



LAPORAN AKHIR PENELITIAN

**IDENTIFIKASI PATOGEN ENTERIK DAN ANALISIS RESISTENSINYA
TERHADAP ANTIBIOTIK SERTA GENOTYPING ROTAVIRUS
PENYEBAB DIARE PADA BALITA DI INDONESIA
(OPTIMALISASI PENELITIAN TAHUN 2012)**

Disusun oleh:

DR. drg. Magdarina Destri Agtini, M.Sc.. dkk.

**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
KEMENTERIAN KESEHATAN RI
2015**

SUSUNAN TIM PENELITI

IDENTIFIKASI PATOGEN ENTERIK DAN ANALISIS RESISTENSINYA
TERHADAP ANTIBIOTIK SERTA GENOTYPING ROTAVIRUS PENYEBAB DIARE
PADA BALITA DI INDONESIA
(OPTIMALISASI PENELITIAN TAHUN 2012)

No	Nama	Kedudukan	Tugas dan Tanggung Jawab
Koordinator Peneliti			
1.	Kepala PBTDK	Koordinator Peneliti	Memberikan arahan aspek kebijakan PBTDK terkait kebijakan P2PL (diare) dalam proses penelitian
2.	Kasubdit Diare dan ISPL P2PL	Koordinator Peneliti	Memberikan arahan proses pelaksanaan penelitian di lapangan
3.	Kasubdit Penyehatan Air	Koordinator Peneliti	Memberikan arahan proses pelaksanaan penelitian terkait factor risiko (PHBS)
Konsultan			
4.	Badriul Hegar	Konsultan	Memberikan konsultasi ilmiah dan bimbingan teknis penelitian
5.	Andi Yasmon	Konsultan	Memberikan bimbingan ilmiah dan teknis pemeriksaan molekuler
6.	Erlin Listyaningsih	Konsultan	Memberikan konsultasi ilmiah terkait virology
Peneliti			
7.	Magdarina Destri A	Peneliti Madya	Bertanggung jawab melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian : bertanggung jawab terhadap keseluruhan kegiatan penelitian
8.	Roselinda	Peneliti Madya	Melaksanakan persiapan penelitian : membantu koordinasi penelitian antara pusat dan daerah
9.	Sunarno	Peneliti Muda	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian : membantu ekstraksi DNA/RNA, pemeriksaan panel bakteri, koordinasi pelaksanaan dengan Jawa Barat
10.	Hana Apsari Pawestri	Peneliti Muda	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pemeriksaan PCR genotyping gen G dan P
11.	Kambang Sariadji	Peneliti Pertama	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian: membantu pemeriksaan panel virus, manajemen data, koordinasi pelaksanaan dengan DKI Jakarta
12.	Hartanti Dian Ikawati	Peneliti Pertama	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pemeriksaan PCR typing gen G dan P
Pembantu Peneliti Pusat			
13.	Khariri	Peneliti	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian : membantu penyusunan protokol dan laporan, manajemen logistik, pemeriksaan panel bakteri
14.	Nelly Puspandari	Peneliti	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian : membantu penyusunan protokol, pemeriksaan panel bakteri, stok isolat, koordinasi pelaksanaan dengan Kalsel
15.	Faika Rachmawati	Peneliti	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan penelitian : membantu manajemen data, stok isolat bakteri, koordinasi pelaksanaan dengan Sulawesi Selatan

16.	Kristina Retno Palupi	Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu manajemen data, pemeriksaan panel bakteri, deteksi ETEC
17.	Fauzul Muna	Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pemeriksaan panel bakteri, deteksi ETEC
18.	Kartika Dewi Puspa	Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian : membantu pemeriksaan PCR genotyping gen G dan P
19.	Aulia Rizki	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pembuatan media, pemeriksaan ekstraksi DNA/RNA, manajemen logistik
20.	Melati wati	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu bertanggung jawab terhadap kultur dan uji biokimia
21.	Syamsidar	Pembantu peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu bertanggung jawab terhadap kultur bakteri dan uji resistensi
22.	Triyani Sukarso	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pemeriksaan PCR typing gen G dan P
23.	Sundari Nursufiah	Pembantu peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu bertanggung jawab terhadap penerimaan spesimen, kultur bakteri dan uji resistensi
24.	Endah Ariyanti Yusnita	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pewarnaan dan identifikasi parasit secara konvensional
25.	Riyanti Ekowati	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pewarnaan dan identifikasi parasit secara konvensional
26.	Sumarno	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu bertanggung jawab terhadap ekstraksi DNA/RNA
27.	Yudi Hartoyo	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu bertanggung jawab terhadap penerimaan spesimen, distribusi sampel, entri data
28.	Nirfan Nurfiddin	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pengiriman logistik, pembuatan media, sterilisasi bahan dan limbah,
29.	Sauma Roma Intan Naibaho	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu distribusi sampel, pembuatan media, sterilisasi bahan dan limbah,
30.	Ria Wijaya	Pembantu Peneliti	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu pembuatan media, sterilisasi bahan dan limbah
Pembantu Peneliti Daerah DKI Jakarta			
31.	dr.Dwi Handayani	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes propinsi DKI Jakarta
32.	Drg,Etrina Eriawati, M.Epid	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes propinsi DKI Jakarta
33.	Aan Nurhasanah	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Jakarta Timur
34.	Solichatun SKM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Jakarta Timur
35.	Eko Susanti	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Jakarta

			Utara
36.	Lisnawati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Jakarta Utara
37.	Umronih	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RS Budhi Asih
38.	dr.Rosida Sihombing,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/rawat inap di RS Budhi Asih
39.	Navingatun	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak RS Budhi Asih
40.	Sri Kartiningsih	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD Anak RS Budhi Asih
41.	Zubaedah	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap RS Budhi Asih
42.	Tjatur Jugiono	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking specimen untuk pengiriman ke PBTDK
43.	dr. Dewi Murniati, Sp.A(K)	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RS yang dipimpin.
44.	dr. Teguh Sarry Hartono, Sp.MK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/rawat inap di RS
45.	Nurmin Sitorus	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak
46.	Agus Setiyadi, S.Kep., Ners.	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD
47.	Nuraidah, S.Kep.	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap Anak
48.	Evi Hindawati, A..Md.	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
49.	dr. Winarto	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Jatinegara
50.	dr. Adianti Kartika	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak puskesmas Jatinegara
51.	Anitha	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD puskesmas Jatinegara
52.	dr.Mardiati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap Anak puskesmas

			Jatinegara
53.	Marni Nababan	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK puskesmas Jatinegara
54.	dr.Tri Stella	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Pademangan
55.	dr.Endah Purbasari	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak puskesmas Pademangan
56.	Fransiska Herawati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD puskesmas Pademangan
57.	Ida Triningtyas	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap anak Puskesmas Pademangan
58.	Han Han Vena	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
Pembantu Peneliti Daerah Jawa Barat			
59.	dr.dwi Rahayu Manan	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Provinsi Jawa barat
60.	dr. H.Kusnadi	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Kab. Bogor
61.	dr.Intan Widayati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Kab. Bogor
62.	Ns.Jusnita Sihite S.Kep,MM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Kab. Bogor
63.	drg. Hesti Iswandari, M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RSUD Ciawi
64.	dr. Ity Sulawati, Sp.A. M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/rawat inap di RSUD Ciawi
65.	dr. M. Syahroni, MARS	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak RSUD Ciawi
66.	dr. Lastri Kartika Roza P	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap RSUD Ciawi
67.	Edhieatree Fadji Anggini Amd.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap RSUD Ciawi
68.	Yeni Sumiati AMK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK

69.	drg.Tri Wahyu Harini,MM,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan telaksananya penelitian di RSUD Cibinong
70.	dr.Rita Juniriana primasasiki,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak/IGD/Rawat inap di RSUD Cibinong
71.	dr.Ava kawillarang,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak RSUD Cibinong
72.	Nurbaeti Amalia,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di IGD Anak RSUD Cibinong
73.	Tuti Hartati,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat inap RSUD Cibinong
74.	Pudji	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik,logistic, administrasi, packing spesimen untuk pengiriman PBTDK
75.	dr. Yessi Desputri, M.KKK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Ciawi Kabupaten Bogor
76.	dr. Reni Masyita	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak Puskesmas Ciawi Kabupaten Bogor
77.	Eva Maria Fransiska	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di IGD Puskesmas Ciawi Kabupaten Bogor
78.	Elis Trisnawati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Puskesmas Ciawi Kabupaten Bogor
79.	Dimas Nurparida	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
80.	dr.S.Legiani	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Cirimekar Kabupaten Bogor
81.	dr. Cupri Retno Purbogini	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak Puskesmas Cirimekar Kabupaten Bogor
82.	Sri Deni Am.Keb	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di IGD Anak Puskesmas Cirimekar Kabupaten Bogor
83.	Nining Yuningsih, Am.Keb.	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Puskesmas Cirimekar Kabupaten Bogor

84.	Sri H. Wahyuningsih	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman
Pembantu Peneliti Daerah Sulawesi Selatan			
85.	Sitti Hidayah,SKM	Pembantu peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes propinsi Makassar
86.	dr.Hj.Naisyah T.Azikin,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Kota Makassar
87.	dr. Hj.Sukmawati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Kota Makassar
88.	dr. Muhammad Rusly,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RSUD Daya
89.	dr. Akhmad Kadir,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/Rawat inap di RSUD Daya
90.	Damaris Karisa	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak RSUD Daya
91.	Akmal,S.Kep.Ns	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD RSUD Daya
92.	Marlinah,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap RSUD Daya
93.	Sakia Anggeriani,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
94.	dr.Arman Bausat,Sp.B,Sp.OT(K) Spine	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RSUD Sayang Rakyat Makassar
95.	dr.Anti Aliyah Usman	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/Rawat inap di RSUD Sayang Rakyat Makassar
96.	Hartini Syam,AMK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak RSUD Sayang Rakyat Makassar
97.	Afrian Kamal	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD RSUD Sayang Rakyat Makassar
98.	Eva Fitriani S.Kep,Ns	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap RSUD Sayang Rakyat Makassar
99.	Astuti Siregar,SKM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
100.	drg.Clara Jansz	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di

			Puskesmas Kaluku Bodoa Makassar
101.	dr. Sardina	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak Puskesmas Kaluku Bodoa Makassar
102.	Mustika,AMK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD Puskesmas Kaluku Bodoa Makassar
103.	WisnuMaulana,S.Kep .Ns	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap Anak Puskesmas Kaluku Bodoa Makassar
104.	Hj.Hamna Hasani	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
105.	dr.Muh.Sofyan	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Sudiang Makassar
106.	dr. Fauziah A.Achmad	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak Puskesmas Sudiang Makassar
107.	Munirah,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di IGD Puskesmas Sudiang Makassar
108.	Yustina Lele,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat inap Anak Puskesmas Sudiang Makassar
109.	Nurlailah Dahlan,SKM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
Pembantu Peneliti Daerah Kalimantan Selatan			
110.	Budi Wahyudi,S.Sos,MPH	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Provinsi Kalimantan Selatan
111.	Hj.Hadmi Murni,S.Sos	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Provinsi Kalimantan Selatan
112.	dr.Hj.Dellis.JF	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu terlaksananya penelitian di wilayah Dinkes Kota Banjarmasin
113.	H.Rolli Umaryadi,SKM.MM .Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu Kepala Dinkes dalam kelancaran pelaksanaan penelitian di wilayah Dinkes Kota Banjarmasin
114.	dr.Hj.Suciati,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di RSUD Ulin Banjarmasin
115.	dr.Hasni Hasan Basri,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di Poli Anak/IGD/Rawat inap di RSUD Ulin Banjarmasin

116.	Nur Zennah,S.ST	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak RSUD Ulin Banjarmasin
117.	Hj.Siti Mahani,S.ST,M.Kes	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di IGD RSUD Ulin Banjarmasin
118.	Hj.Ernie Aprilia,S.Kep,Ners	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat inap RSUD Ulin Banjarmasin
119.	Megawati	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
120.	DR.dr.Izaak Zoelkarnain Akbar,Sp.OT	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan telaksananya penelitian di RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin
121.	Dr.Priyanti Kisworini,Sp.A	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak/IGD/Rawat inap di RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin
122.	Aspia Rosifa,AM.Keb	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di Poli Anak RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin
123.	Dr.Hana CE Sembiring	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di IGD RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin
124.	Fitriadi,AMK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat inap RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin
125.	M.Rusdi Andi,SKM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: me mbantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK
126.	dr. H. Ris Mohammad Abrar	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Kuin Raya
127.	dr. Yosevine Noviana P	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat jalan anak Puskesmas Kuin Raya
128.	Isnaniah	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat jalan anak Puskesmas Kuin Raya
129.	Sumiati Hartati,AMK	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitan di rawat jalan Anak Puskesmas Kuin Raya
130.	H.Suwito,SKM	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTDK

131.	dr.Hj.Sri Pramudian.K	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu kelancaran dan terlaksananya penelitian di Puskesmas Kelayan Timur
132.	dr.Teti Dwi Puspitasari	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat jalan anak Puskesmas Kelayan Timur
133.	Fitriyani,S.Kep	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat jalan anak Puskesmas Kelayan Timur
134.	Nurul Amalyah	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu penentuan kasus / responden melalui diagnosis dalam pelaksanaan penelitian di rawat jalan Anak Puskesmas Kelayan Timur
135.	Ridha Wahyuni	Pembantu Peneliti daerah	Membantu pelaksanaan penelitian: membantu di bidang data medik, administrasi, paking spesimen untuk pengiriman ke PBTD K
Sekretariat Penelitian			
136.	Roro Endah Palupi	Pembantu Peneliti	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan : membantu Manajemen administrasi kegiatan
137.	Joko Budi Hermawan	Pembantu Peneliti	Melaksanakan persiapan, pelaksanaan, pelaporan : membantu manajemen administrasi keuangan



KEMENTERIAN KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933
E-mail: sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor : LB.02.01/5.2/KE. 291 /2015

Yang bertanda-tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian berdasarkan *Nuremberg Code* dan Deklarasi Hensinki, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

**"Identifikasi Patogen Enterik dan Analisis Resistensinya Terhadap Antibiotik
Serta Genotyping Rotavirus Penyebab Diare Pada Balita di Indonesia
(Optimalisasi Penelitian Tahun 2012)"**

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama :

Dr. drg. Magdarina Destri Agtini, M.Sc.

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa berlaku maksimum selama 1 (satu) tahun.

Selama penelitian berlangsung, laporan kemajuan (setelah 50% penelitian terlaksana), laporan *Serious Adverse Event/SAE* (bila ada) harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan/atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 21 Mei 2015

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo

PERSETUJUAN ATASAN YANG BERWENANG

Mengetahui,
Kepala Bidang Biomedis
Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Ketua Pelaksana

drh. Rita Marleta, M.Kes.
NIP. 195912111985032001

Dr.drg. Magdarina Destri Agtini, MSc.
NIP. 195012061984022001

Ketua Panitia Pembina Ilmiah
Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar
Kesehatan

Kepala
Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar
Kesehatan

Dra Sarwo Handayani, MSc.
NIP. 1966062519910322001

Pretty Multihartina, PhD
NIP. 196309271989012001

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian DIPA 2015 yang berjudul **“Identifikasi Patogen Enterik dan Analisis Resistensinya terhadap Antibiotik serta Genotyping Rotavirus Penyebab Diare pada Balita di Indonesia”**. Penulisan laporan akhir penelitian ini dilakukan dalam rangka memenuhi tanggung jawab ilmiah dan administrasi pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan. Penulis menyadari bahwa dalam pelaksanaan dan penulisan laporan akhir penelitian ini tidak lepas dari bantuan serta dukungan berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati yang tulus pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dengan anggaran DIPA 2015 Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.
2. Bapak dan Ibu Tim Panitia Pembina Ilmiah (PPI) Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, atas segala masukan dan arahnya selama proses pembuatan protokol, pelaksanaan penelitian sampai pembuatan laporan akhir penelitian.
3. Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta, Jawa Barat, Kalimantan Selatan dan Sulawesi Selatan, atas izin dan dukungannya untuk pelaksanaan pengumpulan data di wilayah masing-masing.
4. Suku Dinas Kesehatan Jakarta Timur, Jakarta Utara, Dinas Kesehatan Kabupaten Bogor, Dinas Kesehatan Kota Banjarmasin dan Kota Makassar, atas dukungan kerjasamanya untuk memfasilitasi dan memonitor pelaksanaan pengumpulan data di wilayah masing-masing.
5. RSPI Sulianti Saroso, RSUD Budhi Asih, RSUD Cibinong, RSUD Ulin, RSUD Ansari Saleh, RSUD Daya, dan RSUD Sayang Rakyat beserta seluruh tim yang teribat, atas kerjasamanya dalam pengumpulan data di wilayah masing-masing.

6. Puskesmas Jatinegara, Pademangan, Cirimekar, Ciawi, Kelayan Timur, Kuin Raya, Kalukubodoa dan Sudiang beserta seluruh tim yang terlibat, atas kerjasamanya dalam pengumpulan data di wilayah masing-masing.
7. Seluruh anggota tim penelitian di laboratorium bakteriologi, virologi, dan parasitologi serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas segala bantuan dalam seluruh rangkaian penelitian

Dengan segala keterbatasan selaku insan biasa, penulis menyadari laporan akhir penelitian ini masih jauh dari sempurna, untuk itu dengan berbesar hati penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan laporan akhir penelitian ini. Akhirnya penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, masyarakat umumnya dan khususnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Januari 2016

Penulis

RINGKASAN EKSEKUTIF

Diare masih menjadi masalah kesehatan yang cukup serius di negara berkembang termasuk Indonesia, karena masih sering timbul dalam bentuk kejadian luar biasa (KLB) disertai dengan angka kematian yang tinggi. Data berbasis pelayanan, dari rumah sakit dan puskesmas terlihat angka prevalensi dan insiden diare berfluktuasi dari tahun ke tahun. Pada dekade 2001-2007 ditemukan prevalensi diare cenderung meningkat pada semua kelompok umur terutama pada bayi dan balita. Kejadian diare memberikan kontribusi besar pada tingginya angka kematian pada bayi dan balita. Dari hasil riset berbasis masyarakat Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, berdasarkan kelompok umur ditemukan prevalensi diare yang cukup tinggi pada bayi dan balita yaitu 6,7%.

Diare akut yang terjadi karena infeksi dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, dan virus. Berdasarkan hasil penelitian 2010 dan 2012, ditemukan bakteri penyebab diare pada balita yang bervariasi diantara berbagai daerah dan pada satu daerah dari waktu ke waktu yang berbeda masih ditemukan penggunaan antibiotik irrasional pada penderita diare di puskesmas maupun di rumah sakit. Jumlah isolat bakteri yang telah dikumpulkan dari penelitian sebelumnya belum mencukupi untuk dapat dianalisis secara ilmiah sebagai sampel yang mewakili untuk uji resistensi, sehingga perlu dilakukan pengumpulan data kembali pada tahun 2015. Demikian pula diperlukan pemeriksaan genotyping rotavirus untuk melihat virus yang beredar di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan: mengidentifikasi bakteri patogen enterik dan analisis resistensinya terhadap antibiotik; deteksi virus dan parasit penyebab diare; genotyping rotavirus; mengidentifikasi faktor resiko kejadian diare pada balita. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai sumber dasar kebijakan program pengendalian dan pengobatan diare pada anak usia balita di Indonesia.

Responden pada penelitian ini adalah anak-anak usia 1 bulan sampai 5 tahun (balita) yang menderita diare di provinsi DKI Jakarta, Jawa Barat, Kalimantan Selatan dan Sulawesi Selatan. Setelah mendapatkan persetujuan, petugas mengumpulkan data pada Formulir Kunjungan Klinis dan dilanjutkan dengan pengambilan sampel usap dubur dan sampel tinja. Sampel beserta Formulir Kunjungan Klinis dikirimkan ke PBTDK maksimal dalam 48 jam. Setelah 30 hari dari waktu kunjungan klinis, petugas melakukan kunjungan ke tempat tinggal responden untuk mengkonfirmasi kejadian ikutan diare. Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan meliputi: identifikasi bakteri dengan metode kultur dan isolasi sebagai metoda baku; uji kepekaan terhadap 14 macam antibiotika terhadap semua bakteri patogen yang berhasil diisolasi; pemeriksaan mikroskopik parasit terhadap sampel feses dengan formalin; deteksi bakteri dan virus serta *E. coli* dengan PCR multipleks; deteksi dan identifikasi Rotavirus dengan RT-PCR yang didasarkan pada metoda semi-nested RT-PCR.

Dari penelitian di dapatkan hasil 1). Jumlah responden yang dikumpulkan datanya adalah 1424, 2). Hasil kultur untuk isolasi bakteri paling banyak mendapatkan *Camphylobacter jejuni* dan *Shigella spp*, 3). *Camphylobacter jejuni* memiliki persentase resisten tertinggi terhadap beberapa antibiotik seperti ciprofloxacin (65%), aztreonam (100%), ceftriaxone (88%), nalidixid acid (65), trimethoprim (100%), dan ceftazidim (59%), 4). Parasit yang terbanyak diidentifikasi adalah *Aschasis lumbrichoides*, *Entamoeba coli*, 5). Penyebab diare dari hasil PCR multipleks bakteri yang terbanyak adalah *Campylobacter* dan *Shigella*, 6). Penyebab diare dari hasil PCR multipleks virus yang terbanyak adalah Rotavirus group A, 7). Hasil PCR multipleks *E.coli* 44% merupakan *nondiarrheagenic E.coli* dan 56 % merupakan *diarrheagenic E.coli*, 8). Hasil analisis genetika secara keseluruhan dengan menggunakan metode RT-PCR didapat total 86% spesimen memberikan hasil positif terhadap Rotavirus, 9). Faktor risiko penyebab diare

balita yang dominan meliputi adanya sumber pencemaran yang berada tidak jauh (<10 meter) dari sumber air yang dikonsumsi rumah tangga penderita (61,5%), kebiasaan anak tidak mencuci tangan menggunakan sabun sebelum makan (57,5%) dan kebiasaan anak yang suka jajan sembarangan (51,7%).

ABSTRAK

Diare akut dapat disebabkan oleh infeksi dan non infeksi. Diare karena infeksi dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, dan virus, namun infeksi yang sering terjadi biasanya disebabkan oleh bakteri. Diare akut pada anak umumnya disebabkan Rotavirus . Bakteri yang dapat menyebabkan diare akut adalah *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* (*Enterotoxigenic*, *Enteroinvasive*, *Enteropathogenic*, *Enterohaemorrhagic*), *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Aeromonas spp*, dan *Plesiomonas spp*. Parasit yang menyebabkan diare akut antara lain *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, dan *Cryptosporidium parvum*. *Giardia lamblia* dan *Cryptosporidium* menyebabkan disentri..

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi virus, parasit, bakteri dan analisis resistensinya terhadap antibiotik serta karakterisasi rotavirus penyebab diare pada anak usia balita di Indonesia. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai sumber dasar kebijakan program pengendalian dan pengobatan diare pada anak usia balita di Indonesia. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi pengumpulan data melalui formulir untuk menggali faktor resiko kejadian diare, kultur dan identifikasi bakteri, uji resistensi antibiotik, pemeriksaan mikroskopik parasit, PCR multiplek bakteri dan virus, PCR *E. Coli* patogen, dan genotipik Rotavirus.

Dari penelitian di dapatkan hasil 1). Jumlah responden yang dikumpulkan datanya adalah 1424, 2). Kuesioner kunjungan 30 hari sebagian masih dalam proses atau rencana kunjungan, 3). Hasil kultur untuk isolasi bakteri paling banyak didapatkan *Camphylobacter jejuni* dan *Shigella spp*, 4). *Camphylobacter jejuni* memiliki persentase resisten tertinggi terhadap beberapa antibiotik seperti ciprofloxacin (65%), aztreonam (100%), ceftriaxone (88%), nalidixid acid (65), trimethoprim (100%), dan ceftazidim (59%), 5). Parasit yang terbanyak diidentifikasi adalah *Aschasis lumbrichoides*, *Entamoeba coli*, 6). Penyebab diare dari hasil PCR multipleks bakteri yang terbanyak adalah *Campylobacter* dan *Shigella*, 7). Penyebab diare dari hasil PCR multipleks virus yang terbanyak adalah Rotavirus group A, 8). Hasil PCR multipleks *E.coli* 44% merupakan *nondiarrheagenic E.coli* dan 56 % merupakan *diarrheagenic E.coli*, 9). Hasil analisis genetika secara keseluruhan dengan menggunakan metode RT-PCR didapat total 86% spesimen memberikan hasil positif terhadap Rotavirus.

Kata kunci : diare, bakteri, virus, parasit, faktor risiko

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Susunan Tim Peneliti.....	ii
Persetujuan Etik Penelitian	xi
Persetujuan Atasan yang Berwenang	xii
Kata Pengantar	xiii
Ringkasan Penelitian	xv
Abstrak	xvi
Daftar Isi.....	xvii
1. Latar Belakang	1
2. Tinjauan Pustaka	6
2.1. Etiologi	6
2.2. Epidemiologi	7
2.3. Patogenesis	8
2.4. Diagnosis	9
2.5. Pengobatan	10
4.6. Prognosis	11
4.7. Pencegahan	11
3. Tujuan dan Manfaat	13
3.1. Tujuan Umum	13
3.2. Tujuan Khusus	13
3.3. Manfaat Penelitian	13
4. Metoda Penelitian.....	13
4.1. Kerangka Konsep	13
4.2. Alur Kerja	14
4.3. Tempat dan Waktu.....	15
4.4. Disain Penelitian	15
4.5. Populasi dan Sampel	16
4.6. Besar Sampel	16
4.7. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	16
4.8. Bahan dan Prosedur Kerja	17
4.9. Analisis Data	21
4.10. Pertimbangan Izin dan Etik Penelitian	21
5. Hasil dan Pembahasan	21
5.1. Rekrutmen Sampel dan Spesimen	21
5.2. Data Formulir Kunjungan Klinis dan 30 Hari	23
5.3. Pemeriksaan Bakteri dengan Metode Baku Emas	23
5.4. Resistensi Antibiotik	27
5.5. Mikroskopik Parasit	31
5.6. Deteksi Bakteri dengan PCR Multipleks	32
5.7. Deteksi Virus dengan PCR Multipleks	33
5.8. Deteksi <i>Escherichia coli</i> dengan PCR	34
5.9. Genotipik Rotavirus	36
5.10. Faktor Risiko Diare	39
6. Kesimpulan dan Saran	41
6.1. Kesimpulan	41
6.2. Saran	41
7. Kelemahan Penelitian	41
8. Ucapan Terima Kasih	42

9. Daftar Kepustakaan.....	42
Daftar Gambar	xix
Daftar Tabel	xx
Daftar Lampiran	xxi
Daftar Singkatan	xxii

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Prevalensi diare di Indonesia hasil Riskesdas 2013	2
Gambar 2.	Bakteri penyebab diare hasil penelitian 2012	3
Gambar 3.	Virus penyebab diare hasil penelitian 2012	5
Gambar 4.	Kerangka konsep penelitian	14
Gambar 5.	Alur penelitian	14
Gambar 6.	Alur rekrutmen responden	17
Gambar 7.	Pertumbuhan bakteri pada media SSA	24
Gambar 8.	Koloni <i>Vibrio</i> pada medium TCBS agar	25
Gambar 9.	Pertumbuhan bakteri pada media CCDA agar	25
Gambar 10.	Uji biokimia bakteri	26
Gambar 11.	Uji resistensi antibiotik metode disk diffusion	27
Gambar 12.	Hasil uji resistensi <i>Campylobacter jejuni</i> terhadap antibiotik	28
Gambar 13.	Hasil uji resistensi <i>Salmonella spp</i> terhadap antibiotik	29
Gambar 14.	Hasil uji resistensi <i>Shigella sonnei</i> terhadap antibiotik	29
Gambar 15.	Hasil uji resistensi <i>Shigella flexneri</i> terhadap antibiotik	30
Gambar 16.	Pola hasil pemeriksaan PCR Multipleks diarrheagenic <i>E.coli</i>	36

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Lokasi pengumpulan sampel	15
Tabel 2.	Jumlah responden yang terkumpul	22
Tabel 3.	Isolat bakteri hasil kultur dan uji biokimia	26
Tabel 4.	Hasil pemeriksaan mikroskopik parasit	32
Tabel 5.	Hasil deteksi bakteri dengan PCR multipleks	33
Tabel 6.	Hasil deteksi virus dengan PCR multipleks	34
Tabel 7.	Sekuens primer untuk deteksi <i>E.coli</i>	34
Tabel 8.	Hasil identifikasi <i>E.coli</i> dengan PCR multipleks	36
Tabel 9.	Analisa distribusi dan frekuensi Rotavirus Genotipe G dan P di Indonesia.	38
Tabel 10.	Faktor risiko pendidikan terhadap kejadian diare	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Persetujuan Setelah penjelasan (PSP)	45
Lampiran 2.	Formulir Kunjungan Klinis	47
Lampiran 3.	Formulir Kunjungan 30 Hari	51
Lampiran 4.	Pedoman Pengisian Kuesioner	55
Lampiran 5.	Prosedur Kerja	55
Lampiran 6.	Ijin Penelitian	66

DAFTAR SINGKATAN

ACE	=	<i>accessory cholera enterotoxin</i>
ADP	=	<i>adenosine diphosphate</i>
AMP	=	<i>adenosine monophosphate</i>
APW	=	<i>alkali peptone water</i>
ASI	=	air susu ibu
BAB	=	buang air besar
BB	=	berat badan
BHI	=	brain heart infusion
CAMP	=	<i>cyclic adenosine monophosphate</i>
CB	=	<i>cary blair</i>
CBA	=	campylobacter blood agar
CCDA	=	campy blood-free selective medium
CO ₂	=	<i>carbon dioksida</i>
CLSI	=	clinical laboratory standard institutes
CT	=	<i>cholera toxin</i>
DAEC	=	<i>diffusely adherent E.coli</i>
DKI	=	daerah khusus ibukota
DNA	=	<i>deoxyribonucleic acid</i>
EAEC	=	<i>enteroaggregative E.coli</i>
EHEC	=	<i>enterohemorrhagic E.coli</i>
EIA	=	<i>enzyme linked immunosorbant assay</i>
EIEC	=	<i>enteroinvasive E.coli</i>
ELISA	=	<i>enzyme immuna assay</i>
EPEC	=	<i>enteropathogenic E.coli</i>
ETEC	=	<i>enterotoxigenic E.coli</i>
IGD	=	<i>instalasi gawat darurat</i>
KIA	=	<i>kliger iron agar</i>
KLB	=	<i>kejadian luar biasa</i>
MCA	=	<i>mac conkey agar</i>
MIO	=	<i>motility indol ornithine</i>
NAMRU	=	naval medical research unit
PBS	=	<i>phosphate buffer saline</i>

PBTDK	=	<i>pusat penelitian dan pengembangan biomedis dan teknologi dasar kesehatan</i>
PCR	=	<i>polymerase chain reaction</i>
PHBS	=	perilaku hidup bersih dan sehat
PSP	=	persetujuan setelah penjelasan
Puslitbang	=	pusat penelitian dan pengembangan
P2PL	=	<i>pengendalian penyakit dan penyehatan lingkungan</i>
Riskesdas	=	riset kesehatan dasar
RNA	=	<i>ribonucleic acid</i>
RSUD	=	rumah sakit umum daerah
RT-PCR	=	<i>reverse transcriptase polymerase chain reaction</i>
SS	=	<i>salmonella shigella</i>
SSS	=	sucrose semi solid
TCBS	=	<i>thio sulphate citrate bile sucrose</i>
UNICEF	=	<i>united nation international children's emergency fund</i>
WHO	=	<i>world health organization</i>
XLD	=	<i>xylose lysine deoxycholate</i>

BAB I

PENDAHULUAN

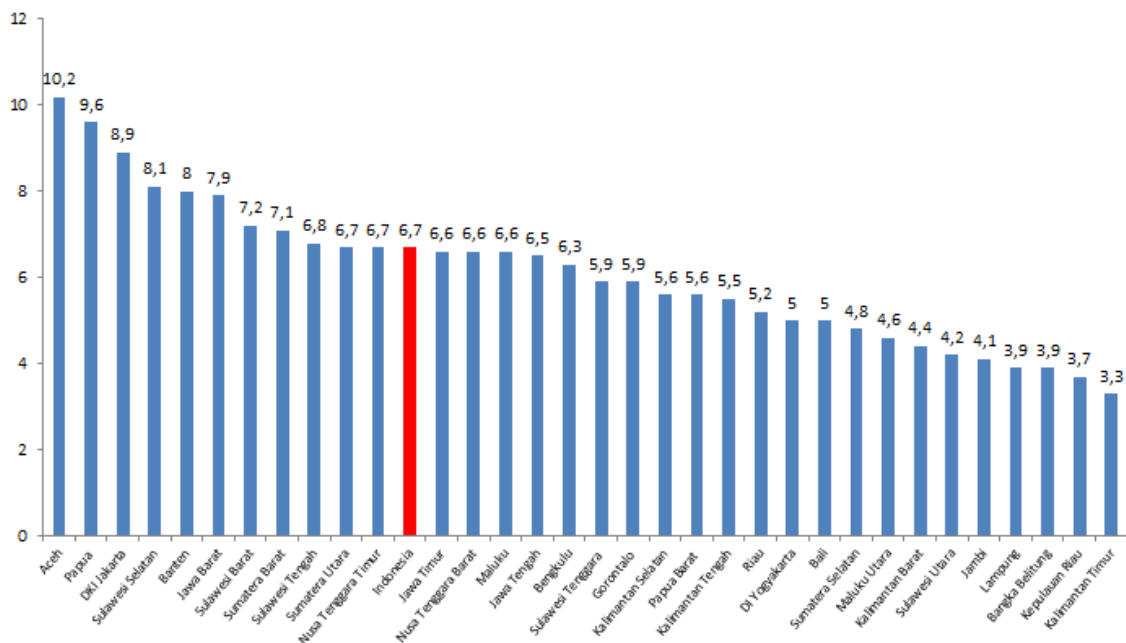
1.1. Latar Belakang

Diare masih menjadi masalah kesehatan yang cukup serius di banyak negara berkembang termasuk Indonesia. Besarnya masalah tersebut terlihat dari tingginya angka kesakitan dan kematian akibat penyakit diare. Hal ini disebabkan belum baiknya higiene, sanitasi serta penyediaan air minum.¹ Dari waktu ke waktu diare tetap menjadi salah satu penyakit yang dapat mengakibatkan mortalitas dan malnutrisi pada anak², menjadi salah satu penyebab utama kematian pada anak usia di bawah lima tahun (balita) di dunia. Data Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan lebih dari 10 juta anak usia balita meninggal setiap tahunnya dan sekitar 20 persen diantaranya meninggal karena penyakit diare. Saat ini angka kematian yang disebabkan diare adalah 3,8 per 1000 setiap tahun. Setiap tahun diperkirakan sekitar 2,5 miliar kejadian diare pada anak usia balita, dan hampir tidak ada perubahan dalam dua dekade terakhir.^{3,4,5}

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diare menduduki penyebab kematian tertinggi (31,4%) pada bayi dan balita di Indonesia.⁶ Data terakhir dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan menunjukkan bahwa diare merupakan penyebab kematian tertinggi kedua (6,7%) pada anak usia balita di Indonesia setelah penyakit radang paru atau *pneumonia*. Setiap tahun lebih dari 2 juta anak usia balita meninggal dunia akibat infeksi diare dan terutama di negara berkembang.⁷ Data Riskesdas tahun 2013 menunjukkan insiden dan *period prevalence* diare untuk seluruh kelompok usia di Indonesia adalah 3,5 persen dan 7,0 persen. Berdasarkan karakteristik penduduk, kelompok usia balita merupakan kelompok yang paling tinggi menderita diare dengan insiden sebesar 6,7 persen. Sepuluh provinsi dengan insiden diare pada anak usia balita tertinggi adalah Aceh, Papua, DKI Jakarta, Sulawesi Selatan, Banten, Jawa Barat, Sulawesi Barat, Sumatera Barat, Sulawesi Tengah, dan Sumatera Utara. Tiga dari provinsi tersebut akan dijadikan tempat untuk pengambilan spesimen, yaitu DKI Jakarta, Jawa Barat dan Sulawesi Selatan. Sedangkan provinsi keempat dipilih berdasarkan pemakaian air sungai yang masih tinggi yaitu Kalimantan Selatan.^{6,8}

Menurut Badan Kesehatan Dunia (World Health Organization), diare merupakan buang air besar yang encer dan cair dengan frekuensi lebih dari tiga kali dalam satu hari, sementara diare akut adalah diare yang terjadi secara tiba-tiba dan berlangsung singkat

dalam beberapa jam hingga beberapa hari.⁹ Banyak faktor risiko yang diduga menyebabkan terjadinya penyakit diare pada bayi dan balita di Indonesia yaitu tidak memadainya penyediaan air bersih, air tercemar oleh tinja, kekurangan sarana kebersihan, pembuangan tinja yang sembarangan, kebersihan perorangan dan lingkungan yang jelek, serta penyiapan dan penyimpanan makanan yang tidak higienis. Banyak faktor yang secara langsung maupun tidak langsung dapat menjadi faktor pendorong terjadinya diare.¹⁰ Balita yang tidak diberikan ASI eksklusif, kurang gizi, penyakit campak, dan imunodefisiensi dapat menyebabkan meningkatnya kerentanan terhadap infeksi penyebab diare.⁵⁵ Faktor sarana penyediaan air bersih dan pembuangan tinja merupakan faktor lingkungan yang paling dominan. Kedua faktor ini akan berinteraksi bersama dengan perilaku manusia. Apabila kondisi lingkungan tidak sehat karena tercemar kuman diare serta berakumulasi dengan perilaku hidup bersih dan sehat (PHBS) yang kurang, maka penularan diare dapat terjadi lebih mudah.¹¹

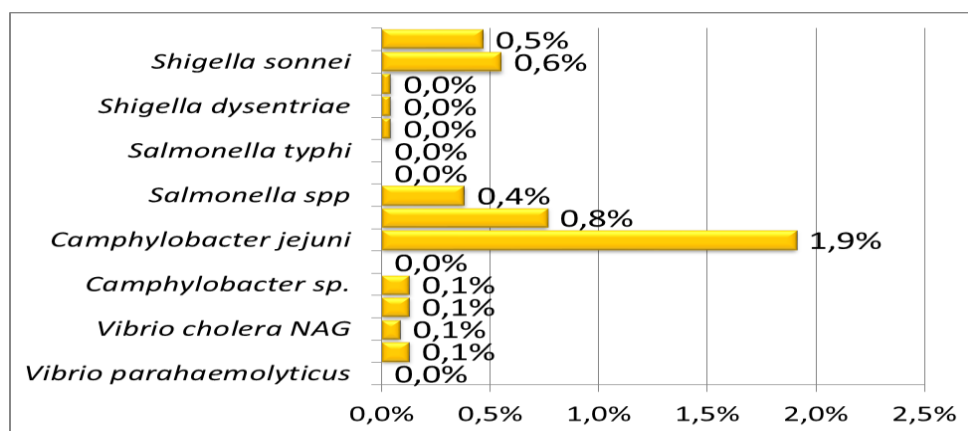


Gambar 1.1. Prevalensi diare di Indonesia hasil Riskesdas 2013

Pencegahan diare dapat dilakukan dengan menerapkan perilaku hidup bersih dan sehat (PHBS) dan vaksinasi terutama untuk diare yang disebabkan karena infeksi Rotavirus. Pada bayi, pencegahan juga dapat dilakukan dengan memberikan ASI dan memperbaiki kualitas gizi yang diberikan.¹¹ Penanganan diare meliputi rehidrasi, pemberian suplemen zinc, multivitamin dan mineral, pengaturan makanan, pemberian probiotik, antibiotika dan antidiare nonspesifik. Penanganan diare yang disebabkan oleh virus dapat dilakukan dengan pemberian cairan (rehidrasi) saja, namun tindakan ini masih

sedikit dilakukan.¹² Penatalaksanaan yang lebih sering dilakukan adalah dengan pemberian antibiotik. Studi Dwiprahasto (1998) telah melaporkan bahwa sekitar 85% anak-anak yang berobat ke Puskesmas di 5 provinsi di Indonesia mendapatkan antibiotik dalam resepnya.¹³ Penggunaan antibiotik yang tidak rasional untuk terapi masih banyak dilakukan oleh tenaga kesehatan. Pada tahun 2011 dilaporkan bahwa penggunaan antibiotik yang tidak rasional sebanyak 62,6 persen sampai 81,1 persen.^{14,15}

Dari hasil penelitian diare tahun 2009-2012, didapatkan pola bakteri penyebab diare yang hampir sama dengan hasil penelitian kerjasama antara US Naval Medical Research Unit No. 2 (NAMRU-2) dan Badan Litbangkes tahun 2005-2007. Bakteri terbanyak yang berhasil diisolasi dari penderita diare adalah *Campylobacter spp.* dan penyebab diare lainnya yang berhasil diisolasi adalah *Shigella spp.* Pada penelitian sebelumnya, *Shigella flexneri* lebih banyak diisolasi dibandingkan dengan *S. sonnei*. Hasil ini berbeda dengan penelitian tahun 2009-2012 yang menemukan *S. sonnei* yang lebih dominan. Perbedaan antara strain ini juga berpengaruh terhadap perbedaan sensitivitasnya terhadap antibiotik, seperti strain *Shigella sonnei* lebih sensitif terhadap lebih banyak antibiotik dibandingkan dengan *S. flexneri*.¹⁶



Gambar 1.2. Bakteri penyebab diare hasil penelitian 2012

Secara umum pola resistensi tiap bakteri berbeda antara satu daerah dengan daerah lain dan dapat mengalami perubahan dari tahun ke tahun. Data resistensi antibiotik dibutuhkan untuk menyusun suatu pedoman terapi empiris. Diharapkan setiap daerah memiliki dasar ilmiah/ *evidence based* berdasarkan pola resistensi di daerah masing-masing untuk menentukan pilihan terapi empiris.¹⁷ Oleh karena itu diperlukan pemantauan terus menerus terhadap identifikasi dan patogen-patogen penyebab diare pada balita. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan uji resistensi bakteri patogen enterik

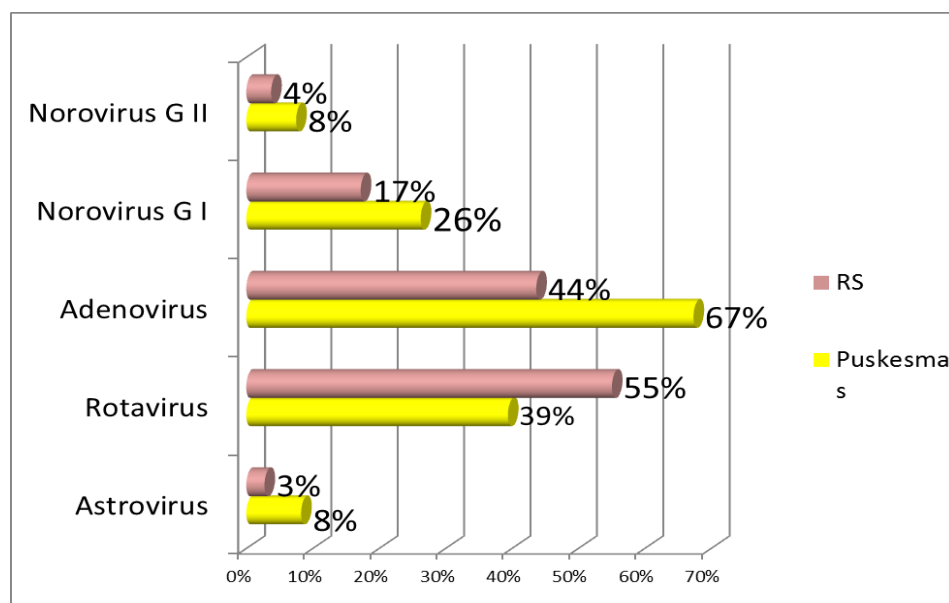
terhadap antibiotik secara berkala. Uji resistensi perlu dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik sehingga sangat membantu dalam mendapatkan suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Pada penelitian kali ini uji resistensi bakteri akan dilakukan terhadap lebih banyak antibiotik. Antibiotik tersebut meliputi Amoxicilin, Ticarcilin, Amoxicilin-clavulanic acid, Piperacilin-tazobactam, Cotrimoxazole, Tetracyclin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Amikacin, Gentamicin, Kanamycin, Tobramycin, Cefuroxime, Cefoperazone, Ceftriaxone, Ceftazidime, Cefepime, Aztreonam, Meropenem, Imepenem. Data ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar terapi empirik pada diare yang secara klinis disebabkan oleh bakteri. Beberapa bakteri yang berhasil diisolasi pada penelitian tahun 2012 jumlahnya tidak mencukupi untuk dapat mewakili hasil uji resistensi sehingga perlu penelitian untuk penambahan spesimen.

Kejadian diare dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik infeksi maupun noninfeksi. Diare akut karena infeksi dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, dan virus.¹⁸ Infeksi rotavirus merupakan penyebab terbanyak kasus diare pada anak usia balita baik di negara maju maupun negara berkembang. Rotavirus grup A menjadi agen penyebab gastroenteritis akut paling umum pada bayi dan anak-anak. Pada awalnya *genotype* yang dominan di seluruh dunia adalah G1, G2, G3, dan G4. Awal tahun 1993 mulai muncul *genotype* baru yaitu G9 dan proporsinya terus meningkat sehingga menjadi *genotype* global kelima. *Genotype* rotavirus yang paling banyak beredar di dunia adalah G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4[P8], dan G9P[8]. Deteksi tipe rotavirus di Indonesia pertama kali berhasil mengidentifikasi tipe G1 (1,7%), G2 (8,4%), G3 (52,6%), G4 (35,6%), dan infeksi campuran (1,7%). Soenarto *et al.* pada tahun 2009 berhasil mengidentifikasi *genotype* G1 (30%), G2 (14%), G3 (0,4%), G4 (0,4%), G9 (29%), dan infeksi campuran (9%). Putnam *et al.* pada tahun 2007 melaporkan bahwa *genotype* rotavirus penyebab diare di Indonesia adalah G1 (11,4%), G2 (17,6%), G3 (1,6%), G4 (2,3%), G8 (0,1%), G9 (9,3%), infeksi campuran (48,2%), dan *untypeable* (3,5%).¹⁶

Dari hasil penelitian tahun 2005-2007 didapatkan prevalensi rotavirus yang bervariasi di setiap daerah dengan kisaran 10,0 – 67,1 persen, dengan prevalensi tertinggi di Rumah Sakit Mataram. Sedangkan berdasarkan penelitian tahun 2009-2012, prevalensi rotavirus yang didapatkan dari lima provinsi (DKI Jakarta, Banten, Sulawesi Selatan, Bali, NTB) sebesar 49,8 persen. Pada tahun 2005-2007, genotyping rotavirus yang telah dikarakterisasi menunjukkan hasil rekombinasi dan reassortment dari gen VP4 dan VP7. Pada saat itu ditemukan juga gen rotavirus yang *untypable*. Karakterisasi rotavirus dilakukan dengan mengkarakterisasi *genotype* dua protein yang berada di bagian luar

rotavirus yaitu VP4 dan VP7. Kedua protein VP4 dan VP7 telah diketahui memiliki imunogenisitas yang tinggi sehingga menjadi dasar pemilihan vaksin rotavirus. Gen VP4 mengkode 28 genotipe P sedangkan gen VP7 mengkode 16 genotipe G.¹⁶

Diare akut pada balita dapat disebabkan oleh virus, bakteri, maupun parasit. Rotavirus merupakan penyebab diare terbesar pada balita. Pada penelitian terdahulu, diketahui prevalensi infeksi Rotavirus di Indonesia sekitar 30%. Selain Rotavirus, penelitian yang lalu juga menemukan beberapa virus selain Rotavirus dari spesimen feses, antara lain, Norovirus, Astrovirus, dan Adenovirus. Apabila penelitian hanya difokuskan pada Rotavirus, maka penelitian ini akan kehilangan data penyebab diare lainnya. Selain itu isolasi bakteri penyebab diare dapat dimanfaatkan untuk data resistensi antibiotik. Data ini dibutuhkan oleh klinisi untuk menentukan pedoman pengobatan diare secara empirik. Data resistensi dari tiap daerah juga berbeda-beda yang dipengaruhi berbagai faktor, antara lain kebiasaan penggunaan antibiotik di suatu daerah.



Gambar 1.3. Virus penyebab diare hasil penelitian diare 2012

Uji klinis vaksin Rotavirus di Indonesia dengan *seed vaccine* dari Australia yang ditemukan pada tahun 1975 dan telah sampai pada tahap uji klinik fase II. Vaksin tersebut tidak dapat mencakup kekebalan seluruh subtype Rotavirus. Karakterisasi genotyping rotavirus merupakan studi awal penemuan *seed vaccine* spesifik Indonesia. Selain itu, genotyping Rotavirus juga bertujuan untuk mendata sirkulasi subtype rotavirus yang ada, sehingga dapat memetakan perubahan galur Rotavirus yang belum dapat dicegah dengan vaksin Rotavirus yang telah ada.

Pada penelitian terdahulu telah ditemukan beberapa genotype yang tidak lazim di Indonesia antara lain gen tipe G9, G1G2, G1G4, G1G9, G2G4, G4G9, G1G4G9, G2G4G9, dan GNT (tipe yang tidak bisa teridentifikasi). Beberapa literatur menyebutkan rotavirus dengan genotype G9 memiliki tingkat keparahan yang lebih dibandingkan dengan genotype lainnya. Sedangkan karakterisasi isolat rotavirus pada penelitian tahun 2009-2012 yang dilakukan oleh Badan Litbangkes pada tahun hanya menemukan dua tipe dominan yaitu G1 dan G2. Hasil ini dianggap belum maksimal karena di Indonesia telah banyak ditemukan ragam variasi strain rotavirus, sehingga masih dibutuhkan penelitian eksplorasi lanjutan untuk menemukan kecenderungan perubahan pola karakteristik genotype rotavirus dari tahun ke tahun.

Penelitian tahun 2015 memiliki beberapa perbedaan apabila dibandingkan dengan penelitian tahun 2012. Penelitian tahun 2015 diharapkan dapat melengkapi kekurangan data penelitian tahun 2012, khususnya data resistensi antibiotik. Metode karakterisasi Rotavirus pada tahun 2015 ini juga lebih disempurnakan apabila dibandingkan dengan metode tahun 2012. Pada penelitian tahun 2012, karena keterbatasan metode, hasil genotyping yang ditemukan belum lengkap sehingga banyak genotyping Rotavirus yang tidak dapat dideteksi.

Beberapa vaksin rotavirus saat ini yang sedang diujikan oleh Biofarma bekerjasama dengan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, merupakan *seed* vaksin yang berasal dari Australia. Hasil percobaan fase I dan awal fase II didapatkan imunogenisitasnya yang rendah, sehingga diperlukan peningkatan dosis. Hasil uji coba vaksin komersial rotavirus yang telah dilakukan di beberapa negara menunjukkan efektivitas yang berbeda-beda. Adanya data karakteristik rotavirus yang beredar di Indonesia diharapkan dapat dipergunakan sebagai dasar penelitian lanjutan penentuan *seed* vaksin rotavirus dengan imunogenisitas yang tinggi khas Indonesia, yang efektif, efisien dengan harga terjangkau secara ekonomi. Hasil penelitian ini merupakan sumber informasi yang akan membantu dalam upaya pengembangan program pengendalian diare, pencapaian peningkatan derajat kesehatan masyarakat secara nasional, dan pencapaian komitmen internasional.

1.2. Tujuan Penelitian

1.2.1. Tujuan Umum

Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi virus, parasit, bakteri dan analisis resistensinya terhadap antibiotik serta karakterisasi rotavirus penyebab diare pada anak usia balita di Indonesia.

1.2.2. Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi bakteri patogen enterik penyebab diare pada anak usia balita.
2. Mengidentifikasi virus penyebab diare pada anak usia balita.
3. Mengidentifikasi pola resistensi bakteri patogen enterik terhadap antibiotik.
4. Mengidentifikasi parasit penyebab diare pada anak usia balita.
5. Mengidentifikasi faktor risiko kejadian diare pada anak usia balita.
6. Mengidentifikasi genotype rotavirus penyebab diare pada anak usia balita.

1.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai sumber dasar kebijakan program pengendalian dan pengobatan diare pada anak usia balita di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Etiologi

Diare adalah buang air besar (defekasi) dengan feses berbentuk cair atau setengah padat karena adanya kandungan air pada feses yang lebih banyak dari biasanya. Menurut Badan Kesehatan Dunia (World Health Organization), diare adalah buang air besar encer dan cair dengan frekuensi lebih dari tiga kali dalam satu hari, sementara diare akut adalah diare yang terjadinya mendadak dan berlangsung singkat dalam beberapa jam. Diare akut dapat disebabkan oleh banyak faktor seperti infeksi, keracunan makanan, efek penggunaan obat dan sebab lainnya.¹⁷ Diare karena infeksi dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, dan virus, namun infeksi yang sering terjadi biasanya disebabkan oleh bakteri.^{18,19} Diare akut umumnya disebabkan karena infeksi Rotavirus dan terutama pada anak. Infeksi Rotavirus menyebabkan gangguan pada villi usus halus yang menjadikan villi memendek dan merusak permukaan villi. Enzim pencernaan transportasi protein yang normalnya berada pada villi serta permukaannya menjadi abnormal. Hal ini mengakibatkan proses penyerapan air pada saluran pencernaan juga terganggu dan terjadi diare.¹⁸ Selain Rotavirus, terdapat juga beberapa virus lain yang dapat menyebabkan diare antara lain Norovirus, Adenovirus, dan Astrovirus.

Bakteri yang dapat menyebabkan diare akut adalah *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* (*Enterotoxigenic*, *Enteroinvasive*, *Enteropathogenic*, *Enterohaemorrhagic*), *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Aeromonas spp*, dan *Plesiomonas spp*.¹ Bakteri yang paling sering menjadi penyebab diare akut adalah infeksi *Campylobacter jejuni*. Infeksi ini menyebabkan demam, nyeri abdomen, serta diare berdarah yang disebabkan karena invasi bakteri di dalam mukosa saluran pencernaan.¹⁸

Parasit yang menyebabkan diare akut antara lain *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, dan *Cryptosporidium parvum*. Infeksi *Giardia lamblia*, *Cryptosporidia* menyebabkan disentri berupa diare kronik.¹⁸

2.2. Epidemiologi

Diare merupakan salah satu penyebab utama angka kesakitan dan kematian anak yang tinggi di dunia. Dari waktu ke waktu diare tetap menjadi salah satu penyakit yang dapat mengakibatkan mortalitas dan malnutrisi pada anak.² Diare menjadi salah satu

penyebab terbesar kematian pada anak usia di bawah lima tahun (balita) di dunia. Data Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan lebih dari 10 juta anak usia balita meninggal setiap tahunnya dan sekitar 20 persen diantaranya meninggal karena penyakit diare. Saat ini angka kematian yang disebabkan diare adalah 3,8 per 1000 setiap tahun. Setiap tahun diperkirakan sekitar 2,5 miliar kejadian diare pada anak usia balita, dan hampir tidak ada perubahan dalam dua dekade terakhir.^{20,21,22}

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diare menduduki penyebab kematian tertinggi pada bayi dan balita di Indonesia.^{23,24} Data terakhir dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan menunjukkan bahwa diare merupakan penyebab kematian tertinggi kedua pada anak usia balita di Indonesia setelah penyakit radang paru atau *pneumonia*. Setiap tahun lebih dari 2 juta anak usia balita meninggal dunia yang akibat infeksi diare dan mayoritas terjadi di negara berkembang.²⁵ Data Riskesdas tahun 2013 menunjukkan insiden dan *period prevalence* diare untuk seluruh kelompok usia di Indonesia adalah 3,5 persen dan 7,0 persen. Berdasarkan karakteristik penduduk, kelompok usia balita merupakan kelompok yang paling tinggi menderita diare dengan insiden diare balita sebesar 6,7 persen.²⁶

2.3. Patogenesis

Virulensi adalah ukuran patogenitas organisme. Tingkat virulensi berbanding lurus dengan kemampuan organisme menyebabkan penyakit. Tingkat virulensi dipengaruhi oleh jumlah mikroorganisme, jalur masuk ke dalam tubuh inang, mekanisme pertahanan inang, dan faktor virulensi bakteri. Secara eksperimental virulensi diukur dengan menentukan jumlah mikroorganisme yang menyebabkan kematian, sakit, atau lesi dalam waktu yang ditentukan setelah introduksi.²⁷

Yang berperan pada terjadinya diare akut terutama yang disebabkan karena infeksi adalah faktor kausal (agent) dan faktor pejamu (host). Faktor pejamu adalah kemampuan tubuh untuk mempertahankan diri terhadap organisme yang dapat menimbulkan diare yang terdiri dari lingkungan internal saluran cerna antara lain keasaman lambung, motilitas usus, imunitas dan juga lingkungan mikroflora usus. Faktor kausal adalah daya penetrasi yang dapat merusak sel mukosa, kemampuan memproduksi toksin yang mempengaruhi sekresi cairan halus serta daya lekat mikroorganisme.

Patogenesis diare karena infeksi dapat disebabkan oleh bakteri non-invasif (enterotoksigenik) dan diare karena bakteri/parasit invasif (enterovasif). Bakteri yang tidak merusak mukosa antara lain *Vibrio cholerae*, *Enterotoxigenic E coli* dan *C.*

perfringens. Sedangkan bakteri yang merusak (invasif) antara lain *Enteroinvasive E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *C. perfringens* tipe C.

Menurut patofisiologinya, diare dapat dikelompokkan menjadi diare sekretorik dan diare osmotik. Diare osmotik dapat terjadi bila ada substansi intraluminal yang tidak dapat diabsorpsi dan memicu sekresi cairan yang berkaitan dengan rusaknya mukosa saluran cerna. Zat yang tidak dapat diserap akan terakumulasi di dalam lumen usus sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan osmotik intraluminal sehingga terjadi pergeseran cairan plasma ke dalam saluran cerna. Kondisi ini terjadi pada penderita dengan intoleransi laktosa. Diare osmotik berhenti apabila penderita dipuaskan.¹⁸

Diare sekretorik terjadi karena adanya hambatan absorpsi natrium oleh villus dan peningkatan sekresi klorida oleh kript. Terjadinya peningkatan sekresi cairan yang lebih dari keadaan normal kemampuan absorpsi kolon akan mengakibatkan diare.¹ Penyembuhan vili yang tidak sempurna pada anak dan regenerasi seluler epitel saluran cerna pada bayi yang lambat menyebabkan diare berulang. Karakteristik diare sekretorik adalah terjadinya peningkatan kehilangan banyak air dan elektrolit di dalam saluran pencernaan.¹⁸

2.4. Diagnosis

Penegakkan diagnosis diare dapat dilakukan dengan, anamnesa, pemeriksaan fisik serta pemeriksaan mikrobiologi. Anamnesa dilakukan untuk menggali riwayat penyakit meliputi lama kejadian, frekuensi, gejala klinis penyerta, faktor risiko, riwayat penyakit yang pernah ada sebelumnya beserta pengobatannya. Ada tidaknya kejadian dehidrasi dapat dinilai dengan pemeriksaan fisik.²⁵

Berdasarkan keadaan klinisnya, dehidrasi dapat dibagi menjadi 3 tingkatan :

1. Dehidrasi ringan (hilang cairan 2-5% BB) : gambaran klinisnya turgor kurang, suara serak, penderita belum jatuh dalam presyok.
2. Dehidrasi sedang (hilang cairan 5-8% BB) : gambaran klinisnya turgor buruk, suara serak, penderita jatuh dalam presyok atau syok, nadi cepat, napas cepat dan dalam.
3. Dehidrasi berat (hilang cairan 8-10% BB) : tanda dehidrasi sedang ditambah kesadaran menurun (apati sampai koma), otot-otot kaku, sianosis.

Kelainan-kelainan yang ditemukan pada pemeriksaan fisik sangat berguna dalam menentukan beratnya diare daripada menentukan penyebab diare. Untuk memastikan penyebab terjadinya diare dapat dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan mikrobiologi maupun parasitologi. Pemeriksaan mikroskopik dapat dilakukan

untuk melihat adanya darah dan sel radang yang akan membedakan antara diare inflamasi dan non inflamasi yang diperlukan untuk penentuan pengobatan empirik diare.²⁷

Pada diare non inflamasi karena infeksi virus tidak ditemukan leukosit pada feses. Pemeriksaan parasit dengan mikroskopis akan menentukan jenis parasit baik berupa kista atau telur *Entamoeba spp* atau *Giardia lamblia*. Isolasi bakteri dapat dilakukan dengan kultur dari spesimen diare sehingga pengambilan spesimen feses dengan segera setelah onset gejala penyakit muncul sangat diperlukan. Deteksi bakteri penghasil toksin seperti *Enterotoxigenic E.coli (ETEC)* dan *Clostridium difficile* dapat dilakukan dengan mendeteksi jenis toksin yang menyebabkan diare. Diagnosis pasti diare yang disebabkan oleh virus dapat dilakukan dengan pemeriksaan serologi dengan metoda *Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)*, *Enzyme Immuna Assay (EIA)*, *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, atau mikroskop electron.²⁸

2.5. Pengobatan

Pengobatan kasus diare baik pada anak maupun dewasa dapat dilakukan dengan penggantian cairan tubuh yang hilang (rehidrasi), pemberian suplemen zinc, multivitamin dan mineral, pengaturan makanan, pemberian probiotik, antibiotika dan anti diare non spesifik.^{20,25,29}

Penggantian cairan tubuh yang hilang akibat dehidrasi secara oral merupakan penanganan yang efektif pada kasus diare akut dan mengurangi kemungkinan rawat inap. Apabila penderita dalam keadaan umum yang baik tidak dehidrasi, asupan cairan yang cukup dapat dicapai dengan minuman ringan, sari buah, sup, dan keripik asin. Apabila penderita mengalami kehilangan cairan dan dehidrasi, penanganan yang agresif seperti cairan intravena atau rehidrasi oral dengan cairan isotonik yang mengandung elektrolit dan gula atau starch harus diberikan. Terapi rehidrasi oral lebih murah, efektif dan lebih praktis daripada cairan intravena. Cairan rehidrasi oral terdiri dari sejumlah garam yang hilang bersamaan dengan tinja. World Health Organization (WHO) telah memperkenalkan cairan rehidrasi oral terbaru dengan konsentrasi glukosa dan sodium yang lebih rendah dibandingkan dengan cairan rehidrasi oral yang disarankan sebelumnya. Cairan rehidrasi oral yang terbaru ini mengurangi mual, memperkecil jumlah tinja, mengurangi kejadian hipernatremi.²⁰

Pada anak-anak penderita diare dapat diberikan suplementasi zinc sebesar 10-20 mg/hari selama 10-14 hari. Pemberian zinc sedini mungkin dapat memperpendek durasi, mengurangi keparahan, dan mencegah terjadinya diare dalam 2-3 bulan setelah episode

sebelumnya. Untuk memperbaiki fungsi saluran pencernaan, pemberian makanan dan air susu ibu (ASI) pada bayi harus terus diberikan. Obat antidiare nonspesifik tidak disarankan untuk diberikan pada balita dengan diare. Efek sedasi dari pemberian antiemetik dapat mempersulit rehidrasi sehingga tidak diperlukan dalam penatalaksanaan diare akut. Golongan obat yang termasuk dalam antidiare nonspesifik antara lain adsorben, antimotilitas, bismuth subsalisilat, dan kombinasinya.^{22,28}

Menurut WHO indikasi pemberian antibiotika pada diare adalah pada diare berdarah, diare yang diduga disebabkan oleh kolera dengan dehidrasi berat, infeksi karena amuba yang telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan laboratorium, dan diare yang berhubungan dengan infeksi akut lainnya seperti pneumonia dan infeksi saluran kemih.²⁰

Pengobatan empirik tidak dianjurkan pada semua pasien karena kebanyakan pasien memiliki penyakit yang ringan, *self limited disease* karena virus atau bakteri non-invasif. Antimikroba hanya digunakan pada diare dengan penyebab yang spesifik. Penanganan diare karena infeksi bakteri membutuhkan terapi antibiotika berdasarkan sensitifitas pada strain lokal. *Shigella spp* sering mengalami resistensi dan pola resistensinya tidak bisa diprediksi. Sebelumnya pilihan utama untuk diare yang disebabkan oleh *Shigella spp* adalah asam nalidiksarat, namun saat ini alternatif ini tidak disarankan lagi. Antimikroba utama untuk penanganan diare karena infeksi *Shigella spp* dan *Salmonella spp* adalah siprofloksasin, namun antibiotika ini tidak disarankan untuk diberikan pada anak-anak karena mengganggu lempeng pertumbuhan tulang. Pemberian antibiotika secara rutin tidak disarankan pada kasus diare persisten karena diare ini sering sekali disebabkan oleh infeksi non intestinal yang membutuhkan terapi antibiotika yang spesifik.²⁰

2.6. Prognosis

Prognosis diare akut maupun kronik sangat bergantung dari penyebabnya. Dengan penggantian cairan yang hilang secara adekuat, perawatan yang mendukung, dan terapi antimikrobal jika diperlukan, prognosis diare infeksius sangat baik dengan morbiditas dan mortalitas minimal. Seperti kebanyakan penyakit, morbiditas dan mortalitas terutama pada anak-anak dan pada lanjut usia. Di Amerika Serikat, mortalitas berhubungan dengan diare infeksius < 1,0%. Pengecualiannya pada infeksi EHEC dengan mortalitas 1,2% yang berhubungan dengan sindrom uremik hemolitik.³⁰ Prognosis diare pada anak-anak dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain malnutrisi, defisiensi zinc, diare persisten, dan imunitas. Defisiensi makronutrien dan mikronutrien pada anak-anak berhubungan dengan kejadian diare berat dan diare yang lama (*prolonged diarrhea*), hipokalemia dan

prolapsus rektal pada kasus disentri. Status nutrisi yang buruk akan meningkatkan resiko kematian pada diare. Defisiensi zinc akan menurunkan sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan prevalensi diare persisten dan frekuensi diare. Diare yang persisten menyebabkan malabsorpsi dan penurunan berat badan yang signifikan, dan memacu siklus diare berikutnya.^{28,30}

2.7. Pencegahan

Penularan diare menyebar melalui jalur fekal-oral, karena itu penularan dapat dicegah dengan menjaga higiene pribadi yang baik. Ini termasuk sering mencuci tangan setelah keluar dari toilet dan khususnya selama mengolah makanan. Kotoran manusia harus diasingkan dari daerah pemukiman, dan hewan ternak harus terjaga dari kotoran manusia. Makanan dan air merupakan penularan yang utama, karena itu harus diberikan perhatian khusus. Minum air yang digunakan untuk membersihkan makanan, atau air yang digunakan untuk memasak harus disaring dan diklorinasi. Jika ada kecurigaan tentang keamanan air atau air yang tidak dimurnikan yang diambil dari danau atau air, harus direbus dahulu beberapa menit sebelum dikonsumsi. Ketika berenang di danau atau sungai, harus diperingatkan untuk tidak menelan air.^{30,31}

Semua buah dan sayuran harus dibersihkan menyeluruh dengan air yang bersih (air rebusan, saringan, atau olahan) sebelum dikonsumsi. Limbah manusia atau hewan yang tidak diolah tidak dapat digunakan sebagai pupuk pada buah-buahan dan sayuran. Semua daging dan makanan laut harus dimasak. Hanya produk susu yang dipasteurisasi dan jus yang boleh dikonsumsi. Wabah EHEC terakhir berhubungan dengan meminum jus apel yang tidak dipasteurisasi yang dibuat dari apel terkontaminasi, setelah jatuh dan terkena kotoran ternak.³¹

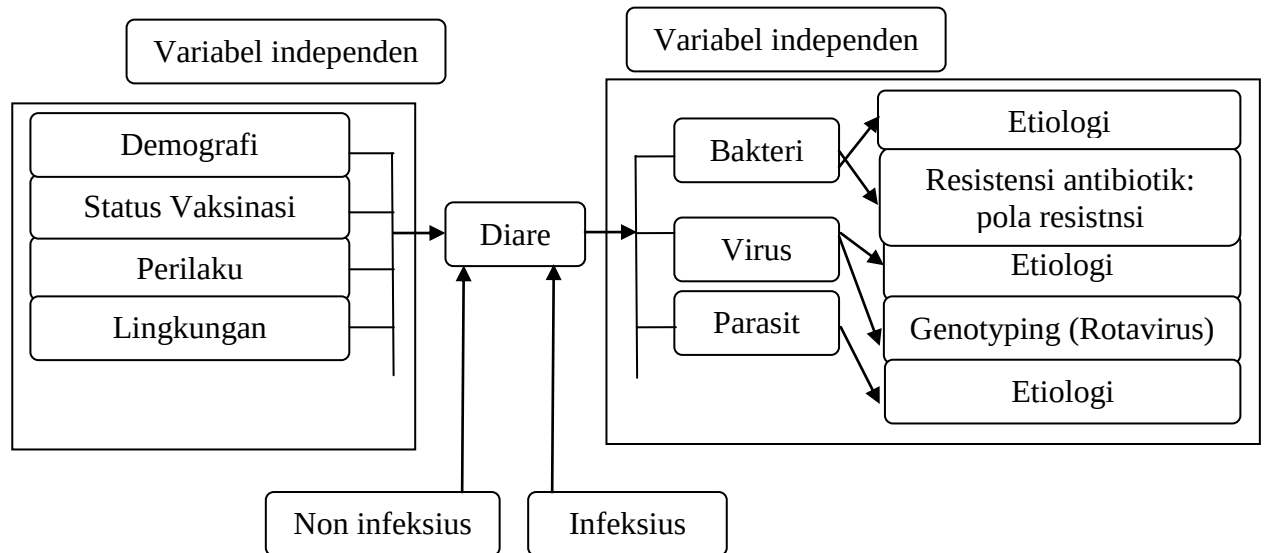
Vaksinasi cukup menjanjikan dalam mencegah diare infeksius, tetapi efektivitas dan ketersediaan vaksin sangat terbatas. Pada saat ini, vaksin yang tersedia adalah untuk V. colera, dan demam tipoid. Vaksin kolera parenteral kini tidak begitu efektif dan tidak direkomendasikan untuk digunakan. Vaksin oral kolera terbaru lebih efektif, dan durasi imunitasnya lebih panjang. Vaksin tipoid parenteral yang lama hanya 70 % efektif dan sering memberikan efek samping. Vaksin parenteral terbaru juga melindungi 70 %, tetapi hanya memerlukan 1 dosis dan memberikan efek samping yang lebih sedikit. Vaksin tipoid oral telah tersedia, hanya diperlukan 1 kapsul setiap dua hari selama 4 kali dan memberikan efikasi yang mirip dengan dua vaksin lainnya.³¹

Pencegahan diare menurut panduan penatalaksanaan diare WHO (2005) meliputi pemberian ASI, perbaikan cara pemberian makanan yang baik, penggunaan air bersih, mencuci tangan, makan makanan yang aman, penggunaan jamban, imunisasi, serta pengelolaan sampah dan penanganan limbah dengan baik. Pemberian ASI eksklusif pada bayi akan memperkecil kemungkinan menderita diare dan melindungi bayi dari alergi dan infeksi selain diare seperti pneumonia. Cara pemberian makanan yang baik meliputi pemilihan nutrisi dan penyiapan makanan bayi yang higienis. Saat ini telah tersedia juga vaksin untuk *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholera*, *Enterotoxigenic E coli*, dan *Rotavirus*. Walau beberapa vaksin yang disediakan masih kontroversial digunakan untuk imunisasi rutin.³²

BAB III

METODOLOGI

3.1. Kerangka Konsep

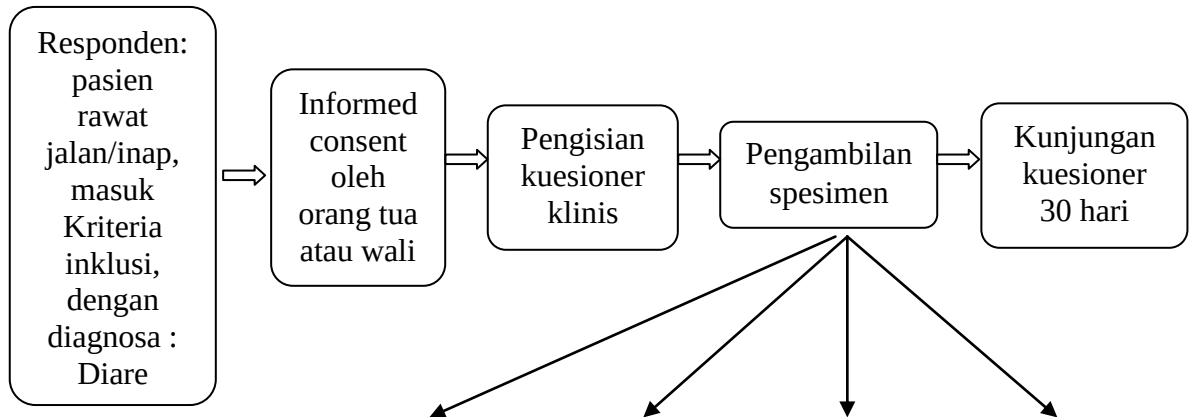


Gambar 3.1. Kerangka konsep penelitian

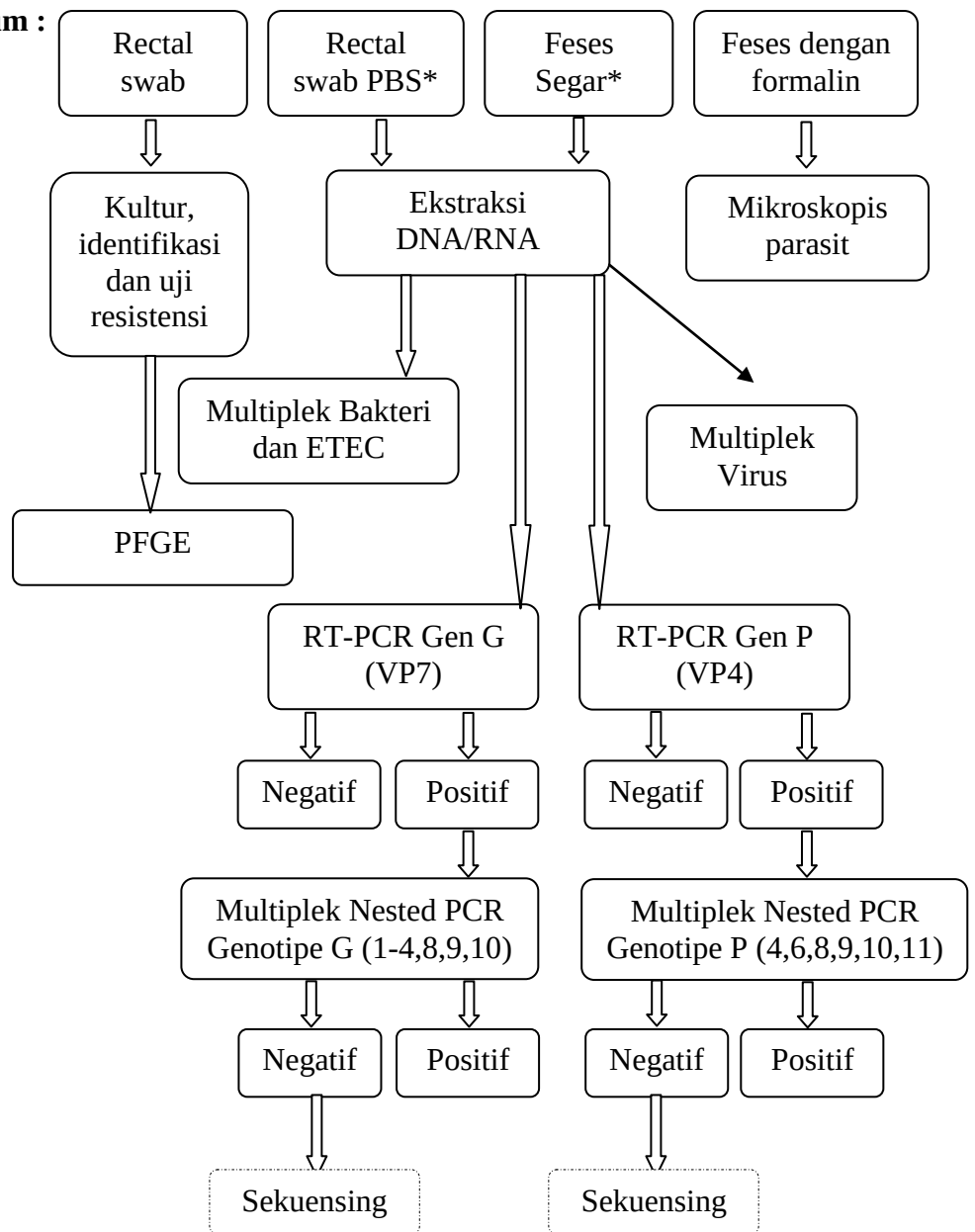
Secara umum penyebab diare dapat digolongkan menjadi 2, yaitu diare yang diakibatkan karena infeksius yang terdiri dari bakteri, virus, dan parasit dan dari karena non-infeksius (malnutrisi, dll). Kejadian diare dipengaruhi oleh faktor eksternal maupun internal, diantaranya faktor demografi, status vaksinasi, perilaku, dan lingkungan. Lebih dari 90% diare akut disebabkan karena infeksi, sedangkan sekitar 10% karena sebab-sebab lain antara lain obat-obatan, bahan-bahan toksik, iskemik dan sebagainya. Prognosis diare tergantung dari berat ringannya penyakit yang berkaitan erat dengan karakteristik penyebabnya. Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi penyebab diare, meliputi jenis mikroorganisme, resistensi terhadap antibiotik (bakteri) dan *molecular typing* (rotavirus).

3.2. Alur Kerja

Alur di lapangan :



Alur di laboratorium :



Gambar 3.2. Alur penelitian

3.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di 4 provinsi yaitu :

- a. DKI Jakarta
- b. Sulawesi Selatan
- c. Jawa Barat
- d. Kalimantan Selatan

Tiga provinsi pertama (a, b,c) dipilih diantara 10 provinsi yang mempunyai angka insiden diare tertinggi pada balita (Riskesdas 2013) dan satu provinsi berdasarkan pemanfaatan air sungai yang masih tinggi. Pemilihan Provinsi Kalimantan Selatan berdasarkan data Riskesdas tahun 2013 yang menyatakan sebanyak 24,9% rumah tangga di Kalimantan Selatan menggunakan air sungai untuk keperluan rumah tangga. Sedangkan pemilihan Kota Banjarmasin didasarkan data kasus diare terbanyak di provinsi tersebut. Pada setiap provinsi akan dipilih puskesmas dan rumah sakit sebagai tempat pengambilan spesimen.

Tabel 3.1. Lokasi pengumpulan sampel

Provinsi	Puskesmas	Rumah Sakit
DKI Jakarta	Puskesmas Jatinegara	RSPI Sulianti Suroso
	Puskesmas Pademangan	RSUD Budi Asih
Sulawesi Selatan	Puskesmas Kalukubodoa	RSUD Kota Makassar
	Puskesmas Sudiang	RSUD Sayang Rakyat
Jawa Barat	Puskesmas Ciawi	RSUD Cibinong
	Puskesmas Cirimekar	
Kalimantan Selatan	Puskesmas Kelayan Timur	RSUD Ulin
	Puskesmas Kuin Raya	RSUD Ansari Saleh

Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Penelitian dilaksanakan pada tahun 2015 dengan target sampel sebanyak 2.000.

3.4. Disain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif laboratorium non intervensi dengan disain penelitian *cross sectional*.

3.5. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah anak usia balita (1 bulan sampai 5 tahun) yang berobat ke rumah sakit dan puskesmas. Sampel penelitian adalah penderita diare anak usia balita (1 bulan sampai 5 tahun) yang berobat ke rumah sakit dan puskesmas yang telah ditentukan.

3.6. Besar Sampel

Dengan memperhatikan prevalensi mikrobiologi (Rotavirus) penyebab diare berkisar 50% dengan derajat kepercayaan 95%, presisi absolut 5%, maka besar sampel yang diperlukan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} & (1,96)^2 \times (0,50 \times 0,50) \\ = & \frac{\quad}{(0,05)^2} = 385 \end{aligned}$$

Dengan mempertimbangkan sampel yang mengalami kerusakan : 1) akibat proses pengepakan, 2) proses pengiriman, 3) identitas sampel tidak lengkap, 4) keberhasilan isolasi bakteri hanya 10-15%. Dengan mempertimbangkan kegagalan tersebut, maka diperlukan penambahan jumlah sampel sebesar 20% sehingga total sampel yang diperlukan dibulatkan menjadi 500 responden untuk setiap provinsi.³⁴

3.7. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

a. Kriteria inklusi

- Umur 1 bulan sampai 5 tahun.
- Memenuhi definisi kasus diare yaitu buang air besar lembek atau cair sebanyak tiga kali atau lebih dalam waktu 24 jam atau dua kali buang air besar yang lembek atau cair dalam waktu 24 jam disertai satu atau lebih gejala (demam, sakit perut, kejang perut, nausea, muntah, tenesmus, dan adanya darah pada tinja yang kadang berhubungan dengan kasus diare, suhu badan $>38^{\circ}\text{C}$).
- Persetujuan dari orang tua atau wali untuk berpartisipasi dalam penelitian.

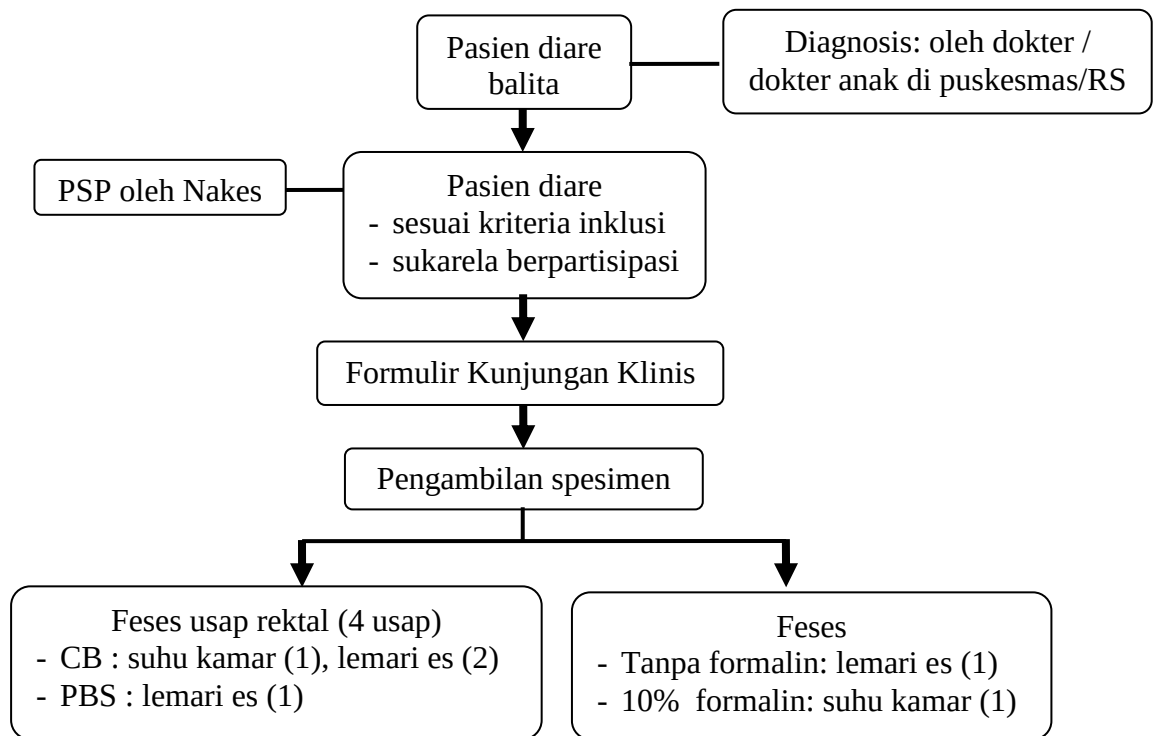
b. Kriteria eksklusi

- Tidak adanya informasi klinis maupun pada spesimen.
Formulir kunjungan klinis yang tidak terisi serta spesimen yang tidak jelas kepemilikannya tidak akan diikutkan dalam hitungan jumlah sampel.
- Spesimen tanpa label
Responden yang memenuhi kriteria inklusi dan menderita diare kronis atau memiliki kelainan kongenital saluran cerna maupun kelamin tetap dapat berpartisipasi dalam

penelitian ini. Pengambilan spesimen diare berupa usap rektal dan feses tidak mempengaruhi atau memperparah keadaan umum responden walaupun sedang dalam keadaan koma. Apabila responden memenuhi kriteria inklusi, pengambilan spesimen tetap dapat dilakukan.

3.8. Bahan dan Prosedur Kerja

3.8.1. Rekrutmen responden dan wawancara



Gambar 6. Alur rekrutmen responden

Responden pada penelitian ini adalah anak-anak usia 1 bulan samapi 5 tahun (balita) yang menderita diare dan datang berobat ke fasilitas kesehatan seperti dari instalasi gawat darurat (IGD) dan dari poliklinik rumah sakit serta puskesmas yang telah ditunjuk sebagai tempat pengumpulan data. Penegakkan diagnosis diare dilakukan oleh dokter yang bertanggung jawab. Pengumpulan data yang meliputi menyampaikan penjelasan sebelum persetujuan (PSP) keterlibatan dalam penelitian, pengisian kuesioner dan pengambilan sampel dilakukan oleh petugas medis yang telah dilatih sebelumnya. Responden dipisahkan menurut kriteria inklusi dan eksklusi. Responden yang dinyatakan memenuhi kriteria inklusi, maka kepada orang tua/wali responden akan dimintakan persetujuan untuk berpartisipasi dalam penelitian ini, dengan menandatangani formulir *informed consent*/PSP (lampiran1). Setelah mendapatkan persetujuan, selanjutnya petugas akan

mengumpulkan data dengan melakukan wawancara menggunakan Formulir Kunjungan Klinis (lampiran 2) yang telah disediakan. Dalam Formulir Kunjungan Klinis akan dicari informasi meliputi informasi rumah sakit/ puskesmas, informasi/ karakteristik responden, status kunjungan pra klinis, riwayat imunisasi, gejala klinis pada saat kunjungan, tingkat keparahan diare, penatalaksanaan diare, dan perilaku hidup bersih dan sehat. Pada bagian pertanyaan tentang tanda klinis, derajat dehidrasi dan penatalaksanaan yang diberikan kepada responden akan diisi dan dilengkapi oleh dokter yang merawat pasien.

b. Pengambilan, penyimpanan, pengemasan dan pengiriman spesimen

Setelah pengisian data pada Formulir Kunjungan Klinis lengkap, selanjutnya petugas melakukan pengambilan spesimen berupa tinja dan usap rektal dari pasien yang orang tua/ walinya telah memberikan persetujuan untuk berpartisipasi secara sukarela dalam penelitian. Spesimen yang diambil dengan rincian spesimen sebagai berikut:

1. Usap rektal dengan lidi kapas dimasukkan ke dalam media transport Cary Blair, dan usap rektal lainnya akan disimpan dalam PBS. Usap rektal yang diambil dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 buah, dengan rincian sebagai berikut:
 - 2 usap rektal dalam cary blair disimpan pada suhu kamar dan diperuntukkan untuk kultur dan uji resistensi.
 - 1 usap rektal dalam PBS disimpan dalam suhu 4-8°C dan diperuntukkan untuk deteksi virus penyebab diare dengan multipleks PCR.
 - 1 usap rektal dalam cary blair disimpan pada suhu 4-8°C dan diperuntukkan untuk kultur dan resistensi bakteri patogen saluran cerna lainnya seperti *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter spp*, dll.
2. Spesimen tinja dimasukkan ke dalam kontainer tinja. Satu kontainer berisi formalin 10% untuk pemeriksaan parasit, dan yang satu tanpa formalin untuk pemeriksaan virus.

Satu buah usap dacron atau kapas disimpan dalam suhu kamar ditujukan untuk kultur dan resistensi *Vibrio spp*. Setiap bakteri memiliki karakteristik masing-masing. Bakteri golongan ini lebih bertahan lama apabila disimpan pada suhu ruang, sehingga isolasi dan identifikasi *Vibrio spp* lebih memungkinkan dikultur kembali, apabila spesimen usap rektal disimpan dalam suhu ruang, bukan suhu 4-8°C.

Semua spesimen akan diberi label identitas responden dengan nomor siku responden. Apabila spesimen yang sudah dikumpulkan tidak langsung dikirimkan ke PBTDK, semua spesimen disimpan dalam suhu 2-8°C, kecuali spesimen tinja dengan

formalin. Spesimen beserta Formulir Kunjungan Klinis akan dikirimkan melalui ekspedisi darat dan/udara ke Laboratorium Bakteriologi PBTDK maksimal dalam 48 jam.

Setelah 30 hari dari waktu kunjungan responden, petugas melakukan kunjungan ke tempat tinggal responden untuk mengkonfirmasi kejadian ikutan diare atau diare berulang setelah diare 30 hari yang lalu. Pada kunjungan ini petugas menggali informasi untuk mengisi data pada Formulir Kunjungan 30 Hari (Lampiran 3) yang berisi pertanyaan tentang keadaan responden setelah 30 hari dan keadaan sanitasi lingkungan tempat tinggal responden. Formulir Kunjungan 30 Hari juga dikirimkan ke Laboratorium Bakteriologi PBTDK. Penelitian ini tidak mendata tentang penyebab kematian. Pertanyaan pada Formulir Kunjungan 30 Hari hanya ditujukan untuk mengetahui apakah terjadi diare berulang pada responden atau responden meninggal dunia.

Setiap pengisian formulir harus mengikuti Pedoman Pengisian Formulir (Lampiran 4) yang telah disediakan. Pengiriman spesimen berikut formulir yang menyertai harus dilakukan sesuai dengan pedoman operasional baku (POB) pengiriman spesimen. Prosedur operasional baku (POB) pengambilan, penyimpanan, pengemasan dan pengiriman spesimen harus mengikuti standar yang telah disampaikan pada pelatihan petugas pengumpul data (Lampiran 5).

c. Pemeriksaan Kultur dan Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri penyebab diare dilakukan dengan metode kultur dan isolasi bakteri sebagai metoda baku emas pemeriksaan bakteri. Usap rektal diinokulasikan pada beberapa media selektif dan media pengaya. Media terdiri dari *xylose lysine deoxycholate agar* (XLD), *thiosulfate citrate bile sucrose agar* (TCBS), *MacConkey agar* (MAC), *Salmonella – Shigella agar* (SS), *Campylobacter blood agar* (CBA) dan *Aeromonas agar*. Sebagai tambahan spesimen tinja diinokulasikan ke dalam media pengaya selenite dan alkaline-pepton water (APW). Hasil subkultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-20 jam. Medium *Campylobacter blood agar* diinkubasi pada suhu 42°C selama 48 jam dilingkungan mikroaerofilik.

Identifikasi definitif bakteri dilakukan menggunakan prosedur standar termasuk metode biokimia konvensional sebagai skrining yaitu dengan menggunakan Kligler's iron agar, lysine iron agar, dan motility-indole-ornithine media. Serotyping bakteri khususnya *Salmonella spp*, mempergunakan uji serologi aglutinasi. Jika dalam proses identifikasi biokimia terdapat keraguan, dikonfirmasi menggunakan API 20 E, suatu uji biokimia semi otomatis komersial. Khusus untuk *E.coli*, uji deteksi setelah kultur *E. coli* dilakukan

dengan menggunakan PCR. Semua bakteri patogen yang terisolasi dilakukan uji kepekaan terhadap antibiotik dengan metode Kirby – Bauer (Bauer et al.,1996) dan nilai kepekaan antibiotik menurut Clinical laboratory Standard Institutes (CLSI) tahun 2014.

d. Pemeriksaan Resistensi Antibiotik dengan Metode Cakram (*Disc Diffusion*)

Semua bakteri patogen yang berhasil diisolasi dilakukan uji kepekaan terhadap antibiotika sesuai dengan prosedur baku. Antibiotika yang digunakan terdiri dari 14 macam (lini pertama maupun lini kedua) yang meliputi nalidixid acid (NA), ceftriaxone (CRO), tetracyclin (TE), chloramphenicol (C), ceftazidim (CAZ), trimethoprim (STX), ampicillin (AMP), ciprofloxacin (CIP), imipenem (IPM), amikasin (AK), aztreonam (ATM), gentamisin (CN), norfloxacin (NOR), dan colistin sulfat (CT). Cakram antimikroba diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi suspensi bakteri. Zona jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antimikroba permukaan media agar. Zona yang terbentuk diukur dan dicatat untuk kemudian diinterpretasikan berdasarkan CLSI.

e. Pemeriksaan Mikroskopik Parasit

Spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan mikroskopik parasit yaitu spesimen feses yang telah ditambahkan dengan formalin. Semua spesimen tinja diidentifikasi secara mikroskopis. Hapusan langsung dari feses digunakan untuk mengidentifikasi leukosit yang terdapat pada feses. Untuk identifikasi *Cryptosporidium* menggunakan modifikasi pewarnaan Kinyoun. Feses yang telah ditambahkan formalin diwarnai dengan menggunakan larutan lugol's 2% dan diamati dengan mikroskop cahaya untuk melihat ada tidaknya parasit. Jenis parasit yang biasanya terdapat pada spesimen feses dari penderita diare antara lain *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cyclospora* dan *Cryptosporidium*.³³

f. Deteksi Bakteri dan Virus dengan PCR Multipleks

Diare karena infeksi bakteri dan virus dapat berupa infeksi dari beberapa jenis bakteri dan virus. Tidak semua bakteri dapat diidentifikasi dengan kultur karena jarak anantara pengambilan spesimen dan inokulasi pada media kultur yang terlalu lama. Oleh karena itu untuk mendapatkan data bakteri patogen penyebab diare dilakukan teknik biologi molekuler yaitu PCR multipleks. Dengan metode ini akan kita akan dapatkan data bakteri dan virus.

g. Deteksi *Escherichia coli* dengan PCR

Deteksi dan identifikasi *diarrheagenic E.coli* dapat dilakukan secara konvensional maupun PCR. Pada penelitian ini identifikasi dilakukan dengan metode PCR multipleks menggunakan 9 pasang primer yang dibagi dalam 2 tahap, yaitu 7 pasang primer PCR pada tahap pertama dan 2 pasang primer PCR pada tahap ke-2. Tahap pertama dilakukan terhadap seluruh spesimen, sedangkan tahap ke-2 dilakukan terhadap spesimen dengan hasil EPEC/EHEC pada tahap pertama.

h. Deteksi Rotavirus

Metoda yang digunakan untuk pemeriksaan adalah pemeriksaan secara genetika menggunakan metoda *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dan sekuensing. Ekstraksi *Ribonucleic Acid* (RNA) dari total 400 spesimen tinja dan usap rektal yang diperoleh di dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *PowerPrep™ DNA/RNA Extraction Kit* (Kogene, Korea) sesuai dengan protokol perusahaan tersebut. RNA yang diperoleh kemudian diperbanyak dengan menggunakan primer spesifik gen G (VP7) dan gen P (VP4) dengan menggunakan *SuperScript® III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq High Fidelity DNA Polymerase* (Invitrogen, USA).

3.9. Analisis Data

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif bivariat dengan uji ANOVA terhadap penyebab dan faktor risiko yang mempengaruhi kejadian diare pada anak balita. Seluruh data akan disimpan di Badan Litbangkes RI serta dijaga kerahasiaannya.

3.10. Pertimbangan Izin dan Etik Penelitian

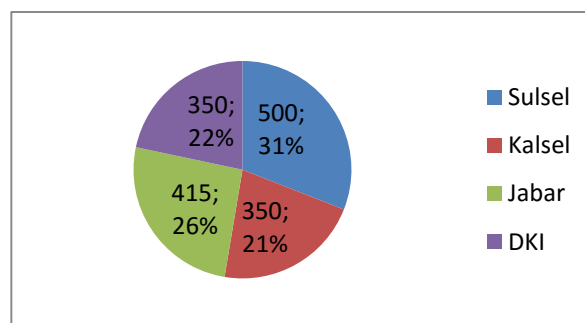
Perizinan untuk pelaksanaan penelitian telah diperoleh dari Kementerian Dalam Negeri. Sedangkan persetujuan etik diberikan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

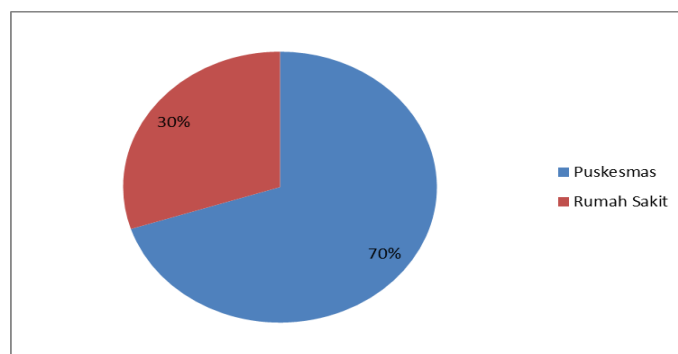
4.1. Sampel

Responden yang menjadi populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah balita dengan diare yang berobat atau dirawat di rumah sakit atau puskesmas. Selama rentang waktu pengumpulan sampel dari Juni sampai Desember 2015, terkumpul sampel sebanyak 1424 responden (71,2%) dari target penelitian sebanyak 2000 responden. Distribusi sampel berdasarkan Provinsi/lokasi puskesmas dan rumah sakit dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Distribusi proporsi sampel berdasarkan provinsi

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa responden yang berhasil dikumpulkan paling banyak berasal dari Propinsi Sulawesi Selatan disusul Jawa Barat, Kalimantan Selatan dan DKI Jakarta. Distribusi sampel berdasarkan jenis tempat pelayanan kesehatan yang dikunjungi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Distribusi sampel berdasarkan tempat pelayanan kesehatan

Gambar 4.2. menunjukkan bahwa jumlah sampel yang dikumpulkan dari puskesmas lebih banyak dari rumah sakit.

Kejadian diare dan berat ringannya penyakit ini bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor usia dan jenis kelamin. Pengelompokan responden berdasarkan umur dan jenis kelamin responden dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Karakteristik responden berdasarkan umur dan jenis kelamin.

Umur/Jenis Kelamin	Jumlah	%
Umur		
1-12 bulan	508	36
13-24 bulan	494	35
25-36 bulan	252	18
37-48 bulan	115	0,8
49-60 bulan	56	0,4
Jenis Kelamin		
Laki-laki	833	58,5
Perempuan	581	41,5

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa responden yang berhasil dikumpulkan paling banyak (Modus) berjenis kelamin laki-laki dan berusia antara 1-2 bulan.

4.2. Riwayat Penyakit dan Pengobatan

Salah satu faktor yang mempengaruhi prognosis penyakit diare adalah lamanya menderita sakit, selain berat atau ringannya penyakit sebagaimana terlihat pada Tabel 4.2 dan Tabel 4.3.

Tabel 4.2. Riwayat penyakit berdasarkan lamanya responden menderita diare

Lama Diare	Jumlah	%
1 hari	427	30
2 hari	527	37
3 hari atau lebih	470	33

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa sebagian besar responden menderita diare selama 2 hari sebelum berkunjung ke puskesmas dan rumah sakit untuk melakukan pengobatan.

Berat ringannya diare dipengaruhi oleh derajat dehidrasi yang menyertai penyakit. Pengelompokan diare berdasarkan derajat dehidrasi yang dialami responden dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Derajat dehidrasi yang menyertai diare responden

Derajat Dehidrasi	Jumlah	%
Tidak Dehidrasi	345	24,2
Dehidrasi ringan-sedang	974	68,4
Dehidrasi berat	105	7,4

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa sebagian besar diare responden disertai dengan dehidrasi ringan sampai sedang. Diare seringkali disertai gejala lain yang dapat memperberat penyakit, diantaranya muntah dan demam. Persentase diare yang disertai muntah dan demam dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Persentase gejala muntah dan demam yang menyertai diare responden

Gejala Lain	Jumlah	%
Muntah		
Ya	678	47,6
Tidak	746	52,4
Demam		
Ya	801	56,2
Tidak	623	43,8

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa sebagian diare responden disertai dengan demam dan muntah. Responden yang menderita diare disertai dengan gejala muntah hampir setengahnya sedangkan responden yang menderita diare disertai dengan gejala demam lebih banyak dibandingkan dengan yang tidak disertai demam.

Identifikasi bakteri penyebab diare dilakukan dengan kultur dan PCR. Kemampuan *recovery* bakteri dipengaruhi oleh riwayat pemberian antibiotik sebagaimana terlihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Riwayat pemberian antibiotik responden sebelum berobat

Pemberian antibiotic	Jumlah	%
Ya	203	14,2
Tidak	1158	81,3
Tidak tahu	63	4,4

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa sebelum berkunjung ke rumah sakit atau puskesmas responden belum mendapatkan pengobatan berupa antibiotik.

4.3. Perilaku Sehat

Salah satu hal yang dapat mempengaruhi perilaku sehat individu maupun keluarga adalah tingkat pendidikan. Proporsi tingkat pendidikan orang tua responden dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6. Tingkat pendidikan orang tua

Pendidikan	Jumlah	%
Tidak sekolah	7	0,5
Tidak tamat SD	103	7,2
Tamat SD	262	18,4
Tamat SMP	400	28,1
Tamat SMA	560	39,3
Tamat PT	93	6,5

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa sebagian besar orang tua responden berpendidikan tamat SMA dan tamat SMP.

Prilaku individu dan keluarga yang dapat meningkatkan risiko terjadinya diare antara lain kebiasaan BAB dan penggunaan dot/empeng sebagaimana terlihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7. Perilaku individu dan keluarga yang meningkatkan risiko diare

Perilaku individu/keluarga	Jumlah	%
Kebiasaan BAB*		
Jamban	810	56,9
Kolam/sawah/selokan	20	1,4
Sungai/danau/laut	7	0,5
Lubang tanah	20	1,4
Lapangan/kebun	73	5,1
Lainnya	494	34,7
Penggunaan empeng**		
Ya	167	11,7
Tidak	1257	88,3

* Usia 2 tahun atau lebih

** Usia 2 tahun atau kurang

Tabel 4.7. menunjukkan bahwa sebagian besar individu berusia 2 tahun atau lebih BAB di jamban dan sebagian besar keluarga tidak memberikan empeng pada responden.

4. 4. Pemeriksaan Laboratorium

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi mikroorganisme penyebab diare pada spesimen klinis yang diambil dari responden, meliputi usap dubur dalam Carry-Blair, usap dubur dalam PBS, Tinja dalam formalin, dan tinja tanpa formalin. Sejumlah spesimen klinis yang berhasil dikumpulkan dari 1424 responden untuk berbagai kepentingan pemeriksaan laboratorium dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Jumlah spesimen klinis yang berhasil dikumpulkan dari responden

Jenis Spesimen	Jenis Pemeriksaan	Jumlah
Usap dubur dalam Carry-Blair	Kultur dan Resistensi bakteri, PCR <i>E. coli</i>	1424
Usap dubur dalam PBS	Diaregenik	1424
Tinja tanpa formalin	PCR bakteri dan virus*	928
Tinja dengan Formalin	Pemeriksaan parasite	496

*Bila tinja tanpa formalin tidak ada

Tabel 4.8 menunjukkan bahwa tidak semua jenis sampel berhasil dikumpulkan dari semua responden. Banyak responden yang tidak dapat dikumpulkan sampel fesesnya.

4.4.1. Kultur dan Resistensi Bakteri

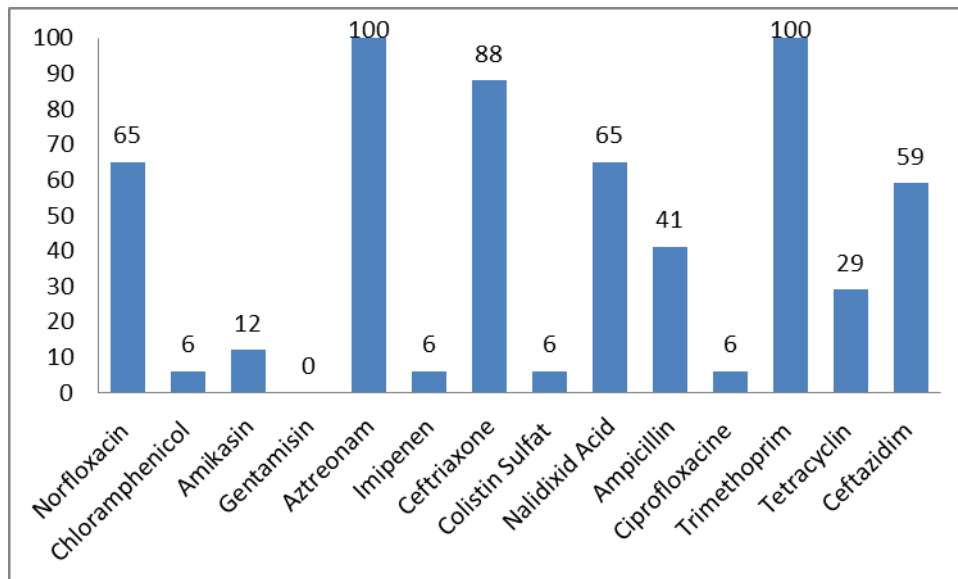
Sebanyak 1424 spesimen klinis (usap dubur dalam Carry-Blair) berhasil dikumpulkan dari semua responden. Dari jumlah tersebut teridentifikasi beberapa jenis bakteri penyebab diare sebagaimana terlihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9. Bakteri penyebab diare yang berhasil diidentifikasi pada spesimen klinis

Hasil Identifikasi	Jumlah
<i>Shigella flexneri</i>	7
<i>Shigella sonnei</i>	34
<i>Shigella boydii</i>	2
<i>Salmonella typhi</i>	2
<i>Salmonella enteridis</i>	22
<i>Salmonella group D</i>	12
<i>Salmonella group B</i>	28
<i>Salmonella group C2</i>	4
<i>Salmonella group E1</i>	10
<i>Campylobacter jejuni</i>	64
<i>Aeromonas hydrophila</i>	12
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2
Total	223

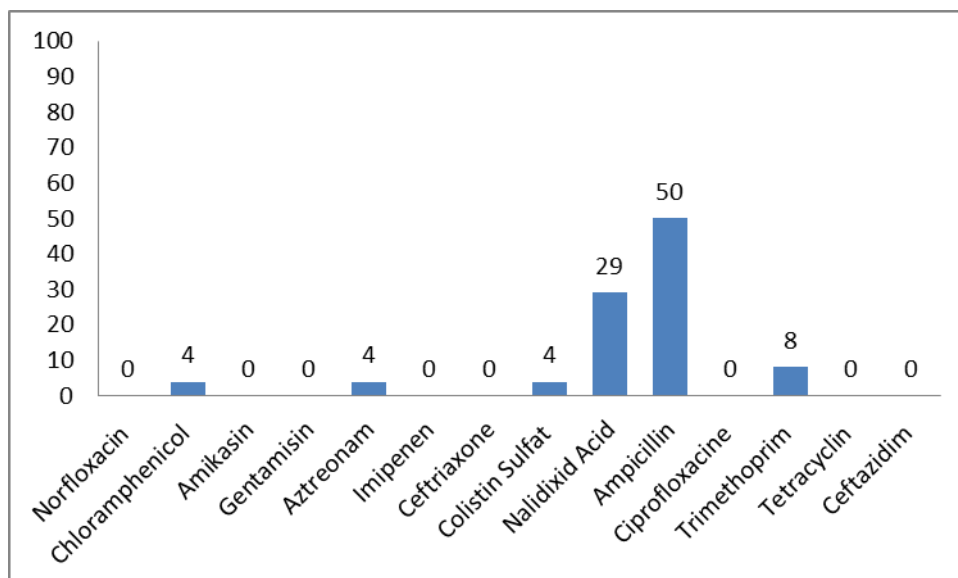
Tabel 4.9. menunjukkan bahwa 223 bakteri penyebab diare (15,6%) berhasil diidentifikasi dari 1424 spesimen klinis yang diperiksa, dengan jumlah terbanyak adalah *C. jejuni* dan jumlah paling sedikit adalah bakteri *Shigella boydii* dan *V. parahaemolyticus*.

Hasil uji resistensi *Campylobacter jejuni* (N=37) terhadap 14 macam antibiotik menunjukkan persentase resistensi bakteri *Campylobacter jejuni* sudah tinggi terhadap beberapa antibiotik seperti ciprofloxacin (65%), aztreonam (100%), ceftriaxone (88%), nalidixid acid (65), trimethoprim (100%), dan ceftazidim (59%)



Gambar 4.3. Hasil uji resistensi *Campylobacter jejuni* terhadap antibiotik

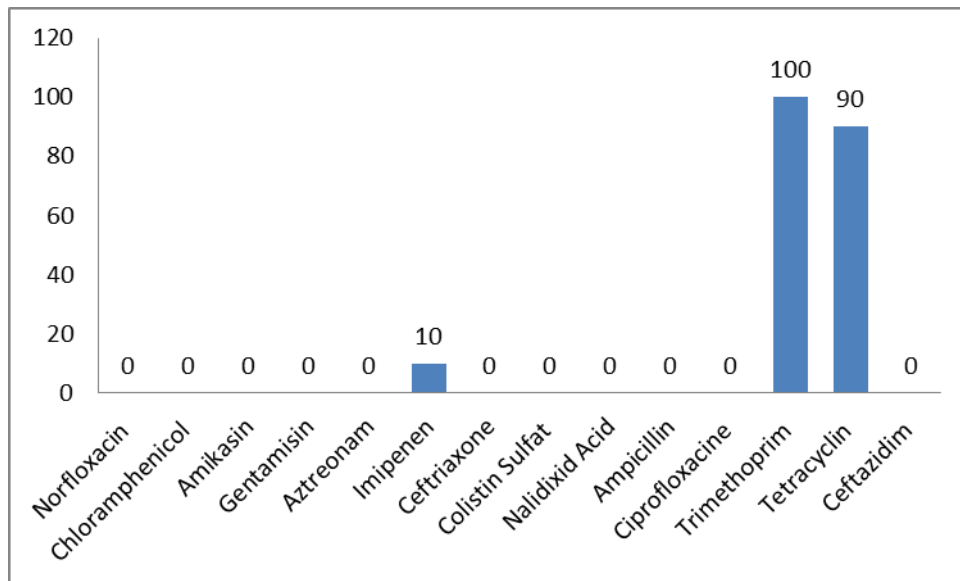
Berbeda dengan *Campylobacter jejuni*, hasil uji resistensi *Salmonella spp* (N=51) terhadap 14 macam antibiotik menunjukkan sebagian besar bakteri masih sensitif terhadap antibiotik yang digunakan dalam pengujian. Resistensi bakteri terhadap antibiotik yang cukup tinggi diperlihatkan pada hasil pengujian terhadap antibiotik nalidixid acid (29%) dan ampicillin (50%). Sementara terhadap antibiotik chloramphenicol (4%), Aztreonam (4%), Colistin Sulfat (4%), dan Trimethoprim (8%) sudah mulai resisten.



Gambar 4.4. Hasil uji resistensi *Salmonella spp* terhadap antibiotik

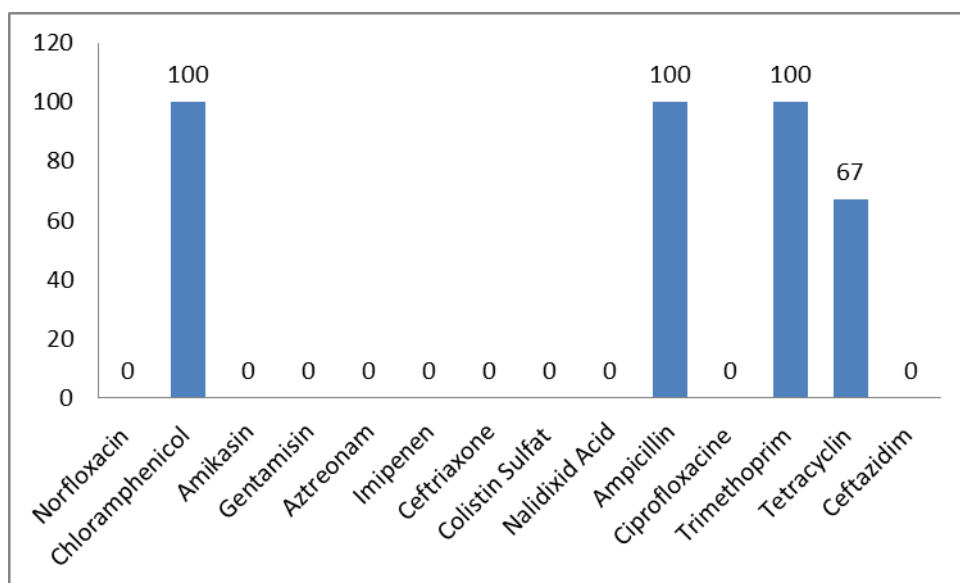
Resistensi yang cukup tinggi terlihat pada hasil uji resistensi *Shigella sonnei* (N=18) terhadap antibiotik Trimethoprim dan Tetracyclin. Sementara hasil uji resistensi

antibiotik lainnya terhadap *Shigella sonnei*, sebagian besar masih menunjukkan hasil yang sensitif terhadap antibiotik yang digunakan dalam pengujian.



Gambar 4.5. Hasil uji resistensi *Shigella sonnei* terhadap antibiotik

Sama halnya dengan *Shigella sonnei*, hasil uji resistensi antibiotik terhadap *Shigella flexneri* (N=7) juga masih menunjukkan bahwa bakteri ini masih sensitif terhadap sebagian besar antibiotik yang digunakan dalam pengujian. Resistensi yang cukup tinggi sudah terlihat pada hasil uji resistensi terhadap Chloramphenicol, Ampicillin, Trimethoprim dan Tetracyclin.



Gambar 4.6. Hasil uji resistensi *Shigella flexneri* terhadap antibiotik

4.4.2. Pemeriksaan Parasit

Parasit penyebab diare diidentifikasi dari 682 tinja dalam formalin yang berhasil dikumpulkan dari 1424 responden. Sejumlah parasit penyebab diare yang berhasil diidentifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10. Hasil pemeriksaan mikroskopik parasit

No.	Jenis Parasit	Jumlah (%)
1.	<i>Ascharis lumbrichoides</i>	0,35
2.	<i>Entamoeba coli</i>	1,73
3.	<i>Oxiuris vermicularis</i>	0,35
4.	<i>Blastosistis huminis</i>	12,46
5.	<i>Entamoeba coli</i> , <i>Blastosistis huminis</i>	1,73
6.	<i>Endolomax nana</i> , <i>Blastosistis huminis</i>	0,35
7.	<i>Entamoeba coli</i> , <i>Blastosistis huminis</i> , <i>Ascaris lumbricodes</i>	0,35
8.	<i>Entamoeba coli</i> , <i>Blastosistis huminis</i> , <i>Hookworm</i>	0,35

4.4.3. Pemeriksaan PCR Bakteri dan Virus

Selain identifikasi dengan metode kultur, bakteri penyebab diare juga diidentifikasi dengan metode PCR. Metode PCR juga digunakan untuk identifikasi virus penyebab diare pada spesimen klinis (tinja tanpa formalin atau usap dubur dalam PBS). Beberapa jenis bakteri penyebab diare yang teridentifikasi pada spesimen klinis dengan metode PCR dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11. Bakteri penyebab diare yang teridentifikasi dengan metode PCR

No.	Nama Bakteri	Jumlah (%)
1.	<i>Clostridium difficile</i> toxin	2,4
2.	<i>Salmonella</i> spp	1,3
3.	<i>Shigella</i> spp	18,8
4.	<i>Campylobacter</i> spp	15,2
5.	<i>Clostridium perfringens</i>	3,9
6.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	0
7.	E.coli, O157: H7	1,5
8.	Verocytotoxin producing E.coli	0,4
9.	<i>Aeromonas</i> spp	23

Tabel 4.11 menunjukkan bahwa bakteri penyebab diare yang paling banyak terdeteksi pada spsesimen klinis dengan metode PCR adalah *Shigella* spp. Pada penelitian ini tidak teridentifikasi adanya *Y. enterocolitica*.

Virus penyebab diare yang terdeteksi pada spesimen klinis dapat dilihat pada Tabel 4.12.

Tabel 4.12. Virus penyebab diare yang teridentifikasi dengan metode PCR

No.	Nama Virus	Jumlah (%)
1.	Astrovirus	8
2.	Rotavirus Group A	12,8
3.	Adenovirus	1,7
4.	Norovirus G1	1,7
5.	Norovirus GII	18

Tabel 4.12 menunjukkan bahwa virus penyebab diare yang paliing banyak terdeteksi pada spesimen klinis dengan metode PCR adalah Rotavirus Gorup A.

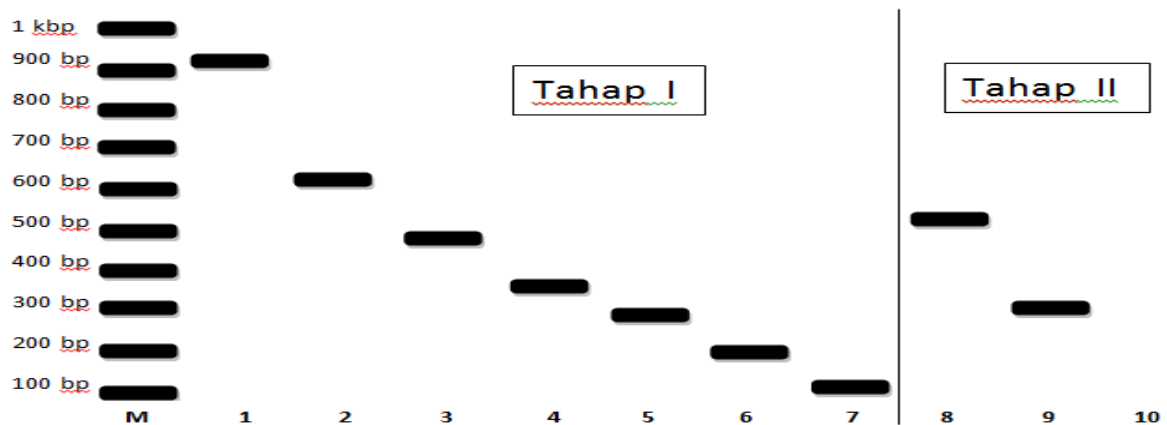
4.4.4. Pemeriksaan PCR *E. coli* Diaregenik

Salah satu pemeriksaan yang dikembangkan dalam penelitian ini adalah identifikasi *E. coli diaregenik* dengan metode PCR multipleks. Sampel pemeriksaan berupa isolate bakteri dari kultur positif *E.coli* yang ditumbuhkan dari.... sampel klinis (usap dubur dalam Carry-Blair). Primer PCR yang digunakan terdiri dari beberapa pasang sebagaimana terlihat pada Tabel 4.13.

Tabel 4.13. Sekuens primer untuk deteksi *E.coli* diaregenik

<u>Sekuens</u>	<u>Gen Target</u>	<u>Bakteri Target</u>	<u>Referensi</u>
GGAAGTCAAATTCATGGGGGTAT GGAATCAGACGCAGACTGGTAGT	<u>bfp</u>	EPEC <u>tipikal</u>	Tobias, et.al
TCAATGCAGTTCCGTTATCAGTT GTAAAGTCCGTTACCCCAACCTG	<u>eae</u>	EPEC+EHEC	Tobias, et.al
ACGGCGTTACTATCCTCTC TGGTCTCGGTCAGATATGTG	LT	ETEC LT	Tobias, et.al
CTGGCGAAAGACTGTATCAT AAATGTATAGAAATCCGCTGT	PCVD432	EAEC	Tobias, et.al
TCTTTCCCTCTTTTAGTCAG ACAGGCAGGATTACAACAAAG	<u>stx</u>	ETEC STP	Tobias, et.al
TTCACCTTTCCCTCAGGATG CTATTCATGCTTTCAGGACCA	<u>sth</u>	ETEC STH	Tobias, et.al
GAGCGAAATAATTTATATGTG TGATGATGGCAATTCAGTAT	<u>Stx 1-2</u>	EHEC	Tobias, et.al
CTC GGCACG TTT TAA TAG TCT GG GTG GAG AGCTGA AGT TTC TCT GC	<u>ipaH</u>	EIEC	Vidal, et al
GAA CGT TGG TTA ATG TGG GGT AA TAT TCA CCG GTC GGT TAT CAG T	<u>daaE</u>	DAEC	<u>Penelitian ini</u>

Sembilan pasang primer PCR tersebut dapat digunakan untuk identifikasi 10 tipe patogenisitas (phatotype) bakteri sesuai dengan pola pembacaan seperti terlihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7.

Pola hasil pemeriksaan PCR Multipleks diarreagenic *E.coli*: Marker (M), EIEC 933 bp (1), EAEC 630 bp (2), EHEC/EPEC 482 bp (3), DAEC 352 bp (4), ETEC LT 273 bp (5), ETEC STP 166 bp (6), ETEC STH (7), EHEC 518 bp (8), EPEC tipikal 300 bp (9), dan EPEC atipikal tidak ada pita (10).

Tabel 4.14 menunjukkan bahwa *diarrheagenic E.coli* yang ditemukan dalam kasus diare pada balita di Indonesia didominasi oleh *phatotype* EAEC (43%) diikuti dengan ETEC dan EPEC. Pada 9% sampel terdapat lebih dari 1 jenis *phatotype*. Pola ini relatif sama diantara masing-masing provinsi di Indonesia yang menjadi tempat penelitian. Sementara itu *phatotype* EHEC dan EPEC tipikal sama sekali tidak ditemukan dalam penelitian ini.

Tabel 4.14. Hasil identifikasi E.coli dengan PCR multipleks

Phatotype	Jumlah (%)
EAEC	43
EIEC	2
EPEC	20
EHEC	0
ETEC	33
DAEC	2

4.4.5. Genotyping Rotavirus

Genotyping Rotavirus dilakukan pada 623 sampel dengan positif Rotavirus yang terdeteksi pada pemeriksaan PCR spesimen klinis. Hasil genotyping Rotavirus dapat dilihat pada Tabel 4.15 yang menunjukkan bahwa Rotavirus penyebab diare pada balita (responden) yang paling banyak adalah tipe G1P4.

Total 190 spesimen tinja dan usap rektal diperoleh dari sentinel Rumah Sakit (RS) dan Puskesmas di Indonesia. Hasil analisis genetika secara keseluruhan dengan menggunakan metode RT-PCR didapat total 165 (86%) spesimen yang memberikan hasil positif terhadap Rotavirus. Sedangkan hasil analisis distribusi dan frekuensi genotipe secara rinci dapat dilihat di tabel 1.

Tabel 4.15. Analisa distribusi dan frekuensi Rotavirus Genotipe G dan P di Indonesia

Genotipe	G1	G2	G4	G1G2	G1G4	Neg	Non typeable	Total
P4	11	1	1	0	4	1	0	18
P6	6	0	3	0	2	6	0	17
P8	1	1	0	0	0	0	0	2
P9	7	3	5	0	1	2	0	18
Neg	17	7	23	0	0	25	21	93
Non typeable	22	2	2	1	3	3	9	42
Total	64	14	34	1	10	37	30	190

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Rekrutmen Responden dan Spesimen

Pengumpulan data dilakukan di 4 provinsi yaitu DKI Jakarta, Jawa Barat, Sulawesi Selatan, dan Kalimantan Selatan. Penentuan tiga provinsi yaitu DKI Jakarta, Jawa Barat dan Sulawesi Selatan dipilih diantara 10 provinsi yang mempunyai angka insiden diare tertinggi pada balita berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2013. Sedangkan satu provinsi dipilih berdasarkan pemanfaatan air sungai oleh penduduk yang masih tinggi. Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2013, sebanyak 24,9% rumah tangga di Kalimantan Selatan menggunakan air sungai untuk keperluan rumah tangga dan merupakan persentase tertinggi di Indonesia.

Responden yang terlibat dalam penelitian ini adalah anak usia 1 bulan sampai 5 tahun (balita) yang menderita diare dan datang berobat ke fasilitas kesehatan baik instalasi gawat darurat (IGD) dan poliklinik rumah sakit serta puskesmas. Diagnosis diare ditegakkan oleh dokter yang bertanggung jawab di pelayanan pasien dan telah mengikuti pelatihan sebelumnya. Proses permintaan persetujuan setelah penjelasan (PSP), pengisian formulir kunjungan yang terdiri dari formulir kunjungan klinis dan kunjungan 30 hari, serta pengambilan sampel juga dilakukan oleh petugas medis yang telah diberikan pelatihan sebelumnya. Penentuan responden dipisahkan menurut kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Responden yang telah memenuhi kriteria inklusi dimintakan persetujuan kepada orang tua atau keluarga balita untuk berpartisipasi dalam penelitian dengan menandatangani formulir *informed consent/ PSP*.

Pada awalnya penelitian tahun 2015 ini menargetkan untuk dapat mengumpulkan data sebanyak 2000 responden yang dikumpulkan dari 4 provinsi (DKI Jakarta, Jawa Barat, Kalimantan Selatan, Sulawesi Selatan). Untuk distribusi pengumpulan sampel, dari setiap provinsi ditentukan 2 rumah sakit dan 2 puskesmas sebagai tempat pengumpulan data. Penentuan rumah sakit dan puskesmas dilakukan dengan mengikuti dinas kesehatan provinsi dan kabupaten/ kota dengan memperhatikan laporan kejadian diare pada tahun terakhir dari setiap rumah sakit dan puskesmas di provinsi masing-masing.

Pengumpulan data terdiri dari pengisian formulir kunjungan klinis dan formulir kunjungan 30 hari yang dikumpulkan melalui metoda wawancara dan observasi tempat tinggal responden serta pengambilan spesimen usap rektal dan feses. Data yang digali melalui formulir kunjungan klinis meliputi: informasi tempat perawatan yang terdiri dari

puskesmas atau rumah sakit, informasi responden, status kunjungan pra klinis, riwayat imunisasi, gejala klinis pada saat kunjungan, tingkat keparahan diare, penatalaksanaan yang diberikan, serta perilaku higienis ibu atau perawat responden. Sementara itu, formulir kunjungan 30 hari menggali informasi kejadian diare berulang, perawatan responden selama diare dan kondisi lingkungan tempat tinggal responden.

Data yang telah berhasil dikumpulkan sampai pembuatan laporan sebanyak 1424 responden. Jumlah ini masih kurang dari yang ditargetkan sebanyak 2000 responden. Data yang dikirimkan meliputi formulir kunjungan klinis, formulir kunjungan 30 hari, spesimen usap rektal (carry blair dan PCS) dan spesimen feses (dengan dan tanpa formalin). Beberapa spesimen feses tidak bisa dikumpulkan bersamaan dengan spesimen usap rektal sehingga terdapat perbedaan jumlah antara spesimen feses dengan usap rektal. Dilihat dari karakteristiknya, terdapat beberapa responden yang dikirimkan datanya ke Laboratorium Bakteriologi PBTDK yang merupakan anak-anak dengan usia lebih dari 5 tahun, bahkan terdapat juga responden dengan usia kurang dari 1 bulan. Oleh karena itu responden tersebut diekskusi dan diganti dengan responden yang baru.

Beberapa kendala menjadi penyebab belum tercapainya spesimen yang ditargetkan. Permasalahan yang sangat berpengaruh adalah terlambatnya waktu untuk memulai pengumpulan data. Waktu untuk memulai pengumpulan data mundur cukup jauh bila dibandingkan dengan perencanaan awal. Mundurnya waktu pelaksanaan diakibatkan adanya efisiensi anggaran yang berdampak pada perubahan tempat pengumpulan data untuk mengurangi biaya perjalanan dinas yang diikuti dengan perubahan protokol penelitian serta perubahan anggaran. Perubahan anggaran membutuhkan waktu yang cukup lama sampai dana siap untuk digunakan dalam kegiatan penelitian.

Tidak semua responden dapat diambil spesimen fesesnya. Dari 1424 responden, sebanyak 55% spesimen yang dikirimkan ke Laboratorium Bakteriologi PBTDK hanya terdiri dari usap rektal tanpa menyertakan spesimen feses. Banyak responden yang ketika datang ke puskesmas atau rumah sakit sedang tidak mengeluarkan diare. Untuk responden yang datang ke puskesmas yang tidak dirawat inap, lebih sulit untuk mendapatkan spesimen feses karena waktu responden ketika berada di fasilitas layanan kesehatan sangat terbatas. Berbeda dengan responden yang datang dan dilakukan rawat inap di rumah sakit, waktu untuk mendapatkan spesimen feses lebih banyak sehingga spesimen responden dari rumah sakit lebih banyak yang lengkap. Beberapa responden yang datang ke fasilitas layanan kesehatan terkadang juga sudah mendapatkan pengobatan sebelumnya yang menyebabkan diarenya sudah berkurang, sehingga saat melakukan kunjungan ke fasilitas

layanan kesehatan untuk mendapatkan pengobatan lebih lanjut, spesimen feses yang diharapkan untuk menjadi spesimen penelitian sulit didapatkan.

Lokasi pengumpulan data yang telah ditetapkan masing-masing provinsi dengan 2 rumah sakit dan 2 puskesmas mengalami perubahan. Pada pelaksanaan penelitian terdapat satu rumah sakit di Provinsi Jawa Barat yang mengundurkan diri yaitu RSUD Ciawi karena permasalahan teknis. Berdasarkan kesepakatan dan pengarahan dari Dinas Kesehatan Kabupaten Bogor, untuk dapat mencapai spesimen yang ditargetkan, maka spesimen yang awalnya akan dikumpulkan dari RSUD Ciawi dialihkan dan dibagi rata ke 3 tempat penelitian lainnya, yaitu RSUD Cibinong, Puskesmas Kecamatan Cibinong (Cirimekar) dan Puskesmas Ciawi. Pembagian target spesimen yang awalnya masing-masing rumah sakit dan puskesmas di setiap provinsi adalah 125, pada pelaksanaannya juga mengalami perubahan. Responden yang datang untuk berobat ke rumah sakit lebih sedikit dibandingkan dengan puskesmas, sehingga jumlah yang tercapai dari rumah sakit lebih sedikit. Untuk mempercepat pencapaian spesimen maka sebagian spesimen yang seharusnya dikumpulkan di rumah sakit dialihkan ke puskesmas.

5.2. Data Formulir Kunjungan Klinis dan 30 Hari

Pengumpulan data dilakukan salah satunya dengan mengisi formulir kunjungan klinis dan formulir kunjungan 30 melalui proses wawancara dan observasi ke tempat tinggal responden. Formulir kunjungan klinis diisi ketika responden melakukan kunjungan di layanan kesehatan sedangkan formulir 30 hari dilakukan kurang lebih 30 hari setelah responden melakukan kunjungan di layanan kesehatan. Kunjungan 30 hari dimaksudkan untuk melihat adanya diare berulang serta melakukan observasi terhadap lingkungan tempat tinggal responden. Lingkungan tempat tinggal dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi kejadian diare pada balita.

Pada tahap awal pengiriman, formulir kunjungan klinis dikirimkan bersamaan dengan spesimen. Berdasarkan proses editing yang dilakukan, banyak cara pengisian formulir yang masih belum sesuai prosedur yang telah ditetapkan. Kesalahan meliputi cara pengisian yang masih keliru, informasi dalam formulir juga banyak yang terlewat dan belum terisi. Pengisian formulir yang seharusnya adalah dilingkari pilihan yang ada kemudian pilihan dipindahkan ke kotak yang tersedia. Namun terkadang pengisian oleh petugas hanya menuliskan pilihan langsung pada kotak yang tersedia tanpa melingkari pilihannya. Pengisian formulir juga terkadang dilakukan hanya melingkari pilihan yang ada tanpa memindah pilihan ke kotak yang ada di sebelah kanan. Untuk mengatasi ini

dikomunikasikan kembali ke tim di daerah untuk dilakukan koreksi, agar pengisian berikutnya sesuai pedoman pelatihan. Sampai dengan proses pembuatan laporan, formulir kunjungan klinis yang telah terkumpul di Laboratorium Bakteriologi PBTDK sejumlah 1424. Formulir kunjungan 30 hari belum diterima semua karena proses kunjungan 30 hari masih berlangsung atau kunjungan ke tempat tinggal responden masih terjadwalkan. Ketika semua formulir kunjungan klinis dan spesimen telah dikirimkan, proses kunjungan 30 hari masih harus menunggu sekitar 30 hari setelah kunjungan klinis. Setelah terisi lengkap formulir kunjungan 30 hari kemudian dikirimkan Laboratorium Bakteriologi PBTDK.

Petugas yang bertanggung jawab untuk mengumpulkan data pada formulir kunjungan klinis dan kunjungan 30 hari adalah orang yang telah mengikuti pelatihan yang diberikan oleh tim peneliti dari PBTDK. Karena keterbatasan waktu kerja tim yang bertugas di rumah sakit, terkadang ketika ada kunjungan pasien balita diare sering terlewat saat yang bertugas saat itu bukan salah satu dari tim penelitian. Untuk mengoptimalkan menangkap responden dengan diagnosis diare, maka diperlukan koordinasi dan komunikasi antara petugas yang telah dilatih dengan petugas yang belum dilatih. Petugas yang telah dilatih harus memberikan informasi dan pemahaman kepada petugas yang lain terkait dengan teknis pengumpulan data. Dengan pengalihan tanggung jawab kepada petugas yang lain akan lebih memaksimalkan dalam pengumpulan data.

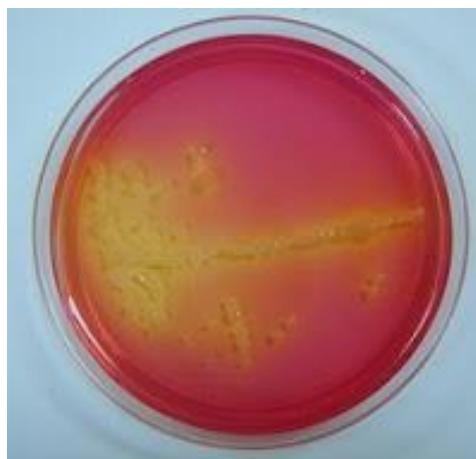
5.3. Pemeriksaan Bakteri dengan Metode Konvensional

Pemeriksaan bakteri dilakukan dengan metode konvensional dan molekuler. Metode konvensional yang juga sebagai baku emas untuk pemeriksaan bakteri dilakukan dengan kultur dan uji biokimia. Kultur bakteri ditujukan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Vibrio cholera*, dan *Campylobacter spp*. Untuk kultur *Salmonella spp* dan *Shigella spp* digunakan media *Mac Conkey Agar* (MCA), *Samonella Shigella Agar* (SSA), *Xylose Lysine Deoxycholate Agar* (XLD), *Selenite agar*, *Kligler iron agar* (KIA), *Motility test medium/ Sucrose semi solid* (SSS), *Motility indole Ornithine* (MIO), *Lysine*, *Arginin* dan *Ornithine*.

Mac Conkey Agar (MCA) merupakan media untuk menumbuhkan bermacam-macam bakteri khususnya untuk bakteri Gram negatif basil seperti *Salmonella*, *Shigella*, *Hidrocolera*, *E.Coli*. Pertumbuhan *Salmonella spp* dan *Shigella spp* pada media Mac Conkey Agar berupa koloni yang tidak berwarna dan tidak meragi laktosa. Untuk menumbuhkan bakteri *Salmonella sp* dan *Shigella sp*, digunakan media SSA, karena media

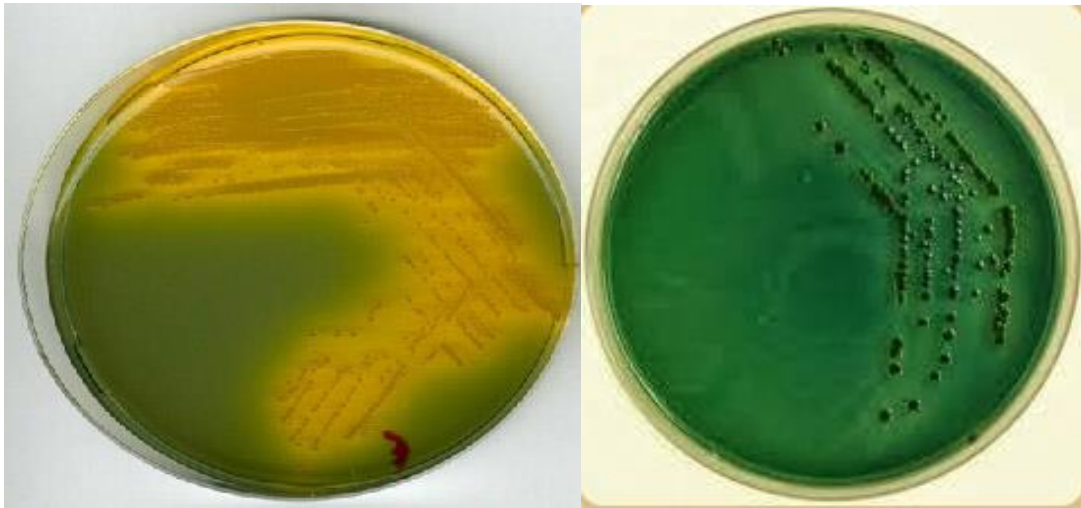
ini merupakan media selektif dengan media yang kompleks dan selektif terhadap bakteri tertentu. *Salmonella sp* dan *Shigella sp* akan tumbuh baik pada media SSA dengan bentuk koloni yang kecil-kecil dan transparan. Media XLD merupakan media selektif dan diferensial untuk bakteri enterobacteriaceae khususnya *Salmonella sp* dan *Shigella sp*. Media XLD dapat dikombinasikan dengan media pengaya untuk mendapatkan hasil isolasi yang lebih baik.

Pada pH ini kuman *Salmonella* menghasilkan H₂S yang akan mereduksi tiosulfat dan besi dengan membentuk warna hitam pada koloni. Natrium deoksikolat akan menghambat bakteri Gram (+) dan bakteri gram (-) non enteric. Agar Selenit adalah media pengaya untuk bakteri *Salmonella sp*. Sodium Selenite akan menghambat bakteri gram positif dan menekan pertumbuhan bakteri enteric gram-negatif yang paling lain selain *Salmonella*. Untuk dapat mengidentifikasi Enterobacteriaceae digunakan media KIA. Media ini digunakan untuk menguji adanya H₂S, fermentasi karbohidrat, dan gas.



Gambar 5.1. Pertumbuhan bakteri pada media SSA

Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose agar (TCBS) digunakan untuk mengisolasi dan media pertumbuhan selektif dari *Vibrio cholerae* dan *vibrio enteropathogenic* yang lain. *Vibrio* tumbuh baik pada medium selektif agar *thiosulphate citrate bile sucrose* (TCBS) dan menghasilkan koloni berwarna kuning karena kemampuannya meragi sukrosa. Air Alkaline Peptone (APW) dapat digunakan untuk media pengayaan spesies *Vibrio* dari spesimen klinis tinja dan lainnya. Pada media agar TCBS koloni *Vibrio cholerae* berwarna kuning, sedangkan *Vibrio parahaemolyticus* membentuk koloni besar dan smooth berwarna hijau.



Gambar 5.2. Koloni *Vibrio cholera* dan *Vibrio parahaemolyticus* pada medium agar TCBS

Isolasi bakteri *Campylobacter spp* dilakukan salah satunya dengan menggunakan media Campy Blood-Free Selective Medium agar (CCDA). Diperlukan perbenihan selektif dan inkubasi harus dilakukan dalam kondisi O₂ yang lebih rendah (5%) dan lebih banyak CO₂ (10%). Suatu cara yang mudah untuk mendapatkan lingkungan inkubasi ini adalah dengan menempatkan lempeng pada inkubator anaerob tanpa katalis, dan memberi gas dengan pembangkit gas atau penukaran gas. Inkubasi lempeng pertama harus dilakukan pada suhu 42-43°C. Meskipun *Campylobacter jejuni* tumbuh baik pada suhu 36-37°C, inkubasi pada suhu 42°C akan menghambat pertumbuhan banyak bakteri lainnya yang ada dalam feses, sehingga akan memudahkan identifikasi *Campylobacter jejuni*.



Gambar 5.3. Pertumbuhan bakteri pada media CCDA agar

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri melalui sifat-sifat fisiologinya. Ciri fisiologi ataupun biokimia merupakan kriteria yang amat penting di dalam identifikasi bakteri yang tidak dikenal karena secara morfologis biakan bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis yang memadai mengenai kandungan organik yang diperiksa maka penentuan spesiesnya tidak mungkin dilakukan.

Karakterisasi dan klasifikasi bakteri berdasarkan pada reaksi enzimatik maupun biokimia. Mikroorganisme dapat tumbuh pada beberapa tipe media yang memproduksi tipe metabolit yang dapat dideteksi dengan reaksi antara mikroorganisme dengan reagen test yang dapat menghasilkan perubahan warna reagen.

Uji biokimia yang dilakukan dalam penelitian ini dengan menggunakan media berdasarkan fermentasi karbohidrat dan protein, yaitu KIA, MIO, SSS, LAO, Citrat, dan Hippurat. Setiap bakteri memiliki karakteristik biokimia yang berbeda, sehingga hal ini dijadikan dasar identifikasi. Khusus untuk identifikasi *Salmonella* dan *Shigella* dilakukan juga uji serologi aglutinasi untuk menentukan Group dan spesies.



Gambar 5.4. Uji biokimia bakteri

Setelah melalui proses kultur pada beberapa media agar dan juga perlakuan uji biokimia, dari spesimen yang terkumpul dan telah dilakukan identifikasi berhasil didapatkan isolat bakteri-bakteri yaitu *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteridis*, *Salmonella group D*, *Salmonella group B*, *Salmonella group C2*, *Salmonella group E1*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, dan *Vibrio parahaemolyticus*.

Keberhasilan isolasi bakteri patogen pada pemeriksaan mikrobiologi didukung beberapa faktor, antara lain yaitu fase preanalitik, analitik, maupun post analitik. Pada penelitian ini hanya sedikit bakteri yang berhasil diisolasi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya permasalahan pada fase preanalitik spesimen yaitu proses rekrutmen responden, pengambilan dan pengiriman spesimen.

Pada penelitian ini terdapat beberapa permasalahan pengambilan spesimen salah satunya beberapa spesimen yang ditumbuhkan tidak mengandung E.coli. Hal ini kemungkinan disebabkan proses pengambilan usap rektal hanya pada permukaan sphincter ani, namun tidak masuk ke rektum. Oleh karena itu untuk mengatasi hal ini dibutuhkan pelatihan cara pengambilan spesimen yang baik disertai dengan praktek langsung pada pasien dengan diare.

Faktor rekrutmen responden juga turut mempengaruhi. Untuk pemeriksaan mikrobiologi, sebaiknya pengambilan spesimen dilakukan minimal 2 hari sebelum antibiotik diberikan. Namun kriteria ini sulit dipenuhi untuk responden yang sebelumnya telah dirawat di RS. Pengambilan spesimen pada pasien yang telah diberi antibiotik akan memperkecil kemungkinan tumbuhnya bakteri patogen.

Spesimen yang telah diperoleh harus segera dimasukkan ke dalam media transport cary blair kemudian disimpan dalam suhu 2-4°C. Setelah spesimen diperoleh sebaiknya segera dikirim ke laboratorium mikrobiologi untuk dilakukan pemeriksaan. Waktu optimal kultur adalah dalam 2 jam apabila tanpa menggunakan media transport. Apabila menggunakan media transport spesimen sebaiknya diperiksa dalam 2 hari. Hal ini sulit dipenuhi apabila spesimen berasal dari propinsi yang memerlukan waktu pengiriman lebih dari satu hari, seperti Kalimantan Selatan dan Sulawesi Selatan.

Selain itu terdapat pendapat yang keliru dari petugas pengambil spesimen yang berpendapat spesimen lebih baik dikirimkan dalam jumlah banyak sekaligus daripada harus mengirim hanya satu atau dua spesimen untuk mempermudah pengemasan spesimen dan menekan biaya pengiriman. Hal ini tentunya menyebabkan spesimen yang tiba di laboratorium tidak lagi dalam keadaan segar dan layak kultur. Beberapa kasus ditemukan spesimen telah tersimpan lebih dari 1 minggu di daerah sebelum dikirimkan ke laboratorium Bakteriologi.

Faktor suhu saat pengiriman juga menjadi hal yang penting untuk diperhatikan. Selama proses pengiriman diharapkan spesimen dalam keadaan dingin dengan suhu cool box 2-4°C. Namun hal ini sering sekali sulit terpenuhi sehingga spesimen sampai ke laboratorium sudah dalam keadaan hangat, bahkan beberapa media transport yang sudah

diterima yang seharusnya agar padat telah mencair. Beberapa hal yang menyebabkan hal tersebut karena :

Coolpack yang digunakan untuk mengirimkan spesimen tidak terlalu beku sebelum digunakan. Sebaiknya coolpack atau ice gel pack dibekukan seminggu sebelumnya sebelum digunakan. Jumlah coolpack yang digunakan juga turut mempengaruhi, namun dalam penelitian ini jumlah coolpack yang dikirimkan daerah sudah mencukupi. Proses pengiriman yang memakan waktu lebih dari satu hari. Hal ini mengakibatkan coolpack yang digunakan mencair.

Permasalahan pada fase pre analitik terjadi juga dalam penelitian ini. Spesimen yang tiba pada hari Jum'at sore akan sulit dikerjakan karena tidak dialokasikan dana lembur pada penelitian ini. Hal ini tentunya akan memperpanjang masa pengambilan spesimen hingga pemeriksaan.

Pada penelitian ini terkadang ditemukan spesimen dikirim dalam keadaan beku. Hal ini beberapa kali ditemukan pada spesimen yang dikirim dari RS di Jakarta. Kondisi suhu yang tidak sesuai akan menyebabkan bakteri patogen menjadi mati sehingga tidak dapat dikultur kembali.

Tujuan penelitian untuk mengidentifikasi bakteri masih dapat tercapai dengan mendeteksi bakteri penyebab menggunakan multiplek PCR, namun informasi pola kepekaan akan sulit diperoleh karena hanya sedikit isolat bakteri yang dapat tumbuh. Permasalah-permasalahan di atas dapat diatasi dengan pelatihan dan komunikasi yang baik serta melibatkan laboratorium pendukung mikrobiologi di daerah, sehingga proses isolasi dan identifikasi bakteri dapat dilakukan lebih cepat.

5.4. Resistensi Antibiotik

Bakteri yang berhasil diisolasi kemudian dilakukan pemeriksaan resistensi dengan metode cakram difusi Kirby Bauer terhadap 14 jenis antibiotika yaitu antibiotika nalidixid acid (NA), ceftriaxone (CRO), tetracyclin (TE), chloramphenicol (C), ceftazidim (CAZ), trimethoprim (STX), ampicillin (AMP), ciprofloxacin (CIP), imipenem (IPM), amikasin (AK), aztreonam (ATM), gentamisin (CN), norfloxacin (NOR), dan colistin sulfat (CT).



Gambar 5.5. Uji resistensi antibiotik metode disk diffusion

Uji resistensi bakteri terhadap antibiotik bertujuan untuk mengetahui efektivitas suatu antibiotik untuk pengobatan diare. Penggunaan antibiotik dalam pengobatan diare diharapkan dapat membunuh bakteri penyebab diare sehingga mengurangi gejala infeksi pada penderitanya. Ketika suatu antibiotik pertama kali digunakan untuk pengobatan, terjadinya resistensi pada bakteri sangat jarang terjadi.

Sifat resisten bakteri terhadap antibiotik dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu *efflux pumps* yang mempunyai peran dalam ekspresi gen yang bersifat virulens, perubahan struktur enzim folat sintetase dengan penurunan afinitas terhadap sulfonamid sehingga kehilangan permeabilitas membrane sel dan terjadinya mutasi pada bakteri itu sendiri, yaitu mutasi spontan di dalam kromosom bakteri.^{16,22}

Ada dua hal yang berkaitan dengan terjadinya resistensi suatu bakteri terhadap antibiotik yaitu kemampuan bakteri untuk membentuk pertahanan diri terhadap antibiotik secara cepat dan faktor pasien yang membantu bakteri tersebut untuk berevolusi lebih cepat. Berbagai jenis bakteri saat ini semakin pintar mengacaukan mekanisme kerja antibiotik. Bakteri juga mampu menghancurkan mekanisme pertahanan yang seharusnya dipakai antibiotik untuk melawan infeksi. Hal ini mengakibatkan makin banyak bakteri yang meningkat kekebalannya.^{16,18}

Faktor manusia yang menjadi faktor risiko pada resistensi bakteri yaitu penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat disebabkan karena penggunaan antibiotik yang irrasional. Antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan dapat mengurangi efektivitas antibiotik tersebut. Penggunaan antibiotik secara terus menerus atau berlebihan juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi resistensi bakteri.³⁵

Penggunaan antibiotik yang tidak rasional untuk terapi masih banyak dilakukan oleh tenaga kesehatan yang meresepkan antibiotik terhadap pasien meskipun pasien tidak membutuhkan antibiotik, seperti pada kasus infeksi virus. Selain itu, persepsian antibiotik yang salah dengan dosis yang tidak tepat dan penggunaan antibiotik berspektrum luas untuk membunuh bakteri yang menyebabkan infeksi sehingga bakteri target lebih tahan terhadap antibiotik tersebut.

Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama akan memberi kesempatan pada bakteri untuk menjadi lebih resisten. Faktor lain yang menyebabkan penyalahgunaan penggunaan antibiotik yaitu tersedianya antibiotik secara bebas di pasaran tanpa resep dokter, perilaku pasien yang sering tidak menghabiskan antibiotik, dan penggunaan antibiotik untuk infeksi virus yang tidak memerlukannya.. Jumlah bakteri yang resisten terhadap suatu antibiotik dapat bertambah apabila antibiotik tidak digunakan secara bijak dalam pengobatan^{19,20}

5.5. Mikroskopik Parasit

Pemeriksaan mikroskopik parasit dilakukan pada spesimen feses dengan formalin. Dari 1424 spesimen, hanya sekitar 45% yang mengirimkan spesimen feses. Responden yang dikumpulkan dari puskesmas lebih banyak yang mengirimkan spesimen lengkap dengan spesimen usap rektal dan feses meliputi feses dengan formalin dan tanpa formalin. Banyak responden yang ketika datang ke puskesmas atau rumah sakit sedang tidak mengeluarkan diare. Untuk responden yang datang ke puskesmas yang tidak dirawat inap, lebih sulit untuk mendapatkan spesimen feses karena waktu responden ketika berada di fasilitas layanan kesehatan sangat terbatas. Berbeda dengan responden yang datang dan dilakukan rawat inap di rumah sakit, waktu untuk mendapatkan spesimen feses lebih banyak sehingga spesimen responden dari rumah sakit lebih banyak yang lengkap. Beberapa responden yang datang ke fasilitas layanan kesehatan terkadang juga sudah mendapatkan pengobatan sebelumnya yang menyebabkan diarenya sudah berkurang, sehingga saat melakukan kunjungan ke fasilitas layanan kesehatan untuk mendapatkan pengobatan lebih lanjut, spesimen feses yang diharapkan untuk menjadi spesimen penelitian sulit didapatkan.

Jenis parasit yang sering menyebabkan diare seperti protozoa *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* dan *Cyclospora*, yang terutama terjadi di daerah tropis atau sub tropis. Gejala diare yang diakibatkan infeksi parasit biasanya ditandai dengan diare intermiten dan bertahan lebih lama dari satu minggu.

Gejala lain dapat berupa nyeri perut, demam, anorexia, nausea, muntah-muntah dan rasa letih (malaise).

Hasil pemeriksaan terhadap spesimen feses responden didapatkan parasit dalam feses antara lain *Aschasis lumbrichoides*, *Entamoeba coli*, *Oxiuris vermicularis*, *Blastosistis huminis*, *Endolomax nana*, dan Hookworm (*Ancylostoma sp* dan *Necator americanus*). Dari hasil pemeriksaan didapatkan juga bahwa infeksi dapat terjadi karena beberapa jenis parasit.

Cryptosporidium biasanya menyebabkan diare pada bayi dan dewasa yang memiliki pertahanan alami tubuh yang kurang baik. Investasi parasit pada anak-anak yang sudah lebih besar dan orang dewasa biasanya asimtomatik. *Cryptosporidium* akan mempengaruhi usus dan biasanya berupa infeksi akut jangka pendek. Penyebaran melalui rute fecal-oral (kotoran-mulut) dan sering juga dari air yang terkontaminasi. Infeksi *Cryptosporidium* biasanya bersifat infeksi akut jangka pendek, namun dapat menjadi parah dan sulit disembuhkan pada anak-anak. *Cryptosporidium* akan tetap berada di usus terbawah dan dapat bertahan disana sampai lima bulan.

Sumber infeksi *Cryptosporidium* berasal dari material yang terkontaminasi seperti tanah, air, makanan yang tidak dimasak atau karena kontak dengan kotoran manusia atau hewan yang terinfeksi. Tingginya resistensi oocysts *Cryptosporidium* terhadap disinfektan seperti khlor memungkinkan mereka untuk dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama dan masih dalam kondisi siap menginfeksi.

Gejala akan muncul pada dua sampai sepuluh hari setelah terinfeksi, dengan rata-rata 7 hari, dan batasnya sampai dua minggu, atau dalam beberapa kasus langka sampai satu bulan. Penyakit dapat tidak bergejala atau dapat menyebabkan diare akut atau terus-menerus yang dapat berlangsung selama beberapa minggu. Diare biasanya berair dengan lendir. Sangat langka untuk menemukan darah atau sel darah putih dalam penyakit ini. Selain diare berair tadi, sering ada rasa sakit atau kram perut dan demam ringan. Gejala lainnya termasuk mual, muntah, malabsorpsi (rendahnya penyerapan nutrisi oleh usus) dan dehidrasi. Anoreks jugaia dapat terjadi, seperti kehilangan berat badan. Meskipun penderita tidak menunjukkan gejala (asimptomatik), namun penyakit ini tetap infeksi.

Pada anak-anak dapat mengembangkan bentuk cryptosporidiosis yang lebih parah. Sebanyak 4% dari mereka biasanya tidak memiliki gejala, 29% mempunyai infeksi sementara, 60% mengalami diare kronis, dan 8% mengalami infeksi parah seperti infeksi kolera. Infeksi diare sementara berakhir dalam waktu 2 bulan dan *Cryptosporidium* tidak lagi ditemukan di dalam kotoran. Diare kronis adalah diare yang berlangsung selama 2

tahun atau lebih, bentuknya terlihat dari volume air kotoran pasien yang setidaknya mengeluarkan 2 liter diare berair per hari. Kadang juga dapat kehilangan hingga 25 liter per hari.

Cryptosporidium memulai siklus hidupnya di dalam tubuh dengan menggali ke dalam dinding usus dan kemudian ditumpahkan dalam kotoran. Pada kebanyakan orang sehat, infeksi *cryptosporidium* menyebabkan serangan diare berair dan infeksi biasanya hilang dalam waktu satu atau dua minggu. Jika sistem kekebalan tubuh lemah, infeksi *cryptosporidium* dapat mengancam jiwa tanpa perawatan yang tepat. Infeksi ini dapat dicegah dengan mempraktekkan kebersihan yang baik dan menghindari air minum yang belum direbus atau disaring.^{40,41}

Diare yang disebabkan oleh infeksi *Entamoeba histolytica* disebut dengan amoebiasis. Amoebiasis berupa diare yang disertai dengan darah dan lendir serta dapat terjadi sampai 10 kali dalam sehari. Pada kasus yang berat, gejala bisa timbul mendadak berupa diare berat dengan frekuensi lebih dari 10 kali dalam sehari yang disertai dengan demam dan dehidrasi. Amoebiasis usus ditandai dengan fase akut dan kronik. Disre amoeba akut lebih sering terjadi di beberapa daerah tropik namun umumnya berkurang di daerah dengan iklim sedang.^{40,41}

Entamoeba histolytica ditemukan di seluruh dunia dan prevalensi tertinggi terjadi di negara-negara berkembang yang dikarenakan makanan dan pasokan air yang memadai serta sumber pencemaran kotoran manusia. Apabila parasit ini menginfeksi anak-anak yang lebih besar dan orang dewasa dapat menyebabkan disentri. *Entamoeba histolytica* dominan menginfeksi manusia dan kera dan diperkirakan menulari sekitar 50 juta orang di seluruh dunia. Banyak sumber yang menyatakan bahwa 10% dari populasi dunia terinfeksi protozoa ini. Namun sumber lain menyatakan, setidaknya 90% dari infeksi ini adalah karena spesies *Entamoeba* kedua yaitu *E. dispar*.^{40,41}

5.6. Deteksi Bakteri dengan Multipleks PCR

Diare karena infeksi bakteri dapat berupa infeksi dari beberapa jenis bakteri. Agar pemeriksaan dapat lebih efektif, maka pemeriksaan dapat dilakukan sekaligus dengan menggunakan teknik molekuler yaitu multipleks PCR. Diagnosis penyakit infeksi menggunakan teknik molekuler hanya dengan mendeteksi asam nukleat mikroorganisme penyebab menggunakan pelacak DNA. Sekuens DNA target spesifik yang berbeda pada tiap organisme merupakan dasar penggunaan pelacak DNA. Sementara itu metode PCR

dapat memperbanyak jumlah salinan DNA target sehingga dapat mendeteksi mikroorganisme meskipun dalam jumlah sedikit.

PCR Multipleks digunakan untuk mendeteksi beberapa DNA target sekaligus. Temperatur *annealing* untuk masing-masing pasangan primer harus dioptimalkan untuk dapat bekerja dengan benar dalam reaksi tunggal dan ukuran ampikon. Artinya, panjangnya pasangan basa harus berbeda untuk membentuk pita yang berbeda ketika divisualisasikan dengan elektroforesis gel atau alat pembaca lain.

PCR multipleks yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua panel yaitu panel B1 dan B2. Panel B1 mendeteksi bakteri *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio Spp.*, *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile Toxin B*, dan *Campylobacter spp.* Sedangkan panel B2 mendeteksi *Clostridium perfringens toxin*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas spp.*, *E. coli* O157:H7, VTEC

Hasil deteksi dengan multiplek bakteri terhadap spesimen yang telah dikumpulkan didapatkan data bahwa bakteri yang paling banyak menginfeksi adalah *Shigella* (18,8%) dan *Campylobacter* (15,2%).

5.7. Deteksi Virus dengan PCR Multipleks

Selain bakteri, deteksi virus yang menyebabkan diare juga dapat dilakukan sekaligus dengan menggunakan teknik molekuler yaitu PCR multipleks. Panel PCR yang digunakan akan mendeteksi Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, dan Norovirus. Berdasarkan hasil pemeriksaan PCR multipleks didapatkan data bahwa virus yang paling banyak menginfeksi adalah Rotavirus group A.

Rotavirus merupakan penyebab utama diare pada usia dua tahun pertama. Virus ini menjadi penyebab paling penting terjadinya diare yang parah dan mengancam nyawa pada anak-anak kecil. Sebagian besar kasus diare pada balita di Indonesia disebabkan oleh infeksi rotavirus. Balita yang terkena diare akibat infeksi rotavirus akan mengalami muntah-muntah tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan diare yang disebabkan oleh bakteri.

5.8. Deteksi *Escherichia coli* dengan PCR

Beberapa strain *E.coli* diketahui memiliki faktor virulensi yang dikaitkan dengan kejadian diare dari tingkat ringan sampai berat. Strain-strain tersebut dikenal dengan sebutan *diarrheagenic E.coli* yang meliputi 6 *pathotype*, yaitu *Enteroinvasive E.coli* (EIEC), *Enteropathogenic E.coli* (EPEC), *Enterohaemorrhagic E.coli* (EHEC),

Enteroagregative E.coli (EAEC), *Enterotoxigenic E.coli* (ETEC), dan *Diffuse Adherence E.coli* (DAEC). Deteksi dan identifikasi *diarrheagenic E.coli* dapat dilakukan secara konvensional maupun PCR. Pada penelitian ini identifikasi dilakukan dengan metode PCR multipleks menggunakan 9 pasang primer yang dibagi dalam 2 tahap, yaitu 7 pasang primer PCR pada tahap pertama dan 2 pasang primer PCR pada tahap ke-2. Tahap pertama dilakukan terhadap seluruh spesimen, sedangkan tahap ke-2 dilakukan terhadap spesimen dengan hasil EPEC/EHEC pada tahap pertama.

Sebelum dilakukan identifikasi *phenotype E.coli* dengan PCR Multipleks, spesimen berupa usap rektal ditanam/kultur ke dalam medium Mc. Conkey. Koloni tersangka yang tumbuh dikultur ulang pada medium Moeller Hinton, dipanen dan dilakukan ekstraksi DNA sebagai bahan pemeriksaan PCR. Hasil kultur sebanyak 1424 spesimen usap rektal balita dengan diare dari 4 propinsi di Indonesia tahun 2015 menunjukkan bahwa 826 (58 %) diantaranya terlihat positif adanya pertumbuhan bakteri *E.coli*. Seluruh bakteri *E.coli* yang tumbuh diidentifikasi dengan metode PCR multipleks dengan hasil sebanyak 363 (44%) *nondiarrheagenic E.coli* dan sisanya sebanyak 463 (56%) *diarrheagenic E.coli* dengan proporsi *phenotype* seperti terlihat pada Tabel 8.

Pada penelitian ini, EAEC merupakan *phenotype* paling dominan yang ditemukan pada balita dengan diare sebagaimana terlihat pada Tabel 8. EAEC adalah penyebab diare yang penting pada anak dan dewasa di negara maju maupun berkembang. EAEC dapat menyebabkan diare akut maupun persisten (>14 hari) dan pertama kali diidentifikasi tahun 1987 pada anak dari Chile dengan diare persisten. Meta analisis terhadap 41 *case-control study* di negara berkembang dan negara maju menunjukkan bahwa EAEC lebih sering ditemukan pada anak dengan diare akut dibandingkan kontrol. Selain itu, tampak hubungan signifikan antara EAEC dengan diare akut di negara maju dan infeksi HIV di negara berkembang. Terdapat juga bukti bahwa EAEC menyebabkan diare sporadik di negara maju. EAEC diisolasi dari individu sehat maupun sakit diare sehingga manusia dianggap sebagai reservoir. Di sisi lain, risiko infeksi dari binatang jarang terjadi. Makanan dan air yg terkontaminasi merupakan sumber utama infeksi. Sementara itu berwisata ke negara berkembang, kurangnya kebersihan, serta penurunan kekebalan merupakan faktor risiko infeksi. EAEC yang diikuti oleh EPEC merupakan predomanan DEC yang diisolasi dari anak kurang dari 5 tahun yang di rawat di rumah sakit.

Serotipe EAEC yang paling umum adalah O44:H18 dan O111:H2 serta serogroup O125 dan O126. EAEC memiliki pola filogenetik dengan grup DAEC. Faktor virulensinya berupa *aggregative adherence phenotype* yang dihubungkan dengan *aggregative adheren*

fimbriae (AAF). Serupa dengan faktor kolonisasi ETEC, faktor adhesi EAEC banyak dan bervariasi satu sama lain. Ada *pathogenicity island* EAEC yang belum diketahui fungsinya dan dihubungkan dengan *Enterobacteriaceae* lain, misalnya *hemolysin-pylonephritis-associated pili island* yang berhubungan dengan ExPEC dan *high pathogenicity island* pada *Yersinia* yang mengkode *synthesis siderophore yersiniabactin*.

Sebagaimana terlihat pada Tabel 8, ETEC merupakan phatotype terbanyak kedua setelah EAEC yang ditemukan pada balita dengan diare. ETEC merupakan phatotype yang paling sering diisolasi dari kasus DEC, terutama pada usia balita dan menyebabkan sekitar 1,4 juta kematian per tahun. ETEC dapat menyebabkan *Cholera-like diarrhea* pada semua umur. Individu tanpa gejala (karrier) berperan dalam reservoir dan siklus infeksi-reinfeksi. ETEC endemik hampir di semua negara berkembang dengan puncak kejadian selama musim kemarau. ETEC sporadik jarang terjadi di negara maju, namun *food and waterborne outbreak* pernah dilaporkan di Amerika, Eropa dan Jepang. Transmisi ETEC melalui rute fecal-oral dan manusia merupakan reservoir utama sehingga menyusui dianggap sebagai upaya pencegahan infeksi. ETEC juga menyebabkan diare serius pada binatang, khususnya babi, sapi dan kelinci, namun mereka memiliki jenis toksin dan faktor kolonisasi yang berbeda sehingga tidak dianggap berpotensi sebagai penyakit zoonosis.

Isolat ETEC sangat bervariasi dan meliputi sedikitnya 78 serotipe yang berbeda. ETEC memproduksi faktor kolonisasi antigen (CFAs) yang memediasi ikatan terhadap usus halus. Lebih dari 22 CFA telah diketahui dan kebanyakan adalah CFA/I, CFA/II dan CFA/IV. ETEC dapat menghasilkan 1 atau lebih toksin yang dikode plasmid, meliputi heat labile toxin (LT) dan heat stable toxin (ST). LT kurang patogen dibanding ST dan sering diisolasi dari individu sehat. Ada 2 jenis LT yaitu LT1 dan LT2. LT1 dihubungkan dengan manusia, sedangkan LT2 dengan binatang. ETEC dapat menyebabkan sakit dengan *attaching* pada epitel usus halus, berkolonisasi dan mengeluarkan enterotoksin serta menembus pertahanan host. Adhesin ETEC dikenal dengan *colonization factor* (CFs) memungkinkan berikatan dengan mukosa usus halus yang secara normal bukan lingkungan *E.coli*. CFs dapat dikode oleh kromosom maupun plasmid, tapi sebagian besar dikode plasmid.

Phatotype ketiga terbanyak setelah EAEC dan ETEC yang ditemukan pada penelitian ini adalah EPEC (atipikal). EPEC adalah penyebab utama diare persisten pada anak umur kurang dari 2 tahun di negara berkembang yang endemik. Estimasi kejadian sekitar 5-20% dari semua kasus diare anak. Semua EPEC membawa gen *eae* pengkode reseptor intimin yang terletak pada *LEE pathogenicity island*. EPEC diklasifikasikan

menjadi tipikal dan atipikal berdasarkan ada tidaknya *bundle forming pili* (BFP), bila terdapat BFP disebut tipikal dan bila tidak terdapat BFP disebut atipikal. Awalnya, EPEC tipikal dan atipikal digolongkan berdasarkan serogroup, namun metode baru dapat membedakannya berdasarkan deteksi gen *eae* dan *bfp* dan pola lesi. EPEC tipikal menunjukkan pola lesi *localized adherence* (LA), sementara EPEC atipikal dapat menunjukkan pola *localized adherence-like* (LAL) *diffuse adherence* (DA), atau *aggregative adherence* (AA). EPEC tipikal menyebabkan *watery diarrhea* pada anak-anak di negara berkembang, tapi pada beberapa dekade terakhir EPEC atipikal lebih dominan, baik di negara maju maupun negara berkembang. Manusia dianggap sebagai reservoir utama EPEC, meskipun isolasi dari binatang juga pernah dilaporkan. Sebagai contoh, *non-clasic* EPEC serotype O 157: H45 yang diisolasi dari ternak di Switzerland. Serotipe ini pernah diisolasi dari manusia dan menyebabkan wabah di Jepang. Pada EPEC, mayoritas virulen faktor dikode pada “O” island atau plasmid.

Pada penelitian ini ditemukan beberapa isolat dengan phatotype EIEC dan DAEC. EIEC dan DAEC merupakan phatotype yang cukup jarang diantara phatotype yang lain. Patogenesis DAEC belum sepenuhnya diketahui, sementara pathogenesis EIEC menyerupai *Shygella*.

Satu-satunya phatotype yang tidak didapatkan pada penelitian ini adalah EHEC yang merupakan jenis STEC penyebab diare berdarah. STEC atau *vero cell toxicity E.coli* (VTEC) bukan merupakan penyebab utama diare, namun keberadaannya dapat mengancam jiwa. Banyak STEC yang dapat membentuk *attaching* dan *effacing lesion* pada intestinal melalui ekspresi protein yang dikode *LEE*, tapi produksi *Shiga toxin* (Stx) tetap sebagai penentu. Toksin ini bertanggung jawab atas terjadinya *hemolysis uremic syndrome* (HUS). Ada 2 jenis Stx, STEC yang memproduksi Stx2 dihubungkan dengan penyakit berat, sedangkan Stx1 tidak. Kebanyakan STEC pembawa gen *Stx2* yang dikaitkan dengan kejadian HUS. Kebanyakan HUS dikaitkan dengan serogroup O157. Serotype O 157:H7 merupakan jenis STEC yang sangat terkenal, namun ada lebih dari 200 serogroup lain (non-157 STEC), 100 diantaranya berkaitan dengan penyakit pada manusia. Beberapa strain STEC menyebabkan diare berdarah dan dikenal dengan *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC) yang merupakan bagian dari STEC.

Seperti halnya jenis lain, anak-anak lebih rentan terhadap infeksi STEC dan lebih sering berkembang menjadi HUS. Sebaliknya, reservoir EHEC berbeda dari jenis lain, yaitu sapi dengan penularan secara langsung maupun tak langsung. Transmisi STEC melalui rute oral-fecal dengan dosis diperkirakan sekitar 10^2 organisme. Dosis rendah dan

kemampuan bertahan di berbagai kondisi merupakan faktor yang mempengaruhi transmisi penyakit. Transmisi bisa melalui kontak orang-orang, orang-binatang maupun melalui makanan dan air yang terkontaminasi. Selain itu, airborne partikel dilaporkan dapat berimplikasi terhadap kejadian wabah. STEC sering ditemukan pada makanan dan produk binatang dari negara dengan prevalensi infeksi STEC rendah. Hal ini terjadi karena beberapa STEC dari makanan dan binatang tidak memiliki gen virulen seperti *eae*.

STEC jarang terjadi di negara berkembang. Meta analisis yang dilakukan terhadap 19 penelitian tentang diare persisten pada anak kurang dari 6 tahun di negara dengan ekonomi menengah ke bawah hanya mendapatkan 2 penelitian terkait EHEC dan pada keduanya tidak ditemukan EHEC, baik pada kasus maupun kontrol. Kebanyakan infeksi STEC di negara maju adalah sporadik. Mexico memiliki kejadian HUS tertinggi di dunia, yaitu sekitar 12,2 kasus/100.000 penduduk. Faktor risiko infeksi STEC sporadik tergantung geografis, namun pada umumnya berkaitan dengan kebiasaan makan di luar rumah dan makan makanan yang tidak dimasak, terutama daging. Hal ini juga dipengaruhi umur. Transmisi melalui makanan rendah pada usia di bawah 3 tahun, tapi tinggi pada usia di atas 10 tahun.

5.9. Genotipik Rotavirus

Rotavirus adalah penyebab gastroenteritis akut pada anak-anak dan bayi di seluruh dunia. Selain itu, Rotavirus telah dilaporkan memiliki morbiditas dan mortalitas di negara berkembang dan dikenal sebagai agen etiologi yang penting penyebab diare dehidrasi berat pada anak-anak < 1 tahun di Afrika dan Asia.² Pada penelitian diare tahun 2015 di Indonesia, dilakukan pemeriksaan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi rotavirus sebagai salah satu agen etiologi penyakit Diare.

Metoda yang digunakan untuk pemeriksaan tersebut yaitu pemeriksaan secara genetika menggunakan metoda *Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dan sekuensing. Ekstraksi *Ribonucleic Acid* (RNA) dari total 400 spesimen tinja dan usap rektal yang diperoleh di dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *PowerPrep™ DNA/RNA Extraction Kit* (Kogene, Korea) sesuai dengan protokol perusahaan tersebut. RNA yang diperoleh kemudian diperbanyak dengan menggunakan primer spesifik gen G (VP7) dan gen P (VP4) dengan menggunakan *SuperScript® III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq High Fidelity DNA Polymerase* (Invitrogen, USA).^{3,4,5} Metoda tersebut didasarkan pada metoda semi-nested RT-PCR, dimana RNA (*ribonucleic acid*) diekstraksi, kemudian RNA tersebut diperbanyak dengan menggunakan

primer konsensus untuk mengidentifikasi VP7 genotipe G (gen 9) dan VP 4 genotipe P (gen 4). Hasil RT-PCR (DNA) yang didapat kemudian direaksikan dengan metoda multiplex-nested PCR menggunakan spesifik primer untuk menentukan genotipe G (1-4, 8, 9, dan 10) dan P (4,6,8,9,10, dan 11).

Rotavirus merupakan penyebab diare berat pada anak usia balita di negara maju dan negara berkembang. Meskipun sebagian besar infeksi pertama menyebabkan diare ringan, namun 15-20% di antaranya membutuhkan pertolongan kesehatan, dan 1-3% di antaranya mengakibatkan dehidrasi yang membutuhkan rawat inap. Rotavirus ditemukan pada 15-35% anak balita penderita diare yang rawat jalan dan 22-55% penderita rawat inap. Sekitar 600.000 anak balita meninggal setiap tahunnya akibat rotavirus, sebagian besar terjadi di negara berkembang, dan menjadi penyebab 5% dari semua kematian anak balita.

Di Indonesia, rotavirus dilaporkan sebagai penyebab 38,9-48% diare pada anak balita yang dirawat di rumah sakit. Pada tahun 2009, Soenarto *et al.* melakukan *multicenter study* dan melaporkan bahwa rotavirus menjadi penyebab 67% diare anak balita di Jakarta, 63% di Mataram, 60% di Palembang, 47% di Bandung, dan 35% di Yogyakarta. Sebagian besar infeksi rotavirus yang simptomatik terjadi pada penderita berumur 3-24 bulan, dengan insiden puncak pada 7-15 bulan. Manifestasi klinis infeksi rotavirus lebih berat pada anak-anak berumur 3-24 bulan dibanding yang lebih muda, atau yang lebih tua. Meskipun anak-anak dapat terinfeksi rotavirus beberapa kali selama hidupnya, infeksi pertama setelah umur 3 bulan menyebabkan diare berat dan dehidrasi.³⁶

Rotavirus berbentuk ikosahedral, berukuran 100 nm dengan genom yang terdiri dari 11 segmen dsRNA. Segmen-segmen RNA rotavirus diberi nomor berdasarkan urutan migrasinya ketika dilakukan *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE). Kesebelas segmen dsRNA tersebut mengkode 6 protein struktural (VP1-VP4 dan VP6-VP7) dan 6 protein non-struktural (NSP1-NSP6) yang berfungsi dalam replikasi, pengaturan respon imun terhadap penjamu, dan stimulasi ekspresi gen virus.

Rotavirus mempunyai kapsid yang tersusun dari 3 lapis protein konsentrik, dengan lapisan terdalam tersusun oleh protein VP2, lapisan tengah tersusun oleh protein VP6, dan lapisan terluar tersusun oleh glikoprotein VP7. Menonjol keluar dari VP7 adalah protein VP4 yang berbentuk tonjolan seperti duri. Protein VP4 dan VP7 merupakan protein utama yang bertanggung jawab atas munculnya respon imun sehingga dijadikan sebagai dasar *typing*. *Typing* yang didasarkan protein VP7 (*glycoprotein*=G) dikenal dengan *G-typing* sedang yang didasarkan protein VP4 (*Protease-sensitive*=P) dikenal sebagai *P-typing*.

Secara global diketahui, bahwa pada awalnya G1, G2, G3, dan G4 merupakan *genotype* yang dominan di seluruh dunia. Berbagai wabah telah terjadi dan memunculkan adanya perubahan *genotype* yang dominan atau munculnya *genotype* baru. G9 mulai muncul pada awal tahun 1993 dan proporsinya terus meningkat sehingga menjadi *genotype* global kelima. G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4[P8], dan G9P[8] diketahui sebagai *genotype* rotavirus yang paling banyak beredar di dunia.³⁷

Deteksi tipe rotavirus di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh Bishop *et al.* (1989) dengan menggunakan antibodi monoklonal pada penderita diare di Yogyakarta. Dari 59 isolat yang berhasil diidentifikasi tipenya, didapatkan G1 (1,7%), G2 (8,4%), G3 (52,6%), G4 (35,6%), dan infeksi campuran (1,7%).⁴⁰ Dengan teknik RT-PCR dilaporkan oleh Soenarto *et al.* (2009) bahwa dari 199 isolat yang berhasil diidentifikasi *genotype*-nya didapatkan G1 (30%), G2 (14%), G3 (0,4%), G4 (0,4%), G9 (29%), dan infeksi campuran (9%).³⁷ Metode yang sama digunakan oleh Putnam *et al.* (2007) dan dilaporkan bahwa *genotype* rotavirus penyebab diare di Indonesia adalah G1 (11,4%), G2 (17,6%), G3 (1,6%), G4 (2,3%), G8 (0,1%), G9 (9,3%), infeksi campuran (48,2%), dan *untypeable* (3,5%).³⁷

Rotavirus mempunyai faktor virulensi bersifat multigenik dan banyak dihubungkan dengan gen-gen 3, 4, 5, 9, dan 10. Gen-gen tersebut berturut-turut mengkode pembentukan protein VP3, VP4, NSP1, VP7, dan NSP4. Proteinprotein tersebut juga berperan di dalam *host range restriction*.

Protein VP4 diketahui berperan penting dalam perlekatan dan penetrasi rotavirus ke sel target. VP4 sangat mudah mengalami proteolisis yang berakibat peningkatan infektivitas hingga beberapa kali lipat dan mengakibatkan virus masuk ke dalam sel. Selama proses proteolisis, VP4 dipecah menjadi VP8 dan VP5. Subunit VP8 mempunyai epitop-epitop untuk netralisasi yang bersifat *serotype-specific*, sedangkan subunit VP5 bertanggung jawab pada *cross reactivity* terhadap *genotype* yang berbeda. Epitop-epitop pada VP8 bersifat konformasional dan tergantung pada asam amino penyusunnya. Perubahan pada asam amino penyusunnya dapat mengakibatkan perubahan pada bagian antigeniknya yang mempengaruhi efektivitas vaksin rotavirus.

Protein VP3 merupakan suatu *capping RNA enzyme*, sementara VP4 dan VP7 merupakan protein pembentuk kapsid luar yang mampu menimbulkan respon imun netralisasi. Protein NSP4 merupakan protein penting yang berperan dalam pengaturan homeostasis kalsium, replikasi virus, dan berperan sebagai enterotoksin. Protein NSP1 dan NSP5 merupakan protein non-struktural yang terlibat dalam proses replikasi virus. Protein

NSP1 merupakan komponen dari *early replication intermediates* dan diketahui berperan dalam *host range restriction*. Sedangkan protein NSP5 diketahui terlibat dalam proses pembentukan viroplasma, dan berfungsi sebagai *adapter* untuk berinteraksi terhadap protein VP1, VP2, NSP2, dan NSP6 selama replikasi genom.

5.10. Faktor Risiko Terjadinya Diare

Selain mengidentifikasi penyebab diare yang meliputi bakteri, virus dan parasit, pada penelitian ini juga mengumpulkan data yang berkaitan dengan faktor risiko yang dapat mempengaruhi kejadian diare pada balita. Data untuk menggali faktor risiko kejadian diare balita dikumpulkan melalui wawancara kepada orang tua atau keluarga balita penderita diare dan diisikan pada Formulir Klinis. Selain wawancara, pengumpulan data juga dilakukan melalui kunjungan untuk mengobservasi kondisi sanitasi lingkungan tempat tinggal balita penderita diare. Hal-hal yang diobservasi dan berkaitan dengan sanitasi lingkungan antara lain keberadaan sumber pencemaran, sumber air minum keluarga, tempat penampungan dan saluran pembuangan air limbah, serta tempat pembuangan sampah di luar rumah. Data hasil observasi didokumentasikan dalam Formulir Kunjungan 30 Hari. Beberapa faktor yang dapat menjadi faktor risiko kejadian diare pada balita adalah status gizi balita dan konsumsi ASI terutama ASI eksklusif, riwayat imunisasi terutama campak, tingkat pendidikan yang dimiliki oleh orang tua atau pengasuh balita, pemanfaatan sumber air bersih untuk minum atau menyiapkan susu formula, kebersihan lingkungan tempat tinggal, faktor perilaku balita seperti kebiasaan mencuci tangan dan jajan di sembarang tempat, perilaku orang tua atau pengasuh dalam menyiapkan makanan balita.

Sebagian besar orang tua balita penderita diare berpendidikan tamat SMA (39,9%) dan tamat SMP (27,3). Lebih dari separuh balita (50,2%) pada saat menderita diare masih mendapatkan ASI sementara lainnya sudah tidak mendapatkan ASI. Berdasarkan riwayat imunisasi balita penderita diare diketahui bahwa sebagian besar (69,9%) balita telah mendapatkan imunisasi campak. Kebiasaan orang tua atau pengasuh dalam mempersiapkan air untuk membuat susu formula sudah cukup bagus dengan sebagian besar (36,19) mencuci dan membilas botol dengan air panas. Kebiasaan anak yang suka jajan (51,7%) dan tidak mencuci tangan menggunakan sabun sebelum makan (57,5%) dapat menjadi penyebab kejadian diare pada balita. Selain itu, kebiasaan orang tua atau pengasuh yang tidak mencuci tangan menggunakan sabun sebelum menyiapkan makanan balita (24,5%) dan tidak mencuci tangan menggunakan sabun setelah BAB atau menceboki

balita (7,6%) juga dapat jalur masuknya mikroba yang dapat menyebabkan diare pada balita.

Tingkat pendidikan orang tua akan meningkatkan pengetahuannya tentang kesehatan. Dengan bertambahnya jenjang pendidikan, seseorang akan mempunyai pengetahuan yang lebih banyak sehingga mampu meningkatkan perubahan perilaku positif. Masyarakat dengan tingkat pendidikan yang rendah lebih sulit untuk diberikan informasi mengenai pentingnya kebersihan diri dan lingkungan untuk mencegah terinfeksi penyakit diare.⁴²⁻⁴³

Pemberian ASI eksklusif pada balita merupakan salah satu upaya untuk mencapai tumbuh kembang optimal dan melindungi balita dari infeksi penyakit salah satunya diare. Hegar dan Sahetapy menyebutkan bahwa salah satu senyawa yang terkandung dalam ASI adalah oligosakarida yang akan menciptakan suasana asam pada saluran cerna. Suasana asam ini berfungsi sebagai sinyal untuk pertahanan saluran cerna, yaitu SIgA (*Secretory Immunoglobulin A*) yang juga terdapat dalam ASI itu sendiri. SIgA dapat mengikat patogen enterik, mencegah perlekatannya pada sel enterosit di usus serta mencegah reaksi imun yang bersifat inflamasi sehingga diare tidak terjadi.⁴⁴

Balita yang mendapat ASI lebih jarang terkena diare karena adanya zat protektif saluran cerna seperti *Lactobacillus bifidus*, laktoferin, lisozim, SIgA, faktor alergi, serta limfosit T dan B. Zat protektif ini berfungsi sebagai sistem imun terhadap zat asing yang masuk dalam tubuh. Penelitian yang dilakukan di negara-negara berkembang menunjukkan perbandingan risiko diare pada balita yang tidak mendapat ASI eksklusif lebih tinggi (2,65%) dibanding yang mendapatkan ASI secara eksklusif (1,26%).⁴⁵

Pemberian imunisasi pada balita merupakan salah satu upaya pencegahan terhadap infeksi penyakit. Salah satu penyakit infeksi yang dapat dicegah dengan imunisasi adalah campak. Kejadian penyakit campak sering disertai dengan adanya diare. Imunisasi campak pada balita dapat menurunkan angka kematian akibat diare sebesar 6-20%.⁴⁶

Beberapa kebiasaan orang tua atau pengasuh balita seperti mencuci botol yang digunakan untuk menyiapkan susu formula, mencuci tangan sebelum menyiapkan makanan untuk balita berpengaruh terhadap kejadian diare pada balita. Anak usia balita sangat rentan terhadap mikroorganisme dan berbagai agen infeksius, sehingga semua perilaku dan aktivitas orang tua atau pengasuh balita harus dijaga kebersihannya. Mikroorganisme cepat sekali berkembang biak sehingga mencuci dan mensterilkan botol untuk susu formula balita sangat penting dilakukan untuk memusnahkan semua mikroorganisme yang ada. Dalam 1 hari mikroorganisme ini bisa mencapai jumlah jutaan

dalam susu yang tidak steril sehingga dapat membahayakan kesehatan balita. Kejadian diare dapat meningkat karena penyiapan pemberian makan pada balita yang kurang higienis oleh ibu atau pengasuh. Salah satu aspek dalam penyiapan makan tersebut salah satunya adalah kebiasaan mencuci tangan oleh ibu atau pengasuh dalam praktik pemberian makan pada anak.⁴⁷⁻⁴⁹

Balita yang sering makanan jajanan berpotensi untuk menderita diare karena jajanan yang tidak terjamin kebersihannya. Orang tua atau pengasuh tidak pernah mengetahui secara pasti proses persiapan, pembuatan, dan penyimpanan jajanan. Penggunaan atau juga kemungkinan kontaminasi silang dari makanan mentah ke makanan yang sudah di masak, atau dari tempat pembungkus atau penampung, makanan dan peralatan masak, atau status kesehatan dan perilaku hygiene para pengolah makanan. Dari kondisi ini makanan dapat terkontaminasi oleh berbagai racun, sehingga bisa menimbulkan diare karena terdapat berbagai macam mikroorganisme. Jajanan yang sering dikonsumsi balita sangat sensitif terhadap pencemaran yang bersumber dari bahan tambahan makanan seperti pewarna tekstil, zat pengawet, dan pemanis buatan.⁵⁰⁻⁵¹

Berdasarkan observasi pada tempat tinggal balita penderita diare, didapatkan data kondisi lingkungan yang merupakan faktor risiko kejadian diare antara lain terdapat sumber pencemaran yang berada tidak jauh (<10 meter) dari sumber air yang dikonsumsi penderita diare (61,5%), sumber air yang dikonsumsi, pengelolaan air minum yang langsung diminum (34,6%), tempat penampungan air limbah rumah tangga yang dibuang ke penampungan terbuka di pekarangan (33,8%), saluran air limbah kamar mandi yang terbuka (48,2%) serta tidak tersedianya tempat pembuangan sampah di luar rumah (39,7%).

Diare dapat terjadi bila seseorang mengkonsumsi air minum yang sudah tercemar, baik tercemar dari sumbernya, tercemar selama perjalanan sampai ke tempat penampungan di rumah-rumah atau tercemar pada saat disimpan di rumah. Pencemaran di rumah dapat terjadi bila tempat penyimpanan tidak tertutup atau apabila tangan tercemar menyentuh air pada saat mengambil air ataupun makanan dari tempatnya.⁵² Sumber infeksi yang dapat menyebabkan diare juga bisa didapatkan dari jamban yang tidak saniter sehingga menjadi sumber penyebaran *E.coli* sebagai bakteri penyebab diare. Tempat sampah di rumah tangga harus memenuhi syarat kesehatan agar tidak menjadi sarang atau berkembang biak serangga ataupun binatang penular penyakit (vektor).⁵³ Sarana pembuangan air limbah harus tersedia agar tidak ada air yang tergenang di sekitar rumah, sehingga tidak menjadi tempat perindukan serangga atau dapat mencemari lingkungan maupun sumber air.⁵⁴

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa:

1. Bakteri penyebab diare terbanyak adalah *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophyla*, dan *Shigella spp.*
2. Virus penyebab diare terbanyak Rotavirus dan Adenovirus.
3. Meskipun jumlahnya belum mencukupi untuk mewakili hasil uji resistensi, namun eberapa bakteri yang berhasil diisolasi menunjukkan resistensi terhadap beberapa antibiotika.
4. Jenis parasit yang paling banyak ditemukan adalah *Blastosistis huminis* dan *Entamoeba coli*.
5. Beberapa faktor yang diperkirakan dapat menjadi faktor risiko kejadian diare pada balita adalah konsumsi ASI (status gizi), pendidikan orang tua, pemanfaatan sumber air bersih, lingkungan tempat tinggal, perilaku balita dan orang tua atau pengasuh, serta keberadaan sumber pencemaran.
6. Hasil RT-PCR didapatkan sebanyak 86% positif Rotavirus dengan genotipe yang dominan adalah G1 dan P9.

6.2. Saran

1. Perlu penambahan pengumpulan spesimen pada tahun berikutnya sampai tercapai jumlah sampel minimal dari setiap provinsi sehingga diharapkan dapat mencukupi untuk mewakili hasil uji resistensi.
2. Perlu dilakukan surveilan diare berbasis laboratorium secara berkesinambungan.
3. Perlu monitoring resistensi antibiotika terhadap bakteri penyebab Diare sebagai panduan pedoman pengobatan empirik.
4. Perlu meningkatkan kesadaran masyarakat pentingnya PHBS dengan media promotif yang lebih efektif.
5. Perlu meningkatkan cakupan ASI eksklusif untuk meningkatkan daya tahan tubuh balita.
6. Perlu dilakukan karakterisasi Rotavirus untuk melihat distribusi Rotavirus yang ada di Indonesia.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini mengalami beberapa kendala antara lain:

1. Adanya revisi protokol penelitian, yaitu perubahan tempat pengumpulan data dalam rangka efisiensi, namun tetap mempertahankan penelitian yang berbasis keilmuan dan etik.
2. Beberapa bahan untuk pemeriksaan harus di-import, memerlukan waktu tunggu cukup lama, terutama bahan untuk identifikasi awal pada pengerjaan di laboratorium. Pengumpulan spesimen pada penelitian ini secara prospektif, sesaat spesimen diambil harus segera dikirim ke laboratorium, dan diperiksa karena beberapa bakteri yang tidak bisa bertahan lama. Pengumpulan spesimen bisa dimulai setelah bahan laboratorium diterima
3. Terdapat site pengumpulan data yang mengundurkan diri pada saat periode waktu penelitian sudah dimulai dengan alasan teknis sehingga menghambat pengumpulan data di provinsi tersebut.

6.4. Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbang Kesehatan. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Tim Panitia Pembina Ilmiah (PPI), atas segala masukan dan arahan selama proses pembuatan protokol, pelaksanaan penelitian sampai pembuatan laporan akhir penelitian. Terimakasih juga disampaikan kepada Dinas Kesehatan Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta, Jawa Barat, Kalimantan Selatan dan Sulawesi Selatan, Suku Dinas Kesehatan Jakarta Timur, Jakarta Utara, Dinas Kesehatan Kabupaten Bogor, Dinas Kesehatan Kota Banjarmasin dan Kota Makassar, Direktur RSPI Sulianti Saroso, RSUD Budhi Asih, RSUD Cibinong, RSUD Ulin, RSUD Ansari Saleh, RSUD Daya, dan RSUD, Puskesmas Jatinegara, Pademangan, Cirimekar, Ciawi, Kelayan Timur, Kuin Raya, Kalukubodoa dan Sudiang beserta seluruh tim yang terlibat, atas kerjasamanya dalam pengumpulan data di wilayah masing-masing. Tidak ketinggalan kepada seluruh tim penelitian dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas segala bantuan dan dukungannya dalam pelaksanaan seluruh rangkaian penelitian ini.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Wibowo T, Soenarto S, dan Pramono D. Faktor-faktor Risiko Kejadian Diare Berdarah pada Balita di Kabupaten Sleman. *Jurnal Berita Kedokteran Masyarakat*. 2004; 20(1): 41-48.
2. Lanata. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kejadian Diare pada Balita. Jakarta : Lembaga Penelitian Uiniversitas Indonesia, 1991.
3. Nilto. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kesakitan Diare pada Balita. Jakarta : Buletin Penelitian Kesehatan, 2008.
4. Department of Health Statistics and Informatics World Health Organization. Causes of Death 2008: Data Sources and Methods. Geneva;2011 [cited 2011 Oct 13]; pp.6.
5. World Health Organization. Prevalensi Diare Balita. Diakses dari <http://www.who.int> pada tnggal 4 Januari 2015.
6. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar 2007. Jakarta. 2007.
7. Direktur Jenderal Pemberantasan Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Departemen Kesehatan RI. Laporan Hasil Investigasi KLB Diare. 2008.
8. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pokok-pokok Hasil Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta. 2013.
9. Suharyono. Diare Akut. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1991.
10. Simanjuntak CH, Larasati W, Arjoso S, Putri M, Lesmana M, A Buhari et al. Cholera in Indonesia in 1993 - 1999 .2001; 65(6): 788–97.
11. Proverawati, Atikah, Eni R. Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS). Yogyakarta : Nuha Medika, 2012.
12. Kandun I Nyoman. Manual Pemberantasan Penyakit Menular. Dirjen P2PL Departemen Kesehatan, 2000.
13. Dwiprahasto. Penggunaan Antidiare Ditinjau dari Aspek Terapi Rasional. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 1998.
14. Bambang S, Nurtjahjo BS. Buku Ajar Ilmu Kesehatan Anak Jilid 1: Diare Akut. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia;2010; h.87-118.
15. Grandy *et al*. Probiotics in the treatment of acute rotavirus diarrhoea. A randomized, double-blind, controlled trial using two different probiotic preparations in Bolivian children. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2010 [cited 2011 Aug 10]; 10:253.
16. Magdarina DA, dkk. Laporan Penelitian Diare 2012. Jakarta, 2012.

17. Andrianto. Diare Akut. Jakarta : EGC, 2006.
18. Candy D, Davis G, Ross E. Gastroenteritis. Clinically Paediatric Child Health. WB Saunders; 2001. p. 221–4.
19. Keusch G, Fontaine O, A B, Et A. Diarrheal diseases [Internet]. Available from: <http://www.dcp2.org/pubs/DCP/19/>
20. World Health Organization. The treatment of Diarrhoea, A manual for physician and other senior health workers. 2005.
21. Badan Litbang Kesehatan. Susenas 2004. 2004;
22. Parashar U, Hummelman E, Bresee J, Miller M. Global illness and death caused rotavirus diseases in Children Emerging Infectious Diseases. 2003;9:565–72.
23. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar 2007. Laporan Riset Kesehatan Dasar 2007. 2007.
24. MD Agtini RS, Lesmana M, dkk. The Burden of diarrhoea, Shigellosis, and Cholera in North Jakarta, Indonesia: Finding from 24 months surveillance. BMC Infectious Diseases. 2005;5:89.
25. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Buku Pedoman Pengendalian Penyakit Diare. 2011.
26. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar 2013. Laporan Riset Kesehatan Dasar 2013. 2013.
27. The Global enteric of multicentre Study- fact sheet [Internet]. [cited 2013 Jun 20]. Available from: <http://medschool.umaryland.edu/GEMS/>
28. World Gastroenterology Organisation, Global Team Review. Acute diarrhea in adults and children : a global perspective. 2012;(February).
29. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kemenkes RI. Profil Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan tahun 2011. 2012.
30. Atmojo S. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kejadian Diare Balita di Kabupaten Purworejo Jawa Tengah. Yogyakarta : Fakultas Kedokteran UGM, 1998.
31. Hendarwanto. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Sarwono WP (Editor). Balai Penerbit Universitas Indonesia. 2000.
32. Sander M. A. Hubungan Faktor Sosio Budaya dengan Kejadian Diare di Desa Candi Negro Kecamatan Wonoayu Sidoarjo. Jurnal Medika. 2005; 2(2) : 163-193.
33. Fryauff D. J., Krippner R., Prodjodipuro P., Ewald C., Kawengian S., Pegelow K., Yun T., von Heydwoff-Wehnert C., Oyofa B., Gross R. (1999) Cyclospora

- cayetanensis among expatriate and indigenous populations of West Java, Indonesia. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 585-588
34. Ariawan I. Besar dan Metode Sampel pada Penelitian Kesehatan Jurusan Biostatistik dan Kependudukan. Jakarta: Fakultas Kesehatan Masyarakat UI. 1998.
 35. Bhatia R, Narain JP. The Growing Challenge of Antimicrobial Resistance In The South East Asia Region Are We Losing The Battle? *Indian Journal of Medical Research.* 2010.
 36. Soenarto dkk. Burden of Severe Rotavirus Diarrhea in Indonesia. *J Infect Dis.* 2009; 200:188–94.
 37. Radji M, Putman SD, Malik A, Husrima R, Listyaningsih E. Molecular characterization of human group A rotavirus from stool samples in young children with diarrhea in Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2010 Mar;41(2):341-6.
 38. World Health Organization. *Manual of rotavirus detection and characterization methods.* 2009.
 39. Bishop RF, Unicomb LE, Soenarto Y, Suwardji H, Ristanto, Barnes GL. Rotavirus serotypes causing acute diarrhoea in hospitalized children in Yogyakarta, Indonesia during 1978-1979. *Arch Virol.* 1989; **107**(3-4):207–213.
 40. Lynne S. Garcia, David A. Bruckner. Diagnostik Parasitologi Kedokteran. Jakarta : EGC. 1996.
 41. Yamnaguchi Tomio. Atlas Berwarna Parasitologi Klinik Terjemahan Lesmana Padmasutra, R. Makimian, Monika Juliani. Jakarta: EGC. 1991
 42. Notoadmodjo, Soekidjo. Kesehatan Masyarakat: Ilmu dan Seni. Jakarta : Rineka Cipta. 2007.
 43. Sander. 2005. Hubungan Faktor Sosio Budaya dengan Kejadian Diare di Desa Candinegoro Kecamatan Wonoayu Sidoarjo. *Jurnal Medika.* 2005; 2 (2): 163-193.
 44. Hegar, Badriul dan Magdalena Sahetapy. Air Susu Ibu dan Kesehatan Saluran Cerna. 2009.
 45. Lamberti, Laura M et al. Breastfeeding and The Risk for Diarrhea Morbidity and Mortality. 2011.
 46. Lestiyo Rini. Hubungan Status Imunisasi Campak dengan Kejadian Penyakit Diare (Campak, Ispa dan Diare) dan Status Gizi Anak Usia 1-4 Tahun di Desa Karang Duren Kecamatan Tenggaran Kabupaten Semarang. Semarang. 2014.

47. Kusumaningrum, Arie. Pengaruh PHBS Tatanan Rumah Tangga Terhadap Diare Balita di Kelurahan Gandus Palembang. Universitas Sriwijaya, Palembang. 2011.
48. Suryabudhi, M. Cara Merawat Bayi dan Anak - anak (Buku Pertama). Bandung : Pionir Jaya. 2000.
49. Triska Susila Nindya, Lailatul Muniroh. Kejadian Diare dan Titik Krusial Kebiasaan Cuci Tangan Saat Pemberian Makan Bayi Umur 6-12 Bulan. Surabaya : Universitas Airlangga. 2014
50. Widjaja, M.C. Menguasai Diare dan Keracunan pada Balita. Jakarta : Kawan Pustaka. 2000.
51. Al-Gallas N, Bahri O, Bouratbeen A, et al. Etiology of Acute Diarrhea in Children and Adults in Tunis, Tunisia, with Emphasis on Diarrheagenic *Escherichia coli*: Prevalence, Phenotyping, and Molecular Epidemiology. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; 77(3): 571–582.
52. Widoyono. Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya (Edisi Kedua). Erlangga: Jakarta. 2011.
53. Mafazah Lailatul. Ketersediaan Sarana Sanitasi Dasar, Personal Hygiene Ibu Dan Kejadian Diare. *Jurnal Kesehatan Masyarakat.* 2013; 8 (2): 176-182.
54. Juli Soemirat Slamet. Kesehatan Lingkungan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 2002.
55. Siti Nu Endah, Tri Lutvie, Devy Sri Mulyani. Hubungan Pemberian ASI Eksklusif dengan Kejadian Diare pada Bayi Usia 0-6 Bulan di Wilayah Kerja Puskesmas Kawali Kabupaten Ciamis Tahun 2009. *Jurnal Kesehatan Kartika.* 2010: 26-33.