

Hygiene, Sanitation and Potential Existence of Virulent Genes of *E.coli* in Lawar in Kuta: The Challenge for Tourism and Safe Food Provision in Bali

Ni Putu Eka Trisdayanti,^{1,2*} Anak Agung Sagung Sawitri,^{2,4} I Nengah Sujaya^{2,3}

ABSTRACT

Background and purpose: The reoccurrence of food-borne parasitic outbreaks may be related to contamination by pathogenic strains of *E.coli*. As *lawar* (Balinese food) is a favorite of locals and tourists, there needs to be an examination into the presence of pathogenic strains of *E.coli* in *lawar* and its relation to hygiene and sanitation standards at food stalls in Kuta.

Methods: Cross-sectional analytical study was conducted on 43 stalls that selling white *lawar* in North Kuta, Kuta and South Kuta. Observations and interviews to sellers were conducted to assess the personal hygiene practices, equipment/stall sanitation and sanitary facilities. *Lawar* samples were tested in the laboratory. Indicators of the food quality was the number of bacterial colonies

with Total Plate Count (TPC), the presence of *E.coli* with fertilization techniques and the detection of *E.coli* virulence genes by PCR. Data were analyzed using univariate, bivariate and multivariate analysis.

Results: As many as 44.2% of *lawar* contained bacterial colony >10⁶ CFU/g; 46.5% of *lawar* positively contained *E.coli*, and 20% of those positive *E.coli* had the similar size band of Shiga Like Toxin Type I (SLT-I). The sellers with poor hygiene had higher risks of the presence of *E.coli* in the *lawar* compared with those having higher hygiene standards (adjusted OR=7.29; 95% CI 1.473-36.088).

Conclusion: *Lawar* quality in Kuta was poor, as were hygiene practices and seller/stall sanitation.

Keywords: *E.coli*, genes, virulence, hygiene, sanitation, *lawar*

Higiene Sanitasi dan Potensi Keberadaan Gen Virulensi *E.coli* pada Lawar di Kuta: Tantangan Pariwisata dan Kesehatan Pangan di Bali

ABSTRAK

Latar belakang dan tujuan: Kejadian luar biasa (*outbreak*) terkait makanan telah berulang kali terjadi pada wisatawan maupun penduduk setempat dan mungkin terkait dengan keberadaan *E.coli* patogen. Karena *lawar* (makanan tradisional Bali) digemari penduduk setempat dan wisatawan, diperlukan studi untuk mengetahui keberadaan *E.coli* patogen pada *lawar* dan kaitannya dengan hygiene sanitasi warung makan di Kuta.

Metode: Penelitian *cross sectional* analitik dilakukan pada 43 warung yang menjual *lawar* putih di Kuta Utara, Kuta, dan Kuta Selatan beserta pengolahnya. Observasi dan wawancara dilakukan untuk menilai penerapan hygiene perorangan, sanitasi warung, sanitasi peralatan dan fasilitas sanitasi. Sampel *lawar* putih diambil dari setiap warung dan diuji di laboratorium. Indikator kualitas makanan

yang diuji adalah jumlah koloni bakteri dengan *Total Plate Count* (TPC), keberadaan *E.coli* dengan teknik pemupukan dan deteksi gen virulen *E.coli* dengan teknik PCR. Data dianalisis secara univariat, bivariat dan multivariat.

Hasil: Sebanyak 44,2% *lawar* memiliki jumlah koloni bakteri >10⁶ CFU/gr; 46,5% *lawar* positif *E.coli*, dan 20% dari sampel yang positif *E.coli* menunjukkan gambaran *band* dengan ukuran mirip *Shiga Like Toxin Type I* (SLT-I). *Lawar* yang terkontaminasi lebih banyak di wilayah Kuta Utara. Hygiene penjual yang kurang baik lebih berisiko terhadap keberadaan *E.coli* dibandingkan hygiene penjual yang baik (*adjusted* OR 7,29; 95%CI: 1,473-36,088).

Simpulan: Kualitas *lawar* di Kuta masih kurang baik dan disertai penerapan hygiene sanitasi yang rendah.

¹Bali Tourism Institute,
²Public Health Postgraduate Program Udayana University,
³School of Public Health Faculty of Medicine Udayana University,
⁴Department of Community and Preventive Medicine Faculty of Medicine Udayana University

*Correspondence to:
Ni Putu Eka Trisdayanti, Bali Tourism Institute, Public Health Postgraduate Program Udayana University
eka.trisdayanti@yahoo.com

Kata Kunci: *E.coli*, gen, virulensi, higiene, sanitasi, lawar

PENDAHULUAN

Kejadian luar biasa (KLB) atau *outbreak* terkait makanan yang melibatkan wisatawan domestik maupun mancanegara telah sering dilaporkan di Bali,^{1,2} dan salah satu penyebab KLB yang sering dilaporkan yaitu bakteri *E.coli*.^{1,2} Data global menunjukkan bahwa infeksi *E.coli* patogen yang dikenal sebagai *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC) seringkali menimbulkan KLB diare dan komplikasi serius di beberapa negara.³

Lawar Bali merupakan makanan khas Bali yang yang digemari oleh masyarakat lokal dan wisatawan. *Lawar* Bali merupakan olahan daging atau sayuran cincang yang memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri dalam proses pengolahannya. *Lawar* Bali ada dua jenis, yaitu *lawar* merah yang mengandung darah segar dan *lawar* putih yang tidak mengandung darah segar.

Walaupun belum pernah terpublikasi sebagai penyebab KLB pada wisatawan, beberapa studi pernah dilakukan, dimana semuanya hanya pada *lawar* merah. Hasilnya ditemukan adanya proporsi kontaminasi *E.coli* yang tinggi. Penelitian di daerah Sanur Denpasar sebesar 60%,⁴ sedangkan di Ubud lebih tinggi yaitu 83,3%.⁵ Penelitian tersebut tidak menentukan keberadaan *E.coli* patogen karena hanya menggunakan teknik pemupukan. Jika digunakan pemeriksaan PCR, maka dapat dideteksi adanya gen virulensi pada *E.coli* patogen, sehingga dapat menggambarkan potensi *foodborne illness* di komunitas yang lebih baik.

Kuta adalah daerah pariwisata utama di Bali. Di wilayah ini, warung-warung yang menjual *lawar* Bali tersebar luas dan sangat mudah diakses. Pengamatan awal peneliti menunjukkan bahwa minat wisatawan mancanegara membeli *lawar* di salah satu warung *lawar* di wilayah ini sangatlah tinggi (20-50 orang per hari). Di satu sisi, Berdasarkan informasi petugas di empat puskesmas wilayah Kuta, selama ini pemeriksaan makanan pada warung-warung *lawar* di wilayah Kuta tidak dilakukan secara rutin. Standar pemerintah Indonesia tentang higiene sanitasi rumah makan dan restoran mewajibkan dilakukan pemeriksaan higiene sanitasi dan kualitas mikrobiologis secara berkala terhadap tempat-tempat yang menjual makanan untuk publik.⁶

Berdasarkan situasi di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kualitas mikrobiologis *lawar* putih serta keberadaan *E.coli* pathogen di

wilayah Kuta. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui peranan faktor higiene, sanitasi dan fasilitas sanitasi terhadap kontaminasi *E.coli* pada *lawar* putih.

METODE

Penelitian dilakukan dengan rancangan *cross-sectional* analitik melibatkan semua (43) warung yang menjual *lawar* putih di Kuta. Jumlah ini diperoleh berdasarkan survei awal peneliti bersama dengan petugas kesehatan lingkungan yang bertugas di puskesmas. Peneliti menetapkan penjual dan pengolah *lawar* yang menyatakan bersedia berpartisipasi sebagai responden.

Pengumpulan data dilakukan sebanyak dua kali kunjungan per warung. Kunjungan pertama dilakukan wawancara dan observasi, dan kunjungan kedua dilakukan pengambilan sampel *lawar*. Peneliti melakukan observasi menggunakan pedoman observasi untuk mendapatkan data higiene perorangan, sanitasi lingkungan warung dan dapur, sanitasi peralatan, serta fasilitas sanitasi. Khusus untuk data higiene perorangan, jika tidak memungkinkan untuk observasi, peneliti melakukan wawancara dengan kuesioner terstruktur. Peneliti juga menggali karakteristik demografi penjual dan pengolah *lawar*. Dalam penelitian ini indikator sanitasi lingkungan mengacu pada Pedoman Kemenkes RI Nomor 1098/Menkes/Per/VII/2003,⁶ yaitu: higiene perorangan (praktek cuci tangan, keadaan kuku, status kesehatan, pemakaian sarung tangan, perilaku higienis saat mengolah *lawar*, dan kebersihan pakaian); sanitasi warung (kondisi tempat pengolahan dan keberadaan vektor); sanitasi peralatan (pencucian dan penyimpanan) dan fasilitas sanitasi lainnya (air bersih, kondisi saluran air limbah, tempat sampah, waktu pembuangan sampah, ketersediaan lap bersih dan letak toilet dengan dapur/warung). Setiap kondisi atau tindakan yang benar diberikan skor 1 dan dijumlahkan. Selanjutnya digunakan kriteria untuk menentukan kategori “baik” atau “tidak baik” pada setiap sub-variabel higiene dan sanitasi tersebut.

Peneliti mengambil sampel *lawar* di masing-masing warung dengan cara membeli *lawar*, sesuai dengan kondisi *lawar* saat peneliti datang ke warung tersebut. Karena itu kondisi sampel *lawar* bervariasi dari belum mulai hingga telah agak

lama diolah. Sampel *lawar* segera dimasukkan ke dalam plastik steril dan diberi label berisi nomor dan tanggal/jam pengambilan sampel. Nomor sampel dibuat berdasarkan urutan pengambilan dan wilayah. Sampel dari warung di Kuta Utara diberi kode KU, di Kuta diberi kode K, dan di Kuta Selatan diberi kode KS. Sampel dimasukkan ke dalam *cooler box* berisi *ice tube*, dan dilanjutkan proses yang sama di warung berikutnya. Dalam sehari peneliti mengambil sampel *lawar* maksimal dari 10 warung dengan total waktu kurang lebih 3 jam. Waktu transportasi dari lokasi penelitian ke Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana (Unud) sekitar 15-40 menit. Untuk pemeriksaan sampel *lawar*, peneliti tidak meminta *informed consent* dengan pertimbangan kemungkinan penolakan yang tinggi, sedangkan ada kepentingan publik yang lebih besar. Di samping itu, pengambilan sampel telah menggunakan kode sehingga tetap menjaga kerahasiaan subyek ataupun warungnya.

Pada tahap pengolahan di laboratorium, peneliti dibantu oleh teknisi laboratorium yang telah berpengalaman. Mayoritas sampel dianalisis sesegera mungkin, namun beberapa sampel sempat disimpan dalam lemari pendingin temperatur 5°C, dan bisa diolah dalam waktu <24 jam. Pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui kualitas mikrobiologis *lawar* dilakukan secara bertahap. Kualitas mikrobiologis *lawar* ditentukan dari tiga indikator yaitu jumlah koloni bakteri, keberadaan *E.coli*, dan identifikasi *strain E.coli* patogen. Tahap I untuk mengetahui jumlah koloni bakteri, digunakan metode *total plate count* (TPC) dengan media *Plate Count Agar* (PCA). Sampel dinyatakan memenuhi syarat kualitas jika jumlah koloni bakteri $\leq 10^6$ CFU/gr. Tahap II untuk mengetahui keberadaan *E.coli* digunakan teknik pemupukan pada media EMBA. *E.coli* dinyatakan ada jika koloni berwarna hijau metalik. Tahap III adalah untuk identifikasi *E.coli* dengan pengecatan gram dan uji SIM dan dinyatakan ada *E.coli* jika kadar sulfid negatif. Tahap IV adalah uji keberadaan gen virulensi *E.coli* dengan PCR pada sampel yang telah positif *E.coli*. Ada empat jenis gen virulensi yang dideteksi yaitu: LT dan LTI yang menunjukkan *strain Enterotoxigenic E.coli* (ETEC); EAF yang menunjukkan *strain Enteropathogenic E.coli* (EPEC), SLTI yang menunjukkan *strain EHEC* dan IAI yang menunjukkan *strain Enteroinvasive E.coli* (EIEC).³ Pemeriksaan dimulai dengan pembebasan DNA dari sel dengan metode panas beku dengan langkah berikut: a) membuat media dengan cara 0,7gr *lactose broth* (LB) dimasukkan dalam 50 ml akuades, dipanaskan sampai larut, dipipet sebanyak 2 ml dan dimasukkan dalam tabung; b) *E.coli* yang diisolasi dari sampel *lawar* diambil dari freezer dan

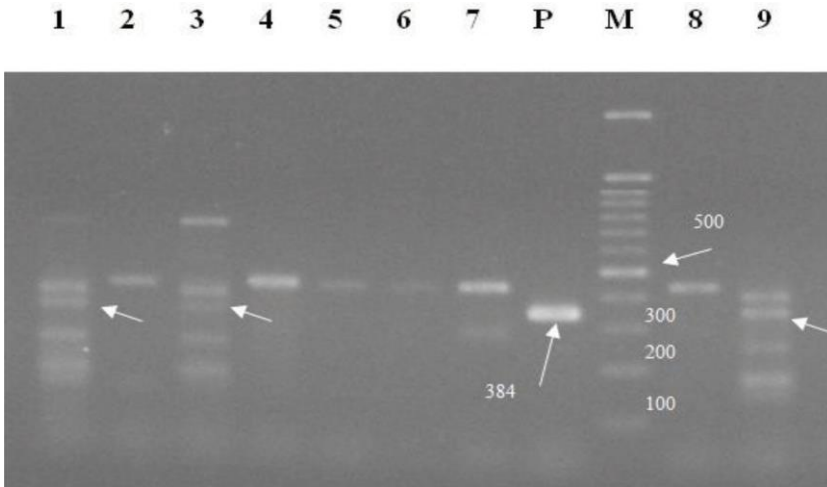
ditumbuhkan pada LB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam; c) diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan dalam tabung *Eppendorf*, disentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit; d) dilakukan pemanasan dan pendinginan dengan cara membuang *supernatant*, menambahkan 100µl akuades steril, kemudian di-*vortex* dan disentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit; dan selanjutnya membuang *supernatant*, menambahkan 50µl *aquades* steril, kemudian di-*vortex* dan direbus pada air mendidih selama 5 menit, lalu dimasukkan dalam *freezer* (minus 20°C) selama 20-30 menit. Proses pemanasan dan pendinginan ini diulang dua kali, sehingga diperoleh sel *E.coli* yang dinding selnya sudah pecah; dan digunakan sebagai sumber DNA untuk PCR.⁸ Selanjutnya membuat campuran reaksi PCR, yaitu 6,25µl Master Mix GoGreen, 1 µl primer Forward 10pmol, 1 µl primer Reverse 10pmol, 3,25 µl deionized water, 1 µl DNA bakteri *lawar*, sehingga diperoleh volume akhir campuran PCR sebanyak 12,5 µl. Primer yang digunakan untuk PCR yaitu EAF/EAR (*strain EPEC*),⁷ LT1F/LT1R (*strain ETEC*),⁹ LP30/LP31 (*strain EHEC*),¹⁰ IAI2F/IAI2R (*strain EIEC*).¹¹ Sebagai kontrol positif digunakan ATCC 43894. Langkah pengerjaan PCR adalah sebagai berikut: pre-denaturasi (94°C) selama 5 menit; diikuti dengan 30 siklus (94°C) selama 30 detik, *annealing* (55°C) selama 30 detik, dan polimerasi (72°C) selama 2 menit. Pada tahap akhir ditambahkan *elongasi* (72°C) selama 5 menit dan didinginkan pada suhu 5°C. Selanjutnya sebanyak 5µl produk PCR dielektroforesis pada agarose 2% dan selanjutnya keberadaan pita atau band divisualisasi dengan *UV transilluminator*.⁸ Ukuran dan posisi pita yang sesuai dengan marker dan kontrol positif menentukan jenis gen yang berhasil dideteksi.⁸

Analisis data menggunakan program Stata SE 12. Data karakteristik responden, hygiene perorangan, hasil observasi warung, serta hasil pemeriksaan laboratorium dianalisis secara deskriptif. Selanjutnya variabel karakteristik responden, hygiene sanitasi, hygiene perorangan, sanitasi warung, sanitasi peralatan, dan fasilitas sanitasi dianalisis terhadap keberadaan *E.coli*. Analisis dilanjutkan secara multivariat dengan menggunakan regresi logistik pada variabel yang memiliki nilai $p < 0,20$ pada analisis bivariat.

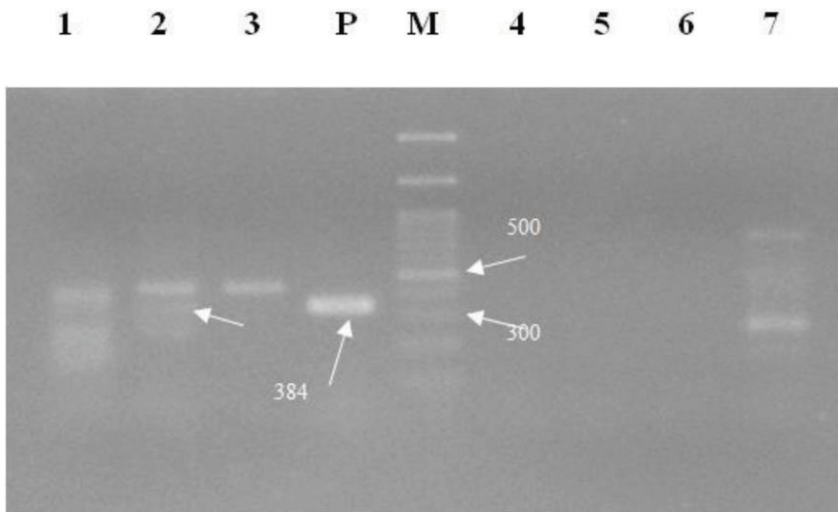
Penelitian ini mendapat kelaikan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/ Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar.

HASIL

Dalam proses pengumpulan data, empat calon responden menolak diwawancara dan diobservasi tetapi sampel *lawar* tetap diambil dan diperiksa



Gambar 1 Gel Elektroforesis PCR *E.coli* Target SLT-I pada sampel. M=marker, P=kontrol positif gen SLT-I pada ATCC 43894. 1:2KU; 2:3KU; 3:6KU; 4:7KU; 5:10KU; 6:12KU; 7:13KU; 8:15KU; 9:16KU. Tanda panah menunjukkan sampel no 1, 3, dan 9 menunjukkan pita yang mirip dengan P (kontrol positif)



Gambar 2 Gel Elektroforesis PCR *E.coli* Target SLT-I pada sampel. M = marker, P = kontrol positif gen SLT-I pada ATCC 43894. 1:1 KU; 2:1K; 3:9K; 4:16K; 5:5K; 6:7KS; 7:8KS. Tanda panah menunjukkan sampel no 2 menunjukkan pita yang mirip dengan P (kontrol positif)

dengan cara anonim. Dengan demikian responden yang diwawancara dan diobservasi berasal dari 39 warung tetapi sampel *lawar* diambil dari 43 warung. Sebanyak 21 responden adalah penjual sekaligus pengolah *lawar*.

Hasil pemeriksaan TPC pada 43 sampel *lawar* menunjukkan sebanyak 44,2% (95%CI: 29,36%-59,04%) sampel memiliki jumlah koloni bakteri >10⁶ CFU/gr atau tidak memenuhi syarat kualitas pangan.

Sedangkan dari uji EMBA dan SIM, menunjukkan sebanyak 20 sampel (46,5%) dengan hasil positif *E.coli* (95%CI: 31,59%-61,41%). Perbandingan hasil TPC dan hasil identifikasi *E.coli*

menunjukkan terdapat 10 sampel dengan jumlah koloni bakteri memenuhi syarat, namun identifikasi *E.coli* menunjukkan hasil yang positif. Sebaliknya, terdapat delapan sampel dengan jumlah koloni bakteri tidak memenuhi syarat namun identifikasi *E.coli* menunjukkan hasil yang negatif.

Hasil pemeriksaan PCR pada 20 sampel yang positif *E.coli* dengan primer EAF/EAR, LT1F/LT1R, dan IAI2F/IAI2R menunjukkan tidak tampak gambaran pita atau *band* sehingga dinyatakan tidak terdapat strain EPEC, ETEC, dan EIEC. Sedangkan dengan primer LP30/LP31, terdapat empat sampel *lawar* (20%) yang memiliki pita dengan ukuran (*expected size*) mirip SLT-I (348 bp), yang menunjukkan kemungkinan adanya gen virulensi strain EHEC. Hasil PCR disajikan pada **Gambar 2**. Sampel *lawar* putih yang berasal dari Kecamatan Kuta Utara menunjukkan persentase tertinggi dalam hal jumlah koloni bakteri yang tidak memenuhi syarat (50,0%), keberadaan *E.coli* (62,5%), dan keberadaan gen virulen yang serupa dengan SLT-I (3 dari 4 sampel).

Penerapan higiene sanitasi untuk pengolah *lawar* yang hendak dinilai melalui observasi hanya berhasil dilakukan pada 15 orang (38,4%), sedangkan sisanya hanya dengan wawancara karena *lawar* sudah selesai diolah ketika peneliti mengunjungi warung. Hasil observasi menunjukkan mayoritas higiene perorangan pada penjual dan pengolah *lawar* masuk kategori tidak baik (59% dan 53%). Selain itu, fasilitas sanitasi juga lebih banyak masuk kategori tidak baik (53,9%). Hasil observasi menunjukkan mayoritas perilaku yang tidak baik dari penjual dan pengolah adalah tidak mencuci tangan dengan air mengalir dan sabun (92,3% dan 60%), tidak menggunakan alat/sendok pada saat mencicipi *lawar* maupun mengambil bahan (56,4% dan 73%) dan pengolah tidak menggunakan sarung tangan sekali pakai (63%). Pengamatan sanitasi menunjukkan 97,3% pengelola tidak menyimpan peralatan di tempat tertutup. Kondisi higiene sanitasi yang tidak baik yaitu dalam hal higiene penjual (52,2%), fasilitas sanitasi (47,6%), sanitasi warung (44,4%) dan sanitasi peralatan (50%), lebih banyak ditemukan di Kecamatan Kuta Utara dibandingkan kecamatan lainnya.

Hasil analisis bivariat menunjukkan terdapat dua variabel yang bermakna berkaitan dengan keberadaan *E.coli* pada *lawar* yakni higiene penjual *lawar* (p=0,003) dan fasilitas sanitasi (p=0,019) seperti terlihat pada **Tabel 1**.

Variabel higiene sanitasi yang memiliki nilai *p value* <0,20 dimasukkan dalam analisis multivariat (**Tabel 2**). Hasilnya menunjukkan bahwa hygiene penjual *lawar* di wilayah Kuta yang tidak baik berhubungan secara independen terhadap keberadaan *E.coli* dengan nilai p=0,015.

Tabel 1 Hasil analisis bivariat karakteristik responden, higiene sanitasi dan keberadaan *E.coli* pada *lawar* Bali di Wilayah Kuta

Variabel penelitian	Keberadaan <i>E.coli</i>		Nilai p
	Negatif n (%)	Positif n (%)	
Kelompok umur			
≤35 tahun	9 (45,0)	11 (55,0)	0,422
>35 tahun	11 (57,9)	8 (42,1)	
Jenis kelamin			
Perempuan	18 (52,9)	16 (47,1)	0,592
Laki-laki	2 (40,0)	3 (60,0)	
Pendidikan			
Dasar	7 (53,9)	6 (46,2)	0,821
Menengah ke atas	13 (50,0)	13 (50,0)	
Kelompok masa kerja			
≤5 tahun	15 (55,6)	12 (44,4)	0,425
>5 tahun	5 (41,7)	7 (58,3)	
Kelompok warung			
Kuta Selatan	9 (64,3)	5 (35,7)	0,883
Kuta	6 (54,6)	5 (45,5)	
Kuta Utara	5 (35,7)	9 (64,3)	
Higiene penjual			
Baik (skor ≥75%)	13 (81,3)	3 (18,8)	0,003
Tidak baik (skor <75%)	7 (30,4)	16 (69,6)	
Sanitasi warung			
Baik (skor ≥100%)	13 (61,9)	8 (38,1)	0,156
Tidak baik (skor <100%)	7 (38,9)	11 (61,1)	
Fasilitas sanitasi			
Baik (skor ≥75%)	13 (72,2)	5 (27,8)	0,019
Tidak baik (skor < 75%)	7 (33,3)	14 (66,7)	
Sanitasi peralatan			
Baik (skor ≥75%)	14 (51,9)	13 (48,2)	0,915
Tidak baik (skor <75%)	6 (50,0)	6 (50,0)	

*Higiene pengolah tidak dianalisis karena diperoleh dari dua cara (observasi & wawancara)

Tabel 2 Hasil analisis multivariat dengan regresi logistik faktor yang berhubungan dengan keberadaan *E.coli* pada *lawar* Bali di Wilayah Kuta

Variabel penelitian	Adjusted OR	95%CI	Nilai p
Higiene penjual			
Baik	1 (ref)		0,015
Tidak baik	7,29	1,473-36,088	
Fasilitas sanitasi			
Baik	1 (ref)		0,131
Tidak baik	3,24	0,706-14,916	

DISKUSI

Studi ini menunjukkan bahwa kualitas mikrobiologis *lawar* putih di warung-warung di wilayah Kuta kurang baik, dan higiene pengolah *lawar* berkontribusi terhadap situasi tersebut. Kondisi kualitas dan higiene yang kurang baik terbanyak di Kecamatan Kuta Utara.

Temuan ini sulit dibandingkan dengan hasil penelitian lain di Indonesia, karena *lawar* adalah makanan khas Bali. Perbandingan kualitas *lawar* dengan indikator jumlah koloni bakteri menunjukkan hasil studi ini lebih rendah dibandingkan dengan studi di Kota Gianyar, Tabanan, dan Denpasar (66,67%),¹² dan di Sanur, Nusa Dua, Ubud, Kuta, dan Denpasar (100%).⁷ Persentase keberadaan *E.coli* dalam penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan penelitian di Kota Gianyar, Tabanan dan Denpasar (50%),¹² di Sanur (60%),⁴ di Sanur, Nusa Dua, Ubud, Kuta dan Denpasar (100%)⁷ dan di Ubud (83,3%).⁵ Perbedaan angka tersebut dapat disebabkan karena semua studi lainnya meneliti *lawar* merah, sedangkan penelitian ini memakai *lawar* putih. Penambahan darah segar pada *lawar* merah menyebabkan tingkat cemaran lebih tinggi. Penelitian sebelumnya menunjukkan jumlah koloni *E.coli* pada *lawar* dari daging babi yang direbus serta tidak ditambah darah segar lebih rendah (3,00 koloni/g) dibandingkan *lawar* dari daging babi mentah dan ditambah darah segar (29,67 koloni/g).¹² Penjelasan kedua, adalah higiene sanitasi dalam studi ini lebih baik dibandingkan penelitian serupa di Ubud.⁵ Walaupun demikian kedua hasil studi menunjukkan sejalan dalam hal higiene pengolah *lawar* yang tidak baik terbukti berhubungan dengan keberadaan *E.coli*.⁵

Kualitas mikrobiologis yang ditentukan dari jumlah koloni bakteri dan keberadaan *E.coli* tidak selalu sejalan. TPC menggunakan media pertumbuhan yang memungkinkan sebagian besar mikroba dalam makanan untuk tumbuh,¹³ sehingga jumlah koloni pada TPC menunjukkan besarnya beban mikroba pada *lawar*. Hal ini merupakan salah satu pertimbangan penerimaan konsumen pada bahan pangan.¹⁴ *Lawar* sangat rentan tercemar mikroba sehingga sangat mungkin memiliki nilai TPC yang tinggi dalam waktu singkat. Hal ini disebabkan *lawar* memiliki faktor intrinsik berbahan daging dengan pH 7,0, yang mudah rusak oleh bakteri.¹⁵ Selain itu, campuran parutan kelapa dengan kandungan karbohidrat sederhana (gula) yang mudah difermentasi oleh bakteri asam laktat sehingga menyebabkan rasa *lawar* menjadi asam.¹³ Sedangkan keberadaan *E.coli* lebih terkait keamanan pangan (*food safety*). *E.coli* adalah mikroba indikator keamanan pangan, sehingga

tidak boleh ada dalam makanan.⁶ Keberadaan *E.coli* menunjukkan kontaminasi isi saluran pencernaan hewan atau manusia, sehingga mengurangi keamanan untuk dikonsumsi. Situasi ini menunjukkan bahwa *lawar* Bali bisa membawa dampak negatif berupa penerimaan maupun keamanan pangan yang rendah bagi wisatawan.

Hasil deteksi gen virulensi pada *E.coli* menunjukkan beberapa *E.coli* menghasilkan pita yang mirip dengan *E.coli* EHEC ATCC 43894, namun, pita positif tersebut berukuran lebih besar dari gen SLT-I pada ATCC. Saat ini belum diketahui dengan tepat identitas gen tersebut, dengan kemungkinan penjelasan sebagai berikut. Gen tersebut mungkin memiliki susunan mirip SLT-I atau gen tersebut adalah gen lain yang teramplifikasi primer karena kesalahan (*miss-priming*) dalam pengolahan sampel. Kesalahan bisa terjadi jika kondisi PCR tidak spesifik, misalnya konsentrasi ion MgCl₂ terlalu tinggi atau suhu *annealing* terlalu rendah. Dalam studi ini suhu *annealing* sebesar 55°C ternyata lebih rendah dibandingkan suhu *annealing E.coli* (64°C) dari penelitian terpublikasi sebelumnya.¹⁰ Untuk mengetahui identitas pita tersebut perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan sekuensing DNA.

Walaupun studi ini belum bisa menunjukkan keberadaan *E.coli* patogen dengan pasti, namun situasi kualitas mikrobiologis dan kondisi higiene pengolah yang tidak baik di atas perlu diwaspadai, terutama di daerah Kuta Utara. Tahun 2008 pernah dilaporkan KLB diare dengan 600 penderita dan lima orang meninggal di Kabupaten Karangasem, dimana sebanyak 19% sampel makanan dan 50% sampel air positif terdeteksi *E.coli*. Pemeriksaan laboratorium lanjutan menunjukkan bahwa *E.coli* pembentuk SLT-I merupakan penyebab KLB diare di Karangasem.¹⁶

Selain itu, kegiatan pengawasan keamanan pangan saat ini belum sesuai standar pemerintah.² Pemerintah provinsi dan kabupaten dengan pemasukan besar dari sektor pariwisata seharusnya mengalokasikan dana dan mendukung kegiatan untuk menciptakan industri pariwisata yang sehat. Misalnya, alokasi dana untuk pemeriksaan berkala warung makanan, terutama yang memiliki risiko tinggi tercemar mikroba seperti warung *lawar*. Kerjasama dengan institusi pendidikan maupun swasta diperlukan untuk meningkatkan ketepatan maupun cakupan hasil pengawasan makanan. Pihak puskesmas dapat membantu mengurangi risiko pencemaran makanan dengan cara penyuluhan dan pelatihan penerapan higiene sanitasi bagi para penjual dan pengolah *lawar*, terutama di daerah yang berisiko tinggi.

Keterbatasan penelitian ini adalah dalam hal jumlah sampel, kesempatan melakukan observasi langsung serta waktu pengambilan sampel *lawar* yang bervariasi. Sumber bias lainnya adalah rentang waktu sejak *lawar* dibuat hingga pemeriksaan laboratorium yang berbeda kemungkinan mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Penelitian ini telah dapat mewakili kondisi di wilayah Kuta, namun tidak bisa digeneralisir ke wilayah lainnya.

SIMPULAN

Kualitas *lawar* di Kuta masih kurang baik karena tidak memenuhi persyaratan jumlah koloni, keberadaan *E.coli*, serta ditemukannya potensi *E.coli* patogen. Higiene penjual *lawar* yang tidak baik berkontribusi terhadap keberadaan *E.coli* dalam *lawar*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada penjual *lawar* yang telah bersedia menjadi responden, petugas puskesmas yang telah membantu menentukan sampel warung, kepala puskesmas yang telah memberikan ijin penelitian, serta petugas laboratorium yang membantu dalam pengolahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Kesehatan Kabupaten Badung. Laporan Hasil Penyelidikan Kejadian Keracunan Makanan pada Wisatawan di Kedonganan, Kuta. Badung: Seksi P2PL Dinas Kesehatan Kabupaten Badung; 2013.
- Dinas Kesehatan Kabupaten Badung. Laporan Hasil Penyelidikan Kejadian Keracunan Makanan pada Wisatawan di Kedonganan, Kuta. Badung: Seksi P2PL Dinas Kesehatan Kabupaten Badung; 2014.
- Center for Disease Control and Prevention (CDC). *E.coli* (*Escherichia coli*). 2014 (cited 2014 September 22). Available from URL: <http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.
- Candra P, Oktafia S, Citra M, Cahyani M. Cemaran *Escherichia Coli* dan *Coliform* pada Lawar Merah yang Dijual di Daerah Pariwisata. Denpasar: Universitas Udayana; 2013.
- Kinanthini A. Kualitas Mikrobiologis dan Higiene Pedagang Lawar di Wilayah Ubud, Bali (tesis). Denpasar: Universitas Udayana; 2014.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1098/Menkes/Per/VII/2003 tentang Higiene Sanitasi Rumah Makan dan Restoran. 2004 (diakses 2 November 2014). Available from URL: <http://psda.jatengprov.go.id/hiperat/PDF/Kepmenkes.No.1098.Tahun2003.pdf>
- Sujaya IN, Ramona Y, Nociantri A. Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Cemaran Mikrobiologis Pangan Etnik Bali Dianalisis dengan Teknik Pemupukan dan PCR Spesifik Gen Virulensi Patogen Penyebab Keracunan Pangan. Denpasar: Universitas Udayana; 2013.
- Franke J, Franke S, Schmidt H, Schwarzkopf A, Wieler LH, Baljer G, Beutin L, Karch A. Nucleotide Sequence Analysis of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Adherence Factor Probe and Development of PCR for Rapid Detection of EPEC Harboring Virulence Plasmids. *J.Clin.Microbiol* 1994 (cited 2014 Nov 2); 32(10):2460-3. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC264083/>.
- Schultsz C, Pool GJ, van Ketel R, de Wever B, Speelman P, Dankert J. Detection of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Stool Samples by Using Nonradioactively Labeled Oligonucleotide DNA Probes and PCR. *J.Clin. Microbiol.* 1994 (cited 2014 November 2); 32(10):2393-7. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7814472/>.
- Cebula TA, Payne WL, Feng P. Simultaneous Identification of Strain of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 and Their Shiga Like Toxin Type by Mismatch Amplification Mutation Assay Multiplex PCR. *J.Clin.Microbiol.* 1995 (cited 2014 November 2); 33(1):248-250. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227922/>.
- Schoolnik GK. PCR Detection of *Shigella* Species and Enteroinvasive *Escherichia coli*. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, and White TJ, editors. *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*. Washington DC: American Society for Microbiology 1993:277-281.
- Suter K. Lawar. Pusat Kajian Makanan Tradisional. Denpasar: Universitas Udayana; 2009.
- Fardiaz S. Mikrobiologi Pangan I. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama; 1992.
- NSW Food Authority. Microbiological quality guide for ready-to-eat foods a guide to interpreting microbiological results. NSW/FA/CP028/0906. 2009 (cited 2015 June 28). Available from URL: www.foodauthority.nsw.gov.au
- Gaman, Sherrington. Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 1994.
- Sujaya IN, Desy Aryantini NP, Nursini NW, Purnama SG, Dwipayanti NMU, Artawan IG, Sutarga IM. Identifikasi Penyebab Diare di Kabupaten Karangasem, Bali. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional* 2010;4(4)



This work is licensed under a Creative Commons Attribution