

Salix Extract: Impact on the Quantity of *Escherichia coli* in the intestines of Broiler Chickens Exposed to the Heat Stress

M Daud AK^{1,2}, Rivaldi Luthfi³, Sugito⁴, Andi Novita⁵, Ismail⁵, M Nur Salim⁶, Fakhurrrazi¹, Mahdi Abrar¹, Juliani⁷

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Center for Tropical Veterinary Studies, One Health Collaboration Center, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁶Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁷Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Serambi Mekkah, Banda Aceh

E-mail: m.daud.ak@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

Escherichia coli (*E. coli*) is a normal flora and a facultative anaerobic bacterium that plays an essential role in the humoral nutritional metabolism of broiler intestines. This study aims to determine the effect of salix (*Salix tetrasperma roxb*) extract 50 and 100 mg/litre in drinking water of *E. coli* colonies in the broiler intestines experiencing heat stress. The sample is 12 intestines of broiler strain MB-90 aged 28 days. The method used a completely randomized design. The study by user three treatments: P0 was not given salix extract in drinking water; P1 and P2 were given salix extract 50 and 100 mg/litre in drinking water. The data were analyzed using One-way ANOVA and were continued with the Duncan test. We can conclude that the salix extract given to broiler chickens with heat stress could affect many *E. coli* colonies. This result can be seen from the doses given, indicating that the number of *E. coli* colonies in chicken intestines that experience heat stress depends on the dose of salix extract. The higher dose is given, the fewer colonies in the chicken intestine.

Key words: Chickens, *Escherichia coli*, Heat stress, Intestines, Plant extracts

PENDAHULUAN

Ayam broiler (*Gallus domesticus*) adalah jenis unggas yang banyak dikembangkan sebagai sumber pemenuhan kebutuhan protein hewani (Hidayati et al., 2016). *E. coli* merupakan flora normal didalam usus ayam yang bersifat fakultatif anaerob. Umumnya bakteri ini tidak menyebabkan penyakit melainkan dapat membantu fungsi metabolisme, humoral dan nutrisi (Wiedosari dan Wahyuwardhani, 2015; Haribi dan Yusron, 2010). Bakteri *E. coli* memiliki peran penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* akan menjadi patogen jika jumlahnya dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Jawetz et al., 1995)

Suhu sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan bakteri, *E. coli* dapat tumbuh pada suhu minimum, optimum dan maksimum yaitu pada kisaran suhu antara 15 – 55 °C, dengan suhu optimum sebesar 37 °C

dan kelembapan optimum lingkungan 85% bakteri ini akan tumbuh dengan sangat baik (Rudiyansyah et al., 2015). Pada suhu lingkungan kurang dari minimum aktivitas enzim akan berhenti sedangkan pada suhu lebih besar dari maksimum enzim akan terdenaturasi dan menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (Arivo dan Annissatussholeha, 2017).

Stres panas menjadi permasalahan besar dalam industri perunggasan. Karena stres panas dapat menurunkan performa pertumbuhan ayam dan akan mempermudah timbulnya penyakit yang salah satunya disebabkan oleh *E. coli* yang meningkat (Zulkifli et al., 2018). Penyakit dapat meningkat pada ayam yang mengalami stres panas, salah satu faktornya yaitu menurunnya sistem imun pada unggas karena meningkatnya hormon stres. Sugito et al. (2006), melaporkan bahwa pemberian ekstrak kulit batang jalloh dalam air minum pada ayam broiler yang mengalami stres panas dapat menurunkan stres dan meningkatkan kinerja pertumbuhan ayam.

Ada beberapa senyawa dalam tanaman jalloh yang dapat meningkatkan imunitas tubuh, selain itu tanaman ini juga mengandung senyawa dengan efek antiinflamasi dan antibakteri seperti tannin, flavonoid, polysaccharide, saponin, dan terpenoid (Amri et al., 2018; AK et al., 2019). Kandungan antibakteri pada ekstrak dari kulit batang jalloh memiliki aktivitas yang lebih baik dari pada dari akar dan daun jalloh (Ramadani et al., 2019). Hal ini berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan jalloh. Senyawa seperti salisin, flavanoid dan steroid dikenal sebagai unsur herbal yang merupakan kandungan utama dari jalloh (Sugito et al., 2007; Sugito, 2008).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak jalloh berpengaruh terhadap keberadaan *E. coli* pada usus ayam yang mengalami stres panas.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah swab steril, inkubator (*Memmert*[®]), rak tabung reaksi, tabung reaksi (*Pyrex*[®]), tabung Erlenmeyer, lampu spiritus, *osse* jarum, *osse* sengkeli, *object glass*, mikroskop (*Olympus*[®]), pipet tetes, cover glass, cawan Petri (*Pyrex*[®]). Bahan yang digunakan adalah *Eosin Methylen Blue Agar* (*Oxoid*[®]), untuk pewarnaan Gram (*Crystal violet*, lugol, alkohol 96%, dan safranin) dan uji biokimia berupa reagen indol, reagen *Methyl red* (MR), *Sulfid indol motility* (SIM), dan simmons sitrat agar serta uji fermentasi berupa manitol, glukosa, maltosa dan sukrosa

Ayam yang digunakan dalam penelitian ini dipelihara sejak DOC mulai umur 1 hari sampai umur 15 hari. Pada umur 16 hari ayam diacak dan diletakkan pada masing-masing perlakuan, setelah ayam berumur 20 hari atau

setelah masa adaptasi selama 5 hari kemudian saat ayam berumur 21 hari ayam diberi perlakuan sesuai prosedur penelitian. Selama masa pemeliharaan dan masa adaptasi serta masa perlakuan, ayam broiler strain MB-90 diberikan pakan komersil HIPROVITE-511 bravo dan pemberian air minum menggunakan air PDAM yang sudah diendapkan selama 24 jam. Selain itu, ayam juga diberi vaksin pada umur 4 dan 15 hari dengan vaksin ND (Newcastle Disease) dan AI (Avian Influenza).

Pemberian cekaman panas dilakukan dengan meningkatkan suhu di dalam kandang tertutup dengan menggunakan alat pemanas (*heater*) yang berasal dari lampu pijar berdaya 75 Watt sebanyak 3 buah. Kandang berpemanas merupakan suatu kandang tertutup di dalam sebuah ruangan yang suhunya dapat dikendalikan dan suhu dalam kandang tidak terlalu terpengaruh dari suhu luar. Kandang berpemanas berukuran dengan panjang 2,5 lebar 1,2 dan tinggi 1,8 meter. Untuk penempatan kelompok perlakuan, di dalam kandang berpemanas dibuat 12 buah kandang kecil berukuran panjang 42, lebar 30, dan tinggi 43 cm. Untuk memonitor suhu, pada kandang dipasang termometer digital yang mengukur suhu dan kelembapan, jika suhu melebihi yang sudah ditentukan maka lampu di matikan. Suhu dalam kandang secara gradual dinaikkan mulai dari pukul 10.00 pagi dan dipertahankan stabil pada suhu $34 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 6 jam (kira-kira sampai pukul 16.00 WIB) dan kelembapan berkisar antara 50-70%.

Pembuatan Ekstrak Jalloh

Daun jalloh dipotong potong dan dikering anginkan lalu dipotong kecil kecil, proses pengeringan dibantu menggunakan oven pada suhu 68°C selama 48 jam. Daun jalloh tersebut dimaserasi dengan etanol 70%. Hasil maserasi disaring menggunakan kapas dan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh dikumpul serta diuapkan (dikentalkan) menggunakan rotary

evaporator yang dilengkapi *water bath* dan pompa vakum. Pemberian ekstrak daun jaloh dilakukan pada ayam umur 21-28 hari melalui air minum dengan dosis 50 dan 100 mg/air minum yang terlebih dahulu dilarutkan dengan bahan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 3%. Pemberian tersebut dilakukan pada pukul 10.00-16.00 WIB.

Pembuatan minuman jaloh dengan bahan utama yang digunakan adalah air, CMC, dan ekstrak jaloh. Pembuatan minum tambahan jaloh ini dilakukan dengan cara pengenceran ekstrak jaloh sebanyak 50 mg dan 100 mg dengan 100 ml air. Sebelumnya ekstrak jaloh diaduk dengan CMC agar ekstrak dapat larut kemudian ditambahkan 100 ml air, ekstrak yang telah larut dalam air dimasukkan ke dalam botol tertutup dan disimpan didalam kulkas. Sebelum pemberian ekstrak jaloh pada ayam terlebih dahulu minuman ekstrak jaloh di sesuaikan pada suhu normal baru diberikan pada ayam mulai pada pukul 10.00 hingga 16.00 WIB perhari selama 7 hari.

Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Isolasi dan identifikasi bakteri menggunakan metode Carter (1987). Ayam broiler yang mengalami stres panas dan diberi ekstrak jaloh diambil ususnya. Kemudian swab pada bagian usus menggunakan cotton swab, lalu swab dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi *Nutrient Broth*. Media *Nutrient Broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Broth* diinokulasikan ke media *Eosin Methylen Blue Agar* dan diamati adanya koloni berwarna hijau metalik. Kemudian dilakukan pewarnaan gram dengan hasil batang pandek berwarna merah (Gram negatif). Selanjutnya koloni diinokulasikan ke media NA miring sebagai stok bakteri.

Identifikasi *Escherichia coli* menggunakan uji biokimia (IMVIC) meliputi: uji fermentasi dengan menggunakan beberapa karbohidrat,

pemanfaatan sitrat motilitas, pembentukan indol serta melihat penurunan pH akibat asam yang dibentuk oleh *E. coli*. Uji Indol dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat dari NA miring ke dalam media Indol selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37 °C, setelah itu ditambahkan 5 tetes reagen kovacs. Hasil positif ditandai dengan adanya cincin berwarna ungu pada permukaan media.

Uji Methyl Red dilakukan dengan cara menanam bakteri kedalam media Methyl red selanjutnya di inkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Setelah sehari diinkubasikan langkah berikutnya yaitu menambahkan 10 tetes reagen methyl red kedalam media. Hasil positif ditandai dengan menyebarnya warna merah pada media. Uji Voges Prausker dilakukan dengan menginokulasi isolat ke dalam media VP selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam. Setelah itu ditambahkan λ -naphthol sebanyak 5 tetes dan 5 tetes larutan KOH 40%. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah di permukaan media.

Pada uji SIM isolat di inokulasikan di media SIM dengan cara menusukan dari bagian atas media sampai setengah dari dasar tabung dengan menggunakan osse jarum. Kemudian inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Terbentuknya H₂S ditandai dengan adanya warna hitam pada media serta adanya pergerakan bakteri ditandai dengan menyebarnya pertumbuhan bakteri pada media.

Uji simmon sitrat menggunakan simmon sitrat agar berbentuk agar miring. Isolat diinokulasikan pada media simmon sitrat agar dengan cara menggoreskan pada permukaan media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Reaksi positif menunjukkan warna biru sedangkan reaksi negatif tidak terjadi perubahan warna.

Uji TSIA menggunakan TSIA (Triple sugar iron agar). Isolat bakteri dinokulasikan pada media TSIA menggoreskan secara zig-zag pada bagian permukaan media dan

menusukan pada bagian bawah tabung dengan menggunakan osse jarum. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi berwarna kuning.

Uji Fermentasi dengan gula-gula dilakukan dengan cara menginokulasi isolat kedalam media gula-gula (mannitol, glukosa, sukrosa dan maltosa) dengan menggunakan osse sengkeli. Selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari ungu ke warna kuning.

Penghitungan jumlah koloni *E. coli*

Penghitungan jumlah koloni dilakukan secara makroskopis pada media *Eosin Metylen Blue Agar* (EMBA) dengan cara dihitung semua koloni terpisah yang terdapat pada cawan petri lalu dilakukan uji statistika dengan menggunakan one-way anova (Analysis of Varians) dan uji Duncan untuk melihat perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi identifikasi dan jumlah koloni bakteri dari dua belas usus ayam broiler yang diberi ekstrak jalo dan mengalami stres panas dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2 dan tabel 3 berupa hasil pewarnaan Gram, uji biokimia (IMVIC) dan jumlah koloni.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri *Escherichia coli* pada media EMBA

Perlakuan Ekstrak jalo	Keberadaan <i>E.coli</i>
P0	+
P1	+
P2	+

Berdasarkan hasil pemeriksaan Morfologi koloni bakteri pada media *Eosin Metylen Blue Agar* (EMBA) yang dilampirkan pada lampiran 4 memperlihatkan

hasil dari tiga perlakuan positif bakteri *E. coli* yang dapat dilihat pada tabel 1. Hal ini dapat dilihat dari bentuk dan ukuran, pigmentasi, permukaan, tepi, elevasi, aspek koloni, dan fermentasi pada EMBA tidak ada perbedaan. *E coli* berbentuk bulat dan cembung, bersifat memfermentasikan laktosa pada media EMBA (Dewanti dan Wahyudi, 2011).

Pada pewarnaan Gram semua sampel terwarnai merah dan berbentuk batang pendek sehingga bakteri termasuk kedalam jenis bakteri Gram negatif. Menurut Brooks et al (2001), *E. coli* tidak dapat mempertahankan pewarna Kristal violet selama proses pewarnaan Gram, dan sel berbentuk batang. Koloni bakteri yang menghasilkan warna merah pada pewarnaan Gram dan berbentuk basil selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut dengan uji IMVIC dan fermentasi.

Pada tabel 2 identifikasi bakteri didapatkan hasil dari uji indol positif ditandai dengan adanya cincin merah di bagian atas, hal ini dikarenakan indol bereaksi dengan aldehida. Pengamatan Methyl Red (MR) dari sampel yang diperiksa yaitu positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah. Uji Voges-Proskauer yang dilakukan menunjukkan hasil negatif karena tidak adanya perubahan warna terhadap larutan VP. Sulfid Indol Motility didapatkan hasil semua positif motil, Tujuan dari SIM ini untuk melihat pergerakan bakteri karena *E. coli* merupakan bakteri yang dapat bergerak (motil). Uji simon sitrat didapatkan semua isolat yang diperiksa menunjukkan negatif

yang artinya bakteri tidak menggunakan sitrat

sebagai satu-satunya sumber karbon. Pada uji TSIA, dibagian butt (bawah) bewarna kuning dan bagian slan (miring) juga bewarna kuning hal ini menunjukkan bahwa hasil pada uji ini positif dan uji gula-gula menunjukkan reaksi positif dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning dan menghasilkan gas.

Tabel 2. Hasil pewarnaan gram, Uji IMVIC dan Uji fermentasi terhadap bakteri gram negatif basil.

Perlakuan	Pewarnan Gram	Indol	MR/VP	SIM	Simmon sitrat	Uji Fermentasi					Hasil
						TSIA(H2S)	Man	Glu	Mal	Su	
P0	Negatif	+	+/-	+	-	+ (-)	+	+	-	-	<i>E. coli</i>
P1	Negatif	+	+/-	+	-	+ (-)	+	+	-	-	<i>E. coli</i>
P2	Negatif	+	+/-	+	-	+ (-)	+	+	-	-	<i>E. coli</i>

Tabel 3, menunjukkan bahwa rata-rata (\pm SD) jumlah koloni *E. coli* tertinggi pada ayam yang diberi perlakuan stres panas tanpa pemberian ekstrak jaloh yang terdapat pada perlakuan P0 dengan jumlah koloni bakteri adalah $349,5 \pm 69,17$ dan terendah pada perlakuan P2 dengan jumlah koloni bakteri adalah $67,75 \pm 26,67$. Berdasarkan hasil tersebut, didapati bahwa jumlah *E. coli* lebih rendah pada perlakuan P1 dan P2 (pemberian ekstrak jaloh) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan P0. Hasil analisis varians menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jaloh dengan dosis berbeda (P1 dan P2) dapat menurunkan jumlah koloni *E. coli* secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol (P0). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa jumlah koloni *E. coli* pada usus ayam yang mengalami stres panas tergantung dengan dosis ekstrak jaloh yang diberikan.

Tabel 3. Rata-rata (\pm SD) jumlah koloni bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan stress panas dan ekstrak jaloh

Perlakuan Ekstrak jaloh	Jumlah Koloni
P0	$349,5 \pm 69,17^a$
P1	$146,25 \pm 20,10^b$
P2	$67,75 \pm 26,67^c$

Keterangan:

a, b, c Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

P0: ayam diberi perlakuan stres panas tanpa pemberian ekstrak jaloh
 P1: ayam diberi perlakuan stres panas dan diberi ekstrak jaloh 50 mg/liter air minum

P2 : ayam diberi perlakuan stres panas dan ekstrak jaloh 100 mg/liter air minum

Jumlah *E. coli* pada usus ayam sangat tergantung pada kondisi fisiologis tubuh dan pakan yang diberikan. Salah satu penyebab turunnya jumlah *E. coli* disebabkan oleh senyawa antibakteri pada ekstrak jaloh seperti kandungan flavonoid yang bersifat antibakteri. Prinsip kerja dari senyawa antibakteri ini adalah mempengaruhi sintesis dinding sel, mengganggu atau merusak fungsi membran, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat sintesis protein pada bakteri patogen (Halimatunnisroh et al., 2017).

Menurut Panth (2019), *E. coli* adalah penghuni normal saluran pencernaan pada unggas termasuk ayam broiler dan sebagian besar strain hidup tidak menyebabkan penyakit. Mikroflora yang ada pada saluran pencernaan pada umumnya seimbang antara yang patogen dan non patogen, namun seiring dengan kondisi pertahanan tubuh yang turun naik dan juga faktor kontak lingkungan yang tidak kondusif maka pertumbuhan mikroflora patogen dan non patogen bisa terganggu

(Raditya et al., 2013).

Saat unggas mengalami stres panas, fungsi fisiologis tubuh akan mengaktifkan sistem neurogenik yang pada fase ini ditandai dengan meningkatnya sensitivitas saraf, tekanan darah, gula darah, otot dan respirasi. Apabila upaya ini gagal dalam mengatasi stres panas, maka tubuh akan mengaktifkan hypothalamic pituitary-adrenal cortical system. Ketika diaktifkannya sistem ini maka hipotalamus akan menghasilkan corticotrophin releasing factor sehingga

merangsang kelenjar pituitari untuk melepas adreno kortikotropik hormon (ACTH). Sekresi ACTH menyebabkan sel-sel jaringan korteks adrenal berproliferasi mengeluarkan kortikosteroid (Tamzil, 2014). Menurut Virden & Kidd (2009), kortikosteron adalah kortikosteroid utama pada bangsa burung yang sangat penting. Kehadirannya dapat mengganggu fungsi kekebalan tubuh dan jaringan limfoid. Pada akhirnya pertumbuhan *E. coli* dapat meningkat sehingga dapat menyebabkan penyakit pada unggas yang terinfeksi.

Akan tetapi, setelah pemberian ekstrak jaloh jumlah koloni *E. coli* menurun dibandingkan sebelum pemberian jaloh. Hal tersebut dapat terjadi karena pada beberapa penelitian menunjukkan aktivitas biologi *Salix tetrasperma* Roxb yang baik antara lain antibakteri, antijamur, antidiabetik, antinosiseptif, antipiretik, antiradang, hipoglikemik, insektisida, sitotoksitas in vivo, pencakar, diuretik, analgesik, dan antiskistosom. Aktivitas biologis ini dipengaruhi oleh metabolit sekunder seperti flavonoid dan senyawa fenolik (Januarti et al., 2019). Jaloh dapat menurunkan stres pada ayam broiler yang akhirnya tidak mempengaruhi dari keberadaan flora normal diusus khususnya *E. coli*. Namun, perbedaan dosis ekstrak jaloh berpengaruh terhadap jumlah koloni pada ayam yang mengalami stres panas, hal tersebut dapat terjadi karena semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak jaloh maka semakin tinggi kandungan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Wahyuni et al. (2018), yang menyatakan tingginya kandungan antibakteri pada ekstrak jaloh seperti flavonoid dan tannin berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak jaloh yang diberikan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak jaloh yang diberikan pada

ayam broiler yang mengalami stres panas dapat mempengaruhi jumlah koloni *E. coli*. Hal ini dilihat dari dosis yang diberikan menunjukkan bahwa jumlah koloni *E. coli* pada usus ayam yang mengalami stres panas tergantung dengan dosis ekstrak jaloh yang diberikan semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin sedikit jumlah koloni pada usus ayam tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- AK, M. D., Juliani, J., Sugito, S., & Abrar, M. (2019). 21. α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors from Plant Extracts. *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(2). 151-158
- Amri, M.C., Sugito., Sulasmi., Nurliana., Ismail. dan Abrar, M. (2018). Quality of broiler meat after treatment of jaloh ekstrak and turmeric ekstrak and infected by *Eimeria tenela*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 12(2). 77-83.
- Arivo, D. dan Annissatussholeha, N. (2017). Pengaruh tekanan osmotik ph dan suhu terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 4(3): 153-160.
- Brooks, G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A. (2001). *Medical Microbiology*. (Diterjemahkan oleh: Tim Mikrobiologi FK UNAIR). Edisi 2. Salemba Medika, Jakarta.
- Dewanti, S. and M.T. Wahyudi. (2011). Antibacteri activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherichia coli* in-vitro. *J. Med. Planta*, 1(4):78-81.
- Halimatunusroh, R., Yudiarti, T. Dan Sugiharto. (2017). Jumlah coliform, Bal dan total bakteri usus halus ayam broiler yang diberi kunyit (*curcuma domestica*).
- Haribi, R. dan Yusron, K. (2010). Pemeriksaan *Escherichia coli* pada air bak wudhu 10 mesjid di Kecamatan Tlogosari Semarang. *Jurnal Kesehatan*, 3(1): 21-26.
- Hidayati, S.N., Darmawi., Rosmaidar., Armansyah, T., Dewi, M., Jamin, F. dan Fakhurrazi. (2016). Pertumbuhan *Escherichia coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler terhadap ekstrak daun salam (*Syzygium polyathum* [Wight.] Walp.). *Jurnal Medika Veterinaria*, 10(2): 101-104.
- Januarti, R., Santoni, A. dan Efdi, M. (2019). Isolation of Flavonoid Compound and Antioxidant Activity of *Salix tetrasperma* Roxb. Leaves. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry*, 4(2) : 42-46.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S. dan Ornston, L.N. (1995). *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Panth, Y. (2019). Colibacillosis in poultry: A review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 2(1): 301-311.

- Raditya, I.G.G.I., Ardana, I.B.K. dan Suastika, P. (2013). Tebal Struktur Histologis Duodenum Ayam Pedaging yang Diberi Kombinasi Tylosin dan Gentamicin. *Indonesia Medicus veterinus*, 2(5):546-552.
- Rahmawati. (2011). Pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang jaloh (*Salix tetrasperma roxb*) yang dikombinasikan dengan probiotik terhadap pertumbuhan bakteri salmonella sp. pada usus ayam broiler setelah diberikan cekaman panas. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan.
- Ramadhani, S. Santoni, A. dan Efdi, M. (2019) Antibacterial activity and structure elucidation of salicin from stem bark of salix tetrasperma ROXB. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry Article*,4(2):47-52
- Rudiyansyah, A.I., Wahyuningsih, N.E. dan Kusumanti, E. (2015). Pengaruh suhu, kelembaban, dan sanitasi terhadap keberadaan bakteri escherichia coli dan salmonela di kandang ayam pada peternakan ayam broiler kelurahan karangeneng kota semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 3(2): 196-201.
- Sugito. (2008). Respon pemberian ekstrak n-heksan tanaman jaloh pada ayam broiler yang diberi cekaman panas terhadap ekspresi enzim inos pada jaringan paru, kadar glukosa dan kalsium dalam serum. *JITV*. 13(3): 178-181.
- Sugito, Manulu, W., Astuti, D.A., Handharyani, E. dan Chairul. (2007). Morfometrik usus dan peforma ayam broiler yang diberi cekaman panas dan ekstrak n-Heksana kulit batang jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*). *Media Peternakan*, 30(3): 198-206.
- Sugito, W. Manalu, D.A. Astuti, dan Chairul. (2006). Evaluasi pemberian ekstrak jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*) terhadap performans dan indikator stres pada ayam broiler yang diberi cekaman panas. *Majalah obat Tradisional*. 11:29-36.
- Tamzil, M.H. (2014). Stres panas pada unggas: metabolisme, akibat dan upaya penanggulangannya. *WARTAZOA*. 24(2): 57-66.
- Virden, W.S. and Kidd, M.T. (2009). Physiological stress in broilers: ramifications on nutrient digestibility and responses. *J Appl Poult Res*. 18 (1):338-347.
- Wahyuni, F., Harahap, U. and Masfria. (2018). In vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of jaloh (*Salix tetrasperma Roxb.*) leaves against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian J Pharm Clin Res*, 11(1): 107-109.
- Wiedosari, E. dan Wahyuwardani, S. (2015). Studi kasus penyakit ayam pedaging di Kabupaten Sukabumi dan Bogor. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(1): 9-13.
- Zulkifli., Nurliana. dan Sugito (2018). Efek pemberian jintan hitam (*Nigela sativa*) terhadap karkas ayam broiler yang dipapar stres panas. *Prosiding Seminar Nasional Biotik 2018*. Banda Aceh. Hal: 626-631.