

SKRIPSI

**ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic Escherichia coli* DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* PADA LAWAR PLEK
DI DESA KETEWEL, GIANYAR**



**Oleh :
I MADE YOGI HARDIYANTA
NIM. P07134220040**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024**

**ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic*
Escherichia coli DENGAN METODE *POLYMERASE*
CHAIN REACTION PADA LAWAR PLEK
DI DESA KETEWEL, GIANYAR**

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis**

**Oleh :
I MADE YOGI HARDIYANTA
NIM. P07134220040**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024**

LEMBAR PERSETUJUAN

ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic Escherichia coli* DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* PADA LAWAR PLEK DI DESA KETEWEL, GIANYAR

Oleh:

I MADE YOGI HARDIYANTA
NIM. P07134220040

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama



Dr. drg. I Gusti Agung Ayu Putu
Swastini, M.Biomed
NIP. 196712182002122001

Pembimbing Pendamping



Heri Setiyo Bekt, S.ST., M.Biomed
NIP. 198506022010121001

MENGETAHUI

KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR



I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, SKM., M.PH
NIP. 197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL:
ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic*
Escherichia coli* DENGAN METODE *POLYMERASE
***CHAIN REACTION* PADA LAWAR PLEK**
DI DESA KETEWEL, GIANYAR

Oleh :

I MADE YOGI HARDIYANTA
NIM. P07134220040

TELAH DIUJI DI HADAPAN TIM PENGUJI
PADA HARI: KAMIS
TANGGAL: 25 APRIL 2024

TIM PENGUJI:

- | | | |
|---|-----------|---------|
| 1. Ni Nyoman Astika Dewi, S.Gz., M.Biomed | (Ketua) | (Hastu) |
| 2. Dr. drg. I Gusti Agung Ayu Putu Swastini, M.Biomed | (Anggota) | (Hastu) |
| 3. Burhannuddin, S.Si., M.Biomed | (Anggota) | (Ry) |

MENGETAHUI
KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR


I Gusti Ayu Sri Dhyana Putri, SKM., M.PH
NIP. 197209011998032003

Om Swastyastu,

*Puji dan Syukur dihadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa,
yang senantiasa memberikan anugerah, arahan, dan perlindungan kepada saya
sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.*

*Terima kasih kepada dosen dan pegawai serta staff yang telah memberikan
bimbingan selama proses perkuliahan*

*Terima kasih kepada orang tua saya, yang selalu memberikan dukungan,
motivasi, edukasi, serta menemani saya disetiap waktu.*

*Terima kasih kepada saudara kandung saya yang selalu memberikan arahan dan
semangat setiap saat.*

*Terima kasih kepada diri saya yang sudah mengerjakan dan menyelesaikan
skripsi ini dengan sangat baik*

Semoga skripsi ini dapat memberi dampak baik bagi kita semua

Terima kasih

Om Shanti Shanti Shanti Om.

RIWAYAT PENULIS



Penulis bernama I Made Yogi Hardiyanta yang lahir di Denpasar pada tanggal 25 November 2001 dari Bapak I Nyoman Hari Sujana, S.E., M.Si dan Ibu Ni Nyoman Widiasih. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis mulai menempuh pendidikan formal melalui Sekolah Taman Kanak-Kanak di TK Santi Kumara

II pada tahun 2007. Pada tahun 2008, penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Dasar di SD Negeri 4 Sading. Pada tahun 2014, penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 5 Mengwi. Pada tahun 2017, penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Kuta Utara. Pada tahun 2020, penulis melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi di Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : I Made Yogi Hardiyanta
NIM : P07134220040
Program Studi : Sarjana Terapan
Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis
Tahun Akademik : 2023/2024
Alamat : Jl. Kori Agung Blok B No.1, Sading

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul *ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI Enterotoxigenic Escherichia coli DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION PADA LAWAR PLEK DI DESA KETEWEL, GIANJAR* adalah benar karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Skripsi bukan karya saya sendiri atau plagiat hasil karya orang lain, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Mendiknas RI No.17 Tahun 2010 dan ketentuan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Badung, 5 April 2024
Yang Membuat Pernyataan



I Made Yogi Hardiyanta
P07134220040

**ANALYSIS OF LT AND ST GENES FROM *Enterotoxigenic Escherichia coli*
BACTERIA USING POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD ON
LAWAR PLEK IN KETEWEL VILLAGE, GIANJAR**

ABSTRACT

Lawar plek is a food made from raw meat. Raw meat potentially contain contaminant from pathogenic bacteria. One of the pathogenic bacteria is Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC). The purpose of this study is to identify Enterotoxigenic Escherichia coli bacteria using molecular method on lawar plek in Ketewel Village, Gianjar. This study use Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) and continued by Polymerase Chain Reaction (PCR) as the identification method. The result form EMBA identification found 4 samples (33,33%) suspected colony of Escherichia coli bacteria and 8 samples (66,66%) neagitive. From that 4 samples, no virulence gene of LT (heat-labile toxin) and ST (heat-stable toxin) from Enterotoxigenic Escherichia coli are detected. From that results, the conclusion is that suspected Escherichia coli colony bacteria are found from the samples but none of them contain virulence gene of ETEC.

Keywords: Enterotoxigenic Escherichia coli, lawar plek, polymerase chain reaction

**ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic Escherichia coli*
DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION PADA
LAWAR PLEK DI DESA KETEWEL, GIANYAR**

ABSTRAK

Lawar plek adalah makanan yang dibuat dengan menggunakan daging mentah. Daging mentah berpotensi mengandung kontaminasi bakteri patogen. Salah satu bakteri tersebut adalah *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi secara molekuler bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* pada makanan lawar plek di Desa Ketewel, Gianyar. Penelitian ini menggunakan metode identifikasi dengan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan dilanjutkan dengan identifikasi molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil identifikasi EMBA ditemukan 4 sampel (33,33%) terduga koloni bakteri *Escherichia coli*. Dari 4 sampel tersebut, tidak ditemukan gen virulensi LT (*heat-labile toxin*) dan gen virulensi ST (*heat-stable toxin*) dari bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli*. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan terdapat koloni terduga bakteri *Escherichia coli* pada sampel lawar plek, namun tidak ditemukan gen virulensi ETEC.

Kata kunci: *Enterotoxigenic Escherichia coli*, lawar plek, *polymerase chain reaction*

RINGKASAN PENELITIAN

ANALISIS GEN LT DAN ST BAKTERI *Enterotoxigenic Escherichia coli* DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* PADA LAWAR PLEK DI DESA KETEWEL, GIANYAR

Oleh: I Made Yogi Hardiyanta (P07134220040)

Diare merupakan salah satu penyakit yang mematikan di dunia. Diare dapat disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Jenis bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan penyakit disebut *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC). Salah satunya yakni *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC). Bakteri ETEC menyebabkan episode diare dengan jumlah melebihi 200 juta kasus dan menyebabkan kematian dengan estimasi jumlah 75.000 kematian yang umumnya terjadi pada bayi dan anak-anak yang berada di daerah tropis dengan keadaan sanitasi yang kurang baik. *Foodborne diseases* atau penyakit yang diakibatkan oleh makanan yang terkontaminasi yang dapat terjadi dalam semua tahapan baik itu dalam proses memproduksi makanan, mengirim makanan, atau mengonsumsi makanan. Daging mentah berpotensi mengandung kontaminasi bakteri pathogen penyebab diare. Lawar dapat dibuat dengan menggunakan daging yang masih dalam keadaan mentah. Salah satu lawar tersebut adalah lawar plek di Desa Ketewel, Gianyar. Tercemarnya makanan di kawasan wisata beresiko menyebabkan kejadian *traveler's diarrhea*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara molekuler bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) pada makanan lawar plek di Desa Ketewel, Gianyar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini diawali dengan inokulasi sampel pada *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan dilanjutkan dengan identifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar pada Bulan April 2024. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan teknik pengambilan sampel yakni *non probability sampling* secara *purposive sampling*.

Hasil penelitian ini menunjukkan dari 12 sampel, ditemukan 4 sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli* pada uji identifikasi dengan EMBA. Dari 4 sampel tersebut tidak ditemukan gen virulensi LT (*heat-labile toxin*) dan ST (*heat-stable toxin*) dari bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan terdapat terduga koloni bakteri *Escherichia coli* pada sampel namun tidak ditemukan gen virulensi ETEC. Dengan adanya penelitian ini diharapkan penelitian selanjutnya dapat memeriksa variasi gen virulensi yang lebih banyak.

Daftar Bacaan : 48 (2014 – 2023)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan Rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Analisis Gen LT dan ST Bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* Pada Lawar Plek Di Desa Ketewel, Gianyar”** dengan baik. Tujuan dari penyusunan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.

Skripsi ini dapat terselesaikan berkat bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr.Sri Rahayu, S.Tr, Keb, S.Kep, Ners, M.Kes selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.
2. Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, SKM., M.PH selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan kesempatan untuk menyusun skripsi sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.
3. Ibu Dr.drg. I Gusti Agung Ayu Putu Swastini, M.Biomed selaku pembimbing utama yang telah membimbing penyusunan skripsi.
4. Bapak Heri Setiyo Bakti, S.ST., M.Biomed sebagai pembimbing pendamping yang telah membimbing dalam sistem penulisan skripsi.
5. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf dan seluruh Tenaga Kerja Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah membimbing selama mengikuti pendidikan perkuliahan.
6. Bapak, Ibu, Saudara dan Seluruh Keluarga yang selalu memberikan bantuan, semangat, dan nasihat selama menempuh pendidikan dan penyusunan skripsi sehingga dapat terlaksana dan terselesaikan dengan baik.

7. Teman-teman dan seluruh pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung penulis selama menempuh pendidikan perkuliahan dan menyusun skripsi.

Sebagai seorang mahasiswa, penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak sempurna. Oleh karena itu, saran yang bersifat membangun yang diberikan dengan baik dapat digunakan untuk membantu menyempurnakan skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Badung, 5 April 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Lawar	8
B. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	9
C. Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	15
BAB III KERANGKA KONSEP.....	18
A. Kerangka Konsep	18
B. Variabel dan Definisi Operasional.....	19
BAB IV METODE PENELITIAN	21
A. Jenis Penelitian	21
B. Alur Penelitian.....	21
C. Tempat dan Waktu Penelitian	21
D. Populasi dan Sampel.....	22
E. Instrumen Penelitian	24
F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	29
G. Pengolahan dan Analisis Data	30
H. Etika Penelitian.....	31

BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Hasil Penelitian.....	32
B. Pembahasan	41
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	49
A. Simpulan.....	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>Escherichia coli</i> dilihat dengan TEM (<i>Transmission Electronic Microscope</i>).....	10
Gambar 2. Sampel lawar plek yang Berhasil Diperoleh Oleh Penulis	32
Gambar 3. Proses Pengamatan Koloni Pada Media EMBA	33
Gambar 4. Koloni Terduga Bakteri <i>Escherichia coli</i> Ditandai Dengan Warna Hijau Metalik	34
Gambar 5. Proses Ekstraksi Koloni Terduga Bakteri <i>Escherichia coli</i>	36
Gambar 6. Hasil Elektroforesis Ekstraksi DNA	37
Gambar 7. Hasil Nanodrop Ekstraksi DNA	37
Gambar 8. Proses Persiapan PCR	38
Gambar 9. Proses Persiapan Elektroforesis Hasil PCR	38
Gambar 10. Hasil Visualisasi Ultraviolet Dari Hasil Elektroforesis Gen LT	39
Gambar 11. Hasil Visualisasi Ultraviolet Dari Hasil Elektroforesis Gen ST	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional.....	19
Tabel 2 Komposisi Komponen PCR	28
Tabel 3 Daftar <i>Primer</i> Dalam Penelitian.....	28
Tabel 4 Program PCR ETEC.....	29
Tabel 5 Hasil Observasi Sampel lawar plek.....	33
Tabel 6 Hasil Inokulasi Pada EMBA	34
Tabel 7 Hasil Identifikasi Koloni Bakteri Pada EMBA	35
Tabel 8 Hasil Persentase Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> Pada EMBA	36
Tabel 9 Hasil Ekstraksi Koloni Terduga Bakteri <i>Escherichia coli</i>	37
Tabel 10 Hasil Identifikasi Analisis PCR Gen LT dan ST Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	40
Tabel 11 Hasil Persentase Identifikasi Analisis PCR Gen LT dan ST Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	40

DAFTAR SINGKATAN

AA	: <i>aggregative adherence</i>
ADP	: <i>adenosine diphosphate</i>
AMP	: <i>adenyl monophosphate</i>
BPS	: Badan Pusat Statistik
CF	: <i>colonization factors</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
DEAC	: <i>Diffusely-adherent Escherichia Coli</i>
DEC	: <i>Diarrheagenic Escherichia coli</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EAEC	: <i>Enteraggregative Escherichia coli</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EHEC/STEC	: <i>Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) Escherichia coli</i>
EIEC	: <i>Enteroinvasive Escherichia coli</i>
EMBA	: <i>Eosin Methylene Blue Agar</i>
EPEC	: <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
ETEC	: <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>
HC	: <i>hemorrhagic colitis</i>
HCl	: <i>hydrogen chloride</i>
KLB	: Kejadian Luar Biasa
LT	: <i>heat-labile toxin</i>
NaCl	: <i>sodium chloride</i>
PCIA	: <i>phenol chloroform isoamyl alcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	: <i>Potential hydrogen</i>
SDS	: <i>sodium dodecyl sulfate</i>
ST	: <i>heat-stable toxin</i>
TAE	: <i>Tris-acetate-EDTA</i>
UPTD	: Unit Pelaksana Teknis Dinas
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan Uji Pendahuluan Laboratorium Lawar Plek (Lawar 1).....	55
Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Uji Pendahuluan Laboratorium Lawar Plek (Lawar 2).....	56
Lampiran 3. Hasil Uji Pendahuluan	57
Lampiran 4. Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi Repository	58
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	60
Lampiran 6. Sertifikat Hasil Uji Laboratorium.....	62
Lampiran 7. Surat Keterangan Penelitian	65
Lampiran 8. Persetujuan Etik.....	66
Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Turnitin	67
Lampiran 10. Lembar Bimbingan SIAK.....	68