

Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Sapi di Kecamatan Petang, Kabupaten Badung-Bali

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 IN CATTLE STOOL AT PETANG SUBDISTRICT, BADUNG REGENCY-BALI)

I Wayan Suardana¹, Putu Juniari Ratna Apsari Putri², I Nengah Kerta Besung³

¹Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Udayana

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

³Laboratorium Mikrobiologi Veteriner Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: iwayansuardana22@yahoo.com

ABSTRAK

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan salah satu kelompok terbesar dari bakteri *Coliform* dan umum ditemukan di dalam kotoran ternak termasuk sapi. Strain *E. coli* verotipe enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) khususnya serotipe O157:H7 dapat bersifat patogen karena menghasilkan toksin yang disebut *Shiga like toksin*. Sebanyak 58 sampel feses sapi di tujuh Desa di Kecamatan Petang dilakukan isolasi dan identifikasi. Data disajikan secara deskriptif yang dilanjutkan dengan uji korelasi Spearman's rho, serta uji Mc Nemar. Hasil penelitian menunjukkan semua sampel positif *Coliform* (100%), dan 29 sampel positif *E.coli* (50%). Sampel yang positif *E. coli* tersebut, diketahui sebanyak tujuh sampel positif *E. coli* O157 (12,07%) dan lima sampel positif *E. coli* O157:H7 (8,62%). Jumlah bakteri *Coliform* dengan jumlah *E. coli* yang didapat berbeda sangat nyata sedangkan jumlah bakteri *E. coli* O157 dengan *E. coli* O157:H7 tidak berbeda nyata. Kehadiran *Coliform* pada feses sapi tidak dapat dipakai sebagai petunjuk yang pasti untuk mendeteksi kehadiran *E. coli*, *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7, namun ditemukannya bakteri *E. coli* memungkinkan untuk ditemukannya strain *E.coli* O157 ataupun *E. coli* O157:H7. Ditemukannya *E. coli* O157 akan sangat memungkinkan untuk ditemukannya *E. coli* O157:H7.

Kata kunci: Feses sapi, *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157, *E. coli* O157:H7

ABSTRACT

Coliform are commonly found in livestock stool, including cattles and *Escherichia coli* (*E. coli*) is one of the most popular of *Coliform* groups. Various strains of *E. coli* are pathogenic which one of them is serotype O157:H7 which known producing Shiga like toxin. The study initiated by collecting 58 samples of fresh cattle stool which were taken from seven villages in the district of Petang, followed by isolating and identificating of strain. The results of study presented in descriptive and the relationship between each vaiable was analyzed by Spearman 's rho and Mc Nemar test. Among 58 samples, all of them were positive *Coliform* (100 %), and 29 samples positive *E. coli* (50 %). Among *E. coli* positive, that were found 7 samples were positive *E. coli* O157 (12.07 %) and 5 samples positive *E. coli* O157:H7 (8.62 %). The total *Coliform* and the number of *E. coli* were highly significant difference, while the number of *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 were not significant difference. *Coliform* bacteria in the stool of cattle could not be used as a predictable factor for the presence of *E. coli*, *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7, but the presence of *E. coli* would be enable to predict the presence of *E. coli* O157 as well as *E. coli* O157:H7. Futhermore, the study also showed the presence of *E. coli* O157 was as a good predictor to the presence of zoonotic agents *E. coli* O157:H7.

Keywords: cattle stool, *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157, *E. coli* O157 : H7

PENDAHULUAN

Bakteri *Coliform* umum ditemukan dalam feses sapi. Bakteri *Coliform* terdiri dari empat genus, yaitu *Enterobacter*, *Klesella*, *Citrobacter*, dan *Escherichia*. Spesies *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan bakteri yang dapat menyebabkan diare pada manusia dan hewan. Biasanya jumlah *E.coli* dikeluarkan melalui saluran pencernaan lewat feses mencapai 10^8 - 10^9 *E. coli*/gram (Bettelheim, 2000). *E. coli* dibagi menjadi beberapa serotipe berdasarkan antigen permukaan utamanya yakni antigen kapsul (K), antigen somatik (O) dan antigen flagella (H) (Stenutz *et al.*, 2006). Salah satu serotipe patogenik dari *E. coli* adalah O157:H7 yang merupakan serotipe utama dari virotipe enterohemorhagic *Escherichia coli* (EHEC) (Chauduri and Henderson, 2012). Serotipe *E. coli* O157:H7 ini diketahui memiliki toksin yang sangat poten menyerupai toksin yang dihasilkan bakteri *Shigella dysentri* tipe 1 sehingga disebut sebagai Shiga like toksin (Wani *et al.*, 2004). Reservoir utama dari serotipe ini adalah sapi (Brusa *et al.*, 2013) Serotipe ini dapat menyebabkan diare yang parah sampai pada gejala yang kompleks berupa *hemolytic uremic syndrome* (HUS) dan berakhir dengan kegagalan ginjal (Karmali *et al.*, 2010; Page *et al.*, 2013; Ardissino *et al.*, 2014).

Kecamatan Petang sebagai basis pertanian di Kabupaten Badung, sapi merupakan salah satu komoditas ternak yang banyak dipelihara oleh masyarakat. Jumlah populasi ternak sapi di Kecamatan Petang pada tahun 2012 berkisar 14.430 ekor (BPS Badung, 2013). Jumlah ini merupakan jumlah terbanyak di Kabupaten Badung. Di sisi lain, pemeliharaan ternak sapi yang kurang baik sangat beresiko untuk terjadinya pencemaran lingkungan peternakan terutama air akibat infeksi *E. coli* O157:H7 (Hanif *et al.*, 2003).

Dilihat dari permasalahan kondisi

pemeliharaan ternak sapi yang masih tradisional serta memperhatikan tingginya populasi sapi di wilayah Kecamatan Petang, maka dipandang perlu dilakukan identifikasi bakteri *E. coli* O157:H7 pada sapi-sapi di Kecamatan Petang sehingga kedepannya dapat dijadikan dasar pijakan untuk program pencegahan infeksi *E. coli* O157:H7 di wilayah tersebut.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah feses sapi segar yang diambil dari tujuh desa secara acak di Kecamatan Petang. Jumlah sampel diambil sesuai dengan perhitungan prevalensi penyakit menggunakan rumus besaran sampel, yakni $n = 4PQ/L^2$, dengan n adalah besaran sampel, P adalah asumsi tingkat kejadian di daerah penelitian, Q adalah (1-P) dan L merupakan galat yang diinginkan (Martin *et al.*, 1987). Maka, jumlah sampel yang diambil adalah minimal 39 sampel. Hal tersebut didapat berdasarkan estimasi prevalensi penyakit 2,5%, dengan derajat *error* 5% dan tingkat kepercayaan 95%. Dalam penelitian ini digunakan 58 sampel.

Isolasi dan Identifikasi *E. coli* O157:H7

Sampel feses sapi yang didapat diencerkan terlebih dahulu dengan NaCl fisiologis 0,85% hingga pengenceran 10^{-8} . Hasil pengenceran selanjutnya ditanam pada media *eosin methylene blue agar* (EMBA) menggunakan metode sebar dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni *Coliform* dicirikan dengan koloni berwarna merah muda merah, berbentuk mukoid dan koloni berwarna hijau metalik dianggap sebagai praduga *E. coli*. Semua *Coliform* termasuk *E. coli* selanjutnya dilakukan penghitungan dan koloni yang dicurigai sebagai *E. coli* selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram. Koloni bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan pewarnaan Gram akan

berwarna merah, berbentuk batang pendek (Mahon dan Manuselis, 2000; Bambang *et al.*, 2014).

Koloni *E. coli* yang telah terkonfirmasi dengan pewarnaan Gram selanjutnya dilakukan peneguh dengan uji IMVIC. Untuk uji *indol* dilakukan dengan menumbuhkan *E. coli* ke dalam tabung yang berisi media sulfide indol motility (SIM), uji *methy red* dan *voges proskauer* dengan MR-VP medium, dan untuk uji sitrat dengan *simon sitrat*. Tabung-tabung IMVIC diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C, kecuali untuk MR-VP diinkubasikan selama 2-5 hari (Mahon dan Manuselis, 2000).

Isolasi dan Identifikasi *E. coli* O157:H7

Hasil positif *E. coli* pada uji IMVIC selanjutnya diinokulasikan pada media sorbitol McConkey agar (SMAC) dan diinkubasikan selama 18 jam. Koloni *E. coli* O157 tidak memfermentasi sorbitol dicirikan dengan koloni tidak berwarna (colourless) (Suardana *et al.*, 2012).

Konfirmasi lebih lanjut dari *E. coli* O157 dilakukan dengan uji aglutinasi *latex* untuk lebih meyakinkan bahwa koloni tersebut merupakan bakteri *E. coli* O157. Hasil positif pada uji *latex* menegaskan bahwa isolat yang diuji 100% merupakan *E. coli* O157 (Suardana *et al.*, 2012; Suardana *et al.*, 2014a).

Uji untuk menentukan isolat *E. coli* O157 yang diuji sebagai isolate *E. coli* O157:H7 dilakukan dengan uji serologis dengan Antiserum H7 untuk memastikan bahwa isolat yang diuji memiliki antigen flagella H7. Koloni yang positif pada uji *latex agglutination* O157 ditumbuhkan pada media sulfide indol motility (SIM) sebanyak 2 kali pasase. Hasil positif pada media SIM ditandai adanya warna putih berkabut di sekitar tempat tusukan. Bakteri positif pada uji motility selanjutnya ditanam pada media *brain heart infusion* (BHI) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat pada BHI selanjutnya diinaktivasi dengan

formalin 40% dengan perbandingan 0,3 ml formalin kedalam 100 ml BHI, yang selanjutnya disebut sebagai antigen. Antigen selanjutnya diuji dengan antiserum H7 yang diencerkan dengan perbandingan 1:500. Sebanyak 50µl antigen dan 50µl antiserum H7 dimasukkan ke dalam *microplate*. Untuk selanjutnya diletakkan pada *waterbath* dengan suhu 50°C selama 1 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya butiran pasir (prepitasi) pada bagian dasar dari *microplate* (Suardana *et al.*, 2008; Suardana *et al.*, 2012).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan teknik analisis non-parametrik berupa uji korelasi Spermán's rho dan uji Mc Nemar (Steel dan Torrie, 1995; Suardana *et al.*, 2008).

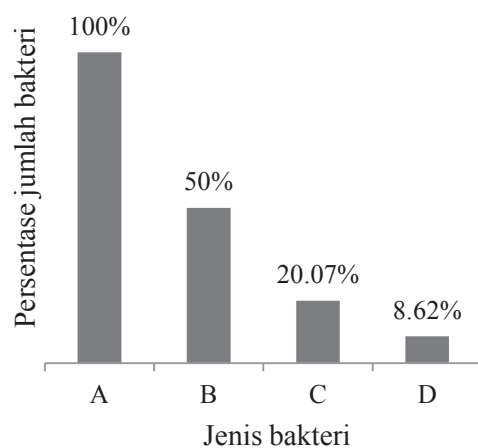
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan dari 58 sampel feses sapi di Kecamatan Petang, semua sampel mengandung *Coliform* dengan rata-rata jumlah *Coliform* $1,0 \pm 0,87 \times 10^{10}$ CFU/g. Jumlah sampel yang mengandung bakteri *E. coli* yakni 29 sampel dengan rata-rata jumlah *E. coli* yang didapat sebesar $4,4 \pm 13,87 \times 10^8$ CFU/g. Dari 29 sampel positif *E. coli*, ditemukan 11 sampel positif terhadap uji SMAC, 7 sampel positif O157 *latex agglutination test* dan 5 sampel positif sebagai serotipe *E. coli* O157:H7.

Memperhatikan hasil isolasi dan identifikasi dan merujuk dari hasil penelitian Suardana *et al.* (2008) bahwa dari seluruh sampel yang diambil berhasil ditemukan bakteri *Coliform* dan *E. coli* berada dalam frekuensi yang tinggi yaitu >100 CFU/g. Hasil penelitian yang didapat jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya pada feses manusia sebanyak $6,20 \pm 20,36 \times 10^5$ cfu/g dan $13,62 \pm 57,64 \times 10^5$ cfu/g masing masing untuk *Coliform*

dan *E. coli* (Suardana *et al.*, 2008). Ditemukannya *E. coli* pada feses sapi dengan frekuensi yang tinggi tersebut juga memungkinkan untuk ditemukannya *E. coli* patogen seperti *E. coli* O157:H7.

Perbandingan persentase *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 serta *E. coli* O157:H7 dari 58 sampel feses sapi di Kecamatan Petang secara ringkas seperti tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Persentase perbandingan *Coliform* (A), *E. coli* (B), *E. coli* O157 (C) serta *E. coli* O157:H7 (D) pada feses sapi di Kecamatan Petang.

Gambar 1 di atas menunjukkan bahwa bakteri *Coliform* ditemukan pada semua sampel di uji (100%), dan dari keseluruhan bakteri *Coliform* tersebut sebanyak 50% positif *E. coli*. Analisis lebih lanjut terhadap keseluruhan bakteri *E. coli* ditemukan bahwa sebanyak 12,07% positif terdeteksi sebagai strain *E. coli* O157 dan selanjutnya 8,62% dinyatakan positif *E. coli* O157:H7. Persentase perbandingan *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 yang didapat yaitu 100; 50; 12.0 dan 8.62% lebih tinggi dari hasil penelitian pada feses manusia yang dilakukan oleh Suardana *et al.*, (2008) pada feses manusia yang menemukan bahwa perbandingan antara *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 masing-masing sebesar 89,61; 15,58; 6,49 dan 1,3%.

Hasil analisis uji Mc Nemar meneguhkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) antara sampel positif *E. coli* O157 dengan sampel positif *E. coli* O157:H7 pada feses sapi di Kecamatan Petang. Uji lanjutan dengan uji korelasi Spearman's rho, terlihat bahwa jumlah bakteri *Coliform* menunjukkan korelasi yang tidak nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah bakteri *E. coli*, *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7. Hasil analisis ini menjelaskan bahwa jumlah bakteri *Coliform* pada feses sapi tidak berkaitan langsung dengan jumlah *E. coli*, *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7. Disisi lain, kehadiran bakteri *E. coli* baru dapat menunjukkan korelasi yang nyata terhadap ditemukannya bakteri *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7.

Hasil pengujian dengan uji Spearman's rho, ditemukannya bakteri *E. coli* O157 menunjukkan korelasi yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap ditemukannya bakteri *E. coli* O157:H7 sebagaimana fenomena yang sama dengan hasil penelitian sebelumnya pada feses manusia (Suardana *et al.*, 2008).

Ditemukannya sejumlah bakteri terutama bakteri *E. coli* O157:H7 pada feses sapi di Kecamatan Petang dengan persentase yang cukup tinggi yakni sebesar 8,62% menunjukkan bahwa feses sapi di wilayah ini merupakan sumber penularan potensial dari strain *E. coli* O157:H7, sehingga keberadaan agen tersebut mesti diwaspadai. Kajian genetik dan potensi zoonosisnya mesti dianalisis seperti pada kajian kajian sebelumnya (Suardana *et al.*, 2013; Suardana *et al.*, 2014b) sehingga penularan dari agen zoonosis tersebut dari sapi ke manusia dapat dicegah.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Persentase sapi yang positif mengandung *Coliform*, *E. coli*, *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 di Kecamatan

Petang masing-masing sebesar 100, 50, 12,07 dan 8,62%. Ditemukannya *Coliform* pada sapi tidak dapat menjadi indikator ditemukannya *E. coli*, *E. coli* O157 maupun *E. coli* O157:H7. Namun dengan ditemukannya bakteri *E. coli* sangat memungkinkan untuk ditemukannya bakteri *E. coli* O157 serta agen zoonosis *E. coli* O157:H7.

Saran

Ditemukannya agen zoonosis *E. coli* O157:H7 yang cukup tinggi pada feses sapi di Kecamatan Petang, maka disarankan untuk dilakukannya penanganan dan pengolahan limbah feses yang baik pada peternakan sapi, mengingat feses sapi sebagai reservoir utama dari agen zoonosis *E. coli* O157:H7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah penelitian Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) tahun 2013 dengan Surat Perintah Kerja Pelaksanaan Penelitian NO. 795/LB.620/I.1/2/2013 Tanggal 25 Pebruari 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardissino G, Possenti I, Salardi S, Tel F, Colombo E, Testa S, 2014. Co-infection in Children with Bloody Diarrhea Caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: data of the North Italian HUS Network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 59(2): 218-20.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Badung. 2013. Kecamatan Petang dalam angka 2013. http://badungkab.bps.go.id/kecamatan_dalam_angka/2013/petang. Tanggal Akses 13 Mei 2014.
- Bambang GA, Fatimalawi, Kojong NS, 2014. Analisis Cemaran Bakteri *Coliform* dan Identifikasi *Escherichia coli* pada Air Isi Ulang dari Depot di Kota Manado. *J Ilmiah Farmasi.* 3(3): 325-334.
- Bettelheim KA, 2000. The role of non-O157 VTEC. *J of Applied Microbiology Symposium Supp.* 88: 38S-50S.
- Brusa V, Aliverti V, Aliverti F, Ortega, EE, de la Torre JH, Linares LH, 2013. Shiga toxin producing *Escherichia coli* in beef retail markets from Argentina. *Front Cell Infect Microbiol* 2: (171).
- Chaudhuri RR, and Henderson IR, 2012. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infect. Genet. Evol. Rev.* (Article in press).
- Hanif SKS, Sumiarto B, Budiharta S, 2003. Pravalence and Analysis Of *Escherichia coli* O157:H7 Infection Factors in Small Holder Dairy Cows in The District of Sleman. *J.Sain Vet.* 20 (1): 51.
- Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM, 2010. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol*; 140(3-4): 360-370.
- Mahon CR, Manuselis G, 2000. *Textbook of diagnostic microbiology.* 2ndEd. Saunders.
- Martin SW, Meek AH Willeberg P, 1987. *Veterinary epidemiology principles and methods.* Iowa States University Press. Iowa. 23-40.
- Page AV, Liles WC, 2013. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infections and the Hemolytic Uremic Syndrome. *Med Clin North Am* 2013; 97(4): 681-95.
- Steel RGD, Torrie JH, 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika.* PT Gramedia Pustaka. Jakarta.

- Stenutz R, Weintraub A, Widmalm G, 2006. The structure of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS microbiology*. 30 (3): 382–403.
- Suardana IWA, Ratnawati B, Sumiarto, Lukman DW, 2008. Deteksi keterkaitan keberadaan coliform, *E. coli*, dengan keberadaan agen zoonosis *E. coli* O157 dan *E. coli* O157:H7 pada feses manusia di Kabupaten Badung Provinsi Bali. *Medicina*. 39(3): 216-218.
- Suardana IW, Pinatih KJP, Ratnawati NLKA, Widiasih DA, 2013. Protein Profile Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 from Human and Animals Origin. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.*; 2: 204-14.
- Suardana IW, Utama IH, dan Wibowo BMH, 2014a. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisisnya Pada Media Agar Darah. *Jurnal kedokteran hewan*. 8(1): 1-5.
- Suardana IW, 2014b. Analysis of Nucleotide Sequences of the 16S rRNA Gene of novel *Escherichia coli* strains isolated from feces of human and Bali cattle. *J Nucleic Acids* doi: 10.1155/2014/475754.
- Wani SA, Samanta I, Munshi ZH, Bhat MA, Nishikawa Y, 2004. Shiga toxin-producing *E. coli* and Enteropathogenic *E. coli* in healthy goats in India: Occurrence and Virulence Properties. *J. Appl. Microbiol.* 100:108–11