

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Lawar

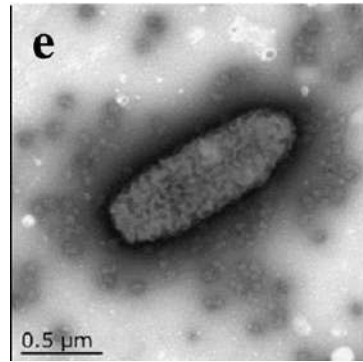
Lawar adalah makanan khas Bali. Lawar merupakan makanan yang tergolong kedalam lauk-pauk yang terbuat dari berbagai bahan baku. Lawar sering dibuat dengan menggunakan campuran daging atau ikan dan menggunakan berbagai jenis sayuran yang dicampur dengan berbagai macam bumbu dan rempah-rempah. Dalam pembuatan lawar sering ditambah dengan darah dari daging yang digunakan. Tiga bahan utama dalam lawar yakni *rames*, *ketekan*, dan *jukut*. *Rames* adalah bagian kulit dari hewan yang diolah dengan cara direbus dan dipotong berbentuk balok kecil-kecil. *Jukut* adalah sayuran yang diolah dengan cara direbus terlebih dahulu dan dipotong dengan cara dicincang secara kasar. *Ketekan* adalah daging yang dipotong dengan cara dicincang dan dicampur dengan bumbu khas Bali yakni *base genep*. Kemudian daging ini dilapisi dengan daun pisang dan dipanggang hingga tingkat kematangan tertentu (Purwanatha, Damiati, and Ekayani, 2023).

Lawar plek merupakan salah satu jenis lawar yang terdapat di daerah Bali. Lawar plek merupakan lawar yang dibuat dengan menggunakan bahan baku mentah seperti daging babi mentah. Daging yang mentah kemudian dicincang kasar dan diolah seperti lawar pada umumnya. Lawar ini kemudian langsung dikonsumsi tanpa proses pemasakan terlebih dahulu (Purwanatha, Damiati, and Ekayani, 2023).

B. Bakteri *Escherichia coli*

1. Morfologi, Sifat, dan Taksonomi

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri *coliform*. Bakteri *coliform* merupakan bakteri yang didefinisikan sebagai bakteri fakultatif anaerobik, *Gram-negative*, berbentuk batang, tidak memiliki spora dan memfermentasi laktosa dengan kuat sehingga membentuk asam dan gas pada suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dalam jangka waktu 24 hingga 48 jam. Terdapat beberapa bakteri *coliform* di dalam usus (kolon) dan *warm-blooded animals (fecal coliform)*. Bakteri *coliform* digunakan sebagai organisme indikator dimana kehadiran bakteri ini dalam makanan mengindikasikan kontaminasi dan sanitasi yang buruk (Halkman and Halkman, 2014). Bakteri *Escherichia coli* memiliki ukuran antara $1,0\text{-}1,5\ \mu\text{m} \times 2,0\text{-}6,0\ \mu\text{m}$, tidak motil atau motil (bergerak) dengan menggunakan flagella serta dapat tumbuh dengan oksigen ataupun tanpa kehadiran oksigen. Bakteri *Escherichia coli* memiliki karakteristik biokimia yakni memiliki kemampuan memproduksi indol dan bersifat negatif pada analisis urease. Bakteri *Escherichia coli* dapat beregenerasi atau membelah diri menjadi dua kali lipat dalam waktu 30 hingga 87 menit dengan suhu optimum yakni 37°C . Bakteri *Escherichia coli* termasuk kedalam *family Enterobacteriaceae* dimana keluarga ini merupakan bakteri yang enterik. Bakteri enterik adalah bakteri yang dapat melangsungkan kehidupannya dan mempertahankannya di dalam saluran pencernaan. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang secara alami berada di dalam usus mamalia (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).



Sumber: (Xu, H. et al, 2018)

Gambar 1. Bakteri *Escherichia coli* dilihat dengan TEM (*Transmission Electronic Microscope*)

Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli* yakni sebagai berikut (Hammadi and Mousawi, 2021):

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

2. Patogenitas

Kemampuan suatu organisme untuk menimbulkan atau menyebabkan penyakit disebut dengan patogenitas. Bakteri *Escherichia coli* dapat menimbulkan penyakit atau menunjukkan gejala penyakit dengan cara masuk ke dalam organisme lain atau tubuh inang dan kemudian melakukan suatu proses adaptasi sehingga mampu bertahan di dalam tubuh inang. Ketika bertahan di dalam tubuh

inang, bakteri *Escherichia coli* akan menyerang sistem imun sehingga menyebabkan organisme atau tubuh inang mengalami suatu penyakit. Mekanisme patogenesis dari bakteri *Escherichia coli* yang berhasil memasuki saluran pencernaan manusia dimulai dengan melakukan proses kolonisasi pada bagian usus dan melintasinya sehingga berhasil memasuki aliran darah. Kemudian penambatan ke organ target dan menyebabkan kerusakan pada suatu organ (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

Bakteri *Escherichia coli* dapat menempel pada usus dengan bantuan pilus atau pili. Bagian pili dari bakteri ini merupakan tonjolan yang terdapat pada dinding sel bakteri. Pada pili terdapat antigen yang disebut dengan fimbriae. Setiap fimbriae memiliki ciri khasnya masing-masing yang memiliki perbedaan atau variasi pada ukuran, fungsi, dan dikodekan oleh gen virulensi yang berbeda-beda (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018). Berdasarkan sifat patogenik dan virulensinya bakteri *Escherichia coli* dapat disebut sebagai *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC). Bakteri ini dibedakan menjadi 6 yakni:

a. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) dikarakterisasikan dari produksi faktor kolonisasi atau *colonization factors* (CF) dan dua jenis enterotoksin yang dihasilkan yakni LT (*heat-labile toxin*) atau tidak tahan terhadap suhu tinggi dan ST (*heat-stable toxin*) yang dapat bertahan pada keadaan lingkungan dengan suhu tinggi. Keberadaan gen LT dan ST dapat diketahui dengan pemeriksaan PCR. ETEC merupakan DEC yang paling sering menyebabkan kejadian diare pada anak-anak di negara berkembang secara khususnya dan para wisatawan yang berwisata di negara berkembang. ETEC dapat menempel pada mukosa usus dan

menghasilkan enterotoksin. Dua jenis enterotoksin dapat dihasil sekaligus atau hanya salah satu. Enterotoksin ini akan mengganggu regulasi membrane dan saluran ion pada membrane epitel yang dapat mengakibatkan hilangnya ion dan air dalam jumlah yang besar sehingga terjadi diare dengan konsistensi feses yang cair seperti air (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018; Gomes *et al*, 2016).

Enterotoksin LT dapat dibagi menjadi dua tipe yakni *LT-I* dan *LT-II*. *LT-I* secara umum sering menginfeksi manusia (LTh) dan menginfeksi hewan babi (LTp). Sedangkan, pada *LT-II* lebih sering dijumpai pada hewan dibandingkan dengan manusia. Enterotoksin ST dapat dibagi menjadi dua yakni STa dan STb. STa dapat dijumpai pada kasus yang menginfeksi manusia (STh) dan hewan (STp). Sedangkan pada STb hanya ditemukan pada kasus yang menginfeksi hewan seperti babi dan sapi (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

Mekanisme dari virulensi ETEC dimulai dari melekatnya ETEC pada usus dengan adanya CF. kemudian ETEC akan menghasilkan enterotoksin LT dan atau ST. Enterotoksin LT akan membentuk ikatan dengan glikoprotein (GM1) yang memiliki peran sebagai reseptor LT. Enterotoksin LT kemudian akan menuju area retikulum endoplasma dan berikatan dengan ribosa *adenosine diphosphate* (ADP). Hal ini akan mengganggu GTPase dalam memecah protein G. Dengan demikian protein G yang tidak dipecah justru akan mengikat dan merangsang adenilil siklase sel epitel dan menyebabkan jumlah *adenyl monophosphate* (AMP) meningkat. Peningkatan ini akan merangsang sekresi sel-sel kelenjar pada usus halus dan terjadi hipersekresi ion Cl^- sehingga membuka saluran klorida pada sel kript dan menghambat penyerapan Na^+ dari lumen ke dalam sel epitel usus (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

Mekanisme virulensi dari enterotoksin ST bekerja dengan cara mengaktivasi guanilat siklase C (GC-C). Aktivasi ini akan mengakibatkan peningkatan cGMP dan mengaktifkan protein kinase dan menyebabkan akumulasi cairan dan elektrolit di dalam lumen usus dan menghalangi proses penyerapan. Meningkatnya kadar elektrolit dan air dapat menyebabkan diare (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

b. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) didefinisikan sebagai bakteri yang dapat menyebabkan penyakit diare, memiliki kemampuan untuk menghasilkan histopatologi pada epitel usus yang dikenal dengan lesi *attaching and effacing* (AE). Namun, bakteri ini tidak dapat menghasilkan *shiga-toxins*, *heat-labile enterotoxin* (LT), dan *heat-stable enterotoxin* (ST). EPEC dibagi menjadi 2 jenis yakni *typical* EPEC (tEPEC) dan *atypical* EPEC (aEPEC). tEPEC menyebabkan penyakit diare yang infeksius pada manusia. tEPEC memiliki plasmid virulensi yang dikenal sebagai *EPEC adherence factor* (EAF) *plasmid* (pEAF) yang mengkodekan fimbriae tipe IV yang disebut *bundle-forming pilus* (BFP), namun pada aEPEC tidak memiliki plasmid ini. Untuk mendeteksi keberadaan bakteri ini dapat dilakukan dengan pemeriksaan PCR untuk mendeteksi gen *eae* dan *stx*. Dimana hasil *stx* negative dan hasil *eae* positif. Kemudian diperiksa keberadaan gen BFP dan atau gen pEAF untuk membedakan tEPEC dan aEPEC (Gomes *et al*, 2016).

c. *Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) Escherichia coli* (EHEC/STEC)

Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) Escherichia Coli (EHEC/STEC) merupakan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan sebanyak satu

atau lebih jenis *Shiga-toxin* (stx) dari keluarga *cytotoxins*. EHEC dapat menyebabkan *hemorrhagic colitis* (HC) dan berkembangnya *hemolytic uremic syndrome* (HUS). Terdapat 2 gen virulensi EHEC yakni Stx1 dan Stx2. Stx1 lebih homogen jika dibandingkan dengan Stx2, yang termasuk keluarga *toxin* ini yakni Stx1a, Stx1c, dan Stx1d. Sedangkan keluarga *toxin* Stx2 lebih heterogen yang terdiri dari f Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, dan Stx2g. Pada *toxin* Stx2a, Stx2c atau Stx2d lebih sering dijumpai pada kasus HC dan HUS. Sebagai Langkah untuk melakukan *screening* atau mendeteksi keberadaan gen virulensi dari EHEC, metode pemeriksaan dengan PCR dapat digunakan (Gomes *et al*, 2016).

d. *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC)

Enteraggregative Escherichia coli (EAEC) didefinisikan sebagai bakteri dengan karakteristik pelekatan yang bersifat agregasi atau *aggregative adherence* (AA). Karakter AA yakni bakteri EAEC yang menempel pada sel epitel dan bertumpuk seperti kumpulan batu bata. Pelekatan yang berpola tersebut terjadi karena keberadaan gen pAA pada plasmid yang mengkode gen tersebut. Gen virulensi lain yang dimiliki oleh EAEC yakni *toxin* agregatif yang stabil dalam keadaan panas (EAST-1) (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

e. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit disentri dengan mekanisme yang sama seperti *Shigella* yakni dengan melakukan penetrasi dan meruksan mukosa usus. Kemampuan EIEC untuk menyerang usus disebabkan oleh factor virulensi spesifik dalam bentuk plasmid invasi (*invasion plasmid/lp*). Deteksi EIEC dengan PCR yang

menargetkan gen *ipaH* atau gen yang terdapat pada EIEC dan *Shigella* sering dilakukan. Selain itu keberadaan gen *iudA* dan *lacY* dapat digunakan untuk membedakan EIEC dengan *Shigella flexneri* (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018; Gomes *et al*, 2016).

f. *Diffusely-adherent Escherichia coli* (DAEC)

Diffusely-adherent Escherichia coli (DAEC) memiliki faktor virulensi yang dapat dideteksi dengan memeriksa keberadaan gen adhesin Afa/Dr. DAEC yang memiliki gen ini memiliki struktur fimbriae menempel secara langsung pada sisi spesifik sel inang. Bagian ini sering disebut fimbriae F1845. Selain itu, terdapat DAEC yang tidak memiliki gen Afa/Dr namun memiliki gen *aidA*. Terjadinya diare yang disebabkan oleh DAEC yang memiliki gen Afa/Dr dimulai dari menempelnya gen Afa/Dr dengan faktor DAF pada usus dan membentuk agregat. Proses penempelan ini akan menginduksi Ca^{2+} dan menyebabkan mikrovili menjadi rusak. Aktivitas enzim menjadi menurun dan mengganggu proses sekresi dan absorpsi di usus. Seluruh rangkaian peristiwa ini akan menyebabkan diare pada organisme (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

C. Identifikasi *Escherichia coli*

1. Metode EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*)

Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) merupakan salah satu media yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli*. EMBA merupakan media selektif yang mengandung sejumlah laktosa untuk membedakan golongan bakteri dari kemampuannya untuk memfermentasi laktosa. Bakteri *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk memfermentasi laktosa sehingga dapat tumbuh

jika diinokulasikan pada media EMBA. Bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada media EMBA dicirikan dengan koloni yang menghasilkan warna hijau metalik yang disebabkan oleh fermentasi laktosa dan asam yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Khakim and Rini, 2018).

2. Metode *Polymerase Chain Reaction*

Teknologi yang digunakan dalam mendeteksi keberadaan asam nukleat atau gen adalah dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode ini merupakan metode diagnostik dengan keakuratan yang tinggi dan mampu memberikan hasil yang cepat. PCR adalah suatu metode enzimatik yang digunakan untuk memperbanyak atau mengamplifikasi segmen DNA spesifik secara *in vitro*. Proses identifikasi suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, jamur, parasit, dan bakteri dapat menggunakan metode PCR (Nurhayati and Darmawati, 2017). Metode PCR memberikan keuntungan dalam mengidentifikasi bakteri patogen *Escherichia coli* sebab dapat mendeteksi hingga tingkat molekuler. Dengan demikian dapat dideteksi dan dibedakan antar bakteri patogen *Escherichia coli* seperti bakteri ETEC. Pada metode konvensional dengan kultur tidak dapat membedakan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan patotipenya, sedangkan dengan PCR dapat diketahui jenis patotipenya (Pradnyani and Budayanti, 2020).

a. Prinsip

PCR bekerja dengan menggunakan prinsip dimana berlangsungnya proses siklus yang terjadi secara berulang yang terdiri dari siklus denaturasi, *annealing*, dan elongasi sehingga terjadi siklus perbanyakan atau amplifikasi (Nurhayati and Darmawati, 2017).

b. Siklus PCR

1) Denaturasi

Denaturasi adalah tahapan pemisahan untai ganda menjadi untai tunggal dari suatu DNA. Pada tahap ini, pemisahan untaian dapat terjadi dengan bantuan penggunaan suhu yang tinggi.

2) *Annealing*

Annealing atau *primer annealing* adalah tahapan pengenalan atau penempelan *primer* pada DNA target. Pada tahap ini primer akan menempel pada sekuen komplementer yang terdapat pada DNA target.

3) Elongasi

Elongasi atau ekstensi adalah tahapan dimana terjadi proses pemanjangan untai baru DNA. Pemanjangan dimulai dari tempat *primer* menempel pada urutan basa nukleotida dari DNA target dengan arah pemanjangan dari ujung 5' menuju 3'. Dengan demikian sebuah untai dari DNA sudah direplikasi dengan salinan identiknya sehingga bagian dari DNA tertentu dapat diketahui keberadaannya (Nurhayati, B. and Darmawati, S., 2017).