

Prevalensi Infeksi *Escherichia coli* O157:H7 pada Sapi Bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan, Badung, Bali

PREVALENCE OF ESCHERICHIA COLI O157:H7 IN BALI CATTLE AT MENGWI AND KUTA SELATAN DISTRICTS, BADUNG, BALI

Rian Ka Praja¹, Komang Januartha Putra Pinatih², I Wayan Suardana^{3*}

¹Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan

, ² Bagian Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana,

³Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl. PB.Sudirman Denpasar, Bali Tlp. (0361) 223791, 701808.

*Corresponding author E-mail: iwayansuardana22@yahoo.com

ABSTRAK

Escherichia coli O157:H7 merupakan agen zoonosis yang dapat menyebabkan *hemorrhagic colitis* dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) pada manusia. Sapi diketahui sebagai *reservoir* utama dari bakteri *E. coli* O157:H7. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 pada sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan, Badung, Bali. Isolasi bakteri *E. coli* dilakukan pada media *eosin methylene blue agar* (EMBA) kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan uji indol, *methyl red*, *voges proskauer* dan *citrate* (IMVIC). Identifikasi *E. coli* O157 dilakukan pada media selektif *sorbitol Mac Conkey agar* (SMAC) dan uji konfirmasi dengan uji aglutinasi lateks O157 serta uji antiserum H7 sebagai konfirmasi akhir dari *E. coli* O157:H7. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 60 sampel feses sapi bali yang diambil di Kecamatan Mengwi, dua sampel (3,3%) positif *E. coli* O157:H7 dan lima sampel (8,3%) positif *E. coli* O157:H7 dari 60 sampel yang berasal dari Kuta Selatan. Hasil uji *Chi Square* menunjukkan nilai χ^2 sebesar 0,243 yang berarti prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 pada sapi bali antara Kecamatan Mengwi dan Kecamatan Kuta Selatan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan terinfeksi *E. coli* O157:H7.

Kata kunci: Prevalensi, *E. coli* O157:H7, zoonosis, Kecamatan Mengwi, Kecamatan Kuta Selatan.

ABSTRACT

Escherichia coli O157:H7 is a zoonotic agent that causes *hemorrhagic colitis* and *hemolytic uremic syndrome* (HUS) in human. Cattle are known as the major *reservoir* of *E. coli* O157:H7. The aim of this study was to determine the prevalence of *E. coli* O157:H7 in cattle at Mengwi and Kuta Selatan Districts. In this study, the *E. coli* was isolated by culturing in *eosin methylene blue agar* (EMBA) medium and then performed Gram staining and indol, *methyl red*, *voges proskauer* and *citrate* (IMVIC) test, followed by cultured in selective medium *sorbitol Mac Conkey agar* (SMAC), and proven using O157 latex agglutination test to exactly confirm the *E. coli* serotype O157, and finally used H7 antiserum to complete identification of *E. coli* O157:H7. The results of this study showed that 2 samples (3.3%) positive *E. coli* O157:H7 out of 60 bali cattle's fecal samples taken at

Mengwi District and 5 samples (8.3%) positive *E. coli* O157:H7 out of 60 Bali cattle's fecal samples taken at Kuta Selatan District. The analysis of Chi Square test showed $P = 0.243$, it means the prevalence of *E. coli* O157:H7 in Bali cattle between Mengwi and Kuta Selatan Districts was not significantly different ($P > 0.05$). Based on these results it can be concluded that the Bali cattle in Mengwi and Kuta Selatan Districts infected with *E. coli* O157:H7.

Key words: prevalence, *E. coli* O157:H7, zoonotic, Mengwi District, Kuta Selatan District.

PENDAHULUAN

Escherichia coli O157:H7 merupakan salah satu *enterohaemorrhagic Escherichia coli* atau disebut EHEC yang dapat menyebabkan kematian pada manusia (Todar, 2008). Manusia bisa terinfeksi dan menyebabkan *hemorrhagic colitis* (HC) dengan gejala meliputi kejang perut yang diikuti dengan diare (seringkali bercampur darah), mual, muntah, kadang-kadang demam yang ringan. Komplikasi yang terjadi adalah *hemolytic uremic syndrome* (HUS), infeksi saluran kemih yang dapat menyebabkan gagal ginjal akut pada anak-anak (Fernandez, 2008).

Sapi merupakan *reservoir* utama dari Shiga toksin *Escherichia coli* (STEC) termasuk di dalamnya yaitu serotipe *E. coli* O157:H7 (Caprioli *et al.*, 2005). Faith *et al.* (1996) menegaskan bahwa meskipun di dalam saluran pencernaan sapi terdapat *E. coli* O157:H7 namun hewan tersebut tidak menunjukkan sakit. Hewan yang dalam saluran pencernaannya terdapat bakteri *E. coli* O157:H7 maka hewan tersebut dapat menyebarkan bakteri ini baik ke hewan lain maupun ke manusia.

Kondisi lingkungan sangat berpengaruh terhadap kelangsungan hidup mikroorganisme. Kehadiran mikroorganisme patogen termasuk *E. coli* O157:H7 sangat tergantung pada faktor lingkungan seperti kelembaban, suhu dan curah hujan (Rahayu, 2010).

Berdasarkan data yang diperoleh dari Balai Besar Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika Wilayah III Denpasar tahun 2014, suhu rata-rata Kecamatan Mengwi berkisar 27,59°C, kelembaban rata-rata 78,41% dan curah hujan rata-rata 293,71 mm/tahun. Sistem pemeliharaan sapi Bali yang dilakukan oleh para peternak di Kecamatan Mengwi secara umum menggunakan kandang. Di sisi lain suhu rata-rata Kecamatan Kuta Selatan berkisar 27,35°C, kelembaban sekitar 80,37% dan curah hujan rata-rata berkisar 208,51 mm/tahun.

Sapi bali yang dipelihara di Kecamatan Kuta Selatan umumnya diumbarkan atau dilepas bebas dan dibiarkan mencari makanan sendiri.

Berdasarkan uraian di atas serta melihat kondisi geografis dan sistem pemeliharaan sapi yang berbeda antara Kecamatan Mengwi dan Kecamatan Kuta Selatan maka penelitian prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 pada sapi di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan menarik untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi infeksi *Escherichia coli* O157:H7 pada sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan.

METODE PENELITIAN

Sampel berupa feses sapi bali diambil dari dua kecamatan yaitu Kecamatan Mengwi dan Kecamatan Kuta Selatan. Besaran sampel (n) dihitung dengan rumus besaran sampel dari Martin *et al.* (1987) yakni $n = 4PQ/L^2$ dengan n = besaran sampel, P = asumsi tingkat kejadian/prevalensi di daerah penelitian, Q adalah (1-P) dan L = simpangan yang diinginkan. Besarnya sampel berdasarkan prevalensi infeksi hasil penelitian Suardana *et al.* (2013) adalah 2,5% dengan tingkat kepercayaan 95% dan simpangan yang diinginkan sebesar 5% maka n minimal 39 sampel feses sapi. Pada penelitian ini diambil 60 sampel feses sapi masing-masing dari Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan.

Feses sapi diencerkan dengan *aquades* kemudian ditanam pada media *eosin methylene blue agar* (EMBA) dan diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri *E. coli* pada media ini memperlihatkan koloni berbentuk bulat berwarna hijau metalik dengan pusat koloni berwarna gelap (Bridson, 2006). Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram dengan menunjukkan hasil batang pendek berwarna merah (Gram negatif). Uji dilanjutkan uji IMVIC dengan hasil positif indol, positif methyl red, negatif voges proskauer dan negatif citrate yang merupakan positif *fecal coli*. Bakteri yang positif *fecal coli* diinokulasikan pada media *nutrient agar* untuk pemeriksaan selanjutnya.

Identifikasi *E. coli* O157 dilakukan dengan menanam isolat *E. coli* murni dari media *nutrient agar* ke dalam media *sorbitol MacConkey agar* (SMAC). Setelah diinkubasikan pada

suhu 37°C selama 24 jam, koloni *E. coli* yang diidentifikasi sebagai *E. coli* O157, memiliki ciri koloni jernih, tidak berwarna (*colourless*) atau bersifat sorbitol negatif (Bridson, 2006).

Konfirmasi untuk meyakinkan bahwa koloni hasil penumbuhan pada media SMAC adalah *E. coli* O157, dilanjutkan dengan menggunakan *E. coli* O157 latex agglutination test yang dilakukan dengan cara mereaksikan dengan pereaksi latex (1 tetes isolat ditambah 1 tetes pereaksi latex). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya presipitasi, sesuai dengan kontrol positif yang tersedia (Chapman, 1989).

Tahap akhir untuk memastikan koloni yang diisolasi merupakan serotipe *E. coli* O157:H7, pengujian selanjutnya dilakukan terhadap antigen flagelanya yakni dengan uji antiserum H7. Koloni yang positif pada uji lateks terlebih dulu ditumbuhkan pada *media motility* sebanyak dua kali pasase. Hasil positif pada media ini ditandai dengan adanya penyebaran pertumbuhan dari tempat tusukan. Setelah ditumbuhkan pada media motil, isolat selanjutnya ditumbuhkan pada media *brain heart infusion* (BHI) yang bervolume 1,5 ml. Isolat diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Isolat yang tumbuh ditandai dengan kekeruhan pada media BHI selanjutnya diinaktivasi dengan penambahan formalin 40% dengan perbandingan 0,3 bagian formalin dalam 100 bagian BHI, untuk selanjutnya disebut sebagai antigen. Antigen ini selanjutnya diuji dengan antiserum H7 yang telah diencerkan dengan perbandingan 1:500. Pengujian dilakukan dengan mereaksikan 50 µl antigen dengan 50 µl antiserum di dalam plat. Plat selanjutnya diinkubasikan pada *waterbath* suhu 50°C selama 1 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya butiran menyerupai pasir (presipitasi) pada dasar plat (Suardana *et al.*, 2014).

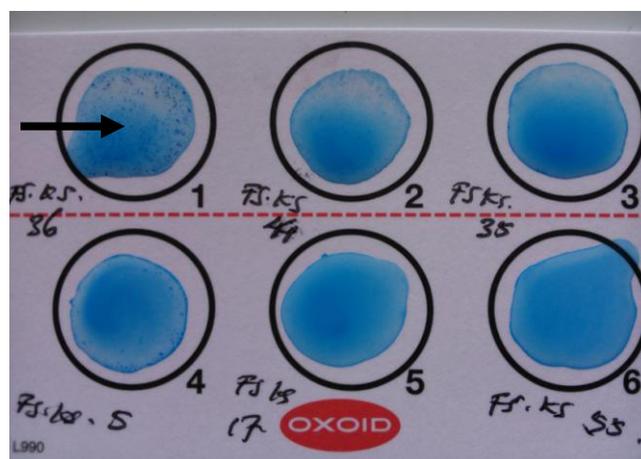
Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dan untuk melihat signifikansi tingkat prevalensi infeksi antara Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan diuji lebih lanjut dengan uji *Chi Square* (Steel dan Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koloni *E. coli* yang tumbuh pada media EMBA memperlihatkan warna hijau metalik dengan titik hitam pada bagian tengahnya, koloni yang menunjukkan hasil positif *E. coli* pada media EMBA selanjutnya distok ke dalam *nutrient agar* (NA). Setelah distok, dilakukan pewarnaan Gram untuk melihat jenis dan identifikasi morfologi bakteri. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri Gram negatif sehingga pada pengamatan di bawah mikroskop, bakteri *E. coli* terlihat berwarna merah dan berbentuk batang pendek (Karsinah *et al.*, 1994). Selanjutnya dilakukan uji IMVIC, *fecal coli* menunjukkan positif indol, positif methyl red, negatif voges proskauer, dan negatif citrate.

Bakteri yang positif *E. coli* selanjutnya diseleksi dengan penumbuhan pada *sorbitol Mac Conkey agar* (SMAC) untuk mengidentifikasi *E. coli* serotipe O157. Media SMAC merupakan media standar untuk deteksi *E. coli* O157 (Novicki *et al.*, 2000). Koloni *E. coli* O157 yang tumbuh pada media ini dicirikan dengan koloni yang jernih/*colourless* yang disebabkan karena bakteri ini memiliki sifat *non-sorbitol-fermenting* (NSF) atau sorbitol negatif (March dan Ratnam, 1989).

Isolat presumtif *E. coli* O157 yang tumbuh pada media SMAC kemudian diuji dengan *E. coli* O157 *latex agglutination test* untuk meyakinkan bahwa isolat yang tumbuh tersebut benar-benar *E. coli* O157. Hasil positif akan menunjukkan reaksi aglutinasi berupa presipitasi seperti pasir pada kertas uji (Suardana *et al.*, 2014). Hasil positif seperti Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi positif *E. coli* O157 pada *latex agglutination test*. Tanda panah (→) menunjukkan hasil reaksi aglutinasi dari isolat FS.KS.36.

Hasil positif pada *E. coli* O157 latex agglutination test kemudian diuji lebih lanjut untuk deteksi antigen *flagella* H7. Koloni yang positif memiliki antigen H7 menunjukkan presipitasi pada saat pengujian antiserum.

Dengan berpedoman pada serangkaian uji di atas, maka isolat *E. coli* yang diperoleh sudah benar merupakan *E. coli* O157:H7. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 2 (3,3%) sampel positif *E. coli* O157:H7 dari 60 sampel yang berasal dari Kecamatan Mengwi dan 5 (8,3%) sampel positif *E. coli* O157:H7 dari 60 sampel yang berasal dari Kecamatan Kuta Selatan. Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan uji *Chi Square* seperti disajikan Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Prevalensi Infeksi *Escherichia coli* O157:H7 pada sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kecamatan Kuta Selatan, Badung, Bali

Kecamatan	<i>E. coli</i> O157:H7 pada sapi bali		Jumlah	χ^2
	Positif	Negatif		
Mengwi	2	58	60	0,243 ^{ns}
Kuta Selatan	5	55	60	
Jumlah	7	113	120	

*Keterangan : ns = non-signifikan / tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Dari Tabel 1 diketahui bahwa tingkat prevalensi *E. coli* O157:H7 diantara kedua tempat tersebut dengan uji *Chi Square* diperoleh hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) antara prevalensi *E. coli* O157:H7 pada sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan. Hal ini disebabkan karena suhu maupun kelembaban diantara kedua kecamatan tersebut tidak begitu berbeda. Jika dilihat dari curah hujan, ada perbedaan yang cukup besar antara Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan. Curah hujan rata-rata di Kecamatan Mengwi berkisar 293,71 mm pertahun sedangkan Kecamatan Kuta Selatan 208,51 mm pertahun. Namun

perbedaan curah hujan disini tidak menimbulkan perbedaan prevalensi yang signifikan, mengingat pada saat pengambilan sampel yang dilaksanakan pada bulan April 2014 adalah musim pancaroba, hujan yang turun di setiap wilayah tidak maksimal.

Dalam penelitian ini diperoleh hasil prevalensi infeksi di Kecamatan Mengwi lebih rendah bila dibandingkan dengan Kecamatan Kuta Selatan. Hal ini disebabkan karena pemeliharaan sapi di Kecamatan Mengwi dilakukan di dalam kandang sehingga kebersihan kandang dan kebersihan sapi lebih terjamin. Berbeda dengan Kecamatan Kuta Selatan, sapi yang diumbar umumnya terlihat kotor dan kebersihannya tidak diperhatikan. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Sumiarto (2004), ditemukan bahwa sapi yang kotor 3,22 kali lebih besar terinfeksi *E. coli* O157:H7 dibandingkan dengan sapi yang bersih.

Prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 yang diperoleh di Kecamatan Mengwi pada penelitian ini sebesar 3,3% lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian terdahulu. Hasil penelitian Suardana *et al.* (2010) menemukan prevalensi sebesar 5% dari sampel feses sapi di Kabupaten Badung. Sedangkan prevalensi infeksi yang lebih besar diperoleh di Kecamatan Kuta Selatan sebesar 8,3%. Hasil yang diperoleh jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian mengenai prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 pada sapi perah di Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta yang telah dilakukan oleh Sumiarto (2004) menemukan prevalensi sebesar 27,4%. Hanif *et al.* (2003) menemukan prevalensi sebesar 35% dari feses yang diambil langsung dari rektum sapi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi bali di Kecamatan Mengwi dan Kuta Selatan terinfeksi *E. coli* O157:H7. Tidak terdapat perbedaan prevalensi infeksi *E. coli* O157:H7 di Kecamatan Mengwi (3,3%) dan Kuta Selatan (8,3%) dan hasil uji *Chi Square* menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh faktor lingkungan (suhu, kelembaban dan curah hujan) serta pengaruh sistem pemeliharaan terhadap tingkat prevalensi *E. coli* O157:H7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih saya sampaikan kepada Dr. drh. I Wayan Suardana, M.Si. telah melibatkan dalam penelitian Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) yang didanai oleh Badan Penelitian Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian Tahun 2014 serta Pengelola Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi Unud yang telah banyak membantu selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai Besar Meteorologi Klimatologi dan Geofisika Wilayah III Denpasar. 2014. Pelayanan Jasa Informasi Klimatologi Data Unsur Iklim Bulanan. Denpasar, Bali.
- Bridson, E.Y. 2006. *The Oxoid Manual 9th Edition*. Oxoid Limited, England.
- Caprioli, A., S. Morabito, H. Brugere and E. Oswald. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet. Res.* 36: 289–311.
- Chapman, P.A. 1989. Evaluation of commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42: 1109-1110.
- Faith, N.G., J. A. Shere, R. Brosch, K.W. Arnold, S.E. Ansay, M.S. Lee, J.B. Luchansky and C.W. Kaspar. 1996. Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(5):1519.
- Fernandez, T.F. 2008. *E. coli* O157:H7. *Veterinary World*. Vol.1 (3): 83-87.
- Hanif, S.K.S., B. Sumiarto dan S. Budiharta. 2003. Prevalensi dan Analisis Faktor-faktor Infeksi *Escherichia coli* O157:H7 pada Peternakan Sapi Perah Rakyat di Kabupaten Sleman. *J. Sain Vet.* Vol. XXI, No. 1: 50-54.
- Karsinah, H., H. M. Lucky, Suharto dan H.W. Mardiasuti. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara, Jakarta.
- March, S.B. and S. Ratnam. 1989. Latex Agglutination Test for Detection of *Escherichia coli* Serotype O157. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 27, No. 7: 1675-1677.
- Martin, S.W., A. Meek and P. Willeberg. 1987. *Veterinary Epidemiology*. Ames. Iowa: Iowa State University Press.

- Novicki, T.J., J.A. Daly, S.L. Mottice and K.C. Carroll. 2000. Comparison of Sorbitol MacConkey Agar and Two Step Method Which Utilizes Enzyme Linked Immunosorbent Assay Toxin Testing and a Chromogenic Agar to Detect and Isolate Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.** 38 (2): 547-551.
- Rahayu, I.D. 2010. Faktor-faktor Pengaruh, Agen Penyebab dan Cara Penularan Penyakit Ternak. <http://imbang.staff.umm.ac.id/?p=331>. Tanggal akses 5 Maret 2014.
- Steel, R.G.D. dan Torrie J.H. 1995. **Prinsip dan Prosedur Statistika**. PT. Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Suardana, I W., I N. Suyasa, D.A. Widiasih, W.S. Nugroho dan M.H. Wibowo. 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*.
- Suardana, I.W., I.H. Utama dan M.H. Wibowo. 2014. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisisnya pada Media Agar Darah. **Jurnal Kedokteran Hewan**. Vol. 8, No. 1: 1-5.
- Suardana, I.W., W.T. Artama, W. Asmara dan B.S. Daryono. 2010. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 serta Deteksi Gen Shiga Like Toxin 1 dan 2 Asal Feses Hewan, Daging dan Feses Manusia. **Jurnal Veteriner**. 11(4): 264-270.
- Sumiarto, B. (2004). Epidemiologi *Verocytotoxigenic Escherichia coli* (VTEC) pada Sapi Perah di Propinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta: Kajian Tingkat Ternak. **J. Sain Vet.** XXII (2): 27-32.
- Todar, K. (2008). Pathogenic *E. coli*. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>. Tanggal Akses 25 Januari 2014.