



Identifikasi dan Patogenesitas *Escherichia coli* dari Swab Kloaka Ayam

Identification and Pathogenicity of Escherichia coli from Cloacal Swabs

Arie Khoiriyah^{1*}, Sumardi¹, Hendri Busman¹

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Science, University of Lampung. Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia, 35145.

* Corresponding Author. E-mail address: arikhoiriyah@gmail.com

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 14 June 2022

Accepted: 21 January 2023

KATA KUNCI:

Escherichia coli
Patogen
Swab kloaka

KEYWORDS:

Escherichia coli
Pathogen
Cloacal swabs

© 2022 The Author(s). Published by Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung in collaboration with Indonesian Society of Animal Science (ISAS). This is an open access article under the CC BY 4.0 license: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ABSTRAK

Kolibasilosis adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) patogen sebagai agen primer ataupun sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi dan uji patogenesitas dari isolat *E. coli* yang diisolasi dari sampel swab kloaka ayam. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *E. coli* yang diisolasi dari swab kloaka ayam sebanyak 42 sampel. Tahap pertama pada penelitian ini yaitu sampel di subkultur di media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), yang kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia dengan *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmons Citrate Agar* (SCA) dan *Methyl Red Voges-Proskauer* (MRVP). Isolat *E. coli* diuji patogenesitasnya dengan dikultur di media *Blood Agar* untuk melihat hasil produksi hemolisin dan di media *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC) untuk melihat kemampuan fermentasi Sorbitol. Didapatkan hasil sebanyak 12 isolat *E. coli* yang bersifat patogen dari hasil pengujian patogenesitas di media *Blood Agar* dan *SMAC Agar*.

ABSTRACT

Colibacillosis is an infectious disease in poultry caused by pathogenic Escherichia coli (E. coli) as primary or secondary agents. This study were aim to identify and test the pathogenicity of E. coli isolated from chicken cloacal swabs. The samples used in this study were E. coli isolated from chicken cloacal swabs as many as 42 samples. The first stage in this research was subculturing E.coli in Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) medium, then identified by Gram stain and biochemistry with Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Sulfide Indole Motility (SIM), Simmons Citrate Agar (SCA) and Methyl Red Voges-Proskauer (MRVP). Pathogenicity of E. coli was tested by culturing in Blood Agar to see the results of hemolysin production and on Sorbitol-MacConkey Agar (SMAC) to see the ability of Sorbitol fermentation. The results obtained were 12 isolates was pathogenic E. coli looked from the results of the pathogenicity test in the Blood Agar and SMAC Agar.

1. Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, dan mempunyai flagella. Bakteri ini termasuk dalam golongan family *Enterobacteriaceae* genus *Escherichia* dan bersifat aerob. *Escherichia coli* secara alami merupakan flora normal di saluran pencernaan hewan dan manusia (Hidayati et al., 2018). Bakteri ini berperan mencegah bakteri patogen lain di dalam saluran pencernaan. Beberapa strain *E. coli* ada yang bersifat patogen dan memiliki kemampuan menularkan sifat patogen ke bakteri lain (Erfianto, 2014).

Kolibasillosis adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* patogen sebagai agen primer ataupun sekunder. Patogenesitas *E. coli* ditentukan oleh kemampuannya untuk menghasilkan satu atau lebih sitotoksin yang sangat potensial yang dikenal dengan nama *Shiga like toxin* atau verotoksin (Suardana et al., 2014).

Escherichia coli patogen asal unggas memiliki banyak faktor virulensi (Salehi dan Ghanbarpour, 2010; Kalule et al., 2018), yang berperan dalam proses infeksi dan sifat patogennya (Sharma et al., 2007). Menurut Oxoid (1998) sifat virulensi dari suatu bakteri secara fenotipe dapat dilihat dari kemampuannya melisiskan eritrosit. Kemampuan tersebut dipengaruhi oleh suatu protein ekstraseluler yang disebut hemolisin (Mckane dan Kendel, 1998). Selain itu juga dapat dilihat dari ketidakmampuannya dalam memfermentasi sorbitol. *Escherichia coli* dengan sorbitol-negatif merupakan strain patogen didasarkan ketidakmampuan isolat memfermentasi sorbitol pada agar *Sorbitol MacConkey* (SMAC) (Jabur et al., 2016).

Escherichia coli patogen mempunyai peranan penting dalam penyakit zoonosis yang bisa menyebar melalui kontak langsung dengan feses, kontak dengan peralatan kandang, air dan makanan yang terkontaminasi seperti makanan yang mentah atau daging yang dimasak kurang matang (Pelt et al., 2016). Selain itu juga meningkatnya kejadian penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* seiring dengan rendahnya sanitasi perkandangan (Besung et al., 2019).

Karakteristik *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit yaitu bersifat patogen, karena itu penelitian ini bertujuan untuk identifikasi dan uji patogenesitas *E. coli* dari swab kloaka ayam.

2. Materi dan Metode

2.1. Materi

Penelitian ini menggunakan 42 isolat bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari swab kloaka ayam kondisi sehat di unit peternakan yang berasal dari hasil surveilans di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung (Provinsi Lampung, Sumatera Selatan, dan Bengkulu).

Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *MacConkey Agar* (MCA), *Blood Agar* (BA), *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC), pewarnaan Gram, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmons Citrate Agar* (SCA) dan *Methyl Red Voges-Proskauer* (MRVP)

2.2. Metode

2.2.1. Isolasi dan Identifikasi

Media isolasi dan identifikasi adalah *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan *MacConkey Agar* (MCA) yang kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan dilanjutkan uji biokimia dengan *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmons Citrate Agar* (SCA) dan *Methyl Red Voges-Proskauer* (MRVP) (Deptan, 1999).

2.2.2. Uji Patogenesitas di media Sorbitol-MacConcey Agar

Koloni positif *E. coli* di media EMBA yang telah dikultur di media *Nutrient Agar* miring, selanjutnya diinokulasikan di media *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC). Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, *E. coli* yang bersifat patogen dideteksi dari terlihatnya koloni jernih atau tidak berwarna di media SMAC dan dianggap bersifat sorbitol negatif (Suardana et al., 2014).

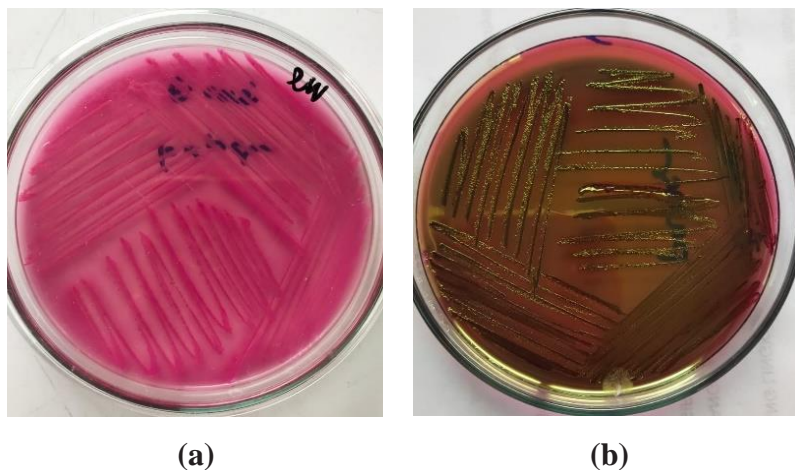
2.2.3. Produksi Hemolisin di Media Blood Agar

Koloni positif *E. coli* di media EMBA yang telah dikultur di media *Nutrient Agar* miring, selanjutnya diinokulasikan di media *Blood Agar* yang diberikan tambahan darah domba 5%. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, *E. coli* yang bersifat patogen dideteksi dari terlihatnya zona di sekitar koloni yang dianggap sebagai produksi hemolisin (Suardana et al., 2014 dan Hendrayana et al., 2012).

3. Hasil dan Pembahasan

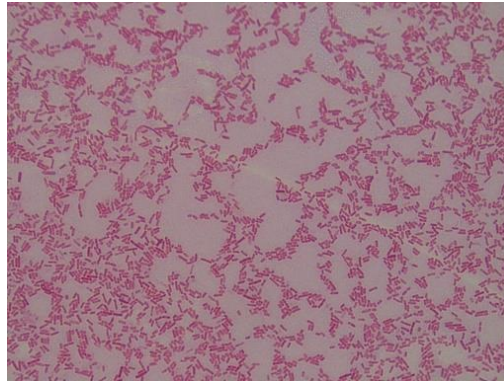
3.1. Hasil Isolasi dan Identifikasi

Isolat *E. coli* yang diisolasi dari sampel swab kloaka ayam sebanyak 42 isolat disubkultur di media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan *MacConkey Agar* (MCA). Hasil isolasi dan identifikasi isolat tersebut di media EMBA koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik dengan titik hitam di bagian tengah koloni dan di media MCA koloni yang tumbuh berwarna merah muda sebagai bukti bahwa isolat *E. coli* memfermentasi laktosa yang ada dalam kandungan media MCA. Hasil isolasi dan identifikasi isolat *E. coli* di media EMBA dan MCA setelah diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Koloni *Escherichia coli* pada media *MacConkey Agar* (a) dan *Eosyn Methylene Blue Agar* (b)

Gambar 1 memperlihatkan hasil subkultur isolat *E. coli* di media EMBA dan media MCA masih stabil. Menurut Effendi *et al.* (2019) koloni *Escherichia coli* pada media MCA di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x akan tampak berwarna merah muda dengan bulat sempurna, koloni cembung dengan batas yang jelas. Isolat kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram (**Gambar 2**) dan uji biokimia dengan media TSIA (**Gambar 3**), SIM, MRVP, SCA (**Gambar 4**).



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram *E.coli* pada media *MacConkey Agar* berwarna merah muda, bulat sempurna, koloni cembung dengan batas jelas

Pada hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa ke-42 isolat sampel memiliki karakteristik yang sama seperti pada **Gambar 2** yaitu koloni berwarna pink/merah muda, berbentuk batang pendek (*cocobacil*) dan tidak membentuk spora. Setelah dilakukan pewarnaan Gram dilanjutkan uji gula-gula di media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (**Gambar 3**) yang diperoleh hasil seluruh isolat sampel adalah positif yang ditandai bagian miring media berwarna kuning, pada bagian tegak berwarna kuning dan pada bagian dasar terdapat gas yang menyebabkan media seperti terangkat ke atas sehingga semua sampel isolat pada uji TSIA menunjukkan asam/asam/gas dan H₂S tidak ada atau negatif. Hal tersebut sesuai dengan literatur Mahon (2015) bahwa bakteri *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa sehingga hasil akhir pada media adalah asam/berwarna kuning.



Gambar 3. Hasil uji gula-gula *Escherichia coli* di media *Triple Sugar Iron Agar* dengan isolat positif berwarna kuning pada bagian miring media

Gambar 4 memperlihatkan hasil identifikasi yang dilakukan pada uji biokimia yaitu pada uji *Sulfide Indole Motility* (SIM) menunjukkan hasil positif ditandai bakteri yang tidak bergerak hanya tumbuh di tempat dimana sel tersebut ditanam. Pada uji *Simmons Citrate Agar* (SCA) hasil positif ditandai bakteri yang diuji negatif, sehingga bakteri tidak mampu meningkatkan *pH* media yang merubah indikator *brom thymol blue* dalam media dari warna hijau menjadi biru. Pada uji *TSIA* hasil positif ditandai perubahan media menjadi asam dan berwarna kuning dan terlihat gas, sehingga media bergerak ke atas. Pada uji *MR-VP* warna kuning menunjukkan reaksi negatif dan warna merah menunjukkan reaksi positif. Pada uji indol, apabila warna merah *cherry* pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif.



Gambar 4. Hasil identifikasi *Escherichia coli* pada uji biokimia di *Sulfide Indole Motility*, *Methyl Red Voges-Proskauer*, *Simmons Citrate Agar*

3.2. Uji Patogenesitas di media *Sorbitol-MacConkey Agar*

Isolat *E. coli* diuji patogenesitasnya dengan dikultur di media *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC) untuk melihat koloni yang memfermentasi sorbitol (**Gambar 5**). Hasil kultur di media SMAC ke-12 isolat *E. coli* menunjukkan hasil koloni tidak berwarna disajikan pada **Tabel 1**. Hal ini menunjukkan bahwa ke-12 isolat *E. coli* tersebut adalah *E. coli* patogen. Hasil isolasi di media SMAC ini sesuai dengan hasil penelitian Pelt et al. (2016) yang melaporkan bahwa bakteri *E. coli* patogen tumbuh berwarna merah muda atau berwarna bening pada media SMAC karena *E. coli* patogen tidak mampu memfermentasikan sorbitol. *Escherichia coli* dengan sorbitol negatif merupakan strain patogen didasarkan ketidakmampuan isolat memfermentasi sorbitol pada *Sorbitol-*

MacConkey Agar (SMAC) (Jabur *et al.*, 2016). Deteksi *E. coli* patogen dengan media SCA telah digunakan oleh beberapa peneliti (Sekhar *et al.*, 2017; Kalule *et al.*, 2018).



Gambar 5. Koloni *Escherichia coli* di media *Sorbitol Mac Concey Agar* berupa koloni tidak berwarna (tidak memfermentasi sorbitol).

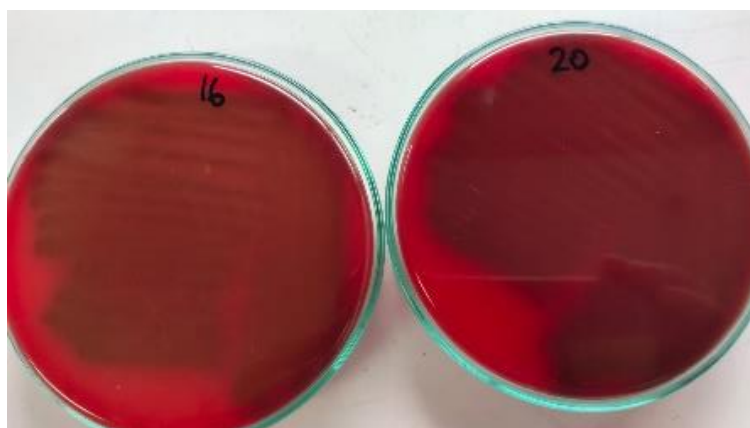
Tabel 1. Hasil uji *Escherichia coli* di media *Eosin Methylene Blue Agar*, Uji *IMViC*, dan uji patogenesitas.

No.	Kode	EMBA	TSIA	SCA	TW	Motilitas	MR	VP	BA	SMAC
1	B8	positif	k/k gas	Hijau	Positif	Positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
2	B7	positif	k/k gas	Hijau	Positif	Positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
3	A3	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	Positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
4	AEC	negatif	k/k	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
5	CEC	positif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
6	EEC	positif	k/k gas	Hijau	Positif	Positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
7	AECT	positif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
8	BECT	negatif	k/k gas	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
9	CECT	positif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
10	ECM	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
11	ECT10	positif	k/k gas	Hijau	Positif	Positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
12	ECT12	positif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
13	ECT13	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
14	ECT15	negatif	k/k gas	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
15	ECN3	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
16	ECN7	negatif	k/k gas	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
17	ECN9	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
18	ECWK	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
19	ECO19	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
20	ECO8	Positif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
21	ECO10	negatif	k/k gas	biru	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
22	ECO12	negatif	k/k gas	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
23	ECO13	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
24	ECO19	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
25	ECO125	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
26	ECLTR	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
27	ECLTM	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
28	ECLB10	negatif	k/k	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
29	ECPA	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
30	ECPB	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
31	ECTG10	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
32	ECTG11	positif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
33	ECTG13	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink

No.	Kode	EMBA	TSIA	SCA	TW	Motilitas	MR	VP	BA	SMAC
34	ECTG14	positif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
35	ECTBA1	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
36	ECTBA2	positif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless
37	ECTBB1	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
38	ECTBB2	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
39	ECPL1	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
40	ECPL18	negatif	k/k	biru	negatif	negatif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
41	ECOU12	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
42	ECOU17	negatif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	pink
Kontrol										
43	ATCC	positif	k/k gas	Hijau	Positif	positif	positif	negatif	alpha hemolisis	colourless

3.3. Uji Produksi Hemolisin

Hasil uji hemolisa darah di media *Blood Agar* terhadap ke-12 isolat *E. coli* patogen disajikan pada **Gambar 6**. Bakteri yang menghasilkan α -hemolisa akan membentuk zona agak gelap di sekitar koloni, bakteri yang menghasilkan beta-hemolisin akan membentuk zona terang di sekitar koloni dan yang menghasilkan gamma-hemolisin tidak membentuk zona hemolisis di sekitar koloni (Khusnan *et al.*, 2008). Gambar 6 menunjukkan bahwa dari ke-12 isolat memperlihatkan koloni *E. coli* yang tumbuh di media *Blood Agar* terlihat berwarna buram di sekitar koloni bakteri. Hal ini sesuai menurut Muslimin (2016) bahwa pengujian patogenitas bakteri *E. coli* patogen dilakukan pada media *Blood Agar* dengan koloni terlihat hemolisa (buram) atau bersifat alpha-hemolisa. Hemolisin merupakan faktor virulensi yang penting pada *E. coli* patogen (Fatima *et al.*, 2012). Keberadaan hemolisin pada *E. coli* isolat asal broiler telah dilaporkan oleh Shankar *et al.* (2010) serta hemolisin merupakan satu-satunya protein yang mampu melisis eritrosit (Herlax *et al.*, 2010).



Gambar 6. Uji produksi hemolisin pada media *Blood Agar* (alpha-hemolisa)

4. Kesimpulan

Uji patogenesitas dari 42 isolat *Escherichia coli* didapatkan 12 isolat yang merupakan *Escherichia coli* patogen. Berdasarkan hasil uji isolasi dan identifikasi bakteri serta uji patogenesitas di media *Sorbitol-MacConkey Agar* yang ditandai dengan tumbuhnya koloni yang tidak berwarna dan produksi alpha-hemolisin di media *Blood Agar*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Dosen Pembimbing di Program Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas bimbingan dan koreksinya. Ucapan terimakasih juga ditujukan kepada Kepala Balai Veteriner Lampung atas izin pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Besung, I.N.K, I.G.K. Suarjana, K.P.G. Tono. 2019. Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari Ayam Petelur. *Buletin Veteriner Udayana*. 11 (1): 28-32.
- Departemen Pertanian (Deptan) Republik Indonesia. 1999. *Manual Standar Metode Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan*. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 111-114.
- Effendi M H, N. Harijani, Budiarto, N.P. Triningtya, W. Tyasningsih, H. Plumeriastuti. 2019. Prevalence of Pathogenic *Escherichia Coli* Isolated from Subclinical Mastitis in East Java Province, Indonesia. *Indian Vet. J.* 96(03): 22 – 25.
- Erfianto, G.I. 2014. *Escherichia coli* yang Resisten terhadap Antibiotik yang Diisolasi dari Sapi Potong yang Diimpor melalui Pelabuhan Tanjung Priok Jakarta. Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fatima, N., M. Agrawal, I. Shukla, P.A. Khan. 2012. Characterization of uropathogenic *E. coli* in relation to virulence factors. *Scientific Reports* 1:342. doi:10.4172/scientificreports.342.
- Hendrayana, M.A., K.J.P. Pinatih, A. Yelly. 2012. Deteksi Bakteri *Escherichia coli* Serotipe O157 pada Daging Babi dari Pedagang Daging Babi di Kota Denpasar. *MEDICINA*, 43(1):3-8.
- Herlax, V., M.F. Henning, A.M. Bernascon, F.M. Goni, L. Bakas. 2010. Health The lytic mechanism of *Escherichia coli* α -hemolysin associated to outer membrane vesicles Lytic action mechanism of OMVs-associated HlyA. *Nat. Sci.*, 2: 484-492
- Hidayati, W., I.G.R.M. Temaja, N.N.D. Fatmawati. 2018. Karakteristik Fenotif Isolat Kinik *Escherichia coli* O157:H7 pada Media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC). *Journal of Agricultural Science and Biotechnology*, 7(1): 35-40.
- Jabur, Z.A., S.S. Fakhry, M.A. Hassan, B.Q. Kadhem. 2016. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Food. *World Journal of Experimental Biosciences*, 4(2): 83-86.

- Kalule, J.B., K.H. Keddy, P. Mark, and M.P. Nicol. 2018. Characterisation of STEC and other diarrheic E. coli isolated on CHROMagar™STEC at a tertiary referral hospital, Cape Town. *BMC Microbiology*, 18: 55. doi: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1195-7>
- Khusnan, S.I.O. Salasia, Soegiyono. 2008. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fenotip Bakteri Staphylococcus aureus Dari Limbah Penyembelihan dan Karkas Ayam Potong. *Jurnal Veteriner*, 9(1): 45-51.
- Mahon, C. 2015. *Textbook of Diagnostic Microbiology 5th edition*. Saunders Elsevier. Philadelphia.
- McKane, L. and J. Kandel. 1998. *Microbiology. Essentials and Application*. 2th ed. McGraw Hill, Inc. Philadelphia.
- Muslimin, L. 2016. Zoonotik Bakteri Patogen Escherichia Coli O157:H7 Penyebab Food Borne Disease. *Seminar Nasional Ke-4, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana*, 25 Oktober 2016. Kupang ISBN 978-602-6906-21-2.
- Bridson, E.Y. 1998. *The Oxoid Manual (8th ed.)*. Oxoid Ltd. Basingstoke.
- Pelt, N, M.U.E. Sanam, E. Tangkonda. 2016. Isolasi, prevalensi dan uji sensitivitas antibiotik terhadap escherichia coli serotipe O157 pada ayam buras yang diperdagangkan di pasar tradisional di Kota Kupang. *Jurnal Veteriner Nusantara* 1(1): 14-20.
- Salehi, M. and R. Ghanbarpour. 2010. Characterization of Escherichia coli Isolates from Commercial Layer Hens with Salpingitis. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5 (3): 208-214. doi: <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2010.208.214>
- Sharma, S., G.K. Bhat, S. Shenoy. 2007. Virulence factors and drug resistance in Escherichia coli isolated from extraintestinal infections. *Indian J. Med. Microbiol.*, 25(4): 369-373. doi: <https://doi.org/10.4103/0255-0857.37341>