SKRIPSI

DETEKSI *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) STRAIN O157:H7 PADA PENDERITA DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan Diajukan sebagai salah satu syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes) pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

NUR INDAH SARI
B1D121048

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGARIZKY
MAKASSAR
2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) STRAIN O157:H7 PADA PENDERITA DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

DETECTION OF *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) STRAIN O157:H7 IN DIARRHEA PATIENTS USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD

NUR INDAH SARI
B1D121048

Dibimbing Oleh

Kasmuddin, S.Si.,M.Kes
Pembimbing I

Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc
Pembimbing II

Penguji
Nur laela Alydrus, S.Si.,M.Kes

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGARIZKY
MAKASSAR
2025

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

"DETEKSI *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) STRAIN O157:H7 PADA PEDERITA DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)"

Disusun dan diajukan oleh
Nur Indah Sari

Nomor Induk Mahasiswa B1D121048

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada Tanggal 25 Juni 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Tim Penguji

1. Nur Laela Alydrus, S.Si., M.Kes ( )
2. Kasmuddin, S.Si., M.Kes ( )
3. Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc ( )

Mengetahui,

Dekan	**Ketua Program Studi**
Fakultas Teknologi Kesehatan	**DIV Teknologi Laboratorium Medis**
Prof.Dr.Dra.apt.Hj.Asnah Marzuki,M.Si	**Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes**
NUPTK. 1350727628230013	**NUPTK. 6950765666230332**

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT
Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-Email: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 561 /T/07.091056/ VI /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Nur Indah Sari

NIM : B1D121048

Prodi : D-IV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi Bakteri *Enterohaemoragic Escherichia Coli* (EHEC) Strain O157:H7 Pada Penderita Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 25 %** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 15 juni 2025
Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirahmanirohim

Allhamdulillah Syukur saya panjatkan kepada ALLAH SWT, atas Berkah dan Rahmatnya yang telah diberikan atas nikmat yang luar biasa serta memberikan kekuatas, kesabaran untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik. Shalawat serta salam saya haturkan kepada baginda kita nasi besar Muhammad SAW yang telah membawa umatnya dari zaman gelap gulita hingga zaman terang benderang.

Segala perjuangan yang telah saya lalui hingga sampai di titik ini saya persembahkan teruntuk orang-orang yang terlah menjadi penyemangat dan menjadi alasan saya untuk bisa menyelesaikan Skripsi ini.

1. Ayahanda tercinta Rais Masihuwey, terima kasih telah menjadi ayah yang sangat hebat, sabar dan selalu kuat. Selalu memberikan dukungan nasehat, saran, serta memberikan semangat serta kasih sayang yang begitu melimpah kepada penulis, selalu menjadi tempat ternyaman untuk bercerita sehat selalu ayah hiduplah lebih lama. Semoga apa yang telah dicapai menjadi salah satu wujud kecil dari harapan besar ayah yang telah terwujud.
2. Ibunda tercinta Haslipa Laher, beribu terima kasih penulis ucapkan karena telah menjadi ibu yang kuat, yang mempunyai kesabaran yang tidak ada batasnya. Terima kasih atas doa yang tidak pernah putus, selalu mendengarkan keluh kesah penulis dan selalu memberikan kalimat penyemangat bagi penulis. Penulis sangat bangga dan sangat sayang kepada ibu terima kasih telah berjuang sampai di titik ini. Semoga keberhasilan kecil ini menjadi bagian dari kebahagiaan dan menjadi kebagaan ibu,
3. Adik-adik tersayang penulis Sarjan Hamdan Irawan, Muh. Rasya Saputra, An-Nisa dan Nur Khayla terima kasih telah menjadi sumber semangat, tawa ditengah segala lelah. Kalian adalah pengingat bahwa perjuangan ini bukan hanya untuk diri sendiri, tapi juga untuk menjadi contoh dan alasan untuk terus maju semoga keberhasilan ini mejadi suatu langkah yang dapat membuka jalan dan memberi cahaya untuk langkah kalian nanti.
4. Keluarga tercinta yang tidak bisa disebutkan namanya satu-satu yang telah menjadi bagian dari perjalanan penulis dalam menyelesaikan pendidikan. Terima

kasih atas dukungan, doa, dan kebersamaan yang selalu menguatkan, baik secara langsung maupun dari kejauhan. Semoga langkah ini menjadi kebangaan kecil untuk keluarga yang begitu berarti bagi penulis.

MOTTO

“ Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q. S Al-Baqarah: 286)

“ kalau kamu ragu, ingat saja ada ibu yang selalu percaya anaknya ibu pasti bisa karna ibu tau anaknya ibu mampu”

(Ibuku)

“ Hidup berdiri diatas kaki sendiri dengan pondasi “ Masih Ada Allah” yang selalu meyakinkan diri, semua bisa saya lalui”

(Prilly Latuconsina)

CURRICULUM VITAE



Nama	: Nur Indah Sari
Nim	: B1D121048
Tempat Tanggal Lahir	: 18 juni 2003
Jenis Kelamin	: Perempuan
Gmail	: nurindahsari180603@gmail.com
Program Studi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis
Orang Tua	:
a. Ayah	: Rais Masihuwey
b. Ibu	: Haslipah Laher
c. Alamat	: Jln. Pramuka Aspol, Kab. Jayawijaya
Riwayat Pendidikan	:
a. TK	: TK Bhayangkari
b. SD	: SD Athahiriyah Yapis Wamena
c. SMP	: SMP Negeri 2 Wamena
d. SMA	: SMA Negeri 1 Wamena
Prinsip hidup	:

Apapun itu harus tetap di jalani, karena tuhan tidak pernah memberikan cobaan di luar kesanggupan hambanya.

Kesan dan Pesan :

Kuliah di Universitas Megarezky telah memberikan banyak pengalaman, ilmu, dan kebersamaan yang sangat berharga. Selama berkuliah saya banyak belajar bertanggung jawab serta belajar ketelitian, saya juga mendapatkan banyak cerita suka duka bersama teman-teman. Semoga kedepannya saya dapat menerapkan ilmu-ilmu yang telah saya pelajari dan pada jurusan saya semoga kedepannya semakin maju dan sukses.

KATA PENGANTAR

Assalamu'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Salam Sejahtera, Shalom

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul: "Deteksi *Enterohaemoragic Escherichia Coli* (EHEC) Strain O157:H7 Pada Pederita Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)".

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Sarjana Terapan Kesehatan pada program DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Ungkapan rasa Syukur saya, rasa hormat penulis serta terima kasih penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta bapak **Rais Masihuwey** dan ibunda **Haslipa Laher** dan kepada adik-adik tercinta **Sarjan Hamdan Irawan, Muhammad Rasya Saputra, An-Nisa, Nur Khayla** serta keluarga besar yang tidak bisa saya sebutkan satu-satu namanya yang selalu memberikan semangat, doa serta dukungan kepada penulis selama proses penyusunan skripsi dan selama proses perkuliahan.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. Bapak **Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. Ibu **Alm**. **Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. Bapak **Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas dukungan dan kebijakan

strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.

4. Bapak **Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky,** atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. Ibu **Prof. Dr. Dra. Apt. H. Asnah Marzuki, M.Si**., **sebagai Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. Ibu **Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes sebagai Ketua Program Studi Prodi DIV Teknologi Laboratorium,** atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. Bapak **Kasmuddin, S.Si.,M.Kes** selaku Dosen Pembimbing I, yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, kritik dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
8. Ibu **Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc** selaku Dosen Pembimbing II, yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, kritik serta masukan untuk penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
9. Ibu **Arlitha Deka Yana Akbar, S.Si.,M.Kes** sebagai Pembimbing Akademik (PA), atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis.
10. Seluruh **Dosen dan Staf** Akademik Universitas Megarezky, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
11. Kepada para teman- teman saya yang terkhusus **(Nurfadhilla, Afriana, Dian, Khomairo, Jhois, Jannah)** yang telah memberikan dukungan serta bantuan dalam penyusunan skripsi ini.
12. Rekan-rekan mahasiawa program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis kelas 2021 B yang telah memberikan dukungan serta bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini di masa mendatang. Akhir kata,

semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 23 Juli 2025

Penulis

ABSTRAK

Nur Indah Sari, B1D121048. Deteksi *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) Strain O157:H7 Pada Penderita Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dibimbing oleh Bapak Kasmuddin dan Ibu Ayusti .

Diare adalah salah satu infeksi saluran pencernaan yang menyebabkan seseorang mengalami BAB tiga kali atau lebih dalam sehari. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan diare adalah *Escherchia coli* strain O157:H7 bakteri ini biasanya menjadi penyebab utama kasus keracunan makanan, umumnya bakteri ini terdapat pada produk susu, daging sapi, dan air yang terkontaminasi oleh tinja sapi. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit yang cukup serius yakni *sindrom uremic hemolitik* (HUS). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi bakteri *Escherchia coli* strain O157:H7 menggunakan metode PCR. Kriteria sampel feses ialah bertekstur lembek serta cair, mengalami diare 3-4 kali dan mengalami demam. Desain penelitian yang digunakan ialah penelitian deskriptif dengan menggunakan 15 sampel feses penderita diare. Hasil penelitian ini didapatkan 1 (6,7%) sampel positif bakteri *Escherchia coli* strain O157:H7 yang di tandai dengan terbentuknya pita DNA 239 bp.

Kata kunci: *E. coli* 0157:H7, EHEC, HUS

ABSTRACT

Nur Indah Sari, B1D121048. Detection of Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC) Strain O157:H7 in Diarrhea Patients Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method. Supervised by Kasmuddin and Ayusti.

Diarrhea is a digestive tract infection that causes a person to have three or more bowel movements a day. One of the bacteria that can cause diarrhea is Escherichia coli strain O157:H7. This bacteria is usually the main cause of food poisoning cases, generally this bacteria is found in dairy products, beef, and water contaminated by cow feces. This bacteria can cause a fairly serious disease, namely hemolytic uremic syndrome (HUS). The purpose of this study was to detect Escherichia coli strain O157:H7 bacteria using the PCR method. The criteria for stool samples were soft and runny texture, experiencing diarrhea 3-4 times and having a fever. The research design used was a descriptive study using 15 stool samples from diarrhea sufferers. The results of this study obtained 1 (6.7%) positive sample of Escherichia coli strain O157:H7 bacteria which was characterized by the formation of a 239 bp DNA band.

Keywords: E. coli 0157:H7, EHEC, HUS



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iv**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **v**
MOTTO ..... **vii**
CURRICULUM VITAE ..... **viii**
KATA PENGANTAR ..... **x**
ABSTRAK ..... **xi**
ABSTRACT ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiv**
DAFTAR GAMBAR ..... **xv**
DAFTAR TABEL ..... **xvi**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xvii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Tujuan Penelitian 6
C. Rumusan Masalah 6
D. Manfaat Penelitian 6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **8**
A. Tinjauan Umum Diare 8
B. Tinjauan Umum *Escherchia Coli* 16
C. Tinjaun Umum *Enterohemorhagic* 20
D. Metode Pemeriksaan 23
E. Kerangka Teori 31
F. Kerangka Konsep 32
G. Definisi Oprasional 32
BAB III METODE PENELITIAN **33**
A. Jenis Penelitian 33
B. Lokasi dan Waktu Penelitian 33

C. Fokus Penelitian 33
D. Populasi dan Sampel 33
E. Kriteria Sampel Penelitian 34
F. Teknik Pengambilan Sampel 34
G. Instrumen/Alur Kerja Penelitian 35
H. Teknik Pengumpulan Data 39
I. Tenik Analisa Data 39
J. Etika Penelitian 40
K. Alur Penelitian 41

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 42
A. Hasil penelitian 42
B. Pembahasan penelitian 46

BAB V PENUTUP 53
A. Kesimpulan 53
B. Saran 53

DAFTAR PUSTAKA 54

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Evolusi Patogenesis *E. Coli* 17
Gambar 2.2 Bentuk Bakteri *E.Coli* 18
Gambar 2.3 Skema Transmisi EHEC 22
Gambar 2.4 Alat PCR 26
Gambar 2.5 Kerangka Teori 31
Gambar 2.6 Kerangka Konsep 32
Gambar 3.1 Alur Penelitian 41
Gambar 4.1 hasil elektroforesis dengan Visualisasi pada *Gel-doc* 45

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Karakteristik Penelitian Berdasarkan Jenis Kelamin, Usia, Personal Hygiene pada Penderita Diare 42

Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan PCR Escherichia coli Strain O157:H7 Pada Penderita Diare 45

DAFTAR SINGKATAN

BAB	: Buang Air Besar
BAD	: *Inflammatory Bawel Disease*
CDC	: *Centers For Disease Control Prevention*
DNA	: *Deoxyribonucleic Acid*
EAEC	: *Enteroagregatif E.coli*
E. Coli	: *Escherchia coli*
EHEC	: *Enterohemoragik E. coli*
EIEC	: *Enteroinvasif E. coli*
EPEC	: *Enteropatik E.coli*
ETEC	: *Enterotoksigenik E.coli*
HC	: *Hemorrhagic Colitis*
HUS	: *Hemolytic Uremic Syndrome*
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
SKI	: Survey Kesehatan Indonesia
SSGI	: Survey Status Gizi Indonesia
STEC	: *Shiga Toxinproducing E. Coli*
TPA	: Tempat Pembuangan Akhir
VIP	**:** *Vasoactive Intestinal Polypeptide*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diare adalah pengeluaran feses yang konsistensinya lembek sampai cair dengan frekuensi pengeluaran feses sebanyak 3 kali atau lebih dalam sehari. Diare dapat mengakibatkan demam, sakit perut, penurunan nafsu makan, rasa lelah dan penurunan berat badan. Diare dapat menyebabkan kehilangan cairan dan elektrolit secara mendadak, sehingga dapat terjadi berbagai macam komplikasi yaitu, dehidrasi, renjatan hipovolemik, kerusakan organ bahkan sampai koma (Arifin dkk., 2023).

Diare adalah salah satu keadaan pengeluaran tinja yang tidak normal atau tidak seperti biasanya. Perubahan yang terjadi berupa perubahan peningkatan volume, keenceran dan frekuensi dengan atau tanpa lender darah, seperti lebih dari 3 kali/hari dan pada neonatus lebih dari 4 kali/harinya (Tuang, 2021). Klasifikasi diare dibagi menjadi 2 yakni diare akut dan diare kronik. Diare kronik adalah buang air besar dengan bentuk feses tidak berbentuk atau cair. Sedangan, diare akut berlangsung lebih dari 2 minggu atau lebih. Feses yang keluar bisa saja berlendir ataupun tidak, disertai dengan darah atau pus (Wolayan & Ranuh, 2020).

Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2024 penyakit diare merupakan penyebab kematian ketiga pada usia 1-59 bulan. Dimana setiap tahun diare menyebabkan kematian sekitar 443.832 anak dibawah usia 5 tahun dan tambahan 50.851 anak yang berusia 5 hingga 9 tahun. Sebagian besar dari

penderita diare ini dapat dicegah melalui kualitas air minum yang baik serta sanitasi dan kebersihan yang memadai.

Penyakit diare merupakan penyakit endemis yang berpotensi menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) dan masih menjadi salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian khusunya pada balita. Menurut hasil survey kesehatan indonesia (SKI) tahun 2023, prevalensi diare pada semua umur sebesar 2%, pada balita sebesar 4,9% dan pada bayi sebesar 3,9% (Profil kesehatan Indonesia, 2023).

Menurut Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Makassar (BTKLM) data penyakit pada tahun 2022 yang berpotensi KLB berdasarkan sistem kewaspadaan dini dan respon (SKRD) di provinsi Sulawesi Selatan yang dilakukan pada tahun 2022, dapat diketahui penderita penyakit diare berjumlah 39.452 kasus. Kasus penyakit diare akut yang paling banyak di alami adalah di kota Makassar sebanyak 4.611 kasus.

Berdasarkan laporan dari CDC *(Centers For Disease Control Prevention)* tentang insiden infeksi *Escherchia coli* O15:H7 menyatakan bahwa 8.598 kasus pada 49 negara terserang wabah penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini sebanyak 1.493 (17%) kasus, penderita masuk rumah sakit, 254 (4%) penderita teridentifikasi mengalami HUS (*hemolytic uremic syndrome)*, dan 40 (0,5%) kasus penderita meninggal (Rizky dkk., 2021).

Tingginya angka diare disebabkan oleh makanan, minuman dan hygiene yang buruk akibat adanya kontaminasi bakteri dan virus. Bakteri yang biasanya menyebabkan diare adalah *Escherchia coli, Shigella Spp, Vibrio*

cholera, Bacillys cereus, Salmonella Spp Dan Comphycbacter Jejuni (Azizah dkk., 2023).

Diare disebabkan oleh *E. coli* merupakan bakteri infeksi usus yang tergantung pada prototipenya yang dapat menyebabkan seseorang mengalami diare. Jumlah koloni di usus dapat mempengaruhi seberapa parah gejala diare. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang secara normal berada pada tubuh manusia maupun hewan khususnya pada saluran pencernaan. Bakteri ini akan menjadi patogen apabila jumlahnya meningkat pada saluran pencernaan atau apabila bakteri ini berada di luar usus. Keadaan ini yang dapat menyebabkan diare terjadi dan apabila penangannanya terlambat dapat menyebabkan kematian (Ma'ruf dkk., 2024).

Sifat patogenik *E.Coli* dikelompokkan ke dalam beberapa jenis berdasarkan pada mekanisme patogenitas, virulensi, dan sindrom klinis yang ditimbulkan. Berdasarkan patogenitasnya, *E.coli* dibedakan ke dalam enam jenis yakni *Enterotoksigenik E.coli* (ETEC), *Enteropatik E.coli* (EPEC), *Enterohemoragik E. coli* (EHEC), *Enteroinvasif E. coli* (EIEC*), Enteroagregatif E.coli* (EAEC), dan *Difusi Adheren E.coli* (DAEC) (Rahayu., 2018).

Enterohemorragic escherchia coli (EHEC) merupakan salah satu bakteri *E.coli* patogen yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia karena dapat menyebabkan penyakit yang fatal seperti *hemorrhagic colitis* (HC) yang ditandai dengan gejala khas yaitu diare berdarah dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) yaitu infeksi saluran kencing yang menyebabkan gangguan fungsi ginjal.

Diantara beberapa serotipe EHEC, yang paling berbahaya adalah serotipe O157:H7 (Hidayati dkk., 2018).

Infeksi yang disebabkan oleh *E.coli* O157:H7 pada manusia bisanya ditandai dengan manifestasi klinis yang luas mulai dari tanpa menunjukkan gejala hingga sampai terlihat adanya gejala diare yang disetai dengan adanya darah dan sampai pada penyakit yang serius yakni HUS. Bakteri jenis ini dapat menghasilkan satu atau lebih sitotoksin yang sangat potensial yang dikenal dengan *shiga like toxin* disamping dia menghasilkan toxin bakteri ini juga dapat menempel dan melakukan pelekatan pada sekum dan kolon (Mahmud, 2021).

Umumnya *E. coli* O157:H7 ada pada ternak sapi dan feses sapi yang merupakan sumber infeksi pada manusia, ternak lain dan kontaminasi pada lingkungan. Jenis bakteri ini bisa ada pada manusia karena adanya kontaminasi silang dari bahan pangan atau makanan yang berasal dari tenak sapi seperti daging sapi, susu, dan makanan lainnya yang bahan utamanya adalah daging sapi. Adanya kontaminasi ini terjadi karena selama penanganan, pemrosesan, penjualan serta proses pemanasan yang kurang sempurna saat memasak dan dapat mendukung food borne infection yang disebabkan oleh *E. coli* O157:H7 (Hidayati dkk., 2018).

Metode standar deteksi *E. coli O157:H7* adalah pemeriksaan metode konvensional seperto metode kultur menggunakan media selektif, diidentifikasi menggunakan media biokimia, pewarnaan gram dan konfirmasi lainnya. Tetapi metode ini memiliki kekurangan membutuhkan waktu yang sangat lama yakni sekitar 5-6 hari dan memerlukan banyak tenaga. Salah satu juga metode yang di

gunakan untu mendeteksi *E. coli* O157:H7 adalah ELISA *(Enzyme-linked Immunosorbent Assay)* teknik ini secara luas untuk mendeteksi adanya keberadaan penyakit seperti bakteri, virus, protein dan kontaminan seperti pestisida. Kekurangan dari metode ELISA ini adalah ditakutkan adanya reaksi silang terhadap antisera spesifik sehingga menganggu hasil pengukuran (Rizky dkk., 2021).

Metode molekuler untuk mendeteksi *E. coli* O157:H7 yang spesifik adalah metode PCR dengan Tingkat keakuratan yang lebih tinggi. PCR adalah suatu reaksi untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim. Dalam metode ini diisolasi sel-sel bakteri dari sampel dan akan dilakukan amplifikasi DNA dari bakteri tersebut (Kandou, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Vincentia,dkk pada tahun 2021 mengenai identifikasi bakteri *E. coli* O157:H7 pada fases diare menggunakan metode PCR dan kultur di kota lubuk pakam, sampel yang diteliti berjumlah 8 dimana 4 dari sampel positif terdeteksi adanya *E. coli* O157:H7 dan 4 lainnya dinyatakan negatif. Metode yang digunakan ialah metode PCR yang mampu mendeteksi *E. coli* O157:H7 dengan waktu yang lebih cepat yakni 1 hari. Metode lainnya yang digunakan ialah metode kultur yang membutuhkan waktu cukup lama yakni 5-6 hari (Rizky dkk., 2021).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mendeteksi *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC)

strain O157:H7 pada penderita diare dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah Apakah terdapat bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada sampel feses penderita diare dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR)?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada sampel feses penderita diare dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan agar dapat menambah wawasan pengetahuan, keterampilan dan pengalaman dalam melakukan penelitian serta memperdalam pengetahuan tentang deteksi *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada sampel sampel feses penderita diare dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

2. Manfaat Praktis

a. Penelitian ini diharapkan agar dapat menambah pengetahuan dan keterampilan kepada peneliti dan tenaga laboratorium medis dalam

bidang molekuler untuk dekteksi *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada penderita diare dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

b. Penelitian ini diharapkan agar dapat menambah wawasan bagi Masyarakat tentang bagaimana pentingnya untuk menjaga kebersihan makanan dan lingkungan sehingga tidak mudah untuk terinfeksi bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 ini.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Diare

1. Definisi

Diare dapat didefinisikan sebagai penyakit menular dengan ditandai gejala yakni buang air besar (BAB) dengan tekstur encer atau bisa saja berupa air (Mencret) yang biasanya dialami 3 kali dalam sehari (Putri *dkk*., 2021). Diare ini juga biasa disebut dengan adanya peningkatan jumlah feses yang terjadi akibat adanya infeksi pada seseorang (Prawati & Haqi, 2019).

Diare merupakan salah satu penyakit dengan perubahan konsistensi feses cair dan pengeluaran feses yang dapat menyebabkan seseorang tersebut mengalami gejala lainnya yakni demam, sakit perut, pengurangan nafsu makan, rasa letih dan penurunan berat badan. Diare ini juga dapat menyebabkan seseorang tersebut mengalami kekurangan bahkan bisa sampai kehabisan elektrolit secara tiba-tiba, sehingga penderita bisa saja kehilangan kesadaran dan menyebabkan komplikasi lainnya (Hutasoit, 2020).

2. Klasifikasi Diare

a. Diare akut

Diare akut yaitu diare yang muncul dengan cepat yang disertai dengan gejala mual, muntah, demam serta terasa nyeri pada abdomen yang dimana gejala yang di rasakan bisa berlangsung selama 14 hari (Prawati & Haqi, 2019).

b. Diare kronik

Diare kronik ini ditandai dengan keluarnya feses dengan konsisten feses yang sudah seperti air dan mengalami kehilangan elektrolit dengan hebat. Diare ini di tandai BAB yang terus menurus dengan feses yang sudah seperti air dan volume feses yang semakin sedikit dalam rentang waktu lebih dari 14 hari (Prawati & Haqi, 2019).

3. Penyebab Diare

Menurut Anggraini & Kumala (2022), Diare ini bisa saja disebabkan oleh adanya faktor infeksi atau biasa disebut dengan malabsopsi (gangguan penyerapan zat gizi), Dimana ada 3 faktor psikologis yang dapat menyebabkan diare tersebut yakni:

a. Faktor Infeksi

Faktor infeksi adalah salah satu penyebab utama diare. Adapun faktor infeksi dibagi menjadi beberapa bagian yakni:

1) Infeksi bakteri pada infeksi ini ada beberapa bakteri yang menjadi faktor penyebab diare yakni: *Aeromonas sp*, *Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Eschercia coli, Salmonella, Shigella, Staphylococus aureus* dan *Vibrio cholerae*.
2) Infeksi virus, *Astrovirus koronavirus, Adenovirus enteric* dan *Rotavirus* adalah beberapa virus yang menjadi penyebab diare.

b. Infeksi Parasit, pada infeksi ini ada beberapa parasit yang bisa saja menyebabkan diare ini yakni:

1) Cacing perut merupakan salah satu penyebab diare yang mana cacing ini biasanya ada kare sanitasi lingkungan yang buruk. Ada beberapa jenis cacing perut yaitu *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Strongyloides stercoralis* dan *Ancylostoma duodenale.*
2) Jamur , yakni penyebab diare yang diakibatkan karena adanya kontaminasi jamur pada makanan dan minuman. Salah satu jamur yang mengakibatkan diare adalah *Candida albicans, Giardian duodenales*.
3) Protozoa, ada beberapa protozoa yang dapat menyebabkan diare ini sendiri Dimana antara lain yakni *Entamoeba histolytica, giardia lamblia, Balantidium coli* dan *Cryptosporidium*.

c. Faktor Malabsopsi, dan bisa saja karena faktor makanan, serta faktor psikologis. Malabosobsi adalah salah satu gangguan penyerapan di setiap titik tempat nutrisi diserap. Adapun malabsopsi yang dapat menyebabkan diare yakni malabsobsi karbohidrat, mal absobsi lemak, mal absobsi protein.

4. Epidemiologi Diare

Diare masih menjadi urutan ke tiga sebagai salah satu penyakit yang menyebabkan kematian terbanyak yang dalam beberapa tahun terakhir. Diperkirakan sebanyak 800.000 jiwa mengalami kematian karena penyakit diare dalam lima tahun terakhir, yang merupakan 11 %dari total kematian. Sekitar 80% kematian ini terjadi di Afrika dan Asia Tenggara (Indriyani & Putra, 2020).

Survei angka kesakitan (morbiditas) yang di lakukan kementrian kesehatan repuklik Indonesia sejak tahun 2000 hingga 2010 yang terlihat adanya kecendrungan peningkatan kasus diare. Berdasarkan riset kesehatan tahun 2007, diare tersebar antara semua kelompok usia dengan angka terbanyak didapatkan pada balita (16,7%). Berdasarkan jenis kelamin, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara laki-laki (8,9%) maupun Perempuan (9,1%) (Indriyani & Putra, 2020).

5. Mekanisme Diare

Infeksi bakteri *E. coli* pada menusia dapat terjadi melalui kontak langsung, melalui daging yang tidak dimasak secara sempurna, dan melalui produk olahan yang berasal dari daging karena komposisi daging baik sebagai media pertumbuhan mikroorganisme (Bria dkk., 2022).

Saat makanan atau zat yang tidak dapat diserap akan menyebabkan tekanan osmotik dalam rongga usus akan meninggi, sehingga terjadi pergeseran air dan elektrolit ke dalam rongga usus. Isi rongga usus yang berlebih ini akan merangsang usus untuk mengeluarkannya (Anggraini & Kumala, 2022).

pada kasus penyakit diare akut yang di alami oleh penderita, dimana mikroorganisme akan masuk ke dalam saluran pencernaan dan mikoorganisme ini akan berkembang biak yang akan semakin banyak dan bisa melewati asam lambung. Mikroorganisme ini akan membentuk racun yang dimana racun ini dapat merangsang mukosa usus dan dapat

menyebabkan munculnya hiperperistaltik. Setelah itu sekresi cairan akan ada yang mengakibatkan terjadinya diare (Prawati & Haqi, 2019).

6. Patogenesis

a. Bakteri

Patogenesis diare akut ini disebabkan oleh bakteri yang mana dibedakan menjadi 2 yakni pertama bakteri *non invasive*, adalah bakteri yang memproduksi toksin, bakteri ini hanya melekat pada mukosa usus halus dan tidak merusak mukosa. Kedua bakteri *invasive* adalah bakteri yang memberi keluhan pada diare seperti air cucian beras dan disebabkan oleh bakteri *enteroinvasif*, yaitu diare yang dapat menyebabkan adanya kerusakan dinding usus berupa kematian sel dan jaringan yang dapat menyebabkan kehilangan sel epitel yang terjadi akibat trauma yang dapat menyebabkan diare ini bisa saja bercampur dengan lendir dan darah (Hairil, 2019).

Mikroorganisme yang menjadi salah satu penyebab diare adalah *Eschercia coli* atau yanga biasa kita singkat dengan *E.coli* yang merupakan salah satu bakteri yang secara normal biasa ada pada bagian tubuh manusia, hewan dan salah satunya ada pada saluran pencernaan (Hutasoit, 2020).

Diare dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, dan pada infeksi bakter, setidaknya terdapat dua mekanisme utama, yaitu penempelan bakteri pada sel epitel dengan atau tanpa kerusakan mukosa, serta invasi mukosa dan produksi enterotoksin atau sitotoksin. Jenis bakteri tertentu

dapat menggunakan satu atau lebih dari mekanisme ini untuk mengatasi pertahanan mukosa usus. Beberapa gejala dan tanda yang perlu diperhatikan meliputi demam dengan suhu tubuh di atas 38°C, nyeri abdomen berat terutama pada pasien dengan usia 50 tahun, dengan memiliki riwayat perawatan di rumah sakit, pengguanaan antibiotik ini juga bisa menjadi salah satunya, adanya disentri atau darah dan lendir pada feses, buang air besar lebih dari 6 kali dalam kurun waktu 24 jam, memburuknya gejala yang mana tidak di tangani selama 48 jam akan menyebabkan gejala dehidrasi berat seperti pusing, haus berat dan penurunan jumlah urin yang dapat menyebabkan komplikasi lainnya (Dewi dkk., 2024).

b. Virus

Virus adalah satu penyebab diare dimana virus ini akan masuk ke dalam saluran pencernaan dan akan menginfeksi eritrosit, dan akan menimbulkan kerusakan pada villi usus halus. Eritrosit berbentuk kuboid atau epitel gepeng yang belum matang secara struktur dan fungsi. Hal ini yang menyebabkan villi mengalami penyusutan akibat berkurangnya ukuran sel, sehingga tidak dapat menyerap makanan dan cairan secara maksimal. Makanan dan cairan yang tidak terserap dengan baik tersebut akan menyebabkan peningkatan tekanan osmotik usus dan meningkatkan motilitas usus, dan pada akhirnya akan timbul diare namun perlu diketahui bahwa diare yang disebabkan oleh virus akan mengalami perbaikan dalam

waktu 3 sampai 5 hari tergantung kondisi fisik penderita (Indriyani & Putra, 2020).

7. Patofisiologi

Patofisiologi mekanisme terjadinya diare baik akut maupun kronik di bagi menjadi beberapa kelompok yakni osmotik, sekretorik, eksudatif, eksudatif dan gangguan motilitas. Pada diare osmotik terjadi apabila terdapat bahan yang tidak dapat diserap oleh tubuh sehingga menyebabkan peningkatan osmolaritas dalam lumen yang menarik air dari plasma sehingga terjadi diare. Diare sekretorik terjadi apabila terdapat gangguan transport elektrolit baik absorpsi yang berkurang maupun sekresi yang meningkat. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan toksin yang dikeluarkan bakteri dan juga beberapa hormon intestinal seperti *gastrin vasoactive intestinal polypeptide* (VIP) yang juga dapat menyebabkan diare sektretorik. Pada diare eksudatif, inflamasi akan menyebabkan terjadinya kerusakan mukosa baik pada usus halus maupun usus besar. Inflamasi dan eksudasi tersebut dapat terjadi karena adanya infeksi bakteri yang bersifat non infeksi seperti *gluten sensitive enteropathy, inflammatory bawel disease* (IBD) atau akibat radiasi. Sedangkan pada gangguan motilitas dapat mengakibatkan waktu transit usus menjadi lebih cepat (Hutasoit dkk., 2019).

8. Gejala Diare

Biasanya sebagian besar dari gejala diare yang muncul pada beberapa kasus ini tergantung dengan tingkat infeksi atau jenis patogen apa yang menginfeksi seseorang. Gejala diare yang ditimbulkan juga bisa saja

bergantung pada perkembangan komplikasinya seperti mengalami dehidrasi dan ketidak seimbangan elektrolit, adapun sifat dari patogen ini dapat memepengaruhi gejala dari diare ini. Toksin yang dikeluarkan oleh mikroorganisme ini akan menyebabkan gejala seperti mual dan muntah (Prawati & Haqi, 2019).

Gejala umum yang biasanya dirasakan seseorang yang terinfeksi ini ialah seringnya buang air besar dengan konsistensi tinja yang cair dan encer, adanya gejala demam, muntah, lemah, pucat dan terjadi perubahan tanda vital (nadi dan pernafasan cepat), pengeluaran urine menurun dan tidak ada (Apriani dkk., 2022). Pada anak-anak dan balita akan menjadi cengeng, merasa gelisah, suhu tubuh anak meningkat, nafsu makan berkurang serta adanya perubahan warna pada tinja dari warna kuning atau coklat berubah menjadi warna kehijauan disertai dengan darah (Sari dkk., 2021).

9. Faktor-Faktor Kejadian Diare

Faktor-faktor yang mengakibatkan diare ini ada beberapa yakni adanya sanitasi lingkungan, individu perilaku, gizi, kependudukan, Pendidikan serta sosial ekonomi (Prawati & Haqi, 2019). Adapun faktor lain yang dapat menimbulkan penyait diare ini ialah kurangnya pengetahuan tetang hal-hal apa saja yang bisa menyebkan penyakit diare. Pengetahuan yang didapatkan masyarakat ini dapat membantu untuk mengetahui apa-apa saja gejala serta penanganan penyakit ini . Ibu mempunyai peran sangat penting dalam mengetahui penyakit diare ini seperti, memberikan air susu ibu secara ekslusif

terutama selama 4-6 bulan pertama yang dapat meningkatkan resiko terjangkitnya penyakit diare lebih besar (Apriani dkk., 2022).

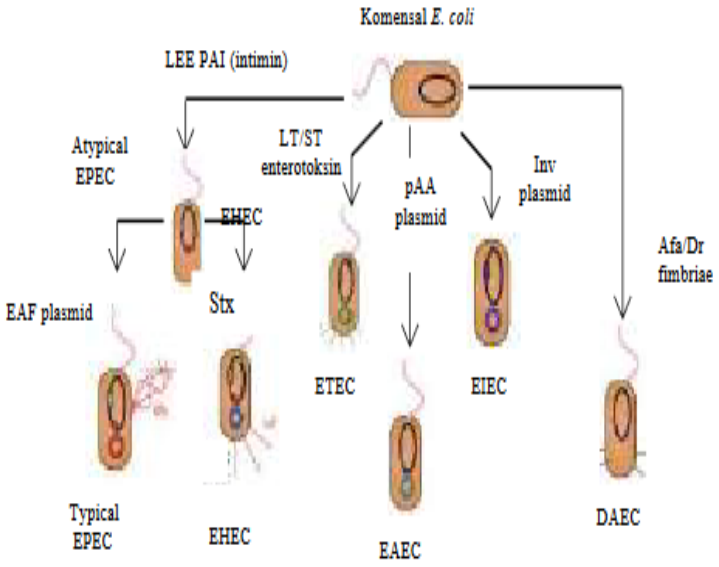
Banyak faktor resiko yang diduga menyebabkan terjadinya penyakit diare. Salah satu faktor antara lain adalah sanitasi lingkungan yang kurang baik, persediaan air yang tidak hiegienis, dan kurangnya pengetahuan. Selain itu, faktor hygiene perorongan yang kurang baik yang dapat menyebabkan terjadinya diare seperti kebiasaan cuci tangan yang jarang diperhatikan serta, kepemilikan jamban yang tidak sehat (Tuang, 2021).

B. Tinjauan *Escherichia coli*

1. Definisi *E. coli*

Bakteri *E. coli* ini ditemukan oleh Theodor Escherich, bakteri ini hidup pada tinja dan dapat menyebabkan masalah kesehtan seperti diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya. *Escherchia coli* atau biasanya disingkat dengan *E. coli* ini adalah salah satu bakteri gram negative yang merupakan salah satu flora normal yang biasanya ada pada pencernaan manusia dan hewan (Sitaba & Nurlinda, 2022). Bakteri yang pada umumnya ada pada tinja ini akan tertular ke dalam makanan dapat disebabkan karena adanya perilaku seperti makanan yang tidak higienis, pencucian peralatan yang tidak bersih, serta penggunaan air pencuci yang sudah terpapar oleh bakteri *E.coli*. Bakteri ini juga bisa saja menjadi salah satu indikator sanitasi dalam makanan dan minuman yang tercemar. Meskipun bakteri ini juga banyak ditemukan pada sistem pencernaan manusia (Istiani & Agustiani, 2021).

E.coli ini merupakan flora normal yang ada pada manusia tetapi, kadang kala bakteri ini dapat menyebabkan penyakit jika seseorang tersebut memiliki kekebalan tubuh sedang menurun (Liu dkk., 2020). *E.coli* ini dibagi menjadi beberapa berdasarkan virulensinya (Gambar 2.1) beberapa *E.coli* ini mempunyai mekanisme penyakit berbeda-beda. Strain *E.coli* yakni EPEC (*Enteropathogenic Escherchia coli*), EIEC (*Enteroinvasive Escherchia coli*), EAEC (*Enteroagregative Escherchia coli)*, ETEC *(Enterotoxigenic Escherchia coli)*, dan yang terakhir adalah EHEC *(Enterohemorragic Escherchia coli)* (Khairunnida dkk., 2020).



Gambar 2.1 Evolusi Patogenesis *E. coli* (Hairil, 2019).

2. Klasifikasi *E.Coli*

Genus *Escherchia* merupakan bagian dari Escherichiae yang termasuk ke dalam fimili *Enterobacteriaceace*. Pada Gambar 2.2, *E coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar

2 ul dengan diameter 0,7 ul dan bersifat anaerob fakultatif. *E coli* ini membentuk koloni bundar, cembung dan tepi halus dengan nyata (Khairunnida dkk., 2020). *E coli* ini bersifat tidak motil atau motil dengan flagella serta dapat tumbuh tanpa menggunakan oksigen, bersifat kuantitatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang kurang nutrisi (Rahayu, 2018).

Secara fisiologis, *E. coli* ini memiliki kemampuan untuk bisa bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang cukup sulit tetapi, *E. coli* ini bisa tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau pada tanah. Biasanya penyakit yang timbul akibat bakteri ini karena kemampuan untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan sangat baik. Beberapa jenis *E. coli* tidak menguntungan untuk lokasinya seperti pada lingkungan yang asam seperti pada saluran pencernaan, perubahan suhu serta tekanan osmotic (Rahayu, 2018).



Gambar 2.2 Bentuk Bakteri (Rahayu., 2018)

Klasifikasi ilmiah *Escherichia Coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

3. Karakteristik *E.coli*

Escherchia coli termasuk kedalam famili *Enterbacteriaceae* yang habitatnya terdiri dari grup heterogenus batang negatif yang habitatnya alaminya berada diusus. Bakteri *E.coli* ini memiliki struktur antigenic yang kompleks. Mereka diklasifikasi lebih dari 150 antigen somatic (O) yang tahan panas (lipopolisakarida), lebih dari 100 antigen kapsul (K) yang tidak tahan panas, dan lebih dari 50 antigen flagel (H). Antigen O adalah bagian paling luar dari dinding sel lipopolisakarida yang berulang. Beberapa polisakarida spesifik-O mengandung gula. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya terdeteksi oleh aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O Sebagian besar adalah IgM. *E. coli* ini biasanya ditemukan pada penderita diare dan infeksi saluran kemih (Hairil, 2019).

Escherichia coli juga dapat dikarakterisasi dengan skema serotipe berdasarkan pada keberadaan atau tipe tiga antigen dasar, yaitu lipopolisakarida antigen somotik (O), antigen Flagelar (H), antigen kopsular (K). Antigen K ini terletak di luar antigen O, antigen K pada *E.coli* ini dapat

menyebabkan peletakan bakteria pada sel epitel sebelum invasi saluran pencernaan atau saluran kencing. Antigen H terletak pada flagel, antigen ini dapat dihilangkan dengan adanya pemanasan atau alkohol (Keman, 2020).

Skema srotipe *E. coli* terdiri dari 188 kelompok O, mulai dari O1 sampai 0188, kecuali O31, 047, O67, O72, O94 dan O122, serta 53 antigen H, terdiri dari H1 sanpai H56 kecuali H13, H22 dan H50. Serotipe tertentu *E. coli* dikaitkan dengan suatu sindrom klinis tertentu, seperti pada kelompok EHEC. Serotipe O157:H7 dikenal sebagai *E coli* patogen penyebab *sindrom hemolitik uremic,* yaitu suatu penyakit yang dicirikan dengan anemia hemolitik, gagal ginjal akut dan menurunnya jumlah keping darah (Rahayu, 2018).

C. Tinjauan Umum *Enterohaemorhagic E.Coli*

1. Definisi EHEC

Enterohemoragik *E. Coli* merupakan salah satu jenis STEC yang dapat menyebabkan penyakit enterik yang parah, seperti sindrom uremic hemolitik dan colitis hemoragik yang menyebabkan gagal ginjal akut dan seringkali mengakibatkan kematian. *E. coli* O157:H7 , serotipe EHEC yang paling sering dikenal telah menyebabkan banyak wabah penyakit dibeberapa tahun terakhir (Sangadjisowohy, 2023).

Diantara beberapa serotipe EHEC, yang paling berbahaya adalah srotipe 057:H7. Bakteri ini pertama kali dikenal sebagai bakteri patogen akibat hasil dari penyebaran yang luar biasa dari penyakit gastrointestinal

pada tahun 1982 dimana penyebarannya ditemukan pada hamburger yang terkontaminasi (Kandou, 2019).

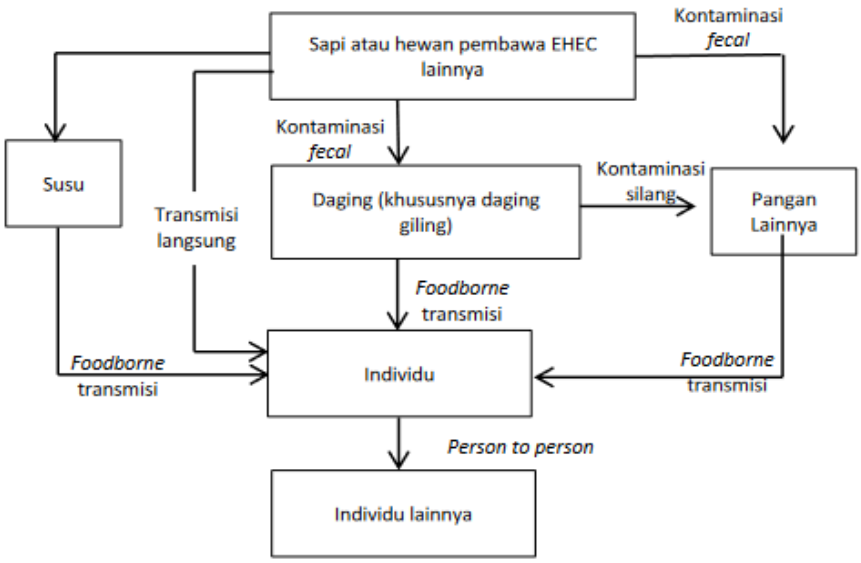
Bakteri *E.Coli* serotype 0157:H7 ini menghasilkan salah satu racun yang dapat menimbulkan penyakit racun yang teridentifikasi adalah *Shiga Toxinproduction Escherichia Coli* (STEC). Bakteri ini merupakan penyebab utama *foobrone sisease* di beberapa negara. Di Indonesia belum pernah dilaporkan adanya yang terkena penyakit atau terinfeksi bakteri ini tetapi kemungkinan akan terikfeksi sangat akan bisa karena masih banyak penggunaan produk susu sapi, daging sapi, air yang terkontaminasi oleh tinja sapi maupun terkontamnasi oleh tinja manusia yang terinfeksi bakteri ini (Hidayati dkk., 2018).

2. Patogenesis EHEC

Enterohemoragik E. Coli ditransmisikan melalui rute fecal oral. Pangan yang berasal dari hewan, seperti daging, produk susu yang tidak dipasterurisasi, atau sayuran yang telah terkontamninasi merupakan pembawa transmisi utama dari penyebaran EHEC ke manusia. Strain EHEC memiliki faktor virulensi yang berbeda-beda. Faktor virulensi utama EHEC yaitu *shiga-like* toksin, serta lokus pemindah eterosit (LEE) yang betanggung jawab terhadapt adhesi intimin pada sel inang (Rahayu, 2018).

Mekanisme patogenesis intimin dari EHEC menyerupai dengan yang terjadi di EPEC. Bakteri EHEC juga memiliki kemampuan untuk menyebabkan luka pada usus dengan mengikis atau menghancurkan mikrovili karena sama-sama memiliki komponen genetic lokus pemindah

enterosit (LEE) yang mengekspresikan intimin dan *Tir* melalui sistem sekrersi. Bakteri EHEC yang sudah menempel pada membran inang akan menyebabkan polimerisasi aktin dan akan masuk sitokeleton yang berperan dalam menyongkong dan mempertahankan bentuk sel (Rahayu., 2018).



Gambar 2.3 Skema Transimisi EHEC (Rahayu, 2018)

Serotipe EHEC seperti 0157:H7 merupakan strain yang umum menyebabkan penyakit EHEC yang menghasilkan racun shiga (Stx-1 dan Stx-2,), keduanya merupakan racun tipe AB, disini subunit B berikatan dengan glikolipid spesifik seperti *Globotriasylceramide* (Gb3) yang terdapat pada sel endotel ginjal inang dan vili usus. Sebuah subunit diinternalisasi, dan dipecah menjadi dua molekul, satu bagian berikatan dengan 28S rRNA dan menghentikan sintesis protein. Strain EHEC lebih patogen jika memiliki *shiga* seperti *toksin* dan aktivitas *Attaching and Effacing* (Hairil, 2023).

D. Metode Pemeriksaan

1. Pemeriksaan kultur

   a. Definisi Pemeriksaan Kultur Bakteri

      semua bentuk kehidupan, mulai dari mikroba/ mikroorganisme dalam suklus hidupnya membutuhkan lingkungan atau media yang sesuai untuk tumbuh dan berkembang biak dengan baik. Di laboratorium mikrobiologi atau bakteriologi, untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat suatu bakteri diperlukan suatu media yang sudah diatur komposisi serta nutrisinya, yang biasanya kita sebut dengan media kultur (Maksum dkk., 2017).

      Membiakan bakteri dengan menggunakan media campuran bahan-bahan tertentu yang dapat menumbuhkan bakteri, jamur ataupun parasit, pada derajat keasaman dan masa ingkubasi tertentu. Medium penyubur terdiri atas komposisi medium biakan dasar dan dengan tambahan bahan lain untuk penyubur pertumbuhan bakteri tertentu yang pada medium biakan dasar tidak tumbuh dengan baik (Ramadhani dkk., 2021)

      Dengan media kultur, dapat dilakukan isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga dapat dibuat komposisi media kultur sesuai kebutuhan bakteri. Oleh karena itu bakteri yang berbeda memerlukan kebutuhan akan nutrisi yang berbeda sehingga dikembangkan berbagai macam media pertumbuhan untuk digunakan dalam diagnosa (Maksum dkk., 2017).

b. Tahapan Pemeriksaan Kultur

Menurut Febyayuningrum dkk (2021), ada beberapa tahapan dalam pemeriksan kultur, yakni:

1) Kultur Bakteri

Kultur bakteri merupakan pembiakan mikroorganisme yang memerlukan media yang berisikan zat sebagai sumber karbon, berisikan air, sumber energi, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen dan unsur-unsur lain. Sampel akan ditanamkan pada biakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang terdapat dalam sampe. Pemanfaatan media pun tidak sembarang di pergunakan tetapi media digunakan sesuai dengan kebutuhan dan cara berkembang biak mikroorganisme.

2) Inokulasi Bakteri

Penanaman bakteri atau inokulasi bakteri pada suatu media pembiakan bakteri dengan menggunakan media universal atau selektif yang dilakukan dengan proses pemindahan biakan murni ke medium baru unruk membunuh atau memperbanyak kultur murni atau biakannya kemudian akan diinokulasi dilakukan dalam kondisi aseptic, yakni kondisi semua alat yang ada dalam hubungannya dengan media dan pengerjaan, dijaga agar tetap steril. Hal ini untuk menghindari adanya kontaminasi mikroorganisme lain.

3) Pengecetan Gram

Terdapat 2 jenis bakteri yaitu bakteri gram positif dan gram negatif, tujuan dan pewarnaan gram ini yaitu untuk mempermudah melihat bakteri seecara mikroskopik memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, melihat struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, dan menghasilkan sifat-sifat fisik serta kimia khas bakteri dengan zat warna, dalam pewarnaan, bakteri gram positif berwarna ungu sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah.

Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), dan dapat dibedakan menjadi gram positif dan gram negatif. Dimana bakteri gram positif lebih peka terhadap antibakteri dibandingkan bakteri gram negatif, perbedaan ini diakibatkan karena akteri gram positif memiliki tiga lapis yakni membrane sitoplasma, sitoplasma, dan ada pula lapisan peptidoglikan yang cukup tebal dan pada beberapa bakteri juga terdapat lapisan lainnya. Sedangkan pada bakteri gram negatif memilki lapisan yang kompleks dan susunanya berlapis yaitu membran sitoplasma, peptidoglikan, ruang periplasma dan membrane luar yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida (Ramadhani dkk., 2021)

2. Pemeriksaan PCR

a. Definisi pemeriksaan PCR

Polymerase chain reaction (PCR) merupakan suatu prosedur untuk amplifikasi secara in vitro daru suatu segmen DNA spesifik. Teknik ini

dikenalkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis (Rahayu, 2018). PCR adalah reaksi amplifikasi atau memperbanyak DNA secara in vitro dengan memanfaatkan cara replikasi DNA dengan bantuan enzim DNA polymerase dan perubahan sifat fisik DNA terhadap suhu. PCR merupakan teknologi yang sangat sensitif sehingga dengan hanya satu molekul DNA dapat diperbanyak dua kali lipat dalam satu kali siklus suhu (Maksum dkk., 2017).



Gambar 2.4 Alat PCR (Maksum dkk., 2017).

PCR sangat ideal untuk mendeteksi patogen, karena PCR sangat cepat dan sensitif. Selain itu, dengan pemilihan primer yang spesifik untuk patogen tertentu (Maksum dkk., 2017). Menggunakan metode PCR dengan cara mengamplifikasi gen yang spesifik yang terdapat pada bakteri telah terbukti lebih sensitif dan spesifik serta lebih cepat dalam mendeteksi keberadaan bakteri patogen (Rahayu, 2018). Ini terutama sangat bermanfaat bila patogen tumbuh lambat atau tidak dapat tumbuh pada kondisi *in vitro*, serta bila metode deteksi konvensional kurang sensitif atau dibutuhkan diagnosis yang cepat. Selain untuk mendeteksi patogen,

PCR dapat digunakan untuk mendeteksi organisme dalam air, makanan, minuman dan di lingkungan. Dalam teknologi DNA rekombinan, PCR dapat digunakan untuk mengisolasi suatu gen untuk proses cloning. PCR juga dapat diterapkan untuk tujuan forensik, penentuan usia dan etnis dan dalam bidang kedoteran juga dapat diterapkan untuk deteksi penyakit metabolisme (analisis mutase) atau penyakit infeksi (Maksum dkk., 2017).

Teknik PCR ini dapat mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Dengan ditemukan Teknik PCR Dimana dapat melibatkan beberapa tahap yaiutu: pra-denaturasi DNA Templet, denaturasi tamplat, penempelan primer pada templat (*annealing*), pemanjangan primer (*extension*), pematangan (*Post extension*), tahap denaturasi DNA templat merupakan tahap berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA. Proses PCR secara umum berlangsung dalam tiga tahap yakni denaturasi, tahap penempelan *(annealing),* dan tahap pemanjangan (*extension*) (Aminah dkk., 2019).

Komponen-komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah templaDNA, sepasang primer, yaitu suatu oligonucleotide pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida, dNTPs (Deoxynucleotida triphosphates), buffer PCR, magnesiumklorida ($MgCl_2$) dan enzim polimearase DNA (Refai & Ocktariyana, 2024).

PCR memiliki beberapa keunggulan, diantaranya dapat memperbanyak DNA pada bagian yang spesifik sesuai yang diharapkan,

memiliki sensivitas tinggi, dapat digunakan untuk melakukan pengujian hingga manipulasi DNA, mampu memberikan hasil dalam waktu singkat, dapat digunakan untuk mendeteksi sampel yang terkontamninasi maupun meyeleksi sampe negatif, dapat mengidentifikasi organisme secara mendetail hingga tingkat spesies bahkan serotipe yang bahkan tidak dapat dilakukan menggunakan sistem konvisional, dapat bekerja pada materi genetik dari bebagai sel, serta dapat dilakukan pada sampel yang berupa campuran kompleks (Aminah dkk., 2019).

b. Prinsip PCR

Prinsip dasar metode ini adalah amplifikasi fregmen DNA oleh enzim, membutuhkan oligonukleotida pendek (DNA primer) yang berperan dalam memulai proses ini. Primer menempel atau berhibridisasi ke DNA untai Tunggal Ketika suhu diturunkan setelah pemisahan dari DNA untai ganda. Produk PCR dapat dipantau menggunakan Teknik elektroforesis agarose. Prinsip kerja dasar semua metode PCR adalah sama, yaitu ada primer, dntp, enzim Tag Polimerase, ddH2O, Buffer PCR dengan atau tanpa $MgCl_2$ dan tamplate DNA (sampel DNA) harus disertakan (Maksum dkk., 2017).

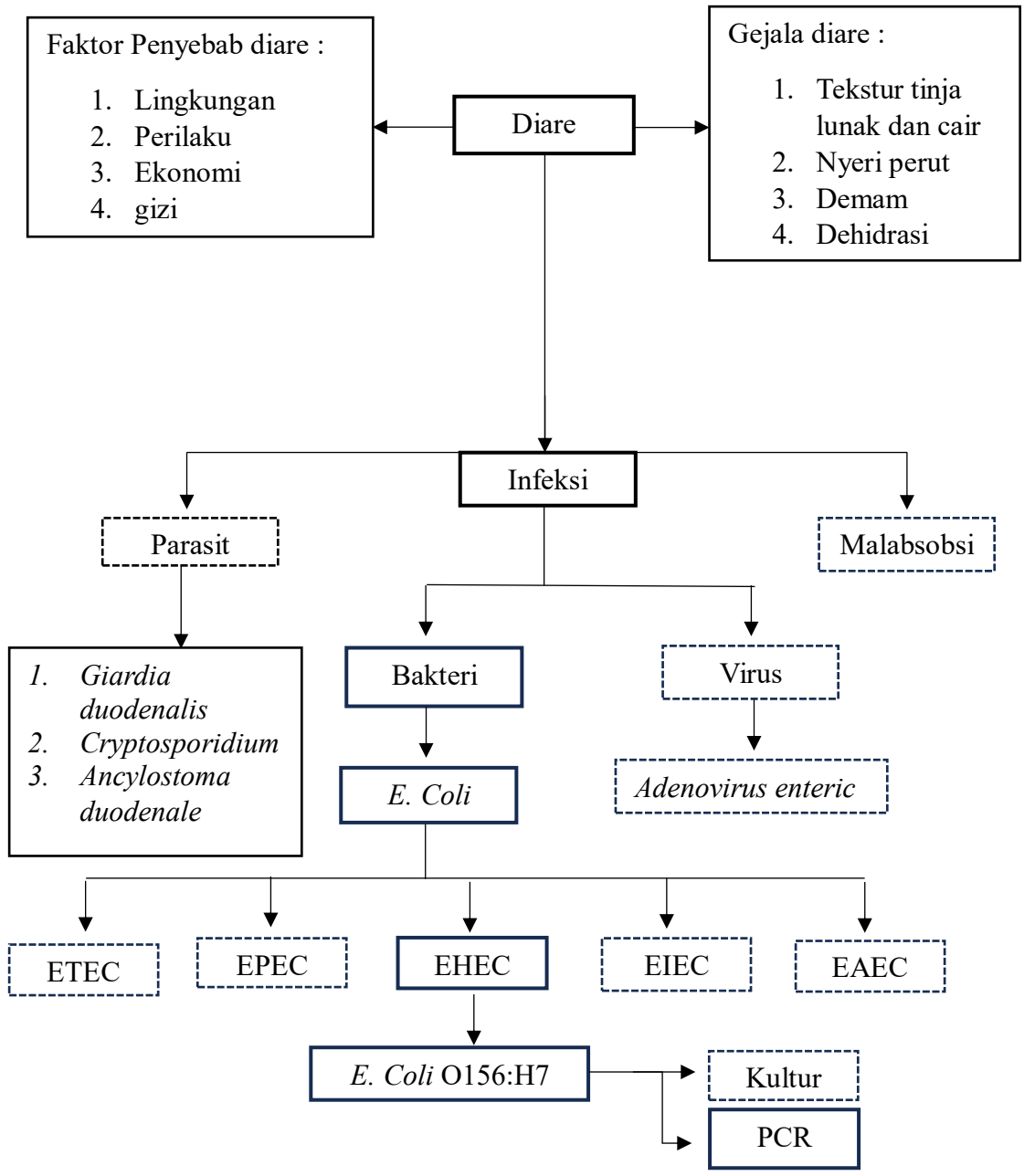
c. Siklus PCR Pendekatan Metode Molekuler

Menurut Maksum dkk (2017), Suhu dan siklus PCR merupakan salah satu persyaratan PCR yang harus dipenuhi agar reaksi PCR berjalan dengan baik. Suhu dan siklus PCR terdiri atas:

1) Suhu denaturasi: banyak kegagalan dalam PCR disebabkan tidak sempurnanya denaturasi templat. Umumnya kondisi denaturasi adalah 95 ˚C selama 30 detik atau 97 ˚C selama 15 detik. Tetapi suhu yang lebih tinggi mungkin juga cocok pada target DNA yang mempunyai G+C mol% yang sangat tinggi. Tidak sempurnanya denaturasi dapat menyebabkan putusnya untai DNA, dan tahap denaturasi yang terlalu lama menyebakan hilangnya aktivitas enzim DNA p*olymerase*. Waktu paruh enzim *Tag* Polimerase adalah lebih dari 2 jam pada suhu 92,5 ˚C, atau 40 menit pada suhu 95 ˚C dan 5 menit pada 97 ˚C.
2) Suhu Annealing atau penghubungan primer. Suhu penggabungan templat dengan primer berbeda menurut urutan basa yang digunakan. Pengaturan suhu penggabungan sangat penting guna mencegah terjadinya pita elektroforesis yang tidak spesifik. Untuk menentukan suhu annealing dapat digunakan rumus Tm=4˚ (G + C) + 2˚ (A + T)˚C. jika Tm >25 nukleotida dengan pendekatan beberapa softwere: DNAstar, Perlprimer, dan Oligoexplorer.
3) Suhu perpanjangan: Reaksi *Tag* polymerase pada suhu 70 ˚C dilaporkan dapat maju dengan kecepatan 60 nukleotida /detik /molekul, dengan suhu 72 ˚C selama 1 menit akan dapat memperbanyak 1 kb, suatu perhitungan yang diperkirakan aman.
4) Siklus reaksi: menurut teori dengan jumlah siklus n kali akan menghasilkan 2^n perbanyakan. Tetapi *Tag* polymerase, konsentrasi DNA sampel maupun primer menjadi faktor yang sangat berpengaruh

juga dalam reaksi, sehingga hanya didapat hasil yang lebih rendah dari perhitungan. Oleh karena itu, selalu dilakukan siklus sebanyak 25-35 kali. Penambahan siklus yang tidak perlu akan menyebabkan DNA non spesifik menjadi lebih banyak.

E. Kerangka Teori



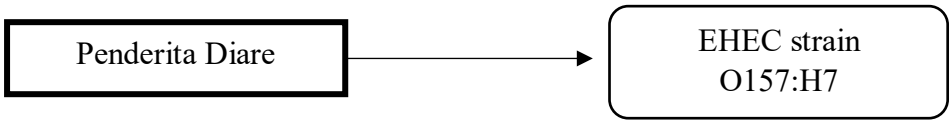
Gambar 2.5 Kerangka Teori.

Keterangan:

: Diteliti

: Tidak diteliti

F. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep.

Keterangan:

= Variabel Independent (Bebas)

= Variabel Dependent (terikat)

G. Definisi Operasional

1. Bakteri *E.Coli* srain O157:H7 adalah bakteri penyebab utama Food Disease (keracunan makanan) karena memproduksi *Shiga Toxinproducing E. Coli* sehingga menyebabkan infeksi dan menimbulkan gejala diare.
2. Enterohaemorhagic E.Coli (EHEC) adalah kelompok *E. Coli* yang dapat menyebabkan diare atau colitis berdarah pada manusia yang dapat berujung pada *sindrom hemolitik uremic* (HUS).
3. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu Teknik biologi molekuler yang digunakan untuk menggandakan pita DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) atau RNA (*Ribo Nucleic Acid)* secara invitro.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif. Pada penelitian ini akan mendeteksi bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

   Pengambilan sampel dilakukan di TPA Sampah Antang dan untuk penelitian dilaksanakan pada Laboratorium *Hasanuddin University Medis Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

2. Waktu Penelitian

   Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2025.

C. Fokus Penelitian

Penelitian ini berfokus pada suatu keberhasilan dalam mendeteksi keberadaan *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 pada penderita diare menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi dalam penelitian ini adalah penderita diare Di TPA Sampah Antang.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah feses penderita diare di TPA Sampah Antang berjumlah 15 orang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

E. Kriteria Sampel Penelitian

Sampel diambil berdasarkan kriteria tertentu. Berikut ini adalah kriteria sampel yang digunakan, yakni:

1. Kriteria Inklusi
   a. Lama menderita diare 1-3 hari
   b. Eksistensi tinja cair dan lembek
   c. Mengalami nyeri perut
   d. Demam
2. Kriteris Eksklusi
   a. Telah mengkonsumsi antibiotik

F. Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan Teknik *"Accidental Sampling"*. Dimana Teknik accidental sampling adalah Teknik pengambilan sampel berdasarkan kebetulan, yaitu siapa saja yang secara kebetulan ditemui atau bersedia di tempat pengambilan sampel sesuai dengan kriteria inklusi.

G. Instrument / Alur Kerja Penelitian

1. Pra Analitik

   a. Alat dan Bahan Penelitian

      1) Alat

         Adapun alat dan bahan dalam penelitian kali ini yaitu: Miktopipet (Biored), neraca (Kern 440-47N), vortex (Genie 2), *spin down* , rak tabung, gelas ukur, sendok tabung, microwave (Electrolux EMM 2005), centrifuge (Biofuge), cetakan gel elektroforesis, sisir cetakan, chamber elektroforesis, inkubator (Heidolph Titramax 10000), mesin elektroforesis (PowerPac), Geldoc , mesin PCR (MiniAmp).

      2) Bahan

         Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: sampel feses, tip kuning, tip biru, tabung *microcentrifuge*. kit ekstraksi (Favorgen), *ethanol absolut,*DNA template, *nuclease free water*, primer rfbE F: 5'- GTGCTTTTGATATTTTTCCGAGTACATTGG – 3', R: 5' – TTTATATCACGAAAACGTGAAATTGCTGAT – 3'(Kandou, 2019), *enzim tag polymerase*, dNTPs, buffer PCR ($MgCl_2$), *nuclease free water* (NFW), tabung PCR 0,2 ml, *nuclease free water* (NFW), *phosphate buffer sline* (PBS), bubuk *agarose*, *ethidium bromide* (gel red), aquadest, *DNA ledder* (marker), tabung *ependorf* dan larutan *Tris borate EDTA* (TBE) 0,5x.

b. Pengambilan Sampel

Dilakukan persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. Kemudian berikan lebel berbeda-beda pada setiap post sampel. Diberikan pot sampel pada pasien penderita diare dan dijelaskan cara pengambilan sampel feses. Feses akan diambil keesokan harinya atau pada hari itu juga. Kemudian pot sampel yang berisi feses dibungkus menggunakan plastik klip sehingga tidak adanya kontaminasi pada sampel dan dimasukkan ke dalam *cool box* kemudian di simpan pada freezer dengan suhu -22 ℃.

2. Analitik

a. Ekstraksi DNA

Sampel feses sebanyak 0,2 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung bead. Ditambahkan 300 µL *buffer* SDE1 dan 20 µL *Proteinase K*, kemudian divortex selama 5 menit dengan kecepatan maksimum. Setelah itu, sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Selanjutnya, 100 µL *buffer* SDE2 ditambahkan dan divortex, lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu 60 °C. Selama proses inkubasi, divortex setiap 5 menit. Setelah inkubasi selesai, sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 13.000 rpm selama 5 menit, dan supernatan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf baru. Sebanyak 200 µL *buffer* SDE3 ditambahkan, kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit. Setelah itu, disentrifugasi selama 2 menit dan supernatan dipindahkan ke tabung *Eppendorf* baru. Kemudian, sebanyak 250 µL *buffer* SDE4 dan 250 µL etanol absolut ditambahkan, lalu

divortex hingga homogen. Tabung *collection tube* disiapkan, dan spin column ditempatkan di dalamnya. Seluruh larutan dari tabung *Eppendorf* dipindahkan ke dalam spin column dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Cairan di dalam tabung *collection tube* dibuang. Selanjutnya, 750 µL wash *buffer* ditambahkan ke dalam spin column dan disentrifugasi kembali selama 1 menit pada kecepatan 13.000 rpm. Cairan dalam tabung *collection tube* dibuang, dan tabung *collection tube* diganti dengan yang baru. Sebanyak 750 µL wash *buffer* kembali ditambahkan dan disentrifugasi selama 1 menit, kemudian cairan dibuang. Dalam keadaan tabung *collection tube* kosong, dilakukan proses sentrifugasi kering selama 3 menit. Setelah itu, tabung koleksi dibuang, dan spin column dipindahkan ke dalam tabung *Eppendorf* baru. Sebanyak 100 µL *elution buffer* ditambahkan dan diinkubasi selama 3 menit pada suhu ruang. Kemudian, disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Setelah proses selesai, spin column dibuang, dan tabung *Eppendorf* yang berisi DNA hasil ekstraksi disimpan di dalam lemari pendingin bersuhu -20 °C.

b. Amplifikasi DNA

Disiapkan *tube mikrosentrifuse* kemudian dibuatnya PCR *mix* dengan cara dimasukkan enzim *tag polymerase* 106,25 ul, primer *forward* 8,5 ul, primer *reverse* 8,5 ul, NFW 46,75 ul, setelah dibuatnya *mix* kemudian siapkan lagi tabung *mikrosentrifuse* seseuaikan dengan berapa banyak sampel ditambah dengan kontrol positif dan kontrol

negativ. Setelah disiapkan masukkan *mix* PCR sebanyak 10 ul dan sampel ekstraksi DNA sebanyak 5 ul dan di tutup dengan rapat kemudian di *spin down* untuk menghomogenisasi sebelum di masukkan ke dalam mesin PCR selama 1 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam alat PCR (MiniAmp). Tahap PCR ini di lakukan sebanyak 40 siklus setiap siklus terdiri dari denaturasi pada suhu 94 ℃ selama 1 menit, *annealing* pada suhu 57 ℃ selama 1 menit 15 detik, dan *ekstension* pada suhu 72 ℃ selama 30 detik. Setelah itu dilakukan *ekstension* akhir pada suhu 72 ℃ selama 10 menit. Hasil dari PCR selanjutnya akan di baca pada tahap selanjutnya yakni elektroforesis akan divisualisasikan pada alat gelDoc.

c. Pembuatan Gel Agarose

Disiapkan cetakan dan sisir elektroforesis terlebih dahulu kemudian buat agarose dengan cara masukkan 1,5 gr bubuk agarose ke dalam botol schott duran lalu ditambahkan 100 ml TBE 0,5x setelah itu dipanaskan di *microvawe* sampai seluruh bubuk larut sempurna selanjutnya, di diamkan hingga panas sekitar 60 °C lalu tambahkan 3 ul *ethidium bromide* setelah itu tuangkan ke dalam cetakan yang telah disiapkan lalu diamkan selama 1 jam atau sampel gel memadat sempurna, setelah memadat lepaskan sisir sehingga berbentuk well.

Gel agarose yang telah memadat di pindahkan ke dalam chamber elektroforesis kemudian masukkan 5 ul DNA sampel yang telah di PCR ke dalam well selanjutnya jalankan elektroforesisnya dengan menyalakan powepac dari aliran negatif ke positif kemudian setting

waktu selama 100 menit sesudah itu matikan powerpack dan selanjutnya gel agarose akan difoto pada *gelDoc*. Fragmen yang terlihat dibandingkan dengan DNA Ladder 100 bp.

3. Pasca-Analitik

   Interpretasi Hasil:

   1. **Positif:** jika terdapat pita DNA dengan ukuran yang sesuai yakni sekitar 239 bp, ini menunjukkan keberadaan *E. Coli* strain O157:H7.
   2. **Negatif**: jika tida terdapat pita DNA pada ukuran target, ini menunjukkan bakteri tersebut tidak terdeteksi.

H. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan setelah memperoleh izin resmi dari pihak yang berwenang. Setelah izin diperoleh, peneliti melakukan pengumpulan data dari responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Pengambilan sampel dilakukan secara selektif berdasarkan kriteria tersebut guna memastikan data yang diperoleh relevan dan sesuai dengan tujuan penelitian.

I. Teknik Analisa Data

Dalam penelitian ini data yang disajikan diolah secara deskriptif kemudian disajikan dalam bentuk tabel yang akan distribusi dan disertai dengan penjelasan yang berbentuk narasi. Hasil penelitian dapat dikatakan positif terdapat bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) strain O157:H7 apabila saat visualisasi menggunakan *gelDoc* terdapat pita DNA berkuran 239 bp dan jika tidak terdapat pita DNA pada ukuran 239 bp maka sampel dinyatakan tidak

terdapat bakteri bakteri *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) Strain O157:H7.

J. Etika Penilitian

1. *Informed Consent* (Lembar Persetujuan)

   Merupakan bentuk persetujuan anatar peneliti dengan responden penelitian dengan memberikan lembar persetujuan. Lembar ini akan diberikan kepada responden yang akan diteliti disertai dengan judul penelitian dan manfaat penelitian.

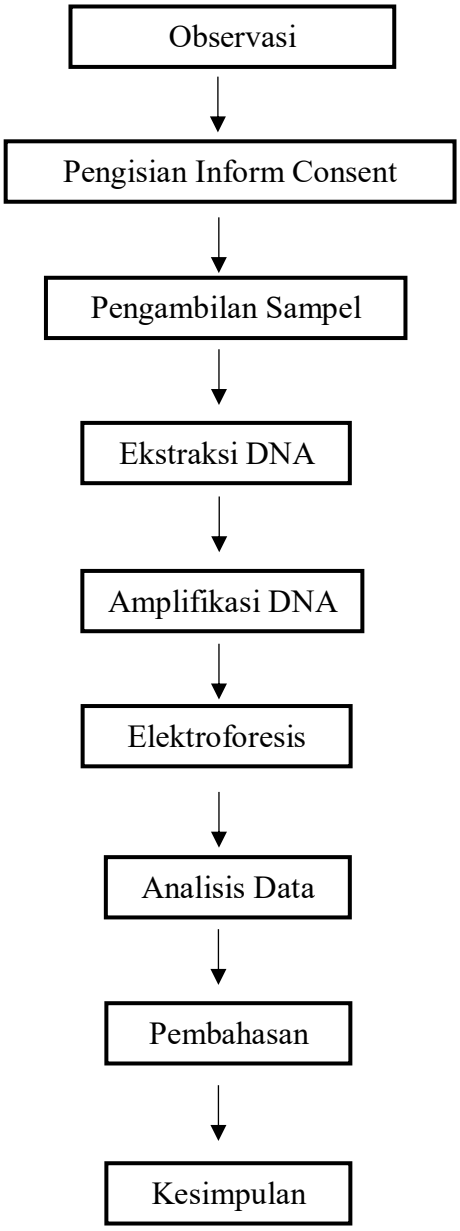
2. *Anonymity* (Tanpa Nama)

   Responden tidak perlu mencantumkan nama pada lembar pengumpulan data, cukup menulis nomor responden atau inisial untuk menjamin kerahasiaan identitas responden.

3. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

   Confidentialy yaitu menjaga semua kerahasiaan dan informasi yang didapati dari subjek penelitian. Kelompok data yang dibutuhkan akan di cantumkan dalam hasil penelitian. Data yang dicantumkan berupa data yang menunjang hasil penelitian, semua data dan informasi yang telah terkumpul akan dijamin kerahasiaannya.

K. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan sampel feses pada penderita diare Di Di TPA Sampah Antang. dengan jumlah sampel feses mencapai 15 sampel. Sampel yang diperoleh sesuai dengan kriteri inklusi, yang mana sampel ini di bawa di Laboratorium Mikorobiologi molekuler *Hasanuddin University Medis Research Center* (HUM-RC) kemudian di periksa dengan menggunakan metode PCR untuk mendeteksi *Escherichia coli* strain O157:H7 dengan target band pita yakni 239 bp.

Tabel 4.1 Karakteristik Penelitian Berdasarkan Jenis Kelamin, Usia, Personal Hygiene pada Penderita Diare

Karakteristik	Jumlah (n)	Presentase (%)
Jenis Kelamin		
Laki-laki	9 orang	60 %
Perempuan	6 orang	40 %
Total	**15 orang**	**100 %**
Karakteristik Usia		
0-10 Tahun	4 orang	26,7 %
11-20 Tahun	3 orang	20,0 %
21-30 Tahun	4 orang	26,7 %
31-40 Tahun	4 orang	26,7 %
Total	**15 orang**	**100 %**
Mencuci Tangan Sebelum Dan Sesudah Makan		
Ya	13 orang	86,7 %
Tidak	2 orang	13,3 %
Total	**15 orang**	**100 %**

Karakteristik	Jumlah (n)	Presentase (%)
Mencuci Tangan Sebelum Dan Sesudah BAB		
Ya	5 orang	33,3 %
Tidak	10 orang	66,7 %
Total	**15 orang**	**100 %**
Kebersihan Lingkungan		
Ya	8 orang	53,3 %
Tidak	7 orang	46,7 %
Total	**15 orang**	**100 %**
Mengalami Dehidrasi		
Ya	9 orang	60 %
Tidak	6 orang	40 %
total	**15 orang**	**100 %**
Mengalami Mual/ Kram Perut		
Ya	14 orang	93,3 %
Tidak	1 orang	6,7 %
Total	**15 orang**	**100 %**

Sumber: Data Primer, 2025

Berdasarkan Tabel 4.1 tentang karakteristik penelitian berdasarkan jenis kelamin penderita diare menunjukkan bahwa, penderita diare yang berjenis kelamin laki-laki 9 orang dengan presentase 60% dan penderita diare yang berjenis kelamin Perempuan 6 orang 40%.

Berdasarkan Tabel 4.1 tentang karakteristik penelitian berdasarkan usia penderita diare menunjukkan bahwa, penderita diare yang berusia 0-10 tahun dengan jumlah penderita sebanyak 4 orang dengan jumlah presentase sebanyak 26,7 %, sedangkan penderita diare 11-20 tahun dengan jumlah penderita 3 orang dengan jumlah presentase 20,0 %, dan pada penderita diare dengan usia 21-30 tahun dengan jumlah penderita sebanyak 4 orang dengan presentase 26,7%, pada

penderita diare dengan usia 31-40 tahun sebanyak 4 orang dengan jumlah presentase sebanyak 26,7 %.

Berdasarkan Tabel 4.1 tentang karakteristik penelitian berdasarkan kebersihan dari penderita diare menunjukan bahawa, penderita diare yang mencuci tangannya sebelum dan sesudah makan adalah 13 orang dengan presentase 86,7 % dan yang tidak mencuci tangannya berjumlah 2 orang dengan presentase 13,3% dari 15 orang. Adapun penderita diare yang mencuci tangannya sebelum dan sesudah buang air besar (BAB) adalah 5 orang dengan presentase 3,3 %, sedangkan yang tidak mencuci tangannya berjumalah 10 orang dengan presentase 66,7 % orang dari 15 orang. Penderita diare yang menjaga kebersihan lingkunganya berjumlah 8 orang dengan presentase 53,3 %, sedangkan yang tidak menjaga kebersian lingkungan berjumlah 7 orang dengan presentase 46,7 % dari 15 orang. Adapun penderita diare yang mengalami dehidrasi yakni berjumlah 9 orang dengan presentase 53,3 % dan yang tidak mengalami dehidrasi berjumlah 6 orang dengan presentase 40 %. Penderita diare yang mengalami mula/ kram perut berjumlah 14 orang dengan presentase 93,3 % sedangkan, yang tidak mengalami mual/ kram perut berjumlah 1 orang dengan jumlah presentase 6,7 % dari 15 orang.

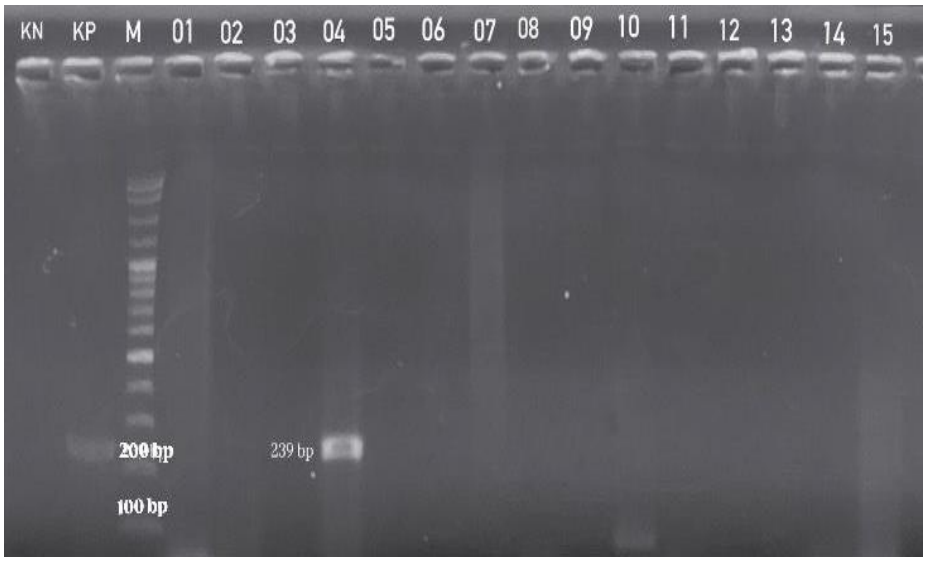
Tabel 4.4 Hasil Pemeriksaan PCR *Escherichia coli* Strain O157:H7 Pada Penderita Diare

Kode Sampel	Hasil PCR	Keterangan
K+	**(+)**	**Terdeteksi E. coli O157:H7**
K-	**(-)**	**Tidak terdeteksi**
M	**Terdapat Pita DNA**	
01	(-)	Tidak terdeteksi
02	(-)	Tidak terdeteksi
03	(-)	Tidak terdeteksi
04	(+)	Terdeteksi E. coli O157:H7
05	(-)	Tidak terdeteksi
06	(-)	Tidak terdeteksi
07	(-)	Tidak terdeteksi
08	(-)	Tidak terdeteksi
09	(-)	Tidak terdeteksi
10	(-)	Tidak terdeteksi
11	(-)	Tidak terdeteksi
12	(-)	Tidak terdeteksi
13	(-)	Tidak terdeteksi
14	(-)	Tidak terdeteksi
15	(-)	Tidak terdeteksi

Sumber: Data Primer, 2025

Berdasarkan Tabel 4.2 tentang hasil PCR *Escherichia coli* Strain O157:H7 Pada Penderita Diare. Dari 15 sampel yang diperiksa dengan menggunakan metode PCR terdapat 1 sampel (6,7%) menunjukkan hasil positif hal ini berarti bakteri pathogen *Escherichia coli* Strain O157:H7 terdeteksi pada sampel feses penderita diare karena terbentuk pita DNA pada *target band* 239

bp. Lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar elektroforesis dimana hasilnya dapat diperoleh berupa pita DNA pada posisi 239 bp. Maka dari itu dapat dilihat gambar hasil elektroforesis sebagai berikut:



Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis dengan Visualisasi pada *Gel-doc*

Keterangan:

M = Marker (segmen yang spesifik telah diketahui ukurannya)

01-15 = Kode sampel

KP = Kontrol Positiv

KN = Kontrol Negatif

239 bp = Ukuran DNA target *Escherichia coli* Strain O157:H7

Pada Gambar 4.1 diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa terdapat satu sampel yang dinyatakan positif terdeteksi *Escherichia coli* Strain O157:H7 pada sampel ke 04 ditandai dengan adanya pita DNA pada target 239 bp.

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pada sampel feses penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk melihat DNA pada bakteri *Escherichia coli* Strain O157:H7 dimana pemeriksaan sampel akan dilakukan di Laboratorium Mikorobiologi molekuler *Hasanuddin University Medis Research Center* (HUM-RC). Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 15 sampel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri *Escherichia coli* Strain O157:H7 pada sampe feses penderita diare.

Pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa sebagian besar dari penderita diare ini adalah berjenis kelamin laki-laki yakni 6 orang dengan jumlah persentase 60%. Sedangkan pada penderita diare yang berjenis kelamin perempuan lebih sedikit yakni 4 orang dengan jumlah presentase 40%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Purnama dkk., 2021) menyatakan bahwa laki-laki dua kali lebih beresiko untuk terinfeksi diare dibandingkan dengan perempuan karena laki-laki memiliki perilaku tidak rutin mencuci tangan dengan baik dan memakai sabun. Sedangkan menurut (Jarman dkk., 2018) bahwa anak laki-laki yang sudah beranjak dewasa dan sudah berumur akan diberi lebih banyak kebebasan untuk keluar rumah atau pergi bekerja sehingga mereka dapat terpapar patogen yang dapat menyebabkan penyakit.

Berdasarkan hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 4.1, diketahui bahwa kelompok usia yang paling banyak mengalami diare adalah responden berusia 0–10 tahun, 21–30 tahun, dan 31–40 tahun, masing-masing sebanyak 4

orang (26,7%). Sementara itu, kelompok usia 11–20 tahun berjumlah 3 orang (20,0%).

Tingginya jumlah kasus pada kelompok usia 0–10 tahun mencerminkan tingkat kerentanan anak-anak terhadap penyakit diare. Hal ini disebabkan oleh sistem kekebalan tubuh yang belum berkembang secara optimal serta kurangnya pemahaman dan kontrol terhadap kebersihan pribadi. Menurut World Health Organization (2023), anak-anak terutama yang berusia di bawah lima tahun merupakan kelompok dengan beban tertinggi terhadap penyakit diare secara global, dengan penyebab utama berupa konsumsi air yang terkontaminasi, sanitasi buruk, dan praktik kebersihan yang tidak memadai.

Sementara itu, kelompok usia 21–40 tahun yang juga menunjukkan persentase tinggi, merupakan usia produktif dengan aktivitas yang padat dan mobilitas tinggi. Pada kelompok ini, kejadian diare umumnya berkaitan dengan pola konsumsi makanan di luar rumah, gaya hidup cepat, serta kebiasaan higienitas yang kurang diperhatikan. Penelitian oleh Zhang dkk, (2024) di Tiongkok menunjukkan bahwa pada tahun 2023 terjadi peningkatan signifikan kasus diare pada kelompok usia 21–50 tahun, yang sebelumnya menduduki angka 20,8% pada 2022, meningkat menjadi 34,8%. Peningkatan ini dikaitkan dengan perubahan perilaku masyarakat dan faktor lingkungan.

Adapun kelompok usia 11–20 tahun, meskipun presentasenya lebih rendah, tetap perlu mendapatkan perhatian. Masa remaja merupakan masa transisi menuju kedewasaan, di mana pola kebersihan diri mulai terbentuk secara mandiri. Jika tidak disertai edukasi yang memadai, kelompok ini juga berisiko

mengalami diare akibat pola makan sembarangan serta kurangnya kesadaran terhadap sanitasi.

Berdasarkan Tabel 4.1 terlihat bahwa sebagian besar dari responden yang mencuci tangan sebelum dan sesudah makan, yaitu sebanyak 13 orang dan 2 orang yang tidak mencuci tangan. Namun dari 13 orang yang mencuci tangan tersebut tetap saja masih mengalami diare. Hal ini, mengindikasi bahwa perilaku mencuci tangan saja tidak akan cukup apabila responden tidak melakukan cuci tangan dengan baik dan benar, tidak menggunakan sabun serta mencuci tangan yang terlalu singkat sehingga tangan tidak terlalu bersih. Ada beberapa resiko lainnya juga yang dapat menyebabkan seseorang itu diare yakni makanan yang sudah tekontaminasi dengan bakteri. Menurut (Wulandari & Yuliawati, 2021) bahwa perilaku cuci tangan pakai sabun merupakan salah satu indikator dari perilaku hidup sehat dan bersih. Kejadian diare dapat dicegah dengan menerapkan perilaku mencuci tangan dengan baik dan benar menggunakan sabun serta penatalaksanaanya dengan Langkah yang baik dan benar.

Pada Tabel 4.1 telihat bahwa 5 orang yang mencuci tangan sebelum dan sesudah buang air besar (BAB), 10 orang yang tidak mencuci tanganya sesudah buang air besar (BAB). Ini menunjukkan bahwa Sebagian besar dari responden belum memiliki kebiasaan hygiene dalam hal mencuci tangan setelah buang air besar, yang merupakan salah satu perilaku penting dalam mencegah penularan penyakit salah satunya adalah diare. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Biisnilla dkk., 2024) yang menyatakan bahwa rutin membersihkan tangan memakai sabun setelah dan sebelum makan, BAK atau BAB akan mengurangi

resiko seseorang mengalami diare. Peryataan ini juga sejalan dengan pendapat dari (Rosyidah, 2019) tentang lima faktor yang dapat menyebabkan seseorang mengalami diare yakni sumber air, jamba, kebiasaan jajan, dan kebersihan cuci tangan.

Pada Tabel 4.1 terlihat bawah 8 orang tinggal di lingkungan yang di nilai bersih, sedangkan 7 orang tinggal di lingkungan yang kurang bersih. Meski hasilnya hampir seimbang, faktor lingkungan yang kurang bersih tetap memiliki potensi besar sebagai sumber dari kontaminasi air dan makanan. Menurut (Iqbal dkk., 2022) faktor lingkungan yang dapat menyebabkan diare adalah lingkungan yang kurang bersih atau baik. Kebersihan lingkungan merupakan kondisi lingkungan yang optimum sehingga dapat memberikan pengaruh positif terhadap status Kesehatan yang baik.

Pada Tabel 4.1 diketahui bahwa sebanya 9 orang dengan presentase 60% yang mengalami dehidrasi, sedangkan 6 orang dengan presentase 40 % tidak mengalami dehidrasi. Menunjukkan bahwa dehidrasi merupakan gejala yang cukup sering ditemukan pada penderita diare. Diare yang terjadi secara terus-menerus dapat menyebabkan kehilangan cairan dan elektrolit dalam jumlah besar, sehingga tubuh tidak mampu mempertahankan keseimbangan cairan. Ketika cairan tidak digantikan dengn cukup, maka resiko terjadinya dehidrasi akan meningkat.

Pada Tabel 4.1 diketahui bahwa dari 15 orang penderita diare sebanyak 14 orang dengan presentase 93,3 % mengalami mual dan kram perut, sedangkan hanya 1 orang dengan presentase 6,7 % yang tidak mengalami gejala tersebut.

Dari sini dapat menunjukkan bahwa mual dan kram perut merupakan keluhan yang sangat banyak di alami oleh penderita diare. Gejala mual dan kram perut pada penderita diare ini diakibatkan karena adanya aktivitas patogen didalam saluran cerna terutama bakteri *Escherichia coli* Strain O157:H7 yang menghasilkan toksin yang dapat merusak mukosa usus dan meningkatkan motilitas usus, sehingga kontraksi usus lebih dirasakan sebagai kram atau nyeri.

Penelitian ini menggunakan metode PCR yaitu metode molekuler yang digunakan untuk mendeteksi secara spesifik *E. coli* strain O157:H7. PCR adalah suatu reaksi untuk memperbanyak jumlah molekul DNA pada target tertentu. Menurut (Rizky dkk., 2021) metode PCR adalah salah satu metode yang paling cepat untuk mendeteksi *E. coli* strain O157:H7 yang membutuhkan waktu kurang lebih 1 hari sedangkan motode kultur memerlukan waktu 5-6 hari.

Pada Tabel 4.2 yang menunjukkan hasil pemeriksaan sampel feses penderita diare menggunakan metode PCR, menggunakan primer *rfbE* dengan target band 239 bp dapat dilihat pada Gambar 4.1 merupakan hasil elektroforesis yang menunjukkan bahwa dari 15 sampel yang diperiksakan terdapat 1 sampel yang terbentuk pita DNA pada target 239 bp yang menandakan bahwa sampel positif dan 14 lainnya di nyatakan negativ bakteri *E. coli* strain O157:H7. Sedangkan menurut (Tangkonda, 2016) salah satu reservoir utama *E. coli* strain O157:H7 adalah sapi, domba, kambing, rusa dan mamalia yang lainnya. *E. coli* strain O157:H7 ini ditularkan ke manusia melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi, seperti produk daging sapi mentah atau kurang matang serta susu yang tidak di olah dengan baik. Menurut (Rosyidi, 2018) adanya hasil

temuan *E. coli* strain O157:H7 pada feses daging domba sebesar 13,2%, pada daging sapi sebesar 5,62%, pada feses sapi sebesar 7,61% dan pada feses manusia sebesar 1,3%. Hasil ini mengindikasikan bahwa meskipun seluruh responden mengalami diare, hanya satu yang terbukti terinfeksi oleh strain patogen spesifik ini.

Pada Tabel 4.2 dinyatakan 1 sampel atau 1 responden dinyatakan positif mengandung *E. coli* strain O157:H7, sedangkan yang lain di nyatakan negative bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan beberapa sampel negatif tidak terinfeksi oleh *E. coli* strain O157:H7, melainkan mungkin terinfeksi oleh strain *E. coli* lainnya atau jenis bakteri penyebab diare yang berbeda. Namun, karena primer yang digunakan dalam penelitian ini bersifat spesifik untuk mendeteksi *E. coli* strain O157:H7. Adapun sampel yang positif terdeteksi *E. coli* strain O157:H7 ini tidak menunjukkan gejala umum seperti diare seperti mual, dehidrasi serta muntah. hal ini dapat mengindikasikan bahwa infeksi yang terjadi pada responden bersifat asimptomatik, karena responden tidak menunjukkan gejala khusus namun tetap berpotensi menjadi sumber penularan bagi orang lain. Resiko penularan juga akan meningkat jika orang yang sudah terkontaminasi tidak menjaga kebersihan diri, makanan serta lingkungan yang baik.

Responden dengan hasil positif PCR telah diberikan kuesinoner yang isinya diketahui bahwa responden tidak menjaga kebersihan tangan setelah buang air besar serta tinggal di lingkungan yang kurang bersih responden juga diketahui sebelumnya telah mengonsumsi makanan dari olahan daging sapi

responden juga mengalami mual serta kram perut, mengalami dehidrasi. Hal ini menunjukkan bahwa transmisi bisa saja melalui feko-oral yang sejalan dengan mekanisme dari *E. coli* strain O157:H7. Dari beberapa hasil kuesioner ini juga dapat mendukung pendapat dari (Tangkonda, 2016) yakni salah satu reservoir utama *E. coli* strain O157:H7 adalah sapi, domba, kambing, rusa dan mamalia yang lainnya. *E. coli* strain O157:H7 ini ditularkan ke manusia melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi, seperti produk daging sapi mentah atau kurang matang serta susu yang tidak di olah dengan baik. .

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun hanya 1 dari 15 sampel feses penderita diare yang terdeteksi positif *Escherichia coli* strain O157:H7, keberadaan bakteri ini tetap menjadi perhatian serius karena dapat menyebabkan komplikasi yang sangat serius yakni sindrom *uremic hemolitik* (HUS). Oleh karena itu, upaya pencegahannya harus dilakukan secara menyeluruh dan lebih diperhatikan. Adapun beberapa pencegahannya ialah adanya peningkatan hygiene pribadi dengan cara menerapkan kebiasaan mencuci tangan dengan baik dan benar serta menggunakan sabun sebelum dan sesudah makan, sebelum dan sesudah BAB, setelah kontak dengan hewan, cara ini lebih efektif untuk mencegah adanya kontaminasi dari *Escherichia coli* strain O157:H7. Adapun pencegahan lainnya seperti memastikan makanan matang hingga sempurna serta cara memasak makanan dengan baik. Lingkungan yang baik dan bersih juga merupakan salah satu faktor pencegahan yang baik, serta adanya edukasi kepada Masyarakat tentang bagaimana pentingnya kebersihan

diri dan kebersihan makanan agar terhindar dari penularan *Escherichia coli* strain O157:H7.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 15 sampel feses penderita diare yang diperiksa menggunakan metode PCR dengan primer rfbE, ditemukan 1 sampel (6,7%) yang dinyatakan positif *E. coli* strain O157:H7 yang ditandai dengan terbentuknya pita DNA pada target 239 bp.

B. Saran

Agar penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan sampel yang lebih banyak dan sebaiknya di kultur terlebih dahulu sebelum dilanjutkan ke tahap PCR agar tidak banyak bakteri atau virus lain yang terdeteksi.

DAFTAR PUSTAKA

Aminah, A., Ramadini, R., & Naid, T. (2019). Analisis cemaran DNA Tikus pada bakso daging sapi yang beredar di Makassar dengan metode polymerase chain reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, *5*(1), 93-100.

Anggraini, D., & Kumala, O. (2022). Diare Pada Anak. *Scientific Journal*, *1*(4), 309-317.

Apriani, D. G. Y., Putri, D. M. F. S., & Widiasari, N. S. (2022). Gambaran Tingkat Pengetahuan Ibu Tentang Diare Pada Balita Di Kelurahan Baler Bale Agung Kabupaten Jembrana Tahun 2021. *Journal of Health and Medical Science*, 15-26.

Arifin, M. K., Munir, Z., & Rahman, H. F. (2023). Pengaruh Penyuluhan Penatalaksanaan Diare melalui Video terhadap Pengetahuan Orang Tua tentang Penatalaksanaan Diare. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, *5*(2), 465-472.

Biisnilla, E., Aziz, A. R., & Indriati, G. (2024). Hubungan Perilaku Cuci Tangan Pakai Sabun (CTPS) Terhadap Kejadian Diare pada Anak Usia Sekolah di Wilayah Pesisir Pekanbaru. *Indonesian Research Journal on Education*, *4*(4), 3775-3781.

BTKLM (Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Makassar). (2022). Pemetaan Penyakit Berpotensi KLB Di Provinsi Sulawesi Selatan Tahun 2022. KEMENKES.

Bria, D. I., Missa, H., & Sombo, I. T. (2022). Isolasi dan karakterisasi bakteri Escherichia coli pada bahan pangan berbasis daging di Kota Kupang. *JUSTER: Jurnal Sains dan Terapan*, *1*(2), 82-89.

Dewi, B. S., Soleha, T. U., Septiani, L., & Apriliana, E. (2024). Diare adalah kondisi yang ditand Ecoli Penyabab Diare Akut: Ecoli Penyabab Diare Akut: Patogenesis, Diagnosis dan Tatalaksana. *Medical Profession Journal of Lampung*, *14*(5), 864-869.

Febyayuningrum, I. C., Rosyidah, R. A., & Aini, R. (2021). Kontaminasi Bakteri Alat Stetoskop Dengan Media Bap Dan Mca Di Ruang Penyadapan Darah Udd Pmi Kabupaten Sleman Diy. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, *1*(3), 106-116.

Hairil, A. (2023). *Bakteriologi 2*. Sustainability (Switzerland)

Hidayati, W., Temaja, I. G. R. M., & Fatmawati, N. N. D. (2018). Karakteristik Fenotip Isolat Klinik Escherichia coli O157: H7 Pada Media Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC). *J. Agric. Sci. and Biotechnol*, *7*(1).

Hutasoit, D. P. (2020). Pengaruh sanitasi makanan dan kontaminasi bakteri Escherichia coli terhadap penyakit diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, *12*(2), 779-786.

Hutasoit, M., Susilowati, L., & Hapzah, I. A. N. (2019). Hubungan pengetahuan ibu tentang pengelolaan diare dengan klasifikasi diare di puskesmas kasihan bantul. *Medika Respati: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, *14*(3), 265-276.

Indriyani, D. P. R., & Putra, I. G. N. S. (2020). Penanganan terkini diare pada anak: tinjauan pustaka. *Intisari Sains Medis*, *11*(2), 928-932.

Iqbal, A. F., Setyawati, T., & Towidjojo, V. D. (2022). Pengaruh perilaku hidup bersih dan sehat terhadap kejadian diare pada anak sekolah. Jurnal Medical Profession (MedPro), 4(3), 271-279

Istiani, H. G., & Agustiani, E. (2021). Higiene Penjamah, Sanitasi Pengolahan Makanan, dan Penyajian Makanan Berhubungan dengan Keberadaan Bakteri Escherichia Coli pada Makanan Jajanan Anak Sekolah. *Jurnal Kesehatan Pertiwi*, *3*(1), 173-178.

Jarman, A. F., Long, S. E., Robertson, S. E., Nasrin, S., Alam, N. H., McGregor, A. J., & Levine, A. C. (2018). Sex and gender differences in acute pediatric diarrhea: a secondary analysis of the Dhaka study. Journal of epidemiology and global health, 8(1), 42-47.

Kandou, F. E. F. (2019). Analisis Molekuler Escherichia Coli Serotype O157: H7 Pada Air Minum Dalam Kemasan Dan Isi Ulang Menggunakan Teknik. *Chemistry Progress*, *2*(1), 8-14.

Keman, S. (2020). *Pengantar Toksikologi Lingkungan*. Airlangga University press.

Khairunnida, G. R., Rusmini, H., Maharyuni, E., & Warganegara, E. (2020). Identifikasi Escherichia coli Penyebab Waterborne Disease pada Air Mimun Kemasan dan Air Mimunm Isi Ulang. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, *9*(2), 634-639.

Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of Escherichia coli O antigens. *FEMS microbiology reviews*, *44*(6), 655-683.

Mahmud, M. (2021). Sebaran Konsentrasi Coliform Dan Escherichia Coli Pada Air Tanah Dangkal Kota Gorontalo. *Jambura Geoscience Review*, *3*(1), 32-39.

Maksum, P. M., Sriwidodo., Gaffar, S., Hassan, K., Subroto, T., & Soemitro, S., (2017) Teknik Biologi Molekuler

Ma'ruf, D., Karim, A., & Aryanti, P. (2024). Potensi Ekstrak Etanol 70% Daun Trembesi (samanea saman (jacq.) Merr.) Terhadap Bakteri Escherichia

coli Penyebab Diare Pada Situasi Krisis Kesehatan. *Jurnal Farmasi Pelamonia/Journal Pharmacy Of Pelamonia*, *4*(1), 18-25.

Prawati, D. D., & Haqi, D. N. (2019). Faktor yang mempengaruhi kejadian diare di Tambak Sari, Kota Surabaya. *Jurnal promkes*, *7*(1), 34-45.

Purnama, T. B., Tanjung, R. R. R., & Siregar, W. S. (2021). Prevalensi diare pada santri pondok pesantren di Kota Medan. Journal of Health Epidemiology and Communicable Diseases, 7(1), 10-14.

Rahayu, W. P. (2018). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko.*

Ramadhani, S., Fifendy, M., & Yuniarti, E. (2021). Kultur Dan Sensitivitas Antibiotik Pus Di Uptd Laboratorium Kesehatan Sumatera Barat. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 2, pp. 889-897).

Refai & Ocktariyana (2024) *Buku Ajar Biologi Molekuler Terapan.* Yogyakarta.

Rizky, V. A., Krisdianilo, V., Rahayu, A., & Ginting, S. S. (2021). Identifikasi Bakteri Escherichia coli O157: H7 Pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, *3*(2), 118-123.

Rosyidah, A. N. (2019). Hubungan perilaku cuci tangan terhadap kejadian diare pada siswa di Sekolah Dasar Negeri Ciputat 02. *JIKO (Jurnal Ilmiah Keperawatan Orthopedi)*, *3*(1), 10-15.

Rosyidi, A. (2018). Deteksi Escherichia coli sumber ayam kampung dan resistensinya terhadap berbagai antibiotik. Maduranch: Jurnal Ilmu Peternakan, 3(1), 17-22.

Sangadjisowohy, I. (2023). Uji Kandungan Bakteriologi Air Minum Isi Ulang di Wilayah Kerja Puskesmas Siko Kota Ternate. *Jurnal Sehat Mandiri*, *18*(2), 132-139.

Sari, R. S., Solihat, L. L., Febriyana, L., Mardianti, M., Sari, M. P., Mirqotussyifa, M., & Nurlaelah, N. (2021). Meningkatkan Pengetahuan Mengenai Penanganan Diare Pada Anak Melalui Penyuluhan Kesehatan. *SELAPARANG: Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan*, *4*(2), 70-73.

Sitaba, T. F. N., & Nurlinda, A. (2022). Identifikasi Kandungan Escherichia Coli pada Es Dawet di Jalan Urip Sumohardjo Kota Makassar. *Window of Public Health Journal*, *3*(1), 96-101.

Tangkonda, E. (2016). Isolasi dan Identifikasi Eschericia coli O157: H7 dari Babi, Sapi dan Ayam yang Menunjukkan Gejala Diare. Jurnal Kajian Veteriner, 4(2), 21-27.

Tuang, A. (2021). Analisis analisis faktor yang berhubungan dengan kejadian diare pada anak. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, *10*(2), 534-542.

World Health Organization. (2024). Penyakit Diare. https://www-who-int.translate.goog/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal

Wolayan, G. A. C., & Ranuh, I. G. M. R. G. (2020). Diare Kronis pada Anak Berusia di Bawah Lima Tahun. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, *2*(3), 128-134.

Wulandari, W., & Yuliawati, R. (2021). Literatur Review Analisis Hubungan Perilaku Cuci Tangan Pakai Sabun dengan Kejadian Diare pada Anak Sekolah. *Borneo Studies and Research*, *3*(1), 589-597.

Zhang, X., Li, Y., Wang, J., & Chen, L. (2024). Perubahan perilaku masyarakat dan faktor lingkungan memicu peningkatan kasus diare pada usia 21–50 tahun di Tiongkok pada 2023. Jurnal Epidemiologi Tiongkok, 12(3), 123–130.

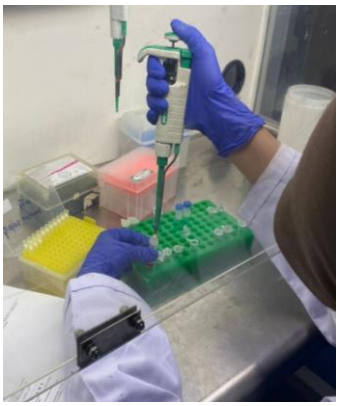
Lampiran 1. Master Data Penelitian

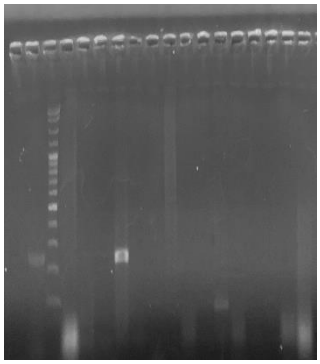
Master Data Penelitian														
No	**Kode Sampel**	**Usia**	**Jenis kelamin**	**BAB**	**Mencuci tangan sebelum & sesudah makan**	**Mencuci tangan sebelum & sesudah BAB**	**Kebersihan lingkungan**	**F.cair/lembek**	**Feses disertai darah**	**Mengalami dehidrasi**	**Mual/ kram perut**	**Mengonsumsi daging ≤ 1-2 hari**	**Rumah dekat dengan peternak sapi**	**Hasil PCR**
1	01	31	P	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Negativ
2	02	18	P	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Negativ
3	0	43	L	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Negativ
4	**04**	**22**	**P**	**Ya**	**Ya**	**Tidak**	**Ya**	**Ya**	**Tidak**	**Ya**	**Ya**	**Ya**	**Tidak**	**Positif**
5	05	25	P	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Negativ
6	06	36	P	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Negativ
7	07	28	L	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Negativ
8	08	14	P	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Negativ
9	09	27	P	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Negativ
10	10	1	L	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Negativ
11	11	5	P	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Negativ
12	12	9	P	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Negativ

13	13	3	L	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Negativ
14	14	14	P	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Negativ
15	15	8	L	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Negativ

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

<table>
<tr><td colspan="3">Proses Pengambilan Sampel</td></tr>
<tr><td colspan="3">
Pengambilan sampel feses</td></tr>
<tr><td colspan="3">Proses Ekstraksi DNA</td></tr>
<tr><td>
Ditimbang feses</td><td>
Ditambahkan SDE 1</td><td>
Divortex</td></tr>
<tr><td>
Diingkubasi</td><td>
Dicentrifuse</td><td>
Ditambah SDE 2</td></tr>
</table>

 Ditambah SDE 3	 Ditambahkan SDE 4	 Ditambahkan elution *buffer*
Amplifikasi PCR		
 Pembuatan *mix* PCR	 Dimasukkan mix ke dalam tube PCR	 Dimasukkan sampel DNA

		
Dispindown	Dimasukkan pada alat PCR	Pengaturan suhu
Proses Elektroforesis		
		
Dipanaskan gel *agarose*	Dimasukkan sampel pada sumuran gel agarose	Pembacaan pada gel doc

Lampiran 3. Lembar *Informed Consent*

INFORMED CONSENT
(Lembar Persetujuan Responden)

Nama : A R
Umur : 19
Alamat : Antang
Jenis Kelamin : perempuan

Menyetujui untuk menjadi responden dalam penelitian yang dilakukan:

Nama : Nur Indah Sari
Nim : B1D121048
Instansi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Menyatakan bahwa saya akan menjadi responden dalam penelitian yang berjudul " **Deteksi *Enterohaemoragic Escherichia Coli (EHEC)* Strain O157:H7 Pada Penderita Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ".** Dengan bersedia untuk dilakukan pemeriksaan. Dengan ketentuan, hasil pemeriksaan akan dirahasiakan dan hanya semata-mata untuk kepentingan ilmu pengetahuan.

Demikian surat ini saya buat dengan sukarela tanpa ada paksaan dari pihak lain dan kiranya dipergunakan dengan semestinya.

Makassar, 30 April 2025

Peneliti

Nur Indah Sari

Responden

(A R)

Lampiran 4. Lembar Kuesinoner Penelitian

KUESIONER

DETEKSI *Enterohaemoragic Escherichia coli (EHEC)* STRAIN O157:H7 PADA PENDERITA DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Identitas/Biodata

Hari/Tanggal : Rabu, 30 April 2025
Nomor Responden : 02
Jenis Kelamin : Perempuan
Umur : 18 tahun

Petunjuk Pengisian

Bacalah dengan cermat dan teliti setiap pertanyaan dibawah ini dengan seksama:

1. Pertanyaan dibawah ini mengenai judul diatas
2. Jawablah pertanyaan ini sesuai dengan kebiasaan anda sehari-hari

No	Pertanyaan	Pilihan	
		Ya	Tidak
1	Apakah anda bab dalam sehari 3-4 kali	✓	
2	Apakah anda mencuci tangan sebelum dan sesudah makan	✓	
3	Apakah anda mencuci tangan sebelum dan sesudah BAB	✓	
4	Apakah anda sering menjaga kebersihan lingkungan sekitar		
5	Apakah saat anda BAB, tinja anda tampak		
	a. Cair	✓	
	b. Lembek	✓	
	c. Berdarah		✓
6	Apakah anda mengalami dehidrasi setelah BAB		✓
7	Apakah anda mengalami mual/ kram pada perut anda	✓	
8	Apakah 1-2 hari bapak/ibu ada mengonsumsi daging sapi		✓
9	Apakah bapak/ibu tinggal berdekatan dengan peternak sapi		

Sapi tetangga lewat

Lampiran 5. Surat Izin Penelitin HUM-RC

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : **7121/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Rektor Univ. Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1054/07.0961056/III/2025 tanggal 24 Maret 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **NUR INDAH SARI**
Nomor Pokok	: B1D121048
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" DETEKSI Enterohaemoragic Escherichia coli (EHEC) STRAIN O157:H7 PADA PENDERITA DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***11 April s/d 01 Juni 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 11 April 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Lampiran 6. Surat Pengantar Penelitian

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 134/04/FR1/2025	Tanggal : 22 April 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Ibu Nur Samsi,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama	: Nur Indah Sari
NIM	: B1D121048
Institusi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal	: 23 April 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek	: ± 15 sampel
Jenis data	: Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Deteksi Enterohaemoragic Escherchia Coli (EHEC) Strain O157:H7 pada Penderita Diare Dengan Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,

HUM-RC
science for a better future

Catatan : Untuk *Guide Services*, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping hanya mendampingi.

Lampiran 7. Surat Keterangan Selesai Penelitian

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 259/06/FR2/2025	Tanggal : 16 Juni 2025

SURAT KETERANGAN
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Nur Indah Sari
NIM : B1D121048
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Deteksi Enterohaemoragic Escherchia Coli (EHEC) Strain O157:H7 pada Penderita Diare Dengan Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 3 Juni 2025
Jumlah subjek : ± 15 sampel
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Nur Samsi, S.Si
Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing

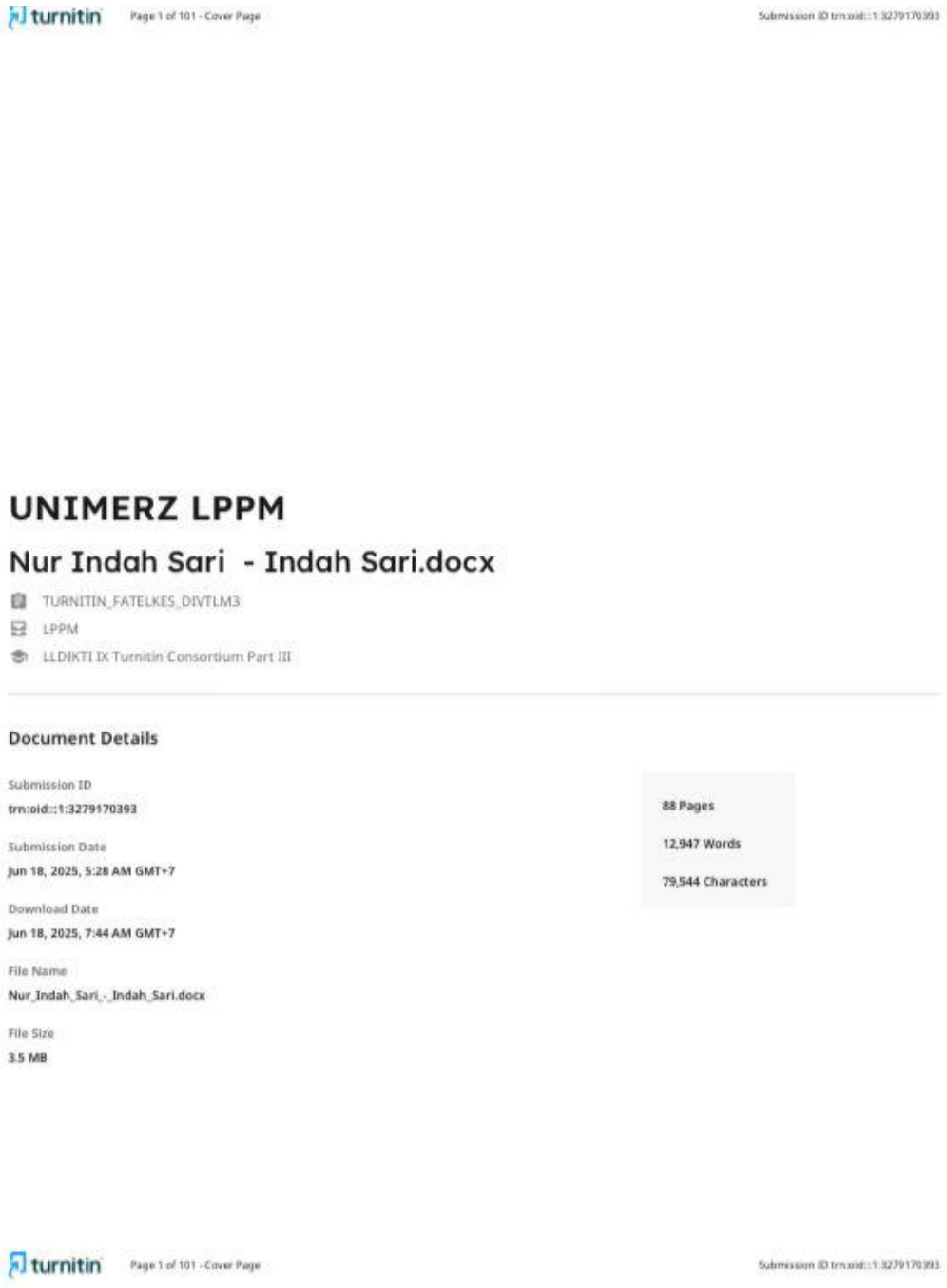
Nur Samsi, S.Si
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

HUM-RC
science for a better future

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002

Lampiran 8. Uji Turnitin




turnitin
Page 2 of 101 - Integrity Overview
Submission ID trn:oid:::1:3279170393
22% Overall Similarity
The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.
Top Sources
21% Internet sources
12% Publications
10% Submitted works (Student Papers)
Integrity Flags
0 Integrity Flags for Review
No suspicious text manipulations found.
Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.
A flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.
turnitin
Page 2 of 101 - Integrity Overview
Submission ID trn:oid:::1:3279170393