

SKRIPSI

**ISOLASI IDENTIFIKASI DAN PERHITUNGAN
ESCHERICHIA COLI PADA CAECUM
AYAM BURAS**



OLEH :

TRI PALUPI RATNANINGTYAS

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1993**

SKRIPSI

**ISOLASI IDENTIFIKASI DAN PERHITUNGAN ESCHERICHIA COLI PADA
CAECUM AYAM BURAS**

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan**

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

oleh

Tri Palupi Ratnaningtyas

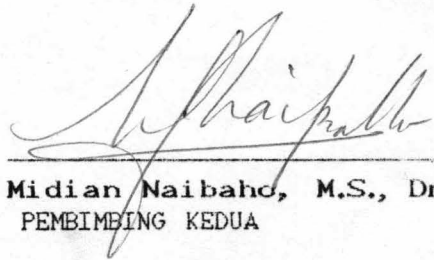
068811419

Menyetujui :

Komisi Pembimbing



**Ratih Ratnasari, S.U., Drh.
PEMBIMBING PERTAMA**

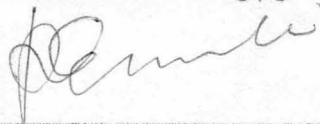


**Midian Naibaho, M.S., Drh.
PEMBIMBING KEDUA**


Setelah mempelajari dan menguji dengan
sesungguh-sungguhnya, kami berpendapat bahwa tulisan ini
baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diartikan
sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN
HEWAN.**

Menyetujui :

Panitia Penguji



Rahaju Ernawati, M.Sc., Drh.
(Ketua)



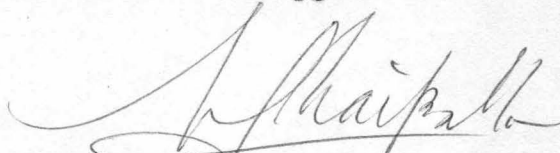
Ajik Azmijah, S.U., Drh.
(Sekretaris)



E. Djoko Poetranto, M.S., Drh
(Anggota)



Rr. Ratih Ratnasari, S.U., Drh.
(Anggota)



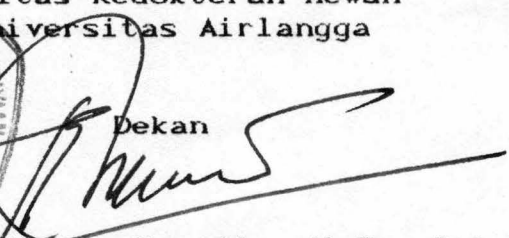
Midian Naibaho, M.S., Drh
(Anggota)

Surabaya, Nopember 1993



**Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga**

Dekan



Dr. H. Rechimam Sasmita, M.S., Drh.

NIP : 130350793

**ISOLASI IDENTIFIKASI DAN PERHITUNGAN
Escherichia coli PADA CAECUM
AYAM BURAS**

Tri Palupi Ratnaningtyas

I N T I S A R I

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat biokimiawi, morfologi dan berapa jumlah perkiraan *Escherichia coli* yang terdapat pada daerah caecum Ayam Buras.

Sebanyak tiga puluh caecum yang diambil dari tiga puluh ekor ayam Buras dipergunakan sebagai sampel dan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis kemudian diuji biokimiawui dengan menggunakan media MCB, EMB dan Pepton. Untuk mengetahui berapa jumlah perkiraan kuman dalam penelitian ini dipergunakan metode MPN. Sedangkan uji t dipergunakan untuk mengetahui seberapa jauh perbedaan masing-masing sampel yang digunakan.

Hasil penelitian menunjukkan terdapatnya kuman *Escherichia coli* berbentuk batang bergerak dan termasuk golongan gram negatif. Uji biokimiawinya menunjukkan bahwa *Escherichia coli* menghasilkan gas, membentuk asam, dapat memfermentasikan laktosa dan membentuk indol. Secara statistik jumlah bakteri *Escherichia coli* tidak berbeda nyata menurut uji t walaupun untuk masing-masing sampel jumlahnya bervariasi.

U C A P A N T E R I M A K A S I H

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat yang dilimpahkanNya, sehingga penyusunan naskah skripsi mengenai Isolasi Identifikasi dan perhitungan *Esherichia coli* ini dapat diselesaikan.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Drh. Rr. Ratih Ratnasari, S.U., selaku pembimbing pertama dan Bapak Drh. Midian Naibaho, MS, selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan, saran dan nasehat selama penelitian maupun penyusunan naskah ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Drh. H. Rochiman Sasmita, MS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta semua pihak yang telah membantu dan memberi dorongan serta fasilitas kepada penulis sehingga penyusunan naskah ini tepat pada waktunya.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada ibu tercinta, almarhum ayah dan kakakku yang telah memberikan dorongan semangat serta restunya selama penulisan ini.

Surabaya, Maret 1994

P e n u l i s

D A F T A R I S I

INTISARI

UCAPAN TERIMA KASIH	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I : PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Landasan Teori	3
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Hipotesa	4
1.6. Manfaat Penelitian	4
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Sistem Pencernaan Unggas	6
2.2. Escherichi coli	10
BAB III : MATERI DAN METODE PENELITIAN	15
3.1. Materi Penelitian	15
3.2. Metode Penelitian	16
3.3. Cara Kerja	17
3.4. Penentuan Jumlah Escherichi coli	22
3.5. Analisa Data	22

BAB IV : HASIL PENELITIAN	24
BAB V : PEMBAHASAN	30
BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN	35
RINGKASAN	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Nomor :

1.	Anatomi sistem pencernaan Unggas	6
2.	Media MCB sebelum ditanami Kuman	48
3.	Media MCB setelah ditanami Kuman	48
4.	Koloni <i>Escherichia coli</i> pada media EMB	49
5.1.	Media Pepton sebelum ditanami <i>Escherichia coli</i> ...	50
5.2.	<i>Escherichia coli</i> membentuk indol pada media Pepton	50
6.	Bentuk <i>Esherichia coli</i> pada pemeriksaan mikroskopis	49
7.	Kurva Distribusi t	46

DAFTAR TABEL

Nomor :

1.	Hasil Femupukan pada Broth	25
2.	Hasil Pertumbuhan Escherichia coli pada EMB	26
3.	Hasil Uji indol terhadap kuman yang berwarna hijau metalik	28
4.	Hasil pemeriksaan mikroskopis kuman dengan native dan pewarnaan gram	29
5.	Tabel Mc Crady's	52

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor :

1. Komposisi M.C.B	40
2. Komposisi E.M.B	41
3. Komposisi Pepton	42
4. Data jumlah <i>Escherichia coli</i>	43
5. Contoh perhitungan <i>Escherichi coli</i> yang di ambil secara random	44
6. Sebaran data dan simpangan deviasi	45
7. Skema Metode Probable of Number	51

BAB I

P E N D A H U L U A N

1.1. Latar Belakang Masalah

Kejadian penyakit pada ternak dewasa ini sangat tinggi prosentasenya terutama yang disebabkan oleh bakteri. Hal ini dikarenakan para peternak masih kurang memperhatikan sanitasi lingkungan dimana hewan - hewan dternakkan atau kurang sempurnanya sistem manajemen peternakan. Seperti cara pemberian makan, air minum, bagaimana cara pengelolaan kotoran - kotoran ternak yang kesemuanya dapat meinimbulkan penyakit.

Ayam Buras (bukan ras) merupakan jenis ternak unggas yang banyak dipelihara oleh masyarakat, khususnya di pedesaan. Pada umumnya ayam Buras dipelihara secara tradisional tanpa diberi kandang, pakan yang teratur dan di biarkan bertengger didahan atau tidur di emperan rumah.

Sistem pemeliharaan yang masih tradisional seperti diatas akan mengakibatkan tingkat produktifitas rendah disamping faktor penyakit yang dapat menyerang setiap saat.

Pemerintah telah memberikan perhatian terhadap bidang peternakan khususnya unggas. Bentuk perhatian ini salah satunya diwujudkan dalam suatu program intensifikasi

ayam Bukan Ras (INTAB). (Anonimous, 1986). Adapun tujuan dari program intensifikasi ini adalah untuk meningkatkan gizi keluarga didaerah rawan gizi, meningkatkan income perkapita serta meningkatkan populasinya. Sebenarnya ayam Buras mempunyai potensi cukup besar dalam menyumbangkan daging dan telur, jika saja pola pemeliharaannya terencana dan terarah dengan baik.

Sebenarnya populasi ayam Buras di Indonesia cukup banyak yaitu sekitar 165 juta ekor (Eka, 1990). Mengingat jumlah ayam Buras yang begitu besar dengan tingkat produktifitas yang masih rendah maka ayam Buras mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan dan diarahkan menjadi usaha-usaha untuk meningkatkan produktifitasnya baik itu produksi telur ataupun produksi daging.

Banyak kendala yang harus dihadapi dalam usaha untuk meningkatkan produksi ayam Buras baik itu produksi telur maupun produksi daging. Faktor penyakit diantaranya merupakan faktor yang tak kalah pentingnya selain sistem manajemen yang tersusun dengan baik.

1.2. Perumusan Masalah

Pada saat ini permintaan terhadap kebutuhan daging sebagai sumber protein hewani terus meningkat sejalan dengan pertumbuhan penduduk yang semakin bertambah.

Kendala yang harus dihadapi dalam usaha untuk meningkatkan produktifitas daging dan telur dari Ayam Buras adalah faktor penyakit yang merupakan faktor terpenting.

Diantara sekian banyak penyakit yang disebabkan oleh bakteri salah satunya ialah *colibacillosis* yaitu suatu keadaan penyakit pada hewan yang disebabkan oleh kuman *Escherichia coli* atau yang disebut juga *Bacillus coli* atau *Colon bacillus*.

1.3. Landasan Teori

Kuman *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam tubuh hewan dimana *Escherichia coli* dapat menjadi patogen dalam keadaan yang kurang baik pada hewan tersebut, seperti lingkungan yang jelek, cara berternak yang salah atau keadaan lain yang dapat menyebabkan bertambah suburnya kuman *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan melebihi dalam keadaan normalnya. Hal inilah yang dapat menyebabkan sakit.

Untuk dapat meneliti sifat - sifat *Escherichia coli* disini peneliti bermaksud mengisolasi, mengidentifikasinya dan menghitung kuman tersebut.

Adapun daerah yang diambil untuk pengamatannya adalah pada lokasi caecum ayam Buras.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian Isolasi Identifikasi dan Perhitungan *Escherichia coli* pada caecum Ayam Buras ini adalah :

1. Mengetahui sifat-sifat biokimiawi serta morfologi *Escherichia coli* terhadap media MCB, EMB dan pepton.
2. Mengetahui jumlah perkiraan *Escherichia coli* yang terdapat pada caecum Ayam Buras.

1.5. Hipotesa Penelitian

Berdasarkan hal tersebut diatas peneliti bermaksud menyusun beberapa hipotesa yaitu :

1. Terdapatnya *Escherichia coli* dalam masa tinja caecum Ayam Buras.
2. Terdapatnya perbedaan jumlah *Escherichia coli* pada beberapa sampel yang digunakan.

1.6. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang sifat biokimiawi dan morfologi *Escherichia coli* serta berapa jumlah perkiraan kuman tersebut dalam satu gram sampel.

Mengingat *Escherichia coli* dapat menimbulkan penyakit diharapkan dari informasi ini dapat diusahakan cara pencegahan supaya *Escherichia coli* tidak melebihi jumlah normalnya.

Dari informasi ini kemungkinan dapat diketahui fungsi caecum pada golongan unggas yang selama ini belum jelas fungsinya.

BAB II

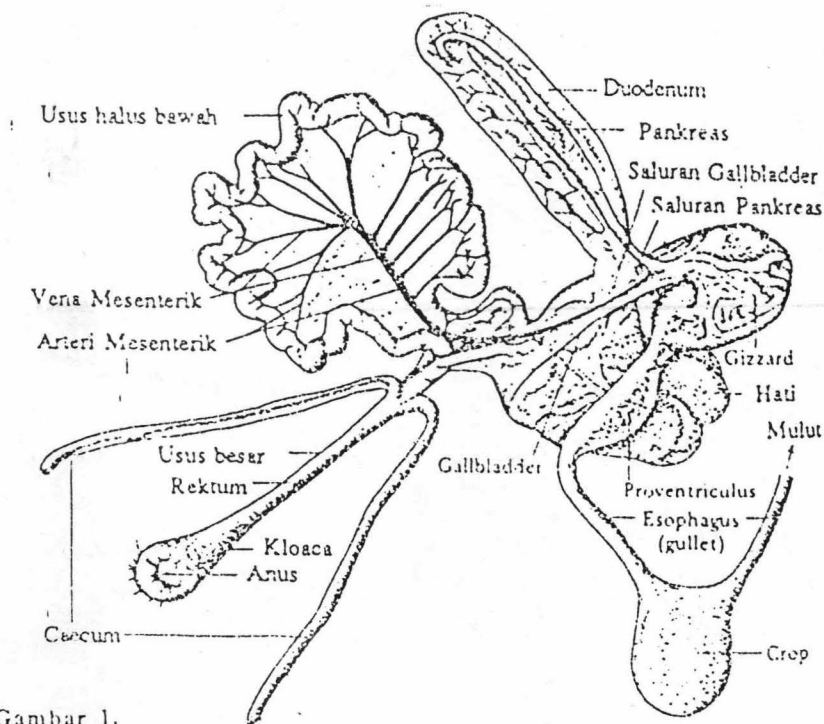
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. SISTEM PENCERNAAN PADA UNGGAS

Sistem pencernaan pada Unggas berbeda dari sistem pencernaan pada mamalia, dalam hal ini Unggas tidak mempunyai gigi guna memecah makanan secara fisik.

Pencernaan adalah penguraian bahan makanan ke dalam saluran pencernaan untuk dapat diserap dan digunakan oleh jaringan-jaringan tubuh. (Anggorodi, 1985). Pada pencernaan tersangkut suatu seri proses mekanis dan chemis yang dipengaruhi oleh banyak faktor.

Untuk kejelasan, saluran pencernaan monogastrik pada Unggas dibagi menjadi beberapa bagian seperti yang ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 1.
Sistem pencernaan unggas. (Card and Nesheim, 1972).

2.1.1. Mulut

Ayam tidak memiliki gigi atau pinggiran paruh yang bergerigi, sehingga pada Ayam tidak terjadi pengunyahan. Lidah membantu pada waktu makan karena ada bagian bercabang pada daerah belakang yang mendorong pakan turun ke dalam kerongkongan. Saliva dalam jumlah sedikit di keluarkan dalam mulut untuk membantu pada proses penelanan.

2.1.2. Kerongkongan dan Tembolok

Kerongkongan adalah saluran yang menuju ke tembolok (crop) terus berlanjut ke proventriculus. bagian ini memiliki kemampuan yang besar untuk mengembang.

Pakan . disimpan dalam tembolok hanya sementara. Suatu perlunakan dan pencernaan pendahuluan terjadi disini oleh kerja enzim. (Blakely, Bade, 1991).

2.1.3. Perut Kelenjar (Proventriculus)

Perut mengeluarkan asam lambung terutama asam hidroklorat dan enzim pepsin yang melakukan pemecahan protein menjadi asam amino. (Card & Nesheim, 1972).

2.1.4. Empedal (*Ventriculus*)

Dari luar bagian ini tampak besar sekalipun lumennya kecil. Dinding *ventriculus* sangat tebal tersusun oleh dua buah otot polos yaitu : *muskulus lateralis* dan *muskulus intermedius*. Fungsi *ventriculus* adalah sebagai alat pencernaan mekanis yang juga dibantu oleh grid yang biasa ditelan oleh ayam (Suharsana dkk, 1989).

2.1.5. Usus Halus

Sebagian besar pencernaan terjadi dalam usus halus. Cairan usus adalah enzim-enzim yang disekresikan untuk memecah gula dan zat-zat pakan lainnya menjadi bentuk yang lebih sederhana dimana hasil pemecahan tersebut sisalurkan ke aliran darah. Gerakan peristaltik (kontraksi otot polos) juga terjadi disini untuk mendorong bahan-bahan dalam sistem pencernaan ini ke ceca dan rektum. (Nesheim, Austic & Card, 1979).

2.1.6. *Caecum*

Caecum dapat disamakan dengan usus buntu pada manusia dimana pada *caecum* terdapat beberapa mikroorganisma yang dapat menghasilkan beberapa vitamain dan vitamin ini berperan penting pada proses pencernaan.

Pada bangsa Unggas ada dua buah caecum yang membentang panjang dari colon sampai ke ujungnya yang buntu. Adapun panjang dari caecum ini adalah sekitar 4 sampai 6 cm. Hal ini tentunya tergantung dari umur dan ras masing-masing. (Card & Nesheim, 1972).

2.1.7. Usus Besar dan Kloaka

Usus besar adalah kelanjutan saluran pencernaan dari persimpangan usus buntu ke kloaka. Kloaka merupakan pertemuan atau muara bagi saluran pengeluaran sistem pencernaan, urinaria dan genital.

2.1.8. Organ-organ Tambahan

Hati dan pankreas membantu menghasilkan sekresi untuk pencernaan, meskipun pakan itu sendiri tidak melalui organ tersebut. Lagi pula untuk beberapa fungsi lainnya hati mengeluarkan empedu, yang ditampung di kantong empedu dan digunakan oleh tubuh untuk mengemulsikan lemak sebagai persiapan untuk pencernaan. Hati juga menyimpan energi tersedia yang siap pakai (glikogen).

Sedangkan pankreas mengsekresikan enzim amilase, tripsin dan lipase untuk membantu

pencernaan karbohidrat, protein dan lemak. Metabolisma gula juga diatur oleh hormon insulin. (Blakely, Bade, 1985).

2.2. ESCHERICHIA COLI

2.2.1. Sinonim dan sejarahnya

Seperti dikemukakan pada bab pendahuluan *Escherichia coli* sinonimnya adalah *Bacillus coli* = *Bacterium coli* = *Colon bacillus*. Disebut demikian karena kuman tersebut berbentuk batang dan banyak terdapat di daerah colon.

Escherichia coli pertama kali ditemukan oleh Escherich pada tahun 1885 yang di isolasi dari feces anak-anak. Sejak itu kemudian disebut dengan *Escherichia coli* yaitu suatu kuman berbentuk batang bergerak dengan habitat hidupnya pada daerah colon. (Marchant & Packer, 1971).

2.2.2. Penyebaran dan Penularan

Escherichia coli tersebar luas di alam, mudah berkembang di berbagai media sehingga makanan atau minuman yang tercemar oleh *Escherichia coli* merupakan sumber penyebab penyakit. (Anonymous, 1986).

Escherichia coli dilaporkan pernah diisolasi dari telur ayam normal. Menurut Hofstad

et al (1984) mengatakan bahwa antara 0.5-6 % telur ayam normal mengandung kuman *Escherichia coli*.

Melalui udara pernafasan *Escherichia coli* juga dapat ditularkan. Setiap gram debu yang terdapat dalam kandang ayam mengandung sekitar $10^5 - 10^6$ kuman. (Hofstad et al, 1984).

2.2.3. Morfologi dan Pewarnaan

Escherichia coli berbentuk batang pendek dengan ukuran $0,5 \times 1 \div 3 \mu$. Bentuk ini kadang - kadang bervariasi dari cocoid bipolar hingga filament panjang, biasanya terletak sendiri - sendiri jarang membentuk rantai, tidak membentuk spora. (Marchant & Packer, 1971).

Biasanya dapat bergerak dengan flagela peritrichous, tetapi beberapa strain tidak mempunyai flagela. Kuman ini mudah diwarnai dengan pewarnaan biasa.

2.2.4. Pertumbuhan dan sifat - sifat

Escherichia coli bersifat aerobik dan fakultatif anaerobik pada perbenihan yang mengandung karbohidrat. Pertumbuhan *Escherichia coli* dapat berlangsung pada suhu $15 - 45^{\circ}\text{C}$ tetapi paling baik pada suhu 37°C . Oleh sebab itu kuman *Escherichia coli* mudah ditemukan di sembarang

tempat. Kadar keasaman bagi pertumbuhannya adalah netral (pH = 7).

Tumbuh baik pada media biasa tanpa diperkaya. Pada plat agar koloni umumnya berwarna putih, putih kekuningan, coklat atau kuning keemasan tergantung usia pupukan. Koloni terlihat basah, mengkilat, lembut dan bulat dengan sisi yang rata. Pada media cair membentuk kekeruhan yang merata (homogen) dan berbentuk sedimen yang pekat. (Merchant dan Packer, 1971).

Untuk mengidentifikasi *Escherichia coli* digunakan Eosin Methilen Blue agar. Pada medium ini koloni membentuk pusat yang kehitam - hitam seperti metalik. Pada Litmus Laktosa agar koloni berwarna merah dan membentuk zone yang berwarna merah disekitar koloni. (Edward & Ewing, 1972).

2.2.5. Daya tahan / Resistensi

Escherichia coli biasanya terbunuh atau mati pada temperatur 60°C selama 30 menit, tetapi ada juga yang resisten. Beberapa sel *Escherichia coli* dapat hidup di dalam es atau suhu pembekuan hingga 6 bulan. 95 % sel kuman dapat terbunuh selama 2 jam pada suhu pembekuan. (Merchant dan Packer, 1971).

2.2.6. Sifat - sifat Biokimia

Escherichia coli membentuk asam dan gas dari glukosa, laktosa, fruktosa, galaktosa, arabyosa, xylosa, rhamnosa dan manitol kadang - kadang menguraikan sukrosa, raffinosa, salicin, eskulin, dulsital dan glicerol. Jarang menguraikan peptin dan adonital tidak mengurai dextrin, pati atarch, glikogen dan isonitol.

Dengan Methil Red test *Escherichia coli* bereaksi positif, Veges Proskauer negatif, katalase positif, tidak mencerna/mencairkan gelatin, indol positif, mereduksi nitrat, mengkoagulasikan susu tanpa peptonisasi, mengoksidasi kentang menjadi warna coklat tua dan tidak membentuk H₂S. (Soltys, 1963).

2.2.7. Struktur Antigen dan Toksin

Ada tiga antigen *Escherichia coli* yaitu : O, K dan H antigen. Strain tertentu ada yang menghasilkan enterotoksin. Yaitu suatu toksin yang spesifik bagi sel-sel usus dimana toksin ini dapat menimbulkan gejala keracunan makanan. (Michael, Pelczar & Chan, 1988).

2.2.8. Keganasan

Escherichia coli yang baru diisolasi dari penderita dapat mematikan marmut, tikus putih dan kelinci dalam waktu 24 jam. Kematian hewan percobaan tadi kerana disebabkan *peritonitis fibrio purulenta* dan pada beberapa kasus karena *septikemia*.

Pada hewan besar *Escherichia coli* biasanya mengambil bagian dalam infeksi sekunder. Karena mudahnya *Escherichia coli* tumbuh pada media maka sering dapat diisolasi dari beberapa sumber.

Pada pedet penyakit yang di sebabkan oleh *Escherichia coli* disebut Calf disentri, White scours, atau Colibacillosis. (Ratih & Suryanie, 1989).

Infeksi *Escherichia coli* pada ayam dapat menimbulkan serangkaian macam penyakit. Seperti Hjarre's disease, omphalitis, air sac disease, peritonitis, salpingitis disamping colibacillosis itu sendiri. (Anonimous, 1982).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Adapun waktunya dilakukan pada bulan Maret 1993 dan selesai kira-kira dalam waktu \pm 2 minggu.

3.1. Materi Penelitian

3.1.1. Sampel

Tractus Digestifus dari ayam Buras yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian caecum yang diambil dari salah satu rumah pemotongan ayam di Surabaya. Jumlah sampel adalah 30 ekor ayam, yang diambil bagian sekumnya. Masing - Masing sekum dimasukkan dalam kantong plastik kemudian disimpan dalam termos yang sudah berisi es.

3.1.2. Alat - alat

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : pinset, scalpel, gunting bedah, tempat sampel, neraca, mortir, cawan petri, rak tabung, pipet, tabung reaksi, tabung durham, ose, pembakaran bunsen dan inkubator.

3.1.3. Media dan zat kimia

- 3.1.3.1. Mac.Conkey Broth yaitu media untuk kuman coliform dan *Escherichia coli*.
- 3.1.3.2. Eosin Methylene Blue agar, media untuk mengisolasi dan mendeferensiasi kuman gram negatif yang berasal dari saluran pencernaan.
- 3.1.3.3. Larutan Pepton 1% sebagai media untuk uji indol.
- 3.1.3.4. Reagen Kovach.
- 3.1.3.5. PZ untuk larutan pengencer.

3.2. Metoda Penelitian

Untuk isolasi dan identifikasinya dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis dari bahan sebelum ditanam dan setelah pemupukan. Pada pemeriksaan sebelum isolasi dipergunakan preparat native, sedangkan pemeriksaan mikroskopik setelah isolasi selain native dipergunakan pewarnaan secara sederhana, pewarnaan dengan methilen Blue dan pewarnaan gram. Hal ini dimaksudkan untuk membedakan apakah kuman tersebut termasuk golongan gram negatif atau gram positif.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda MPN (Most Probable Number) yaitu suatu cara untuk menghitung jumlah kuman *Escherichia coli* dalam bahan yang dicurigai. MPN dapat diartikan jumlah perkiraan terdekat

kuman *Escherichia coli* dalam daerah sekum ayam buras. Untuk mengetahui berapa jumlah kuman *Escherichia coli* dalam tiap pengenceran dapat dilihat pada tabel Mc. Crady's (tabel 5).

3.3. Cara kerja

Cara kerja yang ditetapkan dalam penelitian ini adalah berdasarkan metode MPN dari Mc. Crady's. Caecum ayam Buras diambil masing-masing sebanyak lima cecum. Tiap-tiap sampel tersebut dimasukkan dalam kantong plastik bersih dan segera dikirim ke laboratorium untuk diperiksa.

Langkah-langkah pengerjaannya adalah sebagai berikut :

Persiapan dan Penanaman Media: sterilisasi terhadap semua alat yang digunakan, yaitu alat-alat yang bersifat tahan panas dilakukan dengan menggunakan otoklav, sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas dengan menggunakan alkohol 70 %.

Pembuatan suspensi massa tinja caecum ayam Buras : caecum ayam Buras dikeluarkan dari kantong plastik dengan menggunakan pinset, kemudian dipotong dengan gunting untuk dikeluarkan isinya. Setelah itu diambil sebanyak 1 gram. Sampel tersebut dimasukkan dalam mortir untuk dihaluskan dengan menambah 9 ml PZ. Langkah selanjutnya adalah pembuatan suspensi massa tinja dengan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} .

Cara-cara pembuatan media tercantum dalam lampiran 1, 2 dan 3.

3.3.1. Pemupukan pada Media Mac Concey Broth (MCB).

Menyediakan 15 tabung reaksi yang masing-masing telah berisi MCB sebanyak 9 ml serta tabung Durham didalamnya dengan posisi terbalik. Tambahkan masing-masing 1 ml suspensi fecal matter caecum ayam Buras dari mortir kedalam 5 tabung MCB. Berilah tanda 10^{-1} dan dari sini diambil sebanyak 1 ml untuk dibuat pengenceran 10^{-2} .

Seterusnya dari 10^{-2} diambil 1 ml untuk dibuat pengenceran 10^{-3} . Setelah ke 15 tabung MCB tadi telah ditanami kemudian dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu inkubasi 37°C selama 24 jam.

Setelah masa inkubasi, tiap tabung dari tiap seri pengenceran diperiksa. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap jumlah tabung reaksi yang mengalami pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan kriteria yang ada. Bakteri ini tumbuh pada media MCB ditandai dengan adanya perubahan warna dari merah jernih menjadi kuning keruh. Serta tabung Durham yang semula tidak terangkat akan menjadi terangkat karena adanya gas pada permukaan tabung tersebut.

3.3.2. Penanaman pada Media Eosin Methylene Blue Agar. (EMB).

Dari tiap-tiap tabung reaksi yang positif, perbenihannya dipindahkan kedalam media padat EMB. Adapun cara penanamannya adalah : cawan petri yang sudah berisi EMB agar dibagi dulu menjadi 5 bagian sesuai dengan jumlah tabung dan tandailah untuk masing-masing cawan sesuai nomor pengenceran. Satu cawan petri yang telah berisi EMB agar berlaku untuk satu seri pengenceran. Kemudian lakukan streak dengan menggunakan ose. Langkah selanjutnya adalah menginkubasi cawan-cawan yang sudah ditanami tersebut kedalam inkubator dengan suhu sekitar 37°C selama 24 jam.

Setelah masa inkubasi seluruh cawan yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dicatat dan dihitung dengan menggunakan tabel Mc. Crady's. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada media Eosin Methylene Blue Agar dengan membentuk koloni berwarna hijau metalik dengan diameter 2 mm sampai dengan 3 mm. Dari masing - masing petak perbenihan pada satu seri pengenceran yang terdapat indikasi warna hijau metalik dicatat dan disesuaikan dengan tabel Mc. Crady's untuk mengetahui berapakah jumlah kuman tersebut.

3.3.3. Penanaman pada larutan pepton 1 % .

Penanaman pada larutan pepton 1 % adalah sebagai persiapan untuk melakukan tes indol. Cawan petri dari setiap seri pengenceran yang menunjukkan koloni berwarna hijau metalik dengan ose dipindahkan ke dalam larutan pepton 1 %. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C. selama 24 jam.

Setelah masa inkubasi seluruh tabung reaksi pepton yang sudah ditanami, ditetesi dengan reagen kovac sebanyak 0,3 ml melalui dinding tabung. Reaksi Indol positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada lapisan atas tabung yang berbentuk cincin.

3.3.4. Pemeriksaan mikroskopis

1. *Pemeriksaan Preparat Natip.*

Bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan bakteri, dari perbenihan murni diambil dengan ose steril diletakkan diatas obyek glas ditambah dengan 1 tetes aquadest dicampur sampai merata kemudian ditutup dengan cover glas, lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Untuk memperjelas obyek yang akan diamati pada perbesaran 1000 ini ditambah minyak emersi.

2. *Pewarnaan Methylen Blue*

Bertujuan untuk mengetahui morfologi bakteri adanya kapsul dan strukturnya. Pewarnaan ini dilakukan dengan menggunakan obyek glas yang bebas lemak, bakteri diambil dari pupukan EMB dengan ose steril kemudian dibuat preparat ulas. Setelah itu diwarnai dengan Methylen Blue selama 3 menit kemudian dicuci dengan air kran, dikeringkan dengan kertas penghisap lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi. Pada pemeriksaan terlihat bakteri berbentuk batang.

3. *Pewarnaan Gram*

Bertujuan untuk membedakan reaksi bakteri terhadap pewarnaan gram sehingga dapat diketahui media yang cocok. Bakteri gram positif berwarna violet dan gram negatif berwarna merah. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan obyek glas yang bebas lemak yang sebelumnya telah ditetesi dengan larutan PZ untuk pengencer. Bakteri diambil dari pupukan pada EMB dengan ose steril dan dibuat preparat ulas, dikeringkan lalu difiksasi diatas api.

Setelah itu diwarnai dengan carbol gentian violet selama 3 menit. Setelah itu dilunturkan dengan alkohol 96 %, kemudian dibuang lalu ditetesi lugol selama 2 menit. Setelah itu dilunturkan dengan alkohol 96 % kemudian dicuci dengan air kran lalu diwarnai dengan safranin selama 3 menit, dicuci dengan air kran lalu dikeringkan dengan kertas penghisap. Kemudian diperiksa dibawah mikroskaop dengan perbesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi. Pada pewarnaan gram bakteri tampak berwarna merah berarti bersifat gram negatif.

3.4. Penentuan jumlah *Escherichia coli*.

Untuk perhitungan mengenai jumlah *Escherichia coli* dihitung dari jumlah bagian cawan yang mengandung indikasi kuman berwarna hijau metalik dari tiap seri pengenceran secara berurutan. Yaitu dari pengenceran tertinggi sampai ke pengenceran terendah. Setelah dicatat kemudian disesuaikan dengan tabel Mc Crady's.

3.5. Analisis data.

Setelah diketahui hasilnya, data yang diperoleh ditabulasi dan diuji dengan menggunakan distribusi t (Koesriningrum, 1989). Hal ini dimaksudkan untuk

mengetahui seberapa jauh kemungkinan perbedaan jumlah *Escherichia coli* yang berasal dari caecum ayam Buras dengan mengambil secara acak sebanyak sepuluh nomor pengamatan. Dari sini diharapkan akan diketahui harga rata-rata populasi, harga rata-rata sampel dan berapa standard deviasi sampel yang digunakan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian terhadap 30 sampel caecum Ayam Buras yang diambil masa tinjanya didapatkan hasil seperti dibawah ini :

Dari 30 caecum terdapat 29 sampel yang dapat terisolasi. Dengan demikian prosentasenya dapat dituliskan sebagai berikut :

Banyaknya Sampel	<i>Escherichia coli</i> +	<i>Escherichia coli</i> -	%
30	29	1	96,6

Jadi prosentase *Escherichia coli* yang dapat terisolasi adalah sebesar 96,6 % dari jumlah sampel.

Hasil Pemupukan Pada Media Mac Conkey Broth.

Dari 30 sampel yang diperiksa hampir semuanya menunjukkan positif adanya *Escherichia coli*. Hal ini terlihat dari perubahan warna larutan dan terbentuknya gas, yang dapat dilihat dari tabung Durham yang terangkat kepermukaan. (Lihat tabel 1).

Tabel 1. Hasil pertumbuhan *Escherichia coli* pada Broth.

S A M P E L	B R O T H														
	10 ⁻¹					10 ⁻²					10 ⁻³				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
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	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan :

[+] : Terbentuk gas, warna berubah menjadi kuning.

[-] : Tidak terbentuk gas, tidak merubah warna.

Hasil Perhitungan *Escherichia coli* Dengan Menggunakan Metode MPN. (Tabel 2).

MPN adalah jumlah terdekat dari kuman *Escherichia coli* yang sedang diamati. Jumlah *Escherichia coli* tertinggi didapatkan sebanyak 430 per gram fecal. Sedangkan jumlah terendah adalah 15 per gram.

Tabel 2. Hasil pertumbuhan E. coli pada EMB

Sam pel	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	MPN
1	4	3	4	52
2	4	3	2	39
3	4	4	3	54
4	2	3	4	17
5	3	5	3	37
6	5	1	2	64
7	4	5	5	81
8	2	4	5	28
9	0	5	3	15
10	5	0	1	31
11	5	0	2	43
12	5	4	5	430
13	4	5	4	72
14	5	0	5	95
15	4	5	5	81
16	5	4	5	430
17	5	3	4	210
18	5	4	5	430
19	3	2	3	24
20	4	2	4	44
21	4	3	4	52
22	3	5	5	45
23	2	5	5	32
24	4	5	5	81
25	3	5	3	37
26	4	4	5	69
27	2	4	5	428
28	4	4	5	69
29	5	0	5	95
30	5	2	1	70

Dari hasil analisa statistik dengan menggunakan distribusi t (lampiran 4,5,6) yang dalam hal ini diambil sebanyak 10 dari 30 ekor ayam Buras yang diambil secara acak didapatkan harga rata-rata populasi atau mean populasi sebesar 108,5. Sedangkan untuk setiap sampel harga rata-ratanya adalah sebesar 114,2 dengan simpangan deviasi untuk masing-masing sebaran datanya adalah 315,8 , 33,2 , 42,2 , 19,2 , 69,2 ; 95,8 , 45,2 , 70,2 , 50,2 dan 82,2.

Uji Indol dilakukan terhadap kuman yang berwarna hijau metalik. (Tabel 3).

Hasil uji indol yang dilakukan pada media pepton untuk semua sampel adalah positif. Masing-masing sampel diwakili oleh satu bagian dari tiap seri pengenceran. Adapun terbentuknya indol pada permukaan tabung yang berbentuk cincin merah keunguan disini adalah setelah penanaman *Escherichia coli* yang mengandung indikasi adanya hijau metalik kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah masa inkubasi penambahan dengan reagen kovach sebanyak 0,3 ml dilakukan melalui dinding tabung. (Lihat tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji Indol dilakukan terhadap kuman yang berwarna hijau metalik.

Sam pel	10-1	10-2	10-3	Sam pel	10-1	10-2	10-3
1	+	+	+	16	+	+	+
2	+	+	+	17	+	+	+
3	+	+	+	18	+	+	+
4	+	+	+	19	+	+	+
5	+	+	+	20	+	+	+
6	+	+	+	21	+	+	+
7	+	+	+	22	+	+	+
8	+	+	+	23	+	+	+
9	+	+	+	24	+	+	+
10	+	+	+	25	+	+	+
11	+	+	+	26	+	+	+
12	+	+	+	27	+	+	+
13	+	+	+	28	+	+	+
14	+	+	+	29	+	+	+
15	+	+	+	30	+	+	+

Keterangan :

[+] : Terlihat adanya cincin merah keunguan pada permukaan, setelah ditambahkan dengan reagen Kovach.

Pemeriksaan Mikroskopis.

Pada pemeriksaan mikroskopis *Escherichia coli* yang diambil dari caecum disini tampak kuman berbentuk batang dan dapat bergerak (motil). Lihat tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan mikroskopis kuman dengan preparat native dan pewarnaan gram

Sam pel	Native	Pewarnaan gram	Sam pel	Native	Pewarnaan gram
1	motil	+	16	motil	+
2	motil	+	17	motil	+
3	motil	+	18	motil	+
4	motil	+	19	motil	+
5	motil	+	20	motil	+
6	motil	+	21	motil	+
7	motil	+	22	motil	+
8	motil	+	23	motil	+
9	motil	+	24	motil	+
10	motil	+	25	motil	+
11	motil	+	26	motil	+
12	motil	+	27	motil	+
13	motil	+	28	motil	+
14	motil	+	29	motil	+
15	motil	+	30	motil	+

Ket : [+] : Kuman berbentuk batang, termasuk golongan gram negatif.

B A B V

P E M B A H A S A N

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, hampir semua sampel yang dilakukan pengujian, terdapat kuman *Escherichia coli*. Adapun terdapatnya bakteri *Escherichia coli* dalam caecum ayam Buras dapat di buktikan dengan serangkaian percobaan penanaman pada media MCB, EMB dan pepton 1 %.

Perlakuan isolasi dan identifikasi terhadap *Escherichia coli* pada caecum ayam Buras disini didapatkan setelah beberapa media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri tersebut menunjukkan hasil yang positif. Adapun indikasi atau kriteria yang dipergunakan disini bahwa kuman *Escherichia coli* itu tumbuh adalah adanya koloni yang khas dari media EMB (Eosin Methilen Blue). Perubahan warna yang terkandung dalam media MCB (Mac Concey Broth) serta adanya gas yang terbentuk. Sedangkan untuk media pepton, indikasi yang dipergunakan bahwa kuman yang tumbuh adalah *Escherichia coli* yaitu dihasilkannya indol yang ditandai dengan terbentuknya cincin ungu kemerahan. (Volk & Wheeler, 1988).

Menurut Freeman (1985), *Escherichia coli* merupakan salah satu flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan baik itu pada manusia maupun hewan.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah penulis lakukan, dimana *Escherichia coli* terdapat pada caecum ayam Buras. Walaupun daerah caecum merupakan sebagian kecil dari tractus gastro intestinalis dengan ujung akhir yang buntu ternyata dari 30 sampel yang ada menunjukkan 96,6 % *Escherichia coli* dapat terisolasi dari caecum.

Pada penelitian ini sengaja diambil caecum ayam Buras dalam keadaan post mortem. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari resiko kematian apabila dilakukan dalam keadaan masih hidup, sebab apabila dilakukan dengan tindakan bedah untuk mengambil salah satu atau dua caecum sekaligus, tentunya diperlukan tindakan pengobatan terhadap bekas luka karena irisan dan jahitan. Dengan demikian keseimbangan flora normal dalam tractus gastrointestinalis dapat terganggu. Oleh karena itu jumlah *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan tidak boleh melebihi ataupun kurang dari keadaan normalnya. Adapun jumlah normal *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan ayam menurut Hofstad (1984), adalah 10^6 per gram. Jadi dalam hal ini rata-rata jumlah *escherichia coli* yang telah ditemukan disini sebesar 108,5 per gram masih tergolong normal.

Banyaknya penyakit pada ayam yang disebabkan oleh *Escherichia coli* seperti Hjarre's disease, air sac disease, peritonitis, salpingitis, pericarditis, perihepatitis, omphalitis, yolk sac infection, disamping

colibasillosis itu sendiri (Anonymous, 1982, Hofstad et al, 1984) yang kesemuanya pada dasarnya karena terganggunya keseimbangan flora normal dalam tubuh host. Untuk itulah perlunya tindakan pencegahan dalam sanitasi lingkungan sekitar, pemberian pakan, manajemen peternakan bahkan pemilihan obat secara cepat dan tepat dalam hal ini sangat mutlak diperlukan. Pemberian suatu jenis obat tertentu yang terlalu lama dapat mengakibatkan berkurangnya kuman *Escherichia coli* dalam predileksi normalnya dan apabila keadaan ini berlanjut terus akan mengakibatkan kematian.

Hasil penanaman dengan media MCB (Mac Conkay Broth) setelah 24 jam didapatkan positif. Hanya ada satu tabung yang negatif yaitu pada pengenceran 10^{-2} . Hal ini sebenarnya karena faktor kesalahan dalam pengerjaan. Sebab *Escherichia coli* sendiri merupakan flora normal dalam saluran pencernaan. Positif disini artinya larutan berubah warna dari merah menjadi kuning. Hal ini menandakan kuman dapat membentuk asam dan dapat memfermentasikan laktosa yang terkandung dalam media. (Merchant & Packer, 1971). Terlihat juga disini bahwa tabung Durham sedikit terangkat kepermukaan menandakan kuman menghasilkan gas. Adapun terbentuknya gas disini adalah karena *Escherichia coli* memecah karbohidrat dengan membentuk asam dan gas sehingga akan menghasilkan CO_2 dan H_2 . Oleh karena banyaknya *Escherichia coli* yang tumbuh maka makin banyak

pula gas H₂ yang terbentuk, sehingga menyebabkan tabung Durham yang tersusun secara terbalik itu menyembul ke atas karena terperangkapnya gas-gas yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* tersebut.

Pada media EMB (Eosin Methilen Blue) Agar *Escherichia coli* tumbuh baik dengan membentuk koloni. Disini tampak kuman berwarna hijau mengkilap (hijau metalik) yang merupakan ciri khas dari *Escherichia coli*.

Pemeriksaan secara mikroskopis cara nativ dan pewarnaan dengan menggunakan Methilen Blue menunjukkan kuman berbentuk batang dan dapat bergerak. Sedangkan pada pewarnaan gram menunjukkan bakteri berwarna merah. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Michael dan Chan (1986) bahwa sel bakteri gram negatif akan menyerap zat pewarna safranin menjadi merah. Berarti kuman tersebut bersifat gram negatif. Sebab pada kuman golongan gram negatif, zat warna lugol dapat dilunturkan oleh alkohol 96 %.

Pada media Pepton tampak cincin merah pada permukaan tabung setelah penambahan dengan reagen kovack. Ini menandakan kuman membentuk indol.

Perhitungan kuman *Escherichia coli* dengan menggunakan metode MPN (Most Probable Number), didapatkan hasil tertinggi yaitu 430 per gram sedangkan terendah adalah 15 per gram dengan jumlah rata-ratanya 108,5 per gram. Masing-masing jumlah *Escherichia coli* yang

tercatat disini memang bervariasi antara satu sama lain. Tetapi dengan menggunakan uji distribusi t didapatkan hasil bahwa masing-masing sampel ayam Buras tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata. Adapun harga t yang telah diperoleh adalah 0,116, derajat bebas 9 dengan taraf signifikansi 5 %, maka didapatkan bahwa 0,116 terletak didaerah kurva distribusi t antara -2,262 dan +2,262. (Lampiran 6, gambar 7).

Persentasi jumlah *Escherichia coli* yang dapat diisolasi dari caecum ayam Buras adalah 96,6 %. Artinya dari tiga puluh caecum yang diambil dari 30 ekor ayam dalam penelitian ini, setelah ditanam pada media MCB, EMB maupun pepton menunjukkan 96,6 persen dapat terisolasi.

B A B V I

K E S I M P U L A N D A N S A R A N

Dari hasil penelitian terhadap 30 sampel caecum ayam Buras disini maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolasi kuman *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan mengambil massa tinja yang terdapat dalam caecum ayam Buras.
2. *Escherichia coli* mempunyai sifat-sifat dapat membentuk asam, menghasilkan gas, dapat memfermentasi laktosa, termasuk golongan gram negatif, berbentuk batang, dapat bergerak & membentuk indol.
3. Jumlah *Escherichia coli* tertinggi didapatkan sebesar 430 per gram tinja, sedangkan jumlah terendah didapatkan sebesar 15 per gram tinja dengan rata-rata sebesar 108,5 per gram tinja. Jadi jumlah *Escherichia coli* dalam caecum ayam Buras disini dapat dikatakan masih normal.
4. Dengan menggunakan kurva distribusi t dapat diketahui bahwa Jumlah kuman pada masing-masing sampel tidak berbeda nyata.

Saran-saran

1. Perlunya diadakan penelitian terhadap Strain *Escherichia coli* patogenik pada Ayam Buras.
2. Perlunya pengujian tentang pengaruh inokulasi kuman *Escherichia coli* pada T.A.B. (Telur-telur Ayam Buras Bertunas). Sebab *Escherichia coli* dapat ditularkan melalui telur apalagi bila telur tersebut merupakan hasil persilangan antara ayam hutan jantan dengan betina Buras yang nantinya akan menghasilkan ayam Bekisar yang nilai ekonomisnya sangat tinggi.
3. Karena begitu banyaknya pustaka yang kurang memberikan informasi tentang fungsi caecum pada golongan unggas maka penulis disini mengharapkan dengan berhasilnya *Escherichia coli* terisolasi dari caecum, tentunya tidak menutup kemungkinan kuman - kuman enterik lain yang bisa terdapat didalam caecum tersebut.

RINGKASAN

Tri Palupi Ratnaningtyas. Isolasi Identifikasi dan Perhitungan *Escherichia coli* pada caecum Ayam Buras. Dibawah bimbingan Ratih Ratnasari sebagai pembimbing pertama dan Midian Naubaho sebagai pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat-sifat biokimia, morfologi dan jumlah *Escherichia coli* yang terdapat dalam caecum ayam Buras.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode MPN (Most Probability of Number). Sedangkan untuk membedakan jumlah kuman dari masing-masing sampel setelah diketahui hasilnya digunakan uji distribusi t.

Hasil penelitian yang diamati adalah terdapatnya *Escherichia coli* pada tractus digestifus caecum Ayam Buras dengan persentase sebesar 96,6 % dapat terisolasi.

Sedangkan morfologi dan sifat biokimiawinya menunjukkan kuman berbentuk batang, bergerak, dapat memfermentasikan laktosa, membentuk indol, berwarna hijau mengkilap pada media EMB dan termasuk golongan gram negatif.

Pada perhitungan dengan menggunakan tabel Mc Cardy's menunjukkan adanya perbedaan tentang jumlah *Escherichia coli* dalam masing-masing sampel. Namun setelah diuji dengan kurva distribusi t perbedaan ini tidak nyata. Sebab jumlah *Escherichia coli* dalam caecum disini rata-rata masih tergolong normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1976. **Anatomy of the chicken.** Merck Sharp & Dohme International. Division of Merck & Co, Inc, New York 7, N. Y., USA.
- Anonymous, 1982. **Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular,** Jilid IV. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jendral Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta. hal 54-61.
- Anonymous, 1986. **Panduan Teknis Snot, Kolera & Kolibasilosis.** Technical service Departement eurindo combined. p.t. veterinary division. hal 9-12.
- Anggorodi, R. 1985. **Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas.** U.I. Pres. hal 6-10.
- Blakely, J and D.H. Bade. 1991. **Ilmu Peternakan.** Indonesian edition. Edisi ke empat. hal 562-565.
- Bruner, D.W., J.H. Gillespie. 1973. **Hagan's Infectious Disease of Domestic animals.** sixth edition. Comstok Publishing Associates. London. hal 135-146.
- Card, E.L & M.C. Nesheim. 1972. **Poultry Production.** eleventh edition. Lea & Febiger Philadelphia. hal 37-39.
- Edward, P.R and Ewing, W.H. 1972. **Identification of Enterobactriaceae.** Burgess Publishing Company.
- Eka, H. 1990. **Meningkatkan Produktifitas Ayam Buras.** Poultry Indonesia. No. 127. TH. XI. hal 6-7.
- Frazier, W.C., D.C. Weschoff. 1984. **Food mikrobiology,** TMH edition. New Delhi. hal 62-63, 445-446.
- Freeman, B.A., 1985. **Textbook of Microbiology.** Twenty second edition. Tennessee. hal 447-455.
- Gordon and Jordan. 1982. **Poultry Disease.** second edition. Baillere Tindal. English Language Book Society. hal 31-37.
- Hofstad, M.S., H.J. Barnes, B.W. Calnec, W.M. Reid, H.W Yoder, Jr. 1984. **Disease of Poultry.** Eighth edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. hal 270-277.

- Jang, S.S., Biberstein, E.L., Hirsh, D.C. 1976. **A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology.**
- Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg. 1986. **Jasad-jasad Renik Enterik Gram Negatif.** Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Terj. H. Tonang. EGC Penerbit Buku Kedokteran. hal 288-298.
- Koesriningrum. 1989. **Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap.**
- Lennete, E.H., A. Balows, W.J. Hausler and W.J. Truant. 1980. **Manual of clinical Microbiologi.** American Society for Microbiologi.
- Marchant and Packer, 1971. **Veterinary Bacteriologi and Virology, 7th . Ed.** The Iowa State University Press. Ames Iowa. hal 273-284.
- Miles, A.A and G.S. Wilson. 1975. **Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Imunity.** Edward Arnold and Co. London.
- Michael, J. Pelczar. Jr, dan E.C.S. Chan. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid I.** U.I. Press. hal 83-89.
- Michael, J.Pelczar. Jr, dan E.C.S. Chan. 1988. **Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid II.** U.I. Press. hal 809-812.
- Muryanto. 1991. **Problematika Pengembangan Ayam Buras.** PoultryIndonesia. No. 138. TH. XII. hal 6-11.
- Nesheim, M.C., R.E. Austic and L.E. Card. 1979. **Poultry Production.** Twelfth edition. Lea & Febiger. Philadelphia. hal 25-31.
- Ratih Ratnasari, Suryanie Sarudji. 1989. **Enterobakteria.** Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. FKH Unair. hal 3-6.
- Suharsana, Sarmanu, RTS Adikara, Titi Hartati, Hana Eliyani. 1989. **Anatomi Bangsa Unggas Kapita Selecta.** Lab. Anatomi Veteriner. FKH Unair. hal 4-7.
- Soltys, M.A. 1963. **Bacteria and Fungi Pathogenic to man and animals.** Lecturer in Veterinary Bacteriology. University of Cambridge. hal 67-84.
- Volk & Wheeler. 1988. **Mikrobiologi Dasar.** Jilid I. Edisi kelima. Erlangga.

Lampiran. 1.**M A C C O N K A Y B R O T H****Komposisi ;**

pepton	20,0	gram
laktose	10,0	gram
bile salt	5,0	gram
sodium chloride	5,0	gram
neutral red	0,075	gram

Cara pembuatan :

Semua bahan di atas dicampur secara aseptis dan di timbang sebanyak 40 gram kemudian dilarutkan dalam NaCl fisiologis steril sampai 1 liter, panaskan sampai larut homogen, isikan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 ml dan kedalam tabung reaksi tadi dimasukkan sebuah tabung Durham dengan posisi terbalik sambil di goyang-goyangkan sampai tabung Durham terisi media. Setelah itu semua tabung reaksi ditutup dengan kapas dan kertas alumunium lalu disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121°C tekanan 15 atmosfer selama 30 menit. Setelah masa inkubasi, bila larutan MCB tetap jernih dan tidak mengalami perubahan warna maka media tersebut dianggap steril dan siap pakai.

Lampiran. 2.

E O S I N M E T H I L E N E B L U E A G A R

Komposisi :

Pepton	10,0	gram
laktosa	10,0	gram
dipotassium hydrigen phosphate	2,0	gram
eosin	0,4	gram
methylene blue	0,065	gram
agar	15,0	gram

pH : 6,8 +- 0,2

cara pembuatan :

larutkan 37,5 gram media dalam 1 liter aquadest, panaskan hingga media larut sempurna, sterilkan 121 °C selama 15 menit. Dinginkan pada temperatur 60 °C, kocok dulu kemudian tuang pada petri steril sebanyak 20 ml dan biarkan dalam keadaan tertutup sampai beku, setelah beku baru dibalik. Untuk uji sterilitas semua cawan petri yang telah berisi media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi bila tidak ada pertumbuhan koloni dan perubahan warna media maka media tersebut sudah dalam keadaan siap pakai.

Lampiran. 3.**ALKALI PEPTON**

Komposisi per liter

pepton 10,0 gram

sodium chloride 5,0 gram

pH ; 8,5

Cara pembuatan :

larutkan kedua bahan diatas dalam 1 liter aquadest, panaskan sampai media larut sempurna. Tambahkan NaOH bila perlu sampai pH : 8,5 ; isikan dalam tabung yang volumenya sesuai dengan keperluan. Sterilkan 121°C selama 15 menit.

REAGEN KOVACH

Komposisi media ini terdiri dari Isoamilalkohol 75 ml dan paradimetil Aminobensaldehid 5 gram yang dilarutkan dalam Hidro Chlorida pekat 25 ml.

Lampiran. 4.

Hasil Perhitungan *Escherichia coli* (Most Probability Number) dari 30 ekor ayam Buras

Nomor sampel	Hasil MPN	Nomor sampel	Hasil MPN
1	52	16	430
2	39	17	210
3	54	18	430
4	17	19	24
5	37	20	44
6	64	21	52
7	81	22	45
8	28	23	32
9	15	24	81
10	31	25	37
11	43	26	69
12	430	27	428
13	72	28	69
14	95	29	95
15	81	30	70
Total : 3255			

Ket : Perhitungan *Escherichia coli* dari ayam buras yang diambil caecumnya dengan $\phi = 108,5$

Dari populasi dalam tabel 5.1. diambil contoh secara random sebanyak 10 ekor ayam buras, sebagaimana tercantum dalam tabel 5.2 dibawah ini.

Lampiran. 5.

Contoh perhitungan *Escherichia coli* yang diambil secara random dari tabel 4.1

Nomor Pengamatan	Nomor sampel	Hasil MPN
1	16	430
2	7	81
3	13	72
4	14	95
5	22	45
6	17	210
7	26	69
8	20	44
9	6	64
10	23	32

Keterangan : dari tabel ini didapat $\bar{X} = 114,2$

$$s^2 = 24110,62$$

Lampiran. 6.

Sebaran data (x_i)	Simpangan (deviasi) ($x_i - \bar{x}$)	Jumlah kuadrat simpang (sum square) ($(x_i - \bar{x})^2$)
430	315,8	99729,64
81	33,2	1102,24
72	42,2	1780,84
95	19,2	368,64
45	69,2	4788,64
210	95,8	9177,64
69	45,2	2043,04
44	70,2	4928,04
64	50,2	2520,04
32	82,2	6756,84
Total = 216995,6		

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = 114,2$$

$$s^2 = 24110,62$$

Ket :

μ = harga rata-rata populasi (mean populasi)

\bar{x} = harga rata-rata sampel

s = standard deviasi sampel

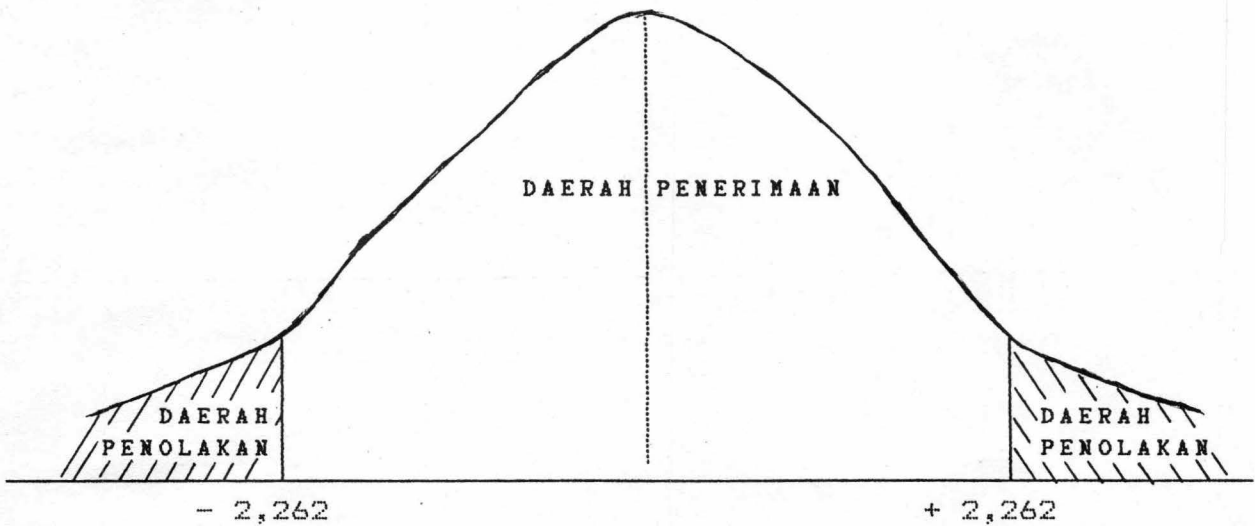
n = besarnya sampel

Untuk setiap sampel dapat dihitung dari harga t :

$$\begin{aligned}
 t &= \frac{\bar{x} - \varphi}{s / \sqrt{n}} = \frac{\bar{x} - \varphi}{\sqrt{s^2 / n}} \\
 &= \frac{114,2 - 100,5}{\sqrt{\frac{24110,62}{10}}} = \frac{5,7}{\sqrt{2411,062}} \\
 &= 0,116
 \end{aligned}$$

Dengan derajat bebas $(10 - 1) = 9$ dari daftar t dengan taraf signifikansi 5 % didapatkan bahwa 0,116 terletak didaerah kurva distribusi t antara -2,262 dan +2,262.

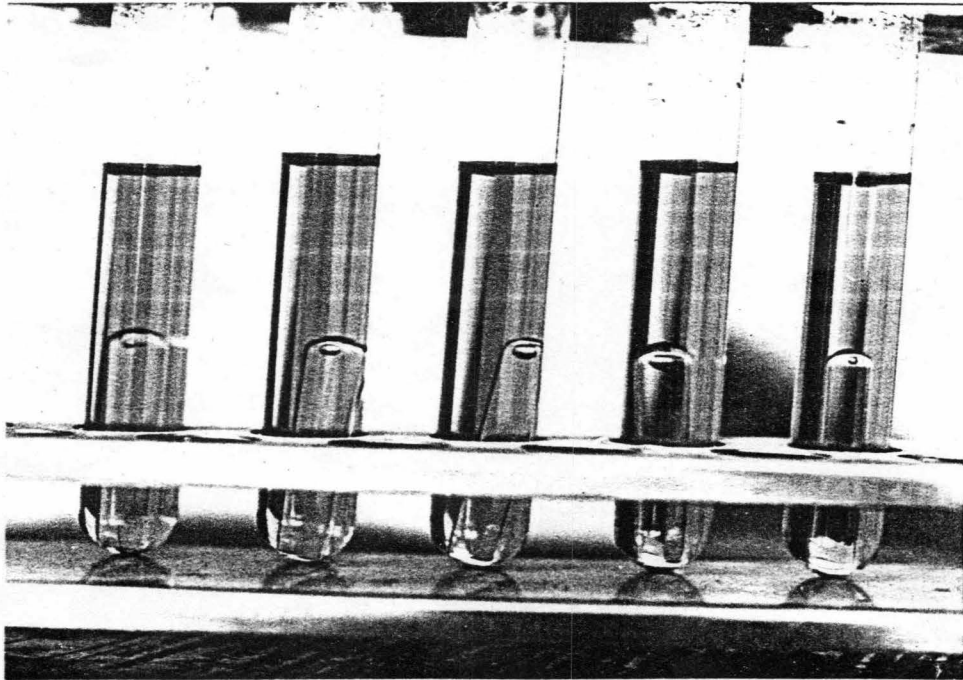
Gambar. 7



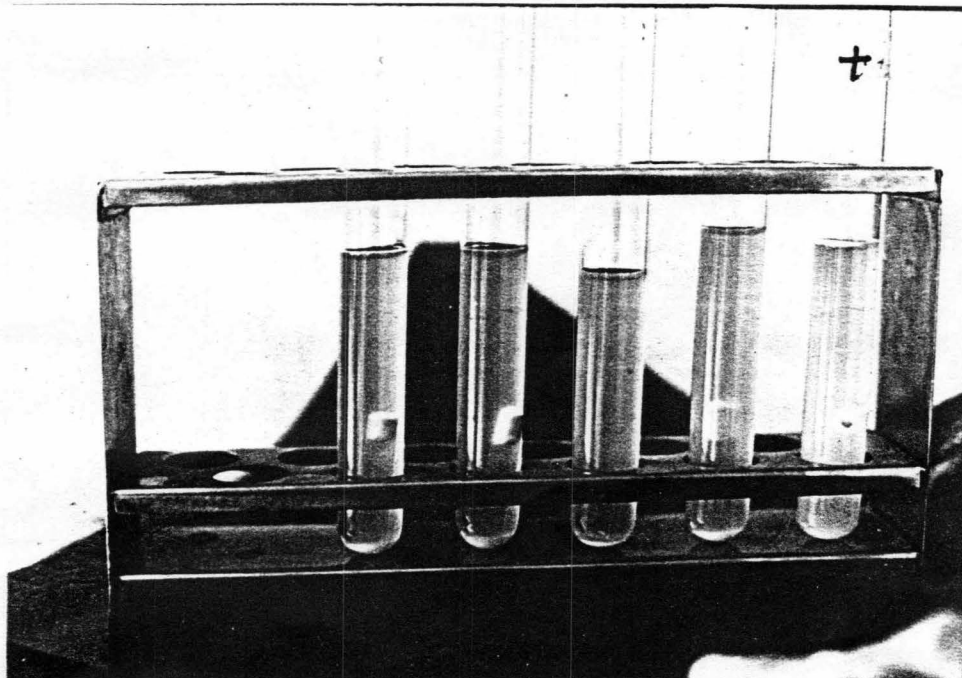
H_0 = Tidak terdapat perbedaan jumlah kuman pada masing-masing sampel.

H_1 = Terdapat Perbedaan jumlah kuman pada masing - masing sampel.

Jadi pada masing-masing sampel tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing ayam buras.



Gambar 2. Media MCB sebelum ditanami tabung Kuman.



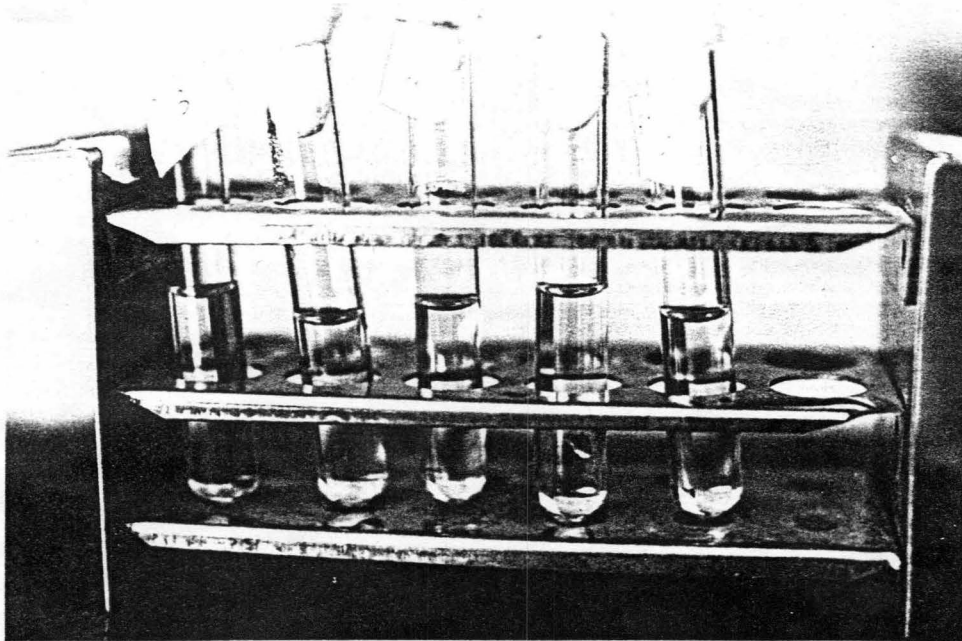
Gambar 3. Media MCB setelah ditanami. Tampak warna berubah dan tabung Durham terangkat karena adanya gas.



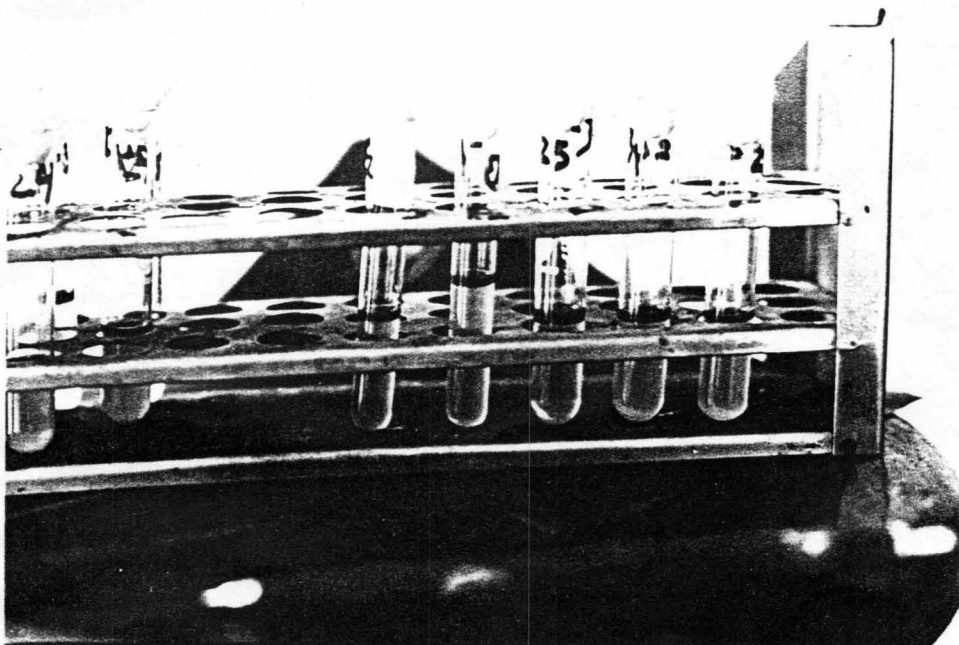
Gambar 6. Bentuk *Escherichia coli* pada pemb. mikroskopis.



Gambar 4. *Escherichia coli* pada biakan E.M.B. Tampak warna hijau metalik (tanda panah)

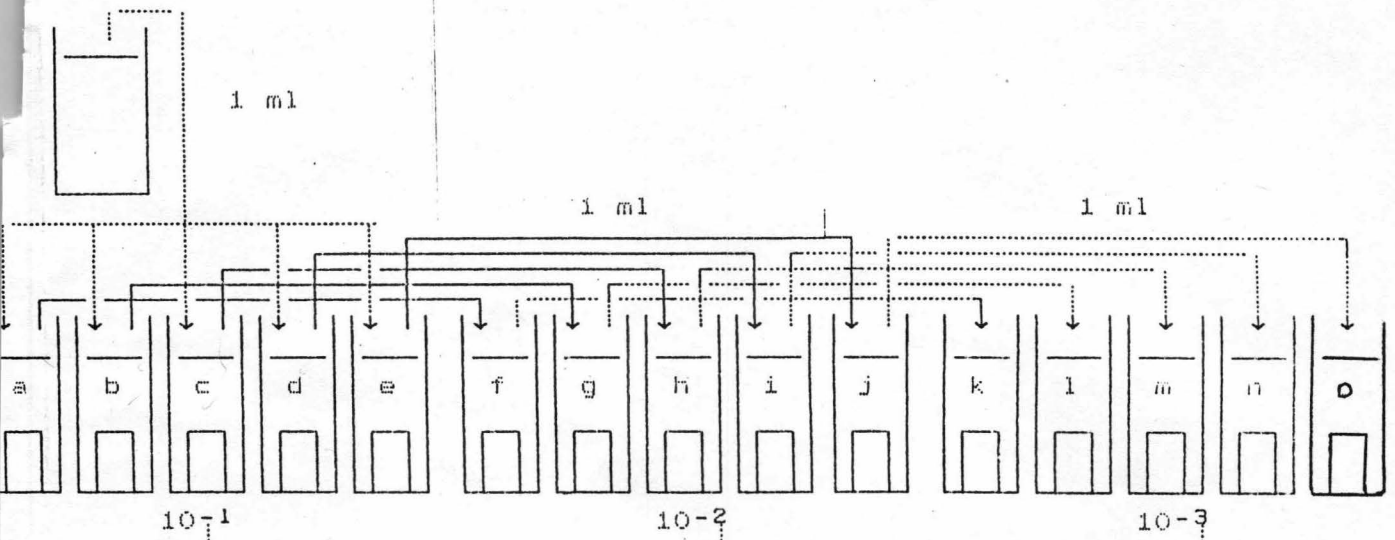


Gambar 5.1. Media pepton yang tidak ditanami *Escherichia coli* (kontrol)

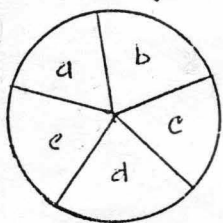


Gambar 5.2. Media pepton yang ditanami *Tampak cincin merah (Indol +)*

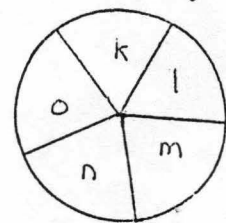
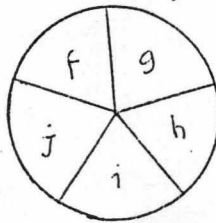
Lamp : 7. Skema Metode Probable Number (MPN).



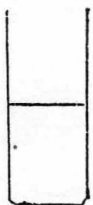
9 ml MCB
 Semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam



EMB



Semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam



Setelah diinkubasi :

9 ml larutan pepton 1 %

Inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam

+ Reagen Kovack \longrightarrow Tes Indol

Ket : + Cincin merah : E. coli ; - tidak berubah : Coliform

Tabel 5.

Tabel Mc. Crady's.

Using 5 Tubes
With 10, 1 and 0.1 ml Volumes

Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN
10, 1, 0.1		10, 1, 0.1		10, 1, 0.1		10, 1, 0.1		10, 1, 0.1		10, 1, 0.1	
000	0	100	2	200	4.5	300	7.8	400	13	500	23
001	1.8	101	4	201	6.8	301	11	401	17	501	31
002	3.6	102	6	202	9.1	302	13	402	21	502	43
003	5.4	103	8	203	12	303	16	403	25	503	55
004	7.2	104	10	204	14	304	20	404	30	504	76
005	9	105	12	205	16	305	23	405	36	505	95
010	1.8	110	4	210	6.8	310	11	410	17	510	33
011	3.6	111	6.1	211	9.2	311	14	411	21	511	46
012	5.5	112	8.1	212	12	312	17	412	26	512	64
013	7.3	113	10	213	14	313	20	413	31	513	81
014	9.1	114	12	214	17	314	23	414	36	514	110
015	11	115	14	215	19	315	27	415	42	515	130
020	3.7	120	6.1	220	9.3	320	14	420	22	520	49
021	5.5	121	8.2	221	12	321	17	421	26	521	70
022	7.4	122	10	222	14	322	20	422	32	522	95
023	9.2	123	12	223	17	323	24	423	38	523	120
024	11	124	15	224	19	324	27	424	44	524	150
025	13	125	17	225	22	325	31	425	50	525	180
030	5.6	130	8.3	230	12	330	17	430	27	530	79
031	7.4	131	10	231	14	331	21	431	33	531	110
032	9.3	132	13	232	17	332	24	432	39	532	140
033	11	133	15	233	20	333	28	433	45	533	180
034	13	134	17	234	22	334	31	434	52	534	210
035	15	135	19	235	25	335	35	435	59	535	250
040	7.5	140	11	240	15	340	21	440	34	540	130
041	9.4	141	13	241	17	341	24	441	40	541	170
042	11	142	15	242	20	342	28	442	47	542	220
043	13	143	17	243	23	343	32	443	54	543	280
044	15	144	19	244	25	344	36	444	62	544	350
045	17	145	22	245	28	345	40	445	69	545	430
050	9.4	150	13	250	17	350	25	450	41	550	210
051	11	151	15	251	20	351	29	451	48	551	350
052	13	152	17	252	23	352	32	452	56	552	510
053	15	153	19	253	26	353	37	453	64	553	920
054	17	154	22	254	29	354	41	454	72	554	1600
055	19	155	24	255	32	355	45	455	81	555	2400