

SKRIPSI

DETEKSI GEN *SHIGA TOXIN TYPE 1* DARI *PATOGROUP ENTEROHEMORRHAGIC Escherichia coli* PADA FESES PASIEN DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*



Diajukan Sebagai syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Teknologi Kesehatan

AYUNI
18 3145 353 019

**PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2022**

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI GEN *SHIGA TOXIN TYPE 1* DARI *PATOGROUP ENTEROHEMORRHAGIC Escherichia coli* PADA FESES PASIEN DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

DETECTION OF THE *SHIGE TOXIN TYPE 1* GENE FROM THE *ENTEROHEMORRHAGIC Escherichia coli* *PATHOGROUP* IN THE FECES OF DIARRHEA PATIENTS USING THE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) METHOD

AYUNI

18 3145 353 019

Dibimbing Oleh

Nur Laela Aldrus, S.Si., M.Kes.

Pembimbing 1

Dr. Hairuddin K., S.S.,S.KM., M.Kes.

Pembimbing II

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

Penguji

**PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

Deteksi Gen Shiga Toksin Type 1 Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Dissusun dan diajukan oleh:

AYUNI

18 3145 353 019

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 27 September 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Tim Penguji

1. Nur Laela Aldris, S.Si., M.Kes

2. Dr. Haruddin K., S.S., S.KM., M.Kes

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

Tanda Tangan

Mengesahut,

Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan

Kemah Program Studi D-IV TLM



Prof. Hj. Amah Marzuki, M.Si
NIDK: 8879223419



Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
NIDN: 0938068702

PLAGIARISM SCAN REPORT



Similarity Report ID: oid:22918-22158450

PAPER NAME

**Ayuni_Deteksi Gen Shiga Toxin Type 1 D
ari Patogroup Enterohemorrhagic Escher
ichia Coli Pada Feses Pa**

AUTHOR

Ayuni

WORD COUNT

8657 Words

CHARACTER COUNT

51855 Characters

PAGE COUNT

66 Pages

FILE SIZE

1.4MB

SUBMISSION DATE

Sep 14, 2022 6:22 PM PDT

REPORT DATE

Sep 14, 2022 6:25 PM PDT

● 10% Overall Similarity

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

- 10% Internet database
- 2% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 0% Submitted Works database

● Excluded from Similarity Report

- Bibliographic material
- Quoted material
- Small Matches (Less than 25 words)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi Ini Penulis Persembahkan Kepada Ibunda Tersayang yang sabar merawat saya dan memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini dan tak henti-hentinya mendoakan saya.

Almarhum Ayah saya yang selalu memberikan motivasi semangat yang bermanfaat dan mengajarkan saya hidup mandiri.

Nenek ibunda Hj. Nurliana sudah membantu menjaga dan membesarkan saya, memberikan dukungan serta doa kepada saya untuk menyelesaikan studi ini.

Tante dan Om saya yang selalu memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan studi ini serta keluarga besarku.

MOTTO

*“jika kamu ingin hidup yang sulit kamu harus membuat pilihan yang mudah
Dan jika kamu ingin hidup yang mudah maka kamu harus membuat pilihan yang
sulit“*

CURRICULUM VITAE



Nama : Ayuni
Jenis Kelamin : Perempuan
Tempat Tanggal Lahir : Kokoe, 16 Mei 2000
Kebangsaan : Indonesia
Status : Belum Menikah
Agama : Islam
Alamat : Desa Kokoe
No. Hp : 082253382195
Email : yayuni182@gmail.com
Orang tua
Ayah : H. Baharuddin
Ibu : HJ. Amna
Riwayat Pendidikan:
SD : SD NEGERI 01 KOKOE
SMP : SMP NEGERI 09 KABAENA BARAT
SMA : SMA NEGERI 02 BOMBANA

Kesan di saat kuliah : Alhamdulillah dengan Izin Allah dan restu dari orang Tua sekaligus support dari teman-teman saya tercinta pada masa kuliah di kampus Unimerz saya sangat bangga kepada Program studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis karena telah memberikan banyak pengalaman baik dalam bidang akademik maupun non akademik, Saya bangga bisa bertemu dan berteman kelas 2018A banyak kesan yang saya dapat dari teman-teman 2018A terimakasih atas waktu bahagiannya selama 4 tahun sudah bersama sudah berjuang sampai detik ini.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu 'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Dengan mengucapkan Alhamdulillah Segala Puji dan Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul " Deteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)" Adapun yang dimaksud dari penyusunan Skripsi ini yaitu diajukan sebagai salah satu syarat dalam penyelesaian studi demi mendapatkan gelar Sarjana Terapan, pada Program Studi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Megarezky Makassar dan semoga juga dapat menjadi manfaat bagi penulis sendiri ataupun orang lain.

Penulis sangat sadar bahwa apa yang telah didapat bukanlah suatu hal mutlak yang berdiri sendiri melainkan beberapa dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih, hormat, dan kasih sayang yang tak terhingga teristimewa kepada kedua orang tua saya **Ibunda Hj. Amna** yang selalu memberikan semangat, dorongan dan nasehat. Terimakasih sudah menjadi sosok ibu yang begitu sangat luar biasa, menghadapi segala badai, rintang apapun itu dan teruntuk **Almarhum Ayahanda H. Baharuddin** yang selalu memberikan dorongan, dukungan, motivasi serta nasehat semasa hidupnya. Sudah menjadi sosok ayah yang sangat mencintai tiga putrinya **Si Penulis, Asma** dan **Mirda** terima kasih atas waktu 21 Tahunnya yang

tidak akan pernah dilupakan oleh si penulis serta semua keluarga besarku yang senantiasa mendoakan, memberikan nasehat motivasi dan dorongannya saya ucapkan banyak terimakasih, serta semua sahabat-sahabatku tersayang yang telah memberikan semangat demi keberhasilan penulis.

Pada kesempatan ini, selama menempuh pendidikan di program studi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Megarezky Makassar. Penulis sangat menyadari bahwa begitu banyak bantuan yang telah penulis terima. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Bapak **Dr. H. Alimuddin, S.H., M.Kn.**, selaku Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar.
2. Ibu **HJ. Suryani, S.H., M.H.**, selaku Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar.
3. Bapak **Prof. Dr. dr. Ali Aspar Mappahya, Sp. PD., Sp.JP (K)**., selaku Rektor Universitas Megarezky.
4. Ibu **Prof. Dr. Dra. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt.**, selaku Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky.
5. Ibu **Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes.**, selaku Penguji dan Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, yang telah memberikan banyak ilmu dan motivasi dalam menjalankan pendidikan di Universitas Megarezky.
6. Ibu **Nur Laela Aldrus, S.Si., M.Kes.**, selaku Pembimbing I yang telah sabar membimbing dan memberikan motivasi serta bimbingan yang baik untuk hasil penelitian ini.

7. Bapak **Dr. Hairuddin K., S.S., S.KM., M.Kes.**, selaku Pembimbing II yang telah memberikan dukungan, arahan serta memberikan masukan dalam penyempurnaan hasil penelitian ini.
8. **Bapak Ibu Dosen** serta **Staf Universitas Megarezky** yang telah memberikan kemudahan penulis dalam menyelesaikan pendidikan selama ini.
9. Teman terdekat penulis **Reno Herlamban** yang selalu meluangkan waktunya yang selalu menemani, membantu dan menjadi teman terbaik untuk bercerita.
10. Teman dekat **Arda, Nita** yang telah banyak bersabar serta selalu membantu, memberikan dukungan, motivasi selama perkuliahan praktikum, dan proses penyusunan skripsi.

Akhir kata peneliti mengucapkan semoga semua bantuan dari pihak yang telah membantu dan berjasa selama menempuh pendidikan di Universitas Megarezky mendapatkan balasan amal baik oleh Allah SWT, Amminn.

Wassalamu 'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, 14 September 2022

Ayuni

ABSTRACT

Ayuni, 183145353019, Detection of the Shiga Toxin Type 1 Gene from the Enterohemorrhagic Escherichia coli Patogroup in the Feces of Diarrhea Patients Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method Supervised by Nur Laela Alydrus and Hairuddin K.

Diarrhea is an increase in the excretion of feces with a softer or more liquid liquid, even in the form of water alone, and occurs at least three times in 24 hours. In general, one of the causes of diarrhea is Escherichia coli, which can secrete toxins, thus causing disease. One of the Shiga Toxin Type 1 toxins from the enterohemorrhagic Escherichia coli pathogroup can cause bloody diarrhea in humans who struggle with hemolytic uremic syndrome. This objective is to detect the Shiga Toxin Type 1 gene from the enterohemorrhagic Escherichia coli pathogroup in the feces of diarrhea patients using the PCR method. Type of laboratory observational research The results of this study used 10 stool samples from patients with diarrhea. Of the total samples examined, no DNA bands were detected in the 348 bp target band. The conclusion of this study was that there was no Shiga Toxin Type 1 (STX1) gene detected in samples aged 3 months to 5 years.

Keywords: *Diarrhea, EHEC, STX 1.*



ABSTRAK

Ayuni, 183145353019, Deteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dibimbing oleh Nur laela Alydrus dan Hairuddin K.

Diare adalah peningkatan pengeluaran tinja dengan cairan yang lebih lunak atau lebih cair, bahkan dalam bentuk air saja dan terjadi setidaknya tiga kali dalam 24 jam. Pada umumnya salah satu penyebab diare adalah *Escherichia coli* yang dapat mengeluarkan racun sehingga menimbulkan penyakit, salah satu racun *Shiga Toxin Type 1* dari patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare berdarah pada manusia yang dapat berujung pada sindrom *hemolitik uremik*. Tujuan ini mendeteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode PCR. Jenis penelitian Observasional laboratorik. Hasil penelitian ini menggunakan 10 sampel Feses Pasien Diare, dari total sampel yang diperiksa tidak terdeteksi adanya band DNA pada target 348bp. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa tidak terdeteksi adanya *Gen Shiga Toxin Type 1* (stx1) pada sampel usia 3 bulan-5 tahun.

Kata kunci: Diare, *EHEC*, Stx1.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PLAGIARISM SCAN REPORT	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
CURRICULUM VITAE	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	

A. Tinjauan Umum Diare	
1. Definisi Diare	5
2. Diare Pada Bayi Atau Anak	6
3. Klasifikasi Diare	6
4. Mekanisme Penularan Diare	7
5. Patofisiologi Diare	8
6. Patogenesis Diare	8
7. Gejala Diare	8
8. Faktor Risiko Kejadian Diare	9
B. Tinjauan Umum Bakteri <i>Escherichia coli</i>	
1. Definisi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
2. Patogenesis Bakteri <i>Escherichia coli</i>	12
C. Tinjauan Umum EHEC Dan Stx1	
1. EHEC (Enterohemoragik <i>Escherichia coli</i>)	13
2. Stx1 (Shiga Shiga Toxin Type 1)	15
D. Tinjauan Umum <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	
1. Definisi <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	16
2. Prinsip Umum <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	16
3. Komponen <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	17
4. Tahapan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	17
E. Kerangka Teori	19
F. Kerangka Konsep	20
G. Definisi Operasional	20

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian	22
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	22
C. Populasi Dan Sampel Penelitian	22
D. Kriteria Sampel	23
E. Teknik Pengumpulan Data	23
F. Alat Dan Bahan	23
G. Prosedur Kerja	24
H. Interpretasi Hasil	27
I. Etika Penelitian	28
J. Teknik Analisis Data	28
K. Alur Kerja	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	30
B. Pembahasan	32

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	37
B. Saran	37

DAFTAR PUSTAKA	38
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	40
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Makroskopik Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
Gambar 2.2 Tahapan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	19
Gambar 2.3 Hasil Elektroforesis dengan visualisasi Gel.Doc	32

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Distribusi Karakteristik Berdasarkan Usia, Jenis Kelamin dan Gejala Klinik	31
Tabel 4.2 Pengkodean Pada Sampel Gel Agarosa	32

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Keterangan
HUS	: <i>Hemolytic Uremic Syndrome</i>
SGL	: Sumur Gali
STEC	: <i>Shiga Toxinproducing Escherichia coli</i>
TDK/DL	: Sumur Pompa Tangan Dangkal dan Dalam
PAH	: Penampungan Air Hujan
PMA	: Perlindungan Mata Air
PDAM	: Perusahaan Daerah Air Minum
SPAL	: Sarana Pembuangan Air Limbah
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
ETEC	: <i>Enterotoksigenik Escherichia coli</i>
EPEC	: <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
EHEC	: <i>Enterohemorhagik Escherichia coli</i>
EIEC	: <i>Enteroinvasif Escherichia coli</i>
EAEC	: <i>Enteroagregatif Escherichia coli</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
Stx1	: <i>Shiga Toxin Type 1</i>
Ul	: <i>microliter</i>
ml	: <i>milliliter</i>
Rpm	: <i>Revolution Per Minute</i>
EtBr	: <i>Ethidium Bromide</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diare adalah peningkatan pengeluaran tinja dengan cairan yang lebih lunak, bahkan dalam bentuk air saja dan terjadi setidaknya tiga kali dalam 24 jam, diare adalah salah satu penyebab utama kematian pada anak-anak di bawah 5 tahun (Angreli *et al*, 2015).

Menurut WHO (*World Health Organization*) di *Windows Bulletin* dari Kementerian Kesehatan 2017, ia memberi tahu bahwa penyebab utama kematian pada anak-anak adalah diare (pasca neonatal) 18% pada bayi <1 bulan (*newborns death*) 53% kematian pada bayi <1 bulan sebagai akibat dari diare yaitu 5%, tampaknya diare adalah salah satu penyebab utama tingginya jumlah kematian bayi di dunia (Maryanti *et al*, 2022).

Sementara data penelitian Riset kesehatan dasar (Riskesdas) pada tahun 2013 menunjukkan bahwa insiden diare pada anak-anak kecil di Indonesia adalah 6,7%. Lima provinsi dengan insiden diare tertinggi, yaitu Aceh 10,2%. Papua 9,6%. DKI Jakarta 8,9%. Sulawesi Selatan 8,1% dan Banten 8,0%. Sementara provinsi Riau menempati urutan ke 18 dari 33 provinsi, yaitu sebesar 5,2%. Data Kantor Kesehatan Kota Pekanbaru memperoleh jumlah kasus diare pada anak-anak kecil di puskesmas rawat inap di kota Pekanbaru pada 2013 hingga 756 kasus, dengan kasus tertinggi yang ditemukan di puskesmas rawat inap simpang tiga sebanyak 238 kasus (Cookson dan Stik, 2019).

Sulawesi Selatan mengalami peningkatan kasus diare dari 2015 hingga 2018, meskipun masih di bawah itu (100%), yaitu sebesar 80%. Hal ini disebabkan belum maksimumnya penemuan penderita diare baik oleh kader puskesmas, rumah sakit swasta dan pemerintah. Jumlah kasus diare pada anak kecil setiap tahun melebihi 40% dari ruang lingkup penemuan, diare pada 2017 yang berjumlah 40,6% dan 2018 sebesar 48,1%. Menurut data dari Kantor Kesehatan Kota Makassar pada tahun 2018, jumlah korban diare adalah 16.489 kasus, untuk diare pada balita 4.259 kasus. Pada tahun 2020 kasus diare di puskesmas pratiwi kota Makassar, ada 60 balita jenis kelamin laki-laki 32 (53,3%) dan wanita hingga 28 (46,7%) balita yang terpapar diare pada 12-19 bulan yaitu sebanyak 18 (30,0%) dan usia 50-58 bulan yaitu sebanyak 2 (3,3%) (Nur et al, 2022).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri komensal patogen intestinal dan pathogen ekstraintestinal yang dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius, meningitis, dan septicemia. Sebagian besar bakteri *Escherichia coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Sarjana et al., 2015).

Bakteri *Escherichia coli* sering disebut juga sebagai bakteri *enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC). Timbulnya gejala diare, kram perut, demam, serta muntah darah perlu diwaspadai sebagai gejala penyakit menyebabkan oleh bakteri yang sangar virulen ini. Penyakit ini ditularkan

melalui makanan yang tercemar dan makanan yang tidak dicuci bersih sebelum dikonsumsi juga dapat menjadi sumber penyakit (Kuswiyoto, 2015).

Bakteri *Escherichia coli* dapat mengeluarkan racun sehingga menjadi patogen dan menyebabkan penyakit. Bakteri *Escherichia coli* dapat memproduksi racun yang dapat menimbulkan penyakit, salah satu racun yang paling sering teridentifikasi adalah *Shiga Toxin Producing Escherichia coli* (STEC), *enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) disebabkan oleh toksin *Shiga* (Stx), EHEC menghasilkan dua jenis Stx yaitu Stx1 dan Stx2, Stx1 yang identik dengan toksin shiga yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* tipe 1 dan sifat antigenik serta daya toksisitasnya lebih kecil dibandingkan dengan Stx2 (Rizky *et al.*, 2021).

Pada penelitian sebelumnya hasil analisis patogroup *Escherichia coli* patogen dengan beberapa primer spesifik yang dengan target gen LT, LTI, SLTI, SLTII, IaI, dan plasmid menunjukkan bahwa seluruh isolat yang diuji kemungkinan lebih dekat tergolong kedalam patogroup EHEC dan *Shiga Toxin Escherichia coli*

Berdasarkan pernyataan diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Deteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang diatas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah Apakah terdeteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction*?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mendeteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini dapat digunakan untuk menambah pengetahuan terhadap peneliti dan wawasan terkait Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Pemeriksaan Molekuler.

2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai masukan dan informasi bagi masyarakat pentingnya menjaga kesehatan dan kebersihan lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Diare

1. Definisi Diare

Menurut WHO (2013), diare berasal dari bahasa Yunani Διπποια. Diare terdiri dari 2 kata, yaitu, Διαλ δια (melalui) dan πέου rheo (aliran) secara harfiah berarti mengalir. Diare adalah suatu kondisi di mana individu mengalami buang air kecil dengan frekuensi 3 atau lebih per hari dengan konsistensi feses dalam bentuk cair. Ini biasanya merupakan gejala infeksi saluran pencernaan penyakit ini dapat disebabkan oleh beberapa bakteri, virus dan parasit. Infeksi menyebar melalui makanan yang terkontaminasi atau air minum. Selain dapat terjadi dari orang ke orang sebagai akibat dari kebersihan pribadi yang buruk (kebersihan pribadi) dan lingkungan (sanitasi). Diare yang parah menyebabkan cairan dan dapat menyebabkan kematian, terutama pada anak -anak yang kekurangan gizi dan yang memiliki gangguan kekebalan tubuh (Oksfriani Jufri Sumameuw, 2017).

Diare adalah suatu kondisi di mana seseorang buang air besar dengan konsistensi lunak atau cairan. Bahkan bisa hanya air dan frekuensinya lebih sering (umumnya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Diare terdiri dari 2 jenis, yaitu, diare akut dan diare persisten/ kronis, diare akut berlangsung kurang dari 14 hari. Diare kronis berlangsung lebih dari 14 hari (Oksfriani Jufri Sumampouw, 2017).

2. Diare Pada Bayi atau Anak

Diare pada bayi usia 0-2 bulan yang masih ASI, umumnya mengeluarkan tinja 8-10 kali sehari dengan tinja cair dan bau asam. Intoleransi laktosa disebabkan oleh tubuh yang tidak memiliki enzim laktosa, yang membuat tubuh tidak mencerna kandungan gula dalam susu (laktosa). Kontak bakteri di usus dengan laktosa yang belum pernah berhasil dicerna oleh tubuh memiliki dampak pada sejumlah besar produksi gas, ini menyebabkan gejala penyakit seperti nyeri perut, pembengkakan, diare dan gangguan saluran pencernaan lainnya (Nurhayati, 2020).

Diare pada usia anak adalah periode yang cukup serius karena pada usia ini kondisi kekebalan tubuh anak belum stabil sehingga rentan terhadap penyakit diare, diare tetap menjadi masalah kesehatan dunia terutama dalam negara berkembang. Dampak masalah dapat dilihat dari jumlah kematian yang disebabkan oleh diare karena penyakit ini lebih umum pada anak-anak (Purnamasari, 2019).

3. Klasifikasi Diare

Menurut (oksfriani jufri sumampouw, 2017) diare dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok, yaitu, osmotik, sekretori dan eksudatif:

- a) Diare osmotik terjadi ketika terlalu banyak air ditarik dari tubuh ke dalam usus perut. Jika seseorang minum cairan dengan gula atau garam berlebihan, ini bisa menarik air dari tubuh ke dalam usus dan menyebabkan diare osmotik.

- b) Diare Sekretori (*noninflammatory*) diare terjadi ketika tubuh melepaskan air ke usus saat hal yang tidak seharusnya. Banyak infeksi, obat-obatan, dan kondisi lain menyebabkan sekresi diare. Diare jenis ini saat racun menstimulasi sekresi klorida dan mengurangi penyerapan garam dan air (disebabkan oleh *V. Cholera*) atau organisme lainnya yang menghambat fungsi absorpsi dari vili di usus halus.
- c) Diare eksudatif terjadi jika ada darah dan nanah dalam tinja hal ini terjadi dengan penyakit radang usus, seperti penyakit Crohn atau kolitis ulseratif.

4. Mekanisme Penularan Diare

Sebagian besar penularan diare (75%) disebabkan oleh virus dan bakteri yang ditularkan melalui oral tinja dengan mekanisme media air dan melalui tinja yang terinfeksi. Diare dapat terjadi jika seseorang menggunakan air minum yang terkontaminasi, baik yang telah terkontaminasi dari sumbernya, terkontaminasi dalam perjalanan ke rumah dan hewan yang telah terkontaminasi dengan tinja yang mengandung virus atau bakteri, apa bila di konsumsi maka orang tersebut akan terpapar diare (Dodiet Aditya Setyawan dan Wiwik Setyaningsih, 2021).

Air minum yang terkontaminasi adalah salah satu sumber utama diare yang terjadi dinegara-negara berkembang. Ditemukan bahwa perilaku masyarakat lokal tidak sehat, seperti membuang sampah disembarang tempat, menggunakan air yang tidak bersih sebagai sumber air minum (Dodiet Aditya Setyawan dan Wiwik Setyaningsih, 2021).

5. Patofisiologi Diare

Proses ini dapat memulai keberadaan mikroorganisme yang memasuki saluran pencernaan dan merusak sel-sel lendir usus yang dapat mengurangi luas permukaan usus. Selain itu, ada perubahan dalam kapasitas usus yang akhirnya menghasilkan fungsi usus yang memburuk dalam penyerapan cairan dan elektrolit, atau adanya racun bakteri akan menyebabkan usus mengalami iritasi yang kemudian Sekresi cairan dan elektrolit (Sulati et al, 2022).

6. Patogenesis diare

Bakteri patogenesis diare pada diare akut yang disebabkan oleh bakteri yang dibedakan menjadi 2 yakni bakteri non invasif adalah bakteri yang memproduksi toksin, di mana bakteri tersebut hanya melekat pada mukosa usus halus dan tidak merusak mukosa sedangkan bakteri invasif adalah bakteri yang memberi keluhan pada diare seperti air cucian beras dan disebabkan oleh bakteri *enteroinvasif*. Yaitu diare yang menyebabkan kerusakan dinding usus berupa diare bercampur lendir dan darah (Dodiet Aditya Setyawan dan Wiwik Setyaningsih, 2021).

7. Gejala diare

Menurut (Pakpahan, 2022), gejala diare yang terjadi pada anak-anak meliputi:

a. Gejala Umum

- 1) Bercak cair, atau lembek dan sering adalah gejala khas diare.

- 2) Muntah, disertai diare pada gastroenteritis akut.
- 3) Demam, dapat mendahului atau tidak mendahului gejala diare.
- 4) Gejala dehidrasi adalah mata cekung, penurunan ketegangan kulit, apatis dan bahkan cemas.

b. gejala spesifik

- 1) *Vibrio cholera*: diare hebat, warna tinja seperti cucian beras dan berbau amis.
- 2) Disentriiform: tinja berlendir dan berdarah.

8. Faktor Risiko Kejadian Diare

Faktor resiko yang menyebabkan diare diataranya adalah faktor lingkungan diperkirakan, 94% kejadian diare disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak sehat seperti sumber-sumber kotoran (pembuangan limbah, tempat sampah, pengolahan industri) dan kaitanya dengan faktor risiko seperti sumber air minum yang tidak sehat, rendahnya sistem sanitasi dan higienitas (Dodiet Aditya Setyawan dan Wiwik Setyaningsih, 2021).

Menurut (Dodiet Aditya Setyawan dan Wiwik Setyaningsih, 2021) faktor lingkungan terdiri dari:

- a) Sarana air minum, air adalah kebutuhan dasar yang sangat penting dalam hidup. Air digunakan untuk kebutuhan makanan, minuman, mandi, dan kebersihan lainnya. Beberapa sumber air bersih juga digunakan masyarakat diantaranya adalah sumur gali (SGL), sumur pompa tangan dangkal dan dalam (TDK/DL), penampungan air hujan (PAH), perlindungan mata air (PMA), Perusahaan daerah air minum (PDAM). Kondisi air bersih baik

digunakan bila memenuhi persyaratan fisik, kimia, bakterologis dan radioaktif.

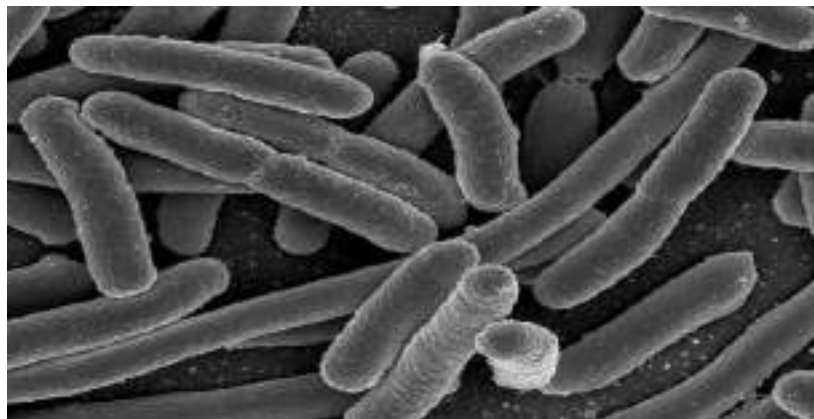
- b) Pembuangan limbah manusia (tinja) mengandung mikroorganisme dan dapat menjadi sumber penyakit menular seperti diare, oleh karena itu, pembuangan kotoran harus dikelola secara memadai dan memenuhi persyaratan kesehatan, ada 7 kondisi yang sehat yaitu, tidak mencemari air, tidak mencemari permukaan tanah, bebas dari serangga, tidak menyebabkan bau dan nyaman digunakan, aman digunakan oleh pemakainya, mudah dibersihkan dan tidak menyebabkan gangguan bagi pengguna dan tidak menimbulkan pandangan secara tidak sopan. Dikatakan bahwa pembuangan sehat jika ditutup sehingga kotoran tidak dipenuhi lalat (vektor penyakit) dan jarak pembuangan dengan sumber air bersih lebih dari 10 m, hal ini penting agar kotoran tidak mencemari sumber air tersebut.
- c) Sarana pembuangan air limbah (SPAL). Membuang air limbah dapat menyebabkan pencemaran air sehingga kualitas air turun ke tingkat tertentu yang dapat menyebabkan air tidak dapat berfungsi sesuai dengan peruntukannya. Air limbah yang dicemari biasanya berasal dari limbah industri dan limbah rumah tangga. Air tanah yang terkontaminasi limbah jika masih dikonsumsi akan menyebabkan diare.
- d) Sarana pembuangan sampah juga merupakan salah satu faktor yang menyebabkan diare, karena pembuangan sampah yang tidak sesuai dapat menjadi tempat hinggapnya hewan (faktor penyakit) seperti lalat yang membawa bakteri atau kuman penyakit ke makanan.

B. Tinjauan umum Bakteri *Escherichia coli*

1. Definisi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri coliform yang termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* adalah bakteri atau bakteri enterik yang dapat hidup dan bertahan hidup di saluran pencernaan. *Escherichia coli* adalah bakteri anaerob gram -negatif, tidak membentuk spora dan merupakan flora alami di usus mamalia (Rahayu et al., 2021).

Domain	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Orde	: <i>Enterobacteriales</i>
Famile	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.1 Morfologi Makroskopik Bakteri *Escherichia coli* (Sumber: Martani dkk, 2022).

Pada umumnya bakteri yang ditemukan oleh *Theodor Escherich* ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia, kebanyakan *Escherichia coli* tidak berbahaya, tetapi beberapa seperti *Escherichia coli* type O157:H7, dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan bernama neurotoksin. Racun ini bekerja dengan menghilangkan dasar adenin dari unit rRNA28S, sehingga menghentikan sintesis protein. Sumber bakteri ini, misalnya, adalah daging yang tidak matang. *Escherichia coli*, yang tidak berbahaya, dapat menguntungkan manusia yang memproduksi vitamin K2 atau mencegah bakteri lain di usus (Martani *et al*, 2022).

2. Patogenesis Bakteri *Escherichia coli*

Menurut (Unsyiah, 2017) mekanisme patogenesis bakteri *Escherichia coli* diklasifikasikan menurut morfologinya sebagai berikut :

- a) *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC) merupakan penyebab diare tidak hanya pada manusia tetapi juga pada hewan. Setelah masuk kedalam sistem pencernaan, ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapis lukosa usus kecil melalui interaksi yang dimediasi oleh faktor kolonisasi. ETEC akan memproduksi *enterotoksin*.
- b) *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC). Ditandai oleh kemampuan memproduksi lesi-lesi melekat dan menghapus. Dimana bakteri tersebut melekat erat pada membran apikal enterosit dan menyebabkan hilangnya mikrovilli setempat. Protein yang berperan dalam penghapusan lesi, protein ini sepenuhnya pada sendi karena patogenisitas

genomik yang hebat dari hilangnya eritrosit. Lokus ini juga mengkodekan sistem tipe sekresi tipe III, seperti *shigella*, yang menyuntikkan protein efektor bakteri ke dalam sitoplasma sel epitel. EPEC dapat menyebabkan diare endemik dan juga peristiwa luar biasa, terutama pada anak-anak di bawah 2 tahun.

- c) *Enterohemoragik Escherichia coli* (EHEC) diklasifikasikan sebagai serotipe O157: H7 dan non O157: H7 wabah *Escherichia coli* Serotipe O157: H7 di negara-negara maju telah dikaitkan dengan konsumsi makanan yang terbuat dari daging, susu dan sayuran. jarang dimasak. Kedua serotipe O157: H7 dan non O157: H7 menghasilkan racun seperti *shiga* dan dapat menyebabkan disentri. Mereka juga dapat memicu sindrom uremia hemolitik.
- d) *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC) secara bakteriologis sebagai *shigella*, tetapi tidak menghasilkan racun bakteri ini menyerbu sel epitel usus dan menyebabkan diare berdarah.
- e) *Enteroagregatif Escherichia coli* (EAEC) menempel pada eritrosit melalui fimbriae peleketa. Meskipun mereka menghasilkan LT dan racun untuk kerusakan histologis.

C. Tinjauan Umum EHEC Dan Stx 1

1. EHEC (*Enterohemoragik Escherichia coli*)

Escherichia coli enterhemorrhagic yang dapat menyebabkan diare atau colitis berdarah pada manusia yang dapat bertarung dalam sindrom hemolitik uremik. Sindrom HUS adalah penyebab gagal ginjal akut pada

anak-anak dan kematian pada orang dewasa, EHEC sering menginfeksi saluran pencernaan, gejala yang disebabkan oleh konsumsi makanan yang terkontaminasi EHEC ditandai dengan kram perut yang parah diikuti oleh diare berdarah, *Enterohemoragik Escherichia coli* ditransmisikan melalui rute fecal oral. Pangan yang berasal dari hewan seperti daging, produksi susu yang tidak dipasteurisasi atau sayuran yang telah terkontaminasi merupakan pembawa transmisi utama dari penyebaran EHEC ke manusia. Faktor virulensi utama EHEC adalah *shiga toksin 1* (stx1) dan *shiga toksin 2* (stx2) serta pemindahan enterosit yang bertanggung jawab terhadap adhesi intimin pada sel inang. Struktur dari *toxin shiga* terdiri dari 1 unit A (A1 dan A2) dengan ukuran sekitar 32 kDa dan 5 sub unit B 7,7 kDa. *Shiga toxin* dapat menghambat sintesis protein dan menginduksi terjadinya apoptosis. *Toxin shiga* dalam EHEC ada 2 jenis, yaitu stx1 dan stx2, hanya membagi 55 % asam amino yang sama dengan stx1 yang dihasilkan EHEC menyerupai stx yang dihasilkan dari *Shigella* dengan perbedaan hanya ditemukan pada asam amino tunggal katalitik sub unit A. *Toxin shiga* mampu menembus epitel usus kemudian menyebar melalui aliran darah. Infeksi yang lebih parah yang ditimbulkan EHEC seperti hemolitik uremik (HUS) menunjukkan bahwa *toxin shiga* telah menyerang ginjal atau saraf pusat. (Rahayu dkk, 2018).

EHEC mengandung gen *Escherichia coli* yang menempel dan menghilangkan kromosom yang mengkode protein membran luar yang

disebut intimin. Intimin memediasi perlekatan pada sel epitel dan mengarah pada fenotipe perlekatan dan penipisan (Slinger *et al.*, 2017).

2. Stx 1 (*Shiga Toxin 1*)

Stx 1 hampir identik dengan racun *shigella dysentri* berbeda dengan asam amino tunggal, Stx 1 dengan netralisasi oleh anti-serum terpisah, racun *shiga* adalah racun AB5 berarti bahwa mereka terdiri dari satu salinan komponen w32 kDa A (diproduksi oleh stxA) yang memiliki aktivitas enzimatik *toxin* dan lima salinan komponen w8 kDa B (doproduksi oleh stxB) masing-masing memiliki 3 situs pengikatan untuk reseptor *toxin shiga*, keluarga AB5 juga mencakup *toxin pertusis*, *toxin kolera* dan *erotoxin labil* dari *enterohemoragik escherichia coli* (Brayen *et al*, 2015).

Stx 1 diproduksi dan dirilis oleh STEC, pelepasan racun *Shiga* dalam jalur STEC dengan promor gen terkait *genom profag lambda*. Produksi *toxin shiga* menjadi adalah bagian dari pengaturan keseluruhan *profag*. Siklus reproduksi fag dan mekanisme pengaturan diasumsikan selama bertahun-tahun bahwa lisis adalah satu-satunya metode pelepasan *toxin* beberapa bukti membuktikan bahwa *toxin shiga* dapat dikirim tanpa lisis sel melalui fesikel membran luar namun diketahui bahwa stx1 dapat dikirim ke ruang ekstraseluler melalui mekanisme yang berbeda sehingga gambaran lengkap dari non pelepasan *toxin shiga* yang dimediasi lisis masih belum jelas. Reseptor stx1 adalah komponen membran sel *globotriaosylceramide* (GB30). *Toxin shiga* adalah adenin dalam rRNA 28S dari subunit ribosom

ekariotok 60s pembelahan adenin ini menyebabkan aktivitas apoptosis (Brayen et al, 2015).

D. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Definisi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik yang sangat fleksibel untuk transkripsi DNA, secara ringkas, PCR memungkinkan penggabungan DNA tertentu untuk disalin atau dimodifikasi secara default. Reaksi ini sangat kuat dan dalam kondisi sempurna dapat memperkuat molekul DNA menjadi 1,07 miliar molekul dalam waktu kurang dari dua jam. Teknik PCR dapat digunakan untuk memperkenalkan situs enzim sampai akhir molekul DNA, atau untuk mengubah basis DNA tertentu, yang terakhir adalah operasi yang disebut mutagenesis yang diarahkan ke lokasi. PCR dapat digunakan secara serupa untuk menentukan apakah fragmen DNA tertentu ditemukan di pustaka ADNC. PCR memiliki banyak variasi, seperti PCR terbalik (RT-PCR) untuk amplifikasi RNA, dan baru-baru ini PCR kuantitatif yang memungkinkan pengukuran kuantitatif molekul DNA atau RNA (Mendel et al., 2022).

2. Prinsip Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Mekanisme amplifikasi PCR sederhana tetapi elegan. Oligonukleotida primer awalnya dirancang untuk menjadi perbandingan dengan ujung urutan yang akan diperkuat. Kemudian, yang utama dengan jumlah yang berlebihan dicampur dengan template DNA dan deoxyribonucleotides dalam fragmen target DNA buffer yang sesuai. Primer akan dipulihkan

dalam posisi yang memungkinkan produk amplifikasi dari setiap untai DNA tumpang tindih dengan dibatasi oleh sisi banding primer yang berlawanan (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020).

3. Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Menurut (Etica, 2019) ada lima komponen PCR, yaitu:

- a) Tempat atau DNA cetakan: dapat berupa DNA untai ganda/double strand (dsDNA) yang telah diisolasi melalui proses isolasi DNA.
- b) Enzim DNA polimerase: umumnya berupa enzim Taq polimerase termotabil yang tidak cepat berubah sifat pada suhu yang masih tinggi (98°) dan dapat berfungsi pada suhu optimal 70° C.
- c) Primer Oligonukleotida: Dalam bentuk urutan pendek dari DNA rantai tunggal (seringkali 20-30 pasang basa) yang komplemen dengan ujung untai sense dan antisense dari sekuen DNA target.
- d) Deoksi Nukleotida trifosfat: satuan tunggal dari basis A, T, G dan C (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) yang menyediakan energi untuk polimerisasi, serta unit pengembangan untuk sintesis DNA.
- e) Sistem buffer: Dalam bentuk magnesium dan kalium untuk memberikan kondisi optimal dalam proses denaturasi dan renaturasi DNA; juga penting untuk mengaktifkan dan menstabilkan enzim polimerase.

4. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Menurut (Ethica, 2019), ada tiga tahap penting dalam proses PCR, yaitu:

a) Denaturasi

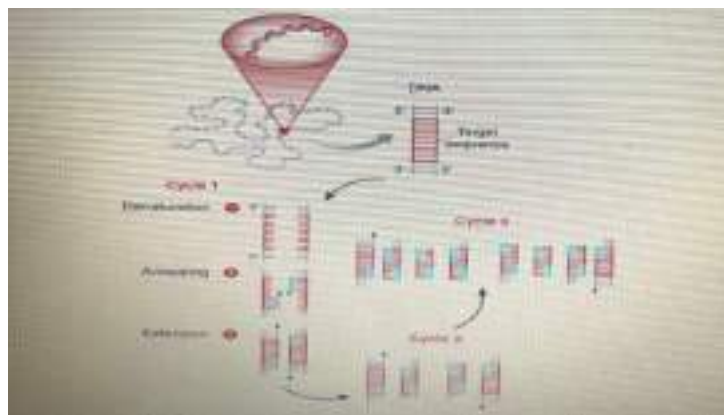
Langkah ini melibatkan pemanasan campuran reaksi hingga 94°C selama 15-30 detik. Pada temperatur ini, DNA untai ganda di denaturasi menjadi untai tunggal karena terjadi pemutusan pada ikatan hidrogen yang lemah dengan struktur DNA double strand.

b) Annealing

Pada langkah ini temperatur reaksi keseluruhan diturunkan dengan cepat ke $54-60^{\circ}\text{C}$ selama 20-40 detik. Kondisi ini memungkinkan primer untuk menempel atau melakukan anneal ke urutan komplementernya, pada DNA cetakan yang ada.

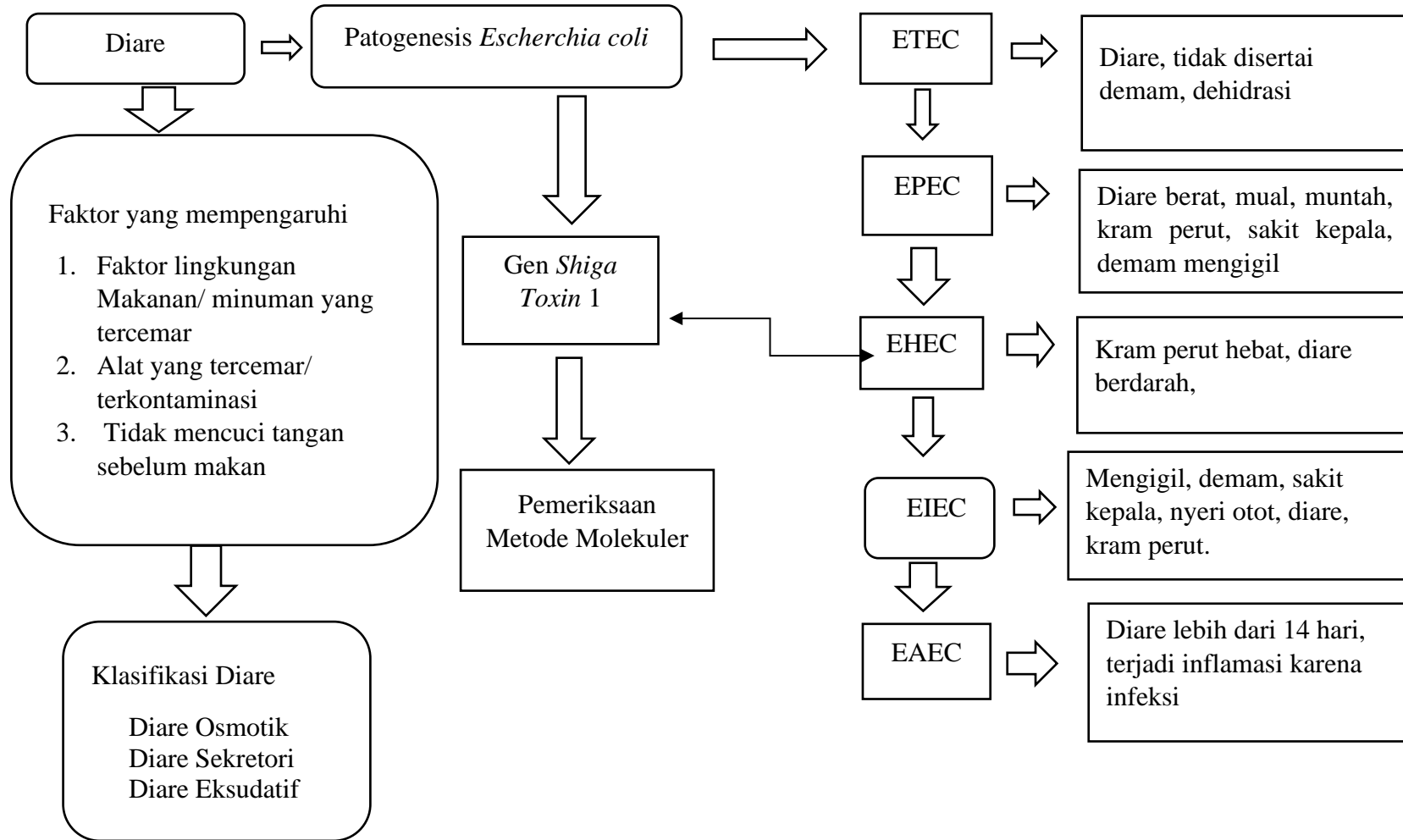
c) Extension atau perpanjangan

Juga dikenal sebagai tahap ekstensi, langkah ini biasanya dilakukan pada $72-80^{\circ}\text{C}$ (lebih umum 72°C). Pada langkah ini, enzim primer, lalu berurutan menambahkan basa ke ujung 3' disetiap primer, lalu memperpanjang sekuen DNA dalam arah 5' hingga 3'. Dalam kondisi optimal, DNA polimerase akan menambah sekitar 1.000 bp/ menit.

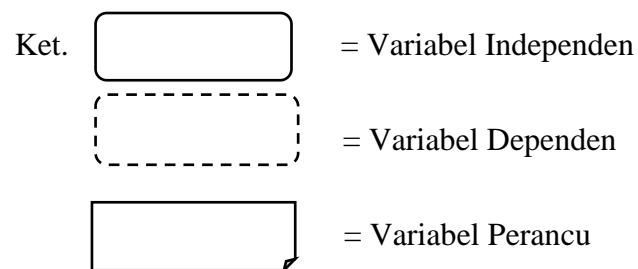
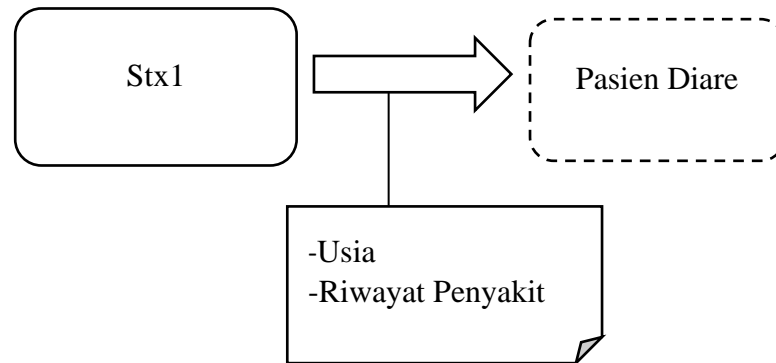


Gambar 2.2 Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)
(Sumber: Ethica, 2019).

E. Kerangka Teori



F. Kerangka Konsep



G. Definisi Operasional

1. Diare adalah gangguan saluran pencernaan yang ditandai dengan buang air encer lebih dari empat kali sehari baik disertai lendir darah maupun tidak, Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus dan parasit.
2. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) menyebabkan diare atau kolitis berdarah pada manusia dengan gejala kram perut, muntah karena mengonsumsi makanan yang masih mentah atau belum dimasak.
3. *Shiga Toxin 1* (Stx1) adalah istilah historis serupa atau identik yang diproduksi oleh *Escherichia coli*.

4. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu metode untuk meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu *observasional laboratorik* yang meneliti ada atau tidaknya kontaminan *Escherichia coli* gen Stx1 pada sampel Feses Pasien Penderita Diare.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel penelitian berlokasi di Rumah Sakit Labuang Baji, pengerjaan sampel dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)*, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juli -September 2022.

C. Populasi dan Sampel Peneliti

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua pasien diare usia 3 bulan – 5 tahun di rumah sakit labuang baji pada periode bulan Juli-September 2022.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah semua feses diare dengan sampel sebanyak 10 sampel.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria inklusi

- a) Pasien rawat inap penderita diare
- b) Pasien dengan gejala sakit perut disertai Kram perut, muntah, demam, feses berlendir dan feses berdarah.
- c) Usia 3 Bulan – 5 Tahun
- d) Bersedia menjadi responden

2. Kriteria eksklusi

- a) Pasien tidak memiliki gejala sakit perut, disertai kram perut, muntah, demam dan feses berlendir, feses disertai darah.
- b) Tidak bersedia menjadi responden

E. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan menggunakan *teknik Purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini : neraca analitik, gelas ukur, vortex, tusuk gigi, sendok tanduk, kertas timbang, kantong plastik, cool box, tissue, centrifuge (Thermos Sorvall Legend Micro 17R USA), bead tube, mesin elektroforesis, PCR system 9700, mikrowave, gel doc. tabung enedorf (ukuran 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, dan 2 ml) pipetman (ukuran 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 200 μ l) (BioRad Shaanxi China), tip,

zymo spin-filter, tabung spinn III-HRC, rak tabung, spin column (Bio Rad), cetakan agarosa, tabung PCR, computer, erlenmeyer, freezer

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini : primer stx1 pada band 348bp : Lp 30 (F):(5'-CAG TTA ATG TGG CGA AGG -3') dan Lp 31 (R): (5' -CAC CAG ACA ATG TAA CCG CTG-3) bubuk agarosa 1%, *buffer TBE, DNA Ladder/ Marker (100 bp) Ethidium Bromide, Loading dye*, sampel feses diare, pot sampel, handscoon, Kit Zymo Research (Bashing bead buffer, genomic lysis buffer, DNA pre-wash buffer, G-DNA wash buffer, pref solution, DNA elution buffer). Mix PCR (Enzim Kappa (merk dagang), Nuclease Free Water.

G. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Diberikan pot sampel kepada orang tua pasien dan dipastikan pot sampel steril agar tidak ada kontaminasi lalu meminta orang tua pasien untuk menampung feses pada pot sampel yang telah diberikan. kemudian tutup pot sampel yang berisi feses dibungkus menggunakan plastik lalu masukan ke dalam cool box.

2. Pemeriksaan Molekuler

a) Tahapan Ekstraksi

Ditimbang sampel feses sebanyak 0,2 gram dan dimasukkan kedalam tabung bead buffer lalu ditambahkan 750 µl beashing bead buffer dan di vortex selama 5-10 menit dengan kecepatan maksimum,

setelah itu disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Diambil supernatannya sebanyak 400 µl dimasukkan ke zymo spin-filter di taruh tabung penampung bagian bawahnya dan disentrifus 10.000 rpm selama 1 menit. Ditambahkan genomic lysis buffer 1,200 µl, di up down terlebih dahulu dan dipindahkan 800 µl ke tabung zymo spin colum dan disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit, kemudian dibuang alirannya (tabung penampung) dan dimasukkan kembali 800 µl ke tabung zymo spin colum dan disentrifus 10.000 rpm selama 1 menit, dicuci dengan DNA pre-wash buffer sebanyak 200 µl, ke dalam zymo spin colum, disentrifus 10.000 rpm selama 1 menit ditambahkan G-DNA wash buffer 500 µl, lalu dibuang tabung penampungnya diganti menggunakan tabung eppendorf 1,5 µl ditambahkan 100 µl DNA elution buffer disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 rpm diambil tabung spin III HRC kemudian ditambahkan tabung penampung dibawahnya lalu ditambahkan presolution 600 µl lalu disentrifus dengan kecepatan 8.000 rpm selama 3 menit, dibuang tabung penampungnya dan pasang tabung eppendorf lalu tambahkan 100 µl larutan yang disimpan dan disentrifus 16.000 rpm selama 3 menit lalu diambil bagian bawahnya yang berisi DNA sampel.

b) Proses PCR

Dibuat terlebih dahulu kontrol positif dengan menggunakan metode fulling yang pertama-tama dipipet terlebih dahulu semua

sampel DNA sebanyak 2 μ l dimasukkan kedalam tabung untuk digunakan sebagai kontrol positif. Dibuat PCR mix terlebih dahulu, dipipet enzyme kapa (dNTP) sebanyak 84 μ l, dipipet primer F stx1 sebanyak 6 μ l, primer R stx1 sebanyak 6 μ l, dipipet nuclease freewater sebanyak 24 μ l lalu difortex selama 5 sampai 10 detik kemudian siapkan tube PCR dan diberi kode pada masing-masing tube PCR, dipipet PCR mix sebanyak 10 μ l dan dimasukkan kedalam tube PCR yang telah diberi kode lalu ditambahkan sampel DNA sebanyak 2,5 μ l kedalam tube yang telah berisi PCR mix. Kemudian dipipet kontrol positif yang telah dibuat sebanyak 2,5 μ l dan dimasukkan kedalam tube yang telah berisi PCR mix lalu dipipet nuclease freewater sebanyak 2,5 μ l dan dimasukkan pada tube yang berkode kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-). Setelah itu dispin semua sampel selama 5 sampai 20 detik lalu dimasukkan kedalam alat PCR pada tahap amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin Thermoermalcyler, siklus termal pada setiap protokol PCR terdiri dari 3 tahap yaitu : tahap 1 terdiri dari denaturasi menggunakan suhu 95°C selama 5 menit, tahap aneling menggunakan suhu 55-60°C selama 30 detik, tahap extention menggunakan suhu 72°C selama 5 menit.

c) Elektroforesis

Untuk melihat hasil PCR dilakukan tahap elektroforesis yang pertama dilakukan pada tahap ini yaitu dibuat gel agarose 1% dengan

cara ditimbang bubuk agarosa sebanyak 1 gram dan dilarutkan kedalam 100 ml buffer TBE, kemudian dihomogenkan menggunakan microwave hingga larut pada suhu 450°C selama 2 menit kemudian ditambahkan ethidium bromide 5 µl yang berfungsi sebagai pewarna DNA lalu dihomogenkan. 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 yang berfungsi sebagai penjaga keseimbangan ion H⁺ dan ion OH⁻ yang dihasilkan oleh elektroda, sebanyak 5 µl sampel DNA dan 5 µl marker berfungsi sebagai penanda atau penggaris untuk melihat posisi DNA berdasarkan ukuran dimasukkan kedalam sumur agarose, untuk memulai pemeriksaan hubungkan kabel hitam (-) dan merah (+) dari sumber arus listrik ke tangki elektroforesis, kemudian atur voltase dan waktu running pada 50 V selama 30 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.

H. Interpretasi Hasil

- a) Positif: Munculnya target band 348bp pada saat visualisasi Gel Doc
- b) Negatif: Tidak munculnya target band 348bp pada saat visualisasi Gel Doc

J. Etika Penelitian

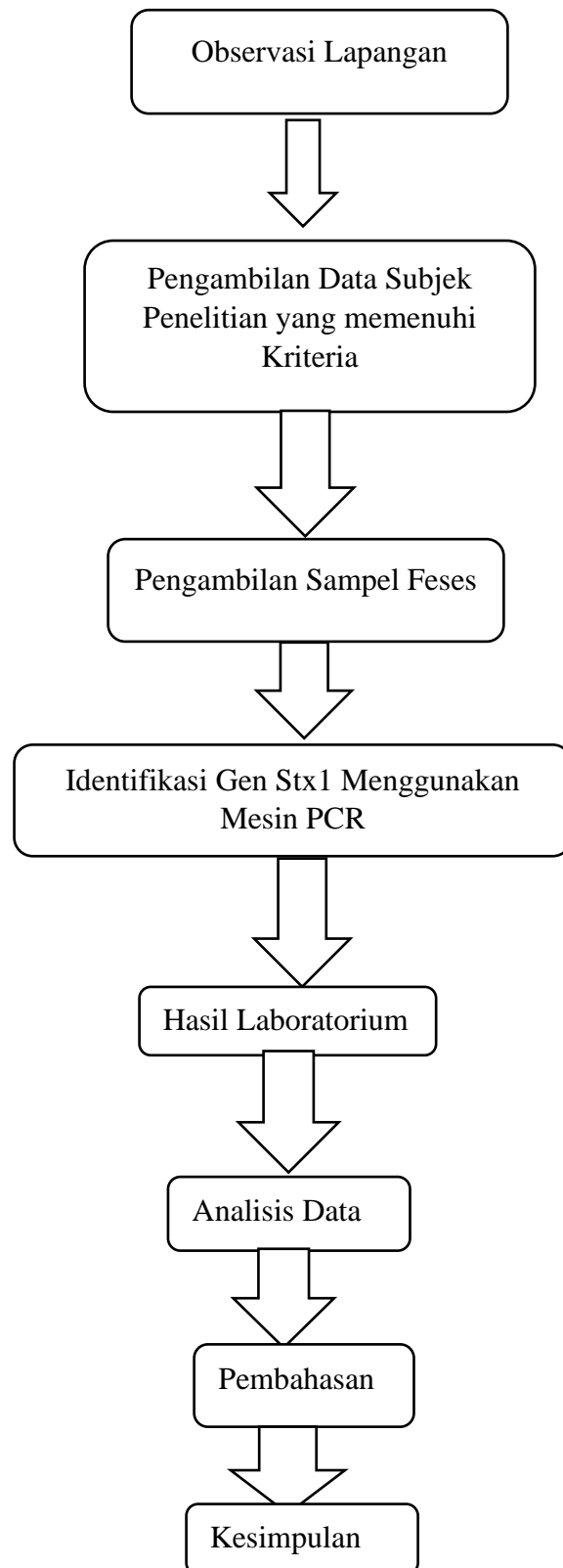
Penelitian ini menggunakan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksanaannya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian:

- 1) *Nominality* yaitu nama responden tidak ditemukan melainkan menggunakan kode atau inisial pada lembar pengumpulan data dan hasil penelitian.
- 2) *Confidentiality* yaitu data atau informasi yang didapat selama penelitian akan dijaga kerahasiaannya dan hanya dapat melihat data tersebut serta hanya data tertentu yang dilaporkan pada hasil penelitian.
- 3) *Sukarela* tidak ada unsur paksaan atau tekanan secara langsung maupun tidak langsung dari peneliti kepada calon responden atau sampel yang akan diteliti

K. Analisis Data

Analisis data di lakukan dalam bentuk tabel dan gambar yang kemudian dinariskan.

L. Alur Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini bersifat *observasional laboratorik* di mana sampel pada penelitian ini diambil dari RSUD Labuang Baji Makassar dengan jumlah sampel yaitu 10 sampel pasien diare. Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan metode PCR di laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC)* Unit Biologi Molekuler dan Seluler Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin diperoleh hasil sebagai berikut.

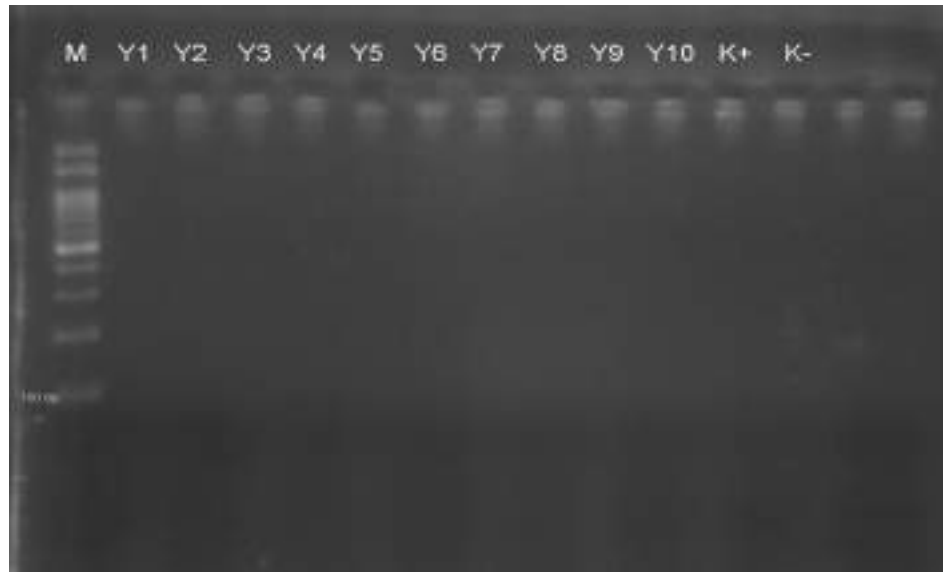
1. Distribusi Karakteristik Berdasarkan Usia, Jenis Kelamin Dan Gejala Klinik.

Tabel 4.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	N	Presentase (%)
1. Usia		
3 – 5 Bulan	5	50 %
9 – 10 Bulan	2	20 %
3 – 5 Tahun	3	30 %
Total	10	100 %
2. Jenis Kelamin		
Perempuan	4	40 %
Laki-laki	6	60 %
Total	10	100 %
3. Gejala Klinis Diare		
Feses Berlendir	3	30 %
Muntah	3	30%
Demam	4	40 %
Total	10	100 %

2. Hasil Visualisasi Pada Gel DOC Dengan Metode PCR

Hasil analisis menggunakan PCR dengan jumlah sampel sebanyak 10 terlihat bahwa tidak terdeteksinya Gen *Shiga Toxin Type 1* atau Tidak munculnya target band 348bp pada sumuran. Dapat terlihat pada gambar 2.4



Gambar 2.3 Hasil Visualisasi Elektroforesis Pada Gel.Doc dapat dilihat pada Y1-Y10 kode sampel, K(+): kontrol positif, K(-):kontrol negatif dan M:Marker. Dari 10 sampel tidak terdeteksi adanya band pada sumuran dengan target 348bp menggunakan primer stx1: Lp 30 (F):(5'-CAG TTA ATG TGG CGA AGG -3') dan Lp 31 (R): (5' -CAC CAG ACA ATG TAA CCG CTG-3).

3. Distribusi Pasien Dengan Pemeriksaan PCR

Tabel 4.2 Hasil Deteksi PCR

No	Kode Sampel	Hasil PCR	Keterangan
1.	Y1	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
2.	Y2	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
3.	Y3	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
4.	Y4	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
5.	Y5	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)

6.	Y6	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
7.	Y7	Tidak Terbentuknya bandDNA	(-)
8.	Y8	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
9.	Y9	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)
10.	Y10	Tidak Terbentuknya band DNA	(-)

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Megrezky dan melakukan proses PCR di *Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus 2022. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi *Gen Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction*. Proses pengumpulan sampel pasien Diare di RSUD Labuang Baji Makassar. Sampel merupakan feses pasien diare pada bayi atau anak.

Dalam penelitian ini terdapat beberapa tahapan yang akan dilakukan mulai dari pengambilan sampel Feses Pasien Diare rawat inap RSUD Labuang Baji yang telah memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengisi kuesioner, apabila pasien atau orang tua pasien bersedia dan menyetujui menjadi responden maka diberikan pot sampel yang telah diberi kode sebagai wadah penampung sampel serta memberikan arahan cara pengambilan sampel. Sampel yang telah diperoleh dibungkus menggunakan plastik lalu masukan ke dalam cool box.

Lalu dilakukan penimbangan sampel dan ekstraksi DNA untuk mendapatkan DNA murni lalu dilanjutkan ke tahap PCR.

Berdasarkan Pada tabel 4.1 mengenai Distribusi karakteristik pasien diare berdasarkan usia terdapat 5 orang (50%) usia 3-5 bulan, pada sebaran 9-10 bulan terdapat 2 orang (20%) usia 6-10 bulan dan sebaran 1-5 tahun terdapat 3 orang (30%) pada penelitian ini banyaknya kejadian diare pada anak usia 3-5 bulan hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya Bakri dkk (2015). Menyatakan karena balita biasanya masih mendapat ASI dari ibunya dan belum mendapat makanan tambahan, demikian tingkat imunitas balita tersebut tinggi yang diperoleh langsung dari Asi atau pemberian MP-ASI yang terkontaminasi sehingga resiko untuk terkena diare, pada kelompok umur 6-10 bulan biasanya balita sudah mendapat makanan tambahan dan menurut perkembangannya mulai dapat merangkak sehingga kontak langsung bisa saja terjadi. Selain itu pada usia tersebut anak berada pada fase oral dimana anak memiliki kebiasaan memasukan barang-barang yang ada disekelilingnya ke dalam mulut sehingga hal ini dapat meningkatkan resiko diare, sedangkan Pada umur 3-5 tahun anak sudah mulai aktif bermain diluar lingkungan rumah yang kotor serta melalui cara hidup yang kurang bersih sehingga rentan terkena infeksi penyakit terutama diare.

Berdasarkan Pada tabel 4.1 mengenai Distribusi karakteristik pasien diare berdasarkan jenis kelamin didapatkan lebih banyak penderita diare pada anak laki-laki dengan jumlah 6 orang (60%) dibandingkan dengan anak perempuan terdapat 4 orang (40%) hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya (Bakri

dkk, 2015) yang menyatakan diare anak dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 18 pasien (64,29 %) dan jenis kelamin perempuan dengan jumlah pasien 10 (35, 71 %). Penelitian sebelumnya (Wulandari dkk, 2020) menyatakan Tidak ada hubungan antara diare dan jenis kelamin perempuan maupun laki-laki hal ini disebabkan diare dapat menyerang siapa saja baik laki-laki maupun perempuan tergantung pada beberapa faktor seperti faktor gizi, faktor makanan, faktor ekonomi, faktor lingkungan.

Berdasarkan Pada tabel 4.1 mengenai Distribusi karakteristik pasien diare berdasarkan Gejala klinik penderita diare mengalami gejala feses berlendir 3 (30%), muntah 4 (40%), dan demam 60 (60%), diantara gejala yang terjadi terbanyak adalah demam dan muntah hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya (Bakri dkk, 2015) yang menyatakan gejala klinik penderita diare anak muntah (78,57%), demam (71,49%) feses encer dengan lendir (17,86%). Hal ini disebabkan karena masuknya mikroorganisme ke saluran pencernaan yang disebabkan oleh bakteri, virus dan parasit, infeksi ini menyebar melalui makanan yang terkontaminasi atau air minum sehingga terjadinya diare.

Pada tahap Ekstraksi DNA dengan metode Spin Column adalah proses sangat memberikan pengaruh yang besar dimana hal ini dilakukan agar DNA yang terdapat dalam sampel aktif dan tersaring dengan baik setelah penambahan reagen, dimana reagen yang digunakan untuk ekstraksi DNA yang merupakan suatu proses pemisahan molekul-molekul lain selain DNA, proses ini berfungsi untuk mendapatkan DNA murni tanpa kontaminasi dari molekul lain seperti RNA, lipid dan protein.

Sebelum dilanjutkan ke proses PCR terlebih dahulu melakukan mix PCR yakni mencampurkan enzim kapa berfungsi untuk meng amplifikasi fragmen DNA, primer forward, primer reverse, nuclease free water + DNA template (hasil isolasi) dicampurkan dalam tube microcentrifuge. Adapun fungsi dari nuclease free water yaitu agar DNA tidak berada dalam kondisi kering yang mengganggu proses sintesis DNA oleh enzim Taq Polimerase.

Pada tahap proses PCR dimulai dengan proses predenaturasi yaitu proses yang digunakan untuk melakukan pemisahan rantai DNA template, kemudian proses annealing yaitu proses penempelan primer pada rantai tunggal DNA, serta proses extension atau proses pemanjangan untai baru DNA dari sampel kemudian dilanjutkan dengan proses elektroforesis untuk melihat pita-pita DNA pada sampel yang dideteksi.

Dapat di lihat pada gambar 2.4 Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa dari 10 sampel feses pasien diare pada usia 3 bulan – 5 tahun tidak terdeteksi adanya Gen *Shiga toxin* tipe 1 pada target band 348bp. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Suardana dkk (2010) dan Wang dkk (2017) menyatakan karena kurang optimumnya waktu optimasi dari mesin PCR pada saat amplifikasi (khususnya suhu annealing yang rendah) jumlah siklus yang terlalu banyak ataupun dapat diakibatkan karena pemilihan primer kurang spesifik.

Penelitian yang dilakukan Wasteson dkk (2012) menyatakan sebanyak 541 swab feses berhasil dikumpulkan 165 swab dari mahasiswa, karyawan, anak-anak dan manusia lanjut usia (kelompok A) dan 416 swab feses dari

laboratorium rumah sakit mikrobiologi Daerah (kelompok B) 23 sampel (13,9%) dari kelompok A 150 sampel (36,1%) dari kelompok B dinyatakan positif stx atau terdeteksinya *Shiga toxin* pada feses manusia.

Penelitian ini terlambat dilaksanakan karena waktu pengumpulan sampel yang cukup lama di karenakan sulit mendapatkan sampel yang sesuai dengan kriteria sampel yang dibutuhkan. Selama proses pengumpulan, sampel di simpan di kulkas dengan suhu yang tidak sesuai dengan syarat penyimpanan sampel yaitu -4°C dan diawetkan menggunakan formalin jika sampel disimpan pada waktu yang lama sehingga tidak dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Setelah melakukan penelitian, menunjukkan bahwa tidak terdeteksi adanya Gen *Shiga toxin type 1* (stx1) pada target band 348bp karena sampel yang digunakan tidak sepenuhnya memenuhi kriteria sampel yang diperlukan.

Hasil negatif dapat juga disebabkan berbagai faktor termaksud waktu pengambilan sampel, prosedur operasinal dan kualitas reagen, buruknya kualitas sampel yang mengandung sedikit material subtansi target, waktu pengambilan sampel terlalu awal atau terlalu lambat dan tidak sesuai dengan penanganan transportasi sampel dapat menjadi sebab didapatkannya hasil negatif.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan dari 10 sampel feses pasien diare pada usia 3 bulan – 5 tahun tidak terdeteksi adanya Gen *Shiga Toxin Type 1* (stx1) pada target band 348bp menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. SARAN

Perlu dilakukan lagi deteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* dengan menggunakan populasi sampel yang lebih banyak lagi dan memenuhi kriteria inklusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andi Sani, Sartika, dan I. A. (2020). *Kontaminasi Bakteri Escherichia Coli Pada Susu Balita Dengan Kejadian Diare Pada Balita Ilmu Kesehatan Masyarakat*, Universitas Muslim Indonesia Article history : 1(1), 22–30.
- Bakri Zakia, dkk. (2015). *Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR* : Vol 5. No.2
- Bryan Allen, dkk. (2015). *Shiga Toxin Producing Escherichia coli*, Clin Lab Med.
- Cookson, M. D., & Stirk, P. M. R. (2019). *Gejala Penyerta Pada Balita Diare Dengan Infeksi Enteropatogenik Escherichia coli (EPEC) Di Puskesmas Rawat Inap Kota Pekanbaru*. 1–7.
- Dodiet Aditya Setyawan, S. K. M. M. P. H., & Wiwik Setyaningsih, S. K. M. M. K. (2021). *Studi Epidemiologi Dengan Pendekatan Analisis Terhadap Faktor-faktor risiko Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Pada Anak Di Kecamatan Karangmalang Kabupaten Sragen*. Penerbit Tahta Media Group. <https://books.google.co.id/books?id=d8E0EAAAQBAJ>
- Ethica, S. N. (2019). *Pengantar Bioinformatika Untuk Mahasiswa Laboratorium Medis*. Deepublish. <https://books.google.co.id/books?id=n6D6DwAAQBAJ>
- Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. L. (2020). *Polymerase Chain Reaction (PCR): Teknik dan Fungsi*. Universitas Brawijaya Press. <https://books.google.co.id/books?id=SgcPEAAAQBAJ>
- Martani Sri Natalia. 2022. "Mamograf Escherichia Coli Sungai Kahayan". Bandung: Media Sains Indonesia
- Mendel, Y., Kaisermann, J., & Pawlowski, M. (2022). *Teknik Biologi Molekuler I*. CambridgeStanfordBooks. <https://books.google.co.id/books?id=fqT5DwAAQBAJ>
- Nur Hamdani, Rahmadani N, Hermawan A, (2022) Hubungan Sanitasi Lingkungan Dengan Kejadian Diare Pada Balita Di Wilayah Kerja Puskesmas Pratiwi Kota Makassar vol. 5. no. 3
- Nurhayati. 2020. "Ayo Cegah Diare". Jakarta: Pantera Press
- Oksfriani Jufri Sumampouw, dkk. (2017). *Diare Balita: Suatu Tinjauan dari Bidang Kesehatan Masyarakat*. Deepublish. <https://books.google.co.id/books?id=93ZLDwAAQBAJ>
- Pakpahan, E. M. A. J. L. H. N. S. F. (2022). *Faktor Pemicu Diare Berdasarkan Kepada Sanitasi Lingkungan*. Global Aksara Pers. <https://books.google.co.id/books?id=yhRuEAAAQBAJ>
- Purnamasari, L. (2019). Identifikasi Keberagaman Bakteri Penyebab Diare Pada Anak Dengan Metode Kultur. *Jurnal Ilmiah Mappadising*, 1(September), 2686–3324. <http://ojs.lppmuniprima.org/index.php/mappadising>
- Rahayu, P. D. W. P., Dr. Siti Nurjanah, S. T. P. M. S., & Ema Komalasari, S. T. P.

- M. S. (2021). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko*. PT Penerbit IPB Press. <https://books.google.co.id/books?id=jNcrEAAAQBAJ>
- Rini Puspitaningrum, C. A. S. (2018). *Genetika Molekuler Dan Aplikasinya*. Deepublish. <https://books.google.co.id/books?id=HymJDwAAQBAJ>
- 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 Farmasi Med (Jfm)*, 3(2), 118–123. <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i2.615>
- Sari, Piesestyani & lukman. 2021. "Escherichia Coli O157:H7 Resisten Antibiotik Pada Daging Kebab Yang Dijual Di Sekitar Kampus IPB Dramaga Bogor.
- Sarjana, G., Jurusan, F., Pada, F., Kedokteran, F., & Kesehatan, I. (2015). *Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur dan PCR*. 5(2), 184–192.
- Slinger, dkk. 2017. "Higher Atypical Enteropathogenic Escherichia coli (a-EPEC) Bacterial Loads In Children With Diarrhea Are Associated With PCR Detection Of The EHEC Factor Fpr Adherence 1/Lymphocyte Inhibitory Factor A (efa1/Iifa) Gene. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*.
- Suardana, dkk. 2010. *Identifikasi Escherichia Coli O157:H7 Serta Deteksi Gen Shiga Like Toxin 1 Dan 2 Asal Feses Hewan, Daging Dan Feses Manusia*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Sulastien, dkk. 2022. "Buku Ajaran Keperawatan Gawat Darurat Dilengkapi Dengan Diagnosa SDKI, SIKI SIKI Dan Manajemen Disaster". Jakarta: Guepedia.
- Unsyiah, F. K. H. (2017). *Buku Ajar - Patologi*. Syiah Kuala University Press. <https://books.google.co.id/books?id=od3RDwAAQBAJ>
- Wang, dkk. (2017) *Multiplex Real-Time PCR Assay For Detection Of Escherichia Coli O157:H7 And Screening For Non-O157 Shiga Toxin-Producing E.coli*. BMC Microbiology.
- Wasteson, dkk. (2012) *Shiga Toxin-Encoding Genes (stx genes) In Human Faecal Samples*. ACTA PATHOLOGICA, MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA SCANDINAVICA.
- Wulandari, dkk (2020) *Pola Penggunaan Obat Diare Akut Pada Balita Di Rumah Sakit*. Volume 4 Nomor 3. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*,

Lampiran 1







TABULASI DATA HASIL PENELITIAN

" Deteksi Gen *Shiga Toxin Type 1* Dari Patogroup *Enterohemorrhagic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*"

NO	Inisia	Umur	Jenis Kelamin	Keterangan
.	1			
1.	K	10 Bulan	perempuan	Feses encer disertai lendir, muntah.
2.	H	4 Tahun	Laki-laki	Feses encer disertai lendir, dan muntah.
3.	R	9 Bulan	Laki-laki	Feses encer.
4.	R	4 Bulan	Laki-laki	Feses encer.
5.	A	5 Bulan	Laka-laki	Demam dan Feses encer
6.	S	5 Bulan	Perempuan	Feses encer
7.	R	3 Bulan	Laki-laki	Feses keras
8.	A	4 Bulan	Laki-laki	Feses keras
9.	A	3 Tahun	Perempuan	Demam, Feses encer disertai lendir, dan muntah.
10.	P	5 Tahun	Perempuan	Feses encer

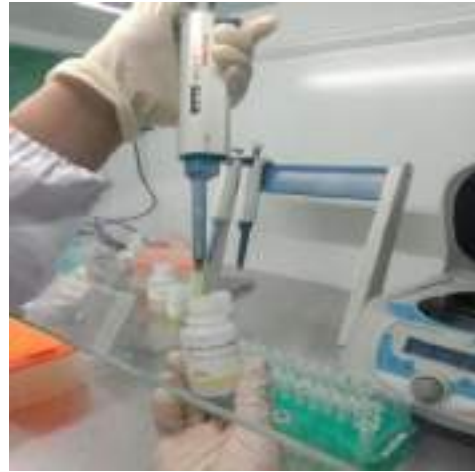
Lampiran 2 : Gambar Proses Pengerjaan Sampel

1. Proses Penimbangan Sampel Dan Ekstraksi DNA

 <p>1.1 Sampel Feses Diare</p>	 <p>1.2 Penimbangan Sampel Feses</p>
 <p>1.3 Penambahan Bashing Bead Buffer</p>	 <p>1.4 Divortex selama 5 menit</p>
 <p>1.5 Proses sentrifus</p>	 <p>1.6 pemipetan ke dalam tabung</p>



1.7 Pemipetan Genomic Lysis Buffer



1.8 Pemipetan DNA Pre-Wash



1.9 Pemipetan DNA Elution Buffer



1.10 Pemipetan Prep Solution







1.11 Pemipetan G -DNA Wash buffer



1.12 hasil DNA sampel

2. Proses Mix PCR Dan Amplifikasi Menggunakan Mesin PCR

	
<p>1.13 proses pemipetan Enzim kapa, primer <i>forward</i>, primer <i>Reverse</i> dan <i>Nuclease Free Water</i></p>	<p>1.14 hasil setelah dilakukan penambahan enzim kapa dan sampel DNA</p>
	
<p>1.15 dispin sampel selama 5-10 detik</p>	<p>1.16 di amplifikasi pada alat PCR</p>

3. Proses Elektroforesis Gel Agarosa 1%



1.17 penimbangan agarosa 1%



1.18 dimasukkan buffer TBE 100ml



1.19 dipanaskan pada mirowave



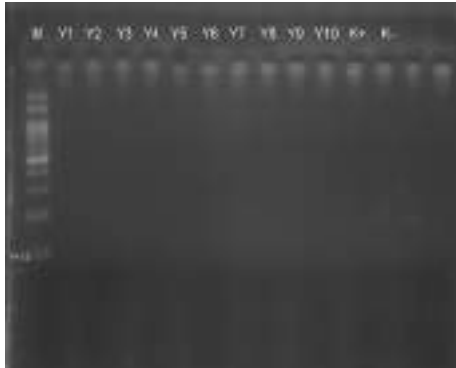
1.20 penambahan ethidium bromide



1.21 dituang gel agarosa kedalam cetakan



1.22 ditunggu hingga kering



1.25 Hasil penelitian

Lampiran 3: Kuesioner Penelitian

Informed Consent

Persetujuan Menjadi Pasien



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Perkenalkan nama saya Ayuni, Mahasiswa D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megawaty Makassar. Saya melakukan Penelitian Tentang "Deteksi Gen Shiga Toxin Tipe 1 Dari Patogroup *Enterohemorragic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*". Penelitian ini dilakukan sebagai tahap akhir dalam menyelesaikan studi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Megawaty.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi Gen Shiga Toxin Tipe 1 Dari Patogroup *Enterohemorragic Escherichia coli* Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode PCR.

Saya berharap kepada orang tua Pasien bersedia anaknya menjadi responden dari subjek dalam penelitian ini, dimana akan dilakukan penyebaran kuesioner dan pengambilan Feses Diare terkait dengan penelitian ini, semua informasi yang diberikan oleh orang tua pasien terjamin kerahasiannya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Peneliti	Orang tua Pasien
 Ayuni	 ID: 123456789

Kuesioner Penelitian


Nama : ADELIA RAHMADANI

Jenis Kelamin : Perempuan

Umur : 7 Tahun

1. Apakah anak anda dalam satu hari diare lebih dari 3 kali ?
 a. Ya
 b. Tidak
2. Apakah tinja anak anda cair, berlendir disertai darah ?
 a. Ya
 b. Tidak
3. Apakah anak anda mengalami gejala sakit perut, muntah, demam disertai gelisah ?
 a. Ya
 b. Tidak
4. Apakah anak anda masih diberikan ASI ?
 a. Ya
 b. Tidak
5. Apakah jenis sumber air yang anda gunakan untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari ?
 a. PDAM
 b. Air Mineral
 c. Sumur
 d. Air Hujan atau PAH

Lampiran 4: Keterangan Lolos Uji Turnitin


LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
 SK. Menteri/Keputusan RI. No. 1194/KPT/2018 Terakreditasi BAN-PT
Kampus 1: Jalan Arong Raya No. 42 Telp. (081) 492 801 - 08802 Fax. 08804 80400 <http://www.unismegarezky.ac.id> info@unismegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 1091/T/07.091056/12/2022

Yang bertanda tangan di bawah ini,


Nama : Syamsuryana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep
 NIDN : 0915118602
 Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Ayani
 NIM : 180145353019
 Prodi : D-IV Teknologi Laboratorium Medis
 Judul Skripsi/KTI : Deteksi Gen *Stx2c* Toxin Type 1 Dari Patogroup Enterohemorrhagic
Escherichia coli Pada Feses Pasien Diare Dengan Menggunakan Metode
Polymerase Chain Reaction (PCR)

Telah melalui uji otomatis dengan software Turnitin dan dinyatakan lolos dengan persentase 10% sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 29 September 2022
 Ketua

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



Similarity Report ID: oid:22918:22158450

● **10% Overall Similarity**

Top sources found in the following databases:

- 10% Internet database
- 2% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 0% Submitted Works database

TOP SOURCES

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	pasca.unhas.ac.id Internet	1%
2	poltekkes-solo.ac.id Internet	1%
3	id.istanbulseo.net Internet	<1%
4	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet	<1%
5	coursehero.com Internet	<1%
6	repository.its.ac.id Internet	<1%
7	repository.uai.ac.id Internet	<1%
8	repo.stikmuhptk.ac.id Internet	<1%

9	123dok.com	<1%
	Internet	
10	repository.stikeselisabethmedan.ac.id	<1%
	Internet	
11	bidaneliasafitri.blogspot.com	<1%
	Internet	
12	etd.repository.ugm.ac.id	<1%
	Internet	
13	ejournal.medistra.ac.id	<1%
	Internet	
14	ejurnal.ung.ac.id	<1%
	Internet	
15	Andi Sani, Sartika Sartika, Inka Anugrah. "KONTAMINASI BAKTERI ESC..."	<1%
	Crossref	
16	Dspace.Uii.Ac.Id	<1%
	Internet	

Lampiran 5: Surat Izin Penelitian



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

Nomor	: 8070/S.01/PTSP/2022	Kepada Yth.
Lampiran	: -	1. Direktur RS Universitas Hasanuddin Makassar
Perihal	: <u>Izin penelitian</u>	2. Rektor Univ. Megarezky Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1589/07.091056/VII/2022 tanggal 06 Juli 2022 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: AYUNI
Nomor Pokok	: 183145353019
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medik
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Anjang Raya No. 43 Makassar

PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

**" DETEKSI GEN SHIGA TOXIN TIPE I DARI PATOGROUP ENTEROHEMORRHAGIC
 ESCHERICHIA COLI PADA FESES PASIEN DIARE DENGAN MENGGUNAKAN METODE
 POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "**

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. *24 Agustus s/d 24 September 2022*

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 24 Agustus 2022

A.n. GUBERNUR SULAWESI SELATAN
 KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU
 SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN



Ir. H. SULKAF S LATIEF, M.M.
 Pangkat : PEMBINA UTAMA MADYA
 Nip : 19630424 198903 1 010

Tembusan Yth

1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. Peninggal