

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Penjamah Makanan**

Penjamah makanan adalah orang yang secara langsung berhubungan dengan makanan dan peralatan mulai dari tahap persiapan, pembersihan, pengolahan, pengangkutan sampai penyajian (Permenkes RI, 2011). Dalam proses pengolahan makanan, peran dari penjamah makanan sangatlah besar. Penjamah makanan dalam melakukan pelayanan dan penanganan makanan harus memenuhi persyaratan sesuai dengan peraturan Kepmenkes No. 942/Menkes/SK/VII/2003, antara lain (Kementerian Kesehatan RI, 2003) :

1. Tidak menderita penyakit menular misalkan: batuk, pilek, influenza, diare, penyakit perut sejenisnya
2. Menutup luka (pada luka terbuka/bisul atau luka lainnya)
3. Menjaga kebersihan tangan, rambut, kuku, dan pakaian
4. Memakai celemek dan tutup kepala
5. Mencuci tangan setiap kali hendak menangani makanan
6. Menjamah makanan harus memakai alat/perlengkapan atau dengan sarung tangan
7. Tidak sambil merokok, menggaruk anggota badan (telinga, hidung, mulut atau bagian lainnya)
8. Tidak batuk atau bersin di hadapan makanan yang disajikan tanpa menutup mulut dan hidung.

Penjamah makanan yang menangani bahan makanan bisa saja menyebabkan kontaminasi mikrobiologis. Mikroorganisme yang hidup di dalam maupun pada tubuh manusia dapat menjadi penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan bisa terdapat pada kulit, hidung, mulut, saluran pencernaan, rambut, kuku, dan tangan. Selain itu, penjamah makanan juga dapat bertindak sebagai pembawa penyakit infeksi seperti, demam typhoid, hepatitis A, diare dan lain sebagainya (Sugiyono, 2010).

## **B. Warung Makan**

Warung makan merupakan tempat makan yang sederhana dan biasanya dikunjungi oleh kalangan menengah kebawah tetapi ada saja dari kalangan atas yang mengunjungi warung makan tersebut. Ciri khas warung makan adalah adanya tempat makan dengan perabot yang terbilang sederhana. Meskipun demikian, banyak warung makan yang menyajikan makanan dengan rasa yang sangat enak dengan harga yang relatif murah (Abdussalam dan Kaferstein, 1993).

Pangan tidak hanya berpengaruh pada mutu keadaan fisik tetapi juga mutu kehidupan dan kesejahteraan manusia itu sendiri. Sejumlah kasus infeksi bawaan makanan dan keracunan seperti kolera, hepatitis A, tipus, diare, dan penyakit lainnya yang dapat ditularkan melalui makanan siap konsumsi. Meskipun demikian, belum adanya bukti yang menjelaskan bahwa warung makan lebih mengindikasikan terjadi transmisi infeksi dan keracunan makanan (Abdussalam dan Kaferstein, 1993).

### C. Makanan Jajanan

Makanan jajanan merupakan makanan dan minuman yang diolah oleh penjamah makanan di tempat penjualan disajikan sebagai makanan siap santap untuk dijual bagi umum selain makanan yang disajikan oleh jasa boga, rumah makanan atau restoran, dan hotel (Kementerian Kesehatan RI, 2003). Jenis-jenis makanan jajanan dikelompokkan menjadi empat jenis, antara lain (SPP, Direktorat ; RI, 2013) :

#### 1. Makanan utama atau sepinggan

Jajanan yang dikategorikan sebagai makanan berat dan mengenyangkan. Misalnya: mie ayam, bakso, bubur ayam, nasi goreng, nasi campur, gado-gado, soto, lontong berisi sayuran atau daging, dan lain-lain.

#### 2. Camilan atau *snack*

Jenis makanan jajanan yang sering dikonsumsi sebagai makanan pendamping. Camilan atau snack dibagi menjadi dua yaitu camilan basah dan camilan kering. Contoh dari camilan kering, yaitu brondong jagung, crepes, keripik, biskuit, kue kering, dan permen. Sedangkan contoh dari camilan basah, yaitu gorengan, jagung bakar/rebus, lemper, kue lapis, donat, bakpao, dan jelly.

#### 3. Minuman

Minuman dapat disajikan dengan wadah atau gelas dan kemasan. Contoh minuman yang disajikan dalam gelas, yaitu air putih, es teh manis, es jeruk dan berbagai macam minuman campur (es cendol, es campur, es buah, es doger, jus buah, es krim). Sedangkan minuman yang disajikan dengan

kemasan, contohnya minuman soda, teh, sari buah, susu, yoghurt, dan lain-lain.

#### 4. Jajanan buah

Buah yang biasanya dijual ada yang sudah dipotong ada juga yang dibiarkan utuh. Contoh buah yang sudah dipotong seperti semangka, melon, rujak, asinan yang merupakan makanan yang dijual di supermarket atau warung.

### **D. Kawasan Wisata Sanur**

Sanur merupakan salah satu kawasan pariwisata tertua di Bali yang pertama kalinya memiliki resort. Pantai Sanur terletak pada  $8^{\circ} 38'00''$  dan  $08^{\circ} 42'30''$  LS,  $115^{\circ} 16'30''$ BT. Luas wilayah kawasan pariwisata pantai Sanur adalah 1.548,27 Ha. Secara administratif, pantai Sanur terletak di bagian Kota Denpasar, terletak di sebagian Kecamatan Denpasar Selatan yaitu terdiri di wilayah kelurahan Sanur, wilayah Desa Sanur Koja, wilayah Desa Sanur Kauh, serta di Kecamatan Denpasar Timur yaitu wilayah desa Kesiman Petilan dan wilayah Desa Kesiman Kertalangu. Sanur bisa dikatakan menjadi salah satu ikon pariwisata Bali yang sudah dikenal dan dikunjungi sejak 1930an. Kawasan wisata Sanur sudah terkenal di manca negara dengan keindahan pantainya. Mulai dari arah utara hingga selatan, terdapat enam pantai di kawasan wisata Sanur yaitu Pantai Matahari Terbit, Pantai Segara Ayu, Pantai Sindhu, Pantai Semawang, Pantai Karang, dan Pantai Mertasari. Selain keindahan pantai, sepanjang jalan di kawasan wisata Sanur dilengkapi dengan penunjang wisata berupa hotel, restoran atau cafe-cafe kecil, art shop, dan lain sebagainya (Widiyani, 2014).

Berbagai jenis makanan yang dijual seperti makanan khas bali, *Indonesian food*, *western food*, dan lainnya. Perkembangan daerah Sanur menjadi daerah pariwisata menyebabkan semakin pesatnya pertumbuhan fasilitas-fasilitas pendukung (akomodasi wisata) seperti hotel, restoran, villa, restoran, art shop, dan lainnya. Selain karena daerah ini berada di sepanjang pantai, daya tarik pada wilayah ini adalah kebudayaan atau ciri khas yang tidak ditinggalkan oleh masyarakat setempat walaupun banyak pengaruh luar yang masuk daerah ini (Widiyani, 2014).

#### **E. Perilaku Cuci Tangan**

Mencuci tangan dengan sabun adalah tindakan sanitasi dengan membersihkan tangan dan jari dengan sabun dan air untuk memutuskan rantai bakteri. Hal ini karena tangan sering menjadi pembawa bakteri dan patogen ditularkan dari satu orang ke orang lain melalui kontak langsung atau tidak langsung (melalui handuk, peralatan makan, dan peralatan masak). Tangan yang bersentuhan langsung dengan kotoran manusia dan cairan tubuh lainnya seperti lendir serta makanan dan minuman yang terkontaminasi saat tidak mencuci tangan dengan sabun dapat menularkan kepada orang lain yang tidak menyadari adanya infeksi bakteri, virus, dan parasit. Berikut langkah-langkah mencuci tangan dengan sabun (Pusat Data dan Informasi, 2014) :



Gambar 1 Langkah-langkah mencuci tangan dengan sabun (Kementerian Kesehatan RI, 2003)

Mencuci tangan dengan hand sanitizer cair dapat dilakukan pada situasi tertentu dimana sabun dan air bersih tidak tersedia. Untuk hasil yang efektif, hand sanitizer yang digunakan harus mengandung alkohol minimal 60%. Mencuci tangan dengan sabun dan air bersih menawarkan manfaat yang berbeda dari pembersih tangan berbasis alkohol. Sabun dan air bersih dapat menghilangkan semua jenis bakteri dari tangan, tetapi pembersih tangan berbasis alkohol hanya dapat mengurangi jumlah bakteri tertentu pada kulit.



Gambar 2 Cara menggunakan *hand sanitizer*

(Kementerian Kesehatan RI, 2003)

Penyakit-penyakit yang bisa dicegah menggunakan cuci tangan gunakan sabun yaitu:

1. Infeksi saluran pernapasan lantaran mencuci tangan menggunakan sabun bisa melepaskan kuman-kuman pernapasan yang masih ada dalam tangan dan bagian atas telapak tangan, bisa menghilangkan kuman penyakit lainnya
2. Diare lantaran kuman infeksius penyebab diare ditularkan melalui jalur *fecal-oral*, sebagai akibatnya mencuci tangan gunakan sabun bisa mencegah penularan kuman penyakit tersebut
3. Infeksi cacing, mata, dan penyakit kulit, dimana penelitian sudah menggambarkan bahwa selain diare dan infeksi saluran pernapasan, penggunaan sabun pada mencuci tangan mengurangi peristiwa penyakit kulit, infeksi mata misalnya trakoma, cacingan khususnya untuk *ascariasis* dan *trichuriasis* (Departemen Kesehatan RI, 2009).

## **F. Sarana Cuci Tangan**

Tersedianya sarana cuci tangan dapat meningkatkan kebiasaan cuci tangan yang baik dan benar. Jika ditempatkan di dekat area penyiapan makanan atau toilet, maka sarana cuci tangan menjadi pengingat dan hal yang wajib dilakukan. Tiga prinsip utama yang harus dipertimbangkan pada sarana cuci tangan, yaitu (Kementerian Kesehatan RI, 2003) :

1. Sarana cuci tangan dilakukan dengan air bersih yang mengalir dan mengikuti prosedur yang direkomendasikan agar menghindari penggunaan air yang berlebihan.
2. Sarana cuci tangan harus bebas dari risiko penularan Covid-19.
3. Sarana cuci tangan tidak boleh mencemari lingkungan sekitar.

Adapun hal-hal yang harus ada di sarana cuci tangan, sebagai berikut (Kementerian Kesehatan RI, 2003) :

1. Air bersih yang disimpan dalam wadah atau dialirkan melalui pipa  
Penggunaan air bersih harus diperhatikan agar tidak terbuang percuma dengan minimal 250-350 ml air per pengguna.
2. Sabun batang atau sabun cair  
Sabun tidak boleh diencerkan dan tidak boleh memberi desinfektan. Minimal sabun batang yang harus tersedia yaitu 1 batang, sedangkan sabun cair minimal 100 ml.
3. Lubang resapan  
Minimal besar lubang resapan  $1\text{m}^3$  (1m x 1m x 1m), jika lubang resapan tidak dapat dibangun maka drainase yang tepat dipastikan tersedia.



#### 4. Media instruksi atau poster

Media yang berisi langkah-langkah mencuci tangan yang baik dan benar dengan minimal satu lembar per unit di setiap sarana cuci tangan.

#### 5. Tahap mengeringkan tangan

Penggunaan kain lap atau tisu perlu dari pengguna masing-masing, karena penggunaan kain lap berulang kali bisa menyebabkan kontaminasi kuman.

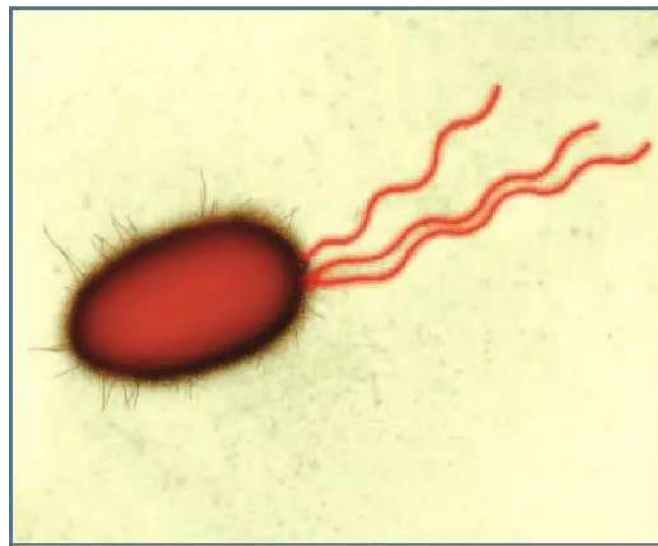
### **G. Bakteri**

#### **1. Definisi bakteri**

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya, relatif sederhana karena materi genetik tidak diselimuti oleh selaput membran inti. Ukuran tubuh bakteri beragam dari yang berdiameter 0,12 mikron sampai yang memiliki panjang ratusan mikron. Sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk yaitu, bentuk *basil*/batang, bulat/*coccus*, dan spiral. Bakteri pada umumnya bereproduksi dengan cara pembelahan biner. Bakteri memiliki informasi genetik berupa *deoxyribonucleic acid* (DNA), tetapi tidak terlokalisasi dalam nukleus dan tidak ada membran inti. Bakteri juga menggunakan bahan kimia organik yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati sebagai sumber nutrisi. Pada beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan proses biosintesis, sedangkan beberapa bakteri lainnya memperoleh nutrisi dari substansi organik (Radji, 2010).

## 2. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek, mempunyai flagel, bakteri ini memiliki ukuran 0,4 - 0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik hampir di semua media perbenihan, dapat meragi pada laktosa, menfermentasi karbohidrat, menghasilkan gas dari glukosa, dan bersifat *mikroaerofilik*. Bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar di bawah ini (Radji, 2010).



Gambar 3 Bakteri *Escherichia coli*

(Shanon D., 2010)

*Escherichia coli* adalah kuman oportunitis yang banyak ditemukan dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *Escherichia coli* dapat berpindah karena adanya kegiatan seperti dari tangan ke mulut atau dengan pemindahan pasif lewat minuman. *Escherichia coli* dalam usus besar bersifat patogen jika melebihi jumlah normalnya. Strain tertentu dapat menyebabkan peradangan selaput perut dan usus (*gastroenteritis*). Bakteri ini menjadi patogen berbahaya apabila hidup di luar usus seperti pada saluran kemih, yang dapat mengakibatkan peradangan selaput lendir (*sistitis*) (Radji, 2010).

a. Struktur antigen

*Escherichia coli* mempunyai antigen O, H, dan K. Pada saat ini, telah ditemukan sekitar 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K, dan 50 tipe antigen H. Berdasarkan sifat-sifat fisiknya, antigen K dibedakan menjadi 3 tipe, yaitu L, A, dan B (Radji, 2010).

b. Faktor patogenitas *Escherichia coli*

1) Antigen permukaan

*Escherichia coli* memiliki 2 tipe fimbriae, yaitu tipe manosa sensitif (pili) dan tipe manosa resisten *colonization factor antigen* (CFA I dan II). Kedua tipe fimbria ini penting sebagai faktor kolonisasi, yaitu untuk pelekatan bakteri pada sel hospes. Sebagai contoh CFA I dan II melakatkan *Enteropatogenic Escherichia coli* pada sel epitel usus. Enteropatogenik berarti dapat menimbulkan penyakit pada saluran intestine. Antigen kapsul KI sering ditemukan pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari pasien bakteremia serta neonatus yang menderita meningitis. Peran antigen KI menghalangi proses fagositosis sel bakteri oleh leukosit (Radji, 2010).

2) *Enterotoksin*

Ada 2 macam *enterotoksin* yang berhasil diisolasi dari *Escherichia coli* yaitu *heat-labile enterotoxin* (LT) atau termolabil dan *heat-stable enterotoxin* (ST) atau termostabil. Produksi kedua macam toksin diatur oleh plasmid yang mampu pindah dari satu sel kuman ke sel kuman yang lain. Ada dua macam plasmid, yaitu satu plasmid mengode pembentukan toksin LT dan ST dan satu plasmid lainnya mengatur pembentukan toksin ST (Radji, 2010).

### 3) Hemolisin

Pembentukan hemolisin diatur oleh plasmid yang berukuran 41 megadalton. Hemolisin merupakan protein yang bersifat toksik terhadap sel pada biakan jaringan. Peranan hemolisin pada infeksi *Escherichia coli* belum diketahui dengan jelas tetapi, galur hemolitik *Escherichia coli* ternyata lebih patogen daripada galur yang nonhemolitik (Radji, 2010).

#### c. Patogenesis dan gejala klinis

Bakteri *Escherichia coli* sering dihubungkan dengan tipe penyakit usus (diare) pada manusia. Penyebab diare terutama pada bayi dan anak-anak adalah *Enteropatogenic Escherichia coli*. *Enteropatogenic Escherichia coli* menyebabkan *secretory diarrhea* seperti pada kolera. Galur kuman ini mengeluarkan toksin LT atau ST. Faktor permukaan untuk perlekatan sel kuman pada mukosa usus penting di dalam patogenesis diare karena sel kuman harus melekat dulu pada sel epitel mukosa usus sebelum kuman mengeluarkan toksin. *Enteroinvasif Escherichia coli* menyebabkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan oleh shigella. Kuman menginvasi sel mukosa, menimbulkan sel dan terlepasnya lapisan mukosa. Ciri khas diare yang disebabkan oleh galur *Enteroinvasif Escherichia coli* adalah tinja mengandung darah, mukus, dan pus. Kolitis hemoragik disebabkan oleh *Escherichia coli* serotipe O157 L H7, tinja bercampur banyak darah. Galur *Escherichia coli* ini menghasilkan substansi yang bersifat sitotoksik terhadap sel Vero dan Hela, identik dengan toksin dari *Shigella dysentriase*. Toksin merusak sel endotel pembuluh darah, terjadi pendarahan yang kemudian masuk ke dalam kuman usus. Infeksi saluran kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis, *Escherichia coli* merupakan penyebab lebih dari 85%

kasus. Pada penyakit Pneumonia di rumah sakit, *Escherichia coli* menyebabkan  $\pm 50\%$  dari *primary nosocomial pneumonia*. Meningitis pada bayi baru lahir dan infeksi luka terutama luka di dalam abdomen (Yusdiani *et al.*, 2016).

Berdasarkan sifat virulensi, *Escherichia coli* dikelompokkan menjadi 2, yaitu *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi intestine dan menyebabkan infeksi *ekstraintestin*. *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi intestine sebagai berikut (Radji, 2010) :

1) *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC)

Salah satu penyebab utama diare pada bayi. Jenis bakteri ini memiliki fimbriae, toksin yang tahan terhadap panas (ST), dan toksin yang tidak tahan terhadap panas (LT), serta bakteri ini menggunakan adhesin yang dikenal dengan intimin, untuk melekat pada sel mukosa usus. Infeksi bakteri EPEC mengakibatkan diare berair (*watery diarrhoea*) biasanya dapat sembuh dengan sendirinya, tetapi ada juga yang menjadi kronis. Lama diare yang disebabkan oleh bakteri EPEC dapat diatasi dengan pemberian antibiotik dengan resep dokter (Kuswiyanto, 2016).

2) *Enterotoksigenic Escherichia coli* (ETEC)

Bakteri ini salah satu penyebab diare pada anak dan wisatawan yang bepergian ke daerah yang sanitasinya buruk. Oleh karena itu, sering disebut “diare wisatawan”. Faktor kolonisasi bakteri ETEC yang spesifik pada manusia adalah *fimbrial adhesion*. Faktor ini menyebabkan bakteri ETEC dapat terjadi pada epitel usus halus sehingga bisa menyebabkan diare tanpa demam. Beberapa strain bakteri ini menghasilkan *eksotosin* tidak tahan panas. Profilaksis antimikroba efektif tetapi bisa menimbulkan peningkatan

resistensi antibiotik pada bakteri, sebaiknya penggunaan tidak dianjurkan secara umum. Ketika timbul diare, pemberian antibiotik secara efektif membantu untuk mempersingkat lamanya penyakit. Bakteri ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) dalam mengikat sel-sel enterosit di usus halus (Radji, 2010).

### 3) *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC)

Salah satu penyebab penyakit yang sangat mirip dengan *shigellosis*. Sering terjadi kasus pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju ke negara tersebut. Bakteri EIEC ini melakukan fermentasi laktosa secara lambat dan tidak bergerak. Bakteri EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus pada manusia (Kuswiyanto, 2016).

### 4) *Enterohemoragic Escherichia coli* (EHEC)

Bakteri jenis ini menghasilkan toksin yang dikenal dengan *verotoksin* (VTEC). Bakteri ini sering dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel vero yaitu sel ginjal yang diperoleh dari ginjal monyet Afrika (*African green monkey*). Bakteri EHEC menyebabkan diare berat yang disertai dengan perdarahan dan sindrom uremik hemolitik, penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopatik, dan trombositopenia. Banyak kasus bakteri jenis ini dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang sebelum dikonsumsi (Kuswiyanto, 2016).

### 5) *Enterogregatif Escherichia coli* (EAEC)

Bakteri ini menjadi salah satu penyebab diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel usus manusia

dengan pola khas sebagai penyebab diare yang tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestine. Bakteri ini diperkirakan memproduksi *entero aggregative ST toksin* (EAST), sebagai suatu *enterotoksin* yang tidak tahan panas. Bakteri EAEC memproduksi *hemolisin* dan *ST enterotoksin* yang sama dengan bakteri jenis ETEC (Kuswiyanto, 2016).

Sedangkan bakteri *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi *ekstraintestin* sebagai berikut:

1) *Uropatogenik Escherichia coli* (UPEC)

Bakteri jenis ini menjadi salah satu penyebab  $\pm 90\%$  infeksi saluran kandung kemih mulai dari *sistitis* sampai pada *pielonefritis*. Bakteri ini berkolonisasi yang berasal dari tinja atau daerah perineum saluran urine yang masuk ke dalam kandung kemih. Kemungkinan bagi wanita mengalami infeksi bakteri jenis ini pada kandung kemih 14 kali lebih besar daripada pria, dikarenakan wanita mempunyai saluran uretra yang lebih pendek daripada pria. Bakteri UPEC sering menjadi penyebab infeksi sistitis tanpa gejala serius pada wanita yang saluran intestinya telah terinfeksi UPEC sebelumnya. Bakteri yang terdapat pada daerah periureteral tersebut akhirnya masuk ke dalam kandung kemih ketika melakukan hubungan seksual. Dengan bantuan adhesin, bakteri UPEC dapat berkolonisasi pada kandung kemih penderita (Radji, 2010). Bakteri ini menghasilkan siderofor yang dianggap penting selama proses kolonisasi. UPEC juga menghasilkan hemolisin yang bersifat sitotoksin terhadap membrane sel hospes. Aktivitas hemolisin pada bakteri ini tidak hanya sebatas kemampuan melisiskan sel darah merah, tetapi  $\alpha$ -

*hemolisin* bakteri *Escherichia coli* dapat melisis limfosit, sedangkan  $\beta$ -*hemolisin* dapat menghambat aktivitas *fagositosis* dan *kemotaksin neutrofil* (Radji, 2010).

## 2) *Neonatal Meningitis Escherichia coli* (NMEC)

Bakteri ini juga menjadi salah satu penyebab meningitis pada bayi baru lahir. Galur bakteri ini dapat menginfeksi 1 dalam 200-4000 bayi. Perjalanan infeksi sering kali terjadi setelah *Escherichia coli* masuk ke dalam pembuluh darah melalui nasofaring atau saluran gastrointestinal yang kemudian masuk ke dalam sel-sel otak. Bakteri NMEC pada bagian antigen kapsul K1 dianggap sebagai faktor virulensi utama yang menyebabkan meningitis pada bayi. Antigen K1 ini dapat menghambat fagositosis, reaksi komplemen, dan respon reaksi imunitas pada hospes. Selain itu, *siderofor* dan *endotoksin* juga berperan penting dalam patogenesis bakteri jenis NMEC ini (Radji, 2010).

### d. Dampak *Escherichia coli*

Penyakit yang sering ditimbulkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah diare. Penyakit diare bisa menyebabkan kehilangan cairan dan elektrolit seperti natrium dan kalium, sehingga bayi menjadi rewel atau terjadi gangguan irama jantung maupun perdarahan otak. Penyakit ini seringkali disertai oleh dehidrasi (kekurangan cairan). Pada kejadian dehidrasi ringan hanya menyebabkan bibir kering. Pada dehidrasi sedang menyebabkan kulit keriput, mata dan ubun-ubun menjadi cekung. Sedangkan pada kejadian dehidrasi berat bisa berakibat fatal dan biasanya menyebabkan syok. Akibat lainnya dari terinfeksi bakteri *Escherichia coli* adalah gangguan system pencernaan, gangguan pada ginjal, serangan jantung, dan tekanan darah tinggi. Selain diare, bakteri *Escherichia coli*



dapat menyebabkan beberapa penyakit yang bisa juga disebabkan oleh bakteri lain seperti infeksi saluran kemih, sepsis dan meningitis (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2012).

## **H. Pemeriksaan Mikrobiologi**

### **1. Pemeriksaan ALT**

ALT adalah jumlah mikroba *aerob mesofilik* yang ditemukan dalam per gram atau per milliliter contoh yang ditentukan melalui metode standar yang tertera pada SNI 7388 tahun 2009. Pemeriksaan ALT merupakan pengujian yang dilakukan untuk menghitung angka bakteri *aerob mesofilik* yang terdapat dalam suatu sampel (Radji, 2010). Pemeriksaan ALT juga dinyatakan sebagai *aerobic plate count* (APC), *standard plate count* (SPC) atau *aerobic microbial count* (AMI). Pada umumnya jumlah ALT pada tangan menurut standar WHO yaitu  $3,9 \times 10^4$  hingga  $4,6 \times 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup> (WHO, 2009).

Hitungan cawan merupakan salah satu cara yang digunakan untuk mengukur atau menghitung jumlah jasad renik. Prinsip dari metode hitungan cawan adalah apabila sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium, maka mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, dan kemudian bisa dihitung tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik, dengan alasan sebagai berikut:

- a. Hanya sel mikroba hidup yang dapat dihitung
- b. Beberapa jasad renik dapat dihitung sekaligus

- c. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba, karena koloni yang terbentuk bisa saja berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik (Waluyo, 2016).

Selain keuntungan-keuntungan diatas, metode hitungan cawan juga mempunyai kelemahan sebagai berikut:

- a. Hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungkin saja membentuk koloni
- b. Medium dan kondisi inkubasi yang berbeda bisa menghasilkan jumlah yang berbeda pula
- c. Mikroba yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak, jelas dan menyebar
- d. Memerlukan persiapan dan waktu inkubasi relatif lama sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung (Waluyo, 2016).

Dalam metode hitungan cawan, bahan yang diperlukan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per ml atau per gram atau per cm (jika pengambilan sampel dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelumnya ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Setelah diinkubasi, akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, di mana jumlah yang terbaik diantara 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal, yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya. Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan *buffer fosfat*, *natrium chlorida* (NaCl 0,9%) atau larutan ringer (Waluyo, 2016).

Metode hitungan cawan dibedakan menjadi dua cara, yakni metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan (*surface/spread plate*) (Radji, 2010).

a. Metode tuang.

Sejumlah sampel (1 ml) dari pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan agar-agar cair steril yang telah didinginkan pada suhu 47°C sebanyak 15-20 ml, setelah itu digoyangkan supaya sampelnya menyebar.

b. Metode permukaan

Media agar harus steril terlebih dahulu, lalu dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar-agar tersebut. Setelah itu diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Koloni per ml atau per gram} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengencer}}$$

Laporan dari hasil perhitungan dengan cara hitungan cawan menggunakan suatu standar yang disebut SPC sebagai berikut:

- a. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300.
- b. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
- c. Satu deretan rantai kolom yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni (Waluyo, 2016).

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut (Kuswiyanto, 2015) :

- a. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yakni angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal) jika angka ketiga  $\geq 5$ , harus dibulatkan menjadi satu angka lebih tinggi. Sebagai contoh, didapatkan  $1,7 \times 10^4$  unit koloni/ml atau  $2,0 \times 10^6$  unit koloni/gram.
- b. Apabila pada semua pengenceran dihasilkan  $>30$  koloni per cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai  $>30$  dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi untuk jumlah sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
- c. Jika pada semua pengenceran dihasilkan  $>300$  koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai  $>300$  dikalikan dengan faktor pengenceran, akan tetapi untuk jumlah sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
- d. Apabila jumlah dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dengan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua, dilaporkan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan faktor pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar daripada dua, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
- e. Apabila yang digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh satu. Oleh karena itu,

harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan (duplo) dengan koloni antara 30 dan 300 (Waluyo, 2016).

## 2. Pemeriksaan MPN

MPN merupakan uji untuk mendeteksi sifat *fermentatif coliform fekal* maupun *non fekal* dalam sampel. Prinsip uji MPN adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai, jika ditanam pada tabung akan menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif. Semakin kecil jumlah sampel yang dimasukkan atau semakin tinggi pengenceran maka semakin jarang tabung positif yang muncul. Sedangkan semakin besar jumlah sampel atau semakin rendah pengenceran maka semakin sering tabung positif yang muncul. Tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya gas pada tabung durham. Uji MPN terdiri dari 3 tahapan, sebagai berikut:

### a. Uji perkiraan (*presumptive test*)

Tes pendahuluan mengenai ada tidaknya bakteri coliform berdasarkan terbentuknya asam dan gas disebabkan oleh fermentasi laktosa oleh *Enterobacteriaceae coli*. Terbentuknya asam dilihat dari kekeruhan pada media laktosa dan gas yang dihasilkan dilihat dalam tabung durham. Inkubasi pada uji perkiraan dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Apabila dalam waktu 48 jam tidak terbentuknya gas maka masukkan tabung kembali pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

### b. Uji penegasan (*confirmative test*)

Terbentuknya gas pada uji perkiraan akan dilanjutkan dengan uji penegasan. Dari tabung yang positif pada uji perkiraan, diambil 1-2 ose kemudian diinokulasikan pada dua seri tabung yang berisi BGLB 2%. Satu

seri diinkubasikan pada suhu 44°C selama 48 jam untuk memastikan adanya coli tinja. *Coliform fecal* dapat ditentukan dengan melihat tabung yang menunjukkan reaksi positif terbentuknya gas kemudian dibandingkan dengan tabel MPN 333.

c. Uji pelengkap (*completed test*)

Jika pada uji perkiraan dan uji penegasan dinyatakan positif maka dilanjutkan dengan uji pelengkap. Setelah dilakukan uji penegasan dan dinyatakan positif, maka bakteri *Eschericia coli* kemudian diinokulasikan pada media EMB. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Media EMB merupakan media selektif yang digunakan untuk membedakan golongan *Enterobacteriaceae* terutama pada bakteri *Eschericia coli* yang akan menunjukkan pertumbuhan dengan adanya indikasi koloni berwarna hijau metalik. Media ini juga sering dipakai untuk mengisolasi kuman gram negatif karena sifatnya yang menghambat pertumbuhan kuman gram positif (Artanti, 2018).

Bakteri gram negatif yang memfermentasi laktosa (bakteri usus) dapat menghasilkan asam dalam kondisi asam akan menghasilkan warna kompleks yaitu berwarna ungu gelap atau berwarna hijau metalik. Warna hijau metalik ini merupakan indikator dari bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dengan kuat atau bakteri yang dapat memfermentasi sukrosa khas pada bakteri *coliform fecal*. Pada bakteri yang memfermentasi laktosa dengan lambat akan menghasilkan asam dengan jumlah yang sedikit sehingga koloni akan berwarna coklat atau merah muda. Sedangkan pada bakteri yang tidak

dapat memfermentasi laktosa maka koloni akan berwarna merah muda atau transparan (Atmojo, 2019).