

***Escherichia coli* Verotoksigenik (VTEC) yang Diisolasi dari Susu Sapi**

WIDODO SUWITO

Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta
Jl. Rajawali No 28 Demangan Baru, Yogyakarta 55281 Yogyakarta

(Diterima dewan redaksi 12 Juli 2009)

ABSTRACT

Suwito, W. 2009. Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) isolated from cow milk. *JITV* 14(3): 237-243.

Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) strains are responsible for serious human illnesses. These strains are commonly found in milk. The aim of this study was to determine the occurrence of verotoxigenic *E. coli* in milk. A total of 351 milk samples, were collected from dairy farms in Bogor, Sukabumi and Cianjur. These samples were analyzed for VTEC using biochemical, serological and vero cell cytotoxicity assays. VTEC O157:H7 isolates were found in milk collected from dairy herds in Bogor and Sukabumi at rates 0.47% of 214 samples, 1.10% of 91 samples respectively, and none in Cianjur. Hemolytic *E. coli* isolates were found in 0.94% of 214 milk samples from Bogor, 2.2% of 91 milk samples from Sukabumi and none from Cianjur. From *E. coli* isolates, 53 isolates (67.95%) were verotoxigenic, consisted of: two *E. coli* O157:H7 isolates and 51 non O157:H7 isolates. Therefore this study showed the occurrence of VTEC in milk samples from dairy farms in Bogor, Sukabumi and Cianjur.

Key words: Milk, *E. coli* (VTEC) O157:H7, Verotoxigenic

ABSTRAK

Suwito, W. 2009. *Escherichia coli* verotoksigenik (VTEC) yang diisolasi dari susu sapi. *JITV* 14(3): 237-243.

E. coli verotoksigenik (VTEC) merupakan salah satu strain yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia. Strain tersebut biasanya terdapat pada susu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kejadian *E. coli* verotoksigenik di dalam susu. Telah dikumpulkan sebanyak 351 sampel susu dari peternakan di Kabupaten Bogor, Sukabumi dan Cianjur. Sampel dianalisa ke arah VTEC dengan reaksi biokimia, serologi dan untuk menentukan sifat verotoksigenitasnya menggunakan sel Vero. Verotoksigenik *E. coli* (VTEC) O157:H7 dapat diisolasi dari susu di Kabupaten Bogor sebanyak 0,47% dari 214 sampel, Sukabumi 1,10% dari 91 sampel sedangkan dari Cianjur tidak ditemukan. *E. coli* hemolitik dapat diisolasi dari susu di kabupaten Bogor sebanyak 0,94% dari 214 sampel, Sukabumi 2,20% dari 91 sampel sedangkan dari Cianjur tidak ditemukan. Dari 78 isolat *E. coli*, 53 isolat (67,95%) bersifat verotoksigenik yang terdiri dari dua isolate *E. coli* O157:H7 dan 51 isolat non O157:H7. Dari penelitian ini menunjukkan bahwa *E. coli* verotoksigenik terdapat pada sampel susu dari peternakan di Kabupaten Bogor, Sukabumi dan Cianjur.

Kata Kunci: Susu, *E. coli* (VTEC) O157:H7, verotoksigenik

PENDAHULUAN

Susu yang mempunyai nilai gizi baik diperoleh dari hewan yang sehat, diperah dengan cara yang benar dan ditangani secara higienis sehingga konsumen merasa aman. *E. coli* verotoksigenik (VTEC) merupakan *strain* yang bersifat patogenik berasal dari feses sapi yang dapat mencemari susu sehingga menjadi tidak aman untuk dikonsumsi. Kontaminasi susu oleh VTEC merupakan masalah kesehatan masyarakat yang perlu diperhatikan, karena dapat menurunkan keamanan susu sehingga menimbulkan gangguan kesehatan seperti *hemorrhagic colitis* (HC), *hemolytic uremic syndrome* (HUS) dan *thrombocytopenia purpura* (TPP) (AAPHV, 2000; CHINYU dan BRANDT, 1995). Oleh karena itu, salah satu syarat susu yang aman untuk dikonsumsi adalah batas kontaminasi *E. coli* patogen harus nol (BSN, 2000).

E. coli termasuk dalam Famili: *Enterobacteriaceae*, Genus: *Escherichia*, bersifat aerob, berbentuk batang, biasanya mempunyai flagella untuk alat gerak dan termasuk kelompok Gram negatif. *E. coli* pertama kali ditemukan oleh Theobold Escherich pada tahun 1885 (COWAN, 1984). Sebagian besar dari *E. coli* berada dalam saluran pencernaan hewan dan manusia merupakan flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia dan hewan. *E. coli* dikeluarkan dari saluran pencernaan melalui feses dan mengandung 10^8 - 10^9 *E. coli*/gram (BETTELHEIM, 2000).

Berdasarkan mekanisme infeksi di dalam menimbulkan penyakit *E. coli* dibagi menjadi 5 kelompok yaitu: *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterocgregative E. coli* (EaggEC) dan *Enteroinvasive E. coli* (EIEC) (NATARO dan KAPER,

1998). *E. coli* O157:H7 termasuk kelompok EHEC yang pada manusia dapat menimbulkan penyakit *hemorrhagic colitis* yang bersifat verotoksigenik. Sedangkan *E. coli* non O157:H7 bersifat hemolitik dan verotoksigenik memiliki faktor virulensi intimin yang berperan dalam *attaching* dan *effacing* dan memproduksi hemolisin sehingga menimbulkan diare berdarah. *Attaching* dan *effacing* merupakan faktor yang penting dalam mekanisme infeksi dari oleh kelompok EPEC (NATARO dan KAPER, 1998).

Sedangkan VTEC merupakan kelompok EPEC yang dalam mekanisme infeksi terdapat dua faktor penting yaitu *attaching* dan *effacing*. Sedangkan VTEC merupakan kelompok *E. coli* yang menghasilkan verotoksin atau *shiga like toxin*. *E. coli* memiliki beberapa antigen yang berperan dalam patogenesis suatu penyakit. Antigen tersebut antara lain: antigen somatik, flagella, kapsular, fimbriae, enterotoksin dan verotoksin.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan uji toksisitas *E. coli* yang diperoleh dari sejumlah susu segar asal kabupaten Bogor, Sukabumi dan Cianjur dengan reaksi biokimia dan serologik, sedangkan untuk menentukan toksisitasnya menggunakan sel Vero *monolayer*.

MATERI DAN METODE

E. coli acuan

Bakteri acuan VTEC O157:H7 (ATCC 43894), *E. coli* O157:K88 (BCC.B 2431) untuk kontrol positif dan *E. coli* K12K99- (*Institute of Medical and Veterinary Science Adelaide, Australia*) untuk kontrol negatif dalam uji sitotoksitas sel Vero.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan di dalam penelitian ini adalah susu segar yang diperoleh dari peternak dan penggumpul di kabupaten Bogor, Sukabumi dan Cianjur. Sampel susu sebanyak kurang lebih 100 ml diambil pada saat pemerahan pagi hari kemudian dimasukkan dalam plastik steril, dan dimasukkan *ice box* untuk dibawa ke laboratorium dan langsung dilakukan isolasi dan identifikasi.

Isolasi dan identifikasi *E. coli*

Isolasi dan identifikasi *E. coli* O157:H7 mengikuti petunjuk (ROBERT *et al.*, 1995) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 25 ml sampel susu dicampur dengan 225 ml larutan *Modifikasi Tryptic Soy Broth* (MTSB) (1:10) (Merck) kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Subkultur pada *Cefixime tellurite Sorbitol MacConkey Agar* (CT-SMAC)

(Oxoid) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tampak *colourless* dengan tengah kehitaman dilakukan pewarnaan Gram, selanjutnya koloni tersebut diuji biokimia, serologis dan toksisitasnya terhadap sel Vero *monolayer*.

Isolasi dan identifikasi *E. coli* non O157:H7 mengikuti petunjuk (Food and Drug Administration, 1998) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 25 ml sampel susu dicampur dengan 225 ml larutan *Brain Heart Infusion* (Oxoid) diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Subkultur dilakukan pada media *MacConkey Agar* (Oxoid), *Eosin Methylene Blue Agar* (Oxoid) dan *Blood Agar* (Oxoid) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni akan menunjukkan laktosa fermentasi atau berwarna pink berkabut pada media *MacConkey Agar* (Oxoid), hijau metalik pada *Eosin Methylene Blue Agar* (Oxoid) dan *E. coli* bersifat hemolitik apabila terlihat terlihat zona terang di sekeliling koloni tersebut pada media *Blood Agar* (Oxoid). Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram, uji biokimia dan toksisitasnya terhadap sel Vero *monolayer*.

Sebanyak lima koloni dipilih yang presumtif *E. coli* O157:H7, laktosa fermentasi atau berwarna pink berkabut pada media *MacConkey Agar* (Oxoid), hijau metalik pada *Eosin Methylene Blue Agar* (Oxoid) dan bersifat hemolitik. Tiap koloni ditanam dalam *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Oxoid) dan *Trypton semisolid* (Oxoid), kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Bila diinkubasi media TSIA berubah menjadi pecah dengan sisi tegak dan miring berwarna kuning disertai terbentuknya gas maka bakteri tersebut bersifat laktosa fermentasi. Bakteri bersifat motil apabila dipermukaan dari *Trypton semisolid* yang diinokulasi dengan *Ose* jarum ke dasar tabung menunjukkan perubahan pada permukaan media tampak keruh. Bakteri yang memiliki sifat laktosa fermentasi dan motil dilakukan uji indol, urea dan sitrat.

Uji indol dilakukan dengan meneteskan sebanyak 2 tetes *Kovac Reagent* (Merck) pada *Trypton semisolid*. Apabila pada permukaan *Trypton semisolid* terbentuk cincin yang berwarna pink maka reaksi indol positif dan dilakukan uji urea dan sitrat.

Uji sitrat dan urea dilakukan dengan menanam bakteri dari media TSIA pada media *Simon Sitrat Agar* (Oxoid) dan *Urea Agar* (Oxoid) kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Apabila setelah inkubasi warna media *Simon Sitrat Agar* dan *Urea Agar* tidak berubah atau bersifat negatif maka isolat tersebut termasuk *E. coli*.

Pembuatan antiserum O157 (Supar, 1996; Sojka, 1965)

Kelinci diinjeksi dengan antigen mati *E. coli* O157:H7 (ATCC 43894) secara I.M dosis bertingkat

0,25 ml; 0,5 ml; 1,5 ml dan 2 ml. Serum yang diperoleh dari kelinci yang disuntik dengan antigen *E. coli* O157:H7 (ATCC 43894) yang dipanaskan (antigen O157) diuji dengan antigen *whole cell* yang homolog dan heterolog dipanaskan akan bersifat aglutinasi positif. Kemudian untuk menghilangkan antibodi yang non spesifik, antiserum tersebut diabsorb dengan antigen somatik *E. coli* non O157 (heterolog) seperti : O8, O9, O20, O64, O101, O138 dan O149. *E. coli* yang dipakai untuk absorpsi ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar Plate* (Oxoid) dalam botol *Roux* dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Suspensi sel yang diperoleh dimatikan dengan formalin 0,1%, setelah itu disentrifus pada 3500 rpm selama 30 menit dan pellet dicuci 3 kali dengan NaCl fisiologis. Setiap campuran sel dari 3 botol *Roux* dimasukan 5 ml antiserum O157 yang akan diabsorpsi, dikocok dengan *vortex mixer* selama 5 menit, kemudian disimpan dalam lemari es (4°C) selama 24 jam. Campuran antiserum dan sel yang dipakai untuk mengabsorpsi disentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit. Supernatan (antiserum O157) diuji dengan antigen somatik O heterolog sampai menimbulkan reaksi aglutinasi negatif. Bila masih bereaksi aglutinasi positif, diabsorpsi lagi sampai diperoleh reaksi negatif terhadap antigen yang heterolog dan hanya positif aglutinasi dengan antigen yang homolog. Reaksi positif apabila terjadi aglutinasi antara antigen dengan antiserum. *E. coli* yang akan di *O-serotyping* diperbanyak dalam media *Nutrient Agar Plate* (Oxoid) kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Dengan *Ose* steril, *E. coli* dipanen dan dimasukan dalam 5 ml NaCl fisiologis selanjutnya di *autoclave* pada suhu 121°C selama 1 jam. Dua puluh mikroliter antigen tersebut dicampur dengan 20 µl antiserum spesifik O157. Bila terjadi aglutinasi dalam waktu 1-3 menit, menunjukkan serotipe yang sama dengan serotipe yang dipakai untuk produksi antiserum.

Pembuatan antiserum H7 (Supar, 1996; Sojka, 1965)

Antiserum H7 diperoleh dari kelinci yang disuntik dengan antigen *E. coli* O157:H7 (ATCC 43894) secara I.M dosis bertingkat 0,25 ml, 0,5 ml, 1,5 ml dan 2 ml. Untuk memperoleh antiserum spesifik H7, maka antiserum O157:H7 diabsorpsi dengan antigen *whole cell E. coli* O157:H7 yang dipanaskan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 2 jam. Dalam proses absorpsi tersebut antibodi O157 diikat oleh antigen O157 yang dipanaskan, antibodi yang tersisa dari proses absorpsi tersebut adalah antibodi H7. Cara absorpsi untuk mendapatkan antiserum H7 monospesifik seperti pada proses absorpsi untuk mendapatkan antiserum O157 monospesifik, yang berbeda hanya cara menyiapkan antigen untuk absorpsi. *E. coli* yang akan di *H-serotyping* diperbanyak dalam media *Nutrient Agar*

Plate (Oxoid) kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Dengan *Ose* steril diambil biakan *E. coli* dari *Nutrient Agar Plate* (Oxoid) kemudian ditambahkan 20 µl aquades steril di dalam obyek glass dan dicampur dengan 20 µl antiserum spesifik H7. Bila terjadi agglutinasasi dalam waktu 1-3 menit, menunjukkan serotipe yang sama dengan yang dipakai untuk produksi antiserum.

Uji Sifat Verotoksigenitas Isolat *E. coli*

E. coli terpilih ditumbuhkan dalam 10 ml *Brain Heart Infusion* (Oxoid) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dikocok dengan kecepatan 100 rpm. Sesudah inkubasi, kultur disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Sebanyak 2-4 ml supernatan dipisahkan dan disterilkan menggunakan filter ukuran 0,45 µm (PolyLabo, Molsheim, France). Supernatan yang sudah disterilkan disimpan pada suhu -20°C sampai saatnya diuji pada sel Vero satu lapis (*monolayer*). Sel Vero yang digunakan dalam uji ini diperoleh dari bagian kultur jaringan Virologi Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor.

Uji Supernatan *E. coli* dalam Sel Vero *Monolayer*

Uji *sitotoksitas* dari supernatan *E. coli* menggunakan metode (PRADEL *et al.*, 2000). Galur acuan yang digunakan terdiri dari *E. coli* O157:H7 (ATCC 43894), sebagai kontrol positif. *E. coli* Compt K12K99 (*Institute of Medical and Veterinary Science Adelaide, Australia*) dan sel Vero yang tidak diinokulasi sebagai kontrol negatif. Sebelum diinokulasi, medium penumbuh sel Vero diganti dengan medium yang mengandung *Fetal Bovine Serum* 2% (JRH Biosciences 12103 ACSL Company). Supernatan yang sudah disiapkan diencerkan dalam 96 well mikrotiter plate dasar rata yang berisi 100 µl *Dulbecco Minimal Essential Medium* (Sigma-aldrich, Milano, Italy) dan diencerkan secara serial dengan faktor pengenceran dua. Sebanyak 50 µl tiap-tiap enceran supernatan *E. coli* ditambahkan ke dalam sel Vero satu lapis *monolayer* dalam 96 well *microtiter plate*. Inkubasi pada 37°C, 5% CO₂ selama 48 jam dan sel dicuci dengan *deionized* PBS atau yang tidak mengandung ion Ca²⁺ dan Mg²⁺. Kemudian diwarnai menggunakan Gimsa dan kristal violet (1,3% kristal violet dalam etanol) 5% dan PBS. Titer toksin ditentukan berdasarkan hasil pengamatan pada enceran tertinggi supernatan yang diujikan yang menimbulkan perubahan morfologi pada sel Vero.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 351 sampel susu dikumpulkan dari peternak dan pengumpul susu di Kabupaten Bogor,

Sukabumi, Cianjur dan diisolasi terhadap *E. coli* O157:H7, hemolitik dan non O157:H7 (Tabel 1).

Hasil pemeriksaan sampel susu (Tabel 1) masih terdapat kontaminasi *E. coli*. Isolat *E. coli* yang diperoleh sebanyak 78 isolat, yaitu 52 isolat dari Kabupaten Bogor, 19 isolat dari Kabupaten Sukabumi dan 7 isolat dari Kabupaten Cianjur. Pengambilan sampel dilakukan terhadap semua sapi yang sedang laktasi dan dilakukan pada sapi yang tidak menunjukkan gejala sakit diare, karena pada sapi yang diare dapat dilakukan isolasi terhadap VTEC. Strain VTEC yang bersifat alfa hemolitik banyak diisolasi dari anak sapi penderita diare berdarah di Bogor, Sukabumi dan Bandung (KUSMIYATI dan SUPAR, 1998).

Dari peternakan di Bogor dapat diisolasi 1 isolat *E. coli* O157:H7, 49 isolat *E. coli* non O157:H7 dan 2 isolat *E. coli* hemolitik dari 214 sampel susu. Dari peternakan di Sukabumi dapat diisolasi 1 isolat *E. coli* O157:H7, 16 isolat *E. coli* non O157:H7 dan 2 isolat *E. coli* hemolitik dari 78 sampel susu dan dari peternakan Cianjur dapat diisolasi 7 isolat *E. coli* non O157:H7 dari 46 sampel susu.

Kondisi sanitasi pemerahan dan penampungan susu menentukan tingkat kontaminasi. Salah satu contohnya seperti kebersihan kandang, ternak sebelum diperah dan

pemakaian antiseptik untuk mencuci ambung. Tersedianya *milk can* serta ember khusus sebagai tempat penampung pada saat diperah akan juga dapat mempengaruhi tingkat kontaminasi susu. Karena ember yang digunakan secara bersamaan untuk menampung susu dan memandikan ternak sangat besar terjadinya kontaminasi. Faktor musim dan waktu isolasi mungkin mempengaruhi hasil isolasi *E. coli* O157:H7, akan tetapi pengaruh ini tidak diketahui secara pasti.

Pada saat pengambilan sampel di kawasan peternakan sapi perah tersebut dilakukan pada bulan Juli sampai September dan bulan tersebut musim kemarau. Pada saat tersebut peternak yang menggandakan air sungai tidak dapat melakukan pembersihan kandang dan ternak. Pada musim kemarau peternak yang menggunakan sumur sebagai salah satu sumber air dapat melakukan pembersihan kandang dan ternak. BYRNE *et al.*, (2000) menganjurkan ternak yang dibersihkan sebelum diperah dan disembelih dapat mengurangi terjadinya kontaminasi *E. coli* terutama serotipe O157:H7 pada susu atau daging.

Penelitian serupa yang dilakukan di Swedia dilaporkan bahwa selama musim panas dan awal musim gugur lebih banyak diisolasi dibandingkan dengan musim yang lainnya (ALBIHIN *et al.*, 2003).

Tabel 1. Hasil isolasi dan identifikasi *E. coli* dari susu

Kabupaten	Waktu Pengambilan Sampel	Lokasi Pengambilan Sampel	Jumlah sampel	Jumlah <i>E. coli</i>			Jumlah isolat
				O157:H7	Hemolitik	Non O157:H7	
Bogor	8/7-7/10 / 04	Peternak	114	1	1	13	15
	8/10 /04	Penggumpul	100	-	1	36	37
Jumlah			214	1 (0,47%)	2 (0,94%)	49 (22,90%)	52
Sukabumi	29/11-1/12/04	Peternak	50	1	-	8	9
	1/12/04	Penggumpul	41	-	2	8	10
Jumlah			91	1 (1,10%)	2 (2,20%)	16 (17,58%)	19
Cianjur	6-7 / 12 / 04	Peternak	30	-	-	2	2
	8 / 12 / 04	Penggumpul	16	-	-	5	5
Jumlah			46	-	-	7 (15,22%)	7
Jumlah keseluruhan			351	2 (0,57%)	4 (1,14%)	72 (20,51%)	78

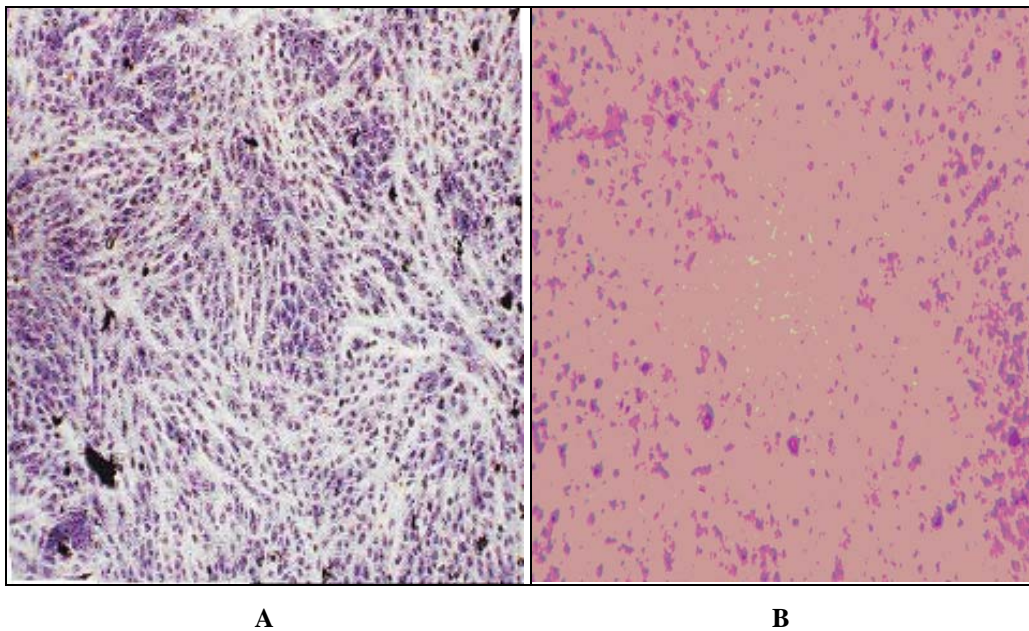
Sedangkan HEUVELINK *et al.* (1998) menyatakan kejadian VTEC O157:H7 pada susu kurang dari 0,3% dengan prevalensinya 0-10%. Sifat-sifat yang berhubungan dengan kejadian *E. coli* O157:H7 di dalam susu dapat disebabkan karena bakteri tersebut dikeluarkan dari saluran pencernaan sedikit sekali bila dibandingkan dengan *E. coli* yang lain sehingga prevalensi dalam produk ternak sangat sedikit (WASTESON, 2001).

E. coli hemolitik patogen, menghasilkan faktor virulensi hemolisin yang dapat menghemolisis sel darah merah mamalia. *E. coli* yang bersifat hemolitik dapat di isolasi dari 4 sampel. *E. coli* hemolitik dalam menimbulkan infeksi terdapat 2 faktor virulensi yang penting yaitu intimin dan enterohemolisin. Intimin berperan dalam *attaching* dan *effacing* pada mukosa usus dan enterohemolisin berperan dalam terjadinya lesi pada permukaan usus sehingga terjadi diare berdarah. Produksi enterohemolisin ada 2 macam yaitu α -

hemolisin dan β -hemolisin. α -hemolisin diproduksi pada saat bakteri sedang tumbuh, sedangkan β -hemolisin dilepaskan bakteri pada saat fase degradasi dan kematian (MAINILL, 1999).

Dari satu sampel kadang-kadang dapat diisolasi satu isolat *E. coli*, tetapi dapat juga diisolasi lebih dari satu isolat *E. coli*. Hal ini terjadi dari sampel yang diperoleh dari peternakan dengan kondisi sanitasi kotor. Kondisi sanitasi yang kotor akan mempengaruhi terhadap kualitas susu terutama dari segi mikrobiologi. Supernatan dari 78 isolat *E. coli* diuji toksisitasnya pada sel Vero, 53 diantaranya menunjukkan adanya perubahan morfologi pada sel Vero menjadi keriput, mengecil bila (Gambar 1b) dibandingkan dengan sel Vero yang tidak diinfeksi (Gambar 1).

Pada Gambar 1b sel Vero tampak keriput, mengecil dan mati (16x10).



Gambar 1. Reaksi Sel Vero Terhadap Supernatan *E. coli* dengan pewarnaan Giemsa

Tabel 2. Hasil uji toksisitas *E. coli* terhadap sel vero

Lokasi	Jumlah isolat	VTEC		Non VTEC
		O157:H7	non O157:H7	
Bogor	52	1	30	21
Sukabumi	19	1	14	4
Cianjur	7	-	7	-
Jumlah	78	2	51	25

Isolat dengan enceran supernatan paling tinggi adalah *E. coli* O157:H7 (2 isolat), *E. coli* hemolitik (3 isolat) *E. coli* non O157:H7 (1 isolat). PRADEL *et al.* (2000) menyatakan enceran supernatan < 1:2 *E. coli* tidak verotoksigenik, enceran 1:4-1:32 termasuk sedang dan enceran > 1:64 sangat toksik. Berdasarkan kriteria tersebut, dari (Tabel 2) terdapat 53 isolat *E. coli* yang bersifat verotoksigenik dan 25 isolat non verotoksigenik.

Untuk menghindari terjadinya infeksi VTEC pada manusia karena minum susu dapat dilakukan dengan

mengonsumsi susu yang telah dipanaskan atau dipasteurisasi. Kejadian *milk borne disease* oleh VTEC di beberapa negara di Eropa dilaporkan karena mengonsumsi susu mentah (CHAPMAN, 1993). Mengonsumsi susu yang telah dipanaskan atau pasteurisasi dapat mengurangi resiko terjadinya infeksi VTEC pada manusia (MCKEE *et al.*, 2003). Infeksi VTEC menghasilkan toksin yang disebut verotoksin. Verotoksin merupakan toksin yang bersifat tidak tahan panas atau *heat labile toxin* dan menyebabkan terjadinya diare pada manusia. Sifat dari verotoksin antara lain inaktif pada suhu 70°C selama 2 menit (BENKERROUM *et al.*, 2004). Beberapa anjuran dari CDC (2001) untuk menghindari infeksi VTEC pada manusia antara lain: mengonsumsi susu yang telah direbus atau dipasteurisasi, menjaga kebersihan dari proses pemerahan susu, pengolahan sampai penjualan, menjaga kebersihan peralatan dalam pemerahan dan pengolahan susu dan melakukan cuci tangan sebelum dan sesudah menangani susu.

KESIMPULAN

Susu dari peternakan Kabupaten Bogor, Sukabumi dan Cianjur terkontaminasi VTEC dengan serotipe O157:H7 dan non O157:H7. Selain kedua serotipe tersebut juga terdapat *E. coli* hemolitik. Susu segar yang diperoleh dari peternakan sebelum dikonsumsi harus direbus sampai mendidih dan pasteurisasi merupakan salah satu tindakan untuk mematikan VTEC.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh APBN tahun 2004. Ucapan terima kasih disampaikan kepada teknisi Bagian Bakteriologi di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor yang telah membantu selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

ALBIHIN, A., E. ERIKSSON, C. WALLEN and A. ASPEN. 2003. Verotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC) O157:H7 a Nationwide Swedish survey of bovine faeces. *Acta Vet. Scand.* 44: 43-52.

BADAN STANDARISASI NASIONAL. [BSN]. 2000. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan. SNI 01-6366-2000.

BETTELHEIM, K.A. 2000. Role of non O157 VTEC. *J. Appl. Symp. Microbiol. Suppl.* 88: 38-50.

BYRNE, CM, D.J. BOLTON, J.J. SHERIDAN, D.A. MCDOWELL and I.S. BLAIR. 2000. The effects of preslaughter washing on the reduction of *Escherichia coli* O157:H7

transfer from cattle hides to carcasses during slaughter. *Letter Appl. Microbiol.* 30: 142-145.

BENKERROUM, N, Y. BOUHLAL, A. ELATTAR and A. MARHABEN. 2004. Occurrence of shiga toxin producing *Escherichia coli* O157 in selected dairy and meat products marketed in the city of Rabat, Marocco. *J Food. Prot.* 67: 1234-1237

COWAN, S.T. 1984. Manual for the Identification of Medical Bacteria. The 2nd Ed. Cambridge University Press. pp. 238.

CHAPMAN PA. 1993. Untreated milk as a source of verotoxinogenic *E. coli* O157. *Vet. Rec.* 12(14):171-172.

CHINYU, S.U. and L.J. BRANDT. 1995. Review *E. coli* O157:H7 infection in humans. *Annals Int. Med.* 123: 698-707.

[CDC]. CENTER OF DISEASE CONTROL and PREVENTION. 2001. Communicable disease management protocol verotoxinogenic *E. coli* (VTEC) infection. *Communicab. Disease Control Unit* (1): 1-5.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. [FDA]. Bacteriological Analytical Manual, 16th Edition 1998, Chapter 17. AOAC International. Arlington Va. p.: 15.

HEUVELINK, B. BLEUMINK, F.L.A. BIGGELLAAR, M.C. GIFFELL, R. BEUMER and E. BOER. 1998. Occurrence and survival of verocytotoxin producing *E. coli* O157 in raw cow's milk in the Netherland. *J. Food Prot.* 61: 1597-1601.

KUSMIYATI dan SUPAR. 1998. *E. coli* verotoksigenik dari anak sapi perah penderita diare. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian Veteriner. Bogor, 18-19 Pebruari 1998. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 103-108.

MAINILL, J. 1999. Shiga/verocytotoxins and Shiga/verotoxinogenic *Escherichia coli* in animals. *Vet. Res.* 30: 235-257.

MCKEE, R, R.H. MADDEN and A. GILMOUR. 2003. Occurrence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* in dairy and meat processing environments. *J. Food. Prot.* 66: 1576-1580.

NATARO, J.P. and J.B. KAPER. 1998. Diarrhegenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1: 15-38.

PRADEL, N., V. LIVRELLI, C. CHAMPS, J.B. PALCOUX, A. REYNAUD, F SCHEUTZ, J. SIROT, B. JOLY and C. FORESTIER. 2000. Prevalence and characterization of shiga toxin-producing *E. coli* isolated from cattle, food, and children during a one year prospective study in France. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1023-1031.

ROBERT, D., W. HOOPER and M. GREENWOOD. 1995. Practical Food Microbiology. Public Health Laboratory Service, London, United Kingdom.

SOJKA, W.J. 1965. *Escherichia coli* in domestic animal and poultry. Common wealth Agricultural Bureau of Animal Health. Weybridge, Ed. rev. series no 7: 205-212.

SUPAR. 1996. Deteksi gen pengendali sintesis antigen perlengkapan K88, K99 dan esterotoksin pada

SUWITO. *Escherichia coli* verotoksigenik (VTEC) yang diisolasi dari susu sapi

Escherichia coli yang diisolasi dari anak babi dan anak sapi penderita diare di Indonesia. *JITV* 2: 60-65.

WASTESON, B.Y. 2001. Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta Vet. Scand Suppl.* 95: 79-84.