

**DETEKSI *ESCHERICHIA COLI* O157 PADA SUSU SAPI MENTAH DI  
TANGKI PENYIMPANAN SUSU KABUPATEN SLEMAN DAERAH  
ISTIMEWA YOGYAKARTA**

**SKRIPSI**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
untuk mencapai gelar Sarjana S-1**



**Disusun oleh :  
Marcella Indah Kristanti  
NIM : 31 09 1209**

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA  
2014**

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

DETEKSI *ESCHERICHIA COLI* O157 PADA SUSU SAPI MENTAH DI  
TANGKI PENYIMPANAN SUSU KABUPATEN SLEMAN DAERAH  
ISTIMEWA YOGYAKARTA

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**MARCELLA INDAH KRISTANTI**  
31091209

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 09 Desember 2013

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Tri Yahya Budiarsō, S.Si, MP  
(Dosen Pembimbing / Penguji / Ketua Tim)
2. Dr. Charis Amaranitini, M.Si  
(Dosen Penguji)
3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc  
(Dosen Penguji)

:   
:   
: 

**DUTA WACANA**

Yogyakarta, 24 Januari 2014

Disahkan Oleh:

Dekan,

  


Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,



Dr. Charis Amaranitini, M.Si

QADW-2241-B0-11.11.005

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Marcella Indah Kristanti

NIM : 31091209

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul "**Deteksi *Escherichia coli* O157 pada Susu Sapi Mentah di Tangki Penyimpanan Susu Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta**" adalah hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir skripsi ini.

Pernyataan ini dibuat dengan informasi yang benar secara sadar dan bertanggungjawab. Saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada sebelumnya.

Yogyakarta, 22 Januari 2014



Marcella Indah Kristanti

NIM 31091209

## MOTTO

Takut akan TUHAN adalah didikan yang mendatangkan hikmat, dan kerendahan hati mendahului kehormatan.

- Amsal 15:33 -

Apapun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia.

- Kolose 3:23 -

Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah dan kebenarannya, maka semuanya itu akan ditambahkan kepadamu. Sebab itu janganlah kamu kuatir akan hari besok, karena hari besok mempunyai kesusahannya sendiri. Kesusahan sehari cukuplah untuk sehari.

- Matius 6:33-34 -

**Karya ini kupersembahkan untuk:**

1. Tuhan Yesus Kristus yang selalu memberkati dan menuntun hidupku hingga detik ini.
2. Orang tuaku yang selalu mendukung, memberikan semangat hingga penulis dapat menyelesaikan tulisan ini.
3. Almamater Duta Wacana, terutama Fakultas Bioteknologi, semoga semakin jaya dan semakin banyak menghasilkan sarjana-sarjana yang memiliki kepribadian yang berkenan dihadapan Tuhan.

©UKDWN

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur, penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah mencurahkan pertolongan yang tiada pernah habisnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Deteksi *Escherichia coli* O157 pada Susu Sapi Mentah di Tangki Penyimpanan Susu Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan yang harus ditempuh untuk mencapai gelar Sarjana Sains, di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta. Skripsi ini berhasil diselesaikan berkat bimbingan dan bantuan dari semua pihak. Untuk itu pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Yayasan Arsari Djojohadikusumo sebagai pemberi beasiswa bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan jenjang S-1 di Universitas Kristen Duta Wacana.
2. Drs. Kisworo, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.
3. Tri Yahya Budiarmo, S.Si, MP, selaku Dosen Pembimbing yang sudah meluangkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan, bantuan, dan saran sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Charis Amarantini, M.Si, selaku Dosen Penguji I yang telah banyak memberikan saran dan masukan untuk penulisan skripsi ini.

5. Dr. Dhira Satwika, M.Sc, selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan saran dan masukan untuk penulisan skripsi ini
6. Haryati Bawole S., S.Sc, selaku Dosen Wali atas bimbingan, pengarahan, dan masukan selama ini.
7. Seluruh Dosen dan Karyawan Fakultas Bioteknologi untuk semua yang telah diberikan.
8. Laboran Mikrobiologi, Kimia, dan Botani UKDW : Mas Hari, Mas Setyo dan Mba Retno, terimakasih untuk bantuan, waktu, dan bimbingan selama penelitian di Laboratorium.
9. Orang tuaku yang selalu mendoakan dan memberi dukungan kepadaku.
10. Sahabatku, Dewi Andini, Hutri Catur Sad Winarni, Siska Augusta Larinda, Nathalia Kalis Utomo, terima kasih atas doa, dukungan, dan kebersamaan kita.
11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi, Diah, Burhan, Acha, Novi, Eva, terimakasih atas segala yang telah kalian lakukan untuk membuat penelitian penulis menjadi sukses.
12. Teman-teman terbaikku angkatan 2009, terimakasih untuk kebersamaan dan kekompakan kita.

Biarlah Tuhan yang membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan karena keterbatasan baik pengetahuan maupun kemampuan, oleh

karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga naskah skripsi ini bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkannya.

Yogyakarta, 22 Januari 2014

Penulis

©UKDW



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
MOTTO.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Rumusan Masalah.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
II. STUDI PUSTAKA.....	4
A. Kontaminasi <i>Escherichia coli</i> O157.....	4
B. <i>Outbreak Escherichia coli</i> O157.....	5
C. Karakteristik <i>Escherichia coli</i> O157.....	8
D. Metode deteksi <i>Escherichia coli</i> O157.....	10
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
B. Alat dan Bahan .....	16
C. Cara Kerja.....	17
1. Tahap pengambilan sampel.....	17
2. Tahap pengenceran.....	17
3. Tahap enumerasi.....	17
4. Tahap isolasi dan <i>screening</i> .....	17
5. Konfirmasi secara biokimia.....	18
6. Konfirmasi secara serologis.....	18
7. Konfirmasi secara molekuler.....	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Karakter molekuler <i>E. coli</i> O157.....	15
Gambar 2.	Medium enrichment sebelum diberi sampel.....	21
Gambar 3.	Medium enrichment setelah inkubasi 37°C- 18 jam.....	21
Gambar 4.	Pertumbuhan bakteri pada medium CCA.....	22
Gambar 5.	Kenampakan koloni pada Chromagar O157.....	26
Gambar 6.	Kenampakan pada medium KCN.....	27
Gambar 7.	Kenampakan koloni sampel 17-2 pada API 20 E.....	28
Gambar 8.	Kenampakan kontrol positif dan negatif pada Latex Test O157.....	29
Gambar 9.	Kenampakan koloni uji serologis sampel susu sapi mentah....	29
Gambar 10.	Hasil elektroforesis uji gen pengkode toksin <i>Stx1</i> dan <i>Stx2</i> .....	31
Gambar 11.	Kenampakan koloni pada medium CCA.....	48
Gambar 12.	Kenampakan koloni pada medium Chromagar O157.....	48
Gambar 13.	Kenampakan koloni ATCC <i>E.coli</i> O157 pada medium Chromagar O157.....	48
Gambar 14.	Hasil interpretasi API WEB sampel 17-2 .....	49
Gambar 15.	Hasil interpretasi API WEB sampel 5.....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Komposisi medium isolasi dan identifikasi.....	38
Lampiran 2.	Bagan alir penelitian.....	40
Lampiran 3.	Bagan alir uji API 20 E.....	41
Lampiran 4.	Bagan alir ekstraksi DNA.....	42
Lampiran 5.	Tabel hasil enumerasi koloni bakteri susu sapi mentah melalui tahap enrichment.....	44
Lampiran 6.	Gambar kenampakan koloni pada media CCA dan Chrom O157.....	48
Lampiran 7.	Hasil identifikasi koloni pada API 20 E menggunakan API Web.....	49
Lampiran 8.	Naskah publikasi 2nd International Student Conference Soegiyapranata Catholic University.....	51

©UKDW

**DETEKSI *ESCHERICHIA COLI* O157 PADA SUSU SAPI MENTAH DI  
TANGKI PENYIMPANAN SUSU KABUPATEN SLEMAN DAERAH  
ISTIMEWA YOGYAKARTA**

**Oleh:  
Marcella Indah Kristanti**

**ABSTRAK**

*Escherichia coli* O157 merupakan kelompok Enterobacteriaceae yang memiliki somatik antigen O157. *Escherichia coli* O157 dapat menghasilkan toksin yang berbahaya (*shiga toxin*) yang dapat menyebabkan diare berdarah (*haemorrhagic colitis*) dan infeksi saluran kencing (*haemolytic uraemic syndrome*). Resiko kontaminasi *E. coli* O157 sangat mudah terjadi karena susu memiliki nutrisi yang tinggi dan menjadi tempat pertumbuhan yang baik bagi bakteri. Penelitian ini dilakukan untuk memonitor kontaminasi *E. coli* O157 di tangki penyimpanan sebelum didistribusikan di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Tigapuluh sampel susu sapi mentah dari tangki penyimpanan di Kabupaten Sleman dianalisa. mTSB digunakan sebagai media *enrichment*, Chromocult Coliform Agar (CCA) dan Chromagar O157 media untuk *screening*. Analisa tambahan mencakup uji serologi dan uji molekuler pada isolat yang didapatkan. Berdasarkan hasil *screening*, 11.428 koloni dicurigai sebagai kandidat *E. coli* O157 yang menghasilkan warna merah di media CCA. *Screening* lebih lanjut menggunakan media Chrom O157 yang menghasilkan 3 kandidat koloni yang menghasilkan warna mauve. Koloni ini kemudian diuji dengan Latex Test O157 untuk uji serologis, dan didapatkan bahwa koloni tersangka bukan *E. coli* O157. Analisa molekuler dengan primer untuk deteksi gen pengkode toksin *Stx1* dan *Stx2* didapatkan bahwa tidak ada strain tersangka yang memiliki gen pengkode toksin *Stx1* dan *Stx2*. Hasil ini menunjukkan bahwa keberadaan STEC (*Shiga toxin E. coli*) tidak ditemukan pada sampel susu sapi mentah yang diuji.

**Keywords:** *E. coli* O157, susu sapi mentah, tangki penyimpanan, PCR

# **DETECTION OF *ESCHERICHIA COLI* O157 FROM RAW COW'S MILK IN THE STORAGE TANK IN SLEMAN DISTRICT, YOGYAKARTA**

**By:  
Marcella Indah Kristanti**

## **ABSTRACT**

*Escherichia coli* O157 is a member of Enterobacteriaceae which has somatic antigen O157. *Escherichia coli* O157 produces a harmful toxin (*shiga toxin*) which cause bloody diarrhoea (*haemorrhagic colitis*) and urinary tract infection (*haemolytic uraemic syndrome*). Contamination risk of *E. coli* O157 is easily to occur as milk has good nutrition and ideal for bacterial growth. This research was conducted to monitor *E. coli* O157 contamination in the storage tank before distribution in Sleman district, Yogyakarta. Thirty cow milk samples from the storage tank in Sleman district were analyzed. mTSB media was used as enrichment media, while Chromocult Coliform Agar (CCA) and Chromagar O157 media for screening test. Additional analysis including serologic and molecular test of isolates obtained. Based on the screening result, 11,428 colonies were considered as *E. coli* O157 suspect that produced red colour in CCA media. Further screening employing Chrom O157 media resulted in 3 potential colonies which produce mauve colour. These colonies were later tested with Latex Test O157 for serological reason, showing that none were *E. coli* O157. Molecular analysis with primer pairs for detection of *Stx1* and *Stx2* genes confirm that none of the suspected strains have genes that encoded the toxin, *Stx1* and *Stx2*. These results showed that the presence of STEC (*Shiga toxin E. coli*) hasn't found in the tested samples of raw cow's milk.

**Keywords:** *E. coli* O157, raw cow's milk, storage tank, PCR

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

*Escherichia coli* O157 merupakan bakteri golongan Enterobacteriaceae yang termasuk dalam penyebab utama penyakit saluran gastrointestinal pada manusia (Fox, 2011). Menurut Takkinen *et al.* (2011), *E. coli* O157 merupakan bakteri patogenik yang memiliki gen pengkode toksin yang biasa disebut dengan *Shiga toxin* (STEC) atau *verocytotoxin E. coli* (VTEC). Toksin yang diproduksi oleh *E. coli* O157 dapat menyebabkan beberapa penyakit antara lain: kram perut, diare yang mungkin dalam beberapa kasus berkembang hingga diare berdarah (*haemorrhagic colitis*), demam, mual, *Haemolytic Uraemic Syndrome* (HUS), dan bahkan kematian (WHO, 2011).

Penyakit yang diakibatkan oleh STEC O157 pada manusia pertama kali diketahui dari 2 pasien yang mengalami *haemorrhagic colitis* di USA pada tahun 1982 (Law, 2000). *Escherichia coli* O157 banyak ditemukan di seluruh dunia, tetapi kejadian penyakit yang paling besar akibat *E. coli* O157 terjadi di Jepang pada tahun 1996 dengan kira-kira 10.000 kasus (Watanabe *et al.*, 1999). Kasus akibat *E. coli* O157 terus terjadi dalam 10 tahun terakhir, bahkan hingga tahun 2013. Menurut laporan dari CDC (2013), pada tahun 2013 masih ditemukan adanya kejadian penyakit yang disebabkan karena *E. coli* O157 di USA dengan 2 orang terjangkit penyakit *Haemolytic Uraemic Syndrome* (HUS).

Habitat *E. coli* O157 berada di usus yang dapat ikut keluar bersamaan dengan feses dan menempel pada kulit tubuh sapi. Kulit tubuh sapi yang jarang dibersihkan atau dimandikan, termasuk pada bagian sela-sela kulit tubuh sapi seperti lipatan paha dan di bagian ambing, dimungkinkan berkontribusi dalam menambah kontaminasi *E. coli* O157 selama proses pemerahan. *Escherichia coli* O157 sering ditemukan dan diidentifikasi dari susu mentah dan beberapa produk susu seperti: keju dari susu mentah, susu pasteurisasi, dan yogurt (Takkinen *et al.*, 2011).

Kontaminasi *E. coli* O157 sangat dimungkinkan terjadi pada bahan mentah karena dilaporkan setiap tahun terjadi kasus akibat STEC, maka perlu dilakukan monitoring terutama pada bahan mentah, yaitu susu mentah. Yogyakarta memiliki sentra pemerahan susu yang masih tradisional, sehingga dimungkinkan terdapat kontaminasi akibat sanitasi yang kurang terjaga, oleh karena itu perlu dilakukan monitoring untuk mengetahui keberadaan *E. coli* O157. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendeteksi keberadaan *E. coli* O157 pada susu sapi mentah. Mulai dari Budiarmo (2001) hingga Rusilowati (2009) yang melakukan penelitian mengenai *E. coli* O157 di Kabupaten Sleman, Yogyakarta dan belum ditemukan adanya *E. coli* O157 dari susu sapi mentah yang diuji. Selama tahun 2010 hingga tahun 2012 belum dilakukan monitoring lagi untuk mendeteksi keberadaan *E. coli* O157 di Kabupaten Sleman, sehingga pada tahun 2013 perlu dilakukannya monitoring untuk mengetahui ada atau tidaknya keberadaan *E. coli* O157 di Kabupaten Sleman, Yogyakarta.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya *E. coli* O157 berdasarkan uji biokimia dan molekuler yaitu gen pengkode toksin *Stx1* dan *Stx2* pada susu sapi mentah di tangki penyimpanan susu di Sleman, Yogyakarta.

## **C. Rumusan Masalah**

*Escherichia coli* O157 merupakan bakteri golongan Enterobacteriaceae yang hidup di saluran pencernaan dan dapat ikut keluar bersamaan dengan feses. Kebersihan sapi yang kurang baik, terutama pada bagian lipatan paha dan ambing, sangat memungkinkan adanya kontaminasi *E. coli* O157 pada susu hasil pemerahan.

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini memiliki beberapa manfaat, antara lain dapat mengetahui kontaminasi yang ada supaya peternak lebih memperhatikan sanitasi lingkungan tempat pemerahan berlangsung, menjaga kebersihan tubuh sapi terutama pada bagian ambing sehingga dapat meminimalisir kontaminasi, dan dapat mengetahui aman atau tidaknya susu sapi mentah untuk dikonsumsi.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Hasil isolasi dari sampel susu sapi mentah di tangki penyimpanan di Kabupaten Sleman, Yogyakarta tidak ditemukan *E. coli* O157 serta gen pengkode toksin pada semua sampel yang dianalisa, tetapi berdasarkan uji biokimia ditemukan bakteri lain yang teridentifikasi sebagai *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter cloacae*.

#### **B. Saran**

- Kontaminasi bakteri patogen seperti *E. coli* O157 dapat diminimalisir dengan menjaga kebersihan dari tubuh sapi, tangan pekerja, tempat pemerahan, serta alat-alat yang digunakan untuk pemerahan.
- Diperlukan monitoring yang berkelanjutan untuk mencegah kontaminasi yang mungkin terjadi.

## Daftar Pustaka

- Anonim. 2004. ChromoCult® Coliform Agar for Detection of Coliforms in Drinking Water and Processed Food Samples. Merck KgaA. Germany.
- \_\_\_\_\_. 2005. *E.coli* O157 as mauve colonies, Rapid and powerful. The Pioneer of Chromogenic Media CHROMagar™ Microbiology. CHROMagar O157. Perancis.
- \_\_\_\_\_. 2008. mTSB Broth with Novobiocin For the selective enrichment of enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) in foods. Merck Germany.
- \_\_\_\_\_. 2009. Modified Tryptone - Soy Broth (mTSB). Biokar Diagnostics. Perancis.
- Bettelheim, K.A. 1998. Reliability of CHROMagar® O157 for the detection of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 but not EHEC belonging to other serogroups. *Journal of Applied Microbiology* 85: 425-428.
- Brenjchi, M., Jamshidi A., Farzaneh N., Bassami M.R. 2011. Identification of shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 in raw cow milk samples from dairy farms in Mashhad using multiplex PCR assay. *Iranian Journal of Veterinary Research* 12 (2): 145-149.
- Budiarso, T.Y. 2001. Prevalensi Coliform dan *Escherichia coli* O157:H7 dalam Susu Segar pada Kelompok Peternak di Daerah Istimewa Yogyakarta. Thesis Program Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.
- Budiarso, T.Y. 2005. Teknologi Deteksi *Verocytotoxigenic Escherichia coli* (VTEC). "Prospek bisnis E-Medicine dan Corporate Medicine dan hubungannya dengan teknologi pendidikan kedokteran" ISBN 979.8139.79.8
- Cappuccino, J.G., Nathalie S. 2008. *Microbiology A Laboratory Manual* 8<sup>th</sup> Edition. Rockland Community College, New York, USA.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Investigation Announcement: Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Romaine Lettuce. USA
- Centers for Disease Control and Prevention. 2012. Multistate Outbreak of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 Infections Linked to Organic Spinach and Spring Mix Blend. USA

- Chapman, P.A. 2000. Methods available for the detection of *Escherichia coli* O157 in clinical, food and environmental samples. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16:733-740.
- Doyle, M.P, D.O. Cliver. 1990. *Foodborne Disease*. Academic Press, Inc. San Diego.
- FDA. 1995. *FDA Bacteriological Analytical Manual* 8<sup>th</sup> Edition.
- Fox, A. 2011. *Enterobacteriaceae, Vibrio, Campylobacter and Helicobacter*, Bacteriology-Chapter 11. *Microbiology and Immunology On-line*. University of South Carolina School of Medicine.
- Gannon, V. P. J., R. K. King, J. Y. Kim, E. J. Thomas. 1992. Rapid and sensitive method for detection of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef using the polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 58 (12): 3809–3815.
- Hall, W.F. 2011. An assessment of available information on raw milk cheeses and human disease 2000–2010. *MAF Technical Paper*. Wellington.
- Hendrayana, M. A., Komang J. P. P., Amy Y. 2012. Deteksi Bakteri *Escherichia coli* Serotipe O157 pada Daging Babi di Kota Denpasar. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Medicina* 43: 3-8.
- Hendriksen, R.S. 2003. A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. *Laboratory Protocols Level 1 Training Course Kits for identification of Enterobacteriaceae Using API*. 4<sup>th</sup> Ed.
- Holmes, W.R. Willcox, S.P. Lapage. 1978. Identification of *Enterobacteriaceae* by the API 20E system. *Journal of Clinical Pathology* 31: 22-30.
- Jalil, K., Razavilar V., Barzegari A. 2011. Direct detection of *Escherichia coli* O157 and its major virulence factor genes in animal faeces at slaughter using multiplex polymerase chain reaction (PCR). *African Journal of Microbiology Research* 5(14):1763-1767.
- Jamshidi, Bassami M. R., Rasooli M. 2008. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, northeastern Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University* 9 (1): 72-76.
- Jeshveen, S. S., Chai L. C., Pui C. F., Son R. 2012. Optimization of multiplex PCR conditions for rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 virulence genes. *International Food Research Journal* 19(2): 461-466.

- Law, D. 2000. The history and evolution of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. World Journal of Microbiology and Biotechnology.
- Nurairlyasti. 1999. Skrining *Escherichia coli* O157:H7 Pada Isolat Lokal *E.coli* Dengan Menggunakan Uji Aglutinasi. Skripsi Program Sarjana Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Paton, A.W., James C. P. 1997. Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for stx1, stx2, eaeA, Enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157. Journal of Clinical Microbiology 36:598–602.
- Petridis,H., *et al.* 2002. *E. coli* O157:H7 A Potential Health Concern. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA.
- Pollard, D.R., W. M. Johnson, H. Lior , S. D. Tyler, K. R. Rozee. 1989. Rapid and Specific Detection of Verotoxin Genes in *Escherichia coli* by the Polymerase Chain Reaction. Journal of Clinical Microbiology 28: 540-545.
- Ray, B., Bhunia A. 2008. Fundamental Food Microbiology. Fourth Edition. CRC Press. USA.
- Robert, *et al.* 1997. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *E. coli*. Institute of Food Tehnologists, USA.
- Rusilowati, P. 2009. Tingkat Cemarannya Coliform, *E.coli*, dan *E.coli* O157:H7 pada Susu Sapi Mentah dan Lingkungan Peternakan di Kelompok Koperasi Warga Mulya Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta. Skripsi Program Sarjana UKDW. Yogyakarta.
- Sandra, B.M., Samuel R. 1989. Latex Agglutination Test for Detection of *Escherichia coli* Serotype O157. Journal of Clinical Microbiology 27 (7): 1675-1677.
- Sudrajat, D., Maria L.R., Suhadi. 2000. Deteksi cepat bakteri *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEK) dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction). Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Batan, Jakarta.

- Tahamtan, Y.E., Pourbakhsh S.A, Shekarforoush S.S. 2006. PCR detection of *Escherichia coli* O157:H7 directed from slaughtered cattle in Shiraz,Iran. Razi Vaccine and Serum Research Institute. Iran.
- Takkinen, Johanna, Marc S., Taina N., Pia M., Valentina R., Alfredo C., Flemming S. 2011. Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority.
- Turner, K.M., Restaino L., Frampton E.W. 2000, Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detections in Foods, *Journal of Food Protection*, 63:4.
- Suardana, I W. 2009. Analisis Keanekaragaman Genetik dan Struktur Protein Shiga Like Toxin (*Stx*) *Escherichia coli* O157:H7 Isolat Lokal Sebagai Dasar Pengembangan Kloning Gen untuk Pembuatan Antibodi Monoklonal. UGM: Yogyakarta.
- Suardana, I W., I Nengah S., Wayan T. A. 2012. Aplikasi Kandidat Pemindai untuk Diagnosis Gen Shiga like toxin-2 dari *Escherichia coli* O157:H7. *Jurnal Veteriner* 13(4): 434-439.
- Watanabe, Y., *et al.* 1999. Factory Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Japan. *Emerging Infectious Diseases* 5 (3): 424-428.
- WHO (World Health Organization). 2011. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>