

DETEKSI BAKTERI *ENTEROHEMORRHAGIC ESCHERICHIA COLI* PADA LAWAR MERAH BABI DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) PADA WARUNG DI DENPASAR

Andien Nikita Tjoantara¹, I Wayan Surudarma², Ida Ayu Dewi Wiryanthini², I Wayan Gede Sutadarma²

¹ Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

² Departemen/Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

e-mail: andien.nikita81@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Lawar merah babi ialah makanan khas Bali yang terbuat dari daging babi, kulit babi, sayuran, kelapa, berbagai bumbu, serta darah segar sebagai pewarna merah. Pada proses pengolahan dan penyajian lawar merah babi, masih dilakukan secara tradisional, para penjual kurang memperhatikan kebersihan baik dari segi bahan yang sudah terkontaminasi bakteri, *personal hygiene*, serta peralatan yang tidak bersih yang menyebabkan kontaminasi bakteri *Escherichia coli* yang jika dikonsumsi akan bersifat patogen menyebabkan diare. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* khususnya patotipe *Enterohemorrhagic Escherichia coli* pada lawar merah babi yang dijual pada warung di Denpasar dengan teknik PCR. Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan menggunakan rancangan penelitian *cross-sectional*. Penentuan sampel memakai teknik *cluster purposive sampling* dengan jumlah sampel sebesar 13 sampel yang diambil pada warung di Denpasar. Seluruh sampel diperiksa di Laboratorium Biomedik Terpadu Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Prosedur penelitian dimulai dari sampel lawar merah babi yang di isolasi protein dengan *probe* 0.6 kemudian dilakukan isolasi DNA dengan menggunakan kit isolasi DNA. Setelah itu, dilakukan deteksi EHEC dengan menggunakan *stx-1* dan *stx-2* sebagai gen target menggunakan teknik PCR. Dari 13 sampel yang diteliti, didapatkan hasil tidak terdeteksi adanya patotipe EHEC pada seluruh sampel tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan yang didapat yaitu tidak ditemukan adanya kontaminasi bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* pada 13 sampel lawar merah babi yang dijual pada warung di Denpasar.

Kata kunci : Lawar merah babi, Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, PCR

ABSTRACT

Lawar merah babi is Balinese food made from pork, pork skin, vegetables, coconut, various spices, and fresh blood as a red dye. In the processing and serving lawar merah babi still done traditionally, the sellers pay less attention to cleanliness of materials that have been contaminated with bacteria, personal hygiene, and unclean equipment which cause contamination of *Escherichia coli* bacteria which if consumed, will be pathogenic and cause diarrhea. The purpose of this study was to discover the presence of *Escherichia coli* bacterial contamination, especially the *Enterohemorrhagic Escherichia coli* pathotype in lawar merah babi sold at stalls in Denpasar by PCR technique. This research is a descriptive study that used cross-sectional research design. The sampling used cluster purposive sampling technique with a total sample of 13 samples taken at stalls in Denpasar. All samples were examined at the Integrated Biomedical Laboratory, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Udayana University. The research procedure was started from lawar merah babi samples isolated from protein with a 0.6 probe, then DNA isolation was carried out using a DNA isolation kit. After that, EHEC detection was performed using *stx-1* and *stx-2* as target genes using PCR technique. Of the 13 samples studied, the results showed that no EHEC pathotype was detected in all of these samples. Depend on the results of the

study, reached the conclusions there was no *Enterohemorrhagic Escherichia coli* contamination found in 13 samples of lawar merah babi sold at stalls in Denpasar.

Keywords : Lawar merah babi, *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, PCR

1. PENDAHULUAN

Makanan ialah kebutuhan primer yang sepatutnya dipenuhi oleh makhluk hidup. Dengan beraneka ragam makanan yang ada seharusnya lebih berhati-hati dalam memilih makanan agar mendapat gizi yang optimal dan terhindar dari penyakit yang timbul akibat keracunan makanan. Menurut WHO, salah satu permasalahan kesehatan utama yang terjadi di dunia yaitu keracunan makanan atau penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*). Pada data di dunia, ditunjukkan bahwa setiap tahun sekitar 600 juta orang, 1 dari 10, menjadi sakit setelah mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi. Selain itu, disebutkan bahwa 420.000 orang meninggal, yang terdiri dari 125.000 anak di bawah usia 5 tahun, karena kerentanan populasi ini terhadap penyakit diare. Sekitar 43% kejadian terjadi pada pasien akibat *foodborne disease*, 70% dari *foodborne disease* dihasilkan dari makanan yang terkontaminasi dengan mikroorganisme¹.

Menurut data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menyebutkan tahun 2016 terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) penyakit diare pada tiga provinsi yaitu Sumatera Utara, Jawa Tengah, dan Nusa Tenggara Timur dengan tiga kabupaten yaitu Binjai, Kupang, dan Purworejo. Jumlah penderita sejumlah 198 orang dengan jumlah kematian sebanyak 6 orang atau dengan *Case Fatality Rate* (CFR) hingga 3.04% (tergolong tinggi karena CFR normal 1%). Sementara pada 2017, KLB penyakit diare terpencar pada 12 provinsi dengan 17 kabupaten/kota hingga terdata total orang yang menderita mencapai 1.725 orang yang mana dengan kematian 34 orang (CFR 1.97%)².

Berdasarkan Dinas Kesehatan Provinsi Bali yaitu pada tahun 2018, kejadian keracunan makanan mencapai 14 kasus. Penyebab KLB akibat keracunan makanan diduga disebabkan oleh bakteri dengan persentase 60%. Salah satu jenis bakteri yang sering mengakibatkan keracunan makanan yaitu bakteri *Escherichia coli*³. Berdasarkan statistik, persentase tersebut juga diakibatkan karena pengelolaan makanan yang tidak baik seperti minim memperhatikan faktor kebersihan akan menjadi pembawa bakteri *Escherichia coli* yang dapat mengganggu kesehatan seperti diare⁴.

Data-data tersebut menyebabkan kekhawatiran khususnya bagi masyarakat Bali yang cenderung mengkonsumsi makanan yang diolah dengan tangan tanpa pelindung seperti sarung tangan untuk memasak yang menyebabkan kemungkinan adanya kontaminasi bakteri. Dari beberapa makanan khas Bali, lawar merah babi adalah hidangan yang digemari dan banyak dijual di kota Denpasar. Lawar dibuat dari olahan daging biasanya daging babi dan

atau sayuran cincang⁵. Lawar babi dibagi menjadi dua yaitu lawar merah dengan berisi darah segar sedangkan lawar putih tanpa darah segar. Umumnya, dalam proses pembuatan lawar hanya didiamkan dalam suhu ruangan serta tanpa dimasak secara keseluruhan sehingga memungkinkan pertumbuhan bakteri. Pada beberapa penelitian sebelumnya mengenai lawar merah, di Sanur, Denpasar ditemukan adanya persentase kontaminasi *Escherichia coli* yang tinggi sebesar 60%, lain halnya dengan yang lebih tinggi ditemukan di daerah Ubud yaitu 83.3%. Namun, penelitian tersebut hanya menggunakan teknik pemupukan (metode konvensional) sehingga tidak menentukan keberadaan *E.coli* yang bersifat patogen. Terdapat lima patogen tipe (patotipe) *E.coli* yang mana infeksi *E. coli* patogen yang sering menimbulkan kejadian luar biasa yaitu pada *strain Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)⁶.

Dengan demikian, untuk dapat mendeteksi bakteri *Escherichia coli* pada lawar merah babi diperlukan teknik yang sesuai agar dapat menanggulangi kemungkinan KLB akibat *E. coli* yang bersifat patogen yaitu *Enterohemorrhagic Escherichia coli*. Beberapa metode telah digunakan untuk mendeteksi bakteri *Escherichia coli* pada makanan seperti metode konvensional seperti kultur/biakan, metode uji biokimia, dan uji serologis. Namun, teknik yang lebih sensitif dan spesifik digunakan yaitu teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)⁷. Metode ini memiliki banyak kelebihan yaitu dapat mengidentifikasi bakteri lebih sensitif, menghasilkan amplifikasi produk yang akurat, spesifik karena target yang digunakan merupakan gen spesifik pada bakteri yang diteliti, serta menggunakan jumlah sampel yang sedikit. Dengan menggunakan metode molekular dengan teknik PCR dapat mengatasi kelemahan diagnostik dari metode konvensional yaitu menentukan sub tipe dari *Escherichia coli* yang bersifat patogen⁸.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yaitu *forward* dan *reverse primer stx-1* dan *stx-2*, sampel lawar merah babi, bubuk *agarose* 1%, gel es, *Phosphate Buffered Saline* (PBS), kit isolasi DNA (terdiri dari *protein precipitation solution*, *nuclei lysis solution*, *cell lysis solution*, serta *DNA rehydration solution*), *buffer* TBE, *PCR master mix*, isopropanol, *ethanol* 70%, dan *ethidium bromide* (EtBr).

Penelitian ini menerapkan jenis penelitian deskriptif menggunakan tipe rancangan penelitian *cross-sectional*. Populasi terjangkau yakni warung lawar merah babi di

Denpasar. Sedangkan, untuk sampel penelitian yang digunakan yaitu lawar merah babi yang dijual tahun 2022 serta memenuhi kriteria inklusi. Teknik pengumpulan sampel yakni *cluster purposive sampling* dengan jumlah sampel menggunakan rumus Slovin dicari sebanyak 13 sampel yang dipilih secara acak dari warung lawar merah babi di Denpasar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan untuk pengambilan sampel dilakukan di Denpasar. Penelitian telah mendapat kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan rincian No:932/UN14.2.2.VII.14/LT/2022

Isolasi Protein dengan Probe 0.6

Pertama- tama, sampel lawar merah babi yang telah dikumpulkan disimpan di dalam *freezer* -20 °C sebelum digunakan. Kemudian, sampel dikeluarkan dari *freezer* kemudian dibiarkan dalam suhu ruangan. Sampel kemudian ditimbang dengan berat sekitar 0.5 gram. Tabung valcon 25 ml dan gel es atau es serut disiapkan. *Becker glass* ukuran volume 250 ml diisi gel es. Sampel lawar merah babi 0.5 gram diambil dan diletakkan pada tabung valcon kemudian ditambahkan 5 ml PBS dingin. Tabung valcon diletakkan di tengah gel es yang berada pada *becker glass*. *Becker glass* diletakkan pada meja didalam alat *ultrasonic*. Disesuaikan dengan keadaan alat *ultrasonic* yaitu kedalaman dan *probe* agar bisa menyentuh sampel lawar merah babi tapi tidak terlalu di dasar tabung valcon. Alat disetting dengan lama waktu 1 menit, *probe* bekerja 9 detik, istirahat selama 1 detik kemudian dilanjutkan menekan OK. Alat akan berbunyi yang bertanda *probe* bersentuhan dengan sampel.

Setelah selesai, alat akan berhenti dan berbunyi. Disiapkan *microtube* yang baru dan diberi kode. Tabung valcon dikeluarkan dan diambil cairan keruh dengan mikro pipet dengan volume sesuai cairan yang didapat. Dimasukkan dalam *microtube* volume 1.5 mL dan diletakkan dalam *cool box* yang berisi gel es. Setelah semua sampel dikerjakan seperti langkah- langkah tersebut, kemudian *dicentrifuge* kurang lebih dengan waktu 10 menit memakai kecepatan 12.000 rpm serta menggunakan suhu 4 °C. Disiapkan *microtube* yang baru dan diberi kode. Supernatant diambil dan dimasukkan dalam *microtube* yang telah disiapkan, ditaruh dalam *cool box*. Sampel disimpan dalam *freezer* -20 °C sebelum dilakukan ke pemeriksaan selanjutnya.

Isolasi DNA Lawar Merah Babi

Pertama- tama, *cell lysis solution* 900 µL ditambahkan dengan isolat protein 300 µL dan dicampurkan dengan cara tabung dibolak- balik, inkubasi menggunakan suhu ruang dengan waktu 10 menit. *Centrifuge* kecepatan maksimal sebesar 12.000 rpm selama 20 detik. Hal yang dilakukan selanjutnya yaitu supernatant dibuang. Ditambahkan *nuclei lysis solution* 300 µL, homogenkan dengan pipet. Ditambahkan protein *precipitation solution* 100 µL dan

divortex. *Centrifuge* kecepatan maksimal sebesar 12.000 rpm dengan waktu selama kurang lebih 3 menit.

Kemudian supernatant ditransfer ke tabung baru yang telah berisi 300 µL isopropanol, tabung dibolak- balik secara perlahan. *Centrifuge* kecepatan maksimal (12.000 rpm) dengan lama waktu 1 menit. Supernatant dibuang kemudian ditambahkan 70% *ethanol* sejumlah 300 µL, dicampur dengan cara membolak- balik tabung. *Centrifuge* kecepatan maksimal (12.000 rpm) dengan lama waktu 1 menit. *Ethanol* dibuang secara hati- hati agar tidak merusak pellet. Lalu pellet dikering anginkan dengan waktu kurang lebih 10-15 menit. Kemudian dilakukan penambahan *DNA rehydration solution* dengan jumlah 100 µL. Hal selanjutnya yaitu dilakukan inkubasi menggunakan suhu ruang selama 20 menit. Akhirnya, *microcentrifuge tube* yang berisi DNA kemudian disimpan dalam *freezer* -20°C.

Deteksi Enterohemorrhagic Escherichia coli dengan Teknik PCR

Dalam deteksi bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan *stx-1* dan *stx-2* sebagai gen target yang khas. Target gen *stx-1* dengan *primer* F: 5'-CAGTTAATGTGGTGGCGAAGG-3' dan R: 5'-CACCAGACAATGTAACCGCTG-3' serta target gen *stx-2* dengan *primer* F: 5'- ATCCTATTCCCGGGAGTTTACG -3' dan R: 5'- GCGTCATCGTATACACAGGAGC-3'. Pertama- tama yang akan dilakukan yaitu *primer stx-1* dan *stx-2* diencerkan yang dilakukan dengan tiap *primer* ditambahkan ddH₂O sesuai manual kit *primer* agar mendapatkan konsentrasi 100 µM. Setelah itu, diencerkan kembali dengan diambil 1 µL kemudian ditambah 9 µL ddH₂O sehingga mendapatkan konsentrasi *primer* 10 µM.

Setelah itu, campuran reaksi dibuat untuk PCR yaitu PCR *mix* yang dibuat dengan campuran *master mix* 5 µL,

	Sampel	Base pair (bp)	Gen <i>stx-1</i>
nucle ase free water (ddH ₂ O) 3.8 µL, prime r F 0.4 µL, prime r R 0.4 µL, dan DNA 0.4 µL. Setela h itu,	A1	-	Negatif
	B1	-	Negatif
	C1	-	Negatif
	D1	-	Negatif
	E1	-	Negatif
	F1	-	Negatif
	G1	-	Negatif
	H1	-	Negatif
	I1	-	Negatif
	J1	-	Negatif
	K1	-	Negatif
	L1	-	Negatif
	M1	-	Negatif

dilakukan amplifikasi menggunakan PCR. Amplifikasi PCR dilakukan sejumlah 30 siklus yaitu pre-denaturasi yang dilakukan dengan pengaturan waktu 3 menit menggunakan suhu 95°C. Selanjutnya, denaturasi selama 30 detik memakai suhu 95°C, *annealing* selama 30 detik memakai suhu 50°C, ekstensi selama 2 menit memakai suhu 72°C, serta ekstensi akhir selama 10 menit dengan memakai suhu 72°C¹⁰.

Selama menunggu proses amplifikasi PCR, disiapkan untuk elektroforesis yaitu dibuat gel *agarose* dengan bubuk *agarose* yang ditimbang sebanyak 0.5 gram. Kemudian, bubuk *agarose* dilarutkan dengan 50 mL buffer TBE 0.5X dan ditambah 5 µL EtBr. Dipasang *comb* pada cetakan dan dituangkan larutan agarosa lalu didiamkan sampai beku. Setelah produk PCR didapat dari hasil amplifikasi, sebanyak

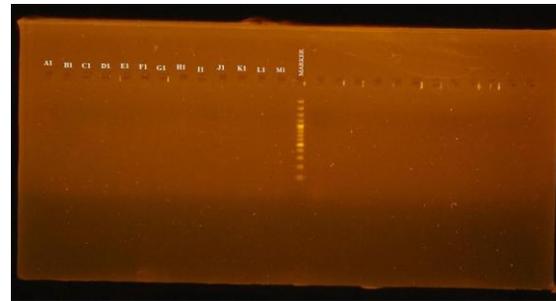
Sampel	Base pair (bp)	Gen <i>stx-2</i>
A2	-	Negatif
B2	-	Negatif
C2	-	Negatif
D2	-	Negatif
E2	-	Negatif
F2	-	Negatif
G2	-	Negatif
H2	-	Negatif
I2	-	Negatif
J2	-	Negatif
K2	-	Negatif
L2	-	Negatif
M2	-	Negatif

0.3 µL produk diletakkan pada lubang yang dibentuk *comb*/sumur gel *agarose* pada cetakan agarosa (lakukan pada seluruh produk). Lalu salah satu lubang diisi

penanda marker *stx* sebanyak 0.1 µL kemudian dielektroforesis selama 40 menit dengan tegangan 50 volt¹¹. Setelah itu, gel diamati menggunakan sinar *ultraviolet* untuk mendeteksi keberadaan *Enterohemorrhagic Escherichia coli* sesuai jumlah dan pola *base pair* yang terbentuk¹².

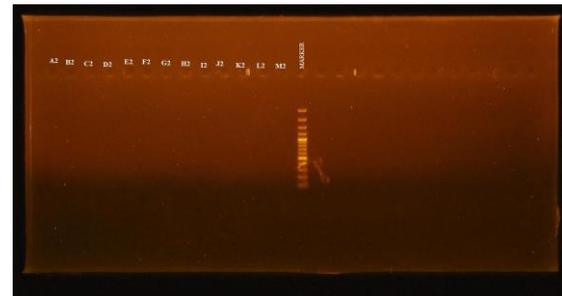
3. HASIL

Berdasarkan PCR yang telah dilakukan pada 13 sampel lawar merah babi, tidak ditemukan adanya kontaminasi dari bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli*



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen *stx-1* (384 bp)

Tabel 1. Hasil Identifikasi PCR Gen *stx-1* patotipe EHEC



Gambar 2. Hasil elektroforesis gen *stx-2* (584 bp)

Tabel 2. Hasil Identifikasi PCR Gen *stx-2* patotipe EHEC

Hasil elektroforesis pada gambar 1, tidak ditemukan adanya pita 388 bp pada *stx-1* pada seluruh sampel serta pada gambar 2, tidak ditemukan adanya pita 584 bp pada *stx-2* pada seluruh sampel. Sehingga disimpulkan bahwa tidak terdeteksi adanya gen *stx-1* dan *stx-2* pada seluruh sampel.

4. PEMBAHASAN

Lawar ialah makanan khas Bali yang diminati para masyarakat lokal bahkan wisatawan yang dibuat dari daging (biasanya daging babi) serta sayuran cincang yang dalam proses pengolahan dan penggunaan bahannya memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri¹³. Pada proses pengolahan dan penyajiannya, para penjual biasanya kurang memperhatikan kebersihan baik dari segi bahan yang sudah terkontaminasi bakteri, *personal hygiene*, sanitasi yang kurang baik, serta peralatan yang digunakan tidak bersih. Pada umumnya, dalam pengolahan lawar, bahan-bahan dicampur menggunakan tangan secara langsung (tanpa pelindung tangan seperti sarung tangan) serta diolah dengan sederhana bahkan tanpa dimasak. Kemudian, lawar akan disimpan di suhu ruang ketika akan dijual pada warung dan rumah makan. Penyajian yang tidak ditutup

memungkinkan untuk terpapar lingkungan luar dan hinggapnya alat. Selain faktor eksternal tersebut, bakteri dengan mudah untuk bertumbuh karena pengaruh faktor internal seperti pH, suhu, dan kelembapan¹⁴.

Lawar umumnya terdapat dua jenis seperti lawar merah (karena dicampur dengan darah) dan lawar putih yang mana dilaporkan bahwa lebih banyak kejadian luar biasa *food-borne disease* disebabkan oleh lawar merah. Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui adanya kontaminasi dari bakteri *Escherichia coli* dengan patotipe *Enterohemorrhagic Escherichia coli* pada sampel lawar merah babi. Faktor virulensi utama dari bakteri EHEC merupakan *shiga-like toksin 1 (stx-1)* dan *shiga-like toksin 2 (stx-2)* sehingga nantinya *primer* yang digunakan untuk mendeteksi *Enterohemorrhagic Escherichia coli* adalah penanda virulensi gen *stx-1* dan *stx-2*¹⁵.

Dari hasil penelitian dengan menggunakan 13 sampel lawar merah babi yang diambil pada warung di Denpasar, tidak ditemukan adanya kontaminasi dari bakteri *Escherichia coli* patotipe *Enterohemorrhagic Escherichia coli*. Hal tersebut ditunjukkan melalui tidak ditemukan adanya pita 348 bp pada gen *stx-1* serta tidak ditemukan adanya pita 584 bp pada gen *stx-2* pada seluruh sampel setelah diamplifikasi dengan metode PCR dan divisualisasi pada *gel agarose* dengan elektroforesis. Sehingga disimpulkan bahwa tidak terdeteksi adanya gen *stx-1* dan *stx-2* pada seluruh sampel. Jika dilihat pada penelitian oleh Trisdayanti dkk pada tahun 2015, ditemukan koloni bakteri >10⁶ CFU/gr yaitu sejumlah 44.2% atau sekitar 46.5% dari lawar yang positif *E.coli*. Selanjutnya, ditemukan dari 20% sampel yang terkontaminasi *E.coli* nampak suatu gambaran ukuran yang menyerupai *stx-1*⁶. Sedangkan penelitian serupa lainnya yang dilakukan oleh Yulianto dkk pada tahun 2019, meneliti tentang tingkat kontaminasi dari bakteri *E. coli* pada lawar merah di wilayah Kota Denpasar mendapat hasil berupa kontaminasi bakteri *E. coli* pada sampel lawar merah babi sejumlah 8 sampel (67%) dari 12 sampel yang diperiksa, terkontaminasi *Escherichia coli* dengan rerata jumlah koloni yaitu 17 x 10⁴ CFU/g¹⁶.

Hasil positif pada penelitian- penelitian sebelumnya karena mencari jumlah koloni bakteri terlebih dahulu dengan *Total Plate Count (TPC)* memakai media yaitu *Plate Count Agar (PCA)*. Kemudian, mencari keberadaan *E.coli* dengan metode pemupukan dengan media EMBA, setelah itu *E. coli* diidentifikasi dengan pengecatan gram serta uji *Sulfit Indol Motility*. Hingga tahapan terakhir dengan PCR untuk uji keberadaan gen virulensinya⁵. Sedangkan pada penelitian ini, langsung mencari keberadaan gen virulensi bakteri EHEC yaitu *stx-1* dan *stx-2*. Hasil negatif pada penelitian ini digambarkan dengan tidak ditemukannya gen *stx-1* dan *stx-2* disebabkan karena diduga sanitasi dan *personal hygiene* penjual sudah cukup baik, tidak dilakukannya metode konvensional untuk mencari keberadaan koloni bakteri secara keseluruhan, serta identifikasi keberadaan gen virulensi yang dilakukan tidak menemukan target gen spesifik yang ingin dicari yaitu

Enterohemorrhagic Escherichia coli yang mana diperlukan target gen spesifik patotipe *Escherichia coli* lainnya untuk mencari tahu adakah kontaminasi patotipe *Escherichia coli* lainnya pada lawar merah babi. Kelemahan dari penelitian ini adalah pada identifikasi gen *stx-1* dan *stx-2* patotipe EHEC ini tidak menggunakan kontrol positif dikarenakan keterbatasan dalam hal alat dan bahan penelitian sehingga hasil identifikasi PCR menjadi kurang lengkap.

5. SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang didapatkan yaitu tidak ditemukan adanya kontaminasi dari bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* pada 13 sampel lawar merah babi yang dijual pada warung di Denpasar. Hal tersebut ditunjukkan melalui tidak ditemukan adanya pita 348 bp pada gen *stx-1* dan tidak ditemukan adanya pita 584 bp pada gen *stx-2* pada seluruh sampel setelah diamplifikasi dengan metode PCR dan divisualisasi pada *gel agarose* dengan elektroforesis.

Saran penelitian ini adalah perlu dilaksanakan penelitian lebih lanjut mengenai sub tipe atau patotipe lain pada sampel lawar merah babi sehingga bisa mendapatkan pembuktian terkait jenis sub tipe atau patotipe yang tumbuh pada sampel lawar merah babi.

Untuk para penjual lawar merah babi diharapkan agar dapat mengolah lawar merah babi dengan higienis dan menggunakan sanitasi yang baik, serta pemilihan daging dan darah yang segar dan sehat agar mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli* khususnya yang bersifat patogen yaitu *Enterohemorrhagic Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. Saudi Med J. 2016. 37(1), 109–110.
2. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia 2018. Kemenkes RI. Health Statistics. Jakarta. 2018. 207 p.
3. Dinas Kesehatan Provinsi Bali. Dinkes Cegah KLB Keracunan Pangan – Dinas Kesehatan Provinsi Bali. 2020.45 p.
4. Riyanto A, Abdillah AD. Faktor yang Memengaruhi Kandungan E. coli Makanan Jajanan SD di Wilayah Cimahi Selatan. Maj Kedokt Bandung. 2012;44(2):77-82.
5. Sari NPN. Gambaran Keadaan Sanitasi Warung Makan Nasi Lawar di Desa Guwang Kecamatan Sukawati Kabupaten Gianyar Tahun 2018. Biomass Chem Eng. 2018.5-15p
6. Trisdayanti NPE, Sawitri AAS, Sujaya IN. Higiene Sanitasi dan Potensi Keberadaan Gen Virulensi E. Coli pada Lawar di Kuta: Tantangan Pariwisata dan Kesehatan Pangan di Bali Hygiene , Sanitation and Potential Existence of Virulent Genes of E . coli in

- Lawar Bali in Kuta: The Challenge for Tour. *Public Heal Prev Med.* 2015;3(2):124–32.
7. Widyastuti DA. Deteksi Molekuler Mikroorganisme Patogen pada Bahan Pangan dengan Metode RT-PCR. *J Ilmu Pangan dan Has Pertan.* 2017;1(1):54.
 8. Lopes ATS, Albuquerque GR, Maciel BM. Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction for Simultaneous Quantification of *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* in Different Food Matrices: Advantages and Disadvantages. *Biomed Res Int.* 2018;2018: 6104015.
 9. Tobias J, Vutukuru SR. Simple and rapid multiplex PCR for identification of the main human diarrheagenic *Escherichia coli*. *Microbiol Res.* 2012;167(9):564–70.
 10. Sogandi. Biologi Molekuler Identifikasi Bakteri secara Molekuler. E - ISSN, jurnal kajian teknik elektro. 2018.
 11. Navarro E, Serrano-Heras G, Castaño MJ, Solera J. Real-time PCR detection chemistry. *Clinica Chimica Acta.* 2015; 439, 231–250.
 12. Lee PY, Costumbrado J, Hsu CY, Kim YH. Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *J Vis Exp.* 2012; (62):3923.
 13. Veronica S, Agus Hendrayana M, Sukrama IDM. Kualitas Mikrobiologis Sampel Lawar Merah Babi Menggunakan Metode Total Plate Count. *J Med Udayana.* 2019;9(9):1–9.
 14. Arnia, Warganegara E. Identifikasi Kontaminasi Bakteri Coliform Pada Daging Sapi Segar Yang Dijual Di Pasar Sekitar Kota Bandar Lampung. *Med J Lampung Univ.* 2013;5(2)5-8.
 15. Bakri Z, Hatta M, Massi MN. Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR. *JST Kesehat.* 2017;5(2):184–92.
 16. Yulianto D, Sukrama IDM, Hendrayana MA. Isolasi bakteri *Escherichia coli* pada lawar merah babi di kota Denpasar. *Intisari Sains Medis.* 2019;10(1):53–6.