

IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* SUBTIPE *Enteroaggregative Escherichia coli* DAN *Enteropathogenic Escherichia coli* DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* PADA SATE DAGING BABI DI KOTA DENPASAR

I Dw. Gd. Bayu Artha Pratama Putra¹, I Dewa Made Sukrama^{2*}, Ni Nyoman Sri Budayanti², Made Agus Hendrayana²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Departemen Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

korespondensi: dewa_sukrama@yahoo.co.id

ABSTRAK

Sate daging babi merupakan kuliner tradisional khas pulau Bali yang bahan dasarnya adalah daging babi. Pada daging babi terdapat bakteri *Escherichia coli* yang merupakan flora normal pada hewan babi, sehingga jika tidak diolah dengan benar dan higienis maka berpotensi tercemar bakteri *Escherichia coli* dari daging babi maupun pada proses pengolahannya yang dapat menyebabkan diare jika dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* serta sub tipe EAEC dan EPEC pada sate daging babi di Kota Denpasar. Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan rancangan penelitian observasional. Pada penelitian ini menggunakan teknik *cluster purposive sampling* dengan banyak sampel sebesar 16 sampel yang di ambil pada setiap kecamatan di Kota Denpasar. Seluruh sampel diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Sampel dikultur pada media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) dan hasil positif bakteri *Escherichia coli* dari proses kultur dilanjutkan ke tahap identifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dari 16 sampel sate daging babi yang diuji kultur didapatkan 9 (56%) sampel positif bakteri *Escherichia coli*. Seluruh sampel positif tersebut dilanjutkan ke proses identifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan didapatkan hasil tidak terdeteksi adanya sub tipe EAEC dan EPEC pada seluruh sampel positif tersebut. Pada penelitian ini sebagian besar sampel sate daging babi tercemar oleh bakteri *Escherichia coli*, namun setelah diidentifikasi molekuler tidak ditemukan adanya sub tipe EAEC dan EPEC pada seluruh sampel yang positif bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci : Sate daging babi., *Escherichia coli*., Diare.

ABSTRACT

Pork satay is a traditional Balinese dish whose basic ingredient is pork. Pork contains *Escherichia coli* bacteria which is a normal flora in pigs, so if it is not processed properly and hygienically, it has the potential to be contaminated with *Escherichia coli* bacteria from pork or in the processing process which can cause diarrhea if consumed. This study aims to identify the presence of *Escherichia coli* bacteria contamination as well EAEC and EPEC subtypes on pork satay in Denpasar City. This research is a descriptive study with an observational research design. In this study, using *cluster purposive sampling* technique with 16 samples taken from each sub-district in Denpasar City. All samples were examined at the Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Udayana University. The samples were cultured on *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) media and the positive results of *Escherichia coli* bacteria from the culture process were continued to the identification stage using the *Polymerase Chain Reaction* (PCR) method. Of the 16 samples of pork satay tested for culture, 9 (56%) samples were positive for *Escherichia coli* bacteria. All positive samples were continued with the identification process using the *Polymerase Chain Reaction* (PCR) method and the results showed no one of EAEC and EPEC subtypes were detected in all positive samples. In this study, most of the pork satay samples were contaminated with *Escherichia coli* bacteria, but after molecular identification, no one of EAEC and EPEC subtypes were found in all samples that were positive for *Escherichia coli* bacteria.

Keywords : Pork satay, *Escherichia coli*, Diarrhea.

PENDAHULUAN

Diare merupakan penyakit yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali atau lebih dalam sehari disertai feses yang encer atau cair. Penyakit ini merupakan gejala infeksi gastrointestinal yang disebabkan oleh bakteri, virus dan parasit. Diare menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dan juga dari individu ke individu lainnya sebagai dampak dari sanitasi dan kualitas kebersihan yang buruk.¹

Terdapat 2 milyar kasus diare yang terjadi pada orang dewasa setiap tahunnya di dunia. Insiden kasus diare telah mencapai 200 juta sampai 300 juta kasus setiap tahunnya di negara Amerika Serikat. Sekitar 900 ribu kasus diantaranya memerlukan perawatan lanjutan di rumah sakit. Di seluruh dunia, total sekitar 2,5 juta kasus diare menyebabkan kematian setiap tahunnya. Di negara Amerika Serikat mortalitas diare paling tinggi pada kalangan lanjut usia. Pada data studi mortalitas nasional dilaporkan lebih dari 28.000 kematian disebabkan oleh diare dalam kurun waktu 9 tahun dan sekitar 51% dari angka tersebut terjadi pada lanjut usia. Sampai saat ini diare masih menjadi penyebab kematian anak di seluruh dunia meski pengobatannya sudah mengalami kemajuan.^{2,3} Di Indonesia pada tahun 2016 penderita diare yang tercatat adalah sebanyak 6.897.463 orang dengan angka morbiditas sekitar 200-400 kasus per 1000 orang setiap tahunnya dan diperkirakan jumlah kasus diare adalah 60 juta kasus pertahunnya.^{4,5} Kasus diare pada Provinsi Bali sampai saat ini masih cukup tinggi. Pada tahun 2017 kasus diare di Provinsi Bali mencapai angka 114.656 orang dengan morbiditas 270 kasus per 1000 orang, meningkat dari tahun sebelumnya yaitu 27 kasus per 1000 orang. Untuk kasus diare yang telah ditangani pada tahun 2016 adalah sebanyak 114.656 kasus menurun menjadi 63.293 kasus pada tahun 2017. Di RSUD Provinsi Bali, jumlah pasien diare yang dirawat inap pada tahun 2017 adalah sebanyak 3.061 orang dan untuk di RSUD yang ada di Provinsi Bali jumlah pasien diare yang dirawat jalan adalah sebanyak 5.724 orang.⁶

Diare sebagian besar disebabkan oleh infeksi dari bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Vibrio Cholera* dan jenis bakteri lainnya. Seseorang yang terinfeksi diare jika tidak mendapatkan penanganan yang tepat dan cepat dapat menyebabkan dehidrasi parah dan bahkan bisa mengancam jiwa pasien. Dari agent-agent diare tersebut bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab diare terbanyak kedua setelah rotavirus.^{7,8}

Penyebab diare akibat bakteri *Escherichia coli* yang paling sering terjadi disebabkan oleh galur *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC) yang memiliki beberapa sub tipe. Diantara subtipenya, *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) yang sangat patogen dan kasus diare yang disebabkan sub tipe ini sering terjadi di negara berkembang. Sub tipe *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) menjadi penyebab diare pada orang dewasa dan yang paling sering menyebabkan diare pada anak. Sub tipe *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) sebagai penyebab terjadinya diare persisten pada negara berkembang dan *watery diarrhea* pada anak, serta menjadi penyebab tersering kedua kejadian *travelers' diarrhea*.⁹

Sate daging babi merupakan kuliner yang sangat digemari oleh masyarakat Bali. Hal tersebut karena makanan ini memiliki rasanya yang gurih dan juga harganya yang terjangkau. Sate daging babi merupakan kuliner khas Bali yang cara penyajiannya masih

tradisional. Sate ini dapat kita temui diberbagai tempat wisata atau hiburan masyarakat ramai salah satunya di Kota Denpasar. Namun dibalik rasa gurih yang diberikan dan juga harga yang murah terdapat sisi negatif dari sate daging babi ini. Dilihat dari cara pengolahan sate daging babi ini yang masih tradisional dan tidak higienis, berpotensi terkontaminasi bakteri patogen salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli* yang ikut terbawa bersama sate tersebut baik pada saat proses pengolahan maupun penyajiannya. Hal ini tentu sangat berbahaya bagi masyarakat yang dapat menyebabkan diare jika dikonsumsi.

Berdasarkan data tersebut peneliti ingin meneliti lebih lanjut mengenai kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada daging sate babi, serta meneliti apakah terdapat sub tipe *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) pada daging sate babi yang terkontaminasi bakteri *Escherichia coli*. Dalam proses identifikasi bakteri *Escherichia coli* peneliti menggunakan metode kultur dan untuk mengidentifikasi sub tipe *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) peneliti menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).¹⁰

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menerapkan jenis penelitian deskriptif dengan rancangan penelitian observasional. Populasi terjangkau penelitian ini adalah pedagang sate daging babi di Kota Denpasar. Sedangkan, untuk sampel penelitian yang digunakan yaitu sate daging babi yang dijual di Kota Denpasar tahun 2021 serta memenuhi kriteria inklusi. Penelitian ini menggunakan teknik *cluster purposive sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 16 sampel yang diambil dari 4 pedagang sate daging babi disetiap kecamatan di kota Denpasar.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan untuk pengambilan sampel penelitian dilakukan di Kota Denpasar. Penelitian telah mendapat kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan rincian No:279/UN14.2.2.VII.14/LT/2021.

Kultur Bakteri pada Sampel Sate Daging Babi

Sampel sate daging babi dihaluskan dan diambil sebesar 1 gram, lalu ditumbuhkan pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang sudah disiapkan dan diberikan label. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Pada seluruh sampel tampak adanya gelembung-gelembung gas pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) dan dilanjutkan ke tahap inokulasi pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMB) dengan metode *quadrant streak* dan diinkubasi kembali selama 1x24 jam dengan suhu 37°C dan posisi cawan terbalik. Setelah diinkubasi pada media selektif *Eosin Methylene Blue Agar* (EMB) ditemukan pertumbuhan bakteri dengan koloni berwarna hijau metalik dengan titik hitam ditengahnya yang menandakan positif bakteri *Escherichia coli*. Setelah didapatkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dilakukan subkultur dengan media yang sama dan langkah yang sama.

Identifikasi PCR untuk Mendeteksi Sub tipe EPEC dan EAEC pada Bakteri *Escherichia coli*

Dalam proses identifikasi dengan metode PCR bakteri *Escherichia coli* sub tipe EAEC menggunakan CVD432 sebagai gen target sedangkan sub tipe EPEC menggunakan *bfpA* sebagai gen target.

Tabel 1. Daftar primer, sekuens dan ukuran bp gen target PCR.¹¹

Target gen	Primer	bp
<i>bfpA</i>	GGAAGTCAAATTCAT GGGGGTAT	300
	GGAATCAGACGCAGA CTGGTAGT	
CVD432	CTGGCGAAAGACTGT ATCAT	630
	AAATGTATAGAAATC CGCTGTT	

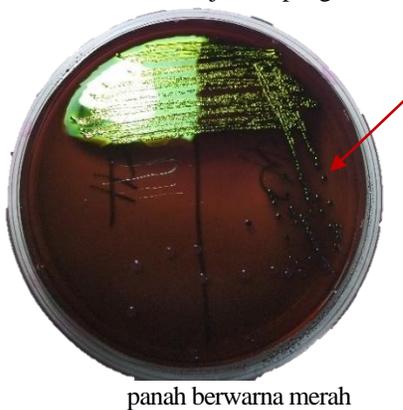
Tahap pertama adalah Isolasi DNA dengan metode *boiling*, sejumlah 10 mL kultur bakteri murni yang telah dilarutkan dengan *buffer* TE dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Setelah itu suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 8000rpm selama 1 menit pada suhu 22°C untuk mendapatkan DNA murni. Lalu DNA disimpan pada suhu -20°C yang akan digunakan sebagai *template* PCR.

Selanjutnya DNA murni yang telah didapatkan dimasukkan ke dalam program PCR unipleks dengan mencampur *taq polymerase* dan *ReadyMix* dengan primer EPEC dan EAEC sebagai produk PCR. Selanjutnya dilakukan tahap *annealing* dengan suhu 58°C untuk gen *bfpA* dan 48°C untuk gen CVD432, dilanjutkan dengan tahap ekstensi. Setelah didapatkan hasilnya kemudian masing-masing produk PCR sebesar 2 µL diambil untuk elektroforesis selama 35 menit dengan tegangan 100volt. Lalu gambaran hasil elektroforesis dibaca dengan bantuan gel agarose dibawah sinar UV.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian ini, jumlah sampel sate daging babi yang ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebanyak 9 dari 16 sampel yang telah memenuhi kriteria inklusi.

Gambar 1. Koloni bulat hijau kilap logam ditunjukkan oleh



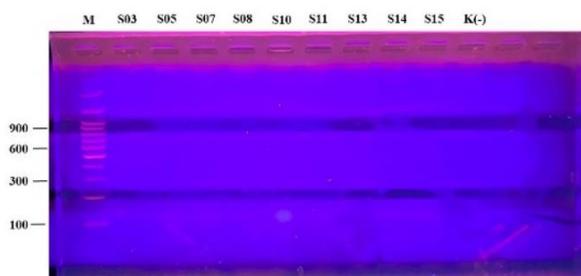
Dari hasil kultur sampel sate daging babi pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sampel (03), (05), (07), (08), (10), (11), (13), (14), (15) ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan gambaran koloni bakteri berwarna hijau kilap logam dengan titik hitam ditengahnya. Sedangkan sisa sampel lainnya ditemukan pertumbuhan bakteri namun berwarna ungu dan hitam serta tidak ditemukan koloni bakteri berwarna hijau kilap logam dengan titik hitam ditengahnya. Sehingga didapatkan sebanyak 9 sampel positif (+) dan sebanyak 7 sampel negatif (-).

Tabel 2. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dari hasil kultur sampel sate daging babi pada media EMBA

Sampel	Gambaran Koloni	Pertumbuhan <i>E. coli</i>
01	Irreguler, hitam dan ungu, tepi undulate	Negatif
02	Irreguler, ungu dan hitam, tepi undulate	Negatif
03	Irreguler, hijau kilap logam, tepi undulate	Positif
04	Bulat, hitam, tepi entire	Negatif
05	Bulat, hijau kilap logam dan ungu, tepi entire	Positif
06	Irreguler, ungu dan hitam, tepi entire	Negatif
07	Punchtiform, ungu dan hijau kilap logam, tepi entire	Positif
08	Punchtiform, hijau kilap logam dan ungu, tepi entire	Positif
09	Irreguler, ungu dan hitam, tepi undulate	Negatif
10	Irreguler, ungu dan hijau kilap logam, tepi entire	Positif
11	Bulat, ungu, hitam dan hijau kilap logam, tepi entire	Positif
12	Bulat, ungu dan hitam, tepi entire	Negatif
13	Bulat, hitam dan hijau kilap logam, tepi entire	Positif
14	Bulat, hijau kilap logam, tepi entire	Positif
15	Bulat, hijau kilap logam, tepi entire	Positif
16	-	Negatif

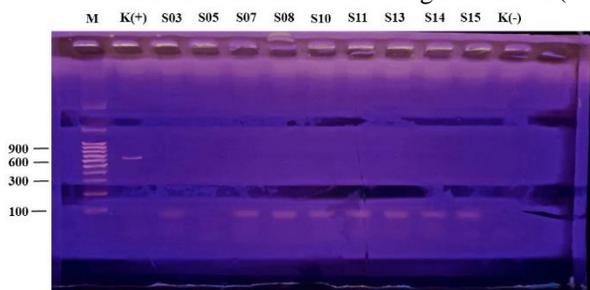
Hasil elektroforesis pada Gambar 2, tidak ditemukan adanya pita pada 300 bp dan juga dengan kontrol negatif sehingga disimpulkan tidak terdeteksi adanya gen *bfpA* pada seluruh sampel.

Gambar 2. Hasil elektroforesis gen *bfpA* (300bp)



Sedangkan pada Gambar 3, ditemukan adanya pita dengan 100 bp pada sampel (03), (07), (08), (10), (11), (13), (14), (15) dan tidak ditemukan adanya pita pada sampel (05) dan kontrol negatif. Namun ditemukan adanya pita pada kontrol positif gen CVD432. Sehingga disimpulkan bahwa tidak terdeteksi adanya gen CVD432 pada seluruh sampel.

Gambar 3. Hasil elektroforesis gen CVD432 (630bp)



Tabel 3. Hasil elektroforesis gen *bfpA* sub tipe EPEC

Sampel	Bispare (Bp)	Gen <i>bfpA</i>
03	-	Negatif
05	-	Negatif
07	-	Negatif
08	-	Negatif
10	-	Negatif
11	-	Negatif
13	-	Negatif
14	-	Negatif
15	-	Negatif
K(-)	-	Negatif

Tabel 4. Hasil elektroforesis gen *bfpA* sub tipe EPEC

Sampel	Bispare (Bp)	Gen <i>bfpA</i>
03	100bp	Negatif
05	-	Negatif
07	100bp	Negatif
08	100bp	Negatif
10	100bp	Negatif
11	100bp	Negatif
13	100bp	Negatif
14	100bp	Negatif
15	100bp	Negatif
K(+)	630bp	Positif
K(-)	-	Negatif

PEMBAHASAN

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu penyebab tersering terjadinya diare pada manusia serta menjadi indikator adanya cemaran pada lingkungan. Terdapat 5 jenis sub tipe *Escherichia coli* yang sering menjadi penyebab penyakit diare, yaitu *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC), *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) dan *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC).¹² Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya cemaran bakteri *Escherichia coli* pada sate daging babi serta meneliti ada atau tidaknya sub tipe *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC) dan *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) pada sampel sate daging babi.

Dari hasil penelitian menunjukkan terdapat cemaran bakteri *Escherichia coli* pada sampel sate daging babi sebanyak 9 dari 16 sampel dari hasil kultur menggunakan media selektif *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Hal ini juga ditemukan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Raza dkk pada tahun 2012 mengenai beban cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging asap se'i babi di kota kupang yang memiliki cara pemasakan hampir sama dengan sate daging babi. Dari penelitian tersebut didapatkan cemaran bakteri *Escherichia coli* pada seluruh sampel yang diteliti yaitu sebanyak 6 sampel.¹³ Lalu pada penelitian Yulianto dkk tahun 2019 yang meneliti tentang cemaran bakteri *Escherichia coli* pada lawar merah di Kota Denpasar yang menggunakan daging babi didapatkan juga kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada sampel lawar merah babi sebanyak 8 sampel dari 12 sampel yang diteliti.¹⁴ Serta pada daging babi di Tirupati India yang diteliti oleh Chaitanya dkk tahun 2021 didapatkan cemaran bakteri *Escherichia coli* pada sampel daging babi sebanyak 16 dari 120 sampel.¹⁵ Hasil positif cemaran bakteri *Escherichia coli* pada sate daging babi bisa disebabkan pada proses pengolahan serta penyajian sate daging babi tersebut. Menurut penelitian yang dilakukan Syamsir tahun 2010, kontaminasi bakteri *Escherichia coli* bisa berawal dari proses pemotongan yang sudah terkontaminasi bakteri akibat bakteri *Escherichia coli* dari saluran pencernaan babi yang dapat mencemari daging saat proses pemotongan. Dilanjutkan dengan kontaminasi silang dari alat yang digunakan seperti pembersihan daging yang menggunakan air keran dan wadah yang dipakai secara berulang-ulang serta tidak

dicuci dengan benar.¹⁶ Lalu pada proses penusukan daging penjual tidak mencuci tangan dengan benar dan tidak menggunakan sarung tangan steril dapat menyebabkan cemaran bakteri *Escherichia coli*. Pada proses pemasakannya, sate daging babi dimasak hanya sebentar tidak hingga matang menyebabkan tidak semua bakteri *Escherichia coli* hangus saat proses pemanggangan serta dalam penghidangannya sate daging babi tersebut tidak tertutup sehingga mengalami kontak langsung dengan lingkungan luar yang dapat mengundangi lalat untuk hinggap. Lalat merupakan agen penyalak *enteric bacteria* yang salah satunya adalah sebagai agen *Escherichia coli*.¹⁷ Hal ini dapat menyebabkan bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh pada sate daging babi tersebut.

Pada hasil identifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) tidak ditemukan adanya pita yang sesuai dengan ukuran bp gen target CVD432 dan *bfpA* pada seluruh sampel dari hasil elektroforesis. Dari hasil elektroforesis sampel terhadap gen target CVD432 ditemukan adanya pita pada gel, namun pita tersebut berukuran 100 bp sedangkan ukuran bp CVD432 menurut Tobias adalah 630 bp.¹¹ Pita tersebut kemungkinan merupakan pita DNA kontaminasi yang didapat saat proses ekstraksi DNA sampel. Lalu pada identifikasi gen *bfpA* juga tidak ditemukan adanya pita pada gel elektroforesis dari seluruh sampel yang diperiksa.

Hasil negatif pada identifikasi gen CVD432 dan *bfpA* bisa disebabkan sampel yang positif bakteri *Escherichia coli* tersebut merupakan jenis gen target patogen lainnya dari sub tipe yang berbeda. Hal serupa didapatkan juga pada penelitian yang dilakukan oleh Chaitanya dkk tahun 2021, dari penelitian tersebut sampel daging babi yang positif bakteri *Escherichia coli* tidak ditemukan adanya gen target CVD432 pada sampel tersebut.¹⁵ Tidak ditemukannya gen target CVD432 pada penelitian ini juga sesuai dengan hasil penelitian Zhang dkk pada tahun 2016 yang menyatakan bahwa ada kemungkinan babi bukan *reservoir* sub tipe EAEC sehingga gen CVD432 tidak ditemukan pada pemeriksaan PCR.¹⁸

Gen target yang digunakan pada pemeriksaan molekuler kali ini adalah gen *bfpA* merupakan patotipe EPEC jenis tipikal. Hasil negatif gen *bfpA* pada sampel kemungkinan terjadi karena bakteri *Escherichia coli* pada sampel merupakan patotipe EPEC jenis atipikal yang persebarannya semakin meningkat. Dari hasil penelitian Cho dkk tahun 2020 yang meneliti karakteristik *Diarrheagenic Escherichia coli* pada daging babi di pasar Korea didapatkan hasil positif atipikal EPEC pada sampel daging babi namun negatif pada tipikal EPEC yang dapat menjadi alasan tidak terdeteksinya gen *bfpA* pada sampel.¹⁹

Adapun hal lain yang menyebabkan hasil negatif pada identifikasi gen CVD432 (EAEC) dan *bfpA* (EPEC) adalah karena bakteri *Escherichia coli* pada sampel merupakan sub tipe lain dari yang diteliti. hal tersebut berdasarkan hasil pada penelitian yang dilakukan oleh Goma tahun 2019 dan Cho dkk tahun 2020 didapatkan hasil positif sub tipe EHEC dan STEC pada sampel daging babi.^{19,20} Serta ada kemungkinan bakteri *Escherichia coli* pada sampel merupakan bakteri yang tidak patogen sehingga tidak terdeteksi pada pemeriksaan PCR terhadap sub tipe EAEC dan EPEC.

Dari pembahasan tersebut maka perlu dilakukan kontrol dan sosialisasi kepada pedagang sate daging babi di Kota Denpasar mengenai higienitas dan sanitasi yang baik saat pengolahan sate daging babi. Sehingga dapat mengurangi peluang terjadinya

kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada sate daging babi terutama jenis bakteri *Escherichia coli* yang patogen.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa ditemukan adanya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada 9 sampel sate daging babi yang di jual di Kota Denpasar. Hal itu disebabkan karena kurangnya higienitas serta sanitasi yang kurang baik saat proses pengolahan sate daging babi.

Identifikasi molekuler sub tipe EAEC atau gen CVD432 didapatkan hasil negatif. Hal tersebut bisa disebabkan karena daging babi bukan *reservoir* sub tipe EAEC dan sampel positif merupakan jenis sub tipe lain dari yang diteliti. Lalu pada identifikasi molekuler sub tipe EPEC atau gen *bfpA* juga tidak ditemukan adanya sub tipe EPEC atau gen *bfpA* pada sampel. Hasil tersebut bisa dikarenakan sampel positif merupakan sub tipe EPEC jenis atipikal dan sampel positif pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* merupakan sub tipe yang berbeda dari gen yang diteliti. Serta bisa disebabkan, bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada sampel bukan merupakan bakteri *Escherichia coli* yang patogen sehingga didapatkan hasil negatif pada pemeriksaan PCR.

Kelemahan penelitian ini adalah jumlah sampel yang diteliti kurang banyak karena keterbatasan peneliti sehingga bisa saja kurang mewakili populasi. Serta pada identifikasi gen *bfpA* sub tipe EPEC tidak menggunakan kontrol positif dikarenakan keterbatasan dalam hal alat dan bahan penelitian sehingga hasil identifikasi PCR menjadi kurang lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. *Diarrhoea* [Internet]. 2016. [cited 20 March 2019] Available At: www.who.int/topics/diarrhoea/en/http://www.who.int/en/newsroom/factsheets/detail/obesity-and-overweight.
2. Amin LZ. Tatalaksana diare akut. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2015 Jul 1;42(7):504-8.
3. Ayuningtyas, E.L. *Studi Penggunaan Antibiotik Seftriakson pada Pasien Diare* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Malang). 2017.
4. Wijaya Y. Faktor Risiko Kejadian Diare Balita di Sekitar TPS Banaran Kampus UNNES. *Unnes Journal of Public Health*. 2012;1(2).
5. Latifah H. *Hubungan Faktor Lingkungan dan Sosiodemografi Dengan Kejadian Diare Pada Anak Balita (1-4 Tahun) Di Wilayah Kerja Puskesmas Pauh Kamar Kabupaten Padang Pariaman Tahun 2018* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas). 2018.
6. Dinas Kesehatan Provinsi Bali. *Profil Dinas Kesehatan Provinsi Bali tahun 2017*.
7. Ilyas M, Susanti S, Karmilah K, Hapsari IP. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Cayratia trifolia* L. Domin. Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *MEDULA*. 2018;6(1).

8. Bakri Z, Hatta M, Massi MN. Deteksi keberadaan bakteri *Escherichia coli* O157: H7 pada feses penderita diare dengan metode kultur dan PCR. *JST kesehatan*. 2015 Apr;5(2):184-92.
9. Jafari A, Aslani MM, Bouzari S. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. *Iranian journal of microbiology*. 2012 Sep;4(3):102.
10. Gitaswari DI, Budayanti S. Identifikasi Subtipe Enterotoxigenic *Escherichia coli* dan Enteroaggregative *Escherichia coli* dari Spesimen Usap Dubur Penjamah Makanan di Denpasar Menggunakan Polymerase Chain Reaction. *E-Jurnal Medika Udayana*. 2019;8(1):7-11.
11. Tobias J, Vutukuru SR. Simple and rapid multiplex PCR for identification of the main human diarrheagenic *Escherichia coli*. *Microbiological research*. 2012 Oct 12;167(9):564-70.
12. Setianingsih I, Andiarsa D, Hariyati E. Deteksi Diarrhoeagenic *E. coli* pada Sampel Feses Penderita Diare di Puskesmas Batulicin dan Pagatan Kabupaten Tanah Bumbu dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Biomedika*. 2019 Sep 30;12(2):132-48.
13. Raza EM, Suada KE, Mahatmi HA. Beban cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging asap se'i babi yang dipasarkan di Kota Kupang. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2012;1(4):453-70.
14. Yulianto D, Sukrama IDM and Hendrayana MA. Isolasi bakteri *Escherichia coli* pada lawar merah babi di kota Denpasar. *Intisari Sains Medis*. 2019;10(1), pp.53-56.
15. Chaitanya KG, Rao TM, Babu AJ and Sreedevi B. Isolation and characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) from pigs and pork in and around Tirupati, Andhra Pradesh. *The Pharma Innovation Journal*. 2021;10(6), pp. 09-12.
16. Syamsir E. Keamanan mikrobiologi produk olahan daging. *Jurnal Kulinologi Indonesia*. 2010;2(5):77-8.
17. Atmiati WD. Faktor Faktor yang Berhubungan dengan Keberadaan Bakteri *Escherichia Coli* pada Jajanan Es Buah yang Dijual di Sekitar Pusat Kota Temanggung. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro*. 2012;1(2):18792.
18. Zhang R, Gu DX, Huang YL, Chan EW, Chen GX, Chen S. Comparative genetic characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* strains recovered from clinical and non-clinical settings. *Scientific reports*. 2016 Apr 11;6(1):1-9.
19. Cho YS, Koo MS, Jang HJ. Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolated from Fresh Beef, Pork, and Chicken Meat in Korean Markets. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 2020;48(2):121-8.
20. Goma MK. *Deteksi Escherichia coli O157: H7 pada Air, Feses Babi dan Daging Babi Di Rumah Potong Hewan (RPH) Jagalan dan Pasar Tradisonal Kota Surakarta, Jawa Tengah* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada). 2019.