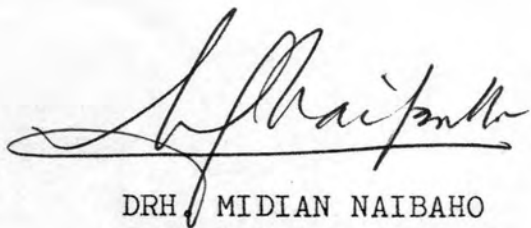
DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS
AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

OLEH:

SRI CHUSNIATI

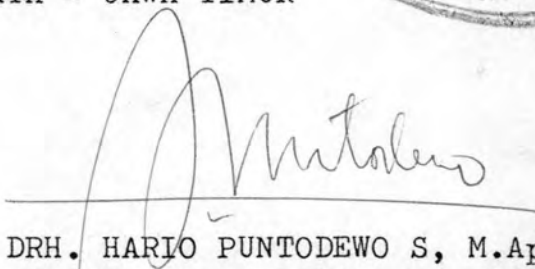
SURABAYA - JAWA TIMUR





DRH. MIDIAN NAIBAHO

PEMBIMBING SATU



DRH. HARIO PUNTODEWO S, M.App.Sc.

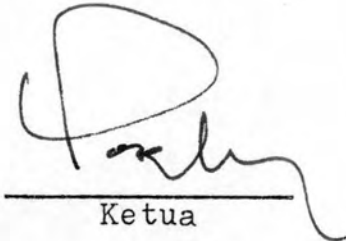
PEMBIMBING DUA

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

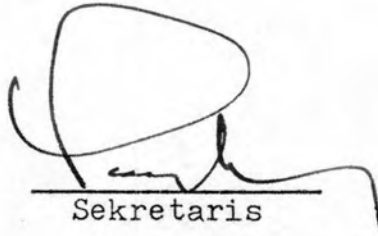
1985

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,




Ketua



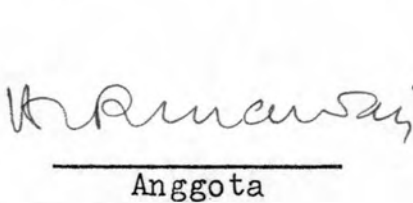
Sekretaris



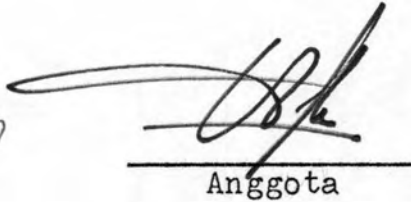
Anggota



Anggota



Anggota



Anggota

teruntuk:
ayah ibu
kakak adik
suami

berkat doamu
cucuran keringat dan doronganmu
ternyata tidak sia-sia.-

Allah akan mengangkat
derajat orang-orang yang beriman
dan yang memiliki ilmu.
(Al-Quran surat Al-Mujadalah 11).

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah Nya kepada penulis, maka dapatlah penulis menyelesaikan penyusunan skripsi sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Makalah ini disusun atas pengamatan hasil-hasil penelitian yang penulis lakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dibawah bimbingan Drh. Midian Naibaho dan Drh. Hario Puntodewo Siswanto, M.App.Sc.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Drh. Midian Naibaho dan Drh. Hario Puntodewo Siswanto, M.App.Sc. selaku pembimbing yang penuh kesabaran, keihlasan dan kebijaksanaannya telah membimbing penulis sehingga makalah ini dapat tersusun. Disamping itu penulis juga mengucapkan terima kasih kepada staf dan karyawan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah banyak membantu dalam kelancaran penelitian ini. Semoga tulisan yang jauh dari sempurna ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kedokteran hewan.

Penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Proses Pengawetan Daging Dalam Kaleng	5
1. Persiapan pengolahan daging . .	5
2. Pemanasan pendahuluan (blanching)	6
3. Pengisian (filling)	6
4. Penghampaan (exhausting) dan Penyegelan (sealing)	7
5. Sterilisasi (processing)	9
6. Pendinginan (cooling)	10
7. Penandaan pada kaleng (coding) .	11
B. Beberapa Faktor Penyebab Kerusakan Kaleng	11
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	14
Bahan	14
Cara Kerja	14
A. Pemeriksaan mikroskopis	14
B. Pemupukan bakteri	15
C. Uji biokimiawi	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	19

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	24
BAB VI. RINGKASAN	26
DAFTAR PUSTAKA	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran :	Halaman
1. Spesies bakteri yang diisolasi	29
2. Gambar skematis pemupukan	30
3. Hasil pemeriksaan mikroskopis	31
4. Hasil uji biokimiawi	32
5. Klasifikasi spesies bakteri	35

B A B I

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu sumber protein hewani, daging mempunyai peranan yang penting didalam hal usaha peningkatan gizi masyarakat.

Kalau ditinjau dari segi lain, daging mempunyai banyak kekurangan, antara lain daging merupakan salah satu komoditi yang cepat mengalami pembusukan, juga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganismenya.

Untuk mencegah atau memperlambat terjadinya pembusukan, memudahkan transportasi dan penyimpanan, maka perlu kiranya diadakan pengawetan.

Pengalengan daging merupakan salah satu dari proses pengawetan yang dilakukan oleh industri pengolahan daging. Seperti halnya pada proses pengawetan bahan makanan yang lain, dalam proses pengalengan harus diperhatikan berbagai segi yang berhubungan erat dengan bidang hygiene atau sanitasi dan kesehatan masyarakat.

Dari sudut hygiene atau sanitasi dan kesehatan masyarakat, harus diperhatikan bahayanya bagi konsumen, terutama bila pengerjaannya kurang sempurna (kerusakan dari kaleng dan lain-lain), sehingga dapat menimbulkan keracunan ataupun penyakit. Kualitas daging yang jelek disertai perubahan yang nyata sebelum daging dikalengkan

dapat membahayakan konsumen, sehingga perlu adanya pengawasan yang ketat terhadap daging yang akan diproses untuk dikalengkan (Anonymous, 1982).

Beberapa saat yang lalu, Departemen Kesehatan memperingatkan masyarakat untuk lebih berhati-hati, dan jangan membeli bahan makanan jika pada wadah atau pembungkusannya tidak dicantumkan tanggal kedaluwarsa. Pencantuman tanggal kedaluwarsa merupakan tindak keamanan yang tidak dapat ditawar-tawar lagi, oleh karena bagi orang awam sulit untuk membedakan makanan kaleng yang masih aman untuk dikonsumsi dan yang tidak, meskipun ada ciri-ciri untuk memperkirakan kerusakan tersebut.

Disamping itu, banyak sekali daging kalengan dipasaran yang kelihatannya sudah rusak tetapi masih dijual. Tentu saja dengan harga yang lebih murah bila dibandingkan dengan yang keadaan kalengnya masih baik.

Bagi masyarakat awam, rendahnya harga akan lebih menarik, tetapi tidak tahu apakah makanan didalam kaleng yang rusak tersebut akan kurang baik bagi mereka.

Bentuk kaleng yang normal dan baik, kedua ujung atas dan bawah dalam keadaan datar atau agak cekung (Frazier, 1958 ; Jay, 1978 ; Irianto, 1984).

Daging kaleng dinyatakan rusak bila daging tersebut dianggap mengalami perubahan atau kalengnya sendiri mengalami perubahan yang nyata (Soehartojo dan Sungkwo, 1978).

Kerusakan daging kaleng bukan hanya disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme, tetapi mungkin juga karena reaksi kimia antara isi dan tempatnya, kesalahan teknis proses pengalengan dan penyimpanan yang kurang baik (Hersom and Hulland, 1980).

Kerusakan daging kaleng dapat disebabkan oleh mikroorganisme, reaksi kimia antara isi dengan kalengnya, karat pada kaleng, pengisian yang terlalu penuh, perlakuan yang kasar terhadap kaleng atau kurang hampa pada waktu exhausting (pengeluaran udara), sehingga kaleng terlihat rusak atau pecah. (Irianto, 1984).

Berdasarkan hasil penyelidikan oleh CSIRO Division of Food Research selama periode 1950 - 1977, sebagian besar penyebab kerusakan makanan kalengan di Australia adalah processing (sterilisasi) yang kurang sempurna dan kontaminasi sesudah processing (Irianto, 1984).

Banyak laporan-laporan tentang Bacillus subtilis , Bacillus mesentericus dan jenis-jenis lainnya dalam makanan kaleng yang telah disterilisasi pada pemanasan 212°F (100°C). Bagaimanapun juga biasanya kehadiran bakteri yang tidak membentuk spora di dalam makanan-makanan kaleng yang mendapat proses pemanasan, adalah indikasi pada kebocoran kaleng. Lubang kecil tempat bakteri itu masuk dapat tersumbat rapat oleh partikel makanan, sehingga terjadi akumulasi tekanan gas di dalam kaleng. Perlu diperhatikan bahwa bakteri pembentuk spora juga da-

pat masuk ke dalam kaleng melalui kebocoran (Frazier, 1979).

Keadaan atau bentuk dari kalengnya sendiri dapat juga dipakai untuk memperkirakan daging kaleng tersebut telah rusak atau belum. Bentuk-bentuk tersebut dapat dibedakan atas flipper, springer, soft swell dan hard swell. Dikatakan flipper apabila kaleng terlihat normal, tetapi bila satu ujung kaleng ditekan, akan cembung keujung yang lain, dan bila suhu ruangan meningkat, kaleng akan mengembung. Springer adalah kaleng dengan kedua ujung mengembung dan bila satu ujung kaleng ditekan, hanya satu ujung yang terlihat mengembung. Soft swell adalah gembung lunak, yaitu dapat ditekan tetapi akan kembali gembung. Hard swell adalah kaleng dengan kedua ujung yang mengembung dan tidak dapat ditekuk dengan tangan (Frazier, 1958 ; Jay, 1978 ; Irianto, 1984).

Bertitik tolak dari masalah tersebut diatas, penulis ingin mengetahui apakah di dalam daging kaleng afkiran tersebut terdapat bakteri yang dapat merugikan perusahaan dan konsumen.

Oleh karena banyaknya daging kaleng afkiran yang masih dijual di pasar dan belum adanya batas kedaluwarsa pada daging kaleng, maka penulis mengambil contoh bahan yang sudah jelas diafkir.

Penelitian ini penulis lakukan pada bulan Maret sampai dengan April tahun 1984.

B A B II

TINJAUAN PUSTAKA

Daging merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme oleh karena kelembaban yang tinggi, pH yang hampir netral dan kandungan zat makanan yang tinggi (Frazier, 1958).

Untuk mencegah atau memperlambat terjadinya pembusukan, perlu kiranya diadakan pengawetan. Salah satu cara pengawetan adalah dengan dikalengkan.

A. Proses Pengawetan Daging Dalam Kaleng.

Proses pengawetan daging dalam kaleng terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

1. Persiapan pengolahan daging :

Persiapan pengolahan daging yang akan dikalengkan meliputi pembagian atau penyusunan daging menurut mutunya, pemotongan, pencucian, dan pencampuran serta pemberian bumbu dan penambahan zat kimia . Persiapan pengolahan daging untuk dikalengkan harus dilakukan secara tepat dan sempurna, dengan jarak waktu yang cepat antara persiapan dan sterilisasi makanan. Terutama bahan makanan yang basah seperti adonan daging, dengan menunda 2 atau 3 jam cukup memberi kesempatan untuk berkembang biaknya mikro-

organisme dengan cepat sehingga dapat dihasilkan gas atau asam (Anonymous, 1982).

2. Pemanasan pendahuluan (blanching) :

Dalam proses ini daging dipanaskan atau diuapkan pada temperatur 180 - 200⁰F (82 - 93⁰C) selama 3 - 5 menit sebelum dimasukkan ke dalam kaleng (Anonymous, 1982 ; Irianto, 1984). Pemanasan pendahuluan membantu mengurangi bakteri perusak. Tetapi tidak menjadikan makanan tersebut steril. Keadaan ini dapat membunuh organisme penyebab keracunan makanan (Frazier, 1958).

Proses blanching selain bertujuan untuk membersihkan, juga memberi kesempatan agar daging menyusut dan memudahkan perpindahan zat di dalam jaringan sel sehingga dapat mempertahankan hampa udara di dalam kaleng selama processing serta menghambat reaksi enzim selama proses pengolahan yang dapat mengurangi nilai kandungan zat-zat gizi di dalam makanan (Anonymous, 1982).

3. Filling (pengisian).

Pengisian daging ke dalam kaleng dilakukan dengan mesin atau dengan tangan yang membutuhkan pengawasan yang cermat (Jacobs, 1951). Pengisian daging yang tepat sangat penting ditinjau dari sudut pengalengan. Pengisian yang terlalu banyak da-

pat mengakibatkan daging menekan kaleng pada saat proses exhausting, sehingga kaleng dapat pecah. Bila pengisiannya terlalu sedikit, udara yang terdapat diatas permukaan daging dalam kaleng jumlahnya banyak, sehingga pada waktu proses exhausting volume udara relatif meningkat, sehingga dapat mengakibatkan kaleng pecah. Pengawasan dalam pengisian daging ke dalam kaleng sangat penting artinya untuk menghindari adanya volume udara yang berlebihan. Pengisian yang baik adalah antara $3/4$ cm sampai 1 cm di bawah permukaan tutup kaleng (Soehartojo dan Sungkowo,1978; Anonymous,1982; Irianto,1984) .

4. Penghampaan (exhausting) dan Penyegelan (sealing) :

Proses pengalengan yang penting adalah pengeluaran udara dari dalam kaleng sebelum ditutup. Keuntungan-keuntungan bila dipakai sistim vakum :
a). Pemandahan oksigen udara menyebabkan sedikit perubahan warna pada daging dan mencegah bau tengik oleh penguraian lemak. b). Kaleng yang tidak divakumkan sering kali berakhir dengan gembung bila kondisi suhu meningkat (Jacobs, 1951).

Pendapat lain, dengan adanya exhausting: a). Dapat mengurangi jumlah mikroorganisme di dalam kaleng. b). Dengan mengeluarkan oksigen, dapat menghambat terjadinya proses karatan pada kaleng, men-

cegah proses oksidasi dan menghambat kemungkinan pertumbuhan bakteri yang bersifat aerob. c). Dapat mengawetkan kandungan vitamin C (Anonymous, 1982).

Cara melakukan exhausting (penghampaan) :

a). Penghampaan dengan menggunakan panas (heat exhausting) :

Di dalam cara ini daging harus dipanaskan terlebih dahulu sebelum kaleng disegel. Dengan adanya pemanasan akan mengakibatkan pembebasan udara atau gas, pengembangan isi serta adanya kenaikan tekanan udara di atas permukaan isi oleh uap air. Faktor tersebut di atas membantu tercapainya keadaan vakum saat kaleng didinginkan setelah disegel.

Cara lain adalah daging dalam keadaan dingin dimasukkan ke dalam kaleng kemudian kaleng dimasukkan ke dalam exhauster. Selanjutnya exhauster dipanaskan dan penyegelan secara cepat dilakukan pada saat tersebut.

b). Penghampaan secara mekanik (mechanical exhausting) :

Daging dalam keadaan dingin dimasukkan ke dalam kaleng. Dengan memakai alat khusus, proses penutupan dan penyegelan kaleng dilakukan dalam exhauster vakum tersebut.

c). Penyuntikan uap (steam injection) :

Metoda ini dilakukan dengan cara memasukkan uap ke dalam kaleng sebelum penyegelan. Uap tersebut akan mendesak udara dalam kaleng. Keadaan vakum diperoleh setelah uap air mengalami kondensasi sesudah kaleng didinginkan (Soehartojo dan Sungkowo, 1978).

5. Sterilisasi (processing) :

Yang dimaksud dengan processing adalah memanaskan kaleng yang sudah berisi daging dan sudah disegel untuk mensterilkan bahan makanan yang ada di dalamnya (Hersom and Hulland, 1980).

Pemanasan yang dilakukan harus cukup untuk mematikan mikroorganisme pembusuk dan mikroorganisme patogen, tetapi penurunan nilai gizi dan cita rasanya tidak boleh terlalu banyak (Irianto, 1984).

Yang perlu diperhatikan pada processing ini adalah tingginya temperatur dan lamanya pemanasan. Temperatur 250°F (121°C) selama 15 menit digunakan untuk membunuh spora kuman (Jawetz et al , 1982). Pendapat lain 250°F (121°C) selama 55 menit (Frazier, 1958). Yang umum dilakukan adalah pada suhu 250°F (121°C) selama 20 - 40 menit (Irianto , 1984). National Cannery Association menggunakan temperatur 250°F (121°C) selama 30 menit (Weiser et al, 1976).

Kualitas makanan dalam kaleng tergantung dari teknik processingnya. Langkah processing dapat ditingkatkan dengan memberi tekanan yang terus-menerus dan tekanan uap tetap dipertahankan, sehingga daging mengalami proses pemasakan yang baik (Anonymous, 1982).

6. Pendinginan (cooling) :

Setelah proses sterilisasi, kaleng didinginkan dengan cepat untuk menghindari proses pemanasan yang berlebihan (Hersom and Hulland, 1980). Proses pendinginan sangat penting, karena bila pelaksanaannya tidak benar dapat mengakibatkan kerusakan. Selama sterilisasi, tekanan dalam kaleng meningkat, sehingga menyebabkan perluasan sisa udara. Peningkatan tekanan uap air menyebabkan tekanan dalam kaleng menjadi maksimum. Bila kaleng ditutup dibawah kondisi yang minimum, maka akan terjadi penimbunan residu udara dalam kaleng yang menyebabkan perbedaan tekanan di dalam dan di luar kaleng, tetapi hal ini tidak menimbulkan bahaya selama sterilisasi (Anonymous, 1982).

Pada pendinginan digunakan air bersih yang bebas mikroorganisme, karena air pendingin sering menjadi sumber kontaminasi (Frazier, 1958).

Pendinginan kaleng tidak perlu dilanjutkan sampai kaleng menjadi cukup dingin, karena keadaan vakum dalam kaleng dapat menyebabkan air masuk melalui sisi penutup kaleng (Anonymous, 1982).

7. Penandaan pada kaleng (coding) :

Umumnya setelah pendinginan, kaleng diberi tanda yang menunjukkan isi kaleng, tanggal pembuatan, dan sebagainya. Tiap-tiap pabrik mempunyai sistem tersendiri untuk memberi tanda tersebut. Di dalam prakteknya, sering digunakan kombinasi huruf dan angka. Pemberian tanda pada kaleng dilakukan dengan mesin untuk menghindari kerusakan yang dapat menimbulkan proses perkaratan (Hersom and Hulland, 1980 ; Anonymous, 1982).

B. Beberapa Faktor Penyebab Kerusakan Kaleng.

Kerusakan pada produk kalengan dapat disebabkan oleh berbagai penyebab , yaitu : 1). Korosif kaleng, terutama pada makanan yang bersifat asam. 2). Reaksi kimia, misalnya reaksi nonenzymatik browning (gembung CO_2). 3). Kurang hampa dan terlalu penuh dalam pengisian. 4). Pertumbuhan mikroorganisme, sebagai akibat dari sterilisasi yang tidak sempurna, kontaminasi setelah sterilisasi sebagai akibat tidak sempurnanya sambungan kaleng dan kurang baiknya pendinginan . 5). Fluktuasi tekanan atmosfer (Weiser et al, 1976 ; Irianto, 1984).

Selain proses pengawetan, mutu daging kaleng (corned beef) juga dipengaruhi oleh kaleng yang berfungsi sebagai pembungkus daging. Kaleng yang pantas digunakan harus mempunyai sifat-sifat : 1). Kuat dan kaku. 2). Tahan dibentuk dalam kecepatan tinggi. 3). Tahan karat dalam kondisi penyimpanan yang normal. 4). Bentuknya menarik. 5). Tahan terhadap suhu dan tekanan yang tinggi. 6). Mudah dibentuk (Buckle et al, 1978).

Ketahanan kaleng terhadap karat adalah paling penting dalam menentukan awet tidaknya makanan kaleng selama penyimpanan. Beberapa faktor yang mempengaruhi Perkaratan dari dalam (Internal Corrosion) dari kaleng adalah : 1). Sifat alami dari makanan terutama pH nya. 2). Adanya zat yang mempercepat proses karat, seperti nitrat, senyawa sulfur, pigmen anthocyanin, dan sebagainya. 3). Residu oksigen dalam makanan, khususnya di bagian atas dari kaleng. 4). Tipe kaleng. 5). Temperatur dan lamanya penyimpanan.

Perkaratan dari luar (External Corrosion) biasanya lebih ringan dan lebih mudah dikontrol, dan umumnya dipengaruhi oleh : 1). Kondisi pabrik dan gudang yang lembab. 2). Tipe kaleng dan ketebalan lapisan timahnya. 3). Komposisi air pendingin, misalnya garam chlorine, dan sebagainya. 4). Kesalahan-kesalahan teknis yang menyebabkan kerusakan kaleng. 5). Pengeringan yang kurang baik setelah pendinginan. 6). Pe-

ranan bahan yang melindungi permukaan kaleng (Frazier, 1958 ; Buckle *et al*, 1978).

Diantara kerusakan makanan kaleng, kebanyakan ditimbulkan oleh kebocoran sambungan. Untuk itu diperlukan teknik penyambungan yang baik. Masuknya mikroorganisme ke dalam kaleng karena kebocoran, meliputi beberapa tipe cocci, batang tidak berspora dan batang berspora. Tetapi jamur jarang dijumpai (Hersom and Hulland, 1980).

Kuman berbentuk batang tidak berspora dan tidak menghasilkan gas yang mungkin masuk ke dalam daging kaleng adalah genus Pseudomonas, Achromobacter, Micrococcus Flavobacterium, Proteus, dan lain-lainnya. Bakteri ini umumnya masuk dan menyebabkan pembusukan (Frazier, 1958) .

Menurut Savage (1923), mikroorganisme dalam daging kaleng yang dinyatakan baik, adalah : obligat anaerob = 0 yeast = 0 , spora = 7 , thermophilic = 6 , Micrococci = 5 dan batang tidak berspora = 1 (Hersom and Hulland, 1980).

B A B III

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan penelitian berupa daging kaleng afkiran sebanyak 30 contoh dan diperoleh dari distributor makanan kaleng di Surabaya.

Cara Kerja

Kaleng dan alat pembuka didesinfekter dengan alkohol 70% untuk mencegah kontaminasi dari luar (Sharf, 1966).

A. Pemeriksaan mikroskopis

Kaleng dikocok terlebih dahulu, kemudian kaleng tersebut dibuka dan diambil dengan ose steril dan segera dioleskan pada gelas alas yang bebas lemak, kemudian diwarnai dengan pewarnaan sederhana, pewarnaan Gram, pewarnaan spora dan sediaan natif.

Tujuan pemeriksaan mikroskopis adalah : a). sediaan natif untuk melihat pergerakan bakteri. b). Pewarnaan sederhana untuk melihat bentuk bakteri serta kapsul bakteri. c). Pewarnaan Gram untuk membedakan sifat bakteri Gram positif dan Gram negatif. d). Pewarnaan spora untuk melihat spora bakteri.

B. Pemupukan bakteri.

1. Pemupukan pada nutrient agar plat.

Pemupukan pada nutrient agar plat bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat koloni bakteri. Cara pemupukan dilakukan secara streak. Bakteri diambil dari kaleng dengan ose steril dan dipupuk pada nutrient agar plat I, dimurnikan pada nutrient agar plat II, dan dibuat stock pada nutrient agar miring (III). Masing-masing diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam.

2. Pemupukan pada Mc Conkey agar plat.

Pemupukan pada Mc Conkey agar plat bertujuan untuk memupuk bakteri yang bersifat Gram negatif. Cara pemupukan dilakukan secara streak. Bakteri diambil dari kaleng dengan ose steril dan dipupuk pada media Mc Conkey plat I, dimurnikan pada Mc Conkey agar plat II dan dibuat stock pada Mc Conkey agar miring (III). Masing-masing diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam.

3. Pemupukan pada medium Thioglycollate.

Pemupukan pada medium Thioglycollate bertujuan untuk memupuk bakteri yang bersifat anaerob. Medium ini berbentuk cair dan bagian atasnya ditutup dengan parafin. Parafin penutup dicairkan lebih dulu kemudian sediaan diambil dari kaleng dengan ose steril, dipupuk pada media dan diinkubasikan pada

37°C selama 24 - 48 jam.

Dari masing-masing pupukan bakteri, dibuat sediaan u-las pada gelas alas yang bebas lemak dengan ditetesi aquadest steril dan diwarnai dengan pewarnaan sederhana, pewarnaan Gram, pewarnaan spora dan sediaan natif.

C. Uji biokimiawi.

Uji biokimiawi yang dilaksanakan adalah :

1. a). Indol test, dengan menggunakan medium semi solid agar secara tusuk. Dengan menggunakan needle isolat, Bakteri dipupukkan secara stab pada semi solid agar, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan indol test adalah untuk melihat motilitas bakteri dan mengetahui apakah bakteri membentuk indol dari tryptophan.

b). Medium Triple Sugar Iron Agar.

Dengan menggunakan needle isolat, bakteri dipupuk secara stab pada agar tegak, lalu secara streak pada bagian yang miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Tujuannya untuk menentukan kemampuan bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa menjadi asam berdasarkan warna koloni dan tempat pertumbuhan bakteri. Untuk melihat apakah bakteri membentuk gas, yaitu dengan melihat pecahnya medium. Bakteri yang menghasilkan gas H₂S membentuk warna hitam pada medium.

c). Citrat.

Kedalam medium citrat, bakteri dipupukkan dengan needle isolat, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Reaksi positif apabila terlihat perubahan warna dari hijau menjadi biru. Tujuannya untuk mengetahui apakah bakteri membutuhkan garam citrat sebagai sumber carbon untuk metabolismenya, dengan merubah menjadi alkalis.

d). Medium Methyl Red - Voges Proskauer (MR-VP medium).

Pada sepasang tabung MR-VP medium, bakteri dipupukkan dengan ose, diinkubasikan pada 37°C . Untuk medium MR diinkubasikan selama 5 hari, dan untuk medium VP diinkubasikan selama 3 hari. Tujuannya untuk melihat pembentukan asam dari fermentasi glukosa dan melihat pembentukan acetyl metyl carbinol dari dextrose.

Pengamatan pada uji Methyl Red.

Kedalam 5 ml medium yang sudah dipupuk, ditambahkan 5 tetes larutan Methyl Red. Pada reaksi positif, ditandai dengan timbulnya warna merah.

Pengamatan pada uji Voges Proskauer.

Kedalam 5 ml medium yang sudah dipupuk, ditambahkan larutan alpha naphtol 5 % dan KOH 40 % .

Pada reaksi positif, ditandai dengan timbulnya warna merah.

2. Uji fermentasi.

Pada uji fermentasi digunakan media gula-gula. Media ini berbentuk cair dalam tabung sebanyak 5 ml . Bakteri dipupuk dan diinkubasikan selama 24 - 48jam pada suhu 37°C. Reaksi disebut positif bila terlihat perubahan warna media gula-gula tersebut dari warna merah menjadi kuning. Reaksi disebut negatif bila tidak ada perubahan warna media gula-gula tersebut dan tetap berwarna merah. Gula-gula yang digunakan untuk uji ini adalah glukosa, laktosa, manosa, maltosa dan sukrosa (Cowan, 1974 ; Cottral, 1978).

B A B IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan pemeriksaan bakteriologis terhadap 30 contoh daging kaleng afkiran, didapatkan hasil seperti terlihat pada lampiran 1. Pada pemeriksaan mikroskopis bakteriologis dari pupukan medium anaerob tidak didapatkan bakteri.

Dari 30 contoh daging kaleng afkiran yang diperiksa secara bakteriologis didapatkan semuanya mengandung bakteri. Setelah bakteri-bakteri tersebut diidentifikasi, didapatkan 22 (73,33 %) bakteri Bacillus subtilis ; 21 (70 %) bakteri Pseudomonas aeruginosa ; dan 9 (30 %) bakteri Proteus mirabilis.

Bacillus subtilis terdapat disini kemungkinan karena kontaminasi sewaktu pendinginan kaleng-kaleng tersebut dan kaleng tersebut telah bocor. Atau dapat juga kontaminasi terjadi setelah kaleng tersebut keluar dari pabrik, dengan perlakuan yang kasar dan tidak disimpan pada suasana yang baik, dapat menyebabkan bocornya kaleng dan terkontaminasi.

Bacillus subtilis adalah bakteri yang terdapat di tanah dan dapat tersebar oleh angin, debu, air dan bahan-bahan yang ditransportasikan. Bakteri ini tidak patogen, tetapi kadang-kadang dapat menjadi patogen. Karena organ-

isme ini membentuk spora dan terdapat di tanah dan air, maka sering mengkontaminasi biakan-biakan yang lain, atau bahan-bahan yang disterilkan (Stewart, 1968 ; Merchant and Parker, 1971 ; Naibaho dan Ratnasari, 1981 ; Jawetz et al, 1982).

Bacillus subtilis dalam bentuk spora sangat tahan panas. Pada air mendidih (100°C), mati setelah 2 jam atau pada 120°C selama 15 menit. Pada keadaan kering spora tahan bertahun-tahun (Merchant and Parker, 1971 ; Jawetz et al, 1982). Di praktek banyak membuat persoalan karena sporanya yang sangat tahan dan menyebabkan kontaminasi pada media (Stewart, 1968). Bacillus subtilis diduga sebagai penyebab food poisoning (Anonymous, 1976). Juga merupakan unsur yang penting pada kerusakan banyak makanan yang tidak disimpan pada suhu dingin (Jay, 1978).

Adanya bakteri Pseudomonas aeruginosa pada penelitian ini kemungkinan karena terkontaminasi sewaktu pendinginan, atau karena perlakuan yang kasar pada kaleng sehingga bocor dan terkontaminasi debu. Disini didapatkan 21 (70 %) bakteri Pseudomonas aeruginosa.

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang tersebar luas di dunia, banyak terdapat di tanah, air dan dalam jumlah sedikit pada faeces manusia dan hewan (Jay, 1978). Diduga Pseudomonas aeruginosa dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia, dan masuknya organisme ini dapat melalui makanan (Anonymous, 1976). Bakteri ini

pada suhu rendah merusak makanan, antara lain daging ayam, telur dan ikan laut (Jay, 1978).

Pseudomonas aeruginosa mempunyai sifat menguraikan lemak dan protein, sehingga menyebabkan kerusakan bahan makanan. Pada manusia, Pseudomonas aeruginosa dapat menyebabkan diarrhae (Naibaho dan Ratnasari, 1981). Pemanasan 55°C selama 1 jam dapat membunuh bakteri ini (Merchant and Parker, 1971).

Pada penelitian ini didapatkan 9 (30 %) bakteri Proteus mirabilis. Adanya bakteri Proteus mirabilis, kemungkinan karena terkontaminasi pada waktu proses pendinginan, atau perlakuan yang kasar pada kaleng dan terkontaminasi.

Proteus mirabilis dapat dijumpai di sekitar manusia dan hewan (Naibaho dan Ratnasari, 1981). Pada umumnya dijumpai dalam saluran usus manusia dan hewan, dan juga pada material yang rusak. Proteus mirabilis dapat diisolasi dari telur dan daging yang rusak, terutama pada bahan-bahan yang tidak disimpan pada suhu pendingin (Jay, 1978). Bakteri ini patogen pada saluran perke-mihan, dan diduga dapat menyebabkan diarrhae pada anak-anak (Cruickshank and Dugoid, 1974).

Prosentase bakteri yang tinggi pada penelitian ini kemungkinan karena contoh daging kaleng (corned beef) yang diteliti adalah daging kaleng yang telah diafkir,

dan secara makroskopis jelas menunjukkan kelainan bentuk kalengnya.

Sebab-sebab kerusakan yang bersifat biologis dari makanan yang dikalengkan adalah oleh mikroorganisme. Kelangsungan hidup mikroorganisme setelah pemberian heat treatment, atau kebocoran kaleng setelah proses pemanasan mengizinkan masuknya mikroorganisme dan selalu ada kemungkinan bahwa mikroorganisme tersebut akan tumbuh dan menyebabkan kerusakan atau pembusukan bila kondisi lingkungan mengizinkan (Frazier, 1979).

Mikroorganisme yang masuk melalui kebocoran kaleng bermacam-macam jenisnya, tidak perlu yang tahan panas, oleh karena sumber pencemaran melalui kebocoran pada makanan kaleng tersebut pada umumnya adalah air pendingin, ketika kaleng-kaleng tersebut dilewatkan setelah proses sterilisasi (Sharf, 1966 ; Anonymous, 1982).

Pernah dilaporkan oleh Center for Disease Control (1975 - 1979) yang dikutip oleh Hardjono (1982), bahwa keracunan makanan banyak yang disebabkan oleh bakteri-bakteri Salmonella sp dan Staphylococcus sp, tetapi kematian yang terbesar disebabkan Clostridium botulinum. Lebih lanjut dikatakan, keracunan makanan tersebut disebabkan oleh makanan kaleng yang terkontaminir oleh Clostridium botulinum. Dalam kondisi anaerob dan waktu yang cukup lama akan tumbuh dan berkembang biak serta memproduksi toksin. Toksin tersebut menghambat pembentukan dan pe-

lepasan acetyl cholin sehingga berakibat paresis atau paralisis.

Menurut Thom et al, toksin Clostridium botulinum rusak bila dipanaskan 80°C selama 2 menit ; 72°C selama 10 menit, atau 65°C selama 85 menit (Hardjono, 1982). Tetapi Jawetz (1982) menyatakan bahwa toksin Clostridium botulinum dapat diamankan dengan mendidihkan pada suhu 100°C selama 20 menit.

Pada penelitian ini Clostridium botulinum tidak ditemukan. Menurut Hardjono (1982), kejadian botulism pada manusia kebanyakan berhubungan dengan buah-buahan dan sayur-sayuran yang dikalengkan. Karena pemanasan yang dilakukan pada waktu pengalengan bahan makanan tersebut panasnya relatif lebih rendah dibanding dengan pengalengan daging atau ikan, sehingga besar kemungkinannya untuk tercemar dengan spora Clostridium botulinum.

Faktor lain yang mempengaruhi kejadian botulism pada manusia adalah kebiasaan masyarakat dalam menangani makanan (food habit). Bila masyarakat biasa memanaskan makanan kaleng sebelum dihidangkan, maka kemungkinan terjadinya kasus botulism pada masyarakat tersebut kecil tetapi bila sebaliknya, maka kemungkinan terjadinya kasus botulism pada manusia relatif besar.

B A B V

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari pemeriksaan bakteriologis terhadap 30 contoh daging kaleng afkiran, didapatkan semuanya mengandung bakteri, dengan perincian sebagai berikut : Bacillus subtilis 73,33 % , Pseudomonas aeruginosa 70 % dan Proteus mirabilis 30 % .

Dengan didapatkannya hasil seperti tersebut diatas berarti daging kaleng afkiran (corned beef) tersebut tidak memenuhi syarat lagi untuk dikonsumsi. Meskipun pada penelitian ini hanya didapatkan bakteri-bakteri yang umum terdapat disekitar kita, tetapi tidak menutup kemungkinan masuknya bakteri-bakteri yang patogen dengan pembentukan toxinnya.

Bakteri pada daging kaleng perlu diperhatikan, karena sering menyebabkan kerusakan daging tersebut terutama bila tidak disimpan pada suhu pendingin.

Dengan demikian perlu kiranya diadakan penyuluhan-penyuluhan pada masyarakat mengenai bentuk-bentuk produk kalengan pada umumnya dan daging kaleng pada khususnya. Sedangkan pada produsen hendaknya lebih waspada terhadap produknya, sehingga tidak akan ada lagi makanan kaleng dengan bentuk-bentuk yang sudah tidak memenuhi syarat lagi masih beredar di pasaran.

Yang harus diperhatikan oleh konsumen adalah pemilihan kaleng yang masih baik, tidak berkarat, tidak bocor, tidak cembung dan tidak penyok-penyok . Sebab bila hal tersebut terjadi, kemungkinan besar mikroorganisme telah masuk ke dalam kaleng dan merusak makanan di dalamnya dan membentuk toksin.

Jadi untuk keamanan produk tersebut, kembali pada kebijaksanaan Menteri Kesehatan, yaitu keharusan untuk mencantumkan tanggal kedaluwarsa. Sebab bagaimanapun juga makanan kaleng punya batas waktu tertentu untuk dapat dikonsumsi. Lewat batas itu, dikhawatirkan makanan tersebut telah rusak.

Penulis berharap penelitian yang sederhana ini dapat memberikan dorongan untuk penelitian-penelitian lebih lanjut, demi kemajuan di bidang ilmu Kedokteran Hewan.

B A B VI

RINGKASAN

Telah dilakukan pemeriksaan terhadap 30 contoh daging kaleng (corned beef) afkiran terhadap adanya bakteri yang diduga berperan sebagai penyebab kerusakan. Dari 30 contoh tersebut, dapat diisolasi dan diidentifikasi 3 jenis bakteri yaitu : Bacillus subtilis (73,33 %) ; Pseudomonas aeruginosa (70 %) dan Proteus mirabilis (30 %).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kerusakan kaleng antara lain : aktivitas mikroorganisme, reaksi kimia antara isi dan tempatnya, kesalahan teknis proses pengalengan, penyimpanan yang kurang baik dan perlakuan yang kasar pada kaleng.

Dengan demikian perlu kiranya diadakan penyuluhan pada masyarakat tentang bentuk-bentuk daging kaleng yang masih baik untuk dikonsumsi. Kepada semua pihak yang terlibat dalam proses pengalengan daging, transportasi, penyimpanan dan distribusi agar dapat meningkatkan kewaspadaannya sehingga tidak berakibat buruk bagi konsumen daging kaleng.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONIMOUS, 1976. Microbiological Aspects of Food Hygiene. Report of a WHO Expert Committee with The Participation of FAO Technical Report Series. 598. p. 19 - 31.
- ANONIMOUS, 1982. Manual Kesmavet, No 24 - II Seri Daging. Direktorat Kesehatan Hewan, Dirjen Peternakan, Deptan, Jakarta. hal. 1 - 11.
- BUCKLE, K.A., R.A. EDWARDS , G.H. FLEET and M. WOOTTON . 1978. A Course Manual in Food Science. AAUCS. p. 75 - 90.
- COTTRAL, G.E. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Cornell University Press. Ithaca. p. 375 - 378.
- COWAN, S.T. 1974. Manual for The Identificasi of Medical Bacteri. 2nd Ed. Cambridge University Press. p. 71, 72, 90 - 93, 109, 112 - 113.
- CRUICKSHANK, R. and J.P. DUGOID. 1974. Medical Microbiology. 12th Ed. E.L.B.S. p. 330 - 333.
- FRAZIER, W.C. 1958. Food Microbiology. University of Wisconsin Mc. Graw - Hill Book Company, Inc. New York. p. 183 - 186, 319 - 328.
- FRAZIER, W.C. 1979. Food Microbiology. 3th Ed. University of Wisconsin Mc. Graw - Hill Book Company, Inc. New York. p. 65 - 72, 75 - 78, 306 - 313.

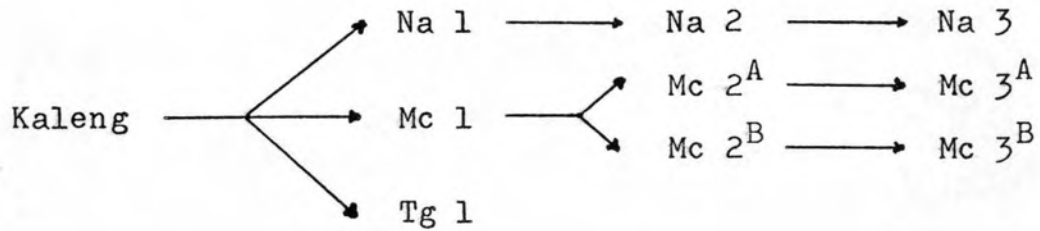
- HARDJONO, S.T. 1982. Kecenderungan Keracunan Makanan Kaleng yang Tercemar oleh Clostridium botulinum . Fakultas Kedokteran Veteriner, IPB Bogor.
- HERSOM, A.C. and E.D. HULLAND. 1980. Canned Foods Thermal Processing and Microbiology. 7th Ed. Churchill Livingstone Edinburgh London. p. 28, 83 - 101, 245 - 253, 259 - 273.
- IRIANTO, H.E. 1984. Kerusakan Makanan Kaleng . Surabaya Post. XXXII. no. 34 hal. 6.
- JACOBS, M.B. 1951. The Chemistry and Technology of Food and Food Product. 2nd Ed. vol III. New York Interscience Publishers Ltd, London. p. 2270 - 2274.
- JAWETZ, E., J.L. MELNICK., and E.A. ADELBERG. 1982. Review of Medical Microbiology. 14th Ed. E.G.G . p. 126 - 130, 284, 322 - 325.
- JAY, J.M. 1978. Modern Food Microbiology. 2nd Ed. D. van Nostrand Company. New York. p. 15 - 19, 159 - 160.
- MERCHANT, I.A. and R.A.PARKER. 1971. Veterinary Bacteriology. 7th Ed. The Iowa State University Press Ames. Iowa. U.S.A. p. 251 - 254, 282 - 284, 386 - 387.
- NAIBAHO, M dan R. RATNASARI. 1981. Bakteriologi Umum . FKH Unair, Departemen P dan K. hal. 79 - 80, 98-99, 128 - 131.

- SHARF, J.M. 1966. Recommended Methods for The Microbiological Examination of Foods. 2nd Ed. American Public Health Association, Inc. p. 35 - 46.
- SOEHARTOJO, R. dan B. SUNGKOWO. 1978. Beberapa Teknik Penanganan Daging dan Pemeriksaan Daging Secara Laboratoris. FKH Unair. p. 29 - 35.
- STEWART, F.S. 1968. Bacteriology and Immunology for Students of Medicine. 9th Ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindal and Cassel Ltd. p. 281, 328 - 329.
- WEISER, H.H., G.J. MOUNTNEY., and W.A. GOULD. 1976. Practical Food Microbiology and Technology. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. p. 80 - 81, 228 - 241.

LAMPIRAN : 1 (Species bakteri yang diisolasi dari daging kaleng yang sudah diafkir).

No	B.subtilis	P.aeruginosa	P.mirabilis
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	—	+	—
5	+	-	-
6	-	+	-
7	+	+	-
8	+	+	+
9	-	+	-
10	-	+	-
11	-	+	-
12	+	+	-
13	+	+	+
14	-	+	-
15	+	+	+
16	+	+	+
17	+	-	-
18	+	-	-
19	+	+	+
20	+	-	-
21	+	-	-
22	+	-	-
23	+	-	-
24	+	+	+
25	-	+	-
26	-	+	-
27	-	+	-
28	+	+	-
29	+	-	-
30	+	-	-
jumlah	22	21	9
prosen- -tase	73,33%	70,00%	30,00%

LAMPIRAN : 2 (Gambar skematis pemupukan).



Keterangan : Na = Nutrient agar

Mc = Mc Conkey agar

Tg = Thioglicolate medium.

Lampiran : 3 (Hasil pemeriksaan mikroskopis).

Nomer	Na III		Mc III ^A		Mc III ^B	
	Gram + Spora +	Gram - Spora -	Gram - Spora -	Gram - Spora -	Gram - Spora -	Gram - Spora -
	PS	SN	PS	SN	PS	SN
1	Bs	M	Bk	M	Bk	M
2	Bs	M	Bk	M	Bk	M
3	Bs	M	Bk	M	Bk	M
4	-	-	Bk	M	-	-
5	Bs	M	-	-	-	-
6	-	-	Bk	M	-	-
7	Bs	M	Bk	M	-	-
8	Bs	M	Bk	M	Bk	M
9	-	-	Bk	M	-	-
10	-	-	Bk	M	-	-
11	Bs	M	Bk	M	-	-
12	Bs	M	Bk	M	-	-
13	Bs	M	Bk	M	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	Bs	M	Bk	M	Bk	M
16	Bs	M	Bk	M	Bk	M
17	Bs	M	-	-	-	-
18	Bs	M	-	-	-	-
19	Bs	M	Bk	M	Bk	M
20	Bs	M	-	-	-	-
21	Bs	M	-	-	-	-
22	Bs	M	-	-	-	-
23	Bs	M	-	-	-	-
24	Bs	M	Bk	M	Bk	M
25	-	-	Bk	M	-	-
26	-	-	Bk	M	-	-
27	-	-	Bk	M	-	-
28	Bs	M	Bk	M	-	-
29	Bs	M	-	-	-	-
30	Bs	M	-	-	-	-

Keterangan:

Na = Nutrient agar

Mc = Mc Conkey agar

Ps = Pewarnaan sederhana

Sn = Sediaan natif

Bs = Batang besar berkapsul

Bk = Batang kecil tidak berkapsul

M = Motil

Catatan : Hasil dari Mc Conkey III^A = Mc Conkey III^B

LAMPIRAN : 4 (Hasil uji biokimiawi).

Nomer	Media	Glukosa	Laktosa	Mannosa	Maltosa	Sukrosa	MR	VP	TSIA		Indol	Citrat
									Gas	H ₂ S		
1	Na III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^B	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	Mc III ^B	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
2	Na III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^B	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	Mc III ^B	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
3	Na III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^B	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	Mc III ^B	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
4	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
5	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
6	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
7	Na III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
8	Na III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^B	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	Mc III ^B	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
9	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
10	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-

11	Na III Mc III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
12	Na III Mc III ^A	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
13	Na III Mc III ^A Mc III ^B	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
14	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
15	Na III Mc III ^A Mc III ^B	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
16	Na III Mc III ^A Mc III ^B	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
17	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
18	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
19	Na III Mc III ^A Mc III ^B	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
20	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
21	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
22	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+

23	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
24	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
	Mc III ^B	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
25	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
26	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
27	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
28	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Mc III ^A	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
29	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
30	Na III	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+

Keterangan : MK = Methyl Red test
 VP = Voges Proskauer test
 Na = Nutrient agar
 Mc = Mc Conkey agar
 + = positif
 - = negatif

Catatan : Hasil dari Mc Conkey III^A ≠ Mc Conkey III^B .

LAMPIRAN : 5 (Klasifikasi spesies bakteri).

Media	Jumlah	Klasifikasi spesies bakteri	Sinonim
Na III	22	Bacillus subtilis	Vibrio subtilis Hay bacillus
Mc III ^A	21	Pseudomonas aeruginosa	Pseudomonas pyocyanea Pseudomonas pyoceaneus Bacterium aeroginosum Bacterium pyoceaneum Bacillus pyoceaneus
Mc III ^B	9	Proteus mirabilis	---