

SKRIPSI

SIS MARDIYANI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIP DARI KERABANG
TELUR AYAM TETAS YANG TELAH DIERAMKAN UMUR 10 HARI



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

1986

SKRIPSI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIP DARI KERABANG
TELUR AYAM TETAS YANG TELAH DIERAMKAN UMUR 10 HARI



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1986

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF DARI KERABANG
TELUR AYAM TETAS YANG TELAH DIERAMKAN UMUR 10 HARI

SKRIPSI

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

OLEH :

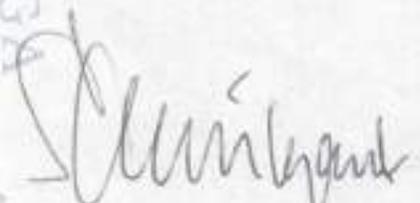
SIS MARDIYANI

TULUNGRENGG - JAWA TIMUR



DR. MIDIAN NAIBAHU

PEMBIMBING PERTAMA



DR. SULISTIYANTO

PEMBIMBING KEDUA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

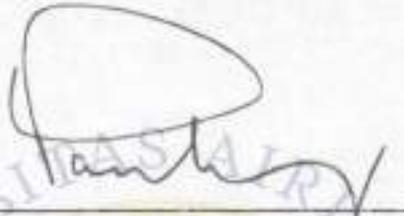
SURABAYA

1986

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.

Ditetapkan di Surabaya, tanggal :

Panitia Penguji :



Ketua

Sekretaris

Anggauta

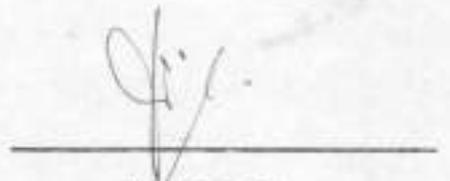


Anggauta

Anggauta



Anggauta



Anggauta

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha-Esa, bahwa dengan rahmat taufiq dan hidayahnyalah maka penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi, sebagai salah syarat untuk menempuh ujian Dokter Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada Drh. Midian Naibaho (Kepala Laboratorium Bakteriologi - dan Mikologi) dan Drh. Soelistyanto (Dosen Virologi) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang telah memberikan bimbingan dalam penulisan skripsi ini. Disamping itu penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang membantu kelancaran dalam penulisan ini.

Semoga penulisan skripsi yang sederhana ini dapat memberikan dorongan untuk penelitian penelitian lebih lanjut, demi kemajuan dibidang Ilmu Kedokteran Hewan.

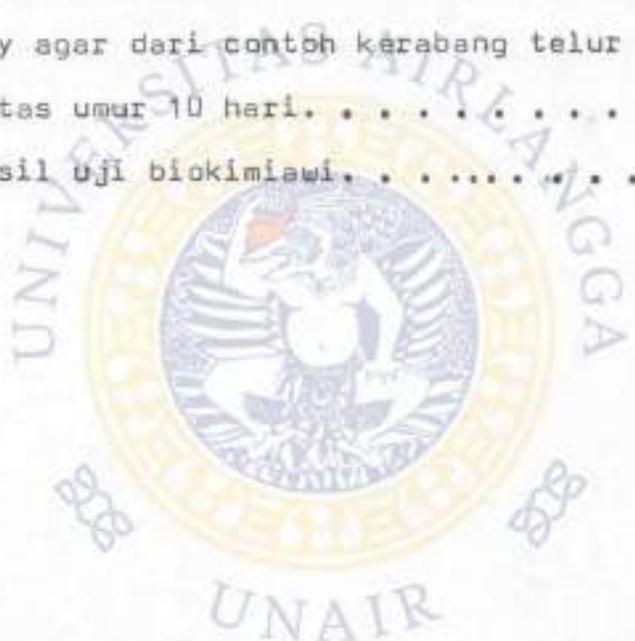
Penulis .

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR LAMPIRAN	IV
BAB I : PENDAHULUAN	1
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	3
1. Telur Ayam Tetes	3
2. Bakteri Pada Kerabang Telur	6
3. Mekanisme Kegagalan Telur Untuk- Menetas Oleh Bakteri Gram Negatif..	8
4. Sanitasi Mesin Penetas Dan Telur ..	9
BAB III : BAHAN DAN CARA KERJA	12
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN	18
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN	24
BAB VI : RINGKASAN	25
DAFTAR PUSTAKA	27

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap 30 contoh kerabang telur ayam tetas umur 10-hari	18
2. Pemupukan bakteri Gram negatip pada Mc. Conkey agar dari contoh kerabang telur ayam - tetas umur 10 hari.	19
3. Hasil uji biokimiawi.	20



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Media Mc Conkey	31
2. Triple Sugar Iron Agar (TSIA)	32
3. Media gula gula	33
4. Media nitrat	34
5. Media Methyl Red - Voges Proskauer	35
6. Media Semi Solid Agar	36



BAB I

PENDAHULUAN

Dewasa ini peranan pemerintah dibidang pembangunan peternakan sangat besar, terbukti dengan adanya perhatian terhadap gizi masyarakat yang terus menerus ditingkatkan. Perbaikan gizi masyarakat tidak dapat dipisahkan dari daging, susu dan telur sebagai sumber protein hewani. Mengingat bahwa kebutuhan penduduk Indonesia akan protein hewani masih jauh dari mencukupi, maka salah satu usaha untuk memenuhi kebutuhan tersebut secara cepat ialah dengan jalan meningkatkan produktivitas ternak ayam. Untuk meningkatkan produktivitas tersebut dapat dilaksanakan dengan jalan mengadakan usaha pembibitan ayam secara besar besaran. Pada proses penetasan hanya dimungkinkan dengan menggunakan mesin penetas modern yang dapat digunakan secara effectif sehingga dihasilkan bibit ayam dalam jumlah besar dan berkualitas tinggi .

Adapun kegunaan mesin penetas yaitu : A. dapat menetas-kan telur dalam jumlah yang banyak. B. kemungkinan telur untuk menetas lebih besar. C dapat dipakai terus menerus karena tidak terpengaruh oleh musim. D. biaya penetasan murah. E. induk ayam tidak tertunda untuk kegiatan bertelur.

Faktor faktor yang harus diperhatikan selama proses penetasan antara lain kondisi ruangan mesin penetas, kelembaban ventilasi, pemutaran telur dan posisi telur (Robert dan Rugh-1962). Faktor lain yang perlu diperhatikan yaitu adanya konta

minasi bakteri. Telur yang baru dikeluarkan dari induk ayam dapat terkontaminasi bakteri yang berasal dari faeces, selain itu dapat juga berasal dari kandung yang menempel pada kerabang telur ayam. Bakteri yang umum terdapat dalam lingkungan peternakan ayam, misalnya Salmonella sp. dan Coli-form sp. adalah merupakan penyebab utama dari penurunan daya tetas serta penurunan daya hidup ayam. (Beesley, 1980). Adanya bakteri didalam telur dalam jumlah banyak, dapat menyebabkan kematian embryo ayam, sehingga gagal menetas. (Furuta, 1981).

Untuk menghasilkan anak ayam yang sehat dan berkualitas tinggi maka harus diperhatikan syarat syarat sebagai berikut : A. Ayam petelur yang baik dan sehat dengan telur-telurnya yang bersih. B. Mesin penetas yang mempunyai sanitasi yang baik. C. Penggunaan mesin penetas dengan tepat (Anonimus, 1983).

Dengan uraian diatas, betapa besar kemungkinan terjadinya infeksi bakteri pada embryo ayam sehingga menyebabkan kerugian yang cukup besar, dan secara tidak langsung menghambat program pemerintah dalam meningkatkan penyediaan protein hewani.

Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sampai sejauh mana kontaminasi oleh bakteri Gram negatif pada kerabang telur ayam tetas umur 10 hari, sehingga dapat dilakukan kontrol dan tindakan lebih lanjut untuk mendapatkan anak anak ayam yang sehat dan berkualitas tinggi.

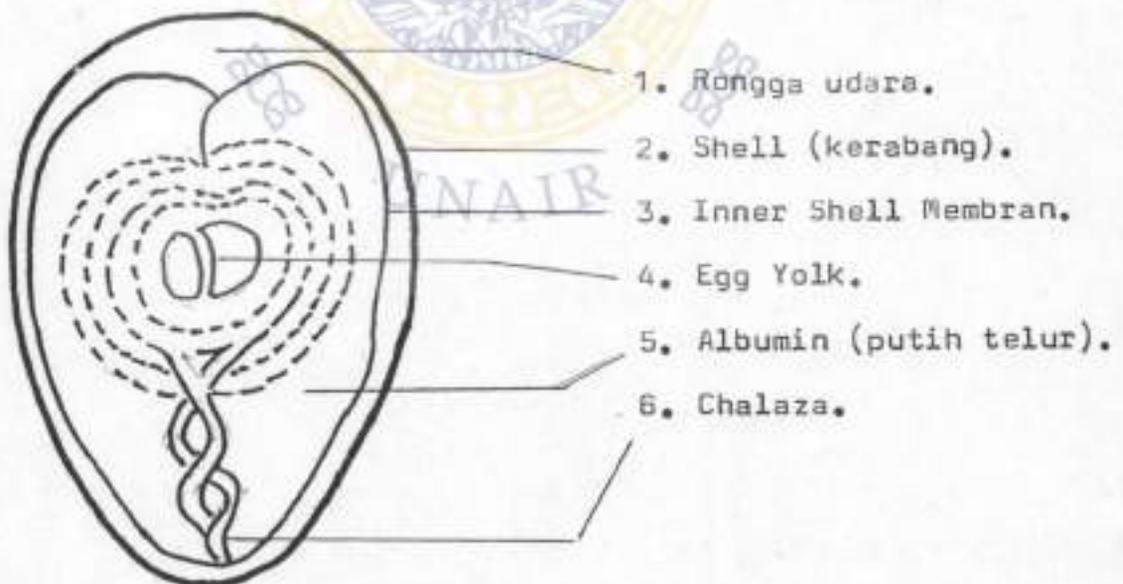
Penelitian ini dilakukan dari tanggal 30 Mei sampai dengan 13 Juni 1985.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

1. Telur Ayam Tetas

Telur yang dihasilkan oleh induk ayam, secara normal dilapisi oleh kerabang telur yang merupakan lapisan keras. Kerabang telur berguna untuk melindungi bagian dalam dari telur - misalnya kuning dan putih telur atau albumin (Berril, 1974) . Kerabang yang tipis berpori pori relatif lebih banyak dan lebih besar sehingga kualitas telur lebih rendah. Kerabang yang tipis memberi peluang untuk terjadinya penguapan yang lebih tinggi dan proses pembusukan akibat penetrasi bakteri (Eddy , 1977).

Bagian bagian telur ayam.



Gambar dikutip dari Berril 1974.

Gambaran secara umum mengenai penentuan mutu telur dibagi berdasarkan bentuk, keadaan kerabang, warna dan berat telur. Bentuk telur secara normal adalah oval, pada salah satu ujungnya terdapat bagian yang tumpul dan yang satu lagi lancip. Kerabang telur biasanya warnanya bervariasi tergantung strain ayam putih atau coklat. Berat telur bervariasi antara 54,3 gram sampai 60 gram (Anonymous, 1984).

Beberapa faktor yang mempengaruhi tebal tipisnya kerabang adalah umur dan jenis ayam, makanan yang diberikan, peristiwa faali dari alat alat tubuh serta komponen penyusunan kerabang telur. Kualitas kerabang yang kurang baik dapat disebabkan karena induk kekurangan Calcium, Phosphor, Manganese dan vitamin D dari makanan yang diberikan (Eddy, 1977) Kualitas kerabang telur mempengaruhi daya tetas telur. Kerabang yang tebal cenderung mempunyai daya tetas tinggi, juga dapat mengurangi adanya penetrasi bakteri (Daniel, 1978).

Kerabang telur dan membrannya yang melekat, secara fisik merupakan barrier terhadap sebagian besar bakteri. Mekanisme protektip yang alamiah pada telur biasanya effectip dalam memperkecil jumlah bakteri yang mengkontaminasi kerabang telur. Kerabang telur, membran kerabang dan albumin termasuk alat pertahanan telur (Frank seto, 1981).

Management yang baik merupakan faktor utama untuk mendapatkan daya tetas yang tinggi (Peterson, 1978; Oluyemi, 1981). Faktor faktor lain yang mempengaruhi daya tetas yakni : a. Kesalahan memilih telur yang akan ditetaskan. b. Kesalahan teknik operasional dari petugas yang menjalankan mesin penetas -

atau kerusakan mesin penetas yang tidak terduga. c. Sanitasi yang kurang baik. Daya tetas yang rendah dapat juga disebabkan oleh beberapa faktor yang berasal dari induk ayam itu sendiri yaitu : a. Faktor genetik, telur yang berasal dari induk yang produksinya rendah akan menghasilkan telur yang fertilitasnya rendah demikian juga daya tetasnya. b. Perkawinan antara keluarga dekat tanpa ada seleksi. c. Adanya faktor lethal dan sub lethal yang dapat menyebabkan kematian atau cacat pada embryo dalam telur yang ditetaskan (Sayid, 1978).

Syarat syarat telur tetas yang baik : a. Bentuknya baik artinya normal bulat telur, lebarnya $\frac{3}{4}$ panjang. Telur yang terlalu bulat, lonjong dan panjang kurang baik. b. Berat antara 55 - 60 gram. c. Keadaan kulit telur halus dan bersih. d. Kesuburannya baik, artinya telur dipungut dari kandung yang jumlah pejantannya cukup dan ayam betina berumur 10 bulan keatas. e. Lama penyimpanan telur tak boleh lebih dari 7 hari (Sayid, 1978 ; Peterson 1978).

Sebelum dimasukkan kedalam mesin penetas, telur sebaiknya disimpan dalam ruangan dengan temperatur 20°C - 30°C dengan kelembaban relatif 75% - 80% (Peterson, 1978).

2 . Bakteri Pada Kerabang Telur

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang tersebar luas didunia, banyak terdapat dalam tanah dan air. Pseudomonas aeruginosa dapat membentuk pigmen hijau kebiru biruan yang larut dalam air. Pada suhu 55°C selama 1 jam bakteri mati, sehingga apabila mengkontaminasi dinding telur, maka masih tahan hidup pada temperatur mesin penetas (Merchant dan Packer, 1971; Jawetz. et al, 1982). Pseudomonas aeruginosa terdapat sebagai flora normal usus dalam jumlah sedikit dan kebanyakan tidak pathogen. Dapat menjadi pathogen bila daya tahan unggas menurun (Cottral, 1978; Jawetz. et al, 1982). Pseudomonas aeruginosa menghasilkan toxin yang bersifat termostabil (Gallespie dan Timoney, 1981), juga dapat menghasilkan enzim-protease yang dapat mencerna dan merusak protein telur (Board R.G et al, 1979). Bakteri dari genus Pseudomonas diketahui lebih cepat mengadakan penetrasi kedalam kerabang telur yang rusak (Sauter dan Petersen, 1974).

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatip berbentuk batang pendek, bipolar dan kebanyakan motil. Escherichia coli terdapat dalam tanah dan air. Pada suhu 60°C selama 30 menit-bakteri ini mati, tetapi ada juga strain yang resistant (Merchant dan Packer, 1971). Escherichia coli umumnya terdapat sebagai penghuni usus dari unggas sehat dan kebanyakan tidak pathogen, dapat menjadi pathogen bila daya tehan unggas tersebut menurun (Seneviratna. P, 1969; Gross dan Domermuth, 1975; Whiteman dan Bickford, 1979). Melalui faeces ayam Escherichia coli dapat mengkontaminasi kerabang telur. Pada anak ayam yang

baru menetas dapat menyebabkan Omphalitis dan mati pada minggu I setelah penetasan (Gross dan Domermuth, 1975; Gillespie dan Timoney, 1981; Gaedon dan Jordan, 1982).

Secara normal telur yang dikeluarkan induk melalui kloaka telah tercemar bakteri dalam jumlah besar. Ada 15 genera bakteri pada kerabang telur (William, 1973). Meskipun sebagian telur yang dikeluarkan oleh induk ada yang bebas bakteri, tetapi kerabangnya dapat segera terkontaminasi oleh faeces ayam dan keranjang tempat telur. (Frazier, 1976).

Dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada telur yang gagal menetas telah diketemukan beberapa bakteri. Bakteri tersebut yakni, sebagian besar terdiri dari Micrococcus dan Enterobacteriaceae, sedang sebagian kecil terdiri dari Staphylococcus sp., Streptococcus sp., Bacillus sp. dan Pseudomonas sp. (Bruce, 1978).

Telur telur yang disimpan pada temperatur rendah dapat terkontaminasi terutama oleh Pseudomonas sp., Aerobacter sp., Proteus sp. juga dapat terkontaminasi oleh Flavobacterium sp., Alcaligenus sp., Bacillus sp., Micrococcus sp., Streptococcus sp. dan Coliform sp. (Frazier, 1976).

Escherichia coli, Aerobacter, Proteus sp., Salmonella sp., Micrococcus sp. dan Streptococcus sp. dapat diisolasi dari kuning telur embryo ayam yang mati. Pada induk ayam bakteri tersebut biasanya terdapat dalam saluran pencernaan, kulit serta bulu dalam jumlah yang banyak. (Harry, 1957). Escherichia coli dapat menginfeksi ayam dan embryo telur. Kepekaan embryo akan menurun dengan semakin meningkatnya kematangan embryo.

(Powell, J.R dan Finkeilstein, 1966).

Kemampuan bakteri untuk dapat menimbulkan infeksi pada embryo dipengaruhi oleh jumlah bakteri yang masuk kedalam - nya (Poernomo, dkk , 1983).

3 . Mekanisme Kegagalan Telur Untuk Menetas Uleh Bakteri Gram Negatif

Salah satu bakteri yang dapat masuk kedalam telur dan pada umumnya menimbulkan kegagalan menetas adalah Salmonella. Bakteri ini dapat masuk kedalam telur melalui induk ayam yang menderita ovaritis karena Salmonellosis. Bila telur dieramkan maka bakteri ini dapat berkembang biak dalam kuning telur. Bakteri dalam kuning telur diserap oleh foetus lewat umbiliculus sehingga Salmonella masuk kedalam usus foetus akibatnya terjadi enteritis, Septichaemia dan akhirnya mati sebelum menetas atau disebut gagal menetas. Kadang kadang kalau infeksi tidak begitu berat, foetus dapat selamat dan telur menetas menghasilkan anak ayam yang didalam ususnya telah ada Salmonella (Seneviratna, P, 1969).

Telur ayam yang dirusak Salmonella akan berakibat telur rusak semua, sehingga cairan pada kuning telur ataupun pada putih telur dapat mencapai dinding kerabang (outer shell) hingga meresap dalam pori pori kerabang telur. Pada pori pori kerabang telur terdapat Escherichia coli dan Pseudomonas aeruginosa sehingga dengan adanya cairan tadi Escherichia coli ataupun Pseudomonas aeruginosa dapat masuk kedalam telur yaitu telur yang telah rusak (Sauter dan Petersen

1974). Bila telur dapat menetas karena infeksi yang begitu berat maka Escherichia coli dan Pseudomonas yang menempel pada kerabang telur dapat mengkontaminasi dan masuk melalui umbilicus, sehingga menyebabkan Omphalitis (Seneviratna, P, 1969; Gillespie dan Timoney, 1981). Omphalitis atau Mushy chick disease adalah penyakit khas pada anak ayam hasil penetasan pada mesin penetas. Penyakit ini disebabkan oleh sejumlah bakteri yang masuk ketubun anak ayam melalui umbilicus. Penyebab utama diduga karena sanitasi yang kurang baik (Ernest dan Irwin, 1955).

4. Sanitasi Mesin Penetas Dan Telur

Sanitasi merupakan istilah yang merangkum segala sesuatu tindakan pencegahan untuk menjamin kondisi yang sehat. Apabila terjadi kekeliruan pada mesin penetas misalnya sanitasi yang kurang baik, maka akan berakibat pada anak-anak ayam yang dihasilkannya (Poernomo, dkk, 1983). Pada umumnya melalui mesin penetas, sejumlah besar penyakit dapat tersebar seperti Salmonellosis, Colibacillosis, Staphylococcus, Streptococcus, Aspergillosis, Chronik Respiratorius Disease (Anonimus, 1983). Kondisi ruangan didalam mesin penetas berpengaruh terhadap proses penetasan.

Fumigasi dengan gas formaldehid adalah cara dalam mengurangi infeksi bakteri pada incubator. Pada keadaan normal digunakan 20 CC formalin per meter cubic pada incubator. Bila ada wabah Omphalitis formalin harus ditingkatkan 3 kali dari jumlah normal pada penetasan berikutnya (Ernest, dan Irwin - 1955). Perlakuan fumigasi terhadap telur pada suatu pe-

ternakan segera setelah pengumpulan selama 20 menit adalah lebih effectif, daripada fumigasi setelah telur berada dalam mesin penetas. Bakteri telah masuk dan tidak dapat dicapai oleh gas formaldehid. Untuk maksud ini dipergunakan 45 ml formalin (40%) ditambah 30 gram Potasium permanganat untuk tiap meter cubic dari ruangan incubator (Gordon dan Jordan, 1982).

Putih telur merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Apabila telur retak pada waktu penanganan maka harus disingkirkan. Telur yang retak mempermudah pencemaran bakteri dan untuk mengurangi pencemaran dilakukan tindakan sanitasi yang baik (Frazier, 1976).

Telur yang bersih, dimulai dari management ayam petelur, mencegah telur yang kotor, ventilasi dan saluran air yang kurang baik. Telur yang bersih dan telur yang kotor harus dipisahkan. Daya tetas akan menurun apabila telur telur disimpan lebih dari 7 hari (Peterson, 1978).

Kematian embryo dapat disebabkan oleh infeksi bakteri dalam kuning telur. Infeksi bakteri kemungkinan didapat dari penetrasi pada kerabang sebelum telur dimasukkan atau selama telur dalam mesin penetas (Peterson 1978, Salsburry, 1980). Infeksi kantong kuning telur dan Omphalitis sangat merugikan peternak karena dapat menimbulkan kematian pada anak ayam umur 10 hari (sekitar 5% sampai 30%). Salah satu sumber utama dari infeksi kantong kuning telur dan Omphalitis adalah debu. Oleh karena itu, kebersihan kandang ayam serta mesin penetas dan ruangnya memegang peranan penting dalam usaha menghasilkan anak ayam yang sehat (Poernomo, dkk, 1983).

Penetasan telur dengan sanitasi yang baik dan penggunaan mesin penetas dengan betul dapat menghasilkan daya tetas - 86% sampai dengan 90% (Peterson, 1978).



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan.

Bahan penelitian berupa telur ayam tetas yang berumur 10 hari sebanyak 30 contoh, diambil dari suatu perusahaan pembi-bitan ayam. Kemudian dilakukan pemeriksaan bakteriologis ter-hadap kerabang telurnya diLaboratorium Mikrobiologi Fakultas-Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Contoh diambil dari mesin penetas. Tangan, scalpel, pin-set dan alat alat yang digunakan didisinfektant. Dengan scal-pel serta pinset telur diambil lalu dipecah, diambil separuh-kulitnya lalu diremuk dimasukkan kedalam botol steril dibawa-ke laboratorium untuk diperiksa.

Cara Kerja.

Kulit telur yang sudah diremuk didalam botol ditambahkan PZ steril. Kemudian dilakukan pemeriksaan secara laboratoris-Bakteriologis yang meliputi :

1. Pemeriksaan mikroskopis.

A. Pemeriksaan preparat natif.

Pemeriksaan preparat natif bertujuan untuk mempelajari-bentuk dan pergerakan bakteri. Contoh yang berasal dari dalam botol diambil dengan ose diletakkan diatas gelas-alas, ditutup dengan gelas penutup, kemudian diperiksa dengan mikroskop pada pembesaran 1000 X .

B. Pewarnaan .

a. Pewarnaan sederhana.

Pemeriksaan pada preparat pewarnaan sederhana bertujuan

untuk mengetahui bentuk dan struktur (bipolar, kapsul dan spora) bakteri. Contoh yang berasal dari dalam botol diambil dengan ose diletakkan diatas gelas alas (2 - 3 tetes) diratakan hingga permukaannya kira kira 1 cm persegi. Setelah kering, difiksasi diatas nyala api bunsen dan diwarnai dengan Methylen - Blue selama 1 - 3 menit, kemudian dicuci dengan air kran dan dikeringkan kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.

b. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk membedakan bakteri Gram positif dengan yang bersifat Gram negatif. Contoh yang berasal dari dalam botol dengan ose diletakkan pada gelas alas, diratakan hingga permukaannya kira kira 1 cm persegi, setelah kering kemudian difiksasi dengan nyala api bunsen selanjutnya diwarnai dengan carbol gentian violet selama 3 menit, berikutnya ditetesi dengan lugol, kemudian dilunturkan dengan alkohol 96%, dicuci dengan air kran, selanjutnya preparat diwarnai dengan saffranin 2% selama 2 menit, setelah itu dicuci dengan air kran dan dikeringkan dengan kertas penghisap, lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000X. Bakteri yang bersifat Gram positif berwarna violet, sedang Gram negatif berwarna merah.

2. Pemupukan

Pemupukan dilakukan pada Mc.Conkey agar. Pemupukan pada Mc.Conkey agar bertujuan untuk memupuk bakteri yang bersifat Gram negatif dan mempelajari sifat sifat koloni bakteri terseb

but. Contoh diambil dari dalam botol dipupuk secara streak pada Mc.Conkey agar, kemudian dieramkan 37°C selama 24 - 48 jam. Koloni yang tumbuh diperiksa secara mikroskopis dan dipupuk lagi pada Mc.Conkey agar (II), kemudian dieramkan pada 37°C selama 24 - 48 jam untuk pemurnian. Koloni yang tumbuh pada plat agar II (pemurnian) dipupuk lagi pada Mc.Conkey agar miring untuk stock. Stock bakteri ini yang dibutuhkan untuk uji biokimiawi.

3. Uji Biokimiawi

a. Indol test

Indol test bertujuan untuk mengetahui adanya motilitas bakteri dan juga untuk menentukan ada tidaknya pembentukan indol dari perombakan pepton oleh bakteri. Dengan menggunakan needle isolat, bakteri yang berasal dari stock diambil kemudian dipupuk secara stab atau tusuk pada medium indol semi-solid agar lalu dieramkan pada 37°C selama 24 jam. Bakteri yang bersifat motil ditandai dengan pertumbuhan bakteri pada tempat tusukan dan pada media, seperti akar pohon terbalik. Bila bakteri non motil, maka bakteri hanya tumbuh pada tempat tusukan dan tidak pada medium (tetap seperti aslinya). Untuk mengetahui pembentukan indol oleh bakteri maka pada medium ditambahkan reagent kovac dan chloroform sama banyak. Reaksi positif ditandai dengan warna jingga.

b. Medium Triple Sugar Iron Agar

Medium Triple Sugar Iron Agar bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri menfermentasi glukose, lactose dan sukrose serta untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi CO_2 yang

ditandai dengan retak pada medium dan H_2S ditandai dengan warna hitam pada medium. Dengan menggunakan needle isolat, diambil bakteri yang berasal dari stock, kemudian dipupuk secara streak pada agar miring medium TSiA dan dipupuk secara stab pada agar tegak, setelah itu dieramkan pada $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Pada pengamatan jika terbentuk warna kuning pada bagian bawah medium berarti bakteri menfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa.

c. Citrat test

Citrat test bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri membutuhkan garam citrat untuk metabolisme. Dengan menggunakan ose, bakteri diambil dari stock kemudian dipupuk secara streak pada bagian miring lalu dieramkan pada $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Citrat test dikatakan positif bila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

d. Nitrat test

Nitrat test bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit. Dengan menggunakan ose steril, bakteri diambil dari stock, kemudian dipupuk pada medium cair, selanjutnya dikocok pelan pelan dan diinkubasikan, pada suhu $37^{\circ}C$ selama 48 jam. Reaksi positif ditandai dengan pembentukan warna merah muda pada saat penambahan asam sulfat pekat.

e. Urease test

Urease test bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut menggunakan ureum atau tidak. Dengan menggunakan o-

se steril, bakteri diambil dari stock kemudian dipupuk pada medium yang mengandung urea dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Reaksi positif ditandai dengan warna merah muda dan reaksi negatif tanpa perubahan warna (putih).

f. Methyl Red dan Voges Proskauer Test (MR - VP test)

Methyl Red dan Voges Proskauer Test bertujuan untuk mengetahui pembentukan asam dari fermentasi glukosa dan pembentukan acethyl methyl carbinol dari dextrose. Dengan menggunakan needle isolat, bakteri diambil dari stock kemudian dipupuk pada medium MR - VP dengan mengeduk, setelah itu dieramkan pada 37°C selama 3 hari untuk MR test dan VP test selama 5 hari. Pada pengamatan, setelah 3 hari dieramkan, MR test dikatakan positif bila terbentuk warna merah pada medium dengan penambahan reagent MR (1 ml medium menggunakan 1 ml reagent Methyl - Red), hal ini menunjukkan bahwa reaksinya asam, sedang reaksi negatif ditandai dengan tetapnya warna medium (kuning). VP di dikatakan positif bila terbentuk warna merah setelah dieramkan selama 5 hari dengan penambahan larutan alpha naphthol 5 % dan KUH 40 %.

g. Fermentasi test

Fermentasi test bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi gula atau karbohidrat oleh bakteri. Fermentasi test menggunakan medium gula gula yaitu glukosa, lactosa, manitol-maltosa, sukrosa dan Xylosa, medium tersebut berbentuk cair. Dengan menggunakan ose, bakteri diambil dari stock dipupuk pada medium gula gula kemudian dieramkan pada suhu 37°C selama-

24 jam. Pada hasil pengamatan, reaksi dikatakan positif bila terbentuk asam asam yang ditandai dengan perubahan warna medium menjadi kuning dan reaksi negatif ditandai dengan tetapnya warna medium yaitu warna merah.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pada pemeriksaan mikroskopis dari 30 contoh kerabang telur ayam tetes umur 10 hari didapatkan hasil seperti pada-tabel I.

Tabel I : Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap 30 contoh kerabang telur ayam tetes umur 10 hari.			
No. Contoh	Preparat nativ	Pewarnaan sederhana (Methylen Blue)	Pewarnaan Gram
	Pergeseran kuning	Bentuk kuning	Sifat Gram
1	motil	Bk/biru	Gram negatif
2	motil	Bk/biru	Gram negatif
3	motil	Bk/biru	Gram negatif
4	motil	Bk/biru	Gram negatif
5	motil	Bk/biru	Gram negatif
6	motil	Bk/biru	Gram negatif
7	motil	Bk/biru	Gram negatif
8	motil	Bk/biru	Gram negatif
9	motil	Bk/biru	Gram negatif
10	motil	Bk/biru	Gram negatif
11	motil	Bk/biru	Gram negatif
12	-	-	-
13	motil	Bk/biru	Gram negatif
14	-	-	-
15	motil	Bk/biru	Gram negatif
16	-	-	-
17	-	-	-
18	motil	Bk/biru	Gram negatif
19	motil	Bk/biru	Gram negatif
20	motil	Bk/biru	Gram negatif
21	-	-	-
22	-	-	-
23	motil	Bk/biru	Gram negatif
24	motil	Bk/biru	Gram negatif
25	-	-	-
26	-	-	-
27	motil	Bk/biru	Gram negatif
28	-	-	-
29	-	-	-
30	motil	Bk/biru	Gram negatif

Ket: Bk = Batang kecil.

Dari hasil pemeriksaan mikroskopis tersebut didapatkan 20 contoh mengandung bakteri motil atau bergerak yaitu contoh No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 18, 19, 20, 23, 24, 27 dan 30 berbentuk batang kecil, berwarna biru dan bersifat Gram negatif (tabel I).

2. Pemupukan pada medium Mc.Conkey agar didapatkan hasil seperti pada tabel II.

TABEL II (PERUPUKAN BAKTERI GRAM NEGATIF PADA Mc.CONKEY AGAR DARI CONTOH DINDING TELUR AYAM TERUS UMUR 10 HARI)		
No.	MEDIUM Mc.CONKEY AGAR	
Contoh	A. Koloni besar, tidak ter- akur dan berwarna putih keruh	B. Koloni kecil, muc- id dan berwarna ke- merahan
1	+	-
2	+	-
3	+	-
4	+	-
5	+	-
6	+	-
7	+	-
8	+	-
9	+	-
10	+	-
11	+	-
13	+	-
15	+	-
18	+	-
19	+	-
20	+	-
23	+	+
24	+	-
27	+	-
30	+	-

Ket : + = ada pertumbuhan ; - = tidak ada pertumbuhan

Dari 20 contoh pemeriksaan mikroskopis yang mengandung bakteri Gram negatif kemudian dipupuk pada medium Mc.Conkey-agar. Ternyata dari 20 contoh ada 2 macam koloni yaitu No.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 18, 19, 20, 23, 24,- 27, dan 30 koloni besar, tepi tidak teratur dan berwarna bening. Sedangkan contoh No. 10 dan 23 koloninya kecil, mucoid dan berwarna merah (tabel II).

3. Terhadap 20 contoh yang tumbuh pada medium Mc.Conkey agar kemudian dilakukan uji biokimiawi dengan hasil seperti-pada (tabel III).

TABEL III (HASIL Uji BIOKIMIWI).

NO.	MEDIUM	GLUCOSARA	LACTUSARA	NITRIT	NITROS	SUCROSARA	AYLOSSARA	INDOL	NITRAT	HR	VP	CITRAT	UREA	TSIA	
														GA ₄	H ₂ S
1	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
2	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
3	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
4	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
5	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
6	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
7	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
8	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
9	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
10	Mc A	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	Mc B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
11	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
13	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
15	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
18	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
19	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
20	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
23	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	Mc B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
24	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
27	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
30	Mc A	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-

Ket : + = nonfermentasikan
 - = tidak nonfermentasikan .

Pada uji biokimiawi ternyata contoh no.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 18, 19, 20, 23, 24, 27, dan 30 - menfermentasikan glucose, manitol, xylose, tetapi tidak menfermentasikan lactose, maltose dan sucrose. Indol test negatif, Nitrat positif, MR negatif, Vp negatif, Citrat negatif dan Urease negatif. Sedangkan contoh no.10 dan 23 memfermentasikan glucose, lactose, manitol, maltose, sucrose dan xylose, Indol test positif, Nitrat positif, MR positif, VP negatif, Citrat negatif dan Uree negatif. Pada TSIA gas positif dan H_2S negatif (tabel III).

Dengan didapatkan hasil seperti pada tabel III, berarti contoh no.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 18, 19, 20, 23, 24, 27 dan 30 adalah Pseudomonas aeruginosa - sedangkan contoh no.10 dan 23 adalah Escherichia coli. Berarti dari hasil pemeriksaan terhadap 30 contoh kerabang telur ayam tetas umur 10 hari didapatkan 66,6% Pseudomonas aeruginosa dan 6,66% Escherichia coli.

Adanya Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli pada penelitian ini kemungkinan terkontaminasi sebelum atau sesudah berada dalam mesin penetas oleh karena penggunaan fumigasi yang kurang tepat sehingga tidak dapat mencapai bakteri yang berada didalam pori pori kerabang telur.

Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli terdapat sebagai flora normal dalam usus dan merupakan sumber infeksi yang latent (Cottral, 1978; Whiteman dan Bickford, 1979;

Jawetz. et al 1982). Dengan demikian telur yang dikeluarkan dari kloaca dapat terkontaminasi oleh Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli. Bila telur yang terkontaminasi itu dieramkan dan penggunaan fumigasi tidak sampai mencapai bakteri yang berada pada pori pori kerabang maka bakteri ini akan dapat bertahan hidup pada temperatur mesin penetas.

Selain Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli pada kerabang telur ayam juga didapatkan bakteri Gram negatif dari genus Proteus, Aeromonas dan Aerobacter (William 1973). Bakteri dari genus Proteus, Aeromonas dan Aerobacter termasuk didalam family Enterobacteriaceae dan dapat tumbuh pada Mc.Conkey agar. Dengan tidak diketemukan bakteri dari genus Proteus, Aeromonas dan Aerobacter pada penelitian ini berarti bakteri tersebut memang tidak ada pada kerabang telur ayam tetas yang penulis teliti.

Bakteri yang termasuk family Enterobacteriaceae normal terdapat didalam usus seperti Escherichia coli, Proteus sp, Aerobacter sp, Acromonas sp, sedangkan Pseudomonas aeruginosa bukan termasuk family Enterobacteriaceae, tetapi dapat juga diketemukan dalam usus. Dengan demikian kontaminasi oleh bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli pada kerabang telur ayam dapat melalui faeces. Pada penelitian ini, bakteri dari family Enterobacteriaceae yang lain tidak diketemukan kecuali Escherichia coli, yang berarti bahwa kontaminasi oleh Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli bukan berasal dari faeces tetapi kemungkinan besar berasal dari saluran reproduksi ayam yang luka dan terinfeksi.

Dengan didapatkan hasil penelitian yaitu Pseudomonas aeruginosa 20 (66,6%) dan Escherichia coli 2 (6,66%), berarti pada telur ayam tetas yang penulis teliti terjadi infeksi campuran antara Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli. Pseudomonas aeruginosa lebih dominan daripada Escherichia coli, hal ini memang benar karena Pseudomonas aeruginosa membentuk enzim yang disebut Pyocyanase. Pyocyanase ini dapat menghambat atau membunuh beberapa bakteri termasuk Escherichia coli (Merchant dan Packer, 1971).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri Gram negatif dari 30 contoh kerabang telur ayam tetas yang berumur - 10 hari maka didapatkan 2 genus bakteri yaitu Pseudomonas aeruginosa 20 (66,66%) dan Escherichia coli (6,66%).

Dengan didapatkan hasil tersebut diatas dapat diambil kesimpulan bahwa Pseudomonas aeruginosa mendominasi pada kerabang telur ayam tetas dan bakteri tersebut kemungkinan besar berasal dari saluran reproduksi ayam yang luka dan terinfeksi.

SARAN

Untuk menghindari adanya kontaminasi bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli yang normal ada pada usus unggas, maka sebelum masuk mesin penetas telur harus didisinfektir. Sebaiknya didiping dengan larutan Tylen selama 15-menit.

BAB VI

RINGKASAN

Dalam memenuhi kebutuhan protein hewani yang semakin meningkat, khususnya dari telur dan daging ayam maka produksi ditingkatkan dengan jalan mengadakan usaha pembibitan ayam secara besar besaran. Pada proses penetasannya hanya dimungkinkan dengan menggunakan mesin penetas yang dapat digunakan secara effectif dan efisien sehingga dihasilkan bibit ayam dalam jumlah besar dan berkualitas tinggi.

Faktor faktor yang harus diperhatikan selama proses penetasan antara lain kondisi ruangan mesin penetas, kelembaban, ventilasi, pemutaran telur dan posisi telur. Disamping faktor faktor tersebut diatas perlu pula diperhatikan adanya kontaminasi bakteri, terutama bakteri dari Genus Salmonella yang dapat masuk kedalam telur melalui induk ayam yang menderita ovaritis. Bakteri dalam jumlah banyak dapat menyebabkan kematian embryo ayam sehingga gagal menetas .

Dengan menggunakan media selektif yaitu Mc Conkey agar, penulis mencoba melakukan isolasi dan identifikasi bakteri Gram negatip yang terdapat pada dinding telur ayam tetas umur 10 hari.

Untuk mengetahui adanya bakteri pada dinding telur maka contoh diperoleh dengan jalan, telur dipecah lalu diambil separuh kulitnya dan diremuk. Kulit telur yang sudah diremuk dimasukkan kedalam botol lalu ditambahkan PZ steril .

Kemudian dilakukan pemeriksaan laboratoris bakteriologis yang meliputi pemeriksaan mikroskopis, pemupukan dan uji biokimiawi.

Dari hasil pemeriksaan laboratoris bakteriologis terhadap 30 contoh telur ayam tetas yang berumur 10 hari didapatkan hasil sebagai berikut : *Pseudomonas aerogenosa* 20 (66,66%) *Escherichia coli* 2 (6,66%) dan 10 (33,33%) tidak mengandung bakteri Gram negatif.

Dengan demikian untuk berhasilnya suatu penetasan perlu kiranya diperhatikan dalam hal pemilihan telur tetas, sanitasi yang baik pada mesin penetas dan penggunaan mesin penetas dengan tepat .



DAFTAR PUSTAKA

- ANONIMOUS, 1983. Balai Informasi Pertanian, Ujung pandang hal. 1 - 4 .
- ANONIMOUS, 1983. From egg through chicken, Multifarm Hatcheries hal. 1.
- ANONIMOUS, 1984. Menentukan mutu telur, ayam dan telur ed. Maret.
- BERRIL, N.J. 1974. Egg and embryo, Mc.Gill University. The New Book of Knowledge, Vol 5, p. 89 - 90 .
- BOARD, R.G , S.LOSEBY, and V.R.MILES, 1979. A note on Microbial Growth on Hen Egg Shells. Br Poult. sci 20 : 413 - 420.
- BEESELEY, B.T. 1980. Fumigation of Hatching Egg. Poultry Digest, p : 570 - 571.
- CUTTRAL, G.E. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Cornell University Press Ithaca, p - 373 - 378 .
- COWAN, S.T. 1974. Manual for the Identifikasi of Medical Bacteria. 2rd Ed. Cambridge University Press. p : 90 - 93 , 106 - 107.
- DANIEL, G.R.D.A. ROLLAND AND M.A. COLEMAN. 1978 The effect of Egg Shell Quality on Hatchability and Embryonic Mortality. Poultry Science Department. Agriculture Experiment Station. Auburn University. Poult. Sci 58 : 10 - 31 .
- EDDY. 1977. Masalah Tipisnya Kerabang Telur. Majalah Pertanian dan Peternakan 24 (75) : 15 - 16 .

- ERNEST, M.F; M.R.IRWIN. 1955. Hatchery Operation and Management New York. John Wiley & Sons. Inc., London, Chapman & Hall limited. p : 305 - 317 .
- FURUTA, K., and S.MARUYAMA. 1981. Bacterial Contamination, - on Eggs During Incubation and Hatching, Fluff on Newly Hatched Chicks. Br.Poult.Sci., 22 : 247 - 254 .
- FRANK, S. 1981. Early Development of The Avian Immune System. Poult. Sci., 60 : 1981 - 1995
- FRAZIER, W.C. 1976. Food Microbiology 2th Ed University of Wisconsin Mc.Graw Hill Publishing Company, Inc New Delhi - p 297 - 307.
- GROSS, W.B. and CH. DOMERMUTH 1975. Colibacillosis Isolation and Identification of Avian Pathogen, Arnold Prenting - Corporation Ithaca, New York 14850 p : 34 - 37 .
- GILLESPIE, J.H and J.F TIMONEY 1981. HAGAN and BRUNER'S Infectious Diseases of Domestic Animals 7th Ed Comstock Publishing Associates Cornell University. Ithaca and London p.29 - 37 .
- GORDON, R.F. and F.T.W. JORDAN. 1982. Poultry Diseases Chick 2th Ed the English Language Book Society and Bailliere Tindall London p.29 - 37 .
- HARRY, E.G. 1957. The effects on Embryonic Chick Mortality of - Yolk Contamination With From the Hen. Vet Rec 69 (51) - 1433 - 1439
- MERCHANT, I.A. and R.A. PACKER. 1971. Veterinary Bacteriology. 7th Ed. The Iowa State University Press Ames. Iowa. U.S.A. p.251 - 254 , 273 - 277 .

- JAWETZ, E., J.L. MELNICK., and E.A. ADELBERG 1982. Review of Medical Microbiology 14th ed. Lange Medical Publication - Los Altos California. P. 314 - 328.
- OLUYEMI, J.A 1979. Poultry Production in warmet Climates. Rural Science Leaflet. Cornel University pp : 34 - 36.
- PETERSON, E.H. 1978. Servicemen Poultry Health Hand Book University of Arkansas. Fayetteville Ark. pp : 22 - 36.
- POERNOMO, S.; SUPAR.: SUPRUJU dan ISKANDAR. 1983. Sanitasi Mesin Penetas dan Ruangannya. Balai Penelitian Penyakit Hewan Bogor. Penyakit Hewan 15 (25) nal. 87 - 89.
- POERNOMO, S.; SUPRUJU HARJU UTOMO dan ROBINSUN NAPITUPULU. - 1983. Sanitasi Mesin Penetas dan Ruangannya. Balai Penelitian Penyakit Hewan Bogor. Penyakit Hewan 15 (26) hal- 109 - 111.
- POWEL JR, C.J. and R.A. FINKELSTEIN 1966. Virulence of Escherichia coli Strain for Chick Embryo. J. Bacteriology 91 : 1410 - 1417.
- ROBERT, RUGH. 1962. Experimental Embryology, 3rd Ed., Burgess - Publishing Company, Minnesota. pp : 405 - 406.
- SAYID, S. 1978. Syarat syarat telur Tetes Yang baik dan beberapa Faktor yang perlu diperhatikan. Warta pertanian 46 . hal. 45 - 46.
- SALSBUURY, D. 1980. Poultry Health and Management p : 3
- SENEVIRATNA, P. 1969. Disease of Poultry. 2th Ed. uristol - John Wright & Sons Ltd. p. 50 - 55, 68 - 70.

SAUTER, E.A dan CF. PETERSEN 1974. Effects of Egg Shell Quality on Penetration by Various Salmonella. Departemen of Animal Science Industries, University of Idaho, Moscow-
Poult Sci 53 : 2159 - 2162.

WILLIAM, J. 1973. Egg Sciences and Tehnology. pp 47 - 49.

WHITEMAN, C.E AND A.A BICKFORD, 1979. Avian Disease Manual . American Assosiation of Avian Phatologist Department - of Veterinary Microbiology, Texas A&M University Colle
ge Station, Texas. pp 68 - 70 , 93 - 95.



LAMPIRAN I

Medium Mc Conkey Agar.

Komposisi :	(gram/liter)
Pepton dari casein	17.0
Pepton dari daging	3.0
Lactose	10.0
Campuran garam empedu	1.5
Sodium chloride	5.0
Neutral red	0.05
Crystal violet	0.001
Agar agar	13.5

Cara pembuatan :

Larutkan semua zat tersebut diatas dalam 1 liter aquadest, didiamkan 15 menit. Kemudian dididihkan sampai hancur. Setelah melarut dengan baik, bagikan kedalam petridish. Sebanyak 20 ml sesuai dengan kebutuhan. Sterilkan kedalam autoclave 121°C 15 menit. Letakkan hati hati sampai permukaan kering selama - 2 jam dengan penutup setengah terbuka.

LAMPIRAN II .

Triple Sugar Iron Agar (TSIA) .

Bahan :

Formula perliter aquadest

Beef extract	3.000 g
Yeast extract	3.000 g
Peptone	15.000 g
Protosse peptone	5.000 g
Lectose	10.000 g
Sucrose	10.000 g
Glucose	1.000 g
Ferrous sulfate	0.200 g
Sodium thiosulfate	0.300 g
Agar agar	12.000 g
Phenol red	0.024 g
PH	7.4

Cara pembuatan :

Larutkan semua zat tersebut diatas dalam 1 liter - aquadest sampai mendidih. Setelah melarut dengan baik, bagikan kedalam tabung reaksi \bar{a} 5 ml sesuai dengan kebutuhan . Sterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit, sebelum menjadi dingin masing masing tabung diletakkan miring (Anonimus, 1980) .

LAMPIRAN III.

Media gula gula.

Komposisi :

Air pepton	100 ml.
Gula gula	2 g .
Phenol red	1 ml.

Cara pembuatan :

Gula gula dilarutkan dalam air peptone, setelah larut sempurna kemudian ditetesi Phenol red. Dibagikan kedalam tabung reaksi masing masing 3 ml, lalu disterilkan dalam autoclave 121°C selama 24 jam untuk melihat ada tidaknya kontaminasi (Anonimus, tanpa tahun).

LAMPIRAN IV

Medium nitrat .

Komposisi :

Air pepton	100 g.
Kalium nitrat	2 g.

Cara pembuatan :

Kalium nitrat dilarutkan dalam air pepton sampai larut sempurna. Kemudian dibagikan kedalam tabung reaksi masing masing 3 ml. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit (Anonimus, tanpa tanun).



LAMPIRAN V.

Media Methyl Red - Voges Proskauer.

Komposisi :

Buffered pepton	7 g.
Dipotassium phosphate	5 g.
Dacto dextrose	5 g.

Cara pembuatan :

Larutkan semua zat tersebut diatas kedalam 1 liter aquadest. Kemudian dibagi dalam tabung reaksi masing masing 5 ml. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit (Anonimus, tanpa tahun).



LAMPIRAN VI.

Medium Semi Solid Agar.

Komposisi :

tryptose	5 g.
Sodium chloride	5 g.
Agar agar	4 g.

Cara pembuatan :

Larutkan semua zat tersebut diatas kedalam 1 liter aquades. Kemudian panaskan sampai mendidih sehingga bahan tersebut melarut semua. Bagikan dalam tabung reaksi masing masing 3 ml, lalu disterilkan pada temperatur 121°C selama 15-menit (Anonimus, tanpa tahun).