

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pemeriksaan Fisik Ayam

Berdasarkan hasil dari pengamatan fisik pada ayam broiler yang terinfeksi kolibasilosis memperlihatkan tanda sakit seperti lemas, kurus, bulu kusam, nafsu makan menurun serta feses yang dikeluarkan berwarna putih kehijauan. Hasil pemeriksaan fisik pada ayam broiler dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kondisi ayam broiler yang terduga kolibasilosis

Berdasarkan hasil pengamatan fisik ayam broiler pada pasar hidup Surabaya di daerah pasar Wonokromo ditemukan ayam dengan kondisi lemas, nafsu makan menurun, bulu kusam, pergerakan dalam berjalan terganggu, serta mengeluarkan feses berwarna putih kehijauan. Gejala klinis yang ditimbulkan pada ayam broiler menunjukkan bahwa ayam terkena penyakit kolibasilosis yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*.

4.1.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil dari isolasi pada media MCA menunjukkan bahwa feses dari ayam broiler yang positif bakteri *Escherichia coli* patogen yang dilihat berdasarkan gejala klinis seperti ayam kurus, bulu kusam, nafsu makan menurun, murung, dan feses berwarna putih kehijauan menunjukkan morfologi berwarna merah atau merah muda, mengkilap, berbentuk bulat atau *irregular* serta kering yang dapat dilihat pada gambar 4.2.



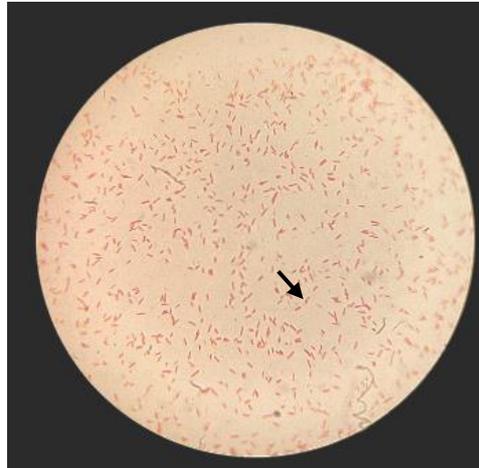
Gambar 4.2 Bakteri *Escherichia coli* pada media MCA

Berdasarkan hasil pengamatan pada gambar diatas bakteri *Escherichia coli* di media MCA secara makroskopis koloni menunjukkan ciri khas berwarna merah muda, mengkilap, bulat kecil terpisah dan *irregular*, serta kering. Hasil positif *Escherichia coli* pada media MCA selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram.

4.1.3 Pewarnaan Gram

Hasil positif bakteri *Escherichia coli* pada media MCA kemudian dilakukan pewarnaan Gram dengan tujuan untuk melihat kemurnian dari bakteri serta untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk Gram-positif atau Gram-negatif. Bakteri

yang murni akan berbentuk batang pendek. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 4.3.

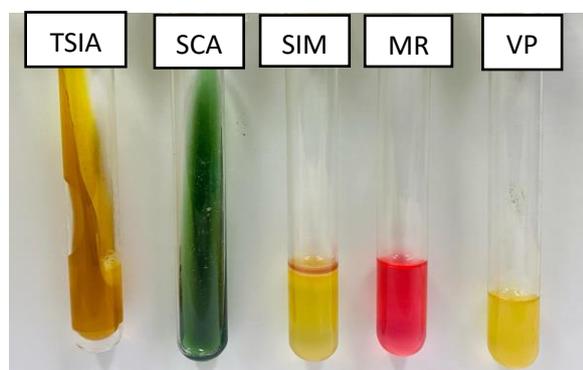


Gambar 4.3 Pewarnaan gram bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil dari pewarnaan Gram pada pemeriksaan mikroskop binokuler dengan pembesaran 1000x menunjukkan bakteri *Escherichia coli* berupa koloni merah dan berbentuk batang pendek. Setelah pewarnaan gram kemudian dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan uji biokimia.

4.1.4 Uji Biokimia

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada uji biokimia dilakukan dengan menggunakan media TSIA, SCA, SIM, MR, dan VP. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hasil uji biokimia bakteri *Escherichia coli*

Pengambilan sampel ayam broiler dilakukan pada wilayah pasar Wonokromo Surabaya dengan jumlah dua sampel. Hasil infeksi *Escherichia coli* pada uji biokimia dapat dilihat pada tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Biokimia *Escherichia coli*

Kode sampel	TSIA		SCA		SIM			MR	VP	Bakteri	
	<i>slant</i>	<i>butt</i>	H ₂ S	Gas	<i>Indol</i>	<i>motility</i>	<i>sulfid</i>				
PWKS 1	AC	AC	-	+	-	+	+	-	+	-	E.coli
PWKS 2	AC	AC	-	+	-	+	+	-	+	-	E.coli

Berdasarkan hasil uji biokimia pada media TSIA, SCA, SIM, MR/VP setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil kultur pada media TSIA yang positif dengan ditandai adanya perubahan warna dari merah menjadi warna kuning pada keseluruhan tabung reaksi baik pada bagian dasar (*butt*) maupun lereng (*slant*), terdapat gas dan menghasilkan H₂S yang negatif. Hasil uji *Simon Citrate Agar* (SCA) pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil negatif (-) yaitu tidak terjadi perubahan warna hijau pada media. Hasil pengujian SIM menunjukkan hasil positif (+) pada indol dan motil yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada bagian atas media setelah ditetesi reagen kovacs serta terlihat penyebaran bakteri pada daerah tusukan. Hasil uji *Methyl Red* (MR) menunjukkan hasil yang positif setelah diberi tetesan reagen *Methyl red* yaitu yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah. Hasil dari pengujian *Voges Proskauer* (VP) pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil yang negatif (-) setelah diberi reagen KOH 40% dan larutan α -naphthon 5% yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna menjadi warna merah pada media. Setelah dilakukan pengujian pada uji biokimia selanjutnya dilakukan pengujian media

Blood Agar dengan tujuan mengetahui kemampuan bakteri *Escherichia coli* dalam menghemolisis darah.

4.1.5 Uji *Blood Agar*

Hasil hemolisin darah pada media *Blood Agar* terhadap satu isolat *Escherichia coli* patogen dapat terlihat pada gambar 4.5. Bakteri yang menghasilkan α -hemolisa akan membentuk zona gelap disekitar koloni ketika diberi cahaya, kemudian bakteri yang menghasilkan β -hemolisa akan menunjukkan zona terang disekitar koloni, dan yang tidak membentuk zona hemolisin akan menghasilkan gamma-hemolisin.

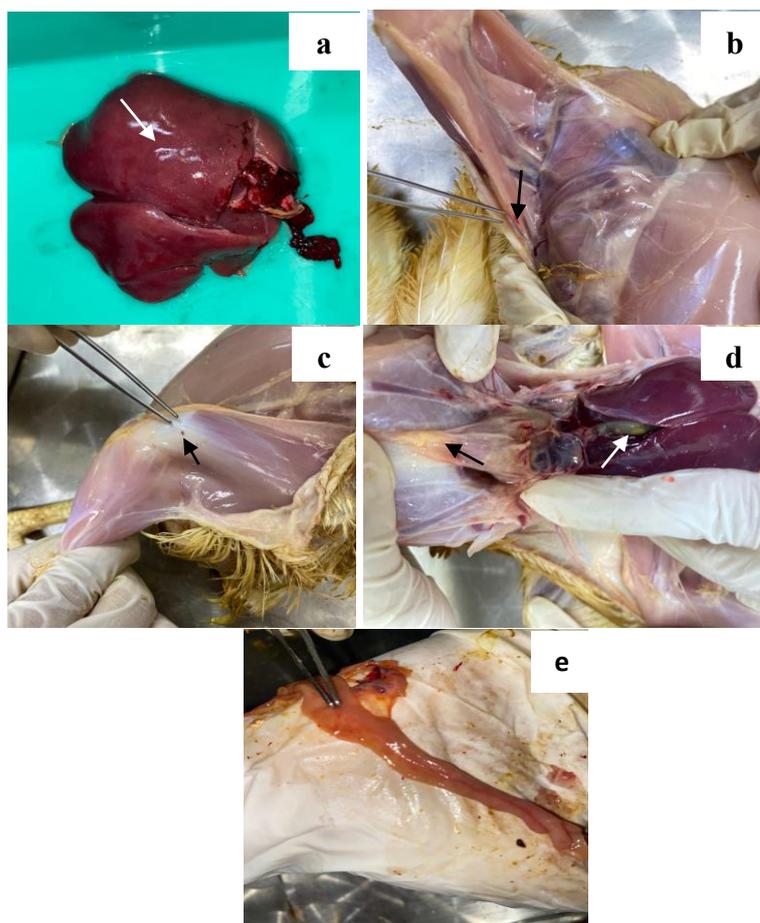


Gambar 4.5 Hasil positif bakteri *Escherichia coli* patogen pada *Blood Agar*; (a) *Blood Agar* tanpa cahaya; (b) *Blood Agar* dengan cahaya.

Berdasarkan hasil pengamatan pada media *Blood Agar* bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil yang positif patogen yang ditandai dengan kemampuan bakteri *Escherichia coli* dalam menghemolisis darah sehingga terbentuknya zona terang di sekitar koloni (β -hemolisin).

4.1.6 Patologi Anatomi

Hasil dari pemeriksaan secara patologi anatomi terhadap ayam broiler yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dapat dilihat pada gambar 4.6. pada ayam hepar yang mengalami perubahan umumnya mempunyai perubahan warna lesi yang sangat mencolok, dan tidak seperti warna hepar pada umumnya yang berwarna merah kecoklatan. Kerusakan pada hepar yang diakibatkan oleh penyakit mengalami perubahan fisik yang signifikan seperti perubahan pada ukuran, pembengkakan, dan perubahan warna.



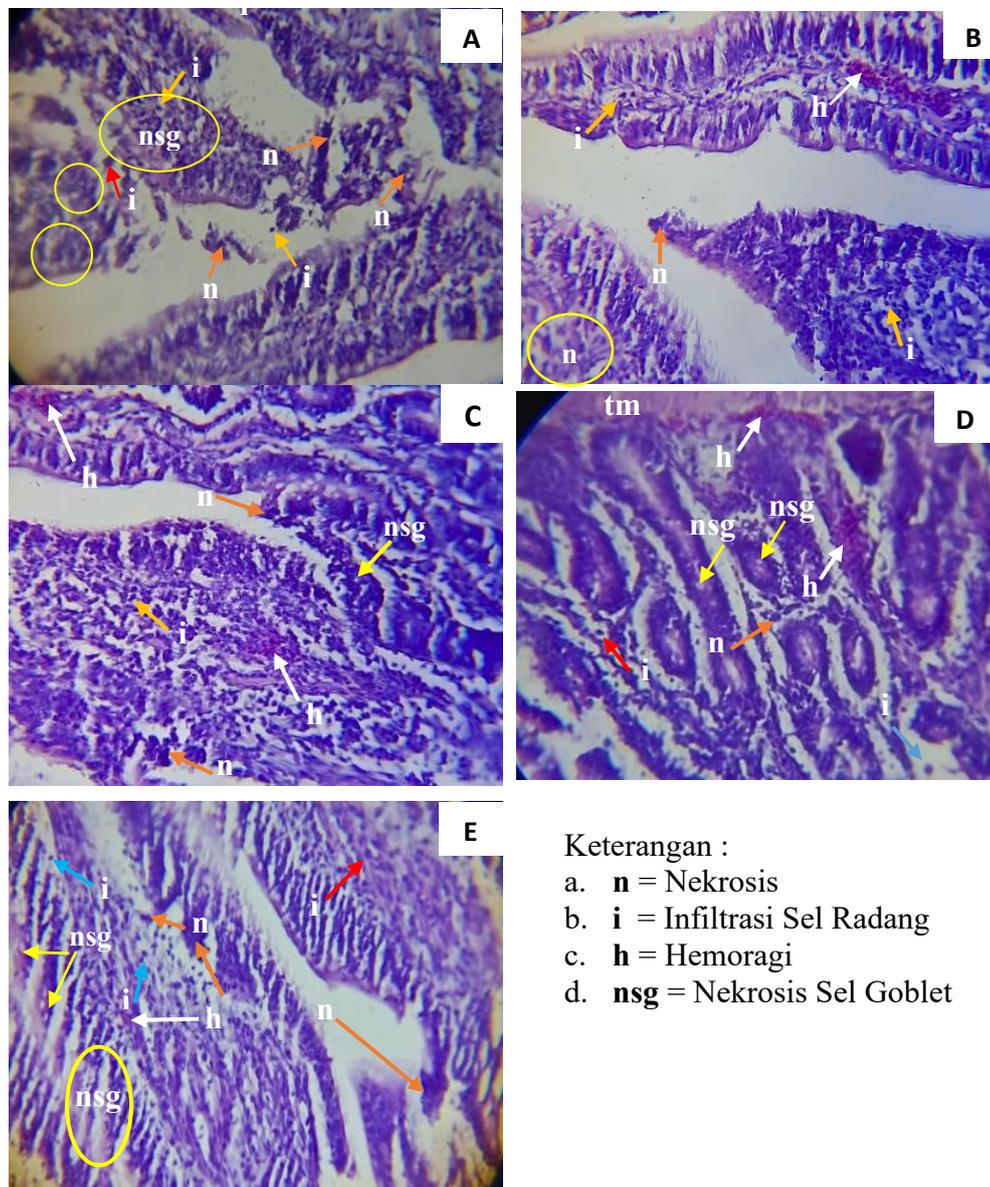
Gambar 4.6 Perubahan patologi pada ayam broiler yang terkenan kolibasilosis(a) pembengkakan pada hepar; (b) hemoragi pada sayap; (c) ptekie pada paha; (d) perikarditis;(e) hemoragi pada jejunum.

Berdasarkan hasil pengamatan secara patologi anatomi pada organ ayam broiler yang terinfeksi penyakit kolibasilosis setelah dilakukan nekropsi ditemukan adanya pembengkakan pada organ hepar (perihepatitis), ptekie pada bagian paha ayam broiler, radang pada pembungkus jantung ayam broiler (perikarditis), namun dalam kasus ini perubahan lesi yang diamati adalah epikardium yang tampak berair dan ditutupi oleh eksudat berwarna kekuningan, serta terdapat hemorragi pada sayap ayam dan organ jejunum.

4.1.7 Histopatologi Jejunum

Hasil dari pemeriksaan histopatologi pada organ jejunum ayam broiler yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dan ayam broiler yang tidak terinfeksi *Escherichia coli* dibawah mikroskop binokuler atau cahaya pada pembesaran 400x dengan beberapa parameter, antara lain Infiltrasi Sel Radang, Hemoragi dan Nekrosis dengan lima lapang pandang yang di sajikan pada gambar 4.7 dan 4.8.

Kelompok Ayam broiler yang tidak terinfeksi *Escherichia coli* (ayam sehat)

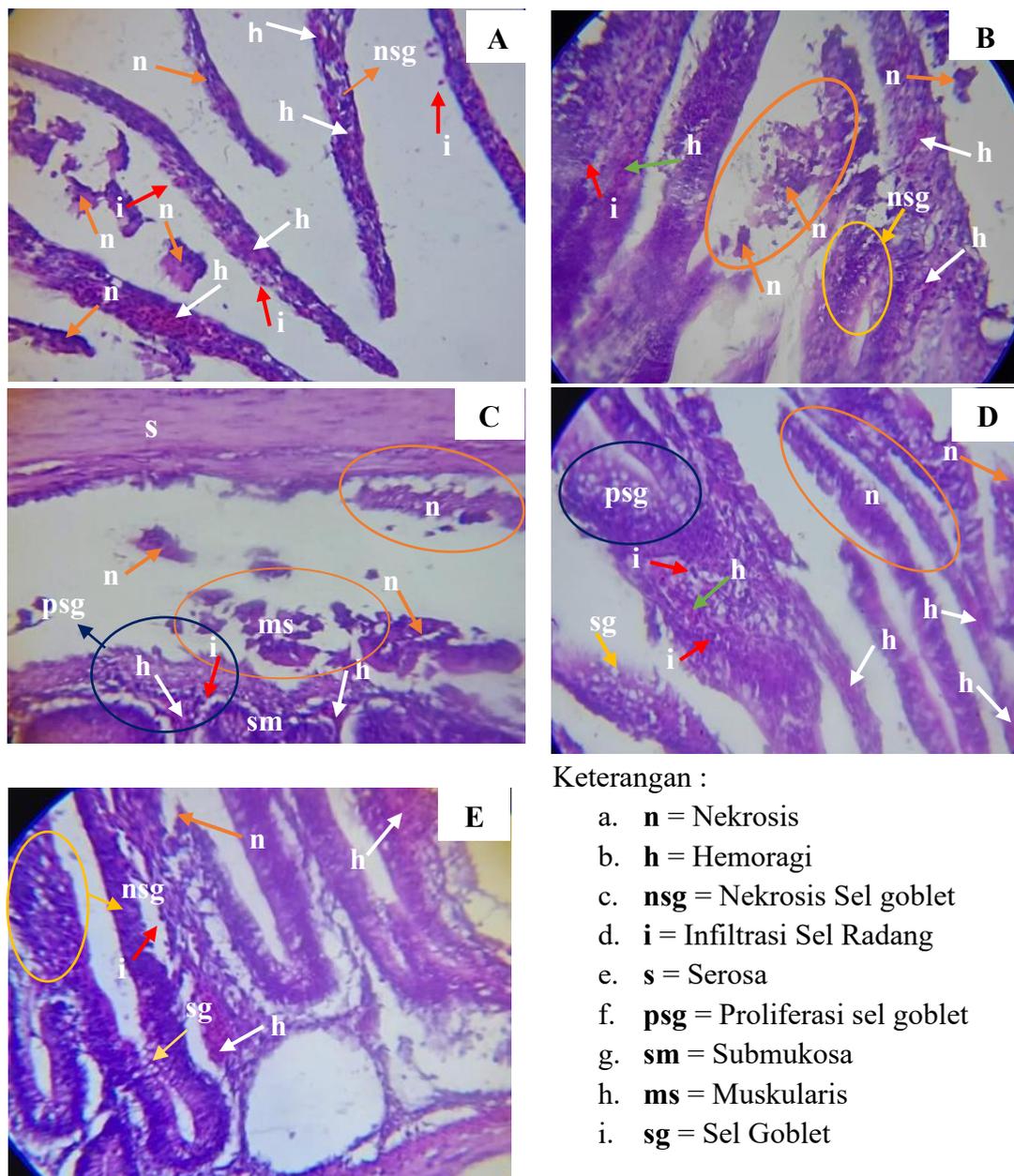


Gambar 4.7 Gambaran histopatologi jejunum ayam broiler yang tidak terinfeksi *Escherichia coli* (ayam sehat) H&E 400x

Berdasarkan pengamatan hasil histopatologi jejunum ayam yang tidak terinfeksi *Escherichia coli* (ayam sehat) pada bagian A, ditemukan adanya ruptur/nekrosis (n) pada villi lamina propria jejunum (anak panah orange), dan nekrosis sel goblet (nsg) pada villi jejunum (anak panah dan lingkaran kuning),

serta terdapat infiltrasi sel radang (i) di villi jejunum, seperti limfosit (anak panah kuning) dan neutrofil (anak panah merah), dan bagian B, ditemukan hemoragi (n) pada lamina propria jejunum (anak panah putih), dan infiltrasi sel radang limfosit (i) pada lamina propria jejunum serta terdapat nekrosis (n) (anak panah orange) pada villi jejunum, dan nekrosis sel goblet (nsg) pada lamina propria (lingkaran kuning). Bagian C, adanya hemoragi (h) (anak panah putih) pada lamina propria, dan nekrosis (n) pada lapisan epitelium (anak panah orange), dan nekrosis sel goblet (nsg) pada lapisan epitel tunika mukosa (anak panah kuning) serta juga infiltrasi sel radang (i) pada lamina propria (anak panah kuning), dan bagian D, setelah diamati menggunakan mikroskop ditemukan adanya hemoragi (n) di tunika submukosa (anak panah putih) dan di lamina propria (anak panah hijau), nekrosis sel goblet (nsg) pada lamina propria jejunum (anak panah kuning), disertai dengan adanya infiltrasi sel radang (i) di villi usus jejunum seperti limfosit (anak panah merah) dan neutrofil yang ditunjukkan pada anak panah biru. dan pada bagian E, ditemukan adanya nekrosis/ruptur (n) pada villi usus (anak panah orange), dan nekrosis sel goblet (nsg) di villi jejunum (anak panah dan lingkaran kuning) serta infiltrasi sel radang (i) pada villi jejunum yang ditunjukkan anak panah biru (neutrofil) dan merah (limfosit).

Kelompok Ayam broiler *Avian Pathogenic Escherichia coli* (ayam sakit)



Gambar 4.8 Histopatologi jejunum ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis pasca penelitian H&E 400x

Berdasarkan hasil pengamatan dari gambaran histopatologi jejunum ayam broiler yang terinfeksi penyakit kolibasilosis, yang diamati pada beberapa bagian yakni, bagian A terlihat terjadi ruptur/nekrosis (n) pada villi jejunum yang ditunjukkan pada anak panah orange, dan terdapat hemoragi (h) pada lamina propria

(anak panah putih), serta terdapat infiltrasi sel radang (i) dominan limfosit dan neutrofil yang ditunjukkan pada anak panah merah. Untuk bagian B, setelah diamati dengan mikroskop ditemukan adanya hemoragi (h) di lamina propria (anak panah putih) dan di lapisan epitel (anak panah hijau), nekrosis (n) pada lamina propria (anak panah orange) dan nekrosis sel goblet (nsg) pada lamina propria (anak panah kuning), serta infiltrasi sel radang (i) pada lamina villi lamina propria jejunum pada anak panah merah. Bagian C, terdapat ruptur/nekrosis (n) villi yang sangat terlihat pada muskularis (ms) (anak panah orange), terdapat proliferasi sel goblet (psg) pada submukosa jejunum (anak panah biru tua) serta terdapat ruptur epitel pada serosa (s) jejunum, serta adanya hemoragi (h) pada submukosa (sm) (anak panah putih), dan terdapat infiltrasi sel radang (i) pada submukosa (sm) yang ditunjukkan pada anak panah merah.

Pengamatan pada bagian D, terlihat adanya hemoragi (h) pada villi jejunum (anak panah putih) serta terjadi hemoragi di lamina propria (anak panah hijau), terjadi nekrosis (n) pada villi jejunum dan lapisan epitelium (anak panah orange), terdapat sel goblet (sg) pada villi lamina propria (anak panah kuning) dan adanya proliferasi sel goblet (psg) pada lamina propria (lingkaran biru tua) serta terdapat infiltrasi sel radang (i) di lamina propria yang mendominasi limfosit yang terlihat pada anak panah merah. Untuk bagian terakhir yaitu bagian E, terjadi ruptur/nekrosis (n) pada lapisan epitel jejunum (anak panah orange), nekrosis sel goblet (nsg) pada villi lamina propria (anak panah kuning), dan terdapat hemoragi (h) pada lamina propria (anak panah putih), dan terdapat sel goblet (sg) pada villi

jejunum (anak panah kuning) serta infiltrasi sel radang (i) pada lamina propria jejunum yang ditunjukkan pada anak panah merah.

4.1.8 Hasil Analisis Histopatologi

Analisis gambaran histopatologi pada jejunum dilakukan dalam bentuk semikuantitatif dengan metode skoring antara 0 hingga 4, skoring tersebut dilihat dari patobiologi pada jaringan dan variasi dalam pengukuran (Gibson-Corley *et al.*, 2013). Hasil perhitungan skoring pada ayam sehat dan ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil skoring ayam sehat dan ayam yang terinfeksi kolibasilosis

Lapang pandang	Ayam broiler yang sehat			Ayam yang terinfeksi kolibasilosis		
	Hemoragi	Nekrosis	Infiltrasi sel radang	Hemoragi	Nekrosis	Infiltrasi sel radang
1	0	2	2	2	3	3
2	1	1	2	3	2	3
3	1	1	2	1	2	1
4	1	1	2	3	3	3
5	1	1	2	2	3	3

Hasil skoring dilanjutkan dengan uji analisis menggunakan metode *independent sample T-test* yang merupakan pengujian untuk melihat perbedaan yang signifikan diantara dua kelompok sampel bebas yang tidak berhubungan (Pradana dkk., 2022). Menurut Magdalena dan Angela Krisanti, (2019) menyatakan bahwa pengujian pada statistik t atau *t-test* dilakukan dengan menggunakan tingkat signifikansi sebesar 0,05, dimana apabila melebihi dari 0,05 berarti secara hubungan variabel independen tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap variabel dependen. Namun jika nilai signifikan lebih kecil maka secara hubungan variabel independen tersebut memiliki pengaruh yang signifikan terhadap variabel

dependen. Hasil pengujian dengan metode *independent sample T-test* dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil perhitungan dengan metode *Independent sampel T-test*

Parameter	Nilai rata-rata kelompok \pm standar Deviasi		Signifikan
	Kelompok ayam sakit	Kelompok ayam sehat	
Infiltrasi sel radang	2,60 \pm 0,89	2,0 \pm 0,0	0,198
Hemoragi	2,20 \pm 0,83	0,8 \pm 0,44	0,252
Nekrosis	2,60 \pm 0,55	1,20 \pm 0,44	0,029

Hasil analisis *Independent sampel T test* pada kelompok ayam sehat dan ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis, menunjukkan hasil yang berbeda antara infiltrasi sel radang, hemoragi, dan nekrosis, yakni pada gambaran histopatologi infiltrasi sel radang diperoleh nilai P 0,029 ($P \leq 0,05$) yang berarti memiliki perbedaan infiltrasi sel radang yang nyata antara ayam yang terinfeksi *Escherichia coli* yang patogen (ayam sakit) dan ayam yang tidak terinfeksi *Escherichia coli* (ayam sehat), sedangkan untuk hasil gambaran hemoragi dan nekrosis didapatkan nilai P 0,198 untuk hemoragi dan P 0,252 untuk nekrosis ($P \geq 0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata antara ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dan ayam sehat.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pemeriksaan Fisik

Hasil pemeriksaan fisik yang ditunjukkan pada sampel ayam broiler menunjukkan timbulnya tanda klinis seperti kelesuan, penurunan berat badan, bulu kusam, penurunan nafsu makan serta feses yang dikeluarkan berwarna putih

kehijauan. Hal ini sependapat dengan penelitian Jamin dkk., (2015) tentang gejala klinis ayam yang terkena kolibasilosis ditandai dengan bulu kusam, kurus, nafsu makan menurun, murung, pertumbuhan terganggu, diare, serta bulu kotor dan lengket disekitar kloaka. Strain APEC pada unggas memiliki kemampuan dalam menimbulkan penyakit yang sangat kompleks dikarenakan bakteri *Escherichia coli* dapat menyebar melalui peredaran darah atau bakteriemia dan bersifat sistemik (Ananda *et al.*, 2023).

4.2.2 Identifikasi bakteri *Escherichia coli* Patogen

Sampel sebanyak satu ekor ayam broiler dari pasar hidup Surabaya Wonokromo yang teridentifikasi bakteri *Escherichia coli* patogen penyebab kolibasilosis di swab kloaka dan ditumbuhkan pada media *Buffer Peptone Water* (BPW) yang merupakan media pengayaan yang efisien untuk menumbuhkan dan menjaga kelembaban sampel swab. Menurut Yeni dkk., (2023) *Buffer Peptone Water* (BPW) merupakan media non selektif yang sangat luas yang digunakan sebagai media *enrichment* dan mempunyai fungsi sebagai media pengenceran. Secara normal bakteri *Escherichia coli* pada ayam broiler di temukan pada swab kloaka, baik yang bersifat patogen maupun non-patogen (Mittal *et al.*, 2022)

Berdasarkan hasil dari pemeriksaan morfologi dari koloni bakteri *Escherichia coli* pada media MCA koloni menunjukkan warna merah muda, mengkilap, bulat kecil terpisah dan *irregular* serta kering. Hal ini disampaikan oleh Yuliandi dkk., (2022) bahwa bakteri *Escherichia coli* pada media MCA memiliki ciri koloni berwarna merah muda, bulat, dan cembung. Media MCA adalah media selektif yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Menurut

pendapat Damayanti dan Purwantisari, (2020) koloni bakteri *Escherichia coli* pada media MCA mengalami perubahan warna karena dapat melakukan fermentasi laktosa, sehingga menyebabkan penurunan pH. Hal ini memungkinkan absorpsi neutral red sebagai indikator warna pada media, sehingga bakteri *Escherichia coli* akan merubah warna menjadi merah muda jika pH berada dibawah 6,8. Hal ini sesuai pendapat Yunindika dkk., (2022) bahwa MCA dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri Gram positif dengan kandungan kristal violet dan garam empedu. Media MCA merupakan media selektif dan diferensial yang mengandung zat khusus dan karbohidrat untuk membedakan koloni yang dapat memfermentasi laktosa dengan yang tidak dapat memfermentasi laktosa serta membedakan bentuk dan ukuran koloni bakteri yang bervariasi sesuai dengan spesies (Yuliandi dkk., 2022).

Berdasarkan hasil dari pewarnaan Gram negatif hasil dari sampel ayam yang terinfeksi kolibasilosis menunjukkan bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang pendek dan berwarna merah. Hal ini sejalan dengan pendapat Kusuma dan Hendrayana, (2017) yang mengatakan bahwa ciri koloni bakteri Gram-negatif berbentuk coccobasil dan berwarna merah muda. Perubahan warna menjadi merah muda pada pemeriksaan mikroskop dikarenakan zat warna safranin dapat menembus dinding membran sel bakteri dan zat warna kristal violet dapat ikut larut bersama alkohol (Ginting dkk., 2018).

Dinding membran sel bakteri Gram-negatif mengandung satu atau beberapa lapis peptidoglikan dan membran luar. Tidak seperti bakteri gram-positif, dinding sel bakteri Gram-negatif tidak mengandung asam teikoat dan memiliki jumlah

peptidoglikan yang lebih sedikit. Karena hal ini, dinding sel bakteri Gram-negatif lebih rentan terhadap kerusakan mekanis. Pada saat dilakukan pewarnaan Gram pada saat pemberian alkohol. Dinding sel bakteri gram negatif dapat kehilangan warna, sehingga saat dilakukan pewarnaan dengan safranin bakteri tersebut akan tampak seperti memiliki warna safranin, yaitu warna terakhir yang ditambahkan (Tivani dkk., 2019).

Identifikasi selanjutnya yang dilakukan untuk mengetahui bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan Uji biokimia yang terdiri dari uji TSIA, SCA, SIM, MR dan VP (Kristiawan dkk., 2022). Hasil yang didapatkan pada uji biokimia bakteri *Escherichia coli* menunjukkan pada uji TSIA berupa positif yang ditandai perubahan warna dari merah menjadi kuning pada keseluruhan tabung baik *butt* (dasar) maupun *slant* (lereng), terdapat gas dan H₂S negatif. Hal ini sejalan dengan pendapat Kristiawan dkk., (2022) yang menyatakan bahwa pengujian *Escherichia coli* pada uji TSIA menunjukkan hasil positif asam yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning pada bagian permukaan dan dasar medium, dan terdapat juga produksi gas yang terlihat dari pengangkatan media ke permukaan, dan selain itu tidak ada produksi H₂S yang dapat dikenali dari ketiadaan perubahan warna menjadi hitam pada media TSIA. Perubahan warna kuning yang timbul pada media TSIA dihasilkan karena bakteri *Escherichia coli* pada media TSIA memiliki kemampuan dalam menfermentasi tiga gula, yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa (Ummamie dkk., 2017). Menurut Ginting dkk., (2018) Perubahan warna pada media bagian *butt* berwarna kuning diartikan bahwa bakteri *Escherichia coli* dapat memfermentasi glukosa, sedangkan warna kuning pada

bagian slant diartikan bahwa bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa, dan apabila bakteri *Escherichia coli* dapat memproduksi H₂S maka bagian dasar (butt) akan berubah menjadi hitam dan agar akan pecah.

Hasil dari pengujian SCA pada sampel ayam broiler menunjukkan hasil yang negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media dari hijau menjadi biru. Hal ini sejalan dengan penelitian Kartikasari dkk., (2019), dimana menunjukkan hasil yang negatif pada bakteri *Escherichia coli* dikarenakan bakteri *Escherichia coli* tidak dapat memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari hijau menjadi biru (Kartikasari dkk., 2019). Hasil negatif yang ditunjukkan disebabkan karena ketidakmampuan bakteri dalam meningkatkan pH media, sehingga tidak terjadi perubahan warna indikator *brom thymol blue* (BTB) pada media dari hijau menjadi biru (Khoiriyah dkk., 2022). Menurut pendapat Ummamie dkk., (2017) Bakteri yang bisa memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon maka akan menaikkan pH dan dapat mengubah warna media biakan dari hijau menjadi biru.

Berdasarkan dari hasil pengujian *Sulfide Indol Motility* (SIM) pada bakteri *Escherichia coli* memperlihatkan hasil yang positif dari indol dan motil yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada bagian atas media setelah ditetesin reagen kovacs serta terlihat penyebaran bakteri pada daerah tusukan. Hal ini sesuai dengan pendapat Gunawan dkk., (2022); Kristiawan dkk., (2022) yang menyatakan hasil positif pada pengujian indole dengan ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan media setelah penambahan reagen kovac's, dan motility positif ditandai dengan terlihatnya zona keruh pada daerah sekitar tusukan. Menurut

Widianingsih and Jesus, (2018) Cicin merah yang terbentuk pada media indole menunjukkan kemampuan dari bakteri dalam mendegradasi asam amino triptofan dan membentuk indol serta asam piruvat.

Hasil pengamatan pada uji MR menunjukkan hasil positif yang dilihat dari perubahan warna media menjadi merah setelah pemberian reagen *Methyl red*. Hal ini sejalan dengan penelitian Gunawan dkk., (2022) pada pengujian MR menunjukkan hasil yang positif karena terjadi perubahan warna pada media menjadi merah. Uji MR mempunyai tujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan memfermentasi asam dan campuran lain yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah Gunawan dkk., (2022). Sedangkan uji *Voges-Proskauer* (VP) digunakan untuk mengetahui asetonin pada cairan kultur bakteri Rahayu dan Gumilar, (2017). Hasil pengamatan menunjukkan yang negatif setelah diberi reagen α -naphthol 5% dan KOH 40%. Sependapat dengan penelitian Sari *et al.*, (2019) yang menyatakan hasil negatif atau tidak terjadi perubahan warna merah pada pengujian bakteri *Escherichia coli*. Menurut Rahayu dan Gumilar, (2017) Hasil negatif ini terjadi disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat menjadi senyawa asam dan tidak menghasilkan senyawa netral seperti asetonin.

Bakteri *Escherichia coli* melalui pengujian hemolisis darah di media *Blood Agar* akan menghasilkan tiga jenis hemolisa, yaitu yang terdiri dari α -hemolisa yang akan terlihat zona gelap disekitar koloni, β -hemolisa akan menghasilkan zona terang disekitar koloni, dan γ -hemolisa yang tidak akan membentuk zona hemolisis disekitar koloni (Khoiriyah dkk., 2022). Berdasarkan hasil pemeriksaan

uji patogenitas bakteri *Escherichia coli* terhadap satu sampel ayam broiler yang terinfeksi penyakit kolibasilosis menggunakan media *Blood Agar Plate* (BAP) menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya zona terang disekitar koloni. Hal ini sejalan dengan penelitian Lestari and Budiharjo, (2016) yang menunjukkan hasil positif pada pengujian kemampuan bakteri dalam menghidrolisis darah dan protein yang ditunjukkan dengan terbentuknya *clear zone* (zona transparan) disekitar koloni. Menurut pendapat Sari dkk., (2015) terbentuknya zona hemolisis diakibatkan dari pelepasan senyawa glikolipid aktif pada substrat hidrofilik oleh strain bakteri.

Uji kemampuan hidrolisis protein dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim proteolitik yang dapat dimanfaatkan untuk memecah protein, yang diartikan bahwa bakteri tersebut bersifat patogenitas (Lestari and Budiharjo, 2016). Patogenitas dari *Avian Pathogenic Escherichia coli* dapat dimulai dari debu pada kandang yang terkontaminasi *Escherichia coli*, dan kemudian terhirup oleh ayam dan masuk ke saluran pernafasan dan menempel pada permukaan epitel saluran respirasi khususnya pada vili epitel, kemudian masuk ke peredaran darah, kemudian memultiplikasi pada tubuh hewan dan menyebabkan kerusakan (Ananda *et al.*, 2023).

4.2.3 Patologi Anatomi

Berdasarkan hasil pemeriksaan patologi anatomi ayam broiler yang terkena kolibasilosis menunjukkan perubahan anatomi pada ayam seperti hemoragi pada jejunum, pembengkakan serta ukuran pada tepi hepar tumpul (perihepatitis), hemoragi, ptekie, perikarditis. menurut hasil pemeriksaan patologi anatomi yang

dilakukan oleh Ananda *et al.*, (2023) mengatakan bahwa perubahan patologi anatomi yang disebabkan oleh penyakit kolibasilosis mempunyai gejala khas seperti perikarditis dan perihepatitis yang disertai dengan adanya pembentukan fibrin yang menutupi sebagian atau seluruh permukaan organ jantung dan hati. Fibrin ini biasanya akan tampak berwarna putih keabuan atau terkadang kekuningan. Menurut Meha dkk., (2016) jejunum ayam yang terinfeksi kolibasilosis dapat mengalami distensi usus, kongesti serta pendarahan pada saluran pencernaan. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh enterotoksin pada *Escherichia coli* yang menempel pada usus sehingga dapat menyebabkan peningkatan kemampuan dari pembuluh darah (Solfaine *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil dari patologi anatomi jantung yang telah diamati didapatkan adanya selaput fibrin pada jantung. Menurut Suryani dkk., (2014); Yanti dkk., (2019) menyatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* dapat menyebar melalui sirkulasi darah (bakteriemia) sehingga dapat mencapai target organ jantung dan berkolonisasi sehingga menyebabkan peradangan sampai terbentuknya fibrin serta dapat menyebar pada organ lain seperti pada hepar.

4.2.4 Gambaran Histopatologi Kolibasilosis

Histopatologi pada usus halus yang terinfeksi *Escherichia coli* yang menyebabkan penyakit kolibasilosis akan memperlihatkan adanya perubahan lesi yang dapat berupa kongesti, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan hemoragi yang berbeda (Meha dkk., 2016).

4.2.4.1 Infiltrasi Sel Radang Jaringan Jejunum

Berdasarkan hasil analisis menggunakan pengujian *Independent Sampel T-test* didapatkan hasil dengan nilai $P 0,029 \leq P 0,05$ yang dimana berarti terdapat perbedaan yang nyata antara ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dan ayam yang tidak terinfeksi kolibasilosis (ayam sehat). Pada gambaran histologi jejunum ayam yang sehat terjadi infiltrasi sel radang pada villi jejunum yang terdiri dari sel limfosit dan neutrofil.

Sedangkan pada ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis terjadi infiltrasi sel radang pada lamina propria jejunum yang mendominasi sel limfosit dan neutrofil di tunika submukosa. Menurut penelitian Ali *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa gambaran histopatologi usus yang mengalami infeksi akut akibat toksin *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya neutrofil pada mukus usus yang menyebabkan kongesti pada dinding usus serta peningkatan makrofag dan sel plasma. Bakteri *Escherichia coli* patogen mempunyai kemampuan menempel pada lapisan mukosa dan dapat menyebabkan ruptur pada sel epitel permukaan dan peradangan usus Towolliu dkk., (2013). Keradangan pada kolibasilosis yang ditemui dengan adanya infiltrasi sel radang neutrofil dengan derajat kerusakan yang berat (Meha dkk., 2016). Sel radang terdiri dari neutrofil, monosit, dan limfosit, dimana masing-masing sel radang ini memiliki peranan sendiri, seperti neutrofil memiliki peran utama ketika terjadinya injury, saat injury atau cedera berlangsung kronis, eksistensi sel radang neutrofil perlahan akan digantikan oleh sel radang monosit (Bare dkk., 2019). Menurut Greten and Grivennikov, (2019) Sel radang berfungsi untuk mengeleminasi patogen, sel yang mati dan meregulasi sistem pertahanan

tubuh lainnya, namun sel radang yang dibiarkan bersirkulasi lama pada tubuh akan menyebabkan destruksi jaringan yang masif akibat sel radang yang dapat mensekresikan radikal bebas seperti nitrit oksida (NO) yang berfungsi untuk melisis patogen.

4.2.4.2 Hemoragi Jaringan Jejunum

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan pengujian *Independent Sampel T test* menunjukkan hasil $P = 0,198 \geq P = 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang nyata antara ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dan yang tidak terinfeksi kolibasilosis (ayam sehat). Pada gambaran histologi ayam sehat terdapat hemoragi pada lamina propria dan tunika mukosa. Sedangkan pada gambaran histologi ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis secara keseluruhan dari lima lapang pandang terjadi hemoragi pada lamina propria, tunika submukosa, dan villi jejunum. Nissa dkk., (2022) menjelaskan bahwa lamina propria dibentuk oleh jaringan ikat longgar yang meliputi pembuluh darah, kolagen, serat otot, limfosit, dan kelenjar lieberkunh.

Hemoragi yang terjadi pada usus dapat dikarenakan oleh menempelnya *Escherichia coli* pada usus sehingga menyebabkan perlekatan dan proliferasi yang mengeluarkan enterotoksin (Meha dkk., 2016). Hemoragi adalah kejadian perdarahan yang terjadi diluar pembuluh darah. Hemoragi dapat disebabkan oleh infeksi, luka atau trauma. *Escherichia coli* yang bersifat patogen memiliki enzim hemolisin yang berfungsi untuk melisis sel darah merah (Suwito dan Andriani, 2018). Persad and LeJeune, (2014); Vally *et al.*, (2012) menyatakan bahwa *Escherichia coli* dapat merusak jaringan dan menyebabkan lisisnya sel darah

merah, selain memiliki enzim hemolisin, *Escherichia coli* juga memiliki *shiga like toxin* dan endotoxin yang menyebabkan perdarahan tingkat seluler, sehingga akan menyebabkan kerusakan jaringan yang multifocal.

4.2.4.3 Nekrosis Jaringan Jejunum

Berdasarkan hasil analisis data dari pengujian *Independent Sampel T test* didapatkan hasil bahwa $P 0,252 \geq (P 0,05)$ yang berarti tidak memiliki perbedaan yang nyata antara ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dan yang tidak terinfeksi penyakit kolibasilosis (ayam sehat). Gambaran histologi jejunum pada ayam yang sehat terjadi nekrosis pada villi lamina propria jejunum dan lapisan epitelium pada tunika mukosa, sedangkan pada ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis terjadi nekrosis pada villi lamina propria, tunika muskularis, dan lapisan epitelium jejunum pada tunika mukosa.

Nekrosis adalah suatu kerusakan jaringan yang tidak dapat disembuhkan yang dapat diakibatkan oleh berbagai faktor seperti infeksi sel yang sudah tua ataupun zat kimia (Saputra dkk., 2012). Secara pengamatan gambaran histologi jejunum perbedaan nekrosis pada ayam yang sehat dan ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis disebabkan karena tingginya tingkat *Escherichia coli* dalam jejunum ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis dibandingkan dengan bakteri pada ayam yang sehat.

Kerusakan yang tinggi terjadi pada ayam yang terinfeksi kolibasilosis, sesuai dengan temuan Solfaine *et al.*, (2023) yang menjelaskan bahwa kerusakan yang parah pada mukosa usus disebabkan oleh tingginya jumlah bakteri pada infeksi bakteri *Escherichia coli*, yang menyebabkan perkembangan kondisi

patologis. Menurut Ren *et al.*, (2014) kolonisasi *Escherichia coli* pada usus dapat mengganggu keseimbangan flora normal usus sehingga akan menyebabkan kerusakan pada jaringan usus yang berlebihan. Pada gambaran histologi jejunum ayam yang terinfeksi kolibasilosis terdapat sel goblet dan terdapat nekrosis sel goblet pada ayam yang terinfeksi kolibasilosis maupun pada ayam yang sehat, serta terdapat proliferasi sel goblet pada ayam yang terinfeksi penyakit kolibasilosis. Menurut Nissa dkk., (2022) sel goblet berbentuk bulat atau memanjang dengan inti yang terletak pada dasar. Sel goblet mempunyai fungsi mensekresikan mukus, melumasi, dan melindungi lapisan usus halus dari patogen, serta mengurangi pergerakan dan pelekatan patogen (Sariati dkk., 2019). Menurut penelitian Sariati dkk., (2019) Jumlah sel goblet berhubungan dengan jumlah kelenjar lieberkuhn atau kelenjar intestinal, hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kelenjar lieberkuhn menghasilkan jumlah sel goblet yang lebih banyak. Meha dkk., (2016) menjelaskan bahwa perbedaan tingkat kerusakan lesi histopatologi dapat dipengaruhi oleh faktor keadaan tubuh, yang dimana jika semakin bertambahnya usia maka semakin menurun kejadian kolibasilosis pada unggas.