

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Diare

Diare adalah suatu kondisi dimana seseorang mengalami peningkatan buang air besar dengan frekuensi sebanyak tiga kali atau lebih dalam satu hari, selain itu intensitas tinja juga encer atau cair. Faktor penyebab diare biasanya akibat sanitasi yang kurang baik, pengolahan dan penyimpanan makanan yang tidak memperhatikan kualitas kebersihan, yang mana hal tersebut dapat menjadikan kontaminasi dari bakteri *Escherichia coli* pembawa patogen toxin penyebab diare (Hutasoit, 2020).

Pada tahun 2020 di Indonesia, hanya 28,9% dari target yang ditetapkan yang mendapat pelayanan untuk diare pada balita. Sementara itu, pemberian oralit kepada balita yang mengalami diare mencapai 90,8%, dan pemberian zinc mencapai 89,5%. Menurut penelitian dari Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur 2020, cakupan pelayanan diare pada balita tahun itu adalah 44,839%, dengan cakupan pemberian oralit sebanyak 96,911%, dan pemberian zinc mencapai 94,715%.

Diare lebih dominan Balita rentan terhadap serangan bakteri penyebab diare karena sistem kekebalan tubuh mereka yang masih lemah. Jika diare disertai muntah berkelanjutan akan menyebabkan dehidrasi (kekurangan cairan). Diare dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik secara langsung maupun tidak langsung, seperti faktor agen, inang, perilaku, dan juga faktor lingkungan. (Oktavianisya dkk., 2023).

Ketika kebersihan sanitasi makanan diabaikan pada setiap tahap proses produksi makanan, mulai dari pemilahan dan penyimpanan bahan hingga pemrosesan dan penyajian, penyakit bawaan makanan, yang juga dikenal sebagai penyakit bawaan makanan, dapat menyebar melalui makanan. Diare adalah salah satu penyakit yang ditularkan melalui makanan; penyakit ini merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama karena tingginya angka kesakitan dan kematian akibat diare. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu polutan penyebab penyakit ini (Ramlan dan Sumihardi, 2018).

Diare merupakan kondisi dimana frekuensi, volume, dan kekentalan tinja mengalami perubahan yang tidak normal atau tidak sesuai dengan keadaan biasanya. Peningkatan volume, cairan, dan frekuensi buang air besar terkadang disertai lendir atau darah seperti lebih dari tiga kali sehari, atau lebih dari empat kali sehari pada bayi baru lahir adalah salah satu gejala tersebut (Selviana et al., 2017). Banyak faktor, termasuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan virus serta makanan dan minuman yang terkontaminasi karena kebersihan yang tidak memadai, berkontribusi terhadap tingginya prevalensi diare. (Rahmah dkk, 2016).

Mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan protozoa memiliki potensi untuk memicu terjadinya diare. Beberapa contoh mikroorganisme yang sering menjadi penyebab diare pada anak antara lain *Escherichia coli* enterotoksigenic, *Shigella* sp, *Campylobacter jejuni*, dan *Cryptosporidium* sp. Makanan dan minuman dapat menjadi sarang bakteri atau virus yang masuk ke dalam tubuh. Setelah itu, mereka mempunyai kemampuan untuk menginfeksi dan merusak sel epitel usus kecil. Fungsi usus kecil akan di bawah standar karena sel-sel epitel yang belum matang akan menggantikan sel-sel epitel yang rusak. Akibatnya, vili usus kecil menyusut,

sehingga mengganggu kemampuan tubuh untuk menyerap nutrisi dan cairan dengan baik. Hal ini mengakibatkan penumpukan cairan dan makanan di usus halus, meningkatkan tekanan osmotik dalam usus, sehingga menyebabkan penarikan cairan ke dalam lumen usus. Akibatnya, cairan dan makanan yang tidak terserap akan dikeluarkan melalui anus, menyebabkan terjadinya diare. (Utami dan Luthfiana, 2016).

Pemberian oralit merupakan pengobatan yang disarankan untuk diare guna menggantikan cairan dan elektrolit yang hilang akibat penyakit tersebut. Satu paket oralit diberikan dengan cara mencampurkannya dengan satu gelas air mendidih (200cc). Pemberian cairan oralit sebanyak 50–100cc setiap selesai buang air besar disarankan untuk anak di bawah satu tahun, dan memberikan 100–200cc setiap habis buang air besar disarankan untuk anak di atas satu tahun. (Utami dan Luthfiana, 2016).

B. Bakteri *Escherichia coli*

Salah satu jenis bakteri koliform yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae adalah *Escherichia coli*. Keluarga bakteri enterik yang dikenal sebagai Enterobacteriaceae mampu berkembang biak di dalam sistem pencernaan. Bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* berbentuk batang, anaerobik fakultatif, adalah komponen normal flora usus pada mamalia. Itu juga tidak menghasilkan spora. Bakteri *Escherichia coli* biasanya bakteri ini terdapat pada sistem pencernaan hewan atau manusia. Dari sudut pandang fisiologis, *Escherichia coli* dapat bertahan dalam kondisi lingkungan yang menantang. Bakteri ini tumbuh baik di tanah, air tawar, dan air laut. *Escherichia coli* terpapar pada lingkungan biotik dan abiotik dalam keadaan ini. (Rahayu dkk., 2021).

1. *Taksonomi Escherichia coli*

Kingdom : *Prokaryotae*
Divisi : *Gracilicutes*
Kelas : *Scotobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

(Jawetz dkk., 2007)

2. *Morfologi*



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* (www.undip.ac.id)

Escherichia coli adalah bakteri Gram-negatif yang akan tampak berwarna merah muda di bawah mikroskop setelah proses pewarnaan Gram. Bakteri ini berukuran sekitar $\pm 3 \mu\text{m}$, berbentuk batang tunggal atau ganda, motil, dan bersifat fakultatif anaerob. Ketika dikultur Pada agar MacConkey, *Escherichia coli* akan tampak berwarna merah muda dengan koloni yang berwarna hijau kekuningan. Bakteri ini juga menunjukkan koloni pada agar Darah Agar (BG), dan *Escherichia*

coli akan tampak berwarna hijau mengkilap pada agar Eosin Methylene Blue (EMB). *Escherichia coli* dapat berkembang pada tingkat pH yang berbeda dan tumbuh paling baik pada suhu antara 10°C dan 45°C. antara lima dan tujuh. *Escherichia coli* juga dapat tumbuh subur pada media dengan konsentrasi NaCl 0,5–5%. (Yulianto dkk., 2019).

Terdapat 150 jenis antigen O, 50 jenis antigen H, dan 90 jenis antigen K pada *Escherichia coli*. Mikroba lain juga mencakup beberapa antigen O ini. *Shigella* juga memiliki antigen ini. Kadang-kadang, penyakit yang berhubungan dengan antigen O dapat dideteksi pada diare dan infeksi saluran kemih. (Yulianto dkk., 2019).

3. *Patogenesis Bakteri Escherichia coli*

Escherichia coli menghuni saluran pencernaan manusia dan biasanya jinak. Sebaliknya, *E. Coli* yang awalnya non-patogen dapat menjadi patogen jika memperoleh gen virulensi dari bakteri lain melalui proses transfer gen (transformasi), transfer plasmid (konjugasi), atau transfer gen melalui bakteriofag (transduksi). Proses patogenesis dan patogenesis *E. coli* berbeda-beda sehingga menimbulkan berbagai penyakit. (Rahayu dkk., 2021).

Patogenesis suatu organisme adalah kemampuannya menyebarkan penyakit. Jika *Escherichia coli* mampu menyusup ke dalam tubuh inangnya, beradaptasi dan berkembang di sana, menyerang sistem kekebalan tubuh, dan akhirnya menimbulkan penyakit, maka ia dapat menimbulkan gejala penyakit tersebut. Seperti bakteri berbahaya lainnya, mekanisme patogenesis ini terjadi secara bertahap. Fase-fase ini melibatkan pembelahan sel, penghancuran sel usus, penetrasi sel usus dan masuknya aliran darah, kolonisasi pada tempat tertentu di

permukaan sel usus (sel mukosa), menempel pada organ target, dan akhirnya menyebabkan kerusakan organ. (Rahayu dkk., 2021).

Enterotoksigenisitas berbahaya adalah kategori patogenisitas yang termasuk dalam kategori *Escherichia coli*, sebagaimana dijelaskan pada Bab Pendahuluan. *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC), *Escherichia coli* penganut difusi (DAEC), *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC), *Escherichia coli* enteroaggregatif (EAEC), dan *Escherichia coli* enterohemorrhagic (EHEC) merupakan variasi dari *Escherichia coli*. Escherichia coli Skema serotipe yang didasarkan pada keberadaan atau tipe tiga antigen dasar, antigen lipopolisakarida (O) somatik, antigen flagela (H), dan antigen kapsuler (K) juga dapat digunakan untuk mendefinisikan *Escherichia coli* patogen. (Rahayu dkk., 2021).

a. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) adalah penyebab diare, baik pada manusia maupun hewan. Melalui interaksi yang dikendalikan oleh faktor kolonisasi (CFs), ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus halus setelah memasuki saluran pencernaan. Enterotoksin kemudian akan diproduksi oleh ETEC. Komponen kolonisasi ini, yang mewakili tiga jenis fimbriae berbeda, diperlukan untuk proses perlekatan pada permukaan mukosa usus kecil. Jalur fekal-oral adalah cara penularan *Escherichia coli* enterotoksigenik. Makanan atau air yang tercemar ETEC dalam jumlah tinggi biasanya merupakan sumber penularan ETEC pada bayi dan anak-anak. (Rahayu dkk., 2021).

b. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC)

Diare sering disebabkan oleh Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) di

negara-negara miskin. Bayi dengan diare parah yang disebabkan oleh *Escherichia coli* Enteropatogenik dapat mengalami gejala hingga dua minggu, dan jika mengalami dehidrasi parah, mereka bahkan dapat meninggal. Orang dewasa mungkin mengalami menggigil, demam, menggigil, kram perut, mual, muntah, dan diare parah. Dalam waktu 17 hingga 72 jam setelah infeksi, penyakit ini biasanya muncul, dan dapat berlangsung antara 6 hingga 3 hari. EPEC dapat menginfeksi manusia jika bersentuhan dengan air yang terkontaminasi tinja. (Rahayu dkk., 2021).

c. Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC)

Escherichia coli yang bersifat enterohemorrhagic Jenis *E. coli* khusus ini dapat menyebabkan kolitis atau diare berdarah pada manusia, yang keduanya dapat berkembang menjadi sindrom uremik hemolitik (HUS). Gagal ginjal akut pada anak-anak terutama disebabkan oleh sindrom HUS, yang dapat berakibat fatal pada orang dewasa. Rute fekal-oral adalah cara penularan *Escherichia coli* enterohemorrhagic. Daging dan produk susu yang tidak dipasteurisasi, serta sayuran yang terkontaminasi, merupakan makanan utama yang dapat menyebabkan manusia tertular EHEC. (Rahayu dkk., 2021).

d. Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC)

Meskipun patofisiologi EIEC berbeda dengan strain *E. Coli* lainnya, patofisiologi EIEC sebanding dengan shigellosis yang disebabkan oleh *Shigella* karena penyakit ini disebabkan oleh penetrasi bakteri dan cedera mukosa usus. Menurut penelitian evolusi terbaru, *Shigella* dan EIEC memiliki banyak kesamaan ciri dan kualitas. Infeksi EIEC dapat menyebabkan menggigil, demam, sakit kepala, nyeri otot, kram perut, diare, dan gejala lainnya. Delapan hingga dua

puluh empat jam setelah mengonsumsi makanan atau air dengan EIEC, gejala mungkin muncul. (Rahayu dkk., 2021).

e. Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC)

E. coli yang bersifat enteroagregatif Pola perlekatan agregatif merupakan ciri khas dari patotipe *E. coli* penyebab diare. (aggregative adherence = AA), yaitu proses menempelnya bakteri EAEC pada sel epitel seperti tumpukan batu bata (Rahayu et al., 2021)..

f. Difusif adheren *Escherichia coli* (DAEC).

Escherichia coli DAEC merupakan patogen keenam penyebab diare pada kelompok *Escherichia coli*. DAEC memiliki faktor virulensi yang berbeda dari gen virulensi yang terdapat pada strain *E. coli* lainnya, termasuk EAEC, ETEC, dan EPEC. Belum ada penelitian ekstensif yang dilakukan mengenai patogenisitas DAEC. Ada dua kategori DAEC yang berbeda. Pertama, DAEC yang mengekspresikan adhesin Afa/Dr; khususnya, ini adalah DAEC dengan fimbriae F1845, yang merupakan struktur fimbriae yang melekat langsung ke sisi sel inang tertentu. (Rahayu dkk., 2021).

C. Shigatoxin *Escherichia coli* (STEC)

Shigatoxin Escherichia coli (STEC) merupakan patogen penghasil toxin Shiga yang diproduksi oleh bakteri *Eshcerichia coli*, yang mana dikenal sebagai mikroorganisme patogen bawaan makanan. *Shigatoxin* yaitu sekumpulan protein inaktivasi ribosom tipe 2 yang diproduksi di beberapa jenis bakteri. Jika seseorang terjangkit bakteri pembawa toksin Shiga, toksin tersebut diproduksi di usus, ditranslokasi ke sistem peredaran darah, dan ditransit ke sel target. (Sabdoningrum et al., 2022).

D. Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL)

Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) merupakan enzim yang di produksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan resistensi terhadap suatu antibiotik. Patogen ini diidentifikasi oleh enzim yang dihasilkan dalam plasmid bakteri Gram-negatif keluarga Enterobacteriaceae yang telah menjadi resisten terhadap antibiotik β -laktam. Racun ini ditemukan pada daging hewan, unggas, dan produk susu mentah. Bakteri paling terkenal yang menghasilkan ESBL adalah *Escherichia coli*.

(Pratama et al., 2019). Enzim β -laktamase tipe baru, yang dikenal sebagai tipe CTX-M, telah berevolusi dalam beberapa tahun terakhir dan menjadi lebih umum dibandingkan tipe TEM asli yang menyebabkan ESBL. Karena bakteri penghasil ESBL memproduksi enzim dari gen pada plasmid, yang mudah ditransfer ke bakteri lain, maka kuman ini memerlukan perhatian. Menemukan pengobatan pengganti merupakan suatu tantangan karena plasmid ini sering kali mengandung gen yang memberikan resistensi terhadap antibiotik tambahan, seperti kotrimoksazol, kuinolon, dan aminoglikosida. Karena situasi ini, setiap negara mempunyai tingkat infeksi bakteri penghasil ESBL yang berbeda-beda. (Taslim & Maskoen, 2016).

Karena kemampuannya menciptakan enzim yang membuat mereka resisten terhadap obat sefalosporin generasi ketiga, bakteri yang memproduksi ESBL diklasifikasikan sebagai bakteri yang resistan terhadap beberapa obat. Atau disebut sebagai Extended Spectrum Beta Laktamase (ESBL) (Taslim & Maskoen, 2016).

E. Lawar

Salah satu tempat wisata populer di Bali adalah Kabupaten Gianyar, di mana banyak pedagang menjual makanan khas Bali seperti Lawar. Dalam konteks sosial dan budaya masyarakat Hindu Bali, mengonsumsi lawar tidak hanya memiliki fungsi gastronomi sebagai makanan untuk memuaskan lapar atau mengisi perut, tetapi juga memiliki nilai-nilai sosial dan keagamaan, serta menunjukkan identitas budaya. Tradisi pembuatan dan konsumsi lawar telah berlangsung dari zaman dulu hingga kini, mencerminkan pentingnya lawar sebagai bagian dari identitas budaya masyarakat Hindu Bali. Selain itu, lawar saat ini diperdagangkan sebagai komoditas di berbagai tempat umum, termasuk pasar, restoran, dan bahkan hotel bintang lima di Bali. Saat ini harga seporsi lawar belum diketahui, meskipun harganya berubah-ubah. Berbagai jenis lawar, seperti lawar daging sapi, babi, penyu, ayam, dan bebek, umumnya dibedakan di Bali berdasarkan jenis daging yang digunakan. Bahan utama lawar terdiri dari daging, kelapa, sayur mayur, rempah-rempah, dan terkadang darah segar untuk memberi warna merah. Daging yang dimanfaatkan bisa dari berbagai jenis, antara lain bebek, ayam, babi, sapi, dan penyu. (Bria dkk, 2022).

Lawar merupakan kuliner khas Bali yang terbuat dari olahan sayuran dan bumbu rempah khas Bali yang disebut bumbu genap, olahan lawar kerap dihidangkan saat upacara adat maupun keagamaan. Namun semakin populernya kuliner lawar kini lawar sudah menjadi ikon kuliner khas Bali, salah satu olahan lawar yang banyak dijumpai yaitu *lawar plek*. *Lawar plek* terbuat dari darah dan daging babi, sapi maupun ikan laut mentah yang diadon menjadi satu dengan bumbu dan sayuran, bumbu genap khas Bali menjadikan bau dan rasa amis pada

lawar plek menjadi hilang (Purwanatha, 2023). Ada dua varian Lawar Bali: Lawar merah yang mengandung darah segar dan Lawar putih yang tidak mengandung darah. Biasanya, Lawar hanya disimpan pada suhu ruangan dan tidak dimasak, sehingga mudah basi dan cepat membusuk. Pertumbuhan bakteri (Yulianto dkk., 2019).

Banyak penelitian yang telah dilakukan, khususnya terhadap Lawar Merah, meski tidak pernah dikaitkan dengan wabah di kalangan wisatawan. Temuan penelitian ini menunjukkan tingkat kontaminasi *E. Coli* yang tinggi. Misalnya saja, penelitian yang dilakukan di lingkungan Sanur di Denpasar menunjukkan tingkat kontaminasi sebesar 60%, sedangkan 83,3% ditemukan di Ubud. Karena penelitian ini hanya menggunakan prosedur pemupukan, penelitian ini tidak menyatakan secara pasti apakah terdapat *E. coli* patogen. Di sisi lain, gen virulensi *E. Col.* yang patogen dapat ditemukan dengan menggunakan uji PCR, yang dapat memberikan gambaran yang lebih akurat mengenai kemungkinan penyakit bawaan makanan di masyarakat. (2015) Trisdayanti dkk.

Secara tradisional, lawar Bali disiapkan pada saat ritual keagamaan Hindu, khususnya pada hari raya Galungan. Sejak berkembangnya aliran pemikiran Siwa Siddhanta, kebiasaan menyiapkan lawar telah berkembang menjadi bagian integral dari festival Galungan, untuk menghormati kemenangan adharma (kejahatan) atas dharma (kebenaran). Secara tradisional, lawar dibuat sebelum Penampahan, perayaan Galungan. Babi dibunuh pada saat Penampahan dan dimanfaatkan sebagai persembahan atau makanan upacara. Lawar merupakan salah satu masakan yang dimasak. Setelah itu, lawar akan diikutsertakan dalam sesajen upacara, seperti halnya di Banten Caru. Tanda pangider-ider yang

melambangkan dewa-dewa di segala penjuru mata angin, atau arah mata angin digunakan untuk membuat lawar. Lawar merah di selatan, dan lawar hitam (hijau) di arah kaja (utara), sate dan sambal di tengah, dan lawar putih dan kuning masing-masing di timur dan barat. Pada tahun 2023, Juniari dkk.

F. Metode PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu cara sintesis dan amplifikasi DNA, penggunaan metode PCR dalam mengamplifikasi segmen DNA hanya membutuhkan waktu beberapa jam dalam jumlah jutaan (Setyawati dan Zubaidah, 2021). Reaksi berantai polimerase, atau PCR, adalah metode untuk memperkuat dan mensintesis DNA (McPherson dan Moller, 2006). Dalam beberapa jam, segmen DNA dapat diamplifikasi hingga jutaan kali menggunakan teknik PCR. Pentingnya melakukan optimasi untuk mendapatkan komposisi dan kondisi PCR yang ideal sebelum melakukan PCR pada bahan penelitian. Teknisi laboratorium yang melakukan penelitian PCR harus mengetahui apa yang harus dilakukan ketika sampel dan reagen disiapkan untuk dianalisis. (Rudiretna dan Handoyo, 2001). Proses PCR melibatkan beberapa langkah, khususnya:

1. pra-denaturasi DNA templat
2. denaturasi DNA templat
3. penempelan primer pada templat (*annealing*)
4. pemanjangan primer (*extension*)
5. pemantapan (*postextension*)

Menurut Pertiwi dkk. (2010), tahapan (2) hingga (4) merupakan tahapan atau siklus yang berulang, di mana sejumlah DNA diduplikasi. Metodologi PCR Seluruh segmen DNA dapat disalin jutaan kali dalam hitungan jam berkat

teknologi ini. Diperlukan prosedur optimasi untuk mendapatkan komposisi dan keadaan PCR yang ideal sebelum menggunakan PCR pada sampel penelitian untuk menjamin hasil PCR terbaik. Pada tahun 2021, Setyawati dan Zubaidah.

Kami mengubah tahapan PCR, termasuk waktu, suhu, dan komposisi, selama proses optimasi PCR. Dengan menggunakan penyesuaian kuantitas primer dan suhu annealing, kami mengoptimalkan gen Leptin pada DNA sapi, sehingga menghasilkan panjang produk PCR sebesar 467 bp, sebagai contoh penelitian ini. $(T_m - 5) ^\circ\text{C}$ hingga $(T_m + 5) ^\circ\text{C}$ dapat digunakan untuk menghitung temperatur annealing (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Elektroforesis kemudian diterapkan pada produk PCR yang dihasilkan. Hasil elektroforesis ini diperiksa secara visual dengan mengukur ketebalan pita. Tebal, tunggal, dan berukuran sama dengan target menjadi ciri pita yang ideal. Kemudian dilakukan PCR terhadap sampel penelitian menggunakan konsentrasi primer dan suhu annealing yang menghasilkan pita terbaik. (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

G. Laboratorium

Laboratorium adalah tempat di mana kegiatan praktikum, penelitian, dan pengembangan teknologi baru dilakukan untuk mendukung proses belajar-mengajar dan pelayanan pada masyarakat. Dalam konteks pendidikan, laboratorium merupakan lingkungan di mana pembelajaran terjadi melalui demonstrasi atau praktikum, memungkinkan siswa untuk memperoleh pengalaman belajar dengan berinteraksi langsung dengan alat dan bahan, serta mengamati fenomena yang terjadi secara langsung. Siswa dapat memilih untuk bekerja dalam kelompok atau mandiri selama praktikum. Istilah "laboratorium"

juga merujuk pada lokasi di mana instruktur dan siswa melakukan penelitian atau eksperimen; oleh karena itu, kata ini juga dapat merujuk pada ladang, kebun, dan area lain di mana kegiatan semacam ini dilakukan. (Affifah dan Astuti, 2017). Pada laboratorium biomolekuler digunakan untuk melakukan pemeriksaan ataupun penelitian berbasis molekuler, adapun alat – alat yang digunakan pada laboratorium biomolekuler yaitu PCR, UV DOC, nanodrop dan alat lainnya. Alat – alat tersebut digunakan untuk pembuatan produk PCR dan mengidentifikasi gen berupa DNA atau RNA . (Affifah dan Astuti, 2017).