SKRIPSI

IDENTIFIKASI BAKTERI *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) 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

ALENSYA AMANDA PRATIWI
B1D121128

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL

IDENTIFIKASI BAKTERI *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *Polymerase ChainReaction* (PCR)

IDENTIFICATION OF *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) BACTERIA IN TODDLERS AND CHILDREN WITH DIARRHEA USING THE *Polymerase Chain Reaction* (PCR) METHOD

ALENSYA AMANDA PRATIWI
B1D121128

Dibimbing oleh

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

Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc
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 *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh

ALENSYA AMANDA PRATIWI

Nomor Induk Mahasiswa B1D121128

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada Tanggal 14 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. Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc	( )

Mengetahui,

Dekan
Fakultas Teknologi Kesehatan

Prof.Dr.Dra.ant.Hj.Asnah Marzuki, M.Si
NUPTK. 1350727628230013

Ketua Program Studi
DIV Teknologi Laboratorium Medis

Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
NUPTK. 6950765666230332

SURAT KETERANGAN LOLOS 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. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id E-mail: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 116 /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 : Alensya Amanda Pratiwi

NIM : B1D121128

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medi

Judul Skripsi/KTI : Identifikasi Bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 24%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 08 Agustus 2025
Ketua,

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Keberhasilan penyusunan skripsi ini tentu tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Untuk itu, penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang telah memberkati setiap langkah penulis dan senantiasa mengiringi langkah dan masa depan penulis yang penuh harapan atas tuntunan dan kasihnya yang begitu besar sehingga saya dapat berkarya dan menyelesaikan skripsi ini.
2. Teristimewa kedua orangtua tercinta, Bapak Nurman dan Ibu Katrina S.E., terima kasih sudah senantiasa memberi dukungan, kasih sayang, nasehat, motivasi serta Doa tiada henti kepada penulis selama melalui proses perkuliahan sampai saat ini. Terima kasih papa mama telah memberi kesempatan pendidikan lebih baik dari yang sudah papa mama lalui sebelumnya kepada kedua anaknya "Semogah Tuhan Yesus selalu menyertai dan memberkati papa dan mama dalam proses anakmu mengejar masa depanya ini".
3. Teristimewa kakek dan nenek tercinta terima kasih untuk kasih sayang yang tiada henti untuk penulis, sehingga sampai saat ini penulis masih bisa merasakan cinta dan kasih dari kakek dan nenek yang telah mendidik.
4. Kepada om dan tante yang telah penulis anggap sebagai orang tua kedua yaitu: Kepada Yakub Tato S.E., terima kasih untuk didikan dan ajaran yang selalu di berikan kepada penulis mengejar masa depan ini dengan sungguh-sungguh, dan terima untuk semua motivasi yang telah diberikan kepada penulis semasa dari SMP hingga detik ini. Kepada Jefri Tato S.H., terima kasih juga untuk kasih sayang yang tiada henti kepada penulis yang tiada henti. Kepada Almh Dewitan S.Sos., terima kasih untuk semua cinta dan didikan yang telah di berikan kepada penulis semasa beliau masih ada,

terima kasih telah mengajarkan penulis bahwa apa yang kita inginkan harus kita usahakan dengan sungguh-sungguh dan harus melibatkan Tuhan.

5. Adik terkasih Aldercy Vinita Sharon dan adik-adik penulis terima kasih untuk Doa dan dukungan yang begitu besar. Sehinga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik, karena salah satu alasan dan semangat penulis ada dikalian.
6. Kepada Dosen Pembimbing I ibu Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si dan Dosen Pembimbing II ibu Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc yang telah membantu penulis berupa bimbingan, arahan, masukan, ilmu, pengalaman kepada penulis selama berjalanya pengerjaan Tugas Akhir ini.
7. Sahabat-sahabat penulis Exlesya, Helfani Melisa, Lilis Febriyani, Almh Heydi M.F Wijaya. Terima kasih telah menjadi tempat untuk penulis menceritakan keluh kesah, memberikan semangat, dukungan motivasi dan Doa yang selalu kalian berikan kepada penulis semasa penyusunan skripsi ini, so proud of you all.
8. Sahabat-sahabat kuliah penulis Devilia T.Y Padatu, Maria A Mbaru, Elsa Deysiana, Anges Theresia, Hesye A Titirloloby, Yuan Feninlambir dan Trifena Tote terima kasih atas segala dukungan, semangat, motivasi, pelukan, canda tawa dan tangis air mata yang telah kita lalui bersama-sama dalam menempuh pendidikan di Universitas Megarezky.
9. Kepada teman seperjuangan Iin Harliyanti terima kasih untuk kerja sama, semangat, dan dukungan dari penyusunan proposal, penelitian hingga skripsi.
10. Kepada Inggrid Yolendari, Selvina agrianti, Violeta Inelsa. Terima kasih untuk motivasi, semangat, dan dukungan yang selalu diberikan kepada penulis semasa penyusunan skripsi.
11. Kepada teman-teman 2021D terima kasih untuk kerja samanya selama menempuh pendidikan di Universitas Megarezky.
12. Kepada diri saya sendiri Alensya Amanda Pratiwi, terima kasih telah mampu bertahan hingga sejauh ini. Terima kasih karena tetap memilih untuk terus berusaha hingga sampai pada titik ini, meskipun rasa putus asa kerap menghampiri ketika segala upaya belum membuahkan hasil, terima kasih

karena tetap menjadi pribadi yang pantang menyerah dan senantiasa berusaha, seberat apa pun proses penyusunan skripsi ini dijalani.

Akhir kata Semoga lembar-lembar ini tak hanya menjadi tanda pencapaian akademik,tetapi juga wujud cinta, hormat, serta terima kasih untuk tiap orang pernah menjadi bagian dari perjalanan ini.

MOTTO

“and I said thank you Jesus”

“walk with God and growing with him”

"Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya."

(Matius 21:22)

“ Aku ditolak dengan hebat sampai jatuh, tetapi Tuhan menolong aku”

(Mazmur 5:36)

“Karna masa depan sungguh ada dan harapanmu tidak akan hilang”

(Amsal 23:18)

“Apapun yang dimulai dengan doa, tidak akan kembali dengan tangan kosong”

(Mazmur 126:5-6)

CURRICULUM VITAE



ALENSYA AMANDA PRATIWI

B1D121128

Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Alamat : Tobadak IV

Riwayat Pendidikan

a. Pendidikan Dasar : SD 003 Inpres Beting
b. Pendidikan Menengah Pertama : SMP Negeri 3 Messawa
c. Pendidikan Menengah Atas : SMA Negeri 2 Polewali

Orang Tua

a. Ayah : Nurman
b. Ibu : Katrina
c. Alamat : Tobadak IV

Pesan dan Kesan

Semoga skripsi ini tidak hanya menjadi penutup dari sebuah bab, melainkan pembuka jalan untuk babak baru yang penuh manfaat. Mengerjakan skripsi ini adalah perjalanan yang penuh lika liku, namun juga penuh makna. Dari kegelisahan hingga kebanggaan, setiap prosesnya telah membentukku menjadi pribadi yang lebih tangguh dan gigih. Terima kasih untuk setiap pelajaran yang tak terbayarkan.

KATA PENGANTAR

Salam Sejahtera Untuk Kita Semua, Shallom

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Swt. karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan **Skripsi** ini yang berjudul:

"IDENTIFIKASI BAKTERI *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) PADA BALITA DAN ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)"

Penyusunan skripsi ini adalah syarat menyelesaikan **Sarjana Terapan Kesehatan pada Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar**. Penulis sadar jika tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan **ucapan terima kasih tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Nurman serta Katrina**, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, kemudian memberi semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan **Skripsi** ini tidak akan pernah terwujud.

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

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

4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. 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 Teknologi Laboratorium Medis,** atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif
7. **Dosen Pembimbing Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si dan Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc** 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**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. **Sahabat-sahabatku tersayang** dimana sudah menemani, memberikan dukungan, doa serta semangat pada penulis didalam penyusunan skripsi ini. **Dan Seluruh teman-teman 2021 D**, dimana sudah banyak membantu, menemani, mendukung serta terima kasih atas kebersamaannya awal perkuliahan hingga pada menyelesaikan skripsi penelitian ini. Dan Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih atas dukungan, doa, semangat serta motivasi yang telah diberikan.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih memiliki berbagai kekurangan. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun guna penyempurnaan karya ini di masa yang akan datang.

Sebagai penutup, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca serta menjadi kontribusi berharga dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 19 Juli 2025

Alensya Amanda Pratiwi

DAFTAR ISI

SKRIPSI ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PENGESAHAN **1**
SURAT KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN **2**
HALAMAN PERSEMBAHAN **6**
MOTTO ..... **viii**
CURRICULUM VITAE **i8**
KATA PENGANTAR **13**
DAFTAR ISI **14**
DAFTAR GAMBAR ..... **xv**
DAFTAR SINGKATAN **14**
ABSTRAK **14i**
ABSTRACT **14ii**
BAB 1 PENDAHULUAN **14**
A. Latar Belakang 17
C. Tujuan Penelitian 21
D. Manfaat Penelitian 21
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
A. Tinjauan Umum Tentang Diare 7
B. *Escherchia coli* Secara Umum 13
C. Patogenesis *Esherchia coli* 18
D. Tinjuan Umum Tentang ETEC (Enterotoksigenik) 25
C. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 31
D. Kerangka Teori 42
E. Kerang Konsep 42
F. Defenisi Oprasional 43
BAB III METODE PENELITIAN **44**
A. Jenis penelitian 44
B. Lokasi dan Penelitian 44
C. Populasi 44

D. Sampel 45
E. Alat dan Bahan 45
G. Analisis Data 50
H. Etika Penelitian 50
I. Alur Penelitian 51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 53
A. Hasil Penelitian 53
B.Pembahasan 57
BAB V PENUTUPAN 62
A. Kesimpulan 62
B. Saran 62
LAMPIRAN 63
DAFTAR PUSTAKA 71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 *Escherichia coli* 17

Gambar 2 Patogenesis 24

Gambar 3 Struktur LT 26

Gambar 4 Struktur LT 26

Gambar 5 Karakteristik infeksi Gen ETEC. 28

Gambar 6 Patogenesis ETEC. 30

Gambar 7 Alat Polymerase Chain Reaction 32

Gambar 8 Penempelan primer oligonukleotida..... 35

DAFTAR SINGKATAN

BAB : *Buang Air Besar*

BFP : *Boiler Feed Pump*

DAEC : *Diffusely Adherent Esherchia Coli*

DEC : *Diarrhegenic Escherchia Coli*

DEPKES RI : Depertemen Kesehatan Republik Indonesia

DNA : *Deoxyribonucleic Acid*

E.COLI : *Escherchia Coli*

ETEC : *Enterotokxigenic Escherchia Coli*

EPEC : *Enteropatogenik Escherchia Coli*

EIEC : *Enteroinvasive Escherchia Coli*

EAEC : *Enteroagregative Escherchia Coli*

EHEC : *Enterohermorrhagic Escherchia Coli*

HUM RC : *Hasanuddin Universitas Medical Research Center*

KLB : Kejadian Luar Biasa

PHBS : Perilaku Hidup Bersih dan Sehat

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

RNA : *Ribunucleic Acid*

UNICEF : *United Nations Children's Fund*

WHO : *World Health Organization*

ABSTRAK

Alensya Amanda Pratiwi. NIM B1D12128. 'Identifikasi Bakteri Enterotoksigenik *Escherchia coli* (ETEC) Pada Balita Dan Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase ChainReaction* (PCR)" (Dibimbing oleh Nurfitri Arfani dan Ayusti Dirga)

Diare masih merupakan salah satu masalah kesehatan utama pada balita dan anak-anak, khususnya di negara berkembang, karena dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. Salah satu penyebab diare yang sering ditemukan adalah bakteri *Escherichia coli enterotoksigenik* (ETEC), yaitu jenis E. coli yang mampu menghasilkan toksin enterik dan menimbulkan gangguan pada saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan bakteri ETEC pada balita dan anak-anak penderita diare dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif laboratorium dengan pendekatan observasional laboratorik. Sampel penelitian terdiri atas 15 sampel feses anak-anak penderita diare yang diperoleh dari Puskesmas Antang dan TPA Antang. Pemeriksaan dilakukan untuk mendeteksi *gen eltBI* (lt) sebagai penanda keberadaan ETEC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 15 sampel yang diuji tidak ditemukan adanya pita DNA pada ukuran 402 bp. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa seluruh sampel feses yang diperiksa menunjukkan hasil negatif terhadap *bakteri Escherichia coli enterotoksigenik* (ETEC).

Kata Kunci: **Diare, ETEC, PCR.**

ABSTRACT

Alensya Amanda Pratiwi. *Student ID B1D12128. "Identification of Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) in Toddlers and Children with Diarrhea Using Polymerase Chain Reaction (PCR)" Supervised by Nurfirti Arfani and Ayusti Dirga.*

Diarrhea remains a major public health concern among toddlers and children, particularly in developing countries, due to its high morbidity and mortality rates. One of the most common pathogenic causes is enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC), a strain of E. coli capable of producing enteric toxins that disrupt gastrointestinal function. This study aimed to detect the presence of ETEC in diarrheal stool samples from toddlers and children using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. This research used a descriptive laboratory design with an observational laboratory approach. The sample consisted of 15 stool specimens obtained from children with diarrhea at Antang Health Center and Antang Integrated Waste Management Site. PCR testing was conducted to detect the eltB gene, a marker for ETEC. Results indicated that none of the 15 tested samples showed DNA bands at the 402 bp size, confirming that all samples were negative for ETEC.

Keywords: Diarrhea, ETEC, PCR



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diare merupakan kondisi perubahan konsistensi feses yang ditandai dengan frekuensi buang air besar sebanyak tiga kali atau lebih dalam satu hari. Penyakit ini termasuk dalam kategori penyakit menular yang umumnya terjadi di lingkungan dengan sanitasi buruk dan disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, maupun protozoa yang menyebar melalui jalur fekal-oral (Dea Saputri, 2024). Hingga kini, diare masih menjadi salah satu penyebab utama angka kesakitan dan kematian di hampir seluruh wilayah dunia. Meskipun dapat menyerang semua kelompok usia, kasus dengan tingkat keparahan tinggi hingga menyebabkan kematian lebih sering terjadi pada bayi dan anak-anak. Di negara berkembang, anak-anak dapat mengalami diare lebih dari 12 kali dalam setahun, yang berkontribusi terhadap 15–34 persen dari total angka kematian anak (Ramadhia dkk., 2023).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) dan *United Nations Children Fund* (UNICEF), setiap tahun terdapat sekitar dua miliar kasus diare di seluruh dunia, dengan sekitar 1,9 juta kematian balita akibat diare. Sebagian besar kematian tersebut terjadi di negara berkembang, di mana 78% di antaranya berada di kawasan Afrika dan Asia Tenggara (WHO, 2023)

Di tingkat nasional, prevalensi diare di Indonesia mencapai 843 per 1.000 penduduk. Sulawesi Selatan menempati urutan ke-14 dengan cakupan pelayanan

penderita diare sebesar 40,92%, sementara Kota Makassar menduduki posisi ke-5 tertinggi dengan prevalensi sebesar 8,25% (Awalia dkk., 2023).

Di Sulawesi Selatan, tercatat sekitar 236.099 kasus diare, dengan 146.958 kasus (62,24%) telah mendapatkan penanganan medis. Dari total penduduk sebanyak 9.145.143 jiwa, dilaporkan 19.592 kasus yang ditangani, di mana Kota Makassar mencatat jumlah kasus terbesar, yaitu 2.686 kasus dari 41.220 sasaran, atau sekitar 6,52% dari total penduduk 1.484.912 jiwa (Dinkes., 2024).

Masalah lain yang turut memengaruhi tingginya angka kejadian diare di Indonesia adalah kebiasaan anak-anak mengonsumsi jajanan tidak sehat. Data menunjukkan bahwa prevalensi anak yang rutin mengonsumsi jajanan tidak sehat mencapai lebih dari 78%, terutama pada usia sekolah dasar. Jenis makanan yang sering dikonsumsi meliputi gorengan, bakso bakar, tempura berpengawet, serta minuman berwarna yang mengandung pewarna sintetis yang umumnya dijual oleh pedagang kaki lima (Utami dkk., 2022).

Penyebab diare pada anak umumnya didominasi oleh patogen enterik seperti virus, bakteri, dan parasit. Jenis bakteri yang paling sering menjadi penyebab diare di dunia secara berurutan antara lain *Escherichia coli* (10–25%), *Shigella* (10%), *Salmonella* (3%), dan *Campylobacter* (3–6%) (Kusuma dkk., 2024).

Escherichia coli merupakan bakteri patogen utama penyebab diare yang juga merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia. Bakteri Gram negatif ini berperan penting dalam proses pencernaan, namun dapat menimbulkan

gangguan kesehatan seperti diare, muntah, dan berbagai masalah pencernaan lainnya (Kusuma dkk., 2024).

Diare yang dipicu oleh *Escherichia coli* tergolong paling banyak dialami masyarakat dan memiliki enam strain utama, yakni *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), *Enteroaggregative E. coli* (EAEC), serta *Diarrheagenic E. coli* (DEC) (Anggryani dkk., 2023).

Enterotoxigenic E. coli (ETEC) yakni penyebab utama diare akut anak di negara berkembang. Manifestasi klinisnya ditandai dengan diare berair akut yang menyebabkan dehidrasi cepat dan lemas dalam beberapa jam, yang mirip dengan manifestasi klinis kolera. Infeksi ETEC diikuti oleh berbagai gejala, termasuk muntah, kram perut, sakit kepala, serta dalam kasus jarang terjadi, demam ringan (Zhang *et al*., 2023). Sekitar 525.000 anak di bawah usia lima tahun meninggal karena penyakit diare setiap tahun, menjadikannya penyebab kematian paling umum kedua pada kelompok usia ini, diare akibat ETEC sangat tinggi, karena merupakan salah satu dari lima penyakit diare teratas patogen enterik terdeteksi anak di bawah usia 5 tahun, dengan prevalensi 40,7% (Setianingsih dkk., 2021).

Escherichia coli enterotoksigenik (ETEC) dicirikan oleh kemampuannya menghasilkan enterotoksin yang bersifat labil terhadap panas (LT) dan/atau stabil terhadap panas (ST). Kedua gen penyandi toksin tersebut, yaitu *elt* dan *est*, merupakan penanda utama bagi strain patotipe dominan penyebab diare. Toksin LT dan ST yang disekresikan oleh ETEC dapat mengaktifkan produksi nukleotida siklik di sel epitel usus, sehingga menyebabkan peningkatan sekresi air, garam, dan

elektrolit ke lumen intestinal yang berujung pada timbulnya diare pada manusia maupun hewan. Namun demikian, toksin ST dilaporkan lebih sering ditemukan pada ETEC yang menginfeksi hewan dibandingkan manusia (Zhang *dkk*., 2022).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Setianingsih dkk., 2021) menunjukan 3 dari 15 sampel positif mengandung *E. coli* diare (DEC). (0,13%) sampel mengandung galur ETEC, dan (0,07%) sampel mengandung galur EPEC dan EAEC dengan menggunakan metode PCR (Setianingsih dkk., 2023).

Untuk mengidentifikasi bakteri *escherchia coli* dapat memakai metode kultur, metode serologi, serta metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dari antara ketiga metode tersebut, metode PCR merupakan metode molekuler yang memiliki akurasi spesifitasnya dan seleksifitas yang lebih tinggi dibandingkan metode yang lainnya dan PCR merupakan salah satu teknik deteksi molekuler yang digunakan untuk mengidentifikasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Metode ini memiliki berbagai keunggulan, antara lain mampu menghasilkan amplifikasi produk secara cepat, akurat, dan spesifik, hanya memerlukan jumlah sampel yang sedikit, serta dapat mengatasi keterbatasan metode diagnostik konvensional seperti kultur (Hikmah dkk., 2021).

Dari latar belakang, maka penelitian ini diakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Esherchia coli Enterotoxigenic (*ETEC) pada anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). sehingga pada pemeriksaan ini menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction.*

B. Rumusan Masalah

Apakah ditemukan bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) pada balita dan anak-anak penderita diare dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengidentifikasi ada tidaknya bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) pada balita dan anak-anak penderita diare dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

a) Untuk penelitian

Hasil penelitian ini bisa menambah ilmu pengetahuan, wawasan serta pengalaman penulis dalam mengetahui Deteksi Bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) pada balita dan anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) di HUM RC makassar.

b) Untuk masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai deteksi Bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) pada balita dan anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerae Chain Reaction* (PCR) di HUM RC makassar.

2. Manfaat praktis

Diharapakan dapat menambah pengetahuan kepada tenaga medis khususnya Ahli Teknologi Laboratorium Medis dalam pemeriksan Bakteri *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Diare

1. Definisi Diare

Penyakit diare merupakan gangguan pada saluran pencernaan yang ditandai dengan meningkatnya frekuensi buang air besar disertai perubahan konsistensi tinja menjadi lebih cair. Kondisi ini dapat dialami oleh anak-anak maupun orang dewasa. Diare diketahui sebagai penyebab kematian tertinggi kedua pada anak di bawah usia lima tahun, dengan perkiraan 525.000 kematian balita setiap tahunnya dan sekitar 1,7 juta kasus diare terjadi setiap tahun di seluruh dunia (Antara dkk., 2024).

Diare juga diartikan sebagai kondisi meningkatnya jumlah buang air besar akibat infeksi, di mana seorang anak dikategorikan mengalami diare apabila volume tinja melebihi 10 ml/kg per hari. Tinja biasanya berbentuk cair, mengandung banyak air, dan terjadi lebih dari tiga kali dalam 24 jam (Anggraini & Kumala, 2022).

Definisi lain menyebutkan diare sebagai buang air besar dengan konsistensi lebih encer dari normal, berlangsung berulang kali atau lebih dari tiga kali dalam 24 jam, yang disebabkan oleh infeksi mikroorganisme. Penyakit ini dapat menyerang semua kelompok usia, baik anak-anak maupun orang dewasa (Utami dkk., 2023).

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan utama di negara berkembang, termasuk Indonesia. Selain menjadi penyebab kematian, diare juga

memicu masalah gizi buruk yang berpotensi berujung pada kejadian luar biasa (KLB). Faktor penyebab diare umumnya adalah bakteri yang mencemari makanan atau minuman melalui kontaminasi tinja maupun kontak langsung dengan penderita (Lianti dkk., 2023).

Setiap tahunnya, diare menyebabkan kematian sekitar dua miliar anak di dunia, dengan 525.000 kematian terjadi pada balita. Kelompok balita menjadi yang paling rentan, terutama pada dua tahun pertama kehidupan, dan angka kejadian cenderung menurun seiring bertambahnya usia anak (Ikhtiar dkk., 2022).

Menurut *World Health Organization* (WHO), diare adalah keluarnya tinja berbentuk cair lebih dari tiga kali sehari atau lebih sering dari kebiasaan normal seseorang. Penyakit ini pada dasarnya dapat dicegah melalui pemanfaatan sumber air minum yang aman, serta penerapan kebersihan dan sanitasi yang baik (Syadat dkk., 2022).

Pada anak-anak, selain frekuensi buang air besar, konsistensi tinja juga menjadi indikator penting karena bayi cenderung memiliki frekuensi buang air besar yang lebih sering, bisa mencapai lima kali sehari (Ramadhia & Luthfiyatil, 2023).

Penyebab diare sering kali berhubungan dengan pengelolaan sampah yang tidak memadai, kurangnya ketersediaan air bersih, dan sistem pembuangan limbah yang buruk. Faktor perilaku juga turut memengaruhi, misalnya kebiasaan tidak mencuci tangan setelah buang air kecil maupun buang air besar, yang dapat

menyebabkan kontaminasi makanan ketika disajikan maupun dikonsumsi (Simanjuntak dkk., 2024).

Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS) merupakan salah satu upaya penting dalam pencegahan penyakit menular, termasuk diare, yang banyak menyerang balita dan anak-anak. Penerapan PHBS, seperti mencuci tangan dengan sabun sebelum makan dan setelah buang air besar, mengonsumsi air bersih, menjaga kebersihan makanan, serta membuang sampah pada tempatnya, berperan besar dalam memutus rantai penularan bakteri penyebab diare, termasuk *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC). Melalui penerapan PHBS yang berkelanjutan, masyarakat diharapkan memiliki kesadaran dan kebiasaan hidup sehat yang tidak hanya melindungi diri sendiri, tetapi juga mencegah penyebaran penyakit di lingkungan sekitar (Mahtuti, 2024).

Faktor penyebab diare pada balita meliputi aspek sosiodemografi, faktor ibu, kondisi lingkungan, serta karakteristik balita itu sendiri. Penyakit ini umumnya dipicu oleh makanan atau minuman yang terkontaminasi mikroorganisme, seperti *Rotavirus* dan *Escherichia coli*. Kontaminasi tersebut biasanya terjadi melalui jalur fecal-oral yang dipengaruhi buruknya sanitasi lingkungan (Abidin dkk., 2022).

Diare akibat *Escherichia coli* termasuk diare non-inflamasi yang umumnya bersumber dari air atau makanan terkontaminasi. Bakteri *E. coli* merupakan anggota *Enterobacteriaceae*, bersifat Gram negatif berbentuk batang, dan secara normal hidup di usus manusia maupun hewan. Namun, beberapa strain seperti *E. coli enterotoksigenik* (ETEC) bersifat patogen dan menjadi penyebab utama

diare, terutama pada balita di negara berkembang. Infeksi ini sering terjadi akibat sanitasi buruk dan rendahnya PHBS, di mana toksin yang dihasilkan ETEC memicu sekresi cairan berlebih di usus, menyebabkan dehidrasi dan kehilangan elektrolit. Selain ETEC, patogen lain seperti *Shigella, Salmonella,* dan *Campylobacter* juga dapat menyebabkan diare (Antara dkk., 2024).

Selain *E. coli*, terdapat berbagai bakteri, parasit, dan virus lain yang dapat menyebabkan diare. Jenis bakteri yang paling sering menjadi penyebab diare secara global, antara lain *E. coli* (10–25%), *Shigella* (10%), *Salmonella* (3%), dan *Campylobacter* (3–6%) (Antara dkk., 2024).

2. Epidemiologi Diare

Berdasarkan konsep segitiga epidemiologi, faktor host (pejamu) dan faktor lingkungan memiliki peran penting terhadap terjadinya penyakit diare. Pada dasarnya, diare dipicu oleh kebiasaan individu yang kurang memperhatikan kebersihan diri, khususnya kebersihan tangan, serta kondisi lingkungan yang tidak mendukung, seperti pengelolaan sampah yang buruk dan saluran pembuangan air limbah rumah tangga yang tidak memenuhi standar kesehatan. Salah satu upaya pencegahan sederhana yang efektif adalah mencuci tangan dengan benar sesuai persyaratan kebersihan (Syadat dkk., 2022).

Menurut Kementerian Kesehatan RI, faktor yang berkontribusi langsung maupun tidak langsung terhadap kejadian diare meliputi faktor agen, pejamu (host), dan lingkungan. Faktor lingkungan seperti sarana air bersih dan tempat pembuangan tinja yang tidak memenuhi syarat akan mempermudah penyebaran penyakit, terutama jika diiringi perilaku manusia yang tidak sehat. Interaksi

antara faktor lingkungan yang terkontaminasi mikroorganisme penyebab diare dan kebiasaan masyarakat yang kurang higienis menjadi penyebab utama penularan diare (Simanjuntak dkk., 2024).

Beberapa faktor lingkungan yang berkaitan dengan kejadian diare meliputi ketersediaan air minum bersih, penggunaan jamban sehat, serta sistem pembuangan limbah rumah tangga yang memadai. Penularan dapat terjadi melalui kontak langsung antarindividu dengan kebersihan pribadi yang buruk, maupun melalui konsumsi air yang telah tercemar tinja manusia atau hewan yang mengandung mikroorganisme penyebab diare (Ode dkk., 2022).

Dari sisi host, kebiasaan tidak mencuci tangan menggunakan sabun baik sebelum makan maupun setelah buang air besar merupakan perilaku berisiko yang dapat menyebabkan kontaminasi penyakit. Sementara dari sisi lingkungan, ketersediaan jamban sehat, sistem pengelolaan sampah, saluran pembuangan air limbah, serta kualitas sumber air sangat memengaruhi tingkat risiko diare (Syadat dkk., 2022).

Jamban yang tidak memenuhi standar kesehatan mudah diakses oleh vektor penyakit, sedangkan pengelolaan sampah dan limbah yang buruk serta penggunaan sumber air yang tercemar juga berkontribusi terhadap meningkatnya kejadian diare (Syadat dkk., 2022).

3. Klasifikasi Diare

a. Diare akut sering disebut juga sebagai gastroenteritis, yaitu kondisi diare yang muncul secara mendadak dan berlangsung kurang dari 14 hari. Gejala yang dapat menyertai meliputi mual, muntah, demam, serta nyeri

perut. Sekitar 80% kasus diare akut disebabkan oleh infeksi virus, sementara infeksi bakteri umumnya ditandai dengan munculnya diare berdarah (Putri, 2022)

b. Diare kronik ditandai dengan keluarnya tinja yang cair disertai kehilangan elektrolit dalam jumlah besar. Kondisi ini ditunjukkan dengan frekuensi buang air besar yang terus meningkat, konsistensi tinja yang semakin lembek, atau volume tinja yang bertambah selama lebih dari 14 hari (KANDOU, 2023)

4. Patogenesis diare

a. Diare akut terjadi ketika jasad renik yang masih hidup masuk ke dalam usus halus setelah berhasil melewati hambatan asam lambung. Mikroorganisme tersebut kemudian berkembang biak di dalam usus halus dan menghasilkan toksin diaregenik. Toksin ini memicu terjadinya hipersekresi cairan di usus, yang selanjutnya menyebabkan timbulnya diare (Asfar & Akbar, 2024)

b. Diare kronis memiliki mekanisme yang lebih kompleks, dengan penyebab yang meliputi infeksi bakteri maupun parasit, gangguan malabsorbsi, kondisi malnutrisi, serta faktor-faktor lain yang memengaruhi fungsi pencernaan (Anggraini & Kumala, 2022).

5. Penyebab diare

Penyebab paling umum diare pada anak adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus, maupun parasit. Ketika kebersihan tangan tidak terjaga dengan baik, kontaminasi mudah terjadi, terutama saat anak sering buang air besar sehingga penularan semakin mungkin terjadi. Anak yang tidak memiliki

kebiasaan mencuci tangan berisiko tinggi karena kuman dapat menempel pada benda yang mereka sentuh (Fitrah & Neherta, 2024).

Kuman dapat masuk ke tubuh anak sehat apabila mereka tidak mencuci tangan sebelum makan atau sering memasukkan tangan ke mulut. Selain itu, makanan yang terkontaminasi juga dapat menjadi media penularan kuman. Oleh sebab itu, perhatian terhadap keamanan pangan menjadi hal yang sangat penting (Asfar & Akbar, 2024)

Diare berulang pada anak juga dapat disebabkan oleh konsumsi air minum yang terkontaminasi bakteri dari kotoran. Untuk mencegah hal tersebut, pastikan air minum dipanaskan hingga mendidih serta berasal dari sumber air yang bersih dan aman (Syadat dkk., 2022).

B. Tinjauan Umum *Escherchia coli*

Escherichia coli atau *E. coli* merupakan salah satu bakteri Gram negatif yang termasuk flora normal pada saluran pencernaan manusia maupun hewan, serta memiliki peran penting dalam proses pencernaan. Bakteri yang pertama kali ditemukan oleh Theodor *Escherich* ini umumnya terdapat pada tinja dan dapat menimbulkan gangguan kesehatan seperti diare, muntaber, serta berbagai masalah pencernaan lainnya (Sitaba dkk., 2022). *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif, dan termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini hidup di usus namun juga mampu berkembang biak di lingkungan sekitarnya (Darmawi dkk., 2022).

E. coli dikenal sebagai salah satu penyebab utama diare baik yang bersifat endemik maupun epidemik di berbagai belahan dunia. Secara genetik, bakteri ini

memiliki variasi yang luas dan menginfeksi jutaan orang setiap tahunnya. *E. coli* bahkan dilaporkan sebagai enteropatogen yang paling sering diisolasi dari sampel feses penderita diare. Berdasarkan tipe diare, kasus tersebut umumnya disebabkan oleh *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) dan *Enteroaggregative E. coli* (EAEC), yang keduanya memiliki onset gejala cepat, berkisar antara 8 hingga 48 jam setelah paparan (Rasyid dkk., 2020).

Selain *E. coli* tipe enterotoksigenik, bakteri lain yang juga menjadi penyebab diare adalah *Shigella sp.* dan *Staphylococcus aureus*. *Shigella sp.* menghasilkan toksin yang dapat mengkontaminasi makanan, lalu masuk ke usus halus dan berkembang biak sebelum menuju usus besar. Bakteri ini menginvasi mukosa usus, merusak sel, dan menghasilkan enterotoksin yang memicu infeksi hingga kematian sel pada jaringan usus halus (Sari dkk., 2023).

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, diketahui bahwa strain *E. coli* penyebab diare terbagi menjadi enam kategori berdasarkan mekanisme patogeniknya, yaitu *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterohaemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteroaggregative E. coli* (EAEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), dan *Diffusely Adherent E. coli* (DAEC) (Antara dkk., 2024).

2. Jenis Pemeriksan Escherchia coli

a. Kultur

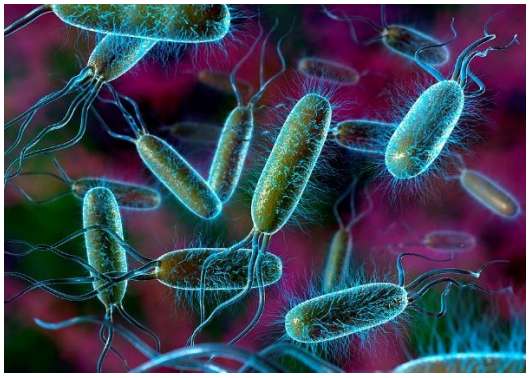
Sampel yang dimasukkan ke dalam medium transport *Carry-Blair* terlebih dahulu diinokulasikan ke dalam medium pengaya *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah itu, satu ose dari kultur tersebut diinokulasikan ke cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), serta *Sorbitol MacConkey Agar* (SMCA), kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama ±18–24 jam. Pertumbuhan koloni yang muncul pada media isolasi selanjutnya diamati dan diperiksa secara mikroskopis untuk mengetahui karakteristik bakteri, lalu dilanjutkan dengan pengujian biokimia (Rizky dkk., 2021).

b. Uji Mikroskopis

Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat sediaan kemudian dilakukan pewarnaan Gram. Bakteri yang menunjukkan warna merah dikategorikan sebagai bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri yang berwarna ungu dikategorikan sebagai bakteri Gram positif (Rizky dkk., 2021).

3. Klasifikasi Esherchia coli

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang kecil yang tumbuh optimal pada media *MacConkey Agar* (MCA). Koloninya berbentuk bulat dan cembung, permukaannya halus dengan tepi yang jelas, serta mampu memfermentasi laktosa. Bakteri ini memiliki ukuran panjang sekitar 2 μm dengan diameter 0,7 μm dan lebar berkisar antara 0,4–0,7 μm.



Sumber: Ilustrasi oleh Fine Art America(2023)

Toksonomi dari *Esherchia coli* yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : Escherichia coli

Bakteri senantiasa menghadapi kondisi lingkungan yang berubah-ubah, sehingga memerlukan kemampuan beradaptasi untuk dapat bertahan hidup dan berkembang biak. Pada bakteri Gram negatif, adaptasi ini didukung oleh struktur dinding sel yang kompleks, terdiri atas dua membran, yaitu membran dalam dan membran luar yang melindungi sitoplasma. Dinding selnya tersusun dari lapisan tunggal biopolimer peptidoglikan (PG), yang terbentuk dari unit berulang

disakarida berupa asam N-asetilglukosamin dan N-asetilmuramat (GlcNAc-MurNAc) yang saling berikatan melalui peptida pendek, membentuk struktur seperti jaring asimetris. Struktur ini juga dilengkapi oleh fosfolipid dan lipopolisakarida (LPS) sebagai komponen utama (KHOIRUN NIHAYATI, 2023)



Gambar 1 MORFOLOGI *E COLI.*

Sumber: (Anggraeni, 2023)

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm, diameter 0,7 μm, dan lebar 0,4–0,7 μm. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, dan dapat ditemukan dalam bentuk sel tunggal, berpasangan, atau rantai pendek, serta umumnya tidak berkapsul. Koloni *E. coli* berbentuk bundar, cembung, halus, dan memiliki tepi yang jelas. Bakteri ini tidak memiliki inti sel, organel bermembran, maupun sitoskeleton, tetapi memiliki organel eksternal berupa pili, yaitu filamen tipis yang berfungsi untuk menangkap substrat spesifik, serta flagel yang berbentuk filamen lebih panjang untuk membantu pergerakan. Proses reproduksi *E. coli* dapat berlangsung dalam kondisi aerob maupun anaerob fakultatif (Bria dkk., 2022)

C. Patogenesis *Esherchia coli*

1. *E.coli enterotoksigenik* (ETEC)

ETEC memiliki mekanisme serupa dengan EPEC dan EHEC, yaitu menginduksi diare berair melalui sekresi enterotoksin yang bersifat labil terhadap panas (LT) dan/atau stabil terhadap panas (ST) (Antara dkk., 2024).

ETEC memproduksi dua jenis enterotoksin utama: toksin yang tidak tahan panas (LT-I dan LT-II) serta toksin yang stabil terhadap panas (STa dan STb). LT-II tidak berperan dalam penyakit pada manusia, sedangkan LT-I merupakan toksin tipe AB yang terdiri atas satu subunit A dan lima subunit B. Subunit B LT-I berikatan dengan reseptor gangliosida GM1 dan glikoprotein lain pada sel epitel usus, sementara subunit A bergerak melintasi membran vakuola dan berikatan dengan protein Gs yang mengontrol adenilat siklase. Interaksi ini meningkatkan kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP), yang memicu sekresi ion klorida berlebih serta menurunkan penyerapan natrium dan klorida (Ummah, 2023).

Perubahan tersebut menyebabkan timbulnya diare cair, sekaligus merangsang sekresi prostaglandin dan sitokin inflamasi yang memperparah kehilangan cairan. Sementara itu, toksin STa yang tahan panas merupakan peptida berukuran kecil yang berikatan dengan reseptor transmembran guanilat siklase, sehingga meningkatkan sekresi *cyclic*

guanosine monophosphate (cGMP) yang juga mengakibatkan hipersekresi cairan (Ummah, 2023).

2. *E.coli Enteropatogenik* (EPEC)

Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) menginfeksi dengan cara menempel pada sel epitel usus halus, merusak struktur normal mikrovili, lalu memicu proses penempelan spesifik yang menyebabkan terbentuknya lesi. Infeksi ini diikuti gangguan sitoskeletal, respons inflamasi, serta diare, yang dimulai melalui proses penempelan protein translokasi menggunakan sistem sekresi tipe III dan diakhiri dengan pembentukan struktur alas pada sel inang (Antara dkk., 2024).

Tahap awal infeksi ditandai dengan perlekatan bakteri pada permukaan sel epitel usus halus bersamaan dengan terjadinya kerusakan mikrovili (effacement), yang menghasilkan lesi histopatologis khas dikenal sebagai *Attachment/Effacement* (A/E). Pembentukan mikrokoloni ini dimediasi oleh pili pembentuk bundel (*bundle-forming pili* atau BFP) yang dikodekan oleh plasmid (Ummah, 2023).

Tahap selanjutnya melibatkan gen-gen yang berada pada pulau patogenisitas yang disebut “lokus penipisan enterosit,” yang terdiri atas lebih dari 40 gen berperan dalam proses penempelan serta penghancuran sel inang (Ummah, 2023).

Sistem sekresi tipe III berfungsi memasukkan protein bakteri aktif ke dalam sel inang. Salah satu protein tersebut adalah Tir (*translocated intimin receptor*), yang kemudian berperan sebagai reseptor bagi adhesin

bakteri, yaitu intimin. Interaksi antara Tir dan intimin memicu polimerisasi aktin serta akumulasi elemen sitoskeletal di bawah lokasi bakteri menempel, yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan hingga kematian sel epitel (Antara dkk., 2024).

3. *Enteroagregatif E.coli* (EAEC)

Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC) menempel pada epitel usus halus maupun usus besar dengan membentuk biofilm tebal serta menghasilkan enterotoksin sekretori dan sitotoksin (Antara dkk., 2024). Beberapa strain EAEC diketahui dapat menyebabkan diare kronis yang berdampak pada gangguan pertumbuhan bahkan keterbelakangan mental pada bayi. Identifikasi bakteri ini dapat dilakukan melalui karakterisasi autoaglutinasi yang dimediasi oleh *aggregative adherence fimbriae I* (AAF/I) sebagai adhesin utama (Ummah., 2023).

EAEC menempel pada permukaan usus dan merangsang produksi lendir yang memicu pembentukan biofilm kental. Biofilm ini berfungsi melindungi koloni bakteri dari paparan antibiotik maupun serangan sel fagositik. Selain itu, EAEC juga menghasilkan racun enteroagregatif tahan panas serta toksin yang dikodekan oleh plasmid, yang keduanya berperan dalam meningkatkan sekresi cairan dan memicu terjadinya diare (Ummah., 2023).

4. *E.coli Enterohemoragik* (EHEC)

Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC) juga menyebabkan proses penempelan dan pembentukan lesi, namun lokasinya terjadi pada usus besar. Perbedaan mendasar EHEC dibandingkan strain lain adalah kemampuannya memproduksi *Shiga toxin* (Stx), yang kemudian dapat diserap secara sistemik dan menimbulkan kondisi berbahaya yang mengancam jiwa (Antara dkk., 2024).

EHEC berhubungan erat dengan sindrom uremik hemolitik (*Hemolytic Uremic Syndrome*/HUS), yang ditandai oleh gagal ginjal akut, trombositopenia (defisiensi trombosit), serta hemolisis intravaskular berupa anemia hemolitik mikroangiopati. Kondisi ini memperberat perjalanan penyakit. Salah satu serotipe EHEC yang paling umum adalah O157:H7, yang memproduksi toksin Shiga tipe Stx-1 dan Stx-2. Kedua toksin ini termasuk tipe AB, di mana subunit B berikatan dengan glikolipid spesifik seperti *globotriasylceramide* (Gb3) yang terdapat pada sel endotel ginjal maupun vili usus inang (Ummah., 2023).

Setelah masuk ke dalam sel, subunit A toksin ini akan terinternalisasi dan terpecah, lalu berikatan dengan 28S rRNA sehingga menghambat sintesis protein. Strain EHEC dianggap lebih patogen apabila memiliki kombinasi produksi toksin Shiga dan aktivitas *Attaching and Effacing* (A/E) (Ummah, 2023).

5. *E.coli* enteroinvasif (EIEC)

Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) menginfeksi dengan cara menyerang sel epitel kolon, melisis fagosom, dan bergerak di dalam sel dengan memanfaatkan nukleasi mikrofilamen aktin. Pergerakan bakteri ini dapat terjadi secara lateral melalui penyebaran langsung dari sel ke sel, atau keluar dari satu sel kemudian masuk kembali ke membran plasma basolateral sel lain (Antara dkk., 2024).

Beberapa serotipe EIEC yang bersifat patogen antara lain O124, O143, dan O164. Infeksi bakteri ini menimbulkan kerusakan pada epitel kolon, sehingga gejalanya berupa diare encer yang dapat berkembang menjadi disentri, disertai demam, kram perut, serta ditemukannya darah dan leukosit pada tinja. Proses invasi EIEC dimediasi oleh gen *pInv* yang berperan penting dalam penetrasi ke sel inang (Ummah, 2023).

Setelah masuk ke dalam sel, EIEC menyebabkan lisis vakuola fagositik dan berkembang biak di dalam sitoplasma. Pembentukan ekor aktin membantu bakteri bergerak di dalam sitoplasma dan menembus ke sel epitel sekitarnya. Kerusakan sel epitel yang ditimbulkan, ditambah stimulasi sitokin inflamasi oleh bakteri, memicu terjadinya ulserasi pada kolon (Pokharel et al., 2023).

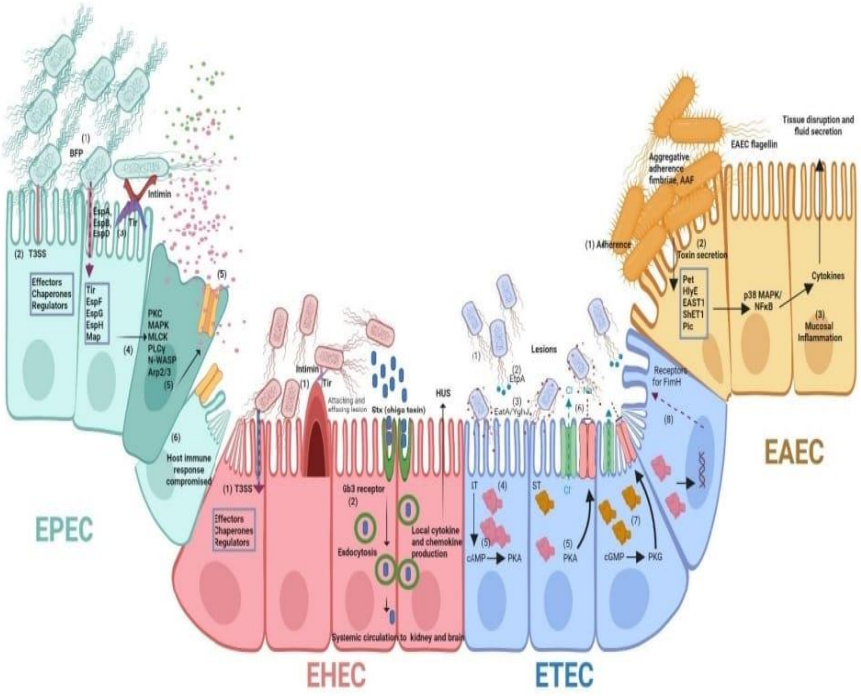
6. *E.coli* yang melekat secara difus (DAEC)

Diffusely Adherent Escherichia coli (DAEC) memicu transduksi sinyal khas pada enterosit usus halus, yang ditandai dengan terbentuknya

proyeksi seluler memanjang menyerupai jari-jari yang kemudian menyelubungi bakteri tersebut (Antara dkk., 2024).

DAEC diidentifikasi sebagai patotipe heterogen dari E. coli yang ditandai dengan pola difus pada sel Hep-2 dan HeLa, DAEC dikaitkan dengan diare pada anak-anak berusia 1,5 dan 5 tahun, Diare berair yang disebabkan oleh DAEC dapat menjadi lebih persisten anak-anak lebih gampang. Orang dewasa adalah pembawa strain DAEC yang asimtomatik yang berkontribusi terhadap beberapa penyakit radang usus kronis, termasuk penyakit Crohn, penyakit celiac, dan penyakit radang usus (Yang dkk., 2021).

Patogenesis DAEC dimulai dengan perlekatan patogen ke sel inang tertentu. Perlekatan strain DAEC ke saluran kemih dan sel epitel enterik memungkinkan mereka untuk menahan pembersihan oleh mikronutrien dan peristaltik, masingmasing, Perlekatan tersebut juga memungkinkan DAEC untuk berinteraksi dengan sel inang, melepaskan dan mengirimkan racun, dan memicu peristiwa pensinyalan dalam sel inang. DAEC menempel dan melekat pada sel inang menggunakan pola non-klasik dan dimediasi oleh adhesin Afa/Dr (Pokharel dk., 2023).



Gambar 2 Patogenesis

Sumber: (Pokharel dkk., 2023)

Patogenesis gabungan EPEC, EHEC, ETEC, dan EAEC. terkenal karena menghasilkan lesi *attaching and efacing* (A/E)" yang dihasilkan ketika bakteri melekat erat pada sel epitel usus. Pembentuk berkas (BFP) membantu perlekatan antar bakteri serta perlekatan pada sel epitel. Galur ETEC menempel pada sel epitel usus dengan bantuan satu atau lebih flagela peritrik atau faktor kolonisasi fibrilar (CF) yang menyediakan akses bakteri ke permukaan epitel. Bakteri mengirimkan LT dan ST yang telah terbentuk sebelumnya ke reseptornya masing-masing pada sel inang. ETEC yang mengekspresikan fimbria tipe 1 yang mendorong adhesi ETEC. EAEC melekat pada epitel usus halus dan usus besar dalam biofilm tebal, melepaskan enterotoksin dan sitotoksin, serta menginduksi inflamasi mukosa. Selama tahap terakhir infeksi EPEC, pembentukan pedestal, penghapusan enterosit dan perlekatan bakteri yang intim ke sel inang terjadi. EPEC menunjukkan bahwa EPEC awalnya melekat pada sel

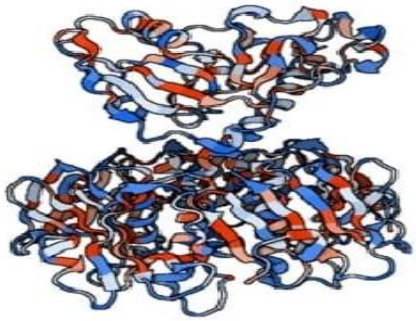
epitel melalui interaksi intimin dengan reseptor intimin yang ditranslokasi yang dimasukkan ke dalam membran (Pokharel dkk., 2023).

D. Tinjuan Umum Tentang ETEC (Enterotoksigenik)

1. Definisi ETEC

ETEC didefinisikan oleh produksi toksin tahan panas (ST) dan/ atau toksin labil panas (LT), dan ST mencakup dua subtipe, ST manusia (STh), STh merupakan enterotoksin yang paling umum dikaitkan dengan diare manusia. Selain enterotoksin, sebagian besar isolat ETEC mengekspresikan satu atau lebih faktor kolonisasi (CF) yang dikodekan oleh plasmid, yang merupakan struktur permukaan fimbria atau afimbria yang memungkinkan perlekatan pada epitel usus (Yang dkk., 2021).

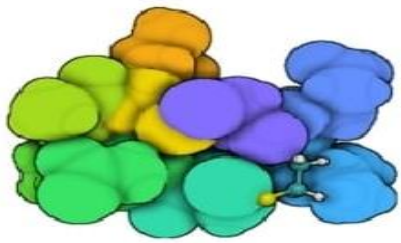
Setidaknya 27 CF yang diketahui atau diduga telah diidentifikasi hingga saat ini, termasuk CF baru, CS30 yang diidentifikasi melalui analisis genomik, dan CF yang paling umum adalah antigen faktor kolonisasi I (CFA/I) dan antigen (Yang dkk., 2021).



Gambar 3 Struktur LT ETEC

Sumber: (Pokharel dkk., 2023)

Struktur LT, LT adalah enterotoksin berbobot molekul tinggi yang dikodekan oleh plasmid virulensi eltAB, dan secara struktural dan fungsional identik dengan toksin kolera. LT adalah molekul heteroheksamerik yang terdiri dari satu subunit A yang berfungsi sebagai komponen katalitik dan satu subunit pentamer B yang bertanggung jawab untuk mengikat glikokonjugat pada epitel. Subunit A memiliki dua domain yang dihubungkan oleh ikatan disulfida (Pokharel dkk., 2023).



Gambar 4 Struktur LT ETEC

Sumber: (Pokharel dkk., 2023)

Struktur dan fitur utama ST, ST-ETEC merupakan penyebab utama diare pada bayi dan anak-anak di negara-negara terbelakang. ST adalah peptida kecil non-imunogenik yang berlawanan dengan LT, dan diklasifikasikan menjadi dua kategori berdasarkan struktur dan fungsinya,

yang dikenal sebagai Sta. STa mengandung enam residu sistein untuk membentuk tiga ikatan disulfida dan memiliki kemiripan, keduanya mengandung dua ikatan disulfida (Pokharel dkk., 2023).

2. Jenis-jenis *enterotoksigenik* (ETEC)

Diare dapat disebabkan oleh beberapa jenis mikroorganisme seperti *enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC), Vibrio cholerae, dan rotavirus* yang menyebabkan diare akut cair*, Shigella sp, Campylobacter, Salmonella, Schistosoma, mansoni, Entamoeba hystolityca* adalah bakteri dan parasite penyebab diare (Antara dkk., 2024).

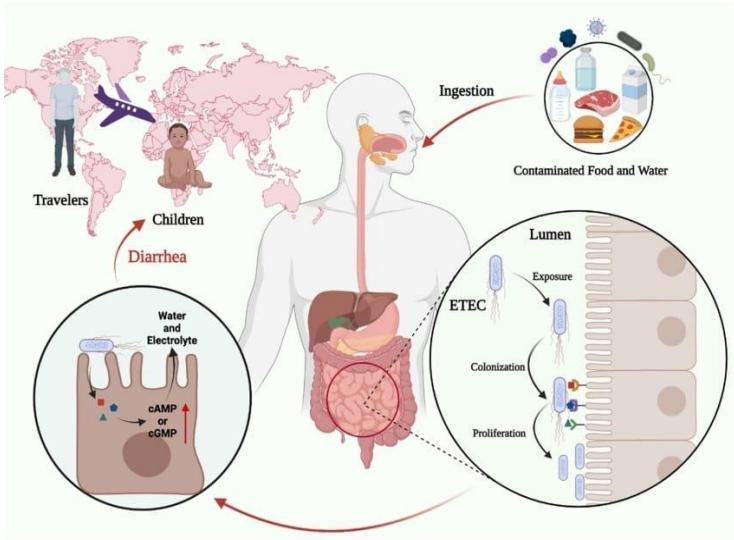
Beberapa bakteri tersebut, seperti *E.coli* dan *Shigella* juga dapat menyebabkan diare persisten atau diare kronis, Terdapat banyak spesies dari bakteri, parasit maupun virus yang juga dapat menyebabkan penyakit diare. Jenis bakteri yang paling banyak menjadi penyebab diare di dunia secara berurutan adalah *E.coli* 10% sampai 25%, *Shigella* 10%, *Salmonella* 3%, *Campylobacter* 3 sampai 6% (Zhang dkk., 2022).

Bakteri seperti *Shigella* dan *Escherichia coli enterotoksigenik* (ETEC) yang menghasilkan toksin tahan panas adalah salah satu patogen terpenting yang terkait dengan diare sedang hingga berat (Antara dkk., 2024).

3. Karakteristik *enterotoksigenik* (ETEC)

manifestasi klinisnya ditandai dengan diare berair akut yang menyebabkan dehidrasi cepat dan lemas dalam beberapa jam, yang mirip dengan manifestasi klinis kolera, gen ETEC diikuti oleh berbagai gejala, termasuk muntah, kram perut, sakit kepala, dan, dalam kasus yang jarang

terjadi, demam ringan. Beberapa temuan yang ada menunjukkan bahwa infeksi gen ETEC mungkin berhubungan dengan beberapa gejala sisa, seperti peningkatan risiko penyakit jantung pada anak-anak (Zhang dkk., 2022).



Gambar 5 Karakteristik Infeksi Gen ETEC.

Sumber: (Zhang dkk., 2022)

Karakteristik Infeksi ETEC. ETEC merupakan patogen enterik utama yang menyebabkan diare pada pelancong dan anak-anak di negara berkembang. Infeksi ETEC disebabkan oleh konsumsi makanan dan air yang terkontaminasi, masuknya ETEC melalui saluran pencernaan, dan akhirnya kolonisasi di usus halus. Ketika terpapar di usus halus, ETEC akan berkolonisasi pada sel epitel usus melalui sel-sel fibroblas, dan ETEC berproliferasi pada epitel usus setelah kolonisasi. ETEC menghasilkan dan

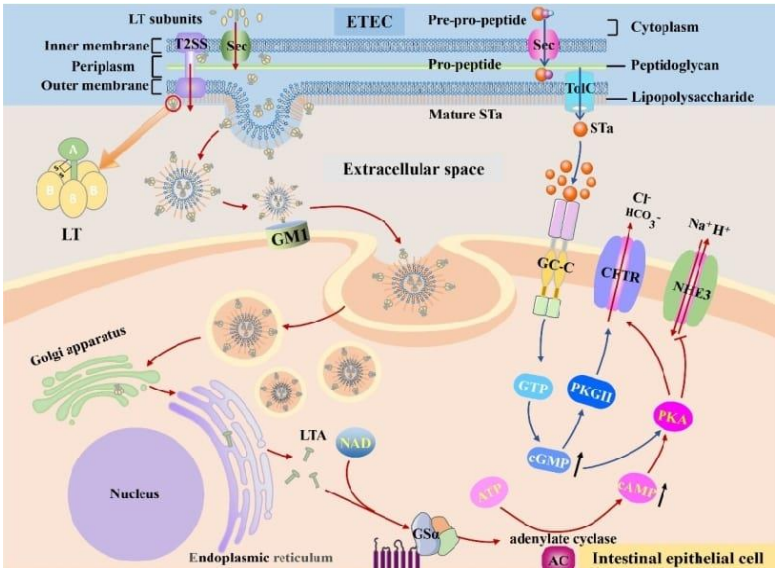
melepaskan enterotoksin yang labil terhadap panas (LT) dan/atau stabil terhadap panas (ST) untuk menimbulkan efek toksik (Zhang dkk., 2022).

4. Patogenesis Gen ETEC

Escherichia coli enterotoksigenik (ETEC) diketahui mampu menghasilkan dua jenis enterotoksin yang berperan penting dalam menimbulkan gejala diare, yaitu toksin labil panas (LT) dan toksin stabil panas (ST). Kedua toksin ini merupakan faktor virulensi utama yang menyebabkan gangguan fisiologis pada saluran pencernaan. Toksin LT merupakan toksin bertipe AB yang tersusun atas satu subunit A dan lima subunit B. Subunit B berfungsi untuk melekatkan toksin pada reseptor spesifik di permukaan sel epitel usus, yaitu gangliosida GM1 dan beberapa jenis glikoprotein. Setelah proses pengikatan terjadi, subunit A akan masuk ke dalam sel dan berinteraksi dengan protein Gs yang mengontrol aktivitas enzim adenilat siklase. Aktivasi enzim ini menyebabkan peningkatan kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) di dalam sel epitel usus, sehingga sekresi ion klorida meningkat sementara penyerapan natrium dan air menurun. Akibatnya, terjadi peningkatan sekresi cairan ke lumen usus yang menimbulkan diare cair (Zhang dkk., 2022).

Sedangkan subunit A bergerak melintasi membran vakuola, berikatan dengan protein Gs yang mengontrol adenilat siklase. Karena interaksi tersebut, kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) meningkat, yang menyebabkan sekresi klorida lebih banyak, dan penyerapan natrium dan klorida menurun (Ummah, 2023).

Selain itu, peningkatan cAMP juga dapat memicu sekresi prostaglandin dan pelepasan sitokin inflamasi yang memperparah kehilangan cairan dan elektrolit dari tubuh. Di sisi lain, toksin ST yang tahan terhadap panas, terutama STa, bekerja dengan cara berbeda. Toksin ini berupa peptida kecil yang berikatan dengan reseptor transmembran guanilat siklase pada permukaan sel epitel, yang kemudian mengaktifkan pembentukan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). Peningkatan kadar cGMP akan mengganggu keseimbangan transport ion dan air di usus, menyebabkan hipersekresi cairan ke lumen intestinal. Kombinasi efek toksin LT dan ST inilah yang menjadi mekanisme utama terjadinya diare akibat infeksi ETEC pada balita dan anak-anak (Ummah, 2023).



Gambar 6 Patogenesis ETEC

Sumber: (Zhang dkk., 2022)

ETEC terbentuk di epitel usus halus melalui sel-sel lemak (CF), aktivitas penghantaran enterotoksin yang efisien selanjutnya dimulai. ST

dan LT ETEC mengaktifkan adenilil dan guanilat siklase yang menyebabkan tingginya kadar CAM dan cGMP, yang merangsang sekresi air dan elektrolit di lumen usus (Zhang dkk., 2022).

C. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Asal Usul PCR

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 (Susilo dkk., 2024).

Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ini dapat menghasilkan produk atau hasil yang lebih baik daripada metode konvensional karena metode tersebut memerlukan waktu yang lama, jumlah sampel banyak, dan pembacaan hasil yang tidak tepat karna terjadinya kontaminasi bakteri lain karna kurang steril dalam pengerjaannya (Setia dkk., 2020).

PCR adalah teknik biologi molekuler yang banyak digunakan dan memungkinkan para ilmuwan untuk mengandakan/mengamplifikasi segmen DNA tertentu yang melibatkan aktifitas enzim DNA *polymerase.* Proses aktifitas enzim ini melibatkan serangkaian perubahan suhu untuk denaturasi, penempelan/annaelling, dan memperpanjang untaian DNA. Amplifikasi menghasilkan jumlah secara eksponensial pada DNA target (Susilo dkk., 2024).



Gambar 7 alat *Polymerase Chain Reaction*

Sumber: (Lorenz dkk., 2023)

3. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Pemisahan / Denaturasi DNA Template

   Denaturasi adalah proses pemisahan DNA dari doubel strand menjadi singel stand. Proses denaturasi biasanya dilakukan pada suhu 94 °C atau 95 °C

2. Penempelan/ Annealing Primer

   DNA yang terpisah pada proses denaturasi dan menjadi single strand selanjutnya akan berpasangan dengan primer yang susunannya komplemen dengan DNA tadi

3. Pemanjangan / Extension

   Hasil penempelan antara primer dan DNA template selanjutnya akan memperpanjang diri/ bereplikasi berkali-kali dengan bantuan enzim DNA polimerase dan dNTPs sebagai sumber nukleotida.

4. Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Komponen pertama yaitu DNA cetakan atau Template DNA memiliki fungsi sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. Komponen kedua yaitu oligonukleotida primer adalah sekuen oligonukleotida pendek (15-25 basa nukleotida) yang mengawali sintensis rantai DNA (Setia dkk., 2020).

Komponen ketiga yaitu Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri atas dATP, dCTP, dGTP dan dTTP, sebagai bahan pensintesis molekul nukleotida. Komponen keempat yaitu DNA polimerase adalah enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis rantai DNA (Setia dkk., 2020).

Menurut penelitian (Kusnadi dkk., 2022) ada beberapa komponen-komponen yang utama untuk melakukan proses PCR yaitu:

1. 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*.

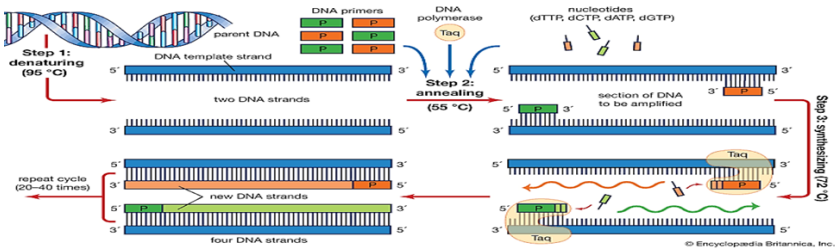
Teknik PCR memerlukan templat DNA dengan kemurnian dan konsentrasi yang tinggi. Salah satu penentu tingkat konsentrasi dan kemurnian DNA adalah metode isolasi DNA. Dengan demikian, pemilihan metode isolasi DNA yang sesuai untuk sampel DNA tertentu menjadi sangat penting. Adanya perbedaan kandungan kontaminan 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.

2. 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.



Gambar 8 Penempelan primer oligonukleotida

Sumber: (Kusnadi dkk., 2022)

3. *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.

4. 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.

5. 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.

5. Faktor-Faktor Kritis Keberhasilan Teknik PCR

Menurut penelitian (Anggryani dkk., 2023) Tidak selamanya teknik PCR yang dilakukan menghasilkan produk PCR seperti yang diinginkan. Perlu dilakukan upaya optimasi dengan mempertimbangkan sejumlah faktor yang dapat menjadi penentu berhasil atau tidaknya teknik PCR yang kita lakukan. Beberapa faktor kritis yang ikut berperan adalah:

1. Peralatan

Peralatan yang dimaksud mencakup thermocyler dan alat pendukung seperti tabung reaksi PCR yang digunakan. Peralatan thermocycler harus secara rutin dicek untuk mengukur keakuratan suhunya, termasuk juga untuk mengetahui kinerjanya jika dilakukan analisis ulangan. Sementara tipe tabung reaksi yang digunakan harus benar-benar diperhatikan agar ukurannya sesuai dengan sumur-sumur (lubang) dalam alat *thermocycler*. Selain itu faktor ketebalan tabung juga harus diperhatikan karena dapat mempengaruhi pentransferan panas dari alat thermocycler ke larutan PCR.

2. Jumlah Siklus

Jumlah siklus PCR turut mempengaruhi jumlah dan kualitas produk PCR. Semakin sedikit jumlah siklus akan semakin sedikit pula jumlah produk PCR yang dihasilkan. Namun peningkatan jumlah siklus pada batas tertentu tidak berbanding lurus dengan peningkatan jumlah produk PCR. Jumlah siklus terlalu banyak akan mempengaruhi keefektifan kerja enzim DNA polymerase (kinerjanya akan semakin menurun) yang berdampak pada semakin tingginya tingkat kesalahan yang mungkin dihasilkan.

3. Konsentrasi Enzim

Enzim DNA polymerase berperan dalam mengkatalisis reaksi pembentukan ikatan fosfodiester antar dNTP. Konsentrasi enzim yang terlalu rendah menyebabkan keefektifan kerjanya menjadi terganggu. Sementara konsentrasi enzim yang berlebih dinilai sebagai pemborosan. Untuk rutin PCR, konsentrasi Taq DNA polimerase 0,5- 2,5 unit untuk

setiap 25-50 µl reaksi standard dianggap cukup baik. Enzim Taq DNA polymerase akan menurun kinerjanya jika akumulasi jumlah produk amplifikasi telah mencapai 1,4 x 1012 sampai 7 x 1012 moleku.

4. Konsentrasi MgCl2

Seperti yang sudah diinformasikan sebelumnya, konsentrasi MgCl2 (berkontribusi terhadap jumlah kation Mg2+) turut mempengaruhi hasil PCR. Kation divalent ini dibutuhkan untuk aktivitas enzim. Jumlah yang tidak memadai akan menyebabkan kinerja enzim DNA polymerase menjadi terganggu yang pada akhirnya akan mempengaruhi jumlah produk PCR yang dihasilkan.

5. Konsentrasi dNTPs

Molekul dNTPs diperlukan untuk sintesis utas DNA baru. Jumlahnya yang tidak memadai akan menyebabkan pembentukkan utas DNA baru menjadi terganggu. Selain jumlah yang harus mencukupi, komposisi masing-masing molekul dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dan dCTP) juga harus seimbang agar tidak terjadi kesalahan dalam penyusunan sekuen DNA baru.

6. Sekuen Primer

Primer oligonukleotida diperlukan untuk mengawali pembentukan sekuen DNA baru dalam teknik PCR. Agar proses PCR berjalan optimum, sekuen primer harus didesain sedemikian rupa sehingga susunan basanya komplemen dan menempel baik dengan sekuen DNA cetakan (tidak mengandung banyak basa A dan T, ujung 3’ primer didesain mengandung

basa G atau C, ukuran primer tidak terlalu pendek atau panjang, dihindari susunan basa yang memungkinkan terjadinya self priming, dan lain sebagainya).

7. DNA Cetakan

DNA cetakan mengandung gen yang menjadi target ampifikasi (diperbanyak). Konsentrasi DNA cetakan harus dioptimasi. Konsentrasi DNA cetakan yang terlalu rendah akan menyulitkan primer oligonukleotida menemukan target yang akan diperbanyak, sementara konsentrasi yang terlalu tinggi akan cenderung meningkatkan kemungkinan terjadinya kesalahan penempelan primer pada sekuen DNA yang dijadikan target. Selain dalam hal konsentrasi, kemurnian DNA cetakan yang digunakan juga harus diperhatikan. Semakin murni DNA cetakan yang digunakan akan semakin baik. DNA cetakan dengan tingkat kemurnian rendah akan mempengaruhi hasil reaksi karena kontaminan yang masih terkandung dimungkinkan dapat mengganggu terjadinya proses amplifikasi

6. Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Sebelum dilakukan PCR dengan sampel penelitian, perlu dilakukan optimasi agar didapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai sehingga mendapatkan hasil PCR yang optimal (Setyawati & Zubaidah., 2021)

7. Jenis-jenis PCR

1. konvensional *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

   Prinsip metode konvensional *Polymerase Chain Reaction* adalah metode untuk amplifikasi (perbanyakan) primer oligonukleotida secara enzimatik urutan DNA spesifik. PCR konvensional memiliki sensitifitas rendah, presisi rendah, alat tidak otomatis, hasil tidak dalam bentuk angka, ada tahapan setelah PCR, deteksi keberadaan DNA dilakukan setelah akhir reaksi, dan pengamatan keberadaan DNA hasil amplifikasi dilakukan di gel agarosa setelah dilakukan elektroforesis (Setia dkk., 2020).

2. multiplex *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

   menggunakan multiplex PCR. Prinsip metode Multiplex PCR adalah beberapa set primer dalam campuran PCR tunggal untuk menghasilkan amplikon dari berbagai ukuran yang spesifik untuk sekuens DNA yang berbeda. Multiplex PCR dapat mentargetkan gen sekaligus, informasi dapat diperoleh dari reaksi tunggal yang tidak membutuhkan banyak reagen dan waktu, panjangnya pasangan basa harus cukup berbeda untuk membentuk pita yang berbeda ketika divisualisasikan dengan elektroforesis gel (Setia dkk., 2020).

3. *Restriction Fragmen Lenght Polymorphism* (RFLP) PCR

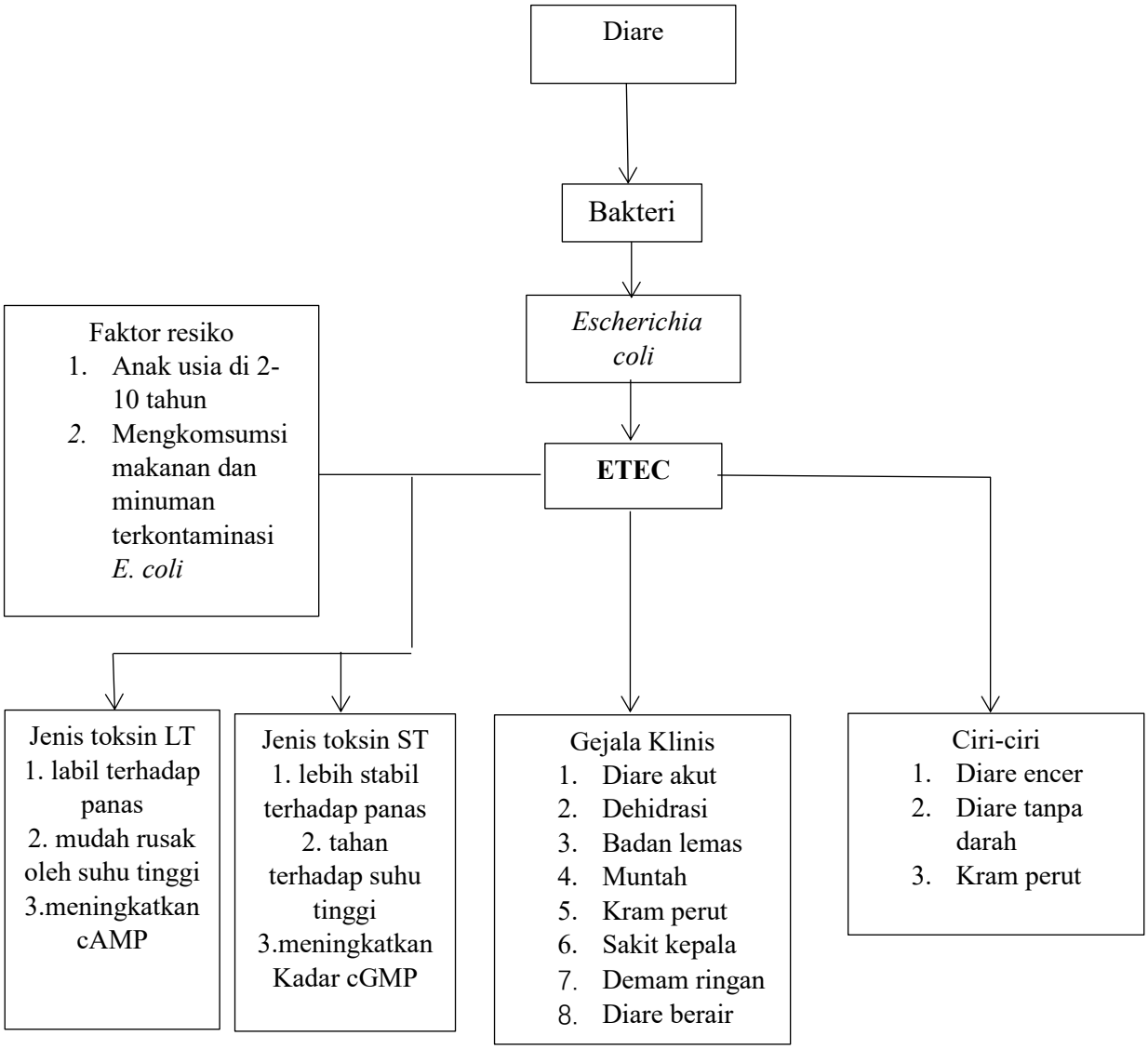
   menggunakan metode PCR-RFLP. Prinsip metode PCR-RFLP adalah teknik PCR yang menggunakan enzim retriksi untuk mendeteksi keragamaan DNA. PCR-RFLP dapat digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan analisis model derifat dari perbedaan DNA.

Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) (Setia dkk., 2020).

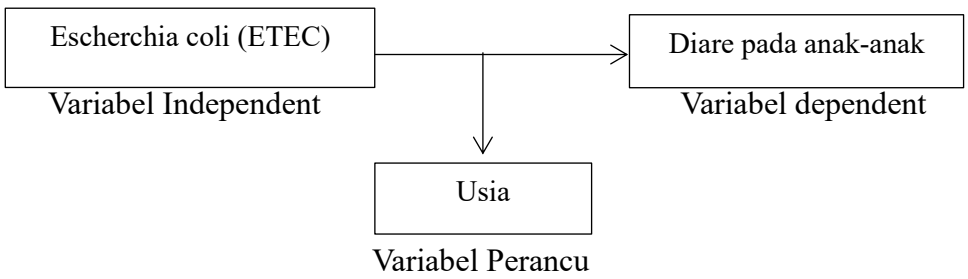
4. metode *Real-time* PCR.

   Prinsip metode Realtime PCR adalah Teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi sekaligus menghitung jumlah target molekul DNA hasil amplifikasi. *Real-time* PCR dapat menganalisa produk PCR pada saat proses amplifikasi, menggunakan pewarna DNA dan probe fluoresensi, data dapat dikoleksi dari tabung yang sama di dalam intrumen yang sama, tidak ada transfer sampel, penambahan reagensia atau gel separasi (Setia dkk., 2020).

D. Kerangka Teori



E. Kerang Konsep



F. Defenisi Oprasional

1. Diare adalah kondisi yang ditandai dengan peningkatan frekuensi buang air besar dan perubahan konsistensi feses menjadi lebih cair, seringkali disertai gejala seperti kram perut.
2. *Enterotoksikgenik Escherchia coli* (ETEC) merupakan patogen penyebab diare. ETEC ini merupakan satu penyebab diare yang paling umum pada anak-anak di negara-negara berkembang. ETEC ini dapat di tularkan melaluli sanitasi yang buruk seperti makan, air, dan lingkungan yang kurang bersih.
3. Metode yang digunakan yaitu, metode uji *Polimerase Chain Reaction* (PCR) yang digunakan untuk mengamplifikasi pada pemeriksaan Bakteri ETEC *Escherchia coli* yang di uji pada metode PCR.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain penelitian *cross-sectional study* untuk mendeteksi Bakteri ETEC *escherchia Coli* pada balita dan anak-anak

B. Lokasi dan Penelitian

1. lokasi Penelitian

   Pengambilan sampel dilakukan di TPA Antang dan Puskesmas Antang dan pemeriksaan metode PCR akan dilakukan di Laboratorium *Hasanudin University Medical Research center* (HUMRC).

2. Waktu penelitian

   Penelitian ini di lakukan pada Juli 2025

C. Populasi

1. Populasi

   Populasi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah pada balita dan anak-anak yang menderita diare di TPA antang dan Puskesmas Antang

2. Sampel

   Dalam penelitian ini adalah sampel feses yang diambil dari balita dan anak-anak yang penderita diare sebanyak 15 sampel yang diambil sesuai dengan kriteria inklusi.

D. Sampel

1. Kriteria inklusi
    a. Anak berusia 1-12 tahun
    b. Eksistensi tinja cair (diare akut)
    c. Demam kurang lebih selama 3 hari (demam ringan di sertai sakit kepala dan kram perut)
    d. Tanda-tanda dehidrasi (bibir kering, lemas)
2. Kriteria ekslusi
    1) Konsumsi antibiotik

E. Alat dan Bahan

a. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Mikropipet (Biorad), tip kuning, tip putih, neraca (Kern 440-47N), vortex (Genie 2), spin down, rak tabung, gelas ukur, sendok tabung, microwave (Electrolux), centrifuge (Biofuge), cetakan gel elektroforesis, sisir cetakan, chamber elektroforesis, water bath, mesin elektroforesis (BioRad), Geldoc, mesin PCR (MiniAmp).

b. Bahan

Pada penelitian ini menggunakan forward primer *elBI (lt)* (5’GAAACCTGCTAATCTGTAACCATCC-3”) dan reverse primer (5’CATAATGAGTACTTCGATAGAGGAAC-3”) 402 bp (Setianingsih dkk., 2021).

sampel feses diare, kit ektraksi (geneid), bubuk agarosa 2%, buffer TBE, DNA Ladder/ Marker (100 bp), Ethidium Bromide, Loading dye, pot sampel, handscoon, Stool gDNA Kit (Geneaid), Nuclease free water, Enzim Taq polymerase.

F. Prosedur Kerja Penelitian

1. Pengambilan sampel feses

   Sebelum melakukan pengambilan sampel kita harus melakukan persiapan. Yaitu melakukan perizinan kepada warga setempat yang bersangkutan, kemudian lakukan sosialisasi atau memberikan lembar informasi dan lembar questioner kepada responden, setelah mendapatkan persetujuan dari responden dan calon peneliti mendapatkan sampel sesuai dengan kriteria sampel, kemudian calon peneliti mempersiapkan peralatan yang steril dan lengkap kepada responden seperti, wadah atau pot sampel, spatula, handscond, masker, disinfektan, kemudian setelah selesai berikan label pada pot sampel berisi (nama,usia,jenis kelamin,alamat), kemudian di lakuan pengambilan sampel, kemudian masukan sampel kedalam styrofoam berisi es batu, lalu di sampel kelaboratorium.

2. Pemeriksan Molekuler

   a. Tahapan Ekstraksi

      Tahapan pertama 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

Buffer Cuci 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 dan Metode PCR

Identifikasi molekuler gen *Enterotoxigenic (ETEC) Escherichia coli* dianalisis berdasarkan amplifikasi DNA yang ditentukan dengan menggunakan primer spesifik dengan program PCR yang telah ditentukan berdasarkan referensi.

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 dibuatnya mix kemudian siapkan lagi tabung microcentrifuge sesuaikan dengan berapa banyak sampel ditambah dengan kontrol positif dan

kontrol negatif. Setelah disiapkan, tambahkan 10 µL campuran PCR dan 5 µL sampel ekstraksi DNA, tutup rapat, putar hingga homogen, lalu masukkan ke dalam mesin PCR selama satu menit. Kemudian, masukkan ke dalam alat PCR MiniAmp. Hingga 40 siklus langkah PCR ini dilakukan dengan setiap siklus meliputi denaturasi selama satu menit pada suhu 94°C, annealing selama satu menit lima belas detik pada suhu 56 °C, dan ekstensi selama tiga puluh detik pada suhu 72 °C. Ekstensi terakhir kemudian dilakukan selama sepuluh 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 teng elektroforesis yang telah diisi dengan larutan buffer 0,5 TBE, 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.

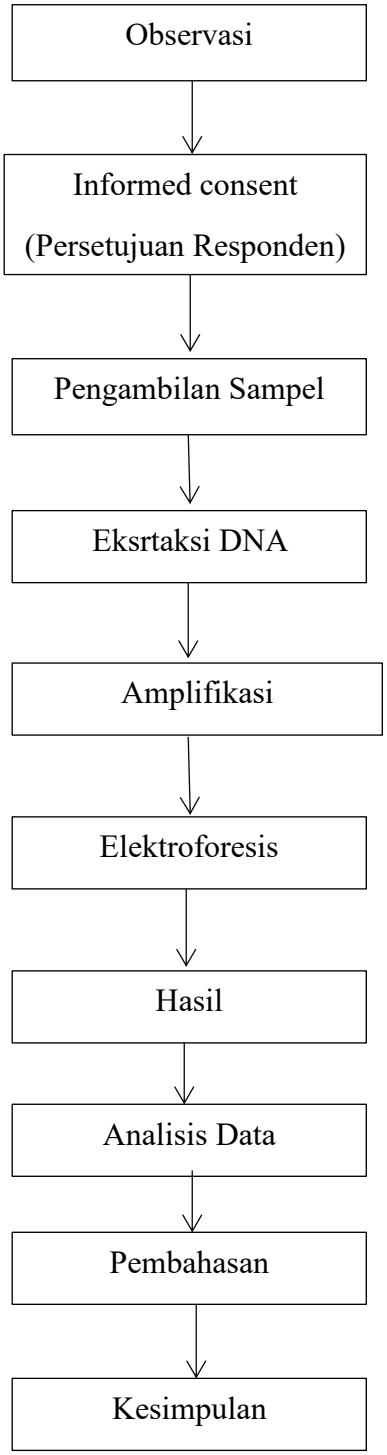
G. Analisis Data

Analisis data digunakan yakni data primer atau bersifat kualitatif yang selanjutnya dianlisis secara deskriptif. Hasil yang diperoleh gen target *eltBI (lt)* adalah 402 bp.

H. Etika Penelitian

1. *Informed consent* (Persetujuan menjadi responden), diberikan informasi secara lengkap mengenai tujuan penelitian yang akan dilakukan dan memiliki hak penuh untuk secara sukarela berpartisipasi ataupun menolak menjadi bagian dari penelitian
2. *Anonymity* (tanpa nama) berhak atas kerahasiaan data yang diberikan, di mana identitas mereka dijaga dengan tidak mencantumkan nama atau informasi pribadi sehingga data yang digunakan sepenuhnya bersifat anonim

I. Alur Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *Esherchia coli Enterotoxigenic (ETEC)* pada anak-anak penderita diare. Pengambilan sampel anak penderita diare dengan jumlah sampel 15, dilakukan di TPA Antang dan Pukesmas Antang. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC). Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan di laboratorium tersebut, diperoleh temuan sebagai berikut:

1. Krakteristik Responden

Tabel 4.1 Frekuensi Distribusi Karakteristik 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. Konsistensi Feses		
Cair	10	67%
Berlendir	2	13%
Padat	3	20%
Total	15	100%

Sumber: data primer, 2025

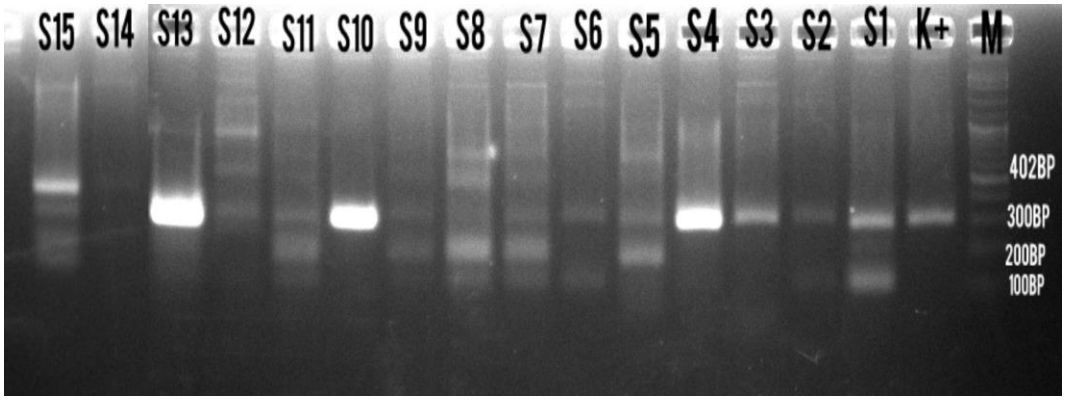
Berdasarkan pada data karaktirestik responden menurut usia yang disajikan pada Tabel 4.1 diketahui jumlah responden penderita diare berusi 2-5 tahun sebanyak 7 orang (47%), sedangkan responden yang berusia 6-10 tahun berjumlah 8 orang (53%). Total keseluruhan responden dalam penelitian ini adalah 15 orang.

Pada data karakteristik responden menurut jenis kelamin yang ditampilkan pada Tabel 4.1 jumlah responden penderita diare berjenis kelamin Laki-laki sebanyak 7 orang (47%), sedangkan responden berjenis kelamin Perempuan berjumlah 8 orang (53%). Sehinggah Total keseluruhan pada responden dalam penelitian ini adalah 15 orang.

Berdasarkan data karakteristik responden terkait lama menderita diare yang ditampilkan pada Tabel 4.1 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

Berdasarkan data 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.

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



Gambar 7. Hasil visualisasi Elektroforesis Gen ETEC.

Ket line 1-15, kontrol positif (K+), dan penanda Marker (M). Pita DNA target berukuran 402 bp tidak terdeteksi pada sumuran sampel menggunakan primer .

Pada Gambar 7 menunjukan bahwa dari 15 sampel (S1-S15) yang telah diperiksa tidak terdeteksi subtipe *Enterotoksigenik Escherchia coli* (ETEC) ditandai dengan tidak terbentuknya pita DNA pada target 402 bp.

Deteksi gen *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan target gen *eltB* (lt) yang memiliki ukuran pita DNA sebesar 402 bp. Visualisasi hasil PCR kemudian dianalisis melalui proses elektroforesis menggunakan gel agarosa untuk melihat keberadaan pita DNA target. Pada Gambar 7 terlihat hasil elektroforesis dari 15 sampel feses anak-anak penderita diare (S1–S15), satu kontrol positif (K+), serta penanda DNA (*Marker*, M) sebagai pembanding ukuran fragmen basa. Kontrol positif menunjukkan adanya pita DNA pada ukuran 402 bp sesuai dengan target gen, yang menandakan bahwa proses PCR dan elektroforesis berjalan dengan baik.

Berdasarkan hasil visualisasi pada Gambar 7, tidak ditemukan adanya pita DNA berukuran 402 bp pada semua sampel (S1–S15) yang diperiksa. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada sampel yang terdeteksi membawa gen *eltB* (lt) sebagai penanda keberadaan *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC). Sementara itu, pita DNA pada kontrol positif terlihat jelas pada posisi sekitar 402 bp, menandakan bahwa primer dan kondisi reaksi PCR yang digunakan telah berfungsi dengan baik. Tidak munculnya pita DNA pada sampel penelitian mengindikasikan bahwa isolat feses yang diperiksa tidak mengandung strain ETEC yang mampu menghasilkan toksin LT.

Hasil negatif pada seluruh sampel dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain rendahnya prevalensi ETEC pada daerah pengambilan sampel, jumlah sampel yang terbatas, atau kemungkinan keberadaan patogen penyebab diare lain seperti *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, maupun virus enterik. Selain itu, hasil negatif juga dapat dipengaruhi oleh faktor teknis seperti konsentrasi DNA template yang rendah, degradasi DNA selama penyimpanan, atau adanya inhibitor PCR pada sampel feses yang menghambat proses amplifikasi. Dengan demikian, meskipun metode PCR memiliki sensitivitas tinggi, keberhasilan deteksi tetap sangat bergantung pada kualitas sampel dan tahapan ekstraksi DNA yang optimal.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 15 sampel feses anak-anak penderita diare yang diperiksa, tidak ada yang menunjukkan keberadaan gen *eltB* (lt) pada ukuran pita 402 bp. Hal ini menandakan bahwa tidak ditemukan bakteri *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) pada seluruh sampel yang diuji. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kasus diare pada sampel

penelitian kemungkinan disebabkan oleh agen infeksius lain selain ETEC, atau oleh faktor non-infeksi seperti kebersihan makanan dan air yang kurang terjaga. Temuan ini menegaskan pentingnya deteksi molekuler yang komprehensif dan pemeriksaan multigen untuk mengidentifikasi penyebab utama diare secara lebih akurat pada anak-anak.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan pada sampel feses anak-anak penderita diare menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk melihat DNA pada bakteri *Enterotoksigenik (ETEC) E. coli* dimana pemeriksaan sampel akan dilakukan di Laboratorium Mikorobiologi molekuler Hasanuddin *University Medical Research Center* (HUM-RC). Sampel yang di gunakan pada penelitian ini sebanyak 15 sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Adapun lokasi tempat pengambilan sampel ini dilakukan di 2 tempat yakni puskesmas antang dan TPA antang kota Makassar. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadan *Enterotoksigenik (ETEC) Escherchia coli,* pada anak-anak penderita diare menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR).

Karakteristik responden pada tabel 4.1 terkait tentang umur yang menunjukan bahwa dari kelompok usia, sebagian besar anak-anak penderita diare berada pada umur 2-5 tahun yang berjumlah 7 balita dengan presentase 47%, dan anak penderita diare yang berusia 6-10 tahun yang berjumlah 8 dengan presentase 53%. Yang dimana mnunjukan bahwa pada umur 2-10 tahun merupakan, umur yang secara singnifikan lebih mudah terkontaminasi oleh *Escherchia coli* bakteri ETEC. Seperti padapenelitian (Khuntia dkk. 2025) ETEC secara signifikan lebih prevalen di antara

anak-anak berusia 0–23 bulan dibandingkan dengan mereka yang berusia ≥15 tahun. Peluang infeksi ETEC di antara anak-anak berusia 0–23 bulan adalah 8,56 kali lebih tinggi daripada mereka yang berada dalam kelompok ≥15 tahun. Korelasi negatif yang dapat diabaikan diamati antara usia dan prevalensi ETEC, yang menunjukkan bahwa kejadian ETEC tidak bervariasi secara substansial di antara kelompok usia. Temuan ini menunjukkan bahwa prevalensi ETEC tidak berubah secara signifikan seiring bertambahnya usia. Dan menurut penelitian (Adrian dkk. 2023) *Enterotoxigenic Escherichia coli* atau ETEC dapat menyebabkan diare pada semua umur. Menurut penelitian (Febriyanti dkk., 2024) Hampir seperempat populasi dunia terinfeksi bakteri penyebab diare, terutama pada balita dan anak-anak. Penyakit ini menempati urutan ketiga sebagai penyebab kematian pada anak usia 2–10 tahun, dengan angka kematian sekitar 443.832 anak setiap tahunnya. Diperkirakan terdapat hampir 1,7 miliar kasus diare pada anak setiap tahun. Di Indonesia, prevalensi diare pada balita dan anak menunjukkan peningkatan selama tiga tahun terakhir. Pada tahun 2020 tercatat 3.525 kasus, meningkat sebesar 22,18% menjadi 818.687 kasus pada tahun 2021, dan kembali naik sebesar 26,4% menjadi 3.684.954 kasus pada tahun 2022.

Karakteristik responden pada tabel 4.1 terkait jenis kelamin yang menunjukan bahwa dalam penelitian ini didominasi oleh perempuan dibandingkan dengan laki-laki. penderita diare menunjukan bahwa, responden yang berjenis kelamin laki-laki berjumlah 7 dengan presentase 47% dan responden yang berjenis kelamin perempuan berjumlah 8 dengan presentase 53%. Menurut penelitian (Ida dkk., 2023) Diare dapat terjadi baik pada anak perempuan maupun laki-laki dari segala

usia, bergantung pada beberapa faktor seperti faktor gizi, faktor makanan, faktor sosial ekonomi, dan faktor lingkungan. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa mayoritas anak usia 2 - 5 tahun yang mengalami diare. Pasien diare sering terjadi pada anak yang berusia 2 tahun yaitu sebanyak 19 (32.8%), dimana laki-laki memiliki kesempatan 9% lebih besar dibandingkan perempuan. Anak yang berusia 2 tahun memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih rendah dibandingkan anak yang usianya lebih tua, sehingga lebih rentan mengalami diare

Pada penelitian (Novi dkk., 2024) Tingginya angka kejadian diare pada anak disebabkan oleh kerentanan mereka terhadap berbagai penyakit, khususnya yang ditimbulkan oleh parasit, bakteri, maupun virus. Risiko infeksi meningkat akibat kontak antara sesama anak, terutama karena kesulitan dalam menjaga kebersihan tangan..

Hal ini menunjukkan bahwa pada anak usia 2 tahun lebih rentan terkena diare yang dapat disebabkan oleh sistem kekebalan tubuh yang lebih rendah dibandingkan anak yang berusianya lebih tua. Selain itu, anak laki-laki juga menunjukkan kerentanan yang lebih tinggi terhadap diare, seperti yang ditemukan dalam penelitian (Ida dkk., 2023) bahwa anak laki-laki lebih mungkin mengalami sakit diare dibandingkan perempuan yaitu dengan perbandingan 1,5:1. Anak laki-laki lebih aktif bermain di luar ruangan, sehingga lebih mudah terpapar patogen penyebab diare.

Karakteristik responden pada tabel 4.1 terkait frekuensi BAB menunjukan bahwa sebanyak 12 responden (80%) mengalami diare selama 1-3 hari. Sementara itu, sebanyak 3 responden (20%) mengalami diare lebih dari 3 hari. Gejala khas

pada anak yang terinfeksi *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) adalah keluarnya feses cair. Gejala ini umumnya disertai muntah, nyeri perut, serta dehidrasi. Menurut (Destri & Sunarno, 2022) ETEC merupakan penyebab utama diare akut yang disertai dehidrasi, baik pada anak-anak maupun orang dewasa, khususnya di negara berkembang.

Karakteristik responden pada tabel 4.1 terkait konsitensi feses 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 (Anggryani & Kurniawan, 2024) umumnya encer berair, tanpa darah, Feses bisa berwarna kuning, dan tidak berlendir.

Pada kriteria feses menunjukkan sebanyak 10 sampel konsitensi cair dan sebanyak 2 sampel terdapat lendir. Sementara terdapat konsitensi feses yang padat sebanyak 3 sampel. Pada penelitian (Muzuni & Hikmah, 2024) mumnya encer berair, tanpa darah, Feses bisa berwarna kuning, dan tidak berlendir.

Dari beberapa kriteria yang telah di jelaskan terdapat kriteria yang tidak sesuai yaitu pada kriteria umur, pada kriteria ini lebih banyak mengambil sampel feses pada anak-anak dari umur 2- 10 tahun. Dimana pada penelitian (Khuntia dkk. 2025) mengatakan ETEC secara signifikan lebih prevalen di antara anak-anak berusia 0–23 bulan dibandingkan dengan mereka yang berusia ≥15 tahun.

Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil negatif terutama terletak pada sampel yang di gunakan. Berdasarkan kriteria sampel dari 15 responden,

didapatkan 5 responden memiliki sampel dengan konsistensi yang tidak cair, 10 responden tidak mengalami mual atau kram perut. Menurut penelitian (Zhang dkk., 2022) Infeksi ETEC diikuti oleh berbagai gejala, termasuk muntah, kram perut, sakit kepala dan demam ringan.

Hasil dari amplifikasi PCR menunjukan dari 15 sampel yang digunakan semuanya dinyatakan negatif bakteri *Enterotokigenik* (ETEC). Hasil yang positif ditandai dengan adanya pita DNA pada ukuran 402 bp dan mendeteksi keberada subtipe *ETEC.* Pada pemeriksan ini tidak terdapat sampel yang positif. Namun dapat dilihat pada gambar 7 terdapat pita DNA yang muncul di 300 bp. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti primer yang tidak spesifik atau adanya kontaminasi bakteri lain selama proses ekstraksi DNA seperti halnya sampel dalam penelitian yang menunjukkan sebagian besar anak yang menjadi responden menunjukkan gejala diare ringan, ditandai dengan frekuensi buang air besar kurang dari tiga kali sehari, tidak mengalami demam, serta tidak ditemukan lendir atau darah pada feses. Selain itu, hampir seluruh responden memiliki kebiasaan mencuci tangan dengan sabun dan tidak mengonsumsi antibiotik selama lebih dari tiga hari. Faktor-faktor ini menunjukkan bahwa kemungkinan penyebab diare pada responden bukan berasal dari infeksi bakteri enterotoksigenik seperti ETEC, melainkan dapat disebabkan oleh agen patogen lain seperti virus rotavirus, *Shigella*, atau *Salmonella*, maupun akibat kebersihan makanan yang kurang optimal.. Menurut pada penelitian (Setianingsih dkk.,2021) Pita DNA tersebut diduga merupakan pita DNA kontaminan yang kemungkinan muncul selama proses

ekstraksi DNA sampel. Hasil ini mengindikasikan bahwa dalam satu sampel sangat dimungkinkan terdapat lebih dari satu strain *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC).

Berdasarkan kombinasi hasil PCR dan karakteristik klinis responden, dapat disimpulkan bahwa tidak terdeteksinya gen *eltB* (lt) pada seluruh sampel konsisten dengan data klinis yang menunjukkan gejala diare non-spesifik tanpa tanda-tanda infeksi berat. Hal ini memperkuat dugaan bahwa ETEC bukan merupakan penyebab utama kasus diare pada kelompok anak-anak yang diteliti di wilayah tersebut. Namun, untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif, penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar serta penambahan target gen lain seperti *estA* (ST) atau gen virulensi dari patogen lain sangat dianjurkan agar dapat mengidentifikasi penyebab diare secara lebih akurat.

Salah satu faktor yang dapat menyebabkan hasil negatif adalah penyimpanan sampel yang terlalu lama. Jika tidak disimpan dengan benar, bakteri di dalam sampel bisa mati atau rusak, sehingga menyebabkan hasil yang negatif dan tidak akurat. Menurut penelitian (Permatasari, 2024) menyebutkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan pada sampel yang dilakukan maka makin sedikit jumlah bakteri yang ditemukan dan dapat menyebabkan negatif palsu.

Diare pada anak dan balita tidak hanya disebabkan oleh ETEC, namun bisa juga disebabkan oleh organisme-organisme lainya seperti bakteri, virus dan parasit. Menurut WHO dan studi penelitian (Jap&Widodo., 2021) diare merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak, khususnya di negara berkembang. Selain *Escherichia coli*, sejumlah organisme patogen enterik lain yang

juga sering menjadi penyebab diare pada anak dan balita antara lain *Salmonella* spp. (nontifoid), *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Campylobacter* spp., serta *Cryptosporidium* spp., maupun subtipe lain seperti *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) dan *Enteroaggregative E. coli* (EAEC). Dari 15 (100%) sampel yang menunjukan hasil negatif yang terinfeksi oleh patogen-patogen yang lain sehingga tidak terdeteksi oleh primer *eltBI (lt).*

BAB V

PENUTUPAN

A. Kesimpulan

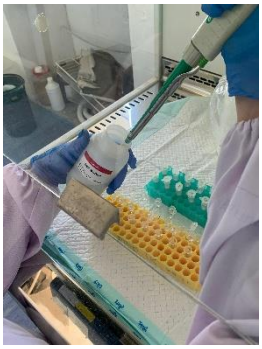
Pada penelitian ini menunjukkan dari 15 sampel yang telah diperiksa semua menunjukkan hasil negatif bakteri enterotoksigenik (ETEC) yang ditandai dengan tidak terbentuknya pita DNA pada ukuran 402 bp.

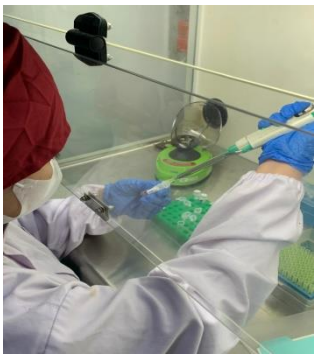
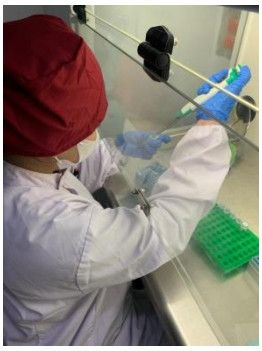
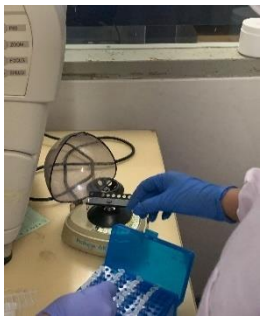
B. Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya untuk memilih primer yang lebih spesifik seperti heat-stable enterotoxin (ST) dan heat-labile enterotoxin (LT), untuk mengidentifikasi adanya ETEC. Dan disarankan untuk optimasi suhu annealing yang sangat penting untuk meminimalkan amplifikasi pita non-spesifik.

LAMPIRAN

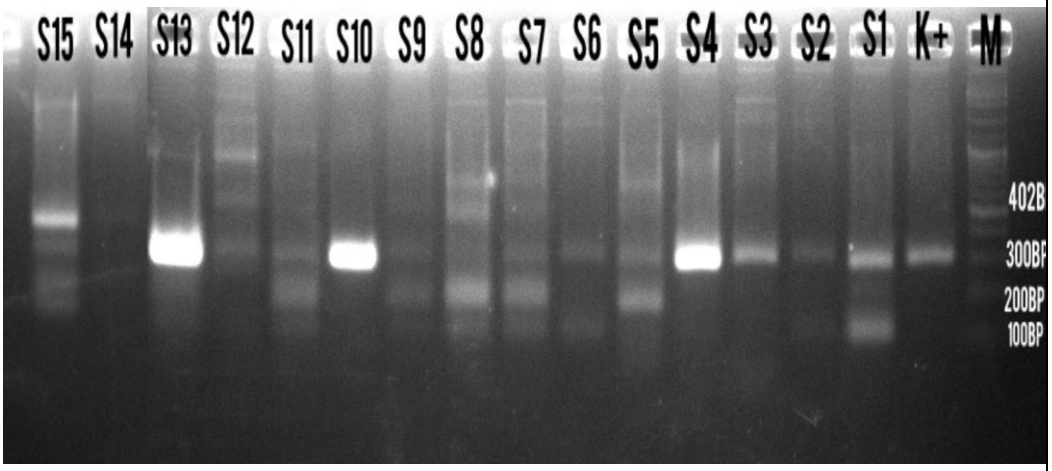
Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

<table>
<tr><th colspan="3">Ekstraksi DNA</th></tr>
<tr><td> 
Penimbangan feses</td><td> 
Ditambahkan ST1</td><td> 
Divortex</td></tr>
<tr><td> 
Diinkubasi</td><td> 
Dicentrifuge</td><td> 
Ditambahkan ST2</td></tr>
<tr><td> 
Ditambahkan ST3</td><td> 
Ditambahkan Wash Buffer</td><td> 
Ditambahkan Elution Buffer</td></tr>
</table>

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 *eltBI (lt)* dengan target 402 bp

Lampiran 2. Surat Izin Penelitian HUM-RC

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 244/06/FR1/2025	Tanggal : 11 Juni 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Bapak Zainul Muttaqin,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama	: Alensya Amanda Pratiwi
NIM	: B1D121128
Institusi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal	: 12 Juni 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek	: ± 15 sampel Feses
Jenis data	: Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Identifikasi Bakteri Enterotoksikgenik Escherchia Coli (Etec) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,

HUM-RC
science for a better future

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

Lampiran 3. Surat Keterangan Izin Penelitian

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	: **11731/S.01/PTSP/2025**	**Kepada Yth.**
Lampiran	: -	1. Walikota Makassar
Perihal	: **Izin penelitian**	2. Rektor Univ. Hasanuddin Makassar
		di-
		Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1633/07.019056/V/2025 tanggal 19 Mei 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **ALENSYA AMANDA PRATIWI**
Nomor Pokok	: B1D121128
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medik
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

ptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

" IDENTIFIKASI BAKTERI ETEC (Enterotoksigenik Escherchia coli) Pada ANAK-ANAK PENDERITA DIARE MENGGUNAKAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***15 Juni s/d 15 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 29 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 4. Surat LPPM

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 - 495401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-Ema:E:info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 19 Mei 2025

Nomor : 1632/07.091056/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	**: Alensya Amanda Pratiwi**
NIM	**: B1D121128**
Judul Skripsi/KTI	**: Identifikasi Bakteri Enterotoksikgenik Esherchia coli (ETEC) Pada Anak-anak penderita diare menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR)**
Pembimbing	**: 1. Nurfitri Arfani, S. Si., M.Si** **2. Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc**
Tempat Penelitian	**:1. Lab Biologi Molekuler Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)** **2. RSUD Daya Kota 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 5. Kode Layak Etik

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan
RS Mata Makassar
Jalan Jalur Lingkar Barat, Tallasa City
Makassar
08111555123
https://www.rsmatamakassar.org

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"

No.DP.04.03/D.XLV.9.2/054/2025

Protokol penelitian versi 3 yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : **Alensya Amanda Pratiwi**
Principal In Investigator

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

Dengan judul:
Title
"Identifikasi Bakteri ETEC (Enterotoksigenik Escherchia coli) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)"

"Identification Of ETEC (Enterotoksigenik Escherchia 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 Concent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 02 Juli 2025 sampai dengan tanggal 02 Juli 2026.

This declaration of ethics applies during the period July 02, 2025 until July 02, 2026.

July 02, 2025
Chairperson,

Dr.dr.Purnamanita Syawal, Sp.M., MARS

Lampiran 6. Informed Consent

LEMBAR PERSETUJUAN
(INFORMED CONSENT)

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

Nama : Alansya Amanda Putari

Nim : B10121128

Dengan judul penelitian **"Identifikasi Bakteri *Escherchia coli Enterotoksigeni* (ETEC) 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

Penelitian	Responde
(.....)	(.....)

Lampiran 7. Kuesioner Penelitian

KUESIONER PENELITIAN

Berikut ini adalah kuesioner yang berkaitan dengan penelitian **tentang "Identifikasi Bakteri *Escherchia coli Enterotoksigeni* (ETEC) Pada Anak-Anak Penderita Diare Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)".** Oleh karena itu saya memohon dengan hormat kesedian anda untuk Mengisi kusioner yang ada.

IDENTITAS RESPONDEN

Nama : D

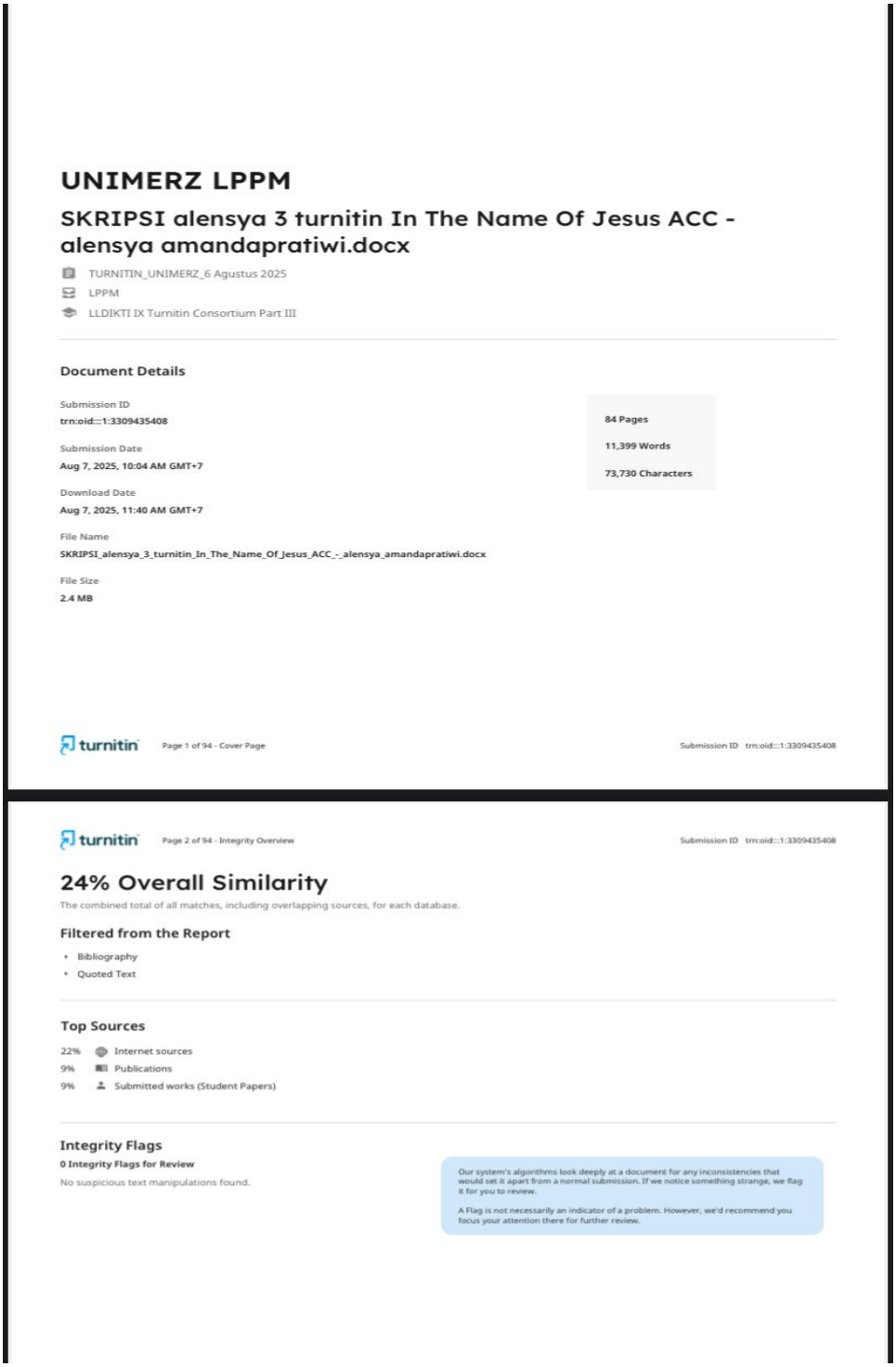
Usia : 5 Thn

Alamat : TPA Antang

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

NO	PERTANYAAN	YA	TIDAK
1	Apakah anda sebagai orangtua/ wali setuju jika anak anda mengikuti penelitian ini?	✓	
2	Apakah anak anda mengalami diare anak anda cair tanpa di sertai dengan darah?	✓	
3	Apakah anak anda mengalami diare cair?	✓	
4	Apakah anak anda mengalami demam kurang lebih 3 hari, disertai dengan sakit kepala dan kram perut?	✓	
5	Apakah anak anda mengalami tanda-tanda dehidrasi, bibir kering, lemas?	✓	
6	Apakah anak anda sedang mengkomsumsi Antibiotik?		✓
7	Apakah diare anak anda memiliki tekstur normal, tetapi berulang-ulang dengan frekuensi 3 kali BAB?	✓	

Lampiran 8. Uji Lolos Turnitin LPPM



UNIMERZ LPPM

SKRIPSI alensya 3 turnitin In The Name Of Jesus ACC - alensya amandapratiwi.docx

TURNITIN_UNIMERZ_6 Agustus 2025
LPPM
LLDIKTI IX Turnitin Consortium Part III

Document Details

Submission ID
trn:oid:::1:3309435408

Submission Date
Aug 7, 2025, 10:04 AM GMT+7

Download Date
Aug 7, 2025, 11:40 AM GMT+7

File Name
SKRIPSI_alensya_3_turnitin_In_The_Name_Of_Jesus_ACC_-_alensya_amandapratiwi.docx

File Size
2.4 MB

84 Pages
11,399 Words
73,730 Characters

turnitin Page 1 of 94 - Cover Page Submission ID trn:oid:::1:3309435408

turnitin Page 2 of 94 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::1:3309435408

24% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Top Sources

22% Internet sources
9% Publications
9% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

DAFTAR PUSTAKA

Abidin, K., Ansariadi, A., & Thaha, I. L. M. (2022). Faktor Air, Sanitasi, Dan Higiene Terhadap Kejadian Diare Pada Balita Di Permukiman Kumuh Kota Makassar. *Hasanuddin Journal of Public Health*, *3*(3), 301–311.

Adrian, P., Wibawa, M., Rahardian, S., Nudu, H., & Darwis, H. A. (2023). *Subtipe Diarrheagenic Escherichia coli dan Keterkaitannya Dengan Traveler ' s Diarrhea*. *21*(1), 23–28.

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

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.

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

Anggryani, D., & Kurniawan, E. (2024). Identification of Escherichia coli Sub Type Enterotoxigenic (ETEC) from Food Samples Using Pcr (Polymerase Chain Reaction) Technique .

Asfar , A., & Akbar, H. (2024). Identifikasi Gen ICSA pada Feses Anak Penderita Diare dengan Metode Polymerase Chain Reaction .

Awalia, d. (2023). Analisis faktor pengetahuan dan sikap dengan perilaku pencegahan TB pada kontak serumah selama era new normal Covid 19.

Bria, D. I., Missa, H., & Sombo, I. T. (2022). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Escherichia coli Pada Bahan Pangan Berbasis Daging Di Kota Kupang PENDAHULUAN Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan dan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004. *Jurnal Sains Dan Terapan*, *1*(2), 82–89.

Dias Utami, K., Ferianto, Hastari, F., Devi Septiyani, A., & Sumiyarini, R. (2023). Edukasi Jajanan Sehat Pada Anak Dengan Menggunakan Media Animasi di SDN Banguntapan. *Journal of Innovation in Community Empowerment*, *5*(2), 69–75.

Destri , M., & Sunarno. (2022). Identifikasi Patogen Enterik dan Analisis Resistensinya Terhadap Antibiotik Serta Genotyping Rotavirus Penyebab Diare Pada Balita di Indonesia.

Dinkes. (2024). Identification of Escherichia coli Sub Type Enterotoxigenic (ETEC) from Food Samples Using Pcr (Polymerase Chain Reaction) Technique.

dkk, R. (2023). identifikasi bakteri ETEC pada balita dan anak menggyunakan metode pcr di kanbupaten Blita.

Febriyanti, F., Marya Sari, F., Fauzi, Y., Masyarakat, K., & Dehasen Bengkulu, U. (2024). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Pada Balita Di Wilayah Kerja Puskesmas Telaga Dewa Kota Bengkulu Factors Related To The Occurrence Of Diarrhea In Toddlers In The Working Area Of Telaga Dewa Health Center, Bengkulu City. *Journal Hygea Public Health*, *3*(1), 45–52.

I Gede Bhima Wira Guna, Ni Nyoman Sri Budayanti, M. A. H. dan I. D. M. S. (2023). *Identifikasi Subtipe Enterotoxigenic Escherichia coli Dan Enteroaggregative Escherichia coli Dada Biji Kopi Feses Luwak (Paradoxorus Hermaphroditus) Dari Beberapa Agrowisata Di Bali Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter , Fakultas Kedokter*. *12*(9), 83–90.

Ida Ayu Putu Pradnya Dewi, Anak Agung Ayu Lila Paramasatiari, & Anak Agung Oka Lely. (2023). Karakteristik Pasien Diare Anak Umur 2-5 Tahun di Rumah Sakit Umum Daerah Wangaya, Denpasar. *Aesculapius Medical Journal*, *3*(2), 180–187.

Ismaun., Muzuni., Hikmah, N. (2021). Deteksi Molekuler Bakteri Escherichia coli Sebagai Penyebab Penyakit Diare dengan Menggunakan Tehnik PCR Molecular. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, *6*(2), 1–9.

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

Kandou, F. E. (2023). Analisis Kualitatif Escherichia coli Serotype O157:H7 Pada Air Minum Dalam Kemasan Dan Isi Ulang Dengan Teknik PCR DI Makassar.

Khoirun Nihayati. (2023). Deteksi Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 Pada Sampel Air di Lingkungan Uin Sunan Ampel Surabaya Menggunakan Metode Multiplex PCR.

Kusuma, d. (2024). Deteksi Molekuler Bakteri *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Penyakit Diare Dengan Menggunakan Tehnik PCR.

Khuntia, H. K., Manna, P., Barik, D. K., Biswas, S., Bramha, P. K., Pati, S., Ranjit, M., Bal, M., & Kerketta, A. S. (2025). High prevalence of enterotoxigenic Escherichia coli strains in hospitalized diarrhea patients: a preliminary study from a cholera-endemic area in India (2022). *Frontiers in Microbiology*,

16(June).

Lianti, N., Kesehatan Masyarakat, J., Kesehatan Masyarakat, F., & Halu Oleo, U. (2023). The Relationship Between Environmental Sanitation And The Incidence Of Diarrhea In Toddlers In The Working Area Of The Tumbu-Tumbu Jaya Health Center East Kolono District South Konawe Regency. *Jkl-Uho*, *4*(2), 25–33.

Mahtuti, E. Y. (2024). Edukasi Pencegahan Penyakit Diare Dengan Penerapan Hidup Bersih Di SD Negeri 1 Gadingkulon Dau Kabupaten Malang. *BERBAKTI : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, *2*(1), 52–58.

Muzuni, & Hikmah, N. (2024). Deteksi Molekuler Bakteri *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Penyakit Diare Dengan Menggunakan Tehnik PCR.

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.

Nurul Awalia, Muhammad Khidri Alwi, Ayu Puspitasari, Sitti Patimah, & Rezky Aulia Yusuf. (2023). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Pada Anak Usia 1-4 Tahun Di Puskesmas Antang Kota Makassar. *Window of Public Health Journal*, *4*(2), 244–256.

Ode, W., Freya, R., Agusta, M. T., Fitrianto, A., Sartono, B., & Oktarina, S. D. (2022). Hubungan Air Bersih Dan Sanitasi Lingkungan Terhadap Kejadian Luar Biasa Diare. *Jurnal Endurance*, *7*(3), 615–626.

Oktariana, M., Hariyanti, R., Riya, R., & Sulastri, S. (2023). Hubungan Status Gizi dan Status Imunisasi dengan Kejadian Diare pada Balita di Puskesmas Putri Ayu Kota Jambi. *Jurnal Ilmiah Ners Indonesia*, *4*(2), 198–206.

Pendidikan Kesehatan, P., Pendidikan Kesehatan Penatalaksanaan Diare, P., Melanie Ramadhina, F., Luthfiyatil, N. F., & DIII Keperawatan Akper Dharma Wacana Metro, P. (2023). Pada Anak Prasekolah (3-6 Tahun) Di Wilayah Kerja Uptd Puskesmas Rawat Inap Banjarsari Metro Utara Application of Health Education in Management of Diarrhea in Preschool Children (3-6 Years) in the Working Area of Uptd Inspired Health Center North Metro B. *Jurnal Cendikia Muda*, *3*(3), 347–354.

Permatasari, R. (2024). Perbedaan Jumlah Telur Cacing Soil Transmitted Helminths Berdasarkan Waktu Penyimpanan Feses Menggunakan Metode Kato Katz. *Jurnal Biologi Makassar*, *9*(2), 83–92.

Putri, R. F. (2022). Deteksi Bakteri Escherichia coli dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) pada Sampel Makanan Takjil.

Pokharel, P., Dhakal, S., & Dozois, C. M. (2023). The Diversity of Escherichia coli Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial P

Rasyid, B., Karta, I. W., Sari, N. L. P. E. K., & Putra, I. G. N. D. (2020). Identifikasi

Gen Penyandi Protein Transport Sebagai Kandidat Vaksin Subunit Terhadap Bakteri Escherichia coli Penyebab Diare Wisatawan. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, *9*(1), 47–57.

Rizky, V. A., Siregar, S., Krisdianilo, V., Rahayu, A., Syafrina Ginting, S., & . K. (2021). Identifikasi Bakteri Escherichia Coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan Pcr. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, *3*(2), 118–123.

Sari, T. R., Habib, D. A., Sembiring, F., Nasution, G. S., & Rahmah, L. (2023). Identifikasi Bakteri Escherichia coli, Shigella sp. Dan Staphylococcus aureus Sebagai Biomarker Cemaran Pada Sumber Air Daerah Stunting di Kelurahan Belawan Sicanang, Kecamatan Medan Belawan, Medan. *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, *11*(2), 225–234.

Setia, Y. K., Puspawati, N., & Rukmana, R. M. (2020). Deteksi Escherichia coli dengan Metode Polimerase Chain Reaction(PCR). *Setia Budi Conference on Innovation in Health, Accounting, and Management Sciences*, *1*, 173–179.

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.

Setianingsih, d. (n.d.). Identifikasi galur enterotoxigenic Escherichlia coli pada isolat pasien diare anak-anak di Jakarta menggunakan metodepolymerase chain reaction dan gen penyandi enterotoksin heat-labile.

Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, *4*(1), 36.

Simanjuntak, M. B. U., Situmeang, I. R., & Lumbantobing, P. (2024). Hubungan PHBS dengan Kejadian Diare pada Anak Usia Sekolah di Wilayah Kerja Puskesmas Bandar Khalipah. *Health and Medical Journal*, *6*(1), 49–52.

Susilo, T. B., Soesanto, O., Susanti, D. S., Fahrudin, A. E., Elma, T., Hidayat, Y., Sutomo, S., Badruzsaufari, B., & Savalas, L. R. T. (2024). Perakitan Mandiri PCR Sederhana Untuk Pembelajaran Amplifikasi DNA In Vitro. *Jurnal Pengabdian ILUNG (Inovasi Lahan Basah Unggul)*, *3*(3), 658.

Syadat, M., Gobel, A., & Ikhtiar, M. (2022). Determinan Kejadian Diare berdasarkan Segitiga Epidemiologi Di Wilayah Kerja Puskesmas Antang Kota Makassar. *Journal of Muslim Community Health*, *3*(2), 204–217.

Syatriani, S., Nurleli, Hardiyanti, T., & Akhsan, M. N. (2024). Gambaran Sanitasi Kantin dan Status Gizi Murid Sekolah Dasar di Wilayah Kerja Puskesmas Cendana Putih. *Jurnal Promotif Preventif*, *7*(2), 250–259.

Tika Fausa Nur Sitaba, Andi Nurlinda, & Yusriani. (2022). Identifikasi Kandungan Escherichia Coli pada Es Dawet di Jalan Urip Sumohardjo Kota Makassar. *Window of Public Health Journal*, *3*(1), 96–101.

Ummah, M. S. (2019). Analisis Struktur Kovarians Indikator Terkait Kesehatan Pada Lansia Yang Tinggal Di Rumah Dengan Fokus Pada Persepsi Kesehatan Subjektif . In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 1).

Utami, d. (2023). Deteksi Escherichia coli dengan Metode Polimerase Chain Reaction (PCR) .

Windi Rahmadani, [2]Sukma Elida, [3]Darmawi, 4 Darmawan. (2022). *[1]Windi Rahmadani, [2]Sukma Elida, [3]Darmawi, 4 Darmawan Kesehatan Masyarakat, Universitas Teuku Umar 1234 Fakultas*. *2*, 36–46.

WHO. (2023). identifikasi pemanfaatan sistem PCR pada penananganan Penyakit TBC .

Yang, C., Li, Y., Zuo, L., Jiang, M., Zhang, X., Xie, L., Luo, M., She, Y., Wang, L., Jiang, Y., Wu, S., Cai, R., Shi, X., Cui, Y., Wan, C., & Hu, Q. (2021). Genomic Epidemiology and Antimicrobial Susceptibility Profile of Enterotoxigenic Escherichia coli From Outpatients With Diarrhea in Shenzhen, China, 2015–2020. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 2015–2020.

Zhang, a. e. (2023). Deteksi Tipe Baru dari Bakteri Escherichia Coli pada Pasien Anak Secara Molekuler.