

EPIDEMIOLOGI *VEROCYTOTOXIGENIC Escherichia coli* (VTEC) PADA SAPI PERAH DI PROPINSI JAWA TENGAH DAN DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA: KAJIAN TINGKAT TERNAK

EPIDEMIOLOGY OF *VEROCYTOTOXIGENIC Escherichia coli* (VTEC) OF DAIRY CATTLE IN CENTRAL JAVA AND YOGYAKARTA SPECIAL TERRITORY: THE STUDY OF ANIMAL LEVEL

Oleh:

Bambang Sumiarto

Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II,
Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah memberikan gambaran epidemiologi infeksi *Verocytotoxigenic Escherichia coli* (VTEC) pada tingkat ternak sapi perah di Propinsi Jawa Tengah (Jateng) dan Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY). Seribu lima ratus sembilan ekor sapi perah, yang diperoleh melalui sampling empat tahapan dari 10 kabupaten/kota padat sapi perah rakyat, digunakan sebagai sampel penelitian. Faktor-faktor risiko ternak diperoleh melalui pengamatan langsung ternak dan wawancara dengan pemilik. Status infeksi ditentukan dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) atas isolat *Escherichia (E) coli* sampel tinja menggunakan antibodi monoklonal terhadap isolat lokal *E. coli* dari sapi perah yang memiliki gen verotoksin (VT)1 dan VT2. Analisis *logistic regression* digunakan untuk menentukan model penyakit pada ternak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi VTEC di Propinsi Jateng dan DIY pada tingkat ternak adalah 27,4%. Berdasarkan distribusi geografi dan prevalensi penyakit, terdapat perbedaan bermakna prevalensi VTEC pada distribusi geografi ($p = 0,033$) di Propinsi Jateng dan DIY. Prevalensi VTEC tertinggi adalah Kabupaten Temanggung (37,5%), diikuti Kabupaten Magelang (37,0%), Kabupaten Banyumas (32,6%), dan Kabupaten Boyolali (29,8%), sedangkan Kota Semarang menunjukkan prevalensi VTEC terendah (10,9%) dibanding dengan kabupaten yang lain. Model infeksi VTEC pada sapi perah menunjukkan bahwa faktor risiko yang berpengaruh adalah kebersihan (1,16914, OR = 3,22, dan $p = 0,0000$), dengan sensitivitas model 93,2% dan spesifisitas 96,3%.

Kata kunci: VTEC, analisis *logistic regression*, dan model penyakit

ABSTRACT

The ultimate goal of the current research is to describe the epidemiological patterns of VTEC infection in dairy cattle in Central Java Province and Yogyakarta Special Territory. A total number of 1509 dairy cattle were sampled by a four stage sampling procedure in 10 dairy cattle densely populated areas. A number of putative risk factors at animal level were obtained by directly observation and face to face interview in the study farms. Infection status of animals sampled was determined by faecal sample-isolated *E. coli* tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) procedure. Monoclonal antibody used in the assay was produced against local isolates of *E. coli* from dairy cattle proven as having VT1 and VT2 genes. Model building of the VTEC infection were constructed using logistic linear regression procedures to create a predictive model of the VTEC infection at the animal level. The result of research showed that VTEC prevalence in Central Java Province and Yogyakarta Special Territory at the animal level was 27.4%. With regard to geographical distribution and disease prevalence, there was a significant difference between geographical distribution and VTEC prevalence ($p = 0,033$) in Central Java Province and Yogyakarta Special Territory. The highest VTEC prevalence in the study provinces was in Temanggung district (37,5%) followed by districts of Magelang (37.0%), Banyumas (32.6%) and Boyolali (29.8%). Semarang indicated to have the lowest VTEC prevalence (10.9%) among the study districts. The results of the predictive model building of VTEC infection in dairy cattle identified one risk factors, namely level of cleanliness ($p = 0.0000$; OR = 3.22 ; 1.16914). The accuracy of the model is high with a sensitivity of 93.2% and a specificity of 96,3%.

Key words: VTEC, logistic regression procedures, and disease model

PENDAHULUAN

Makanan, terutama yang berasal dari hewan, merupakan sumber infeksi VTEC pada manusia. Infeksi VTEC pada manusia sering kali disebabkan oleh konsumsi makanan produk hewan yang cemar. Penyidikan terhadap wabah yang ada telah membuktikan hubungan penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* O157:H7 dengan konsumsi daging sapi dan susu mentah.

Kenaikan impor sapi potong dan perah dari luar negeri yang endemik VTEC dan cara beternak yang masih tradisional memungkinkan galur VTEC masuk dan menyebar ke Indonesia dari negara asalnya. Kusmiyati dan Supar (1998) telah mengisolasi *E. coli* dari pedet penderita diare di daerah Bandung, Sukabumi, dan Bogor. Di antara isolat tersebut terdapat *E. coli* yang bersifat hemolitik alfa dan verositolotoksigenik. Hasil kajian lain, Budiharta dan Asmara (2000) menggunakan reaksi rantai polimerase telah berhasil mengisolasi *E. coli* yang memiliki gen VT1 dan VT2. Hasil tersebut membuktikan bahwa kasus infeksi VTEC banyak ditemukan pada ternak di Indonesia, tetapi faktor risiko infeksi VTEC pada ternak belum pernah diteliti.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui prevalensi VTEC pada sapi perah rakyat di Propinsi Jateng dan DIY dan model infeksi VTEC pada tingkat ternak untuk mencari faktor risiko penyakit.

MATERI DAN METODE

Populasi dan Sampel

Penelitian dilakukan terhadap peternakan sapi perah rakyat di Propinsi Jateng dan DIY. Sepuluh kabupaten/kota padat ternak dipilih sebagai sampel daerah. Sampel ternak dan peternak didapat dengan cara rambang proporsional dengan populasi ternak setiap kecamatan. Setiap kecamatan proporsional dengan jumlah peternak dipilih desa, kemudian setiap desa secara rambang dipilih peternak. Selanjutnya, semua ternak yang dimiliki peternak diambil tinjanya sebagai sampel.

Besaran sampel (n) dihitung dengan rumus besaran sampel dari Martin *et al.* (1987) $n = 4 PQ/L^2$. Besaran sampel yang diperoleh kemudian dikalikan 5 karena metode sampling yang digunakan adalah tahapan berganda. Perkalian dimaksud untuk mendapatkan presisi yang tinggi dari estimasi infeksi VTEC.

Variabel Penelitian

Kuesioner yang digunakan merupakan kombinasi antara pertanyaan *open-ended* dan *semi-open-ended*. Kuesioner dirancang mencakup faktor risiko yang mempunyai hubungan biologis dengan infeksi VTEC. Kuesioner data ternak meliputi tanggal dan daerah pengambilan sampel, bangsa ternak, umur

ternak, produksi susu, asal ternak, kebersihan ternak, konsistensi tinja, adanya dehidrasi, suhu ternak, apakah sapi baru saja melahirkan, apakah pedet telah disapih, suntikan antibiotika, dan sampel tinja. Pengujian kuesioner dilakukan 2 minggu sebelum penelitian dengan wawancara terhadap 10 peternak.

Analisis Sampel

Sampel tinja ditanam pada kaldu *brilliant green lactose bile* (BGLB) 2 % dan dilanjutkan ditanam pada plat agar *eosin methylenblue* (EMB). *Escherichia coli* yang diperoleh kemudian disimpan pada freezer suhu -70 °C dalam kaldu *brain heart infusion* (BHI) ditambah gliserol 20 %.

Seratus 1 antigen bakteri utuh dan hidup diabsorbirkan pada plat mikrotiter. Antibodi monoklonal terhadap *E. coli* O157:H7 (Sumiarto *et al.*, 2002) digunakan untuk mendeteksi antigen *E. coli* O157:H7 pada sampel tinja dengan uji ELISA tidak langsung. Sampel tinja dinyatakan positif apabila angka absorbansi minimum sama dengan angka absorbansi kontrol negatif + 2 standar deviasi (Zheung *et al.*, 1987).

Analisis Hasil

Data kuesioner dan pemeriksaan sampel tinja dikumpulkan dan dianalisis dengan (1) uji deskriptif (Martin *et al.*, 1987), untuk mendeskripsikan data ternak dan menentukan prevalensi VTEC pada sampel tinja; (2) uji korelasi intraklas () (Steel and Torrie, 1980), untuk menguji variasi prevalensi antar-kabupaten/kota; dan (3) uji *logistic regression* (Siegel, 1992) untuk menganalisis data ternak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Statistik Deskriptif pada Tingkat Ternak

Hasil penelitian dengan menggunakan strategi sampling tahapan berganda diperoleh 1509 ekor sapi perah. Hasil penelitian variabel ternak yang digunakan untuk mendeteksi prevalensi VTEC pada sapi perah rakyat di Propinsi Jateng dan DIY dapat dilihat pada Tabel 1.

Sapi perah yang ditanam umumnya (99,5 %, 1501/1509) adalah peranakan Friesian Holstein yang berasal dari ternak lokal (99,5 %, 1502/1509). Rata-rata umur ternak adalah $34,2 \pm 25,7$ bulan, dengan produksi susu rata-rata $9,0 \pm 4,3$ liter per hari. Kebersihan ternak perlu mendapat perhatian, karena 69,3 % (1045/1509) kotor. Sapi umumnya kotor karena peternak sulit mendapatkan air untuk membersihkan kandang dan ternaknya. Walaupun kotor, kondisi sapi pada umumnya sehat, terlihat dari konsistensi tinja normal 93,5 % (1411/1509), tidak terjadi dehidrasi 99,2 % (1497/1509), dan tidak demam 99,3 % (1498/1509). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sistem peternakan sapi perah di Propinsi Jateng dan DIY merupakan sistem peternakan tradisional dengan hasil produksi susu kurang dari 1000 liter/tahun dan

Tabel 1. Data ternak yang digunakan untuk mendeteksi VTEC pada sapi perah rakyat di Propinsi Jateng dan DIY

No	Variabel ternak	Hasil
1	Umur ternak (umur)	34,2 ± 25,7 bulan
2	Produksi susu (susu)	9,0 ± 4,3 liter
3	Penggunaan antibiotika (ab)	Tidak = 98,6 % (1477/1498) Ya = 1,4 % (21/1498)
4	Asal ternak (asal)	Impor = 0,5 % (7/1509) Lokal = 99,5 % (1502/1509)
5	Bangsa ternak (bgs)	Peranakan FH = 99,5 % (1501/1509) FH = 0,5 % (8/1509)
6	Dehidrasi (dehid)	Tidak = 99,2 % (1497/1509) Ada = 0,8 % (12/1509)
7	Konsistensi tinja (konsfc)	Normal = 93,5 % (1411/1509) Encer = 6,5 % (98/1509)
8	Kebersihan ternak (sihsp)	Bersih = 30,7 % (464/1509) Kotor = 69,3 % (1045/1509)
9	Suhu tubuh (temp)	Normal = 99,3 % (1498/1508) Demam = 0,7 % (10/1508)

keuntungan bersih kurang dari 12 %/tahun. Huitema (1986) melaporkan bahwa peternakan sapi perah tradisional biasanya ternaknya dipelihara di kandang yang sempit sepanjang tahun. Kandang selalu lembab dengan lantai cenderung basah oleh tinja dan air kencing. Kondisi seperti ini yang menyebabkan sapi kotor.

Sampel ternak menunjukkan bahwa 98,6 % (1477/1498) tidak mendapatkan pengobatan antibiotika 3 - 4 hari sebelum pengambilan sampel tinja. Status pengobatan antibiotika diperlukan untuk mengetahui bahwa hasil pemeriksaan negatif pada sampel tinja bukan karena pengaruh pengobatan antibiotika. Menurut Hinton *et al.* (1985), penambahan antibiotika pada pakan dan suntikan dengan dosis yang dianjurkan menyebabkan hilangnya bakteri tersebut pada tinja pedet.

Prevalensi VTEC

Prevalensi VTEC berdasarkan ELISA dengan antibodi monoklonal *E. coli* O157:H7 dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan analisis korelasi intraklas () (Steel and Torrie, 1980), prevalensi antar kabupaten/kota di Propinsi Jateng dan DIY diperoleh = 0,033. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kejadian VTEC antar kabupaten/kota berbeda untuk setiap daerah. Variasi antar-kabupaten/kota tersebut akan mempengaruhi penanganan infeksi VTEC yang berbeda untuk setiap daerah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi VTEC yang tertinggi adalah Kabupaten Temanggung (37,5 %), diikuti Kabupaten Magelang (37,0 %), Kabupaten Banyumas (32,6 %), dan Kabupaten Boyolali (29,3 %), sedangkan Kota Semarang

mempunyai prevalensi VTEC terendah (10,6 %) dibanding dengan kabupaten yang lain. Keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian Zhao *et al.* (1995), bahwa prevalensi VTEC pada sapi perah sangat bervariasi berdasarkan distribusi geografi. Negara bagian California (6,0 %), Minnesota (3,6 %), Ohio (5,9 %), dan Wisconsin (9,4 %) mempunyai prevalensi VTEC tertinggi dibanding dengan negara bagian yang lain. Walaupun prevalensi VTEC pada sapi perah tinggi, Griffin *et al.* (1990) dan Doyle (1991) mengatakan bahwa kejadian dan mekanisme *E. coli* O157:H7 sampai di sapi perah sulit diketahui.

Kabupaten Temanggung mempunyai prevalensi VTEC tertinggi (37,5 %). Prevalensi VTEC di Kabupaten Temanggung tinggi karena kondisi peternakan yang sangat kotor dan ternak per kandang sangat padat. Peternak sapi perah di Kabupaten Temanggung mempunyai kebiasaan *ngerem* ternaknya, kotoran ditumpuk campur air kencing, diinjak-injak, dan disimpan dalam kandang. Hasil wawancara menunjukkan sebagian besar peternak memelihara ternak untuk diambil kotorannya. Kebiasaan ini menyebabkan ternak, kandang, dan lingkungan menjadi kotor. Menurut Wang *et al.* (1996), tinja yang mengandung *E. coli* O157:H7 merupakan sumber reinfeksi kawan sapi perah dan sumber kontaminasi lingkungan karena *E. coli* O157:H7 tahan terhadap stres lingkungan. Selanjutnya, Kudva *et al.* (1996) menunjukkan bahwa infeksi VTEC tinggi pada ternak disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk pakan, stres, kepadatan ternak, kondisi geografi, dan musim.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa prevalensi VTEC di Propinsi Jateng dan DIY bulan Januari - Mei pada tingkat ternak adalah 27,4 % (Tabel 2). Prevalensi VTEC ini cukup tinggi apabila dibanding dengan

Tabel 2. Hasil isolasi *E. coli* dari sampel tinja sapi perah pada kaldu BGLB dan plat agar EMB, serta prevalensi VTEC pada distribusi Kabupaten/Kota

No	Kabupaten/Kota	Sampel tinja	BGLB +	EMB +	Prevalensi VTEC
1	Sleman	54	54	100,0 % (54/54)	18,5% (10/54)
2	Wonosobo	25	25	88,0 % (22/25)	20,0 % (5/25)
3	Boyolali	808	808	98,6 % (797/808)	29,3 % (237/808)
4	Magelang	27	27	100,0 % (27/27)	37,0 % (10/27)
5	Klaten	72	72	94,4 % (68/72)	18,1 % (13/72)
6	Salatiga	43	43	100,0 % (43/43)	23,3 % (10/43)
7	Temanggung	40	40	100,0 % (40/40)	37,5 % (15/40)
8	Semarang	304	304	98,4 % (299/304)	26,3 % (80/304)
9	Kota Semarang	47	47	100,0 % (47/47)	10,6 % (5/47)
10	Banyumas	89	89	95,5 % (85/89)	32,6% (29/89)
	Total	1509	1509	98,2 % (1482/1509)	27,4 % (414/1509)

kejadian VTEC pada beberapa negara sub-tropis, seperti Jerman 10,8 % (28/259) (Montenegro *et al.*, 1990), Kanada pada sapi potong 0,5 % dan sapi perah 19,5 % (Clarke *et al.*, 1994), Amerika Serikat pada sapi perah 5,9 % (12/203) dan peternakan 50,0 % (7/14) di bulan Juni-Agustus (Zhao *et al.*, 1995), Wisconsin pada sapi perah 1,8% (10/560) dan peternakan 7,1 % (5/70) di bulan Maret-Oktober (Faith, *et al.*, 1996), Ontario Selatan, Kanada pada sapi perah 15,0 % (398/2655) (Rahn *et al.*, 1996), dan Italia pada sapi perah 16,7 % (22/137) dan peternakan 21,7 % (13/60). Menurut Wang *et al.* (1996) sapi perah merupakan reservoir utama *E.coli* O157:H7 karena manajemen peternakan sapi perah lebih cocok untuk pertumbuhan agen penyakit.

Sebaliknya, prevalensi ini lebih rendah jika dibandingkan dengan prevalensi VTEC di negara tropis lainnya seperti Thailand 11,0 84,0% pada sapi di musim penghujan (Suthienkul *et al.*, 1990) dan Sri Lanka 53,0 % (91/171) pada sapi perah di bulan September 1986 - Februari 1987 (Tokhi *et al.*, 1993). Melihat kejadian ini mungkin prevalensi VTEC di Propinsi Jateng dan DIY akan lebih tinggi pada pertengahan musim penghujan.

Faktor yang Mempengaruhi Infeksi VTEC

Variabel yang berpengaruh terhadap infeksi VTEC pada tingkat ternak adalah kebersihan sapi ($p = 0,0000$), sedangkan variabel lainnya seperti produksi susu, asal ternak, bangsa, umur, dehidrasi, konsistensi tinja, penggunaan antibiotika, dan suhu tubuh tidak berpengaruh terhadap infeksi VTEC pada ternak ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil analisis, model infeksi VTEC pada tingkat ternak adalah:

$$\text{Logit Pr (VTEC=1x)} = - 1,85082 + 1,16914 \text{ kebersihan sapi}$$

Pada penghitungan sensitivitas dan spesifisitas dengan metode *Hosmer-Lemeshow goodness of fit tests* untuk VTEC, model akhir infeksi VTEC pada tingkat

ternak mempunyai sensitivitas 93,2 % dan spesifisitas 96,3%. Sensitivitas dan spesifisitas tersebut menunjukkan bahwa model yang diperoleh mempunyai akurasi cukup tinggi untuk memprediksi infeksi VTEC pada sapi perah. Bonnet (1990) mengatakan bahwa suatu uji mempunyai akurasi dan konsistensi tinggi apabila suatu uji mempunyai sensitivitas dan spesifisitas mendekati 100 %.

Berdasarkan model yang diperoleh, kebersihan sapi (sapi kotor = 1) memberikan pengaruh infeksi VTEC pada ternak sebesar 1,16914 dengan *odds-ratio* kebersihan sapi 3,22. Hasil ini memperlihatkan bahwa ternak kotor 3,22 kali lebih besar terinfeksi VTEC dibanding dengan ternak bersih. Kondisi sapi perah umumnya (69,3 %) kotor. Tinja menempel pada sebagian dan seluruh tubuh karena kondisi lantai kandang yang kotor (84,9 %). Kotoran pada tubuh sapi ini merupakan tempat bersarangnya *E.coli* O157:H7 di samping pada lantai kandang yang berlobang dan kotor. Keadaan ini menunjukkan bahwa kebersihan sapi dan kebersihan lantai kandang merupakan faktor utama infeksi VTEC pada sapi perah. Menurut Wang *et al.* (1996), *E.coli* O157:H7 dapat hidup selama 42 - 49 hari di dalam tinja pada suhu 37 °C dengan kelembapan relatif 10 % dan 49 - 56 hari di dalam tinja pada suhu 22 °C dengan kelembapan relatif 10 %. Di samping itu, tinja mempunyai kemampuan memelihara bakteri untuk memproduksi VT. Keadaan ini mengindikasikan bahwa *E.coli* O157:H7 dapat hidup lama di tinja.

Konsistensi tinja juga tidak dapat digunakan untuk mengindikasikan infeksi VTEC pada ternak ($p = 0,3628$). Sebanyak 23,5 % (23/98) VTEC terdapat pada tinja encer dan 27,7 % (391/1411) terdapat pada tinja normal. Sebagian besar (60,9 %, 14/23) ternak yang diare adalah ternak umur kurang dari 4 bulan. Hasil ini memperkuat pendapat Smith dan Scotland (1988) dan Gyles (1992) yang mengatakan bahwa infeksi VTEC pada sapi perah dewasa bersifat asimtomatik, tetapi

galur VTEC mampu menyebabkan diare pada pedet yang baru lahir. Hasil penelitian ini juga memperkuat pendapat Tokhi *et al.* (1993) yang mengatakan bahwa tidak ada asosiasi antara kejadian VTEC dan diare pada ternak, tetapi VTEC mempunyai asosiasi dengan diare pada ternak umur kurang dari 10 minggu. Umur ternak tidak berasosiasi terhadap infeksi VTEC ($p = 0,5313$), yaitu ternak umur muda (< 4 bulan) kejadiannya hampir sama dengan ternak umur tua (> 4 bulan). Demikian pula, ternak umur kurang 12 bulan kejadiannya hampir sama dengan ternak umur lebih 12 bulan ($p = 0,3829$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi VTEC pada umur kurang dari 4 bulan sebesar 29,8 % (37/124) dan lebih 4 bulan 27,2 % (377/1385), sedangkan untuk umur kurang dari 12 bulan 28,1 % (298/1061) dan lebih dari 12 bulan 26,0 % (116/448). Dilihat dari distribusi ini, kelihatannya *E. coli* O157:H7 menyerang sebagian besar ternak umur antara 4-12 bulan 63,1 % (261/414). Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Hancock *et al.* (1994) dan Wilson *et al.* (1996) yang menyatakan bahwa pedet umur kurang dari 4 bulan lebih banyak mengeluarkan *E. coli* O157:H7 daripada ternak umur yang lain. Namun, hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian Faith *et al.* (1996), yakni bahwa *E. coli* O157:H7 lebih banyak menyerang pedet umur lebih dari 4 bulan daripada umur kurang dari 4 bulan. Pendapat ini juga diperkuat oleh hasil penelitian Bonardi *et al.* (1999), bahwa VTEC jarang ditemukan pada pedet umur < 4 bulan. *Verocytotoxigenic E. coli* jarang ditemukan pada pedet umur < 4 bulan barangkali disebabkan status oleh nutrisi pedet, yaitu pedet hanya diberi pakan susu atau susu pengganti. Akibat diet tersebut, abomasum pedet tidak cocok untuk hidupnya *E. coli* O157:H7 karena pH abomasum terlalu rendah dan aktivitas fermentasi rumen belum bekerja.

Suhu tubuh juga tidak berasosiasi terhadap infeksi VTEC ($p = 0,5962$). Infeksi VTEC pada ternak bersuhu normal 27,5 % (412/1498) sama dengan ternak penderita demam 50,0 % (2/10). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa infeksi VTEC tidak menyebabkan demam pada ternak yang terinfeksi. Dehidrasi juga tidak berasosiasi terhadap infeksi VTEC ($p = 0,2673$). Ternak dehidrasi yang terinfeksi VTEC 41,7 % (5/12) dan tidak 27,3 % (409/1497). Hasil pengamatan pada konsistensi tinja, suhu, dehidrasi pada ternak terhadap infeksi VTEC menunjukkan bahwa sapi perah dewasa yang secara klinis sehat merupakan reservoir VTEC. Hasil ini memperkuat pernyataan Busato *et al.* (1999) bahwa sapi perah dewasa yang secara klinis sehat merupakan spesies hewan yang paling penting sebagai reservoir VTEC untuk infeksi pada manusia. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa sapi yang terinfeksi *E. coli* O157:H7 tidak memperlihatkan kenaikan suhu tubuh (Galland *et al.*, 2001), tidak diare, dan tidak memperlihatkan penurunan berat badan (Kudva *et al.*, 1995).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *University Research for Graduate Education (URGE) Project Batch III 1997/1998*, Directorate General of Higher Education, yang telah memberi biaya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonardi, S., Maggi, E., Bottarelli, A., Pacciarini, M.L., Ansuini, A., Vellini, G., Morabito, S., and Caprioli, A., 1999. Isolation of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Vet. Microbiol.* 67: 203-211.
- Bonnet, B.N., 1990. Interpretation of diagnostic tests: Skill for practice and research. *Proceedings of The Annual Meeting, Society for Theriogenology*. 14.
- Budiharta, S. and Asmara, W., 2000. Isolation, identification, and epidemiology of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in domestic animals. Research report. University Research for Graduate Education (URGE) Project Batch III 1997/1998. Directorate General of Higher Education, 16-17.
- Busato, A., Hofer, D., Lentze, T., Gaillard, C., and Burnens, A., 1999. Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms. *Vet. Microbiol.* 69: 251-263.
- Clarke, R.C., Wilson, J.B., Read, S.C., Renwick, S., Rahn, K., Johnson, R.P., Alves, D., Karmali, M.A., Lior, H., McEwen, S.A., Spika, J., and Gyles, C.L., 1994. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in the food chains: Preharvest and processing perspectives. In: Karmali, M.A., dan Goglio, A.G., ed., *Recent advances in verocytotoxin-producing Escherichia coli infection*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, 17-24.
- Doyle, M.P., 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 12: 289-302.
- Faith, N.G., Shere, J.A., Brosch, R., Arnold, K.W., Ansay, S.E., Lee, M.S., Luchansky, J.B., and Kaspar, C.W., 1996. Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farm in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(5): 1519-1525.
- Galland, J.C., Hyatt, D.R., Crupper, S.S., and Acheson, D.W., 2001. Prevalence, antibiotic susceptibility, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. *App. Environ. Microbiol.* 67(4): 1619-1627.
- Griffin, P.M., Olmstead, L.C., and Petras, R.E., 1990. *Escherichia coli* O157:H7-associated colitis: a

- clinical and histological study of 11 cases. Abstrak In: *Gastroenterology*, 99, 142 - 149.
- Haan, C.D., 1992. The delivery of livestock services to smallholders. In: Wilson, M. ed. *Livestock services for smallholders: A critical evaluation*. Proceedings of a seminar held in Yogyakarta, Indonesia. 33 - 40.
- Hinton, M., Hedges, A.J., and Linton, A.H., 1985. The ecology of *Escherichia coli* in market calves fed a milk-substitute diet. *J. of Appl. Bact.* 58: 27 - 35.
- Huitema, H., 1986. Peternakan di daerah tropis arti ekonomi dan kemampuannya: Penelitian di beberapa daerah Indonesia. Penerbit Yayasan Obor Indonesia dan PT Gramedia, 309 - 313.
- Kudva, I.T., Hatfield, P.G, and Hovde, C.J., 1996. *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep. *J. Clin. Microbiol.* 34: 431 - 433.
- Kusmiyati dan Supar, 1998. *Escherichia coli* verotoksigenik dari anak sapi perah penderita diare. Prosiding hasil-hasil penelitian veteriner. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 103 - 108.
- Kwaan, H.C., 1987. Clinicopathologic feature of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematol.* 24: 71 - 81.
- Martin, S.W., Meek, A., and Willeberg, P., 1987. Veterinary epidemiology. Ames. Iowa: Iowa State University Press. 39.
- Montenegro, M.A., Bulte, M., Trumpt, T., Aleksic, S., Reuter, G., Bulling, E., and Helmuth, R., 1990. Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle. *J. Clin. Microbiol.* 28(6): 1417 - 1421.
- Rahn, K., Wilson, J.B., McFadden, K.A., Read, S.C., Ellis, A.G., Renwick, S.A., Clarke, R.C., and Johnson, R.P., 1996. Comparison of vero cell assay and PCR as indicators of the presence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in bovine and human fecal samples. *App. Environ. Microbiol.* 62(9): 4314 - 4317.
- Siegel, J., 1992. Statistix analytical software, version 4.0 user's manual. St. Paul, Minnesota: Analytical software.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H., 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrics approach. 2nd McGraw-Hill, Inc. USA., 282 - 284.
- Sumiarto, B., 2002. Epidemiologi verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) pada sapi perah di Propinsi Jawa Tengah dan daerah Istimewa Yogyakarta. Disertasi Doktor dalam Ilmu Pertanian pada Universitas Gadjah Mada.
- Suthienkul, O., Brown, J.E., Seriwatana, J., Tienthoughdee, S., Sastravaha, S., and Echeverria, P., 1990. Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in retail meat and cattle in Thailand. *App. Environ. Microbiol.*, 56: 1135-1139
- Tokhi, A.M., Peiris, J.S.M., Scotland, S.M., Willshaw, G.A., Smith, H.R., and Cheasty, T., 1993. A longitudinal study of verocytotoxin producing *Escherichia coli* in cattle in Sri Lanka. *Epidemiol. Infect.* 110: 197-208.
- Tomoyasu, T., 1996. Improvement of the immunomagnetic separation method selective for *Escherichia coli* O157:H7 strains. *App. Environ. Microbiol.*, 64(1): 376 - 382.
- Toth, I., Barret, T.J., Cohen, M.L., Rumschlag, H.S., Green, J.H., and Wachsmuth, I.K., 1991. Enzyme-linked immunosorbent assay for products of the 60-megadalton plasmid of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 1016 - 1019.
- Tripathy, D.N. and Hanson, L.E., 1974. Immunoperoxidase staining of leptospira. *App. Microbiol.* 27: 268 - 269.
- Tung, A.S., 1983. Production of large amounts of antibodies, nonspecific immunoglobulins, and other serum protein in mice and guinea pigs. *Methods Enzymol* 93: 12 - 23.
- Tzipori, S., Gunzer, F., Donnenberg, M.S., deMontigny, L., Kaper, J.B., and Donohue-Rolfe, A., 1995. The role of the *eaeA* gene in diarrhea and neurological complications in a gnotobiotic piglet model of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. *Infect. Immun*, 63: 3621 - 3627.
- Wang, G, Zhao, T., and Doyle, M.P., 1996. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *App. Environ. Microbiol.* 62(7): 2567 - 2570.
- Zhao, T., Doyle, M.P., Shere, J., and Garber, L., 1995. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *App. Environ. Microbiol.* 61(4): 1290 - 1293.
- Zheung, H., Tao, Z., Reddy, M.V.R., Harinath, B. C., and Piessen, W.F., 1987. Parasite antigen in sera and urine of patient with Bancroftian and Brugian Filariasis detected by sandwich ELISA with monoclonal antibody. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33(6): 554 - 560.