**SKRIPSI**

# IDENTIFIKASI BAKTERI EPEC (*ENTEROPATHOGENIC Escherichia coli*) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

*Diajukan sebagai syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S. Tr. Kes)*
*Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medik*
*Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar*

**IIN HARLIYANTI**
**B1D121165**

**PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIM MEDIS**
**FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN**
**UNIVERSITAS MEGAREZKY**
**MAKASSAR**
**2025**

**HALAMAN JUDUL**

# IDENTIFIKASI BAKTERI EPEC (*ENTEROPATHOGENIC Escherichia coli*) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

IDENTIFICATION OF EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) BACTERIA IN CHILDREN WITH DIARRHEA USING THE *Polymerase Chain Reaction* (PCR) METHOD

IIN HARLIYANTI
B1D121165

Dibimbing oleh

Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si
Pembimbing 1

Hijral Aswad, S,Si., M.Kes
Pembimbing 2

Penguji
Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes

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

**HALAMAN PENGESAHAN**

**SKRIPSI**

IDENTIFIKASI BAKTERI EPEC (*ENTEROPATHOGENIC Escherichia coli*) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh
IIN HARLIYANTI

Nomor Induk Mahasiswa B1D121165

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada tangggal 12 Agustus 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

| Tim Penguji | Tanda Tangan |
|---|---|
| 1. Dr Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes | ( ) |
| 2. Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si | ( ) |
| 3. Hijral Aswad S.Si., M.Kes | ( ) |

Mengetahui,

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

# SURAT KETERANGAN LULUS UJI TURNITIN

**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. 406614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-Email: info@universitasmegarezky.ac.id

**KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN**
**No. 167/T/07.091056/VIII/2025**

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : IIN HARLIYANTI

NIM : B1D121165

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenic Escherichia Coli*) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 18 %** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 06 Agustus 2025
Ketua,

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

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan sepenuhnya kepada dua orang tua saya yang melahirkan serta yang merawat saya hingga saat ini **Ibunda Istikal** dan **Bapak Haeruddin**. Saya berterima kasih setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta atas doa, dukungan, dan cinta kasih yang selalu diberikan. Terima kasih atas pengorbanan, kerja keras, dan waktu yang telah diberikan. Dan kepada saudara tersayang **Indri Aulia Fairuz** dan **Muh. Tri Ikhsan Anugerah** yang selalu memberikan dukungan kepada penulis. Semoga selalu diberkahi dan diberikan kesehatan. Semoga Allah *Subhananu wa'ta'ala* membalas segala kebaikan dan memudahkan jalan menuju kebahagiaan dunia dan akhirat.

## *CURRICULUM VITAE*



**IIN HARLIYANTI**
**B1D121165**

### A. Biodata

1. Nama : Iin Harliyanti
2. Tempat tanggal lahir : Timika, 16 Desember 2003
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Medis
5. Alamat : Timika
6. Ayah : Haeruddin
7. Ibu : Istikal

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD : SD Yapis Al-Furqon Timika
2. SMP : SMPN 2 Timika
3. SMA : SMK Negeri 3 Timika

### C. Pesan dan Kesan

Fase skripsi bukan akhir dari semua perjuangan tapi awal hidup baru yang hampir sempurna namun sangat banyak menguras tenaga. Pikiran yang selalu tertuju pada revisi, takut tertinggal, cape dengan pikiran dan mental yang di hajar habis-habisan. Semua berjalan seakan lama dan pelan, padahal orang taunya kita hidup tenang dan bahagia. Tutup lelahmu dan tunjukkan hasilmu.

## MOTTO

”Tidaklah mungkin bagi matahari mengejar bulan Dan malam pun tidak dapat mendahului siang. Masing-masing beredar pada garis edarnya”
(Q.S Yasin: 40)

”Tugas kita bukanlah untuk berhasil, tugas kita adalah untuk mencoba karena didalam mencoba itulah kita menemukan kesempatan untuk berhasil”
(Buya Hamka)

*”It will pass, everything you’ve gone through it will pass”*
(Rachel vennya)

# KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah, Sang Maha Pencipta dan Pengatur Alam Semesta, karena dengan cinta, kasih sayang, serta rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul **"Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) Pada Balita & Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"**

Shalawat dan salam tak lupa penulis curahkan kepada baginda Rasulullah shalallahu 'alaihi wasallam serta keluarga dan sahabat-sahabat beliau yang menjadi panutan bagi umat islam, yang senantiasa menjadi suri teladan dan membawa ajaran yang begitu sempurna.

Rasa cinta, bangga, dan terima kasih penulis persembahkan kepada Ayahanda **Haeruddin,** Ibunda **Istikal**, dan Keluarga besar tercinta atas segala doa, dorongan, semangat, kasih sayang, dan pengorbanan selama ini hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini.

Adapun proposal skripsi ini dibuat untuk memenuhi syarat guna mencapai gelar Sarjana Terapan Kesehatan pada Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar.

Penulis ingin mengucapkan pula terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan telah membantu penyusunan skripsi ini yaitu 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. Apt. Dra. Hj. 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 DIV Teknologi Laboratoium Medis**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si dan Hijral Aswad, S.Si., M.Kes,** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan pen  uh kesabaran dan keikhlasan.

8. **Ibu Handayani Halik, S. Si., M. Kes, sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. **Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC)**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pasangan tercinta yang senantiasa memberikan dukungan, motivasi, serta doa selama proses penyusunan skripsi ini
12. **Sahabat-sahabatku tersayang Lidya, Elvi, Rini, Bilqis, Ilga, Tasya, Fena, Riska,** yang telah menemani, memberi dukungan, doa dan semangat kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini. **Dan Seluruh teman-teman 2021 D**, yang telah banyak membantu, menemani, mendukung dan terima kasih atas kebersamaannya dari awal perkuliahan sampai pada menyelesaikan skripsi penelitian ini. Dan Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih atas dukungan, doa, semangat dan motivasi yang telah diberikan.

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

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

**Makassar, 12 Agustus 2025**

Penulis

# ABSTRAK

**Iin Harliyanti**. NIM B1D121165**. "**Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)". (Dibimbing oleh Nurfitri Arfani dan Hijral Aswad)

*Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) merupakan salah satu patogen utama penyebab diare, khususnya pada anak-anak di negara berkembang. EPEC dikenal karena kemampuannya dalam menyebabkan lesi khas pada permukaan usus yang disebut *attaching and effacing lesions*, yang mengganggu penyerapan nutrisi dan memicu diare berat. Berbeda dari strain Escherichia coli lainnya, EPEC membawa gen virulensi spesifik seperti *bfpA (bundle-forming pilus A)* yang dapat dideteksi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan EPEC melalui identifikasi gen *bfpA* pada anak-anak penderita diare. Metode penelitian ini bersifat deskriptif laboratorium dengan menggunakan 15 sampel feses dari anak-anak yang mengalami diare, yang dikumpulkan dari Puskesmas Antang dan TPA Antang, Kota Makassar. Hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat pita DNA berukuran 324 bp pada seluruh sampel yang dianalisis, yang berarti gen *bfpA* tidak terdeteksi. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukan EPEC pada sampel feses yang diuji dalam penelitian ini.



**Kata Kunci : Anak-anak, Balita, EPEC, Diare, Gen *bfpA*, PCR.**

## *ABSTRACT*

***Iin Harliyanti. Student ID B1D121165. "Identification of EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli) Bacteria in Infants and Children with Diarrhea Using Polymerase Chain Reaction (PCR)" (Supervised by Nurfitri Arfani and Hijral Aswad).***

*Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) is one of the major pathogens causing diarrhea, particularly in children in developing countries. EPEC is known for its ability to cause characteristic lesions on the intestinal surface, known as attaching and effacing lesions, which disrupt nutrient absorption and lead to severe diarrhea. Unlike other E. coli strains, EPEC carries specific virulence genes such as bfpA (bundle-forming pilus A), which can be detected using Polymerase Chain Reaction (PCR). This study aimed to detect the presence of EPEC by identifying the bfpA gene in fecal samples of children suffering from diarrhea. The research was descriptive and laboratory-based, using 15 fecal samples collected from diarrheic children at Antang Public Health Center and Antang Landfill, Makassar City. The results showed that no DNA bands of 324 bp were detected in any of the samples analyzed, indicating that the bfpA gene was not found. Therefore, it can be concluded that no EPEC was detected in the fecal samples tested in this study.*



***Keywords: Children, Infants, EPEC, Diarrhea, bfpA Gene, PCR.***




## DAFTAR ISI

**HALAMAN JUDUL ..... ii**
**HALAMAN PERSEMBAHAN ..... v**
**MOTTO ..... vii**
***CURRICULUM VITAE* ..... vi**
**KATA PENGANTAR ..... viii**
**ABSTRAK ..... xii**
**DAFTAR ISI ..... xiv**
**DAFTAR GAMBAR ..... xvi**
**DAFTAR SINGKATAN ..... xvii**
**BAB I PENDAHULUAN ..... 1**
A. Latar Belakang ..... 1
B. Rumusan Masalah ..... 5
C. Tujuan Penelitian ..... 5
D. Manfaat Penelitian ..... 5
**BAB II TINJAUAN PUSTAKA ..... 7**
**A. Tinjauan Umum Tentang Diare ..... 7**
1. Definisi Diare ..... 7
2. Klasifikasi Diare ..... 8
3. Penyebab Diare ..... 9
4. Epidemiologi Diare ..... 11
5. Mekanisme Penularan Diare ..... 12
6. Patogenesis Penyakit Diare ..... 13
**B. Tinjauan umum Bakteri *Escherichia coli* ..... 14**
1. Definisi *Escherichia coli* ..... 14
3. Klasifikasi *Escherichia coli* ..... 17
4. Penularan *Escherichia coli* ..... 19
5. Patogenesis *Escherichia coli* ..... 20
**C. Tinjauan umum *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) ..... 22**
1. Definisi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) ..... 22
2. Dampak EPEC pada kesehatan anak ..... 23

3. Faktor virulensi EPEC ..... **24**
**D. Tinjauan umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ..... 24**
1. Definisi *Polymerase Chain Reaction* ..... 24
2. Prinsip *Polymerase Chain reaction* (PCR) ..... 27
3. Jenis *Polymerase Chain reaction* (PCR) ..... 28
4. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ..... 30
5. Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ..... 32
**E. Kerangka Teori ..... 37**
**F. Kerangka Konsep ..... 38**
**G. Relevansi Penelitian Sebelumnya ..... 38**
**H. Definisi Operasional ..... 39**
**BAB III METODE PENELITIAN ..... 40**
A. Jenis Penelitian ..... 40
B. Lokasi dan Penelitian ..... 40
C. Populasi dan Sampel ..... 40
D. Teknik Pengambilan Sampel ..... 41
E. Instrumen Penelitian ..... 41
F. Prosedur Kerja Penelitian ..... 42
H. Analisis Data ..... 47
I. Alur Penelitian ..... 47
J. Etika Penelitian ..... 47
**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ..... 49**
A. Hasil Penelitian ..... 49
B. Pembahasan ..... 52
**BAB V PENUTUP ..... 61**
A. Kesimpulan ..... 61
B. Saran ..... 61
**LAMPIRAN ..... 62**
**DAFTAR PUSTAKA ..... 74**

## DAFTAR GAMBAR

**Halaman**

**Gambar 1.** Morfologi *Escherichia coli* ..... 18
**Gambar 2.** Struktur dan Antigen Bakteri *Escherichia coli* ..... 19
**Gambar 3.** Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ..... 32
**Gambar 4.** Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ..... 36
**Gambar 5.** Kerangka Teori ..... 37
**Gambar 6.** Kerangka Konsep ..... 38
**Gambar 7.** Alur Penelitian ..... 47
**Gambar 8.** Hasil elektroforesis gen EPEC. Ket: M = Marker, 01-15 = kode sampel, K+ = kontrol positif, 324 bp = target band EPEC ..... 51

## DAFTAR SINGKATAN

| | |
|---|---|
| WHO | : *World Health Organization* |
| OKD | : Organisasi Kesehatan Dunia |
| BALITA | : Anak bawah lima tahun |
| KLB | : Kejadian Luar Biasa |
| ETEC | : *Enterotoxigenic Escherichia coli* |
| EPEC | : *Enteropathogenic Escherichia coli* |
| EIEC | : *Enteroinvasive Escherichia coli* |
| EAEC | : *Enteroaggregative Escherichia coli* |
| EHEC | : *Enterohemorrhagic Escherichia coli* |
| DAEC | : *Diffusely adherent Escherichia coli* |
| DEC | : *Diarrheagenic Escherichia coli* |
| (A/E) | : *Attaching and Effacing* |
| PCR | : *Polymerase Chain Reaction* |
| GAP PCR | : Gap-*Polymerase Chain Reaction* |
| RFLP-PCR | : *Restricton Fragment Length Polymophism*-PCR |
| HUM RC | : *Hasanuddin University Medical Research Center* |
| DEPKES RI | : Departemen Kesehatan Republik Indonesia |
| ASI | : Air Susu Ibu |
| *E. coli* | : *Escherichia coli* |
| PHBS | : Perilaku Hidup Bersih dan Sehat |
| BFP | : *Boiler Feed Pump* |
| T3SS | : *Type III Secretion System* |
| DNA | : *Deoxyribonucleic acid* |
| RNA | : *Ribonucleic acid* |

# BAB I

# PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang

Diare merupakan penyakit yang berkaitan erat dengan kondisi lingkungan dan masih menjadi masalah kesehatan yang umum di masyarakat Indonesia. Hal ini terlihat dari masih tingginya angka kejadian diare di berbagai daerah. Secara umum, penyakit ini sering muncul di wilayah yang kekurangan air bersih untuk keperluan minum, memasak, dan mencuci. Selain disebabkan oleh infeksi, diare juga dapat menjadi gejala keracunan makanan, kekurangan gizi, atau muncul sebagai penyakit penyerta lainnya (Setyawan & Setyaningsih, 2021).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) terdapat 1,7 miliar kasus diare yang terjadi di dunia setiap tahunnya. Kondisi ini sangat memprihatinkan karena diare telah menyebabkan kematian sekitar 760.000 anak setiap tahunnya. Di Indonesia, angka kematian anak akibat diare mencapai 100.000 anak per tahun (Chentia, 2024). Berdasarkan data terbaru dari WHO tahun 2024, kasus penyakit diare pada anak dengan angka kematian 443.832 anak di bawah usia 5 tahun dan tambahan 50.851 anak berusia 5 hingga 9 tahun di setiap tahunnya (Situmeang, 2024).

Diare adalah penyakit endemik di Indonesia dan menjadi penyakit potensial kejadian luar biasa (KLB). Pada daerah khususnya di Sulawesi Selatan dengan kejadian tertinggi diare (13.689-28.908) adalah Makassar, Gowa, Bulukumba, Takalar, Pangkep dan Luwu Utara, kemudian yang

terendah (2.679-6.398) adalah Selayar (762 kasus), Sinjai (1.388 kasus), Kabupaten Maros (1.999 kasus), Barru (933 kasus), Luwu (2.053 kasus), Tana Toraja (1.332 kasus) dan Kota Parepare (821 kasus) (Ekowatiningsih dkk., 2023).

Menurut Departemen kesehatan RI, terdapat beberapa faktor yang dapat secara langsung maupun tidak langsung menjadi faktor penyebab terjadinya diare pada anak, terdiri dari faktor agen, pejamu, dan lingkungan. Faktor pejamu atau host yang dapat menyebabkan diare, status gizi yang buruk, daya tahan tubuh yang lemah, kurangnya pengetahuan orangtua terkhusus ibu akan penyakit diare. Sedangkan faktor lingkungan, yaitu sarana air bersih dan tempat pembuangan tinja yang tidak memenuhi syarat, dimana kedua faktor ini saling berinteraksi sejalan dengan perilaku manusia. Jika faktor lingkungan tercemar oleh mikroorganisme penyebab diare serta diikuti dengan perilaku manusia yang tidak sehat, maka hal tersebut akan mempermudah penularan diare (Anggraini & Kumala, 2022).

Secara klinis diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, parasit, malabsorpsi, alergi, keracunan, imunodefisiensi dan lain-lain. Bakteri penyebab diare antara lain *Campylobacter, Salmonella, Shigella, Escherichia coli dan Vibrio cholera* (Utami, dkk, 2022). Urutan jenis bakteri yan paling sering terjadi adalah *E. coli* 10% sampai 25%, *Shigella* 10%, *Salmonella* 3%, *Campylobacter* 3 sampai 6%. (Antara, dkk, 2024).

Menurut Hutasoit (2020), salah satu mikroorganisme yang menjadi penyebab sering terjadinya diare adalah *E.coli*, jumlah koloninya dalam usus dapat memengaruhi beratnya gejala penyakit diare. Bebarapa jenis strain yang dapat menginfeksi diare sub tipe tersebut diantaranya adalah *Enterotoxigenic Esherichia coli* (ETEC), *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enteroinvasive Esheriachia coli* (EIEC), *Enteroagregative Escherichia coli* (EAEC), *Enterohemorrhagic Esherichia coli* (EHEC), dan *E.coli* yang melekat secara difus adalah *Diffusely adherent Esherichia coli* (DAEC) (Anggryani dkk., 2023).

Salah satu jenis strain *E.coli* patogenik adalah *Escherichia coli Enteropatogenik* (EPEC). *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) merupakan strain pertama yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare patogenik pada bayi dan anak-anak di beberapa Negara. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) menyebabkan diare akut, berair dan berlendir (Jap & Widodo, 2021). EPEC menjadi penyebab utama diare pada bayi dan anak-anak, karena bakteri ini melekat pada mukosa usus halus dan menyebabkan gejala seperti diare cair yang parah, muntah, dan demam. Meskipun gejala ini umunya bersifat singkat, pada beberapa kasus, diare dapat berlangsung lebih lama atau bahkan menjadi kronis (Dewi dkk., 2024).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Setianingsih dkk (2020), menunjukkan bahwa *Enteropathogenik Escherichia coli* (EPEC) dapat terdeteksi menggunakan PCR, penelitian melakukan pengambilan sampel diare pada anak-anak sebanyak 15 sampel dan mendapatkan satu

sampel P5 positif EPEC di pita 326 bp.

Metode konvensional seperti kultur memerlukan waktu yang relatif lama, jumlah sampel yang banyak, serta memiliki risiko terjadinya kontaminasi yang dapat memengaruhi keakuratan hasil. Oleh karena itu, diperlukan metode alternatif yang lebih efisien dan andal untuk mendeteksi keberadaan bakteri EPEC pada Escherichia coli. Salah satu metode yang banyak digunakan di bidang molekuler adalah Polymerase Chain Reaction (PCR). Teknik ini memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, mampu menghasilkan amplifikasi produk secara cepat, tepat, dan akurat, serta hanya memerlukan jumlah sampel yang sedikit. Berbagai penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa metode PCR efektif digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen spesifik pada bakteri penyebab penyakit infeksi seperti *E. coli* (Putri, dkk 2022).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, diketahui bahwa *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) merupakan bakteri yang dapat memengaruhi sistem pencernaan manusia. Penularan EPEC umumnya terjadi melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, serta akibat perilaku kebersihan yang kurang baik, seperti cara mencuci tangan yang tidak tepat. Infeksi bakteri ini dapat menyebabkan terjadinya diare, terutama pada anak-anak yang memiliki sistem kekebalan tubuh belum sempurna.

Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) pada Balita dan Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)".

## B. Rumusan Masalah

Apakah ditemukan bakteri EPEC (*Enteropathogenik Esherichia coli*) pada Balita dan anak-anak penderita diare dengan menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

## C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui ada tidaknya bakteri EPEC *Enteropatogenik Esherichia coli* pada Balita & anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

## D. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat teoritis

a. Untuk penelitian

Hasil penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan, wawasan serta pengalaman penulis dalam mengetahui Deteksi Bakteri *Enteropathogenik Escherichia coli* (EPEC) pada Balita & anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase chain reaction* (PCR)

b) Untuk Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai Deteksi Bakteri EPEC (*Enteropatogenik Esherichia coli*) pada Balita & anak-anak penderita diare menggunakan metode *PolymeraseChain*

*Reaction* (PCR).

**2. Manfaat praktis**

Diharapakan dapat menambah pengetahuan kepada tenaga medis khususnya Ahli Teknologi Laboratorium Medis dalam pemeriksan Bakteri EPEC (*Enteropatogenik Esherichia coli)* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

# BAB II
# TINJAUAN PUSTAKA

## A. Tinjauan Umum Tentang Diare

### 1. Definisi Diare

Diare (*diarrheal disease*) berasal dari kata *diarroia* (Bahasa Yunani) yang berarti mengalir terus, diare merupakan keadaan buang air besar dalam keadaan abnormal dan lebih cair dari biasanya dan dalam jumlah tiga kali atau lebih dalam periode 24 jam. Diare salah satu penyakit disebabkan oleh infeksi mikroorganisme (Iqbal *et al*., 2022).

Diare merupakan penyakit yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali atau lebih dalam sehari disertai feses yang encer atau cair. Penyakit ini merupakan gejala infeksi gastrointestinal yang disebabkan oleh bakteri, virus dan parasit. Diare menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dan juga dari individu ke individu lainnya sebagai dampak dari sanitasi dan kualitas kebersihan yang buruk (Putra dkk., 2022).

Penyebab diare akibat bakteri *Escherichia coli* yang paling sering terjadi disebabkan oleh galur *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC) yang memiliki beberapa subtipe. Diantara subtipenya, *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) yang sangat patogen dan kasus diare yang disebabkan subtipe ini sering terjadi di negara berkembang (Jap & Widodo, 2021).

Pada anak yang mengalami diare apabila cairan yang dikeluarkan lebih banyak dari cairan yang dikonsumsi, maka tubuh akan kekurangan cairan dan anak akan mengalami dehidrasi. Anak dan bayi lebih berisiko untuk menderita dehidrasi dibandingkan dengan orang dewasa. Penyakit diare dapat mengakibatkan terjadinya malnutrisi dan kematian jika tidak segera dilakukan penanganan terlebih apabila dehidrasi tidak diatasi dengan baik (Anggraini & Kumala, 2022).

**2. Klasifikasi Diare**

Diare didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan jumlah buang air besar yang terjadi akibat adanya suatu infeksi. Seorang anak bisa dikatakan telah mengalami diare apabila volume buang air besarnya terukur lebih besar dari 10 ml / kg per hari. Konsistensi tinja yang encer, banyak mengandung cairan (cair) dan sering (pada umumnya buang air besar lebih dari 3 kali dalam 24 jam). Berrdasarkan penelitian (Anggraini & Kumala, 2022) tentang klasifikasi waktu diare, di bagi menjadi :

a. Diare Akut

Diare akut sering juga didefinisikan sebagai gastroenteritis, yaitu diare yang muncul cepat yang dapat disertai dengan beberapa gejala seperti mual, muntah, demam, dan nyeri abdomen yang berlangsung selama kurang dari 14 hari. Sekitar 80% disebabkan oleh virus sedangkan infeksi akibat bakteri lebih sering bermanifestasi sebagai diare berdarah.

Diare infeksi akut dapat diklasifikasikan secara klinis dan patofisiologis menjadi dua jenis utama, yaitu diare non-inflamasi dan diare inflamasi. Diare inflamasi terjadi akibat invasi bakteri dan produksi sitotoksin di kolon, yang menunjukkan gejala sindrom disentri dengan diare disertai lendir dan darah. Manifestasi klinis melibatkan mulas hingga nyeri kolik, mual, muntah, demam, tenesmus, serta tanda dehidrasi (Dewi dkk., 2024).

b. Diare Kronik

Keluarnya tinja air dan elektrolit yang hebat. Dengan frekuensi buang air besar yang terus meningkat, konsistensi tinja semakin lembek dan cair, atau volume tinja yang semakin bertambah dalam rentang waktu yang lebih dari 14 hari.

c. Diare Persisten

Diare persisten adalah adalah diare yang mula-mula bersifat akut, namun berlangsung lebih dari 14 hari. Dapat dimulai sebagai diare cair akut atau disentri. Diare persisten sering disebabkan oleh beberapa bakteri atau parasit yang masuk dalam tubuh seorang anak.

**3. Penyebab Diare**

Diare dapat menyebabkan masalah keseimbangan cairan, yang mengganggu fungsi ginjal dan menurunkan volume darah, aliran darah, hemokonsentrasi, dan sirkulasi perifer. Kelesuan, kelemahan, kulit lembap, kolaps vena, kerusakan vena superfisial, pernapasan dangkal, denyut nadi cepat dan lemah, tekanan darah rendah, oliguria, dan

terkadang muntah adalah gejala diare. Perdarahan gastrointestinal adalah penyebabnya. Akibatnya, jika keadaan semakin memburuk, penderita akhirnya akan mengalami koma atau sopor dan meninggal dunia (Novi, dkk, 2024).

Diare adalah kondisi yang ditandai oleh peningkatan frekuensi, fluiditas, atau volume tinja, yang dapat dibedakan berdasarkan durasi (akut dankronis), mekanisme patofisiologis, dan lokasi anatomi. Secara umum, diare dianggap akut jika berlangsung kurang dari 14 hari, sementara diare dianggap kronis jika berlangsung lebih dari 14 hari (Dewi dkk., 2024).

Penyakit diare adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus atau infestasi parasit, malabsorpsi, alergi, keracunan, imunodefisiensi dan sebab-sebab lainnya. Penyakit diare biasa muncul sepanjang tahun dan bias menyerang seluruh kelompok umur. Namun, kelompok usia anak-anak adalah kelompok usia yang sering menderita penyakit diare karena daya tahan tubuhnya yang masih lemah. Penyakit ini berkaitan dengan kondisi lingkungan (Ismaun dkk., 2021).

Penyakit diare dapat dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu faktor host (penyebab) yang dapat mempengaruhi terjadinya penyakit diare salah satunya adalah perilaku higiene yang buruk seperti cuci tangan tidak menggunakan sabun dan air yang mengalir. Tangan yang kotor atau terkontaminasi sangat mudah memindahkan bakteri, faktor agent (manusianya) yang dapat menyebabkan terjadinya diare diantaranya

faktor infeksi (dalam saluran pencernaan) misalnya terjadi pada saat lahir karna infeksi, malabsorpsi, makanan dan faktor environment (lingkungan) yang dapat menyebabkan terjadinya diare adalah kondisi lingkungan yang kurang bersih atau baik (Iqbal dkk., 2022).

Menurut (Anggraini & Kumala, 2022) Penyebab infeksi diare dari mikroorganisme, yaitu:

*a.* Infeksi bakteri, yaitu *Aeromonas sp, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Staphylococcus aureus,* dan *Vibrio cholerae.*

b. Infeksi Virus, yaitu *Astrovirus, Koronavirus, Adenovirus enterik* dan *Rotavirus.*

c. Infeksi Parasit, yaitu: Cacing perut: *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Strongyloides stercoralis* dan *Ancylostoma duodenale.* Jamur*: Candida albicans Protozoa: Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Balantidium coli* dan *Cryptosporidium.*

**4. Epidemiologi Diare**

Sampai saat ini angka diare masih tinggi sekitar 3,3 juta kematian akibat diare terjadi setiap tahunnya di seluruh dunia. Dan angka ini paling tinggi terjadi pada anak-anak di bawah 1 tahun dengan perkiraan 20 kematian per 1.000 anak. Pada anak usia 1-5 tahun, angka kematiannya menurun atau hanya sekitar 5 dari 1.000 anak. Di negara berkembang, angka kejadian diare sangat bervariasi sesuai umur penderita. Tapi umumnya angka kejadiannya pada usia 2 tahun pertama dan akan

menurun seiring dengan bertambahnya usia anak. Namun, puncak angka kejadian adalah pada anak usia antara 6-7 bulan. Di samping itu diare juga merupakan penyebab kematian yang penting di negara berkembang (Setyawan & Wiwik , 2021).

**5. Mekanisme Penularan Diare**

Sebagian besar penularan diare (75%) yang disebabkan oleh virus dan bakteri ditularkan melalui *faecal-oral* dengan mekanisme media air dan melalui tinja yang terinfeksi. Diare dapat terjadi bila seseorang menggunakan air minum yang sudah tercemar, baik sudah tercemar dari sumbernya, tercemar dalam perjalanan sampai kerumah, atau tercemar pada waktu penyimpanan di rumah. Tinja yang sudah mengandung virus dan bakteri yang apabila dihinggapi hewan lalu hewan tersebut hinggap dimakanan, yang jika termakan, maka akan masuk ke dalam tubuh sehingga orang tersebut kemungkinan akan terkena diare (Setyawan & Wiwik, 2021).

Diare dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, dan pada infeksi bakteri, 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. Temuan riwayat dan pemeriksaan fisik dapat memberikan petunjuk penting dalam mengidentifikasi kasus infeksi usus yang serius. Beberapa gejala dan tanda yang perlu diperhatikan meliputi

demam dengan suhu tubuh di atas 38°C, nyeri abdomen berat terutama pada pasien diatas 50 tahun, riwayat perawatan di rumah sakit, keberadaan di panti jompo,riwayat penggunaan antibiotik, disentri dengan adanya darah dan mukus dalam tinja, buang air besar lebih dari 6 kali dalam 24 jam, memburuknya gejala setelah 48 jam, dan gejala dehidrasi berat seperti pusing, haus berat, dan penurunan jumlah urin (Dewi dkk., 2024).

**6. Patogenesis Penyakit Diare**

Menurut (Setyawan & Wiwik Setyaningsih, 2021) Patogenesis diare yang biasa disebabkan yaitu:

a. Bakteri, Patogenesis diare pada diare akut yang disebabkan oleh bakteri dibedakan menjadi 2 yakni pertama bakteri non invasif, adalah bakteri yang memproduksi toksin, dimana bakteri tersebut hanya melekat pada mukosa usus halus dan tidak merusak mukosa. Kedua bakteri invasif adalah bakteri yang memberi keluhan pada diare seperti air cucian beras dan disebabkan oleh bakteri enteroinvasif, yaitu diare yang menyebabkan kerusakan dinding usus berupa nekrosis dan ulserasi, secara klinis berupa diare bercampur lendir dan darah.

b. Virus, diawali dengan masuknya virus melalui makanan dan minuman ke dalam tubuh manusia lalu masuk ke sel epitel usus halus sehingga terjadi infeksi sel-sel epitel yang rusak digantikan oleh enterosit (tapi belum matang sehingga belum dapat menjalankan

fungsinya dengan baik) villi mengalami atrofi dan tidak dapat mengabsorbsi cairan dan makanan yang terserap didorong keluar. Manifestasi klinis diare yang disebabkan oleh virus diantaranya adalah diare akut, demam, nyeri perut, dan dehidrasi.

c. Menurut (Jabal, 2020) Infeksi ptotozoa usus dapat terjadi karena tertelan makanan atau minuman yang terkontaminasi kista protozoa usus atau dengan transmisi langsung *fecal-oral*. Setelah tertelan, umumnya protozoa usus hidup sebagai patogen di usus halus dan usus besar, sehingga menimbulkan berbagai gejala seperti rasa tidak enak di perut, diare, muntah dan demam. Bentuk tropozoit yang bersifat parasit hidup di mukosa usus besar dan menyebabkan diare.

## B. Tinjauan umum Bakteri *Escherichia coli*

### 1. Definisi *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk basil (batang) dengan ukuran sekitar 1–3 µm × 0,4–0,7 µm dan umumnya non-sporulen; dinding sel tipisnya menyebabkan pewarnaan Gram berwarna merah muda. Banyak strain menunjukkan motilitas melalui flagel peritrik dan kemampuan adherensi oleh fimbriae/pili; beberapa strain juga memiliki kapsul polisakarida (mis. K1) yang berkaitan dengan virulensi. Pada media kultur, E. coli biasanya membentuk koloni bulat, cembung dan berwarna keabu-abuan; pada MacConkey agar koloni laktosa-fermenter berwarna merah muda dan pada EMB dapat menunjukkan *metallic green sheen* yang khas Morfologi sel E.

coli juga dapat berubah secara kondisional, misalnya menjadi lebih bulat (coccoid) atau menunjukkan variasi ultrastruktural di bawah tekanan lingkungan, pengaruh antibiotik, atau selama infeksi uropatogenik suatu aspek penting dalam interaksi patogen-host dan interpretasi hasil laboratorium (Mueller, dkk, 2023)

*Escherichia coli* adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. *E. coli* termasuk kedalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu $CO_2$, $H_2O$, energi, dan mineral. Dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Siwi & Mogea, 2022).

*E.coli* juga merupakan bakteri pathogen yang sering menyebabkan keracunann pangan dan juga menjadi salah satu mikroba inidikator sanitasi. Keberadaan *E.coli* pada pangan dapat menunjukkan sanitasi lingkungan yang buruk. Pada dasarnya bakteri *E.coli* selalu terdapat di saluran pencernaan, baik hewan maupun manusia. Bakteri *E.coli* dapat menyebar secara langsung melalui sentuhan dan sebagainya yang kemudian masuk ke mulut jika tidak mencuci tangan terlebih dahulu. Pada kondisi tertentu, *E.coli* dapat menyebabkan infeksi, terutama pada

pasien dengan gangguan sistem imun atau pada kondisi di mana barrier pada gastrointestinal terganggu, bahkan *E.coli* non pathogen sekalipun dapat menyebabkan infeksi (Siwi & Mogea, 2022).

Salah satu penyebab penularan penyakit melalui makanan (*Foodborne disease*) yaitu penyakit yang disebabkan karena mengkonsumsi makanan atau minuman yang tercemar. *E.coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob gram negatif yang dapat berada dalam rongga mulut. Keberadaan *E.coli* dalam rongga mulut dapat disebabkan oleh benda-benda yang masuk ke dalam rongga mulut dan telah terkontaminasi feses (Siwi & Mogea, 2022).

Bakteri *E.coli* flora normal didalam tubuh manusia yang berperan sebagai mikrobiota usus. Hanya beberapa jenis *E.coli* yang menyebabkan diare. Sampai saat ini ditemukan 5 grup *E.coli* yang menyebabkan diare yaitu *Enterotoxigenic E.coli* (ETEC), *Enterohaemorrhagic* (*shiga-toxin-producing*) *E.coli* (EHEC/STEC), *Enteroaggregative E.coli* (EAEC), *Enteropathogenic E.coli* (EPEC), dan *Enteroinvasive E.coli* (EIEC). Transmisi bakteri ini melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Jap & Widodo, 2021).

Bakteri *Escherichia coli* dapat mengakibatkan penyakit bawaan makanan yang parah dan dapat ditularkan ke manusia apabila mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi. Gejala penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri *Escherichia coli* antara lain muntah-muntah, kram perut, demam, dan diare hingga diare berdarah. Infeksi *E.coli* ini

juga dapat menyebabkan penyakit yang mengancam jiwa manusia (Hasanah dkk., 2024).

**3. Morfologi & Klasifikasi *Escherichia coli***

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang memiliki bentuk batang pendek (kokobasil). *Escherichia coli* termasuk kedalam jenis bakteri gram negatif, yang memiliki ukuran 0,4 µm - 0,7 µm × 1,4 µm, dan beberapa strain memiliki kapsul. Strain yang dimiliki oleh bakteri *E.coli* ini terdapat dua jenis yaitu strain patogen dan strain non patogen. *Escherichia coli* non pathogen banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal dan memiliki peran dalam pencernaan pangan dengan menghasilkan vitamin K dari bahan yang belum dicerna dalam usus besar (Wahyuningsih dkk., 2023).

Kelompok genus dari *Escherichia* dikelompokkan ke dalam famili *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* dan bakteri fases *Coliform* lainnya mayoritas terdapat pada limbah dan air yang telah terkontaminasi oleh limbah. Sehingga sering terjadi infeksi pada saat menelan makanan dan minuman yang telah terkontaminasi oleh air yang tidak melalui proses pematangan terlebih dahulu. Kebersihan personal juga sangat penting perannya dalam penyebaran infeksi yang terkait dengan bakteri *Escherichia coli*. Terdapat beberapa kasus penyakit infeksi yang berhubungan langsung dengan infeksi bakteri *Escherichia coli* yaitu ; septikema, diare, gastroenteritis dan meningitis neonates. Terdapat 70% kasus yang berkaitan dengan penyakit infeksi saluran

kemih (Wahyuningsih dkk., 2023).

Kingdom : Bacteria

Devisi : Proteobacteria

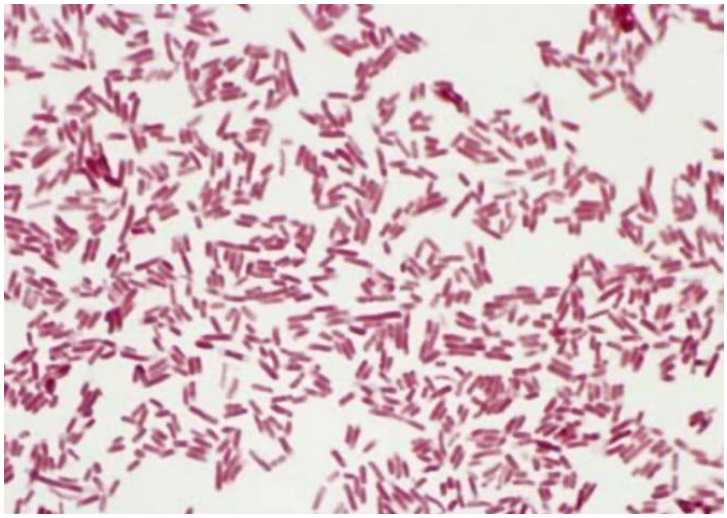
Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : *Enterobacteriales*

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli* (Wahyuningsih dkk., 2023).

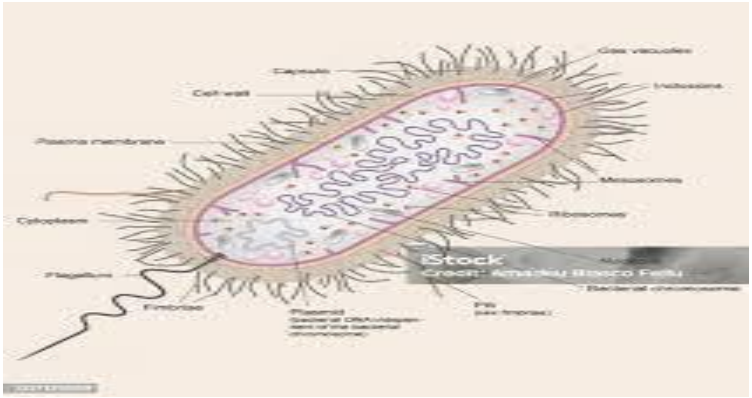


**Gambar 1.** Morfologi *Escherichia coli*
Sumber: (Wahyuningsih dkk., 2023)

Endotoxin dihasilkan oleh strain *Escherichia coli*, *enterotoxin* yang labil terhadap panas dan enterotoxin yang stabil terhadap suhu panas. Yang dapat menghasilkan toksin berasal dari *Escherichia coli* strain grup O. Faktor virulensi lain termasuk fimbriae dan vili yang dibantu dengan tambahan hemolisin, dan substansi seperti Shiga-toxin. Terdapat 2 antigen lain selain antigen O yaitu antigen H dan antigen K

yang diproduksi oleh group strain lain (Wahyuningsih dkk., 2023).

Fili yang terdapat pada *Escherichia coli* memiliki peran dalam faktor virulensi sebagai mediator untuk penempelan permukaan emitel manusia. Terdapat villi tipe 1 yang berfungsi sebagai pengikat sisa. D-mannosa yang umumnya terdapat pada permukaan epitel manusia dan hal ini bertindak sebagai pengikat dengan berbagai variasi tipe sel. Villi yang bertindak sebagai pengikat pada sel enterosit ditemukan diantara penyakit diare yang disebebkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Wahyuningsih dkk., 2023).




**Gambar 2.** Struktur dan Antigen Bakteri *Escherichia coli*
Sumber: (Wahyuningsih dkk., 2023)

**4. Penularan *Escherichia coli***

a. Makanan yang terkontaminasi

Penyakit yang disebabkan karena mengkonsumsi makanan atau minuman yang tercemar. *E.coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob gram negatif yang dapat berada dalam rongga mulut. Keberadaan *E. coli* dalam rongga mulut dapat disebabkan oleh benda-benda yang masuk ke dalam rongga mulut dan telah terkontaminasi feses (Siwi

& Mogea, 2022).

b. Sanitasi air yang buruk

Penularan *E.coli* dapat menyebabkan diare yang terjadi melalui air yang terkontaminasi kotoran manusia yang terinfeksi *E. coli* juga merupakan bakteri indikator yang berada di air karena keberadaannya dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme patogen lainnya (Siwi & Mogea, 2022).

c. Kontak dari orang ke orang

Bakteri *E.coli* dapat berpindah dari satu orang ke orang lain, terutama ketika orang dewasa dan anak-anak yang terinfeksi tidak mencuci tangan dengan benar. Penyebaran *E. coli* juga bisa melalui feses atau muntah dari orang yang terinfeksi. Lalu, selain dengan manusia, kontak dengan hewan yang membawa bakteri ini juga dapat menjadi media penularan.

**5. Patogenesis *Escherichia coli***

*E.coli* merupakan flora normal dalam usus besar manusia dan hewan. *E.coli* dapat menimbulkan gejala penyakit. Menurut (Setyaningrum dkk., 2024) Patogenesis *E.coli* dibedakan menjadi empat tipe, yaitu:

a. *Enteropathogenik E. coli* (EPEC)

Menyebabkan diare berair akut (*acute watery diarrhea*) pada anak-anak dan bayi. Sumber kontaminasi terhadap makanan, yaitu

penjamah makanan, pembuangan air limbah, dan lingkungan. Dosis infektif minimum EPEC yaitu 106.

b. *Enteroinvasisve E. coli* (EIEC)

Menyebabkan penyakit infasif, colitis atau gejala seperti disentri. Sumber kontaminasi terhadap makanan, yaitu penjamah makanan dan pembuangan air limbah.

c. *Enterotoksigenik E. coli* (ETEC)

Bakteri *E.coli* memproduksi suatu enterotoksin dalam usus halus dan menyebabkan penyakit seperti kolera atau enterotoksigenik pada manusia. Enterotoksigenik menyebabkan terjadinya diare pada bayi-bayi dan pada orang yang sedang mengadakan perjalanan (*traveler's diarrhoea*). Sumber kontaminasi terhadap makanan, yaitu penjamah makanan dan pembuangan air limbah. Dosis infektif minimum ETEC yaitu 106.

d. *Enterohaemorhagic E. coli* (EHEC)

Menyebabkan gejala diare yang disertai perdarahan. Sumber kontaminasi terhadap makanan, yaitu kotoran ternak, peralatan pengolahan daging, dan pabrik susu. Dosis infektif minimum EHEC yaitu 100.

e. *Enteroaggregatif E. coli* (EAEC)

Salah satu jenis *E.coli* terbanyak kedua yang menyebabkan *traveler's diarrhea* setelah ETEC. Anak berisiko tinggi terkena *traveler's diarrhea*, dan bisa menyebabkan diare berat. EAEC sering

menyebabkan diare persisten, dengan karakteristik diare cair, sering disertai lendir, dengan atau tanpa darah, nyeri perut, muntah, dan demam ringan (Jap & Widodo, 2021).

## C. Tinjauan umum *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

### 1. Definisi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)

*Enteropathogenic E. coli* (EPEC) merupakan salah satu strain yang sangat penting, karena merupakan agen etiologi bakteri dalam patologi yang didominasi oleh virus, sehingga mudah untuk diidentifikasi. Fakta bahwa strain-strain ini memiliki banyak perbedaan fenotip, bahwa mereka memiliki perbedaan, beberapa faktor virulensi (beberapa di antaranya termasuk dalam patotipe lain), dan mereka masih terus berkembang, menjadikan mereka kelompok bakteri (Mare, dkk ., 2021).

*Enteropathogenic E. coli* (EPEC) merupakan strain pertama yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare patogenik pada bayi dan anak-anak di beberapa negara bagian Eropa. Kelainan histopatologis oleh EPEC dikenal sebagai lesi *attaching* dan *effacing* (A/E), disebabkan oleh bakteri yang melekat secara kuat pada epitel usus dan rusaknya mikrovili enterosit. Protein intimin membantu proses pelekatan bakteri pada bagian luar membran sel dan protein ini dikode oleh gen eae. Gen eae saat ini digunakan dalam diagnosis molekular EPEC (Jap & Widodo, 2021).

EPEC merupakan patogen zoonosis utama yang menyebabkan diare di negara berkembang dan negara maju. Mikroorganisme ini dapat

menghasilkan BFP Tipe IV dan LEE yang diperlukan untuk pembentukan histopatologi usus khas yang disebut lesi AE (Lee, dkk, 2022).

EPEC salah satu patotipe bakteri *E.coli* yang menyebabkan diare persisten yang berlangsung selama 5-15 hari hingga beberapa minggu, dan paling sering terjadi pada anak-anak berusia kurang dari dua tahun. EPEC memiliki kemampuan untuk melekat secara spesifik pada epitel usus yang dapat menyebabkan infeksi subklinis hingga fatal dan dapat mengakibatkan malabsorpsi nutrisi (Irawan, dkk., 2024).

**2. Dampak EPEC pada kesehatan anak**

*Enteropathogenic E.coli* (EPEC) merupakan strain pertama yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare patogenik pada bayi dan anak-anak. Kelainan histopatologis oleh EPEC dikenal sebagai lesi *attaching* dan *effacing* (A/E), disebabkan oleh bakteri yang melekat secara kuat pada epitel usus dan rusaknya mikrovili enterosit. Protein intimin membantu proses pelekatan bakteri pada bagian luar membran sel dan protein ini dikode oleh gen eae. Gen eae saat ini digunakan dalam diagnosis molekular EPEC (Jap & Widodo, 2021).

*Enteropatogenik E.coli* EPEC menyebabkan diare berair akut, disertai demam, muntah, dan dehidrasi. Timbulnya penyakit ini cepat, dengan gejala muncul setelah beberapa jam setelah menelan bakteri. Infeksi EPEC lebih mungkin berkembang menjadi infeksi akut, tetapi kasus persisten yang berlangsung lebih dari dua minggu dengan

komplikasi terkait seperti dehidrasi dan malnutrisi juga dilaporkan. Dibandingkan dengan agen diare menular lainnya, *(rotavirus, adenovirus, Salmonella spp., Campylobacter spp.*), Infeksi EPEC lebih mungkin berkembang menjadi diare persisten, dan pasien sering memerlukan rawat inap (Mare, dkk., 2021).

**3. Faktor virulensi EPEC**

EPEC dapat menempel pada sel *line* dan kultur organ tiga dimensi secara *in vitro*, membentuk pola mikrokoloni yang disebut pola perlekatan terlokalisasi (LA). BFP (*Bacterial Filamentous Protein*) memediasi fenotipe LA dan berperan dalam antigenisitas, pembentukan biofilm, serta autoagregasi. Sebagai patogen non-invasif, EPEC menginduksi lesi dengan memperkenalkan protein efektor langsung ke dalam sel inang melalui sistem sekresi tipe tiga (T3SS). (Mare, dkk., 2021).

## D. Tinjauan umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

### 1. Definisi *Polymerase Chain Reaction*

Istilah asal usul pengetahuan PCR atau epistemologi PCR mengacu pada studi tentang bagaimana pengetahuan itu bertumbuh. Dalam epistemologi PCR ini, melibatkan pemahaman tentang bagaimana memperoleh pengetahuan tentang prinsip-prinsip, mekanisme, aplikasi, keterbatasan, dan implikasinya. PCR adalah teknik biologi molekuler yang banyak digunakan dan memungkinkan para ilmuwan untuk mengandakan atau mengamplifikasi segmen DNA tertentu yang

melibatkan aktifitas enzim DNA polymerase. Proses aktifitas enzim ini melibatkan serangkaian perubahan suhu untuk denaturasi, penempelan atau *annaelling*, dan memperpanjang untaian DNA. Amplifikasi menghasilkan jumlah secara eksponensial pada DNA target (Susilo dkk., 2024).

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu metode identifikasi molekuler yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi *genotype*. PCR berfungsi untuk memperbanyak fragmen DNA spesifik dengan cepat dalam jumlah ribuan hingga jutaan kali. Teknik ini memanfaatkan keberadaan enzim DNA *Polymerase* yang ditandai oleh primer untuk mengamplifikasi molekul DNA secara *in vitro* (Listiani *et al*., 2023)

PCR merupakan reaksi yang menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu, dengan cara mensintesis molekul DNA yang baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut. Untuk mendapatkan pita PCR yang tebal maka perlu dilakukan optimasi suhu annealing pada primer yang akan digunakan $T_m$ akan menjadi dasar dalam menentukan suhu annealing (Ta). Ta yang terlalu tinggi akan menyebabkan terlepasnya primer yang sudah menempel pada DNA cetakan sehingga produk PCR tidak akan terbentuk, sebaliknya Ta yang terlalu rendah akan menyebabkan terjadinya penempelan primer yang tidak spesifik pada DNA cetakan. Besarnya suhu *annealing* dapat ditentukan berdasarkan nilai $T_m$ dari primer yang akan digunakan (Aulia

dkk., 2021).

Teknik analisis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik yang paling umum digunakan di dunia. Teknik ini biasa digunakan untuk deteksi penyakit, komputasi DNA, diagnosis penyakit maupun analisis spesifik lainnya. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu metode *in vitro* untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sebagian kecil *template* kompleks. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5 dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida tersebut digunakan sebagai primer untuk memungkinkan DNA *template* dikopi oleh DNA *polymerase* (Susilo dkk., 2024).

Beberapa teknik molekuler yang dapat digunakan untuk mengetahui genotip suatu individu salah satunya adalah dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Analisis genetik dengan menggunakan metode PCR yang memanfaatkan cara replikasi DNA dengan bantuan primer yang mengapit daerah tertentu dan optimasi suhu dilakukan untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimal, sehingga dihasilkan produk PCR spesifik yaitu terbentuk pita DNA tebal. Untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimal secara umum dapat dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut (Aulia dkk., 2021).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA in vitro yang terdiri dari beberapa tahap berulang (siklus) dan jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. Ada beberapa tahap proses PCR yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (post- extension). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Siallagan *et al*., 2022).

Keberhasilan proses PCR salah satunya ditentukan oleh primer yang digunakan, oleh karenanya diperlukan kriteria tertentu yang harus dipenuhi untuk memperoleh desain primer terbaik. Primer merupakan molekul ligonukleotida untai tunggal yang terdiri dari sekitar 30 basa dan memiliki peran penting dalam proses PCR. (Siallagan *et al*., 2022).

**2. Prinsip *Polymerase Chain reaction* (PCR)**

Mekanisme amplifikasi PCR adalah sederhana tetapi elegan. Primer oligonukleotida mula-mula didesain agar berkomplemen dengan ujung-ujung dari sekuens yang akan diamplifikasi. Kemudian primer tersebut dengan jumlah yang berlebih dicampur dengan DNA template dan *deoxynucleoside triphosphate* (dNTP) dalam bufer yang sesuai. Setelah pemanasan untuk denaturasi untai awal dan pendinginan untuk memungkinkan primer annealing, selanjutnya oligonukleotida tersebut

masing-masing akan berikatan dengan untai yang berbeda dari dua untai fragmen DNA target. Primer-primer tersebut akan annealing pada posisi yang memungkinkan produk amplifikasi dari masing masing untai DNA akan overlap dengan dibatasi oleh sisi tempat annealing dari primer yang berlawanan (Kusnadi & Estri, 2020).

Prinsip kerja PCR didasarkan pada kemampuan enzim DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang merupakan komplementer dari DNA cetakan. Komponen utama reaksi PCR terdiri dari: template DNA atau DNA cetakan; primer yang didesain; enzim DNA polimerase; dan nukleotida (dNTP atau *deoxynucleoside triphosphate*) (Purwakasih & Achyar, 2021).

Proses pada PCR sangat dipengaruhi oleh suhu denaturasi, suhu penempelan primer, suhu pemanjangan, jumlah siklus yang digunakan, kemurnian DNA template dan konsentrasi dari komponen reaksi (primer, buffer, $MgCl_2$, enzim DNA polimerase, DNA template, $H_2O$ dan nukleotida (Listiani dkk., 2023).

**3. Jenis *Polymerase Chain reaction* (PCR)**

Menurut (Yanuhar & Nico. 2023) jenis-jenis PCR yang berkembang pesat saat ini sebagai berikut :

a. PCR standar, merupakan teknik dasar dalam PCR dan hasil dari produk PCR dapat dipakai untuk analisis lebih lanjut seperti *sequencing*, *cloning*, dan merestriksi enzim.
b. *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS) PCR,

merupakan aplikasi dari PCR dengan menggunakan bahan primer spesifik. PCR jenis ini sering digunakan dalam mengidentifikasi titik mutasi atau kelainan gen.

c. GAP PCR (*Gap-Polymerase Chain Reaction*), sering digunakan dalam menganalisis mutasi delesi yang terjadi pada gen cluster (b-globin), tetapi juga bisa dideteksi menggunakan PCR standar dengan bahan sepasang primer komplemen pada untai DNA yang mengalami delesi pada area dalam. Teknik PCR ini sering digunakan untuk mendeteksi alfa talassemia, yakni delesi yang mempunyai ukuran besar.
d. RFLP-PCR (*Restricton Fragment Length Polymophism*-PCR), merupakan metode yang sering digunakan dalam melakukan pemotongan enzim restriksi. Pada alel homozigot yang telah memiliki cara pemotongan, yakni melalui proses PCR yang dipotong dengan jenis enzim restriksi. Pada alel hetero, dapat diamati dengan melihat kombinasi antarpita yang sudah terpotong dan yang tidak mengalami pemotongan.
e. Kuantitatif-PCR, merupakan teknik yang digunakan dalam menghitung jumlah produk spesifik hasil dari proses PCR atau lebih dikenal dengan nama *Real-time* PCR. RT PCR berbeda dengan *Reverse Transcription* (RT) PCR. *Reverse Transcription* PCR merupakan rancangan desain untuk mengamplifikasi DNA dari RNA. Jumlah atau kuantitas amplifikasi DNA dari RNA dapat

dilakukan dengan menggunakan RT-PCR.

f. *Multiplex tandem PCR*, merupakan teknik agar dapat mendeteksi banyak target dengan menggunakan satu sampel. *Multiplex tandem PCR*, dapat menganalisis satu sampel dengan menggunakan banyak primer spesifik dan prosesnya dapat berjalan dalam satu waktu yang bersamaan.

**4. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

Menurut (Refai & Octariyana, 2024) tahapan dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat, yaitu:

a. Denaturasi

Tahap pemisahan, Peleburan, pelelehan, atau denaturasi. Pada tahap ini, ikatan hydrogen DNA terputus (denaturasi) dan DNA menjadi unting tunggal. Tahap ini berlangsung pada suhu tinggi, yaitu 94- 96$^{o}$C. Biasanya, pada tahap awal PCR, tahap ini dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua unting DNA terpisah. Pemisahan ini menyebabkan DNA tidak stabil dan siap menjadi templat bagi primer.

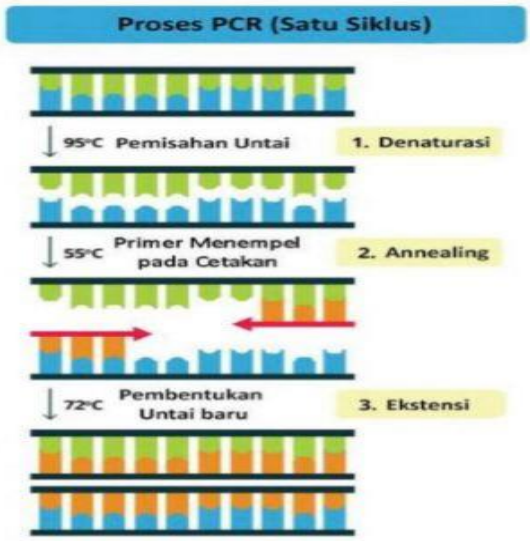
b. Annealing (Penempelan Primer)

Tahap penempelan merupakan kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18-25 basa, mengandung 50-60% G+C dan untuk kedua

primer tersebut sebaiknya sama. DNA dalam msing-masing primer itu sendiri juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu annealing yang bisa digunakan dalam PCR adalah 30-45 detik. Semakin Panjang ukuran primer, semakin tinggi temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah 50°-60°C.

c. Extention (Pemanjangan Primer)

Selama tahap pemanjangan ini *Taq Polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72° diperkirakan 35-100 nukleotida per detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi faram dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer ini. Biasanya diakhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit, sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda.




**Gambar 3.** Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)
Sumber: (Refai & Octariyana, 2024)

**5. Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

Menurut (Kusnadi dkk., 2022) diperlukan beberapa komponen utama untuk melakukan proses PCR Komponen-komponen tersebut adalah templat DNA, sepasang primer, *Deoxynuclotide triphospate* (dNTPs), larutan bufer PCR dan magnesiom klorida ($MgCl_2$), serta enzim polimerase DNA.

a. Template DNA (*DNA Template*)

Template DNA berupa molekul DNA untai ganda yang di dalamnya terdapat sekuen yang ingin diperbanyak. Keberhasilan proses PCR tergantung pada kesesuaian antara sekuen target dan primer yang digunakan. Dengan demikian, template DNA harus mengandung sekuen target spesifik yang komplementer dengan primer yang digunakan. Selain itu, konsentrasi dari templat DNA

juga memengaruhi keberhasilan proses PCR. Konsentrasi yang terlalu rendah dapat menyebabkan primer tidak dapat mengenali target secara spesifik, sebaliknya apabila konsentrasi templat DNA yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya penempelan primer pada daerah yang tidak ditargetkan, yang disebut dengan *mispriming*.

Teknik PCR memerlukan templat DNA dengan kemurnian dan konsentrasi yang tinggi. Salah satu penentu tingkat konsentrasi dan kemurnian DNA adalah metode isolasi DNA. Dengan demikian, pemilihan metode isolasi DNA yang sesuai untuk sampel DNA tertentu menjadi sangat penting. Adanya perbedaan kandungan kontaminan dan DNA nontarget menyebabkan perbedaan pada metode isolasi DNA pada organisme. Oleh karena itu, pemilihan metode isolasi yang tepat sangat berperan penting untuk keberhasilan teknik PCR. Kriteria dasar yang harus dipenuhi oleh metode isolasi DNA dari jenis sampel apa pun meliputi: (1) ekstraksi DNA yang efisien dari sampel, (2) produksi DNA dalam jumlah yang cukup untuk digunakan dalam proses selanjutnya, (3) kemampuan menghilangkan kontaminan, (4) dapat mengisolasi DNA yang mempunyai kualitas dan kemurnian yang tinggi.

b. Primer

Primer adalah sekuen oligonukleotida berukuran sekitar 10-20 nuklotida yang didesain komplementer dengan templat DNA yang berfungsi untuk menentukan batas sekuen DNA yang akan diamplifikasi. Pembuatan primer dilakukan dengan menggunakan alat yang dinamakan DNA *synthesizer*. Teknik PCR menggunakan sepasang primer yang disebut primer forward dan primer *reverse*.

Primer dapat mempengaruhi spesifisitas dan sensitivitas reaksi PCR. Dengan demikian salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dari proses PCR adalah desain primer. Fungsi primer adalah menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses pemanjangan DNA, selain itu berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi.

c. *Deoxynucleotide triphospate* (dNTP)

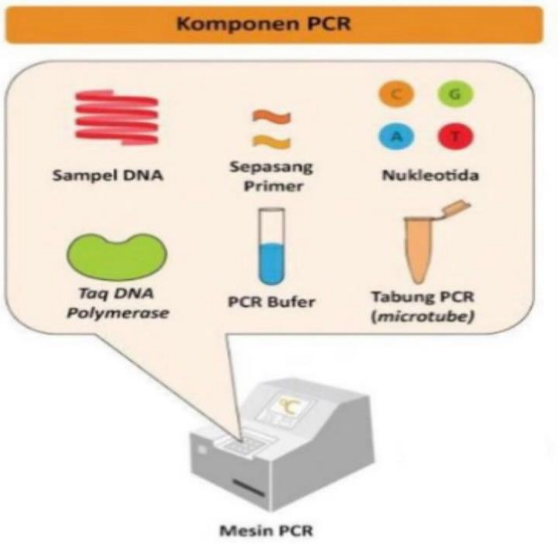
Kepanjangan dari dNTP adalah *Deoxynucleotide triphospate*. dNTP terdiri dari dATP, DCTP, dGTP, dTTP yang merupakan material utama berfungsi sebagai penyusun (*building block*) selama proses sintesis DNA. Konsentrasi dari setiap dNTP harus seimbang untuk menghindari adanya kesalahan sintesis. Konsentrasi dNTP yang optimal untuk memberikan spesifisitas, ketepatan dan hasil PCR yang baik berkisar antara 20-200 μM.

d. Larutan bufer PCR dan Magnesium klorida ($MgCl_2$)

Pada umumnya, larutan bufer PCR mengandung deterjen dengan konsentrasi tertentu seperti Tween-20 0,01% atau Triton X-100, 0,1%, selain itu juga Tris-HCl 10-50 mM pH 8,3-8,8 (suhu 20°C), BSA (*Bovine Serum Albumin*) 0,1%, KCI 50 Mm dan $MgCl_2$ 1,5 mM. Fungsi larutan bufer adalah untuk menjaga pH agar sesuai dengan kebutuhan reaksi. Ion $Mg^{2+}$ berperan sebagai kofaktor enzim Taq polimerase dan yang juga memengaruhi proses denaturasi DNA, penempelan primer, spesifisitas produk dan pembentukan primer dimer.

e. Enzim DNA polimerase

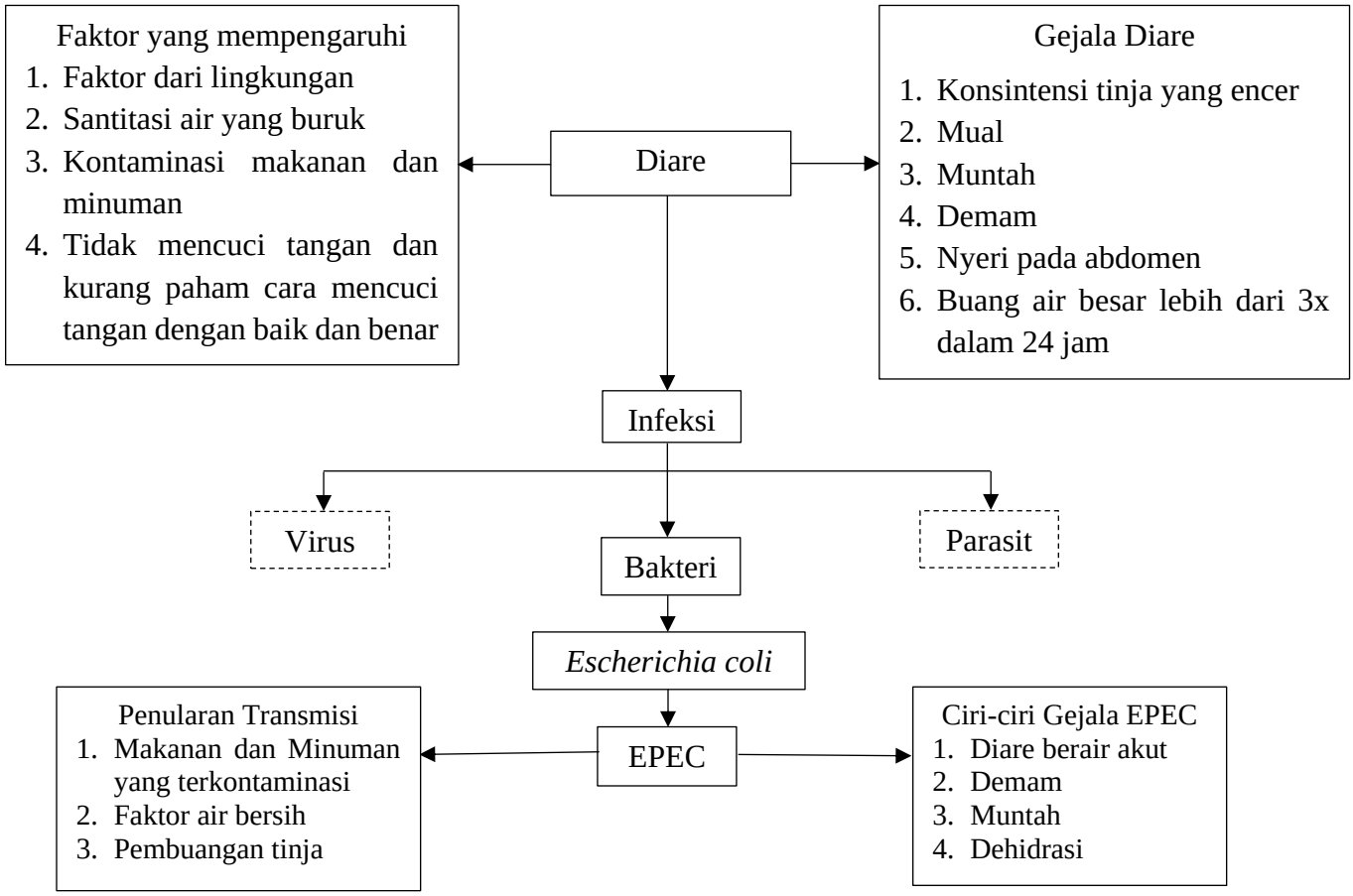
Enzim DNA polimerase berperan dalam mengatalisis reaksi polimerisasi atau sintesis rantai DNA. Selama proses PCR, suhu yang digunakan sangat tinggi sampai 95°C, sehingga diperlukan jenis enzim yang termostabil (tahan panas). Enzim Taq polimerase (Taq adalah singkatan dari *Thermus aquaticus*, bakteri yang menghasilkannya) merupakan jenis enzim yang banyak digunakan untuk proses PCR. Enzim ini tahan terhadap pemanasan berulang dan berperan dalam melepaskan ikatan hidrogen dan melinierkan struktur sekunder dari DNA sehingga memungkinkan terjadinya sintesis untai DNA baru.




**Gambar 4.** Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)
Sumber: (Refai & Octariyana, 2024)

Pengembangan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) memungkinkan penggandaan untai DNA dalam jumlah besar dilakukan dengan mudah dan efisien. Teknik ini memungkinkan sekuens DNA yang ditargetkan disalin dan atau dimodifikasi secara spesifik. Reaksi ini berpotensi mengamplifikasi satu molekul DNA menjadi lebih dari 1 miliar molekul dalam waktu kurang dari 2 jam (Kusnadi & Estri Laras, 2020).

## E. Kerangka Teori



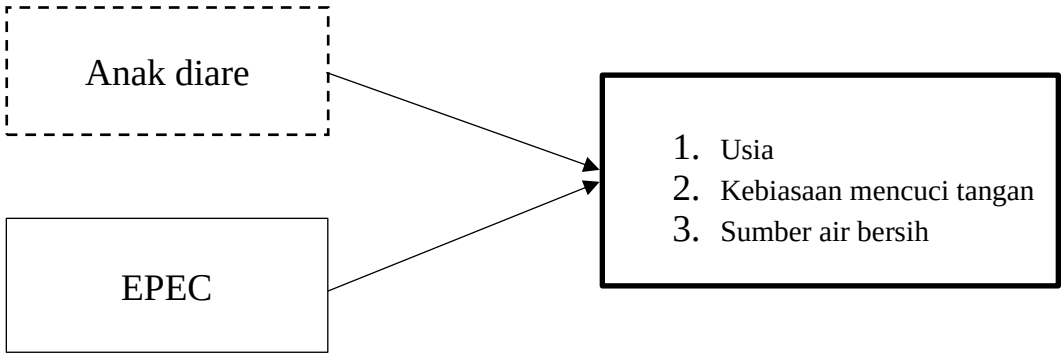

**Gambar 5.** Kerangka Teori

Keterangan:

: Diteliti

: Tidak diteliti

## F. Kerangka Konsep




**Gambar 6.** Kerangka Konsep

Keterangan:

: Variabel Independen

: Variabel Dependen

: Variabel Perancu

## G. Relevansi Penelitian Sebelumnya

Dalam penelitian sebelumnya yang dilakukan (Setianingsih *et al*., 2019) dengan judul "Deteksi *Darrhoegenic E.coli* pada Sampel Feses Penderita Diare di Puskesmas Batulicin dan Pagatan Kabupaten Tanah Bumbu dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)". Pada penelitian ini penulis melakukan pengujian pada sampel feses diare umtuk mengetahui keberadaan *Diarrhoegenic E. coli*, dimana pada kasus diare ini salah satu penyebab penyakit diare. Penelitian ini bertujuan mendeteksi DEC pada sampel feses penderita diare di wilayah kerja Puskesmas Batulicin dan

Pagatan dengan pemeriksaan PCR. Hasil yang didapatkan pada penelitian tersebut terdapat pita pada satu sampel di P5 positif EPEC 326 bp. Desain penelitian *Cross Sectional* dengan jumlah sampel feses sebanyak 15, dikumpulkan selama 3 bulan. Perbedaan antara peneliti terdahulu dan yang akan di teliti adalah lokasi, gen target dan usia.

## H. Definisi Operasional

1. Diare merupakan penyakit yang berhubungan dengan lingkungan sekitar, sanitasi air yang buruk dan terjadi akibat infeksi dari bakteri, virus, parasit maupun jamur.
2. *Escherichia coli* salah satu bakteri flora normal yang hidup pada sistem pencernaan manusia khususnya pada usus besar.
3. *Entheropathogenic Escherichia coli* (EPEC) merupakan patogen penyebab diare. EPEC adalah salah satu penyebab diare pada bayi, balita dan anak-anak di negara berkembang. EPEC biasanya dapat ditularkan melalui kontaminasi makanan, sanitasi air yang buruk dan lingkungan yang kurang bersih.
4. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan salah satu metode yang ada pada bidang molekuler dan metode yang digunakan pada penelitian ini yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan material genetik dari suatu bakteri dan virus.

# BAB III
# METODE PENELITIAN

## A. Jenis Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif laboratorium dengan pendekatan oservasional laboratorik. Pada penelitian akan mendeteksi *Enteropathogenic Escherichia coli* pada anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

## B. Lokasi dan Penelitian

### 1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Antang Kota Makassar & TPA Antang Kota Makassar dan pemeriksaan pPCR metode PCR akan dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research center* (HUMRC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar

### 2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Juli 2025

## C. Populasi dan Sampel

### 1. Populasi

Populasi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Balita & anak-anak yang menderita diare di Kota Makassar

### 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel feses yang diambil dari anak-anak penderita diare sebanyak 15 sampel yang diambil sesuai dengan kriteria inklusi.

**a. Kriteria inklusi**

1) Anak berusia 2-10 tahun
2) Frekuensi BAB 1-3x dalam 24 jam
3) Mengalami demam selama 1-3 hari dan nyeri pada perut
4) Tanda-tanda dehidrasi (bibir kering dan lemas)
5) Konsistensi feses cair & berlendir

**b. Kriteria ekslusi**

Sudah mengkonsumsi obat antibiotik >3 hari

## D. Teknik Pengambilan Sampel

Pada teknik pengambilan sampel yang dilakukan, yaitu dengan teknik "*Accidental Sampling*". Dimana teknik ini merupakan metode pengambilan sampel yang dilakukan berdasarkan ketersediaan atau kesempatan pada sampel, tanpa mempertimbangkan representifitas atau karaktirestik populasi.

## E. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Mikropipet (Biorad), neraca (Kern 440-47N), vortex (Genie 2) , *spin down* , rak tabung, gelas ukur, sendok tabung, microwave (Electrolux) dari Cina, centrifuge (Biofuge) dari Jerman, cetakan gel elektroforesis, sisir cetakan, chamber elektroforesis incubator (Heidolph Titramax 10000) , mesin elektroforesis (Bio- Rad), Geldoc, mesin PCR, *waterbath*

**2. Bahan**

Adapun bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, yaitu: sampel feses diare, kit ektraksi (*geneid*), bubuk agarosa 2%, *buffer* TBE, DNA *Ladder*/ Marker (324 bp), *Ethidium Bromide*, pot sampel, handscoon, *Stool gDNA Kit (Geneaid), Nuclease free water (NFW), Enzim Redmix, tabung eppendorf,* primer EPEC gen *bfpA* Primer (*Forward* 5'-AAT GGT GCT TGC GCT TGC TGC-3'), Primer (*Reverse* 5'- GCC GCT TTA TCC AAC CTG GTA-3') (NCBI.,2025)

**F. Prosedur Kerja Penelitian**

**1. Pengambilan sampel feses**

Sebelum melakukan pengambilan sampel wajib dilakukan persiapan terlebih dahulu. Yaitu, melakukan perizinan atau mengajukan data awal pada rumah sakit dan puskesmas, kemudian lakukan sosialisasi atau memberikan lembar informasi dan lembar kueisioner kepada responden, setelah mendapatkan persetujuan dari responden dan calon peneliti mendapatkan sampel sesuai dengan kriteria sampel, calon peneliti kemudian mempersiapkan peralatan yang steril dan lengkap kepada responden seperti, wadah atau pot sampel, spatula, *handscoon*, masker, disinfektan, kemudian setelah selesai berikan label pada pot sampel berisi (nama, usia, jenis kelamin, alamat), kemudian di lakukanan pengambilan sampel, dan memasukan sampel kedalam pot sampel setelah itu dimasukkan ke dalam *cool box*, lalu dibawa sampel ke laboratorium HUM-RC dan disimpan pada *freezer* dengan suhu -22℃.

**2. Pemeriksaan Molekuler**

**a. Tahapan Ekstraksi**

Tahapan pertama yakni menggunakan metode Spin column dalam proses ini adalah menimbang sampel feses sebanyak 0,25 gram, kemudian memasukkannya ke dalam tabung bead-beating. Tambahkan 800 µl Buffer ST1, lalu vortex selama 10 detik pada kecepatan maksimum. Setelah itu, inkubasi dalam waterbath pada suhu 70 °C selama 5 menit.Sampel kemudian divortex kembali selama 10 menit pada suhu ruang, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 2 menit. Ambil supernatan sebanyak 500 µl dan pindahkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi 1,5 ml yang bersih.

Tahapan kedua yaitu di tambahkan 150 µl Buffer ST2 ke dalam sampel, lalu vortex selama 5 detik. Inkubasi dalam waterbath pada suhu 0–4 °C selama 5 menit. Setelah itu, sentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 2 menit.Masukkan GD collumn (dengan cincin ungu) ke dalam tabung sentrifugasi 2 ml, lalu pindahkan 500 µl supernatan bening ke dalam kolom tersebut. Sentrifugasi kembali pada kecepatan 8.000 rpm selama 2 menit. Supernatan hasil elusi kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi 1,5 ml yang bersih.

Tahapan ketiga di tambahkan 800 µl Buffer ST3 ke dalam supernatan, lalu vortex selama 5 detik. Siapkan GD collumn (dengan cincin hijau) dalam tabung sentrifugasi 2 ml, lalu tambahkan 700 µl

campuran sampel ke dalam kolom. Sentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 2 menit. Setelah itu, ganti tabung koleksi dengan yang baru. Pindahkan sisa campuran sampel ke dalam GD collumn dan ulangi sentrifugasi pada kecepatan yang sama selama 2 menit. Ganti kembali tabung collection

Tahapan keempat di tambahkan 400 µl Buffer ST3 ke dalam GD collumn, lalu sentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 30 detik pada suhu ruang. Ganti tabung koleksi. Selanjutnya, tambahkan 600 µl Wash Buffer ke dalam kolom dan sentrifugasi kembali selama 30 detik. Ulangi langkah ini sekali lagi dengan volume dan kecepatan yang sama, dan setiap kali ganti tabung koleksi yang baru. Terakhir, sentrifugasi kolom kosong selama 3 menit pada 8.000 rpm untuk memastikan kolom benar-benar kering.

Tahapan kelima yakni, tahapan *Elution* dimana GD collumn dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi 1,5 ml yang baru. Tambahkan 100 µl Buffer Elusi yang telah dipanaskan sebelumnya ke bagian tengah matriks kolom. Diamkan selama 2 menit agar larutan terserap sempurna. Kemudian, sentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 2 menit pada suhu ruang untuk mengelusi DNA yang telah dimurnikan. Hasil ekstraksi siap digunakan, dan DNA disarankan disimpan pada suhu -20 °C untuk menjaga kestabilannya.

**b. Amplifikasi DNA Dengan PCR**

Tahapan awal yaitu disiapkan tube *mikrosentrifuge* kemudian dibuatnya PCR mix dengan cara dimasukkan enzim *taq polymerase* 6,25 µL, primer *forward* 0,5 µL, primer *reverse* 0,5 µL, *nuclease free water* 2,75 µL,. Setelah disiapkan, sampel ekstraksi DNA hingga volume mencapai 15 µL, tutup rapat, putar hingga homogen, lalu masukkan ke dalam mesin PCR selama satu menit. Kemudian, masukkan ke dalam instrumen PCR MiniAmp. Hingga 40 siklus langkah PCR ini dilakukan, dengan setiap siklus meliputi denaturasi selama lima menit pada suhu 94°C, *annealing* selama tiga puluh detik pada suhu 48°C, dan ekstensi selama tiga puluh detik pada suhu 72°C. Ekstensi terakhir kemudian dilakukan selama lima menit pada suhu 72°C. Hasil dari PCR selanjutnya akan dibaca pada tahap selanjutnya yakni elektroforesis akan disosialisasikan pada alat *Gel Doc*.

**c. Elektroforesis**

Tahap elektroforesis dilakukan setelah proses PCR selesai. Pembuatan gel agarosa 2% merupakan tahap pertama. Caranya adalah menimbang 2 gram bubuk agarosa dan melarutkannya dalam 100 ml buffer TBE. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan microwave pada suhu 45°C selama 2 menit. Setelah itu, tambahkan 7 µl etidium bromida sebagai pewarna DNA dan homogenkan kembali. Selanjutnya diatur keseimbangan meja cetakan agarose dan dipasang sisir elektroforesis pada cetakan kemudian

larutan gel agarosa dituang kedalam cetakan kemudian didiamkan hingga padat. Jika sudah padat, tarik sisir dari cetakan dengan hati-hati, dimasukkan gel agarose kedalam tank elektroforesis yang telah diisi dengan larutan buffer 0,5 TBE yang berfungsi sebagai penjaga keseimbangan ion H dan ion OH yang dihasilkan oleh elektroda, sebanyak 10 µl sampel DNA dan 10 µl marker berfungsi sebagai penanda atau penggaris untuk melihat posisi DNA berdasarkan ukuran dimasukkan kedalam sumur agarose, untuk memulai pemeriksaan hubungkan kabel hitam (-) dan merah (+) dari sumber arus listrik ke tangki elektroforesis, kemudian atur voltase dan waktu running pada 50 V selama 60 menit kemudian tekan tombol RUN. Letakkan gel agarose pada gel doc diatas sinar UV transminator dan dinyalakan gal doc, diamati pita-pita DNA yang tervisualisasi.

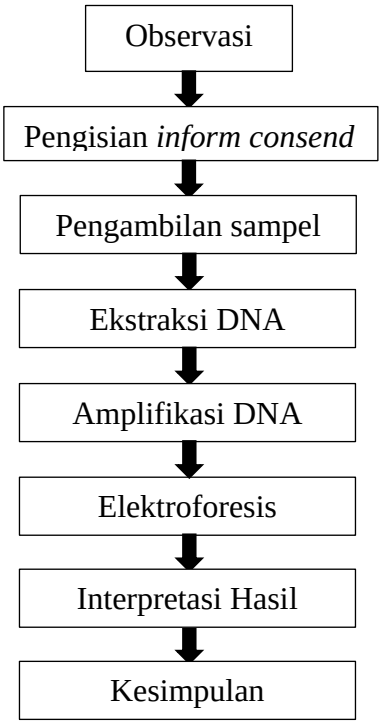
## G. Interpretasi Hasil

Data yang disajikan dalam penelitian ini akan diolah secara deskriptif, disajikan dalam bentuk tabel, didistribusikan, dan disertai dengan narasi penjelasan. Hasil penelitian dapat dikatakan positif terdapat subtipe *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) apabila saat visualisasi menggunakan gel Doc terdapat pita DNA berkuran 324 bp dan jika tidak terdapat pita DNA pada ukuran 324 bp maka sampel dinyatakan negatif tidak terdapat subtipe *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC).

## H. Analisis Data

Analisis data yang digunakan merupakan data primer yang diperoleh nominal atau bersifat kualitatif yang kemudian dianlisis secara deskriptif.

## I. Alur Penelitian




**Gambar 7.** Alur Penelitian

## J. Etika Penelitian

1. *Informed consent* (Persetujuan menjadi responden), dimana subjek harus mendapatkan informasi lengkap tentang tujuan penelitian yang akan dilaksanakan, mempunyai hak untuk bebas berpartisipasi atau menolak menjadi responden.
2. *Anonymity* (tanpa nama) subjek mempunyai hak agar data yang diberikan dirahasiakan. Kerahasiaan responden dijamin dengan menghambat identitas dari responden atau tanpa nama.

3. *Confindentiality* (Kerahasiaan) yaitu menjaga semua kerahasiaan dan informasi yang didapat dari subjek penelitian. Kelompok data yang dibutuhkan akan dicantumkan dalam hasil penelitian. Data yang dicantumkan berupa data yang menunjang hasil penelitian. Semua data dan informas yang telah terkumpul dijamin kerahasiaannya.

# BAB IV
# HASIL DAN PEMBAHASAN

## A. Hasil Penelitian

Dalam penelitian ini, sebanyak 15 sampel yang memenuhi kriteria inklusi telah dianalisis. Sampel tersebut diperoleh dari pasien yang didiagnosis mengalami diare, dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan menggunakan metode PCR guna mendeteksi keberadaan bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC). Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan di Laboratorium HUM-RC (*Hasanuddin University Medical Research Center*), diperoleh hasil sebagai berikut:

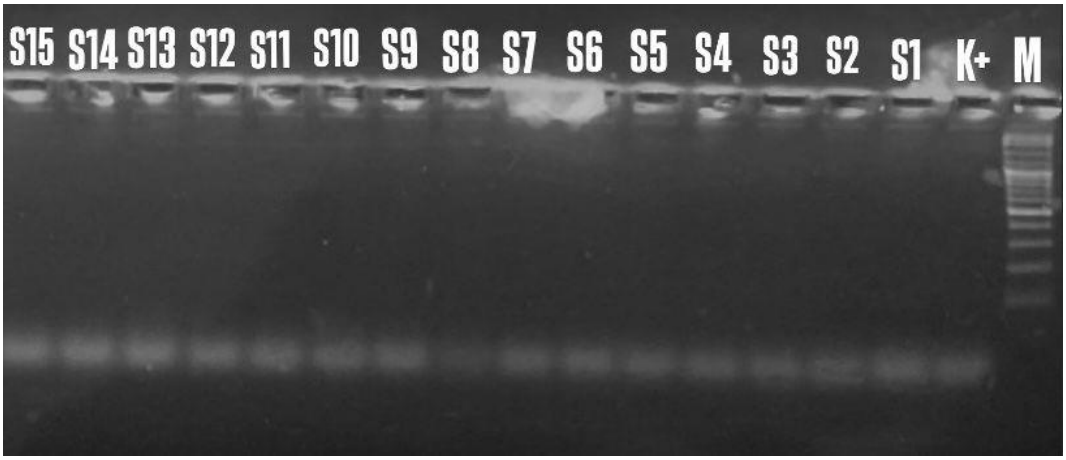
1. Tabel Karaktirestik Responden

| Karaktirestik | Jumlah Responden | Presentase |
|---|---|---|
| **1. Usia** | | |
| 2-5 tahun | 7 | 47% |
| 6-10 tahun | 8 | 53% |
| Total | 15 | 100% |
| **2. Jenis kelamin** | | |
| Laki-laki | 10 | 67% |
| Perempuan | 5 | 33% |
| Total | 15 | 100% |
| **3. Lama menderita Diare** | | |
| 1-3 hari | 12 | 80% |
| > 3 hari | 3 | 20% |
| Total | 15 | 100% |
| **4. Kosistensi Feses** | | |
| Cair | 10 | 67% |
| Berlendir | 2 | 13% |
| Padat | 3 | 20% |
| Total | 15 | 100% |
| **5. Tanda-tanda dehidrasi** | | |
| Tidak dehidrasi | 15 | 100% |
| Dehidrasi | - | 0% |
| Total | 15 | 100% |

Sumber Data Primer, 2025

Berdasarkan data karakteristik responden yang ditampilkan dalam Tabel karaktirestik responden diketahui bahwa dari total 15 responden penderita diare, sebagian besar berada dalam rentang usia 6–10 tahun sebanyak 8 orang (53%), sedangkan sisanya berusia 2–5 tahun sebanyak 7 orang (47%). Berdasarkan jenis kelamin, mayoritas responden berjenis kelamin laki-laki sebanyak 10 orang (67%), dan perempuan sebanyak 5 orang (33%). Dalam hal lama menderita diare, sebagian besar responden mengalami diare selama 1–3 hari, yaitu sebanyak 12 orang (80%), sementara hanya 3 orang (20%) yang mengalami diare lebih dari 3 hari. Adapun berdasarkan karakteristik konsistensi feses, sebagian besar responden menunjukkan konsistensi feses cair sebanyak 10 orang (67%), 3 orang (20%) memiliki feses padat, dan sisanya 2 orang (13%) menunjukkan adanya lendir dalam feses. Dengan demikian, data ini memberikan gambaran umum mengenai profil penderita diare yang menjadi responden dalam penelitian ini, baik dari segi usia, jenis kelamin, lama diare, maupun konsistensi feses.

2. Deteksi gen EPEC dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR)




**Gambar 8. Hasil elektroforesis gen EPEC. Ket: M = Marker, 01-15 = kode sampel, K+ = kontrol positif, 324 bp = target band EPEC**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 15 sampel feses diare dari anak-anak penderita diare, pemeriksaan dilakukan menggunakan metode PCR untuk mendeteksi keberadaan Strain EPEC dari bakteri *Escherichia coli*. Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh sampel, yaitu sampel nomor 1-15, memberikan hasil negatif. Hal ini dibuktikan dengan tidak munculnya pita DNA pada ukuran fragmen 324 bp saat diamati melalui elektroforesis gel agarosa yang divisualisasikan di bawah sinar ultraviolet (UV). Tidak terbentuknya pita DNA tersebut menandakan bahwa Strain EPEC gen *bfpA* tidak terdeteksi pada semua sampel yang diperiksa. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tidak ada infeksi bakteri EPEC yang terdeteksi melalui gen target *bfpA* pada sampel-sampel tersebut.

## B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan selama bulan Juli 2025 di *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Kota Makassar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 15 sampel penderita diare yang berada di RS Puskesmas Antang & TPA Antang yang telah memenuhi kriteria inklusi yang telah ditentukan. Sampel tersebut akan digunakan untuk mendeteksi keberadaan *Enteropatogenik Escherichia coli* (EPEC) dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya bakteri EPEC *Enteropatogenik Esherichia coli* pada anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Adapun subjek penelitian ini adalah anak-anak penderita diare yang memenuhi kriteria, yaitu berusia 2-10 tahun, mengalami diare sebanyak 1-3x dalam 24 jam dan mengalami diare yang konsistensi feses tidak normal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan beberapa penelitian oleh (Jap & Widodo, 2022) dan Dewi dkk. (2024), diare yang disebabkan oleh bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) ditandai dengan onset akut serta konsistensi feses yang berair dan disertai lendir, namun biasanya tidak berdarah. EPEC merupakan salah satu patogen utama penyebab diare pada bayi dan anak-anak, terutama di negara berkembang. Mekanisme patogenesitas EPEC melibatkan kemampuan bakteri ini untuk menempel erat pada mukosa usus halus dan merusak mikrovili, sehingga mengganggu proses absorpsi cairan. Gejala diare akibat EPEC umumnya bersifat akut dan dapat sembuh dalam

beberapa hari, tetapi dalam kasus tertentu, terutama pada anak dengan status gizi buruk atau imunitas rendah. Selain diare, gejala penyerta dapat mencakup demam ringan, muntah, dan kehilangan nafsu makan, yang secara keseluruhan dapat berkontribusi terhadap dehidrasi dan gangguan tumbuh kembang anak.

Dalam pengumpulan sampel yang dilakukukan dengan mengambil sampel feses pasien diare yang telah memenuhi beberapa kriteria yang memenuhi persyaratan penelitian untuk dimasukkan dalam sampel, selanjutnya sampel tersebut disimpan pada freezer dengan suhu -20°c.

Berdasarkan tabel data tentang karaktirestik responden menurut usia yang disajikan pada diketahui bahwa jumlah responden penderita diare berusi 2-5 tahun sebanyak 7 orang (47%), sementara responden berusia 6-10 tahun berjumlah 8 orang (53%). Total keseluruhan responden dalam penelitian ini adalah 15 orang. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fakrurrozi dan I Made (2021), hasil analisis data menunjukkan bahwa dari total 79 balita yang diteliti, proporsi kejadian diare paling banyak terjadi pada kelompok usia 12–36 bulan, yaitu sebanyak 43 kasus (54,43%). Selain itu, kejadian diare juga banyak ditemukan pada balita dengan rentang usia 3–5 tahun, yakni sebesar 45,8%. Kelompok usia yang paling banyak menderita diare adalah balita berusia 17–26 bulan.

Sedangkan menurut penelitian dari (Mare, dkk, 2021) *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) merupakan salah satu patogen yang dapat menyebabkan diare akut maupun persisten, terutama pada anak-

anak di bawah usia dua tahun. Jika dibandingkan dengan agen penyebab diare infeksius lainnya, seperti *Rotavirus, Adenovirus, Salmonella* spp., dan *Campylobacter* spp., EPEC tetap menjadi salah satu penyebab utama diare dengan dampak klinis yang signifikan, khususnya pada kelompok usia rentan.

Hal ini menunjukkan bahwa balita dalam rentang usia tersebut lebih rentan terkena diare. Salah satu penyebab utama adalah karena pada usia ini balita sudah mulai mengonsumsi makanan tambahan selain ASI, sehingga meningkatkan risiko terpapar makanan yang telah terkontaminasi.

Selain itu, balita usia 12–59 bulan umumnya sudah mulai aktif bergerak, belajar berjalan, dan bermain di lingkungan sekitar. Aktivitas ini sering dilakukan tanpa pengawasan penuh dari orang tua, yang menyebabkan mereka lebih mudah terpapar oleh lingkungan yang tidak higienis dan agen infeksi penyebab diare. Oleh karena itu, penting bagi orang tua untuk memperhatikan kebersihan makanan serta lingkungan tempat anak bermain guna mencegah kontaminasi dari bakteri penyebab diare.

Berdasarkan data karakteristik responden menurut jenis kelamin yang ditampilkan, jumlah responden penderita diare berjenis kelamin Laki-laki sebanyak 10 orang (67%), sedangkan responden berjenis kelamin Perempuan berjumlah 5 orang (33%). Total keseluruhan responden dalam penelitian ini adalah 15 orang. Menurut penelitian (Fakrurrozi dan Made, 2021). Hasil analisis data menunjukkan bahwa dari jumlah 79 balita,

proporsi kejadian diare lebih banyak terdapat pada balita laki-laki, yaitu sebanyak 48 anak (60,76%). Penelitian yang dilakukan juga menunjukkan bahwa kejadian diare tertinggi terjadi pada balita laki-laki, yaitu sebesar 59,5%. Tingginya angka kejadian diare pada balita laki-laki kemungkinan disebabkan oleh tingkat aktivitas fisik yang lebih tinggi dibandingkan balita perempuan. Anak laki-laki umumnya lebih aktif bergerak, sehingga lebih sering terpapar lingkungan yang kurang bersih dan berisiko terkena agen penyebab diare. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Vernanda, dkk (2015) bertolak belakang, yakni mendapatkan hasil bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dengan kejadian diare pada balita. Beberapa penelitian lainnya mencantumkan bahwa walau terdapat beberapa perbedaan angka diare pada balita laki-laki maupun perempuan, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan sehingga dapat disimpulkan jenis kelamin tidak mempengaruhi kejadian diare.

Berdasarkan data karakteristik responden terkait lama menderita diare yang ditampilkan pada tabel karakterisitik diketahui bahwa sebanyak 12 responden (80%) mengalami diare selama 1-3 hari. Sementara itu, sebanyak 3 responden (20%) mengalami diare lebih dari 3 hari. Secara keseluruhan, jumlah total responden adalah 15 orang. Menurut penelitian yang dilakukan (Kralicek, dkk, 2022) yang menyatakan bahwa Infeksi EPEC umumnya menyebabkan diare akut ringan yang berlangsung 6–13 hari. Namun, pada beberapa kasus dapat terjadi diare berat (hingga 10–40 kali buang air besar per hari) atau diare persisten/kronis. Individu yang

positif EPEC memiliki kemungkinan 3,8 kali lebih besar untuk mengalami diare, serta 2 kali lebih besar untuk mengalami muntah, nyeri perut, atau demam dibandingkan dengan individu yang negatif EPEC.

Berdasarkan data karakteristik konsistensi Feses yang ditampilkan, diketahui bahwa sebanyak 10 sampel (67%) memiliki konsistensi cair dan sebanyak 2 sampel (20%) terdapat lendir. Sementara itu, terdapat konsitensi feses yang padat sebanyak 3 (20%) sampel. Secara keseluruhan, jumlah total responden adalah 15 orang. Menurut penelitian yang dilakukan Dewi dkk. (2024), diare yang disebabkan oleh bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) ditandai dengan onset akut serta konsistensi feses yang berair dan disertai lendir, namun biasanya tidak berdarah.

Berdasarkan tabel karakteristik hasil penelitian pada total 15 sampel feses diare pada anak anak yang diambil dari Puskesmas Antang & TPA Antang Kota Makassar didapatkan hasil bahwa sebanyak 15 sampel negatif bakteri EPEC Gen *bfpA*. Gen *bfpA* ini merupakan salah satu gen yang berperan dalam proses penempelan ke sel inang khususnya pada sel epitel usus, dimana bisa menyebabkan infeksi yang mengakibatkan diare. Hasil penelitian menunjukkan pada kode sampel 1-15 didapatkan hasil yaitu negatif atau tidak terdeteksi Gen *bfpA* pada bakteri EPEC. Menurut penelitian yang dilakukan (Antara & Ida, 2024) Gen *bfpA* adalah suatu gen yang mengkode protein Bundle-forming Pili (BFP). Protein BFP merupakan protein yang diproduksi oleh strain *E.coli* yaitu typical EPEC

(tEPEC). BFP diperlukan untuk dua hal dari EPEC yang dapat dipelajari secara in vitro dan mungkin memerankan peran penting dalam kolonisasi bakteri secara in vivo. Pertama BFP diperlukan untuk autoagregasi, yaitu kemampuan dari EPEC untuk secara reversible membentuk kluster multiseluler dalam kultur cair. Kedua BFP digunakan sebagai pelekatan lokal, yang mana memungkinkan EPEC mempunyai kapasitas untuk membentuk mikrokoloni pada sel epitel.

Pada penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel feses anak penderita diare yang diperiksa tidak menunjukkan keberadaan gen *bfpA*, yang merupakan penanda tipikal dari *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat infeksi EPEC tipe typical pada penelitian ini. Temuan ini sejalan dengan penelitian Pradnyani (2020) yang juga tidak mendeteksi *bfpA* pada penderita diare, meskipun ditemukan EPEC tipe atypical (*eae*+ *bfpA*−). Beberapa studi lain melaporkan prevalensi *bfpA* positif antara 8–12%, menunjukkan bahwa keberadaan EPEC tipe typical bervariasi secara geografis dan tidak selalu menjadi penyebab utama diare pada anak. Hasil negatif pada penelitian ini juga dapat disebabkan oleh ukuran sampel yang kecil serta tidak dilakukan deteksi terhadap gen *eae*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukan gen spesifik (EPEC) *Enteropathogenic Escherichia coli* seperti *eae* maupun *bfpA* dalam seluruh sampel feses anak-anak penderita diare yang diuji menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menunjukkan

bahwa dalam populasi sampel penelitian EPEC bukan merupakan agen penyebab utama diare. Meskipun EPEC dikenal sebagai salah satu patogen penting penyebab diare pada anak, hasil negatif ini mencerminkan kenyataan bahwa prevalensinya tidak selalu tinggi, dan sangat bergantung pada faktor geografis, kondisi lingkungan, serta variasi musiman.

Hasil negatif tersebut sejalan dengan temuan dari beberapa penelitian sebelumnya. Salah satunya penelitian Internasional yaitu, Yousefi, dkk (2021) yang menggunakan teknik multiplex-PCR terhadap 103 sampel feses anak-anak dengan gastroenteritis. Penelitian tersebut menemukan bahwa hanya 2 sampel (1,94%) yang positif terhadap EPEC, jauh lebih rendah dibandingkan patogen lain seperti *Shigella* atau *Campylobacter* Hal serupa juga dilaporkan oleh penelitian terdahulu oleh (Tennant, dkk, 2025) menemukan bahwa prevalensi atypical EPEC hampir serupa pada anak-anak penderita diare dan kelompok kontrol sehat, masing-masing 14,7% dan 10%. Tidak terdapat perbedaan signifikan secara statistik sehingga peneliti menyimpulkan tidak ada hubungan epidemiologis yang kuat antara EPEC dan kejadian diare klinis dalam populasi tersebut.

Beberapa faktor dapat menyebabkan hasil negatif dalam deteksi EPEC. Pertama, penyebab diare pada anak-anak sangat bervariasi dan tidak selalu disebabkan oleh EPEC. Patogen lain seperti *Rotavirus, Norovirus, Salmonella spp., Shigella spp.,* maupun *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) juga sering terlibat dalam kasus diare akut, terutama di negara berkembang. Oleh karena itu, hasil negatif EPEC tidak serta-merta

menunjukkan absennya infeksi, melainkan perlu dikaji lebih lanjut dengan pemeriksaan terhadap patogen lain. Kedua, waktu pengambilan sampel juga dapat memengaruhi hasil deteksi. Jika feses dikumpulkan setelah fase akut infeksi, kemungkinan jumlah bakteri dalam usus sudah berkurang secara signifikan, sehingga tidak terdeteksi oleh PCR. Ketiga, kondisi teknis seperti kualitas DNA hasil ekstraksi atau degradasi DNA akibat penyimpanan yang tidak tepat dapat menyebabkan hasil negatif.

Faktor lain yang turut mempengaruhi adalah kondisi geografis dan lingkungan. Selain itu, perbedaan prevalensi antara typical EPEC (tEPEC) dan atypical EPEC (aEPEC) juga berkontribusi terhadap hasil negatif, terutama jika primer PCR yang digunakan hanya menarget gen bfpA (yang hanya dimiliki oleh tEPEC) dan eae.

Hasil ini memiliki implikasi penting dalam praktik klinis maupun kebijakan kesehatan masyarakat. Di satu sisi, tidak terdeteksinya EPEC menunjukkan bahwa pemberian antibiotik secara rutin tanpa diagnosis etiologi yang jelas sebaiknya dihindari, karena sebagian besar kasus diare pada anak dapat sembuh sendiri. Di sisi lain, hasil ini menekankan perlunya pengembangan dan pemanfaatan metode diagnostik yang lebih luas, seperti PCR multiplex atau panel gastrointestinal, yang mampu mendeteksi berbagai patogen sekaligus dalam satu kali pemeriksaan. Ini penting untuk mempercepat diagnosis, meminimalkan penggunaan antibiotik yang tidak perlu, dan mencegah resistensi antimikroba.

Secara keseluruhan, hasil negatif terhadap EPEC dalam penelitian ini menunjukkan bahwa EPEC tidak selalu menjadi penyebab utama diare pada anak, khususnya dalam konteks lokal wilayah tempat penelitian dilakukan. Hal ini juga menguatkan pentingnya pendekatan diagnostik berbasis bukti dan laboratorium dalam menangani kasus diare, serta pentingnya peningkatan kapasitas laboratorium mikrobiologi di fasilitas layanan kesehatan.

# BAB V
# PENUTUP

## A. Kesimpulan

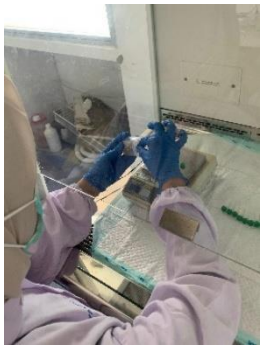
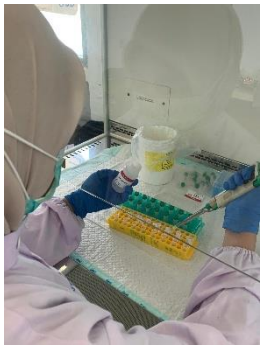
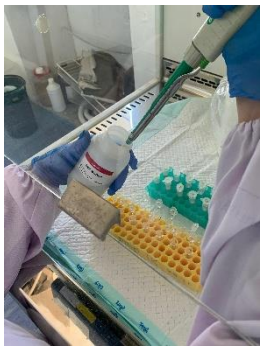
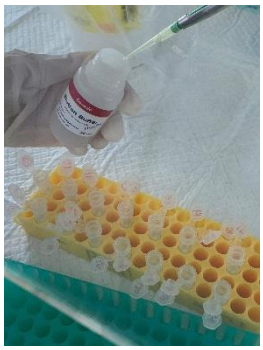
Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 15 sampel feses anak-anak penderita diare, dapat disimpulkan bahwa seluruh sampel menunjukkan hasil negatif terhadap gen *bfpA* dari bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC). Hal ini ditunjukkan dengan tidak ditemukannya pita DNA berukuran 324 bp pada hasil elektroforesis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

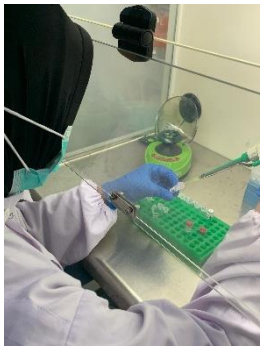
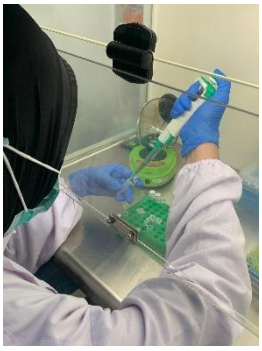
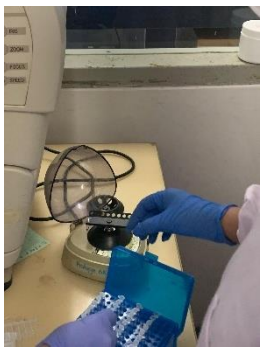
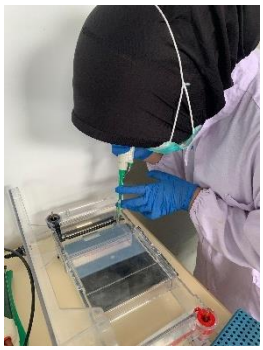
## B. Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menambahkan deteksi terhadap gen virulensi lain seperti *eae*, *stx*, atau *ipaH*, guna mengetahui jenis patogen lain yang mungkin berperan dalam kasus diare. Disarankan untuk memperluas jumlah sampel dan lokasi pengambilan sampel agar data yang diperoleh lebih representatif terhadap populasi anak penderita diare. Penelitian lebih lanjut sebaiknya juga mempertimbangkan faktor risiko lain seperti kebersihan lingkungan, sanitasi, dan pola konsumsi, yang dapat memengaruhi kejadian diare pada anak-anak.

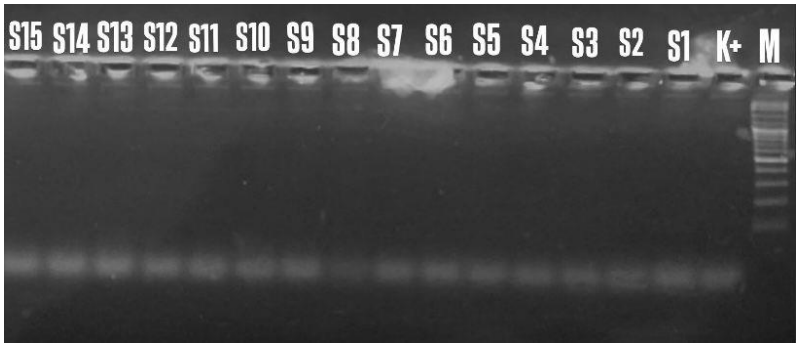
# LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Dokumentasi Penelitian

| **Ekstraksi DNA** | | |
|---|---|---|
|  Penimbangan feses |  Ditambahkan ST1 |  Divortex |
|  Diinkubasi |  Dicentrifuge |  Ditambahkan ST2 |
|  Ditambahkan ST3 |  Ditambahkan Wash Buffer |  Ditambahkan Elution Buffer |

| **Amplifikasi PCR** | | |
|---|---|---|
|  Pembuatan mix PCR |  Dimasukkan mix ke dalam tube PCR |  Dimasukkan sampel DNA |
|  Dicentrifuge |  Dimasukkan pada alat PCR |  Penganturan suhu pada alat PCR |
| **Elektroforesis** | | |
|  Pemipetan sampel kepada Well |  Proses elektroforesis |  Pembacaan hasil PCR menggunakan Geldoc |

**Hasil PCR**




Hasil pembacaan PCR gen bfpA dengan target 324 bp

**Lampiran 2.** Master data

| | | | | | Master Data Penelitian | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NO | Kode sampel | Usia | Jenis kelamin | Frekuensi BAB >3 kali sehari | Demam 1-3 hari | Tekstur feses anak berlendir | Konsistensi feses anak cair | Mengalami gejala lain seperti mual/kram perut | Mengonsumsi makanan atau minuman dari luar rumah atau tidak higienis | Mencuci tangan dengan sabun | Mengkonsumsi antibiotik >3 hari | Hasil PCR |
| 1 | S1 | 5 th | P | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Ya | Ya | Ya | Tidak | Negatif |
| 2 | S2 | 3 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Ya | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 3 | S3 | 4 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 4 | S4 | 2 th | P | Ya | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Negatif |
| 5 | S5 | 5 th | P | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 6 | S6 | 3 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Ya | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 7 | S7 | 2 th | L | Tidak | Ya | Ya | Ya | Ya | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 8 | S8 | 7 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Ya | Tidak | Negatif |
| 9 | S9 | 6 th | P | Ya | Ya | Tidak | Ya | Ya | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 10 | S10 | 8 th | L | Tidak | Ya | Ya | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Negatif |
| 11 | S11 | 10 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Negatif |
| 12 | S12 | 9 th | L | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Negatif |
| 13 | S13 | 7 th | P | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 14 | S14 | 6 th | L | Ya | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Negatif |
| 15 | S15 | 7th | L | Tidak | Ya | Tidak | Ya | Tidak | Tidak | Ya | Tidak | Negatif |

**Lampiran 3.** Lembar *Informed Consent*

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**(*INFORMED CONSENT*)**

Setelah mendapatkan keterangan secukupnya tentang penelitian yang akan dilakukan maka saya menyatakan dengan sukarela bersedia untuk turut berpartisipasi sebagai responde sehubungan dengan penelitian yang akan dilakukan mahasiswa program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mega Rezky yaitu:

Nama : Iin Hariyanti

NIM : B1D121165

Dengan judul penelitian **"Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"** Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dijaga kerahasiaanya dan hanya dipergunakan untuk kepentingan proposal penelitian.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, Desember 2024

| Peneliti | Responden |
|---|---|
| (.....) | (.....) |

**Lampiran 4.** Lembar Kuisioner Penelitian

**KUESIONER PENELITIAN**

Berikut ini adalah kuesioner yang berkaitan dengan penelitian tentang **"Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"**. Oleh karena itu, saya memohon dengan hormat kesediaan anda untuk mengisi kuesioner yang ada.

**IDENTITAS RESPONDEN**

Nama : S1

Usia : 5 th

Alamat : TPA Antang

Mohon untuk memberikan tanda (✓) pada setiap pertanyaan yang anda pilih.

| NO | PERTANYAAN | YA | TIDAK |
|---|---|---|---|
| 1 | Apakah anda sebagai orangtua/wali setuju untuk mengikuti penelitian ini? | ✓ | |
| 2 | Apakah anda setuju untuk memberikan sampel feses pada anak anda? | ✓ | |
| 3 | Apakah anak anda mengalami diare selama 1-3 hari? | ✓ | |
| 4 | Apakah anak anda sedang mengalami demam? | ✓ | |
| 5 | Apakah anak anda mengalami nyeri pada perut? | ✓ | |
| 6 | Apakah anak anda sedang mengkonsumsi Antibiotik? | | ✓ |

**Lampiran 5**. Surat Izin Penelitian 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 : **11599/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

**Kepada Yth.**
1. Rektor Univ. Megarezky Makassar
2. Direktur RSUD Labuang Baji Makassar

di-
**Tempat**

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1631/07.091056/V/2025 tanggal 19 Mei 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

| | |
|---|---|
| N a m a | : **IIN HARLIYANTI** |
| Nomor Pokok | : B1D121165 |
| Program Studi | : TLM |
| Pekerjaan/Lembaga | : Mahasiswa (D4) |
| Alamat | : Jl. Antang Raya No. 43, Makassar |

dpmptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

**" IDENTIFIKASI BAKTERI EPEC (ENTEROPATHOGENIC Escherichia coli) PADA ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE Polymerase Chain Reaction (PCR) "**

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***28 Mei s/d 28 Agustus 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 28 Mei 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 Keterangan Selesai Penelitian

| HUM-RC science for a better future | ADMINISTRASI | FORMULIR 2 |
|---|---|---|
| | Nomor : 376/07/FR2/2025 | Tanggal : 21 Juli 2025 |

**SURAT KETERANGAN**
**SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI**

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Iin Harliyanti
NIM : B1D121165
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Identifikasi Bakteri Epec (Enteropathogenic Escherichia Coli) Pada Anak Anak Penderita Diare Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR).**

**Telah selesai** melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 18 Juli 2025
Jumlah subjek : ± 12 sampel Feses
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Zainul Muttaqin, M.BioMed
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

**Zainul Muttaqin, M.BioMed**
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

HUM-RC science for a better future

**dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D**
NIP 198108302012122002

**Lampiran 7**. Surat LPPM

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)**

**UNIVERSITAS MEGAREZKY**

SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus B : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website :
http://universitasmegarezky.ac.id Email: info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 19 Mei 2025

Nomor : 1631 /07.091056/V/2025
Lampiran : -
Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**

**Kepada**
**Yth** : Bapak Gubernur Prov. SulSel
Cq. Kepala UPT P2T BKPMD-PTSP

**Di**
**Makassar**

Dengan hormat,
Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Fakultas Teknologi Kesehatan Program Studi D-VI Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar, maka bersama ini kami mohon kiranya Bapak/Ibu berkenan menerima Mahasiswa (i) kami yang tersebut namanya di bawah ini untuk melakukan Penelitian di Instansi / wilayah kerja yang Bapak/Ibu Pimpin.

| | |
|---|---|
| **Nama** | **: Iin Harliyanti** |
| **N I M** | **: B1D121165** |
| **Judul Skripsi/KTI** | **: Identifikasi Bakteri EPEC (Enteropathogenic Esherichia coli) Pada Anak-anak penderita diare menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR)** |
| **Pembimbing** | **: 1. Nurfitri Arfani, S. Si., M.Si**<br>**2. Hijral Aswad, S.Si.,M.Kes** |
| **Tempat Penelitian** | **:1. Lab Biologi Molekuler Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)**<br>**2. RSUD Labuang Baji Makassar** |

Demikian surat permohonan penelitian ini, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

**Kepala LPPM**

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

**Tembusan Kepada Yth:**

1. Yang Bersangkutan
2. Arsip

**Lampiran 8.** Kode Layak Etik

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
08115566606
https://portal.poltekkes-mks.ac.id

**KETERANGAN LAYAK ETIK**
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 1045/M/KEPK-PTKMS/V/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **IIN HARLIYANTI**
Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megarezky Makassar**
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

**"identifikasi bakteri EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli) Pada anak anak penderita diare menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR) "**

*"Identification of EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli) bacteria in children with diarrhea using the polymerase chain reaction (PCR) method"*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 23 Mei 2025 sampai dengan tanggal 23 Mei 2026.

Declaration of ethics applies during the period May 23, 2025 until May 23, 2026.

May 23, 2025
Professor and Chairperson,

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLTEKKES MAKASSAR

**Hj. Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt**
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

## KUESIONER PENELITIAN

Berikut ini adalah kuesioner yang berkaitan dengan penelitian tentang **"Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*) Pada Balita & Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"**. Oleh karena itu, saya memohon dengan hormat kesediaan anda untuk mengisi kuesioner yang ada.

## IDENTITAS RESPONDEN

Nama :

Usia :

Alamat :

Mohon untuk memberikan tanda (✓) pada setiap pertanyaan yang anda pilih.

| NO | PERTANYAAN | YA | TIDAK |
|---|---|---|---|
| 1 | Apakah anda sebagai orangtua/wali setuju untuk mengikuti penelitian ini? | | |
| 2 | Apakah anda setuju untuk memberikan sampel feses pada anak anda? | | |
| 3 | Apakah anak anda mengalami diare selama 1-3 hari? | | |
| 4 | Apakah anak anda sedang mengalami demam? | | |
| 5 | Apakah anak anda mengalami nyeri pada perut? | | |
| 6 | Apakah anak anda sedang mengkonsumsi Antibiotik? | | |

**LEMBAR PERSETUJUAN**

***(INFORMED CONSENT)***

Setelah mendapatkan keterangan secukupnya tentang penelitian yang akan dilakukan maka saya menyatakan dengan sukarela bersedia untuk turut berpartisipasi sebagai responde sehubungan dengan penelitian yang akan dilakukan mahasiswa program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mega Rezky yaitu:

Nama :

NIM :

Dengan judul penelitian "Identifikasi Bakteri EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*) Pada Balita & Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)" Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dijaga kerahasiaanya dan hanya dipergunakan untuk kepentingan proposal penelitian.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, Desember 2024

| Peneliti | Responden |
| --- | --- |
| (……...) | (……...) |

## DAFTAR PUSTAKA


Anggraini, D., & Kumala, O. (2022). Diare Pada Anak. *Scientific Journal*, *1*(4), 309–317. https://doi.org/10.56260/sciena.v1i4.60

Anggryani, D., Kurniawan, E., Sukmana, D. J., & Ustiawaty, J. (2023). Identification of Escherichia coli Sub Type Enterotoxigenic (ETEC) from Food Samples Using Pcr (Polymerase Chain Reaction) Technique. *Jurnal Biologi Tropis*, *23*(4), 404–409. https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5540

Antara, N. Y., Ayu, I., & Kusuma, P. (2024). *And qpcr mthod : a literature review*. *6*(1), 1487–1499.

Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. (2021). Optimasi Suhu Annealing untuk Amplifikasi Dna Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, *18*(1), 44. https://doi.org/10.31851/sainmatika.v17i3.5805

Dewi, B. S., Soleha, T. U., Septiani, L., Apriliana, E., Kedokteran, F., Lampung, U., Mikrobiologi, B. I., Kedokteran, F., Lampung, U., Parasitologi, B. I., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2024). Eschercia coli Penyebab Diare : Patogenesis, Diagnosis dan Tatalaksana. *Medula*, *14*, 864–869.

Ekowatiningsih, D., Mustafa, M., Harmiady, R., & Amelia, R. (2023). Gambaran Pengetahuan Orang Tua Terhadap Penanganan Pertama Diare Pada Anak Di Desa Tellumpoccoe Diwilayah Kerja Puskesmas Marusu Kabupaten Maros Description Of Parents' Knowledge Of First Handling Of Diarrhea In Children Tellumpoccoe Village In Working Ar. *Politeknik Kesehatan Makassar*, *14*(2), 2087–2122.

Hasanah, K., Cycylia, D. F., & Patriono, E. (2024). Deteksi bakteri Escherichia coli pada produk perikanan dengan metode SNI 2332.1:2015 di Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Palembang. *Sriwijaya Bioscientia*, *4*(3), 86–92. https://doi.org/10.24233/sribios.4.3.2023.438

Helmi Chentia, B. Y. R. J. (2024). Doc-20240829-Wa0008. *Jurnalilmukesehatanmandiracendikia*, *3*, 221–229.

Iqbal, A. F., Setyawati, T., Towidjojo, V. D., & Agni, F. (2022). Pengaruh Perilaku Hidup Bersih dan Sehat Terhadap Kejadian Diare pada Anak Sekolah. *Jurnal Medical Profession (MedPro)*, *4*(3), 271–279.

Ismaun, Muzuni, & Hikmah, N. (2021). Molecular Detection Of Escherichia coli BACTERIA AS A CAUSE OF. *Jurnal Biologi Makassar*, *6*(2), 1–9.

JABAL, A. R. (2020). Prevalensi Protozoa Penyebab Diare Di Kelurahan Antang, Kota Makassar. *Jurnal Medika : Karya Ilmiah Kesehatan*, *5*(2), 5–8. https://doi.org/10.35728/jmkik.v5i2.641

Jap, A. L. S., & Widodo, A. D. (2021). Diare Akut yang Disebabkan oleh Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, *27*(3), 282–288. https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v27i3.2068

Listiani, L., Dhanti, K. R., Kurniawan, K., & Widodo, O. S. Y. (2023). Optimasi Suhu Annealing Gen Blaz Dari Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Pada Peralatan Medis. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, *6*(1), 420–425. https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i1.6083

Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., Decean, L., & Toma, F. (2021). Enteropathogenic escherichia coli - A summary of the literature. *Gastroenterology Insights*, *12*(1), 28–40. https://doi.org/10.3390/GASTROENT12010004

Novi Eka Fitrah, Meri Neherta, I. M. S. (2024). Analisis Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Pada Anak Balita. *Jurnal Ilmiah Permas: Jurnal Ilmiah STIKES Kendal*, *14*(3), 75–82.

Purwakasih, D. B., & Achyar, A. (2021). Desain primer dan PCR In Silico untuk deteksi Shigella sp. pada sampel air minum isi ulang. *Jurnal Serambi Biologi*, *6*(1), 1–6.

Putra, I. D. G. B. A. P., Sukrama, I. D. M., Budayanti, N. N. S., & Hendrayana, M. A. (2022). Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Subtipe Enteroaggregative Escherichia Coli Dan Enteropathogenic Escherichia Coli Dengan Metode Kultur Dan Polymerase Chain Reaction Pada Sate Daging Babi Di Kota Denpasar. *E-Jurnal Medika Udayana*, *11*(5), 73.

https://doi.org/10.24843/mu.2022.v11.i05.p13

Setianingsih, I., Andiarsa, D., & Hariyati, E. (2019). Deteksi Diarrhoegenic E. coli pada Sampel Feses Penderita Diare di Puskesmas Batulicin dan Pagatan Kabupaten Tanah Bumbu dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Biomedika*, *12*(2), 132–148. https://doi.org/10.31001/biomedika.v12i2.597

Siallagan, C. S., Syafi'i, M., Samaullah, M. Y., Susanto, U., Pramudyawardani, E. furry, & Prastika, D. (2022). Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (Oryza sative L) Menggunakan Marka SSR (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, *8*(8), 32–37. https://doi.org/10.5281/zenodo.6605393

Siwi, V. H., & Mogea, A. R. (2022). Bakteri Escherichia coli pada Saus Kacang Jajanan Cilok di Kota Manado. *Majalah InfoSains*, *3*(2), 90–94.

Susilo, T. B., Soesanto, O., Susanti, D. S., Fahrudin, A. E., Suhartono, E., Hidayat, Y., Wahjono, S. C., Soendjoto, M. A., & Krisdianto, K. (2024). Penyuluhan Asal Mula Teknologi Polymerase Chain Reaction Bagi Komunitas Minggu Raya (Bagian 2). *Jurnal Pengabdian ILUNG (Inovasi Lahan Basah Unggul)*, *3*(3), 504. https://doi.org/10.20527/ilung.v3i3.11887

Utami, P. R., Indrayati, S., & Satya, W. (2022). Kombinasi Ekstrak Lidah Buaya dengan Antibiotik Ciprofloxacin dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal)*, *9*(1), 7–14. https://doi.org/10.33653/jkp.v9i1.772

Wahyuningsih, E. S., Gunarti, N. S., Fikayuniar, L., & Fajriyani, A. (2023). Uji Organoleptik dan Mikrobiologi Air Minum Isi Ulang di Sekitar UBP Karawang. *Open Journal Systems*, *17*(1978), 2199–2206.