

Isolasi dan Identifikasi *Escherichia Coli* O157:H7 pada Sapi Bali Di Abiansemal, Badung, Bali

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Escherichia coli* O157:H7 ON BALI CATTLE AT ABIANSEMAL, BADUNG, BALI)

Khamid Yusuf Baehaqi¹, Putu Ayu Sisawati Putriningsih², I Wayan Suardana³

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan

²Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam

³Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jln P.B. Sudirman Denpasar Bali

Telp.0361-223791, Faks. (0361) 223791

. E-mail : khamidyusuf.drh@gmail.com

ABSTRAK

Escherichia coli O157:H7 merupakan salah satu agen zoonosis yang menyebabkan *haemorrhagic colitis* dan *haemolytic uraemic syndrome* pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan identifikasi *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 serta kaitan antara tingkat infeksi *E. coli* O157 dengan *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal Kabupaten Badung, Bali. Penelitian menggunakan 60 sampel feses sapi bali yang diawali dengan isolasi bakteri pada media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), kemudian pewarnaan Gram dan dilanjutkan dengan uji *Indol*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer* dan *Citrat*. Identifikasi *E. coli* O157 dilakukan dengan penumbuhan isolat pada media *Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) yang dikonfirmasi dengan uji latek aglutinasi O157, dan diakhiri dengan uji antiserum H7 untuk identifikasi *E. coli* O157:H7. Isolasi dan identifikasi *E. coli* O157 ditemukan 11,67%, *E. coli* O157:H7 ditemukan 10% pada feses sapi bali. Uji Mc Nemar terlihat bahwa infeksi *E. coli* O157 menunjukkan perbandingan yang tidak nyata dengan infeksi *E. coli* O157:H7. Uji korelasi Spearman's rho menunjukkan bahwa adanya infeksi *E. coli* O157 dapat secara kuat dijadikan petunjuk keberadaan *E. coli* O157:H7.

Kata-kata kunci : *E. coli* O157, *E. coli* O157:H7, Feses sapi bali, Kecamatan Abiansemal.

ABSTRACT

Escherichia coli O157:H7 as one of the zoonosis agents with clinical symptoms of *haemorrhagic colitis* and *haemolytic uraemic syndrome* in humans. This research aimed to isolation and identification *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7, beside that also to examine the relation among *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 in bali cattle feces at Abiansemal Subdistrict, Badung Regency Province of Bali. This research used 60 samples of bali cattle feces and initially by bacterial isolation on *Eosin Methylen Blue Agar* medium and then Gram staining, continued with *Indol*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer* and *Citrat* test. *E. coli* O157 identification was done by isolated on *Sorbitol MacConkey Agar* medium enrichment, and then confirmed by latex agglutination test O157, and ended by H7 antisera test for *E. coli* O157:H7 identification. Isolation and identification of *E. coli* O157 was 11,67% and *E. coli* O157:H7 was 10% in bali cattle feces. Mc Nemar test results shows that infection of *E. coli* O157 not significantly different compared with infection of *E. coli* O157:H7. Respectively spearman's rho correlation test showed the research also expected that the presence *E. coli* O157 can be used as a clue to the presence of *E. coli* O157:H7.

Key words : *E. coli* O157, *E. coli* O157:H7, bali cattle feces, Abiansemal Subdistrict.

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan mikroba normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. *E. coli* disamping sebagai flora normal juga dapat menyebabkan gangguan pada sistem pencernaan diantaranya disebabkan oleh *enteropathogenic E. coli* (EPEC), *diffuse adherent E. coli* (DAEC), *enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *enteroaggregative E. coli* (EAEC), *enteroinvasive E. coli* (EIEC) dan *enterohaemorrhagic E. coli* (EHEC) (Kaper *et al.*, 2004). Anak sapi rentan terhadap infeksi ETEC yang mempunyai antigen fimbriae K99 atau F41 (Supar, 2001).

Beutin *et al.* (1993) menyatakan bahwa sapi, kambing, domba, babi, ayam, anjing dan kucing dalam fesesnya sering mengandung *Verocytotoxin E. coli* (VTEC) O157 dan merupakan sumber infeksi. *Shiga toxin E. coli* (STEC) saat ini diakui sebagai kelompok penting dari bakteri *Enteropathogens*, serotipe *E. coli* O157:H7 yang paling dikenal dalam mikrobiologi (Nataro dan Kaper, 1998). Bakteri ini pertama kali diidentifikasi pada 1982 dari penyakit *haemorrhagic colitis* di USA (Riley *et al.*, 1983). Lebih lanjut Manor *et al.* (2000) menyatakan bahwa *Shiga toxin* yang dihasilkan *E. coli* O157:H7 dapat menyebabkan gejala *haemorrhagic colitis* (HC) dan *haemolytic uraemic sindrom* (HUS). Beberapa wabah besar pernah terjadi, seperti di Jepang lebih dari 9000 anak yang terinfeksi (Michino *et al.*, 1998). Sejak saat itu, STEC O157 terlibat dalam kasus sporadis wabah diare di dunia. Armstrong *et al.* (1996) menyatakan salah satu strain EHEC yang bersifat zoonosis adalah *E. coli* O157:H7 yang menyebabkan penyakit serius pada manusia dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi khususnya pada anak-anak. *E. coli* O157:H7 penting terkait dengan gejala *haemolytic uraemic syndrom* dan *haemorrhagic colitis* dikarenakan sekitar 2-10% kasus infeksi *E. coli* O157:H7 menyebabkan kematian (Ahmed and Donaghy, 1998).

Naylor *et al.* (2005) menyebutkan bahwa pedet umur 1 sampai 3 hari yang terinfeksi *E. coli* O157:H7 dengan dosis 10^{10} CFU menunjukkan gejala diare berlendir sampai berdarah dalam 18 jam pasca infeksi, tetapi sapi dewasa yang terinfeksi *E. coli* O157:H7 sering tidak menunjukkan gejala klinis atau asimtomatis. *E. coli* O157:H7 di dalam feses sapi dapat hidup selama 42-49 hari pada suhu 37°C dan 49-56 hari pada suhu 22°C dengan kelembaban relatif 10%. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang Perbandingan *Coliform*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, dan *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Sapi bali di Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali.

METODE PENELITIAN

Sampel

Sampel penelitian adalah feses segar sapi bali yang diambil secara proporsional dan acak tanpa memperhatikan jenis kelamin, umur maupun sistem pemeliharaan sapi. Sampel feses diambil di desa-desa dalam wilayah Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung. Menurut Martin *et al.* (1987) besaran sampel penelitian diperoleh dengan memperhatikan prevalensi penyakit, menggunakan rumus $n = 4PQ/L^2$ dengan n adalah besaran sampel, P adalah asumsi prevalensi penyakit di daerah penelitian, Q adalah (1-P) dan L adalah galat yang diinginkan. Berdasarkan estimasi prevalensi kejadian penyakit di Kabupaten Badung sebesar 2,5% dan derajat *error* 5% (Suardana *et al.*, 2013), maka jumlah sampel yang diperlukan untuk mencapai tingkat kepercayaan 95% dibutuhkan minimal 39 sampel, tetapi pada penelitian ini jumlah sampel sebanyak 60 sampel.

Isolasi dan identifikasi *Coliform* dan *Escherichia coli*

Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* ditumbuhkan pada media EMBA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ciri koloni *Coliform* yang tumbuh yaitu koloni berwarna merah, merah muda dan hijau metalik, bentuk mukoid dengan pusat berwarna gelap sedangkan ciri koloni *E. coli* yang tumbuh yaitu koloni berwarna hijau metalik dengan bentuk mukoid dan pusat berwarna gelap. Jumlah koloni *Coliform* dan *E. coli* dilakukan penghitungan dan dikoleksi dengan menginokulasikan pada *nutrient agar* miring dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pewarnaan Gram

Sampel positif *E. coli* kemudian diteguhkan dengan pewarnaan gram untuk melihat bentuk dan warna koloni. Koloni bakteri diambil dengan *ose* kemudian diletakan diatas *object glass* dan ditetesi akuades selanjutnya difiksasi diatas api bunsen sampai kering. Langkah selanjutnya area apusan ditetesi *gentian violet* dan dibiarkan selama 1,5 menit kemudian dibilas perlahan menggunakan air mengalir. Selanjutnya ditetesi larutan *iodin* ke atas area apusan, dibiarkan selama 1 menit kemudian ditetesi alkohol selama 5 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Apusan selanjutnya ditetesi *safranin* dan dibiarkan selama 5 detik, lalu dibilas dengan air mengalir dan dibiarkan selama 2 detik, dikeringkan di suhu ruang dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

Pemeriksaan *Fecal coli*

E. coli dari media EMBA yang positif selanjutnya dilakukan uji *indol*, *methyl red*, *voges proskauer* dan *citrat* (IMVIC) untuk mengidentifikasi *fecal coli* dan *non-fecal*. Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan masing-masing satu ose ke dalam tabung reaksi yang berisi *tryptone broth* untuk uji *indol*, MR-VP medium untuk uji *methyl red* dan *voges proskauer*, dan ke dalam *simon citrat* medium untuk uji *citrat* sebagai satu-satunya sumber karbon. Semua tabung diinkubasikan pada suhu 35°C selama 2 hari, kecuali medium MR-VP untuk uji *methyl red* diinkubasi selama 5-7 hari. Apabila uji ini menunjukkan hasil *indol* positif, *methyl red* positif, *voges proskauer* negatif dan *citrat* negatif berarti termasuk bakteri *fecal coli*. Selanjutnya sampel positif *fecal coli* diinokulasikan pada media *nutrient agar* miring untuk dilakukan pemeriksaan atau uji selanjutnya.

Identifikasi *Escherichia coli* O157

Hasil positif dari uji IMVIC yang diinokulasikan pada media *nutrient agar* miring selanjutnya ditumbuhkan pada media *sorbitol macConkey agar* (SMAC), dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang diduga *E. coli* O157 pada media *sorbitol macConkey agar* akan tumbuh membentuk koloni bulat dengan ukuran bervariasi dan jernih atau tidak berwarna atau bersifat *sorbitol* negatif.

Konfirmasi *E. coli* O157 dengan uji *latex agglutination test*

Uji konfirmasi isolat *E. coli* O157 yang teramati jernih atau tidak berwarna pada media SMAC dengan harapan lebih meyakinkan bahwa koloni tersebut adalah *E. coli* O157, maka dilakukan uji serologis dengan *E. coli latex agglutination test*. Uji *latex* dilakukan dengan cara mengambil satu koloni *E. coli* yang positif pada media SMAC dan direaksikan dengan satu tetes *latex* O157 pada kertas *latex*, kemudian dihomogenkan. Apabila terbentuk endapan seperti pasir atau presipitasi berarti positif *E. coli* O157.

Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dengan uji antiserum H7

Hasil positif *E. coli* O157 dari uji *latex agglutination test* selanjutnya dilakukan pengujian untuk melihat antigen flagellanya yaitu H7 dengan cara uji antiserum H7 (Difco™ *E. coli* antisera). Sebelum dilakukan uji antiserum H7 terlebih dahulu dilakukan penumbuhan pada media SIM untuk melihat motilitasnya dengan 2 kali pasase berturut turut, kemudian dilakukan pembiakan pada media *brain heart infusion broth* dan diinkubasikan

pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif dari koloni yang tumbuh diinaktivasi menggunakan formalin 40% dengan perbandingan 0,3 ml formalin kedalam 100 ml *brain heart infusion broth*. Selanjutnya mempersiapkan larutan difco *E. coli* antiserum H7 dengan perbandingan 1:500 untuk digunakan sebagai sumber antibodi. Langkah selanjutnya yaitu mengambil 0,5 ml biakan bakteri ditambah 0,5 ml antiserum H7 dan dihomogenkan secara merata, selanjutnya diletakkan pada *waterbath* dengan suhu 50°C selama 1 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya aglutinasi >25% dari jumlah sel, dan adanya kekeruhan pada bagian supernatan cairan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi dan identifikasi bakteri *E. coli* O157:H7

Data hasil isolasi dan identifikasi bakteri *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 selengkapnya seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 pada Feses Sapi di Kecamatan Abiansemal

No	Kode Sampel	<i>Coliform</i> (x 10 ⁴)	<i>E. coli</i> (x 10 ⁴)	Gram	SMAC	Latex	H7
1	FSA 1	12	2	negatif	-	-	-
2	FSA 2	67	Tt	Td	Td	Td	Td
3	FSA 3	122	Tt	Td	Td	Td	Td
4	FSA 4	64	1	negatif	-	-	-
5	FSA 5	21	Tt	Td	Td	Td	Td
6	FSA 6	83	Tt	Td	Td	Td	Td
7	FSA 7	3	Tt	Td	Td	Td	Td
8	FSA 8	37	Tt	Td	Td	Td	Td
9	FSA 9	7	Tt	Td	Td	Td	Td
10	FSA 10	154	Tt	Td	Td	Td	Td
11	FSA 11	1	Tt	Td	Td	Td	Td
12	FSA 12	22	3	negatif	+	-	-
13	FSA 13	14	Tt	Td	Td	Td	Td
14	FSA 14	31	1	negatif	+	+	+
15	FSA 15	20	Tt	Td	Td	Td	Td
16	FSA 16	13	Tt	Td	Td	Td	Td
17	FSA 17	41	Tt	Td	Td	Td	Td
18	FSA 18	60	3	negatif	-	-	-
19	FSA 19	40	1	negatif	+	-	-
20	FSA 20	22	15	negatif	+	-	-
21	FSA 21	35	25	negatif	+	-	-
22	FSA 22	41	12	negatif	-	-	-
23	FSA 23	120	9	negatif	+	-	-
24	FSA 24	59	4	negatif	+	-	-
25	FSA 25	30	4	negatif	-	-	-
26	FSA 26	200	3	negatif	+	-	-
27	FSA 27	230	7	negatif	+	-	-
28	FSA 28	150	6	negatif	+	-	-

29	FSA 29	146	7	negatif	-	-	-
30	FSA 30	120	7	negatif	+	+	+
31	FSA 31	70	33	negatif	-	-	-
32	FSA 32	120	50	negatif	-	-	-
33	FSA 33	144	142	negatif	+	-	-
34	FSA 34	18	Tt	Td	Td	Td	Td
35	FSA 35	82	34	negatif	-	-	-
36	FSA 36	56	18	negatif	+	+	-
37	FSA 37	49	38	negatif	-	-	-
38	FSA 38	58	34	negatif	+	-	-
39	FSA 39	256	Tt	Td	Td	Td	Td
40	FSA 40	37	32	negatif	+	+	+
41	FSA 41	180	120	negatif	+	+	+
42	FSA 42	185	159	negatif	+	+	+
43	FSA 43	130	20	negatif	-	-	-
44	FSA 44	144	141	negatif	-	-	-
45	FSA 45	168	Tt	Td	Td	Td	Td
46	FSA 46	188	6	negatif	-	-	-
47	FSA 47	392	112	negatif	-	-	-
48	FSA 48	216	6	negatif	-	-	-
49	FSA 49	248	1	negatif	-	-	-
50	FSA 50	308	Tt	Td	Td	Td	Td
51	FSA 51	288	10	negatif	+	-	-
52	FSA 52	284	165	negatif	-	-	-
53	FSA 53	376	360	negatif	-	-	-
54	FSA 54	296	Tt	Td	Td	Td	Td
55	FSA 55	153	Tt	Td	Td	Td	Td
56	FSA 56	78	Tt	Td	Td	Td	Td
57	FSA 57	368	164	negatif	+	+	+
58	FSA 58	60	Tt	Td	Td	Td	Td
59	FSA 59	30	Tt	Td	Td	Td	Td
60	FSA 60	70	1	negatif	-	-	-
	Jumlah	7017	1756		19	7	6
	Rata-rata	117	29,3				
	Persentase	100%	63,3%			11,67%	10%

Keterangan : Tt = Tidak terdeteksi; Td = Tidak dilakukan Uji; (+) = Hasil Uji Positif; (-) = Hasil Uji Negatif

Koloni *Coliform* yang tumbuh pada media EMBA memperlihatkan warna merah, merah muda dan hijau metalik dengan pusat berwarna gelap, sedangkan koloni *E. coli* yang tumbuh memperlihatkan warna hijau metalik dengan pusat berwarna gelap. Hasil pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa *E. coli* berwarna merah dan berbentuk batang atau golongan bakteri Gram negatif. *E. coli* menunjukkan hasil warna merah disebabkan karena *E. coli* memiliki komposisi dinding sel yang sebagian besar tersusun dari lapisan lipid yang mudah rusak saat dicuci dengan alkohol, sehingga pada saat pewarnaan kurang dapat mempertahankan zat warna *gentian violet* dan saat diwarnai *safranin* akan berwarna merah.

Kelompok bakteri *non-fecal* pada uji IMVIC menunjukkan hasil *voges proskauer* positif dan *citrat* positif, sedangkan kelompok *fecal coli* memperlihatkan hasil *methyl red* positif dan uji *indol* positif, yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah setelah ditetesi reagen *Kovacs*. *E. coli* dengan hasil positif terhadap uji *indol* menunjukkan bahwa *E. coli*

tersebut memiliki enzim *tryptophanase* yang dapat memecah asam amino *tryptofan* untuk menghasilkan senyawa *indol* disamping *asam pyruvate* dan *amonia*. Senyawa *indol* yang terbentuk akan merubah pereaksi *Kovacs* menjadi warna merah. Sedangkan *E. coli* yang memperlihatkan hasil positif terhadap uji *methyl red* menunjukkan bahwa *E. coli* tersebut dapat memfermentasi *protease* menjadi asam organik yang membuat pH menjadi turun sampai pH 5,0 sehingga indikator *methyl red* yang diteteskan ke dalam medium berubah warna menjadi merah (Fardiaz, 1989).

Kelompok bakteri *fecal coli* dilanjutkan pengujian ke tahapan identifikasi strain *E. coli* O157 dengan cara menumbuhkan isolat pada media SMAC. Hasilnya strain *E. coli* O157 yang tumbuh ditandai dengan ciri koloni jernih atau tidak berwarna atau tidak memfermentasi *sorbitol*. Pengujian selanjutnya yaitu uji konfirmasi menggunakan *E. coli* O157 *latex agglutination test*, koloni *E. coli* O157 yang benar-benar positif akan memperlihatkan reaksi aglutinasi pada latex O157. Hasil positif dari uji ini ditandai dengan terbentuknya endapan seperti pasir atau presipitasi.

Uji selanjutnya untuk mengetahui isolat hasil identifikasi benar-benar merupakan isolat *E. coli* O157:H7 yaitu dengan uji serologis menggunakan antiserum H7. Hasil positif ditandai dengan adanya presipitasi pada dasar plate dan adanya kekeruhan pada bagian supernatan cairan. Penelitian ini berhasil mengidentifikasi 6 sampel positif *E. coli* O157:H7 dengan persentase 10% dari 60 sampel feses sapi yang diteliti. Hasil yang didapat jauh lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Suardana *et al.* (2008) yaitu 1,3% *E. coli* O157:H7 teridentifikasi dari feses manusia di Kabupaten Badung, dan juga masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Suardana *et al.* (2007) yang berhasil mengidentifikasi *E. coli* O157:H7 dari daging sapi di Kabupaten Badung sebesar 5,62%.

Perbandingan jumlah *Coliform* dan *E. coli* pada feses sapi bali

Hasil identifikasi dari 60 sampel feses sapi bali yang diambil di 16 desa dalam wilayah Kecamatan Abiansemal didapatkan rata-rata jumlah *Coliform* sebesar $1,2 \times 10^6$ CFU/g dan rata-rata jumlah *E. coli* sebesar $2,9 \times 10^5$ CFU/g. Rata-rata jumlah *Coliform* dan *E. coli* di setiap desa selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Jumlah *Coliform* dan *E. coli* di Setiap Desa

No	Nama Desa	<i>Coliform</i>	<i>E. coli</i>
1	Selat	$6,6 \times 10^5$ CFU/g	$7,5 \times 10^3$ CFU/g
2	Sangeh	$3,6 \times 10^5$ CFU/g	Tidak Terdeteksi
3	Blahkiuh	$6,6 \times 10^5$ CFU/g	Tidak Terdeteksi
4	Punggul	$1,2 \times 10^5$ CFU/g	$1,0 \times 10^4$ CFU/g
5	Bongkasa	$1,6 \times 10^6$ CFU/g	$7,7 \times 10^5$ CFU/g
6	Taman	$4,1 \times 10^5$ CFU/g	$4,8 \times 10^4$ CFU/g
7	Abiansemal	$6,4 \times 10^5$ CFU/g	$1,6 \times 10^5$ CFU/g
8	Ayunan	$1,5 \times 10^6$ CFU/g	$5,7 \times 10^4$ CFU/g
9	Mambal	$8,8 \times 10^5$ CFU/g	$5,6 \times 10^5$ CFU/g
10	Mekar Bhuana	$6,2 \times 10^5$ CFU/g	$3,0 \times 10^5$ CFU/g
11	Sedang	$1,2 \times 10^6$ CFU/g	$2,2 \times 10^5$ CFU/g
12	Darmasaba	$1,7 \times 10^6$ CFU/g	$9,9 \times 10^5$ CFU/g
13	Sibang Gede	$2,2 \times 10^6$ CFU/g	$6,5 \times 10^5$ CFU/g
14	Sibang Kaja	$2,6 \times 10^6$ CFU/g	$2,3 \times 10^4$ CFU/g
15	Jagapati	$1,9 \times 10^6$ CFU/g	$5,5 \times 10^5$ CFU/g
16	Angantaka	$1,3 \times 10^6$ CFU/g	Tidak Terdeteksi

Dari hasil diatas dapat diketahui sebaran *Coliform* yang paling tinggi ada di Desa Sibang Kaja dengan jumlah rata-rata sebesar $2,6 \times 10^6$ CFU/g, dan sebaran *E. coli* yang paling tinggi ada di Desa Darmasaba dengan jumlah rata-rata sebesar $9,9 \times 10^5$ CFU/g. Berdasarkan survei epidemiologi yang dilakukan saat pengambilan sampel diketahui faktor dominan yang berkontribusi terhadap tingginya jumlah *Coliform* dan *E. coli* di Desa Sibang Kaja dan Darmasaba adalah kurangnya kebersihan kandang dan ternak sapi, wilayahnya termasuk dataran rendah dan umur sapi dibawah 1 tahun.

Sebaran *Coliform* yang paling rendah ada di Desa Punggul dengan jumlah rata-rata sebesar $1,2 \times 10^5$ CFU/g dan sebaran *E. coli* yang paling rendah ada di Desa Selat dengan jumlah rata-rata sebesar $7,5 \times 10^3$ CFU/g. Berdasarkan survei epidemiologi yang dilakukan saat pengambilan sampel faktor yang berkontribusi terhadap rendahnya jumlah *Coliform* dan *E. coli* adalah tingkat pendidikan peternak yang baik dengan rata-rata lulus SMP, kandang yang bersih, lantai kandang miring dan dibeton, cuaca kemarau dan sistem pemeliharaan sapi yang dikendalikan.

Persentase perbandingan *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157, dan *E. coli* O157:H7

Persentase perbandingan antara *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung dari 60 sampel yang

diteliti didapatkan persentase *Coliform* sebesar 100% (60 sampel positif), *E. coli* sebesar 63,3% (38 sampel positif), persentase *E. coli* O157 sebesar 11,67% (7 sampel positif) dan persentase *E. coli* O157:H7 sebesar 10% (6 sampel positif).

Hasil analisis data dengan uji korelasi Spearman's rho menunjukkan bahwa jumlah *Coliform* berkorelasi sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap ditemukannya *E. coli*, dengan nilai koefisiensi Spearman's rho 0,366, tetapi jumlah *Coliform* menunjukkan hubungan yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap ditemukannya *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7, dengan nilai koefisien Spearman's rho masing-masing 0,075 dan 0,107. Korelasi antara jumlah *E. coli* terhadap ditemukannya *E. coli* O157 menunjukkan adanya korelasi yang sangat nyata ($P < 0,01$) dengan nilai koefisiensi Spearman's rho 0,337, sedangkan jumlah *E. coli* hanya menunjukkan korelasi yang nyata ($P < 0,05$) terhadap ditemukannya *E. coli* O157:H7 dengan nilai koefisiensi Spearman's rho 0,316. Korelasi *E. coli* O157 terhadap ditemukannya *E. coli* O157:H7 menunjukkan adanya hubungan yang sangat nyata ($P < 0,01$) dengan nilai koefisien Spearman's rho 0,917. Hasil uji ini mengindikasikan bahwa adanya *Coliform* pada feses sapi bali dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli*, tetapi tidak dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7. Adanya *E. coli* dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7, dan baru dapat diperkirakan secara kuat bahwa adanya *E. coli* O157 dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli* O157:H7.

Uji statistika selanjutnya yaitu uji Wilcoxon untuk mengetahui perbedaan jumlah *Coliform* dengan jumlah *E. coli* pada feses sapi bali. Hasil uji ini menunjukkan bahwa jumlah koloni *Coliform* berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dibandingkan dengan jumlah koloni *E. coli*, hal ini mengindikasikan bahwa jumlah *Coliform* dengan jumlah *E. coli* pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal berbeda cukup jauh.

Uji statistika selanjutnya yaitu uji Mc Nemar untuk menentukan perbedaan hasil identifikasi bakteri *E. coli* O157 dengan *E. coli* O157:H7 yang sudah dilakukan, seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Mc Nemar Isolat *E. coli* O157 terhadap *E. coli* O157:H7

<i>E. coli</i> O157	<i>E. coli</i> O157:H7	
	Negatif	Positif
Negatif	53	0
Positif	1	6

Berdasarkan uji Mc Nemar hasil identifikasi positif *E. coli* O157 menunjukkan perbandingan yang tidak nyata ($P>0,05$) dengan hasil identifikasi positif *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal. Persentase *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal yang tergolong tinggi yaitu 10%, hal ini mengindikasikan bahwa agen *E. coli enteropatogenic* khususnya *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali memang benar ada, dan dengan persentase *E. coli* O157:H7 yang tinggi tersebut, maka strain *E. coli* O157:H7 mutlak dicurigai sebagai agen penyebab diare berlendir sampai berdarah pada sapi bali khususnya pada pedet, selain itu juga *E. coli* O157:H7 mutlak dicurigai sebagai sumber penularan utama *Verocytotoxin-producing Escherichia coli* O157 dari hewan ke manusia.

SIMPULAN

Berdasarkan atas hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa perbandingan *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157, dan *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal yaitu masing-masing sebesar 100; 63,3; 11,67; dan 10%. *Coliform* dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli*, tetapi tidak dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7. Sebaliknya keberadaan *E. coli* dapat dijadikan petunjuk untuk ditemukannya *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7. Dapat diperkirakan secara kuat bahwa adanya *E. coli* O157 dapat dijadikan petunjuk terhadap keberadaan *E. coli* O157:H7.

SARAN

Dengan ditemukannya agen zoonosis *E. coli* O157:H7 pada feses sapi bali di Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung maka dapat disarankan agar peternak lebih memperhatikan kebersihan kandang, kebersihan ternak, sanitasi dan higiene dari peternakan sapi, serta pemberian pakan yang baik dan benar dalam upaya mengurangi atau mencegah penyebaran agen zoonosis *E. coli* O157:H7.

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada tim peneliti dalam kerjasama kemitraan penelitian dan pengembangan pertanian nasional (KKP3N) yang didanai oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian tahun 2014. Dan kepada Peternak sapi bali di Kecamatan Abiansemal yang sudah membantu kelancaran dan kemudahan dalam pengambilan sampel penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed A and Donaghy M. 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in central Scotland, in *Escherichia coli* O157:H7 and Other *Shiga-Toxin-Producing E. coli* Strains. *American Society for Microbiology*. 59-65.
- Armstrong GL, Hollingsworth J and Morris Jr JG. 1996. Emerging Foodborne Pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol. Rev.* 18: 29-51.
- Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, and Scheutz F. 1993. Prevalence and some properties of verotoxin (shiga like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *J.clin. microbiol.* 31(9) : 2483-2488.
- Fardiaz S. 1989. Analisis Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. PAU-IPB.
- Kaper JB, Nataro JP and Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. Hal. 123.
- Manor P, Court H, and Runcorn. 2000. Virulence Factors of *Escherichia coli* O157 and Other *Shiga toxin-Producing E. coli*. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 729-745.
- Martin SW, Meek A, and Willeberg P. 1987. *Veterinary Epidemiology*. Ames. Iowa: Iowa State University Press.
- Michino, H., Araki K, Minami S, Nakayama T, Ejima Y, and Hiroe K. 1998. Recent outbreaks of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. *American Society for Microbiology*. 73-81.
- Nataro JP, and Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 11, 142-201.
- Naylor SW, Gally DL and Low JC. 2005. Review. Enterohaemorrhagic *E. coli* in Veterinary Medicine. *International Journal of Medical Microbiology*. 295: 419-441.
- Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*. 308, 681-685.
- Suardana I W, Ratnawati NLKA, Sumiarto B, dan Lukman DW. 2008. Deteksi Keterkaitan Keberadaan Coliform, *Escherichia coli* dengan Keberadaan Agen Zoonosis *Escherichia coli* O157 dan *Escherichia coli* O157:H7 pada Feces Manusia di Kabupaten Badung Provinsi Bali. *Medicina*. 39(3): 215-219.

pISSN : 2301-7848;eISSN : 2477-6637

Suardana IW, Sumiarso B, dan Lukman DW. 2007. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 pada Daging Sapi di Kabupaten Badung Provinsi Bali. *Jurnal Veteriner*. 8(1): 16-23.

Suardana IW, Suyasa IN, Widiastih DA, Nugroho WS, Wibowo MH. 2013. Kajian Epidemiologi dan Pengembangan Probe Diagnostik Berbasis Kloning Gen untuk Diagnosis *Shiga Like Toxin-1* (Stx-1) dari *Escherichia coli* O157:H7 pada Sapi. *Laporan Akhir Hibah KKP3N tahun 2013*.

Supar. 2001. Harapan Vaksin *Escherichia coli* Enterotoksigenik, Enteropatogenik dan Verotoksigenik Isolat Lokal untuk Pengendalian Kolibasilosis Neonatal pada Anak Babi dan Sapi. *Wartazoa*. 11(1): 36-43.