

DETEKSI GEN SHIGA- LIKE TOXIN II PADA DAGING BABI DARI BEBERAPA PASAR DI KOTA DENPASAR

Amy Yelly Kusmawati

Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: amyellybio@gmail.com

ABSTRAK

Escherichia coli adalah bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi usus dan kegagalan ginjal pada manusia. Salah satu strains *Escherichia coli* zoonosis adalah serotype O157. Manusia dan, hewan ternak terutama babi adalah reservoir utama untuk *Escherichia coli* O157. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Escherichia coli* O157 yang memiliki *gen Shiga-like toxin II* [SLT-II]. Penelitian ini terdapat 31 sampel yang diteliti yang diambil dari 24 pasar yang berlokasi di Kota Denpasar. Pemeriksaan yang dilakukan pada media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC) yang digores larutan suspensi daging babi dalam Nutrien Broth, diamati adanya koloni bening sebagai *Escherichia coli* O157 dan untuk memastikannya menggunakan uji rapid single path. Hasil penelitian dapat disimpulkan sebanyak 9 dari 31 (38,7%) sampel daging babi mengandung *Escherichia coli* O157 dan tidak ditemukan *gen Shiga-Like Toxin II* [SLT-II]. Pencemaran *Escherichia coli* O157 pada daging babi menunjukkan bahwa tingkat kebersihan pada proses pemotongan dan penjualan yang tidak baik. Hasil ini menunjukkan bahwa daging babi menjadi sumber pencemaran *Escherichia coli* enteropatogenik yang harus kita waspadai.

Kata kunci: Daging babi, *Escherichia coli* O157, *gen Shiga-like toxin (SLT-II)*

ABSTRACT

Escherichia coli is a pathogenic bacteria that often causes intestinal infections and kidney failure in humans. One of the zoonotic *Escherichia coli* strains is serotype O157. Humans and livestock, especially pigs, are the main reservoirs for *Escherichia coli* O157. This study aims to detect *Escherichia coli* O157 which has the *Shiga-like toxin II* [SLT-II] gene. In this study, there were 31 samples studied which were taken from 24 markets located in Denpasar City. The examination was carried out on *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC) media which was scratched by a solution of pork suspension in Nutrient Broth, observed the presence of clear colonies as *Escherichia coli* O157 and to confirm it used a rapid single path test. The results of this study concluded that 9 out of 31 (38.7%) pork samples contained *Escherichia coli* O157 and no *Shiga-Like Toxin II* [SLT-II] gene was found. The contamination of *Escherichia coli* O157 in pork indicates that the level of cleanliness in the slaughter and sales process is not good. These results indicate that pork is a source of enteropathogenic *Escherichia coli* contamination that we must be aware of.

Keywords: Pork, *Escherichia coli* O157, *Shiga-like toxin gene (SLT-II)*

PENDAHULUAN

Daging babi mengandung protein yang mutlak diperlukan dalam tubuh, baik sebagai fungsional maupun sebagai pembangun struktur (pertumbuhan) terutama pada anak-anak usia di bawah

lima tahun. Selain protein nabati, kebutuhan protein hewani juga perlu mendapat perhatian karena mengandung berbagai asam amino yang mendekati susunan asam amino yang dibutuhkan oleh manusia

sehingga lebih mudah untuk dicerna dan efisien pemanfaatannya.¹

Daging babi di Bali sangat diminati oleh masyarakat karena citarasanya enak dan untuk keperluan upacara keagamaan. Pemetongan ternak babi di Bali dari tahun ke tahun meningkat rata-rata 5,4 %.² Bali menjadikan ternak babi sebagai mata dagangan antar pulau dengan tujuan Surabaya, Semarang dan Jakarta. Peternak mengirim babi setiap bulan berkisar 100-300 ekor dengan berat rata-rata di atas 100 kilogram per ekor.³

Populasi ternak babi di Bali keberadaannya kebanyakan ada di daerah pedesaan. Masyarakat pedesaan beternak babi secara tradisional dikelola secara sederhana dan manajemen semi modern. Masyarakat Bali memelihara ternak babi sebagai tabungan dan untuk keperluan upacara adat.⁴

Di Denpasar jumlah kasus diare tahun 2005 tercatat 14.751 orang; tahun 2006 tercatat 15.995 orang; tahun 2007 tercatat 16.540 orang; tahun 2008 tercatat 17.732 orang; tahun 2009 tercatat 16.349 orang.⁵

Escherichia coli adalah mikroorganisme yang hidup dalam berbagai air limbah dan mempengaruhi kualitas air. Sumber utama kontaminasi *Escherichia coli* berasal dari kotoran manusia dan hewan yang dibuang melalui limbah rumah tangga dan peternakan.⁶

Escherichia coli yang dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan yaitu gastroenteritis disertai dengan mual dan muntah yang dapat menurunkan berat badan pada manusia atau ternak.⁷

Menurut Beutin dkk⁸ Salah satu strain *Escherichia coli* patogen adalah serotipe O15. (*Escherichia coli* O157 memiliki fimbriae yang berperan dalam menginvasi inang (tidak menyerang mukosa sel seperti *Shigella*). *Escherichia coli* O157 menghasilkan toksin yang identik dengan toksin dari *Shigella dysenteriae* tipe 1 sehingga dikenal sebagai *Shiga-like toxin* (SLT) *Reservoir* yang sering membawa *Shiga like toxin* adalah sapi, kambing, domba, babi, ayam, anjing, rusa dan kucing.

Infeksi *Escherichia coli* O157 yang dapat menghasilkan *Shiga-like toxin* menunjukkan gejala klinis pada manusia yaitu kram perut, mual, muntah, diare berdarah, *colitis hemorrhagic* dan *hemolytic uremic syndrome (HUS)*. Masa inkubasi variasi berkisar dari 3-4 hari⁹

Di Indonesia penelitian keberadaan *Escherichia coli* O157 yang menghasilkan gen *Shiga-like toxin* (SLT) sebagai *agent zoonosis* pada feses dan daging ternak telah dilakukan oleh beberapa peneliti seperti feses sapi perah, feses dan daging domba, feses sapi dan daging sapi serta terdeteksinya strain *Escherichia coli* O157:H7 pada feses manusia, daging

olahan sapi.¹⁰⁻¹² Swab anus sapi perah, sapi potong, babi, kambing/domba ditemukan isolate *Escherichia coli* O157 pembawa gen *SLT-I* dan *SLT-II* paling banyak berasal dari babi.¹³

Kota Denpasar sebagai Ibukota Propinsi yang menjadi pusat pemerintahan, perdagangan, pendidikan dan kebudayaan yang memiliki pertumbuhan sosial dan ekonomi yang relatif tertinggi di antara kabupaten di Bali sehingga sering menjadi tolok ukur bagi keberhasilan pembangunan di daerah Bali. Perkembangan pasar tradisional dan modern di Kota Denpasar sangat pesat dibandingkan dengan kabupaten lain di Bali. Berdasarkan pertimbangan di atas dan tingginya potensi penyebaran *Escherichia coli* serotipe O157 yang terdapat pada babi maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul deteksi gen *Shiga-like toxin* (SLT) II pada daging babi dari beberapa pasar di Kota Denpasar.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian ini adalah daging babi, *Nutrient Broth* dari *Merck* dengan Cat No.5443, pengecatan *Gram* Iset (gentian kristal violet, lugol, alcohol 96% dan air fuchsin), *Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC)* dari *Merck* dengan Cat No.VM 0783070931, *Uji Singlepath Escherichia coli* O157 Cat. No. 1.04141.0001 dari *Merck*, Ekstraksi DNA *Escherichia coli* O157 menggunakan reagen *Roche Lot. 11762800*. Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* menggunakan reagen invitrogen *Lot.11306016*. Elektroforesis Hasil *PCR* Elektroforesis menggunakan reagen agarose 2% Takara Cat.# 3401-3413A

Identifikasi *Escherichia coli* O157

Larutan suspensi daging babi dalam *Nutrient Broth* diambil dengan menggunakan jarum ose dilakukan penanaman pada media *Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC)*, diinkubasi pada suhu 35-37° C selama 24 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik dan diamati adanya koloni yang bening (*colourless*).

Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi dengan menggunakan *Singlepath Escherichia coli* O157 bertujuan untuk memastikan bahwa koloni tersangka benar. Cara pemeriksaan *singlepath Escherichia coli* O157 adalah sebagai berikut: Penanaman koloni *Escherichia coli* O157 pada media bebas sorbitol dan inkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Kemudian diambil 1 koloni dimasukkan ke dalam media *nutrient broth* bervolume 1 ml dan inkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Selanjutnya ditaruh dalam *waterbath* bersuhu 100°C selama 15 menit yang terlebih dulu didinginkan. Sebanyak 150µl dipipet *nutrient broth* diatas yang kemudian ditetaskan dalam lingkaran pada alat tes dan dibiarkan pada suhu

kamar dan dilihat hasil tes setelah 20 menit. Interpretasi hasil:

Positif (+) : apabila terbentuk garis merah pada kontrol (C) dan tes sampel (T) dalam waktu 20 menit

Negatif (-) : apabila terbentuk garis merah pada kontrol (C) dan tes sampel (T) tidak terbentuk garis merah dalam waktu 20 menit

Untuk uji selanjutnya dilakukan identifikasi gen *Shiga-like toxin (SLT) Escherichia coli O157* dengan menggunakan PCR

Uji Genetik Shiga Like-Toxin II [SLT-II] dari *Escherichia coli O157*

Ekstraksi DNA *Escherichia coli O157*

Pada proses ekstraksi DNA *Escherichia coli O157* menggunakan reagen Roche Lot. 11762800. Untuk persiapan adalah menyalakan *water bath* pada suhu 37° C dan menginkubasi *Elution Buffer* pada suhu 70° C.

Langkah awal adalah meresuspensikan pellet dengan 200 µl PBS yang ditambahkan 5 µl *Lyzosime* (10 mg/ml dalam 10mM Tris HCl pH. 8) dan inkubasi dalam suhu 37° C selama 15 menit.

Pada langkah kedua ditambahkan 200 µl binding buffer dan 40 µl Proteinase K, dihomogenkan kemudian diinkubasi 70° C 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 100 µl alcohol absolute, vortex. Dipindahkan ke collection tube dan disentrifuge 8000 g 1 menit. Langkah selanjutnya diganti *collection tube* ditambah 500 µl *Inhibitor Remeval Buffer* dan disentrifuge 8000 g 1 menit. Diganti *collection tube* ditambah 500 µl *wash buffer* dan disentrifuge 8000 g 1 menit. Diganti *collection tube* ditambah 500 µl *wash buffer* dan disentrifuge 8000 g 1 menit. Diganti *tube* 1,5 ml dan disentrifuge 13.000 g 10 detik. Diganti *tube* ditambah 100 µl *Ellution buffer* (70°C) dan disentrifuge 13.000 g 2 menit. DNA murni yang didapatkan ditambah 1x TE buffer. Untuk menghindari terjadinya pengulangan *freezing* dan *thawing* dari DNA maka DNA murni disimpan pada suhu 4 °C dan di aliquot untuk penyimpanan dalam jangka waktu yang lama maka disimpan pada *freezer* dengan suhu -20°C.

Amplifikasi DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR menggunakan reagen PCR invitrogen Lot.11306016 dengan komposisi: 2,5 µl Buffer ditambah 2 µl DNTPs ditambah 2 µl Template DNA ditambah 0,1 µl Primer Forward (10pMol) ditambah 0,1 µl Primer Reversed (10pMol) ditambah 0,2 µl Enzim Taq High Fidelity ditambah DW sampai komposisi berjumlah 20 µl. Setelah penambahan enzim, tabung PCR dimasukkan ke dalam *thermocycler Eppendorf Mastercycler personal* atau PTC-100™ *Programable Thermal Controller MJ Research Inc.* Mesin diprogram dengan kondisi 95°C selama 5 menit dan 35 siklus dengan kondisi 94°C selama 1 menit, 50 °C selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit. Pada bagian akhir diinkubasikan pada suhu 72°C untuk memperoleh fragmen yang sempurna selama 5 menit. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah: SLT-IIa(F) 5-TTA ACC ACA CCC ACG GCA GT-3 dan SLT-IIb(R) 5-GCT CTG GAT GCA TCT CTG GT-3 dengan ukuran produk PCR 346 bp.

Elektroforesis Hasil PCR

Elektroforesis dengan agarose 2% Takara Cat.# 3401-3413A yang dibuat dengan cara menimbang 0,6 gr agarose lalu ditambah 30 ml TBE 1x lalu hangatkan. Tambahkan 5 µl Goldview. Pindahkan ke gel Try yang telah dipasang sisiran untuk membuat sumuran. Gel dimasukkan ke tangki elektroforesis. Tuangkan buffer TBE 1 X dan biarkan terendam. Hasil produk PCR 10 µl ditambahkan dengan 1 – 2 µL *loading dye (Blue/Orange Loading Dye)*, dan selanjutnya dielektroforesis pada gel agarose 2% yang telah diisi GoldView™ *Nucleic Acid Stain* 5 µl/ 30 ml agar bersama dengan *Marker* 100 bp DNA *Ladder* dengan tegangan 90V selama 45 menit. Visualisasi DNA dilakukan dengan Camera Digital FE-270 7,1 Megapixel.

Penelitian ini sudah mendapatkan kelaikan dari fakultas kedokteran UNUD

HASIL

Hasil Identifikasi *Escherichia coli O157*

Hasil identifikasi *Escherichia coli* yang menunjukkan hasil positif sebanyak 12 sampel, dilanjutkan dengan uji *singlepath* yang bertujuan untuk memastikan bahwa *Escherichia coli* tersebut adalah *serotype O157* berasal dari 31 daging babi yang diambil dari pasar tradisional dan modern yang tersebar di Kota Denpasar disajikan seperti pada Tabel-2 dibawah:

Tabel-2.Hasil isolasi *Escherichia coli O157* berasal dari daging babi

NO	KODE SAMPEL	<i>Escherichia coli O157</i>	KETERANGAN
1	Db4	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli O157</i>
2	Db7	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli O157</i>
3	Db10	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli O157</i>

4	Db13	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157
5	Db16	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157
6	Db18	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157
7	Db22	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157
8	Db28	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157
9	Db30	POSITIF (+)	<i>Escherichia coli</i> O157

Pada Tabel-2 di atas terlihat bahwa sebanyak 9 (29,03%) dari 12 sampel yang positif *Escherichia coli* merupakan serotipe *Escherichia coli* O157. Hasil yang positif *Escherichia coli* O157 tersebar di Kecamatan Denpasar Barat sebanyak 3 (9,68%); Kecamatan Denpasar Selatan sebanyak 2 (6,45%); Kecamatan Denpasar Timur sebanyak 2 (6,45%) dan Kecamatan Denpasar Utara sebanyak 2 (6,45%).

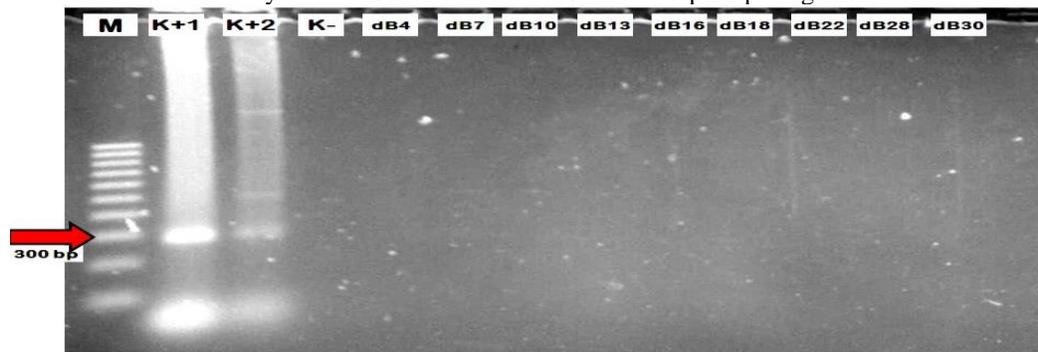
Salah satu strain *Escherichia coli* yang bersifat zoonosis adalah serotipe O157. Suatu studi epidemiologis menunjukkan bahwa *Escherichia coli* pada kotoran sapi, kambing, domba, babi, ayam, anjing dan kucing sering membawa *Shiga like toxin*.⁸ Isolasi *Escherichia coli* dari *rectal swab* pada sapi, babi dan kambing ditemukan *Escherichia coli* O157 paling banyak berasal dari ternak babi.¹³

Adanya cemaran *Escherichia coli* pada daging memberikan kontribusi yang sangat besar untuk ditemukannya *Escherichia coli*

enteropathogenic seperti *Escherichia coli* O157:H7. Cukup tingginya persentase kehadiran cemaran *Escherichia coli* khususnya *Escherichia coli* O157:H7 pada daging, mengindikasikan bahwa bahan makanan seperti daging perlu diwaspadai sebagai sumber penularan *Shiga-like toxin (SLT)*.¹¹

Hasil Isolasi Gen *Shiga-like Toxin II [SLT-II]* dari *Escherichia coli* O157

Hasil identifikasi *Escherichia coli* O157 yang menunjukkan hasil positif sebanyak 9 sampel, selanjutnya dilakukan pemeriksaan dengan metoda PCR menggunakan sepasang primer spesifik yaitu *SLT-IIa* dan *SLT-IIb* untuk identifikasi Gen *Shiga-Like Toxin II [SLT-II]* dari *E.coli* O157 dengan dilakukan tahapan-tahapan dimulai dari tahap ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR dan deteksi DNA dengan elektroforesis dengan gel agarose 2%. Hasil elektroforesis dibawah sinar UV *short wave* disajikan seperti pada gambar di bawah:



Keterangan:

- M = Marker
- K+1 = Kontrol positif 1
- K+2 = Kontrol positif 2
- K- = Kontrol negatif
- dB = Sampel Isolasi *Escherichia coli* O157

Gambar-1. Hasil elektroforesis produk PCR sampel *Escherichia coli* O157 yang diisolasi dari daging babi. Elektroforesis hasil PCR menunjukkan semua sampel tidak menampilkan pita yang diharapkan yaitu di atas 300 bp (346 bp) seperti yang tampak pada kontrol positif 1 dan kontrol positif 2 (*EHEC* O157:H7, RIMD 0509952).

Pada gambar-1 menunjukkan hasil elektroforesis produk PCR semua sampel dengan primer spesifik *SLT-IIa* dan *SLT-IIb* menunjukkan tidak tampak pita pada posisi seharusnya pada kisaran 346 bp yang artinya memberikan hasil yang negatif. Hal ini menunjukkan bahwa semua sampel isolat bakteri *Escherichia coli* O157 yang diisolasi dari <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
doi:10.24843.MU.2020.V9.i3.P018

sampel tidak ditemukan gen *Shiga-Like Toxin II [SLT-II]*

PEMBAHASAN

Salah satu strain *Escherichia coli* yang bersifat zoonosis adalah serotipe O157. Bakteri

Escherichia coli O157 sangat berhubungan dengan produksi *Shiga-like toxins* (*SLT*). *Shiga like-toxin* I dan II merupakan faktor virulensi utama dari *Escherichia coli* O157 yang berkaitan langsung dengan kejadian hemorrhagic colitis dan HUS, terutama karena interaksinya dengan sel endotel pada tempat infeksinya, termasuk pada bagian glomerulus dan arteri dari ginjal.¹⁴

Sekarang ini metode PCR dapat digunakan sebagai metode konfirmasi untuk mendeteksi *Escherichia coli* O157 dari berbagai specimen sampel seperti dari berbagai bahan makanan mentah dan sumber air. Pada beberapa metode pemeriksaan PCR untuk mendeteksi *Escherichia coli* O157, gen target yang sering dipakai adalah gen *SLT*. Deteksi gen *SLT* tidak hanya spesifik untuk *Escherichia coli* O157 tetapi juga dapat mendeteksi organisme lain yang memproduksi *SLT-I* dan atau *SLT-II* yang belakangan diketahui berhubungan dengan kejadian *haemolytic uremic syndrome* (HUS).¹⁵

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua isolat *Escherichia coli* O157:H7 dapat positif menghasilkan toksin *SLT-I* dan atau *SLT-II*. Penelitian oleh Suardana (2009)¹⁴ menyajikan bahwa 3 dari 7 isolat asal feses sapi, 3 dari 4 isolat asal daging sapi bersifat negatif baik terhadap *SLT-I* maupun *SLT-II*. Penelitian itu juga menunjukkan hanya 3 dari 7 isolat *Escherichia coli* O157:H7 asal feses sapi positif menghasilkan toksin *SLT-I* dan *SLT-II*, dan hanya 1 isolat yang menghasilkan 1 toksin *SLT-II* saja. Isolat *E.coli* O157:H7 asal daging sapi diketahui hanya 1 isolat yang diketahui positif menghasilkan toksin adalah *SLT-I*.¹⁵

Isolat *Escherichia coli* O157 yang tidak menghasilkan *SLT-II*, juga pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Guyon *et al.*, (2001)¹⁶ yang menemukan bahwa dengan teknik *RAPD* dan *PCR IS3* menemukan bahwa 2 dari 5 isolat *Escherichia coli* O157:H7 yang diisolasi negatif memproduksi toksin *SLT-II*. Avery *et al.*, (2002)¹⁷ dari 24 isolat yang diuji, 3 isolat bersifat negatif baik terhadap *SLT-I* maupun *SLT-II*. Foley *et al.*, (2004)¹⁸ menemukan bahwa tidak semua isolat *Escherichia coli* O157:H7 dapat menghasilkan kedua jenis *Shiga-like toksin*. Ada kalanya 1 isolat menghasilkan kedua-duanya (*SLT-I* dan *SLT-II*).

Penelitian lainnya oleh Pollard, *et al.*, (1990)¹⁹ menunjukkan dari 20 isolat *Escherichia coli* O157 yang dilakukan identifikasi gen *SLT-II* menggunakan metode amplifikasi dengan PCR, 5 diantaranya menunjukkan hasil yang negatif. 5 isolat tersebut adalah *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* O157:H10, *Escherichia coli* O157:H16, *Escherichia coli* O157:H42 dan *Escherichia coli* O157:H43. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua isolat

Escherichia coli O157:H7 selalu menunjukkan positif adanya gen *SLT-II* pada amplifikasi dengan PCR. Isolat *Escherichia coli* O157:H10, *Escherichia coli* O157:H16, *Escherichia coli* O157:H42 dan *Escherichia coli* O157:H43 memang tidak memiliki toksin *SLT-I* maupun *SLT-II*. Hal yang kemungkinan menjadi penyebab adalah DNA produk PCR hasil amplifikasi memberikan hasil yang masih lemah sehingga tidak terdeteksi di bawah sinar UV.

Deteksi adanya gen *SLT-II* dari isolat *Escherichia coli* O157 asal daging babi di Kota Denpasar menunjukkan bahwa semua isolat tidak ditemukan adanya gen *SLT-II*. Patogenitas bakteri *Escherichia coli* O157 sangat berhubungan dengan beberapa faktor virulensi yang dimiliki, termasuk memproduksi *Shiga-like toxins* (*SLT*). Strain *Escherichia coli* O157 dapat menghasilkan *SLT*. *Escherichia coli* mempunyai lebih dari 100 serotipe yang dapat memproduksi *SLT* telah diisolasi dari manusia, tetapi tidak semua serotipe ini menunjukkan dapat menyebabkan sakit.¹⁵

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan:

Semua sampel isolat bakteri *Escherichia coli* O157 yang diisolasi dari sampel tidak ditemukan gen *Shiga-Like Toxin II* [*SLT-II*] di Kota Denpasar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tim Protein IPB: Laporan Lokakarya Peranan Protein dalam Pembangunan Bangsa. 1982.
2. Departemen Pertanian: Direktur Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan. Kebijakan Penanggulangan Penyakit Zoonosis Berdasarkan Prioritas. Jakarta. 2005.
3. Dinas Peternakan Kota Denpasar: Bali Perdagangan Babi antar Pulau. Denpasar. 2008.
4. Berata I K, Winaya IB Oka, Suarjana, IGK, Suardana Kade I B: Pemberantasan Penyakit dan Vaksinasi HOG Cholera pada Ternak Babi di Desa Kelating Tabanan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. 2009.
5. Dinas Kesehatan Kota Denpasar: Laporan Program Kesehatan Lingkungan Pemukiman. Denpasar. 2010.
6. Sutrisno C.T, E. Suciastuti: Teknologi Penyediaan Air Bersih. Penerbit: P.T. Bina Aksara, Jakarta. 1987.
7. Haarcorryati A: Efektifitas Cahaya Matahari Tropis sebagai Bakterisida. Buletin Pusat Air. Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Wilayah. Agustus. 2002. No. 35 tahun IX.
8. Beutin L D, Geier H, Steinruck S, Zimmermann, Scheutz F: Prevalence and Some Properties of Verotoxin (*Shiga like toxin*)-Producing *Escherichia*

- coli in Seven Different Species of Healthy Domestic Animals. *J.Clin. Microbiol.* 1993. 31(9) : 2483-2488.
9. Brotman N, Giannella R. A, Alm P. F, Bauman H, Bennett A. R, Black R. E, Bruhn C. N, Cohen M. B, Gorbach S. L, Kaper J. B, Robert M. R., Staneck J. L, Taylor S, Troutt H. S, Bell B. P, Buchanan R. L, Durham K, Feng P, Tucker Foreman C, Galler R. G, Gravani R. B, Hall R. H, Hancock D. D, Hollingsworth J: Consensus Conference Statement. *Escherichia coli O157: H7 Infection-an Emerging National Health Crisis*, July 11-13, 1995. *Gastroenterology* 1995.108: 1923-1934.
 10. Sumiarto B: Tingkat Infeksi dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli O157:H7* pada Daging Domba di Rumah Potong Hewan Yogyakarta. *Jurnal Veteriner.* 2004.5 (3) : 85-90.
 11. Suardana W: Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli O157:H7* pada Daging Sapi di Kabupaten Badung Provinsi Bali. *Jurnal Vet.* 2007.
 12. Sartika R.A.D, Indrawani Y.M, Sudiarti T: Analisis Mikrobiologi *Escherichia coli O157:H7* Pada Hasil Olahan Hewan Sapi dalam Proses Produksinya. Departemen Gizi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Indonesia. 2005.
 13. Drastini. Y, Budiharta. S, Widyaasmara: Isolasi *Escherichia coli* pembawa gen VT1 dan SLT-II dari Sapi, Babi dan Domba atau Kambing. Departemen mikrobiologi Fakultas kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. *J. Sain Vet.* 2007. Vol 20(2).
 14. Suardana W, Erawan IGMK, Sumiarto B, Lukman DW: Deteksi Produksi Toksin Stx-1 dan Stx-2 dari *Escherichia coli O157:H7* Isolat Lokal Hasil Isolasi Feses dan Daging Sapi. *Jurnal Veteriner Desember.* 2009. Vol. 10 No. 4 : 189-93
 15. Meng J, Zhao S, M.P. Doyle, Mitchell SE, Kresovich S: A multiplex PCR for Identifying Shiga-like toxin-Producing *Escherichia coli O157:H7*. *Letters in Applied Microbiology* . 1997. 24;P. 172-6
 16. Guyon R, Dorey F, Malas JP, Leclercq A: Hazard Analysis of *Escherichia coli O157:H7* Contamination during Beef Slaughtering in Calvados, France. *Journal of Food Protection.* 2001. 64(9): 1341-1345.
 17. Avery SM, Small A, Reid CA, Buncic S: Pulsed Field Gel Electrophoresis Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli O157* from Hides of Cattle at Slaughter. *Research Note. Journal of Food Protection.* 2002. 65(7): 1172-1176.
 18. Foley SL, Simjee S, Meng J, White DG, McDermott PF, Zhao S: Evaluation of Molecular Typing Methods for *Escherichia coli O157:H7* Isolates from Cattle, Food and Humans. *Journal of Food Protection.* 2004. 67(4): 651-657.
 19. Pollard DR, Johnson WM, Lior H, Tyler SD, Rozee KR: Rapid And Specific Detection Of Verotoxin Genes In *Escherichia coli* By The Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol.* 1990. 28(3):P.540-5.