INHEALTH: INDONESIAN HEALTH JOURNAL
https://jurnal-eureka.com
e-ISSN: 2828-2663
p-ISSN: 2829-0542
DOI: https://doi.org/10.56314/inhealth.v2i1

Volume.2, Issue.1, February (2023) : 17~25
Received , 14 January 2023; *Accepted*, 29 Januari 2023; *Published*, 02 February 2023

Deteksi Entamoeba Coli Pada Anak Balita Stunting Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Nur Laela Alydrus[1]*, Rugayyah Alyidrus[2], Welna Souhuwat[3]
[1,3]Prodi D4 TLM, Universitas Megarezky, Makassar, Indonesia
[2]Prodi S1Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky, Makassar, Indonesia
Correspondence*[1]E-mail: laela.alydrus979@unimerz.ac.id,
[2]E-mail: rugayyahalyidrus@unimerz.ac.id, [3]E-mail: welnasouhuwat@gmail.com

Abstrak

Stunting pada anak merupakan masalah kekurangan gizi kronis karena pemberian makanan yang kurang sesuai dengan gizi seimbang mengakibatkan asupan gizi berkurang, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mental dan pekembangan motorik. Entamoeba coli hidup sebagai komensial di rongga usus besar. Dalam daur hidupnya terdapat stadium vegetatif dan stadium kista. Morfologinya mirip Entamoeba histolytica namun Entamoeba coli tidak bersifat pathogen sehingga jarang menyebabkan insiden. Akan tetapi, jumlah yang melebihi ambang batas maka bisa menyebabkan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat Entamoeba coli pada feses balita anak stunting menggunakan metode PCR. Jenis penelitian yang digunakan adalah desain penelitian deskriptif. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dari 16 sampel feses anak balita stunting tidak terdapat Entamoeba coli pada visualisasi Gel doc dengan target 550 bp. Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat Entamoeba coli pada sampel feses anak balita stunting dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction) dengan target 550 bp.

Kata kunci: Stunting, Entamoeba Coli, PCR

PENDAHULUAN

Stunting adalah bentuk kegagalan pertumbuhan akibat akumulasi ketidak cukupan nutrisi yang berlangsung lama mulai dari kehamilan sampai usia 24 bulan. Keadaan ini diperparah dengan tidak terimbanginya kejar tumbuh yang memadai. Penyebab masalah stunting yaitu salah satunya akibat dari penundaan IMD, pemberian ASI (Air Susu Ibu) tidak eksklusif dan penyapihan ASI terlalu dini (Sumarni, & Rismawati, 2022). Days state of the world's mothers 2012 menyatakan bahwa kejadian stunting dapat dipengaruhi

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

oleh kondisi pada masa 1000 hari kehidupan yaitu mulai dari janin berada dalam satu perut atau ketika wanita dalam kondisi hamil sampai anak tersebut berusia 2 tahun dan masa ini disebut dengan masa windows critical karena pada masa ini terjadi perkembangan otak atau kecerdasan dan pertumbuhan badan yang cepat sehingga pada masa ini jika tidak diberikan asupan gizi yang cukup pada ibu hamil, tidak diberikan ASI eksklusif dan pemberian MP-ASI yang kurang bergizi pada anak maka berpotensi terjadinya stunting. Stunting yang terjadi pada anak 0-2 dan berlanjut pada usia 3-6 akan tetap berisiko stunting pada usia pra-pubertas (7-9) (Chirstin angelina,2018).

Di Indonesia prevalensi stunting secara nasional tahun 2013 adalah 37,2% berarti terjadi peningkatan dibandingkan tahun 2010 (35,6%) dan 2007 (36,8%) berdasarkan pemantauan status gizi (PSG) pada tahun 2014 provinsi jawa timur memiliki prevalensi stunting sebesar 29%. Data dinas kesehatan kota blitar tahun 2015 balita dalam kategori pendek sebanyak 605 anak (9,71%) dan balita sangat pendek sebanyak 96 anak (1,54%). kecamatan sukorejo jumlah balita pendek sebanyak 57 anak (2,65%), kecamatan kepanjen kidul jumlah balita pedek sebanyak 174 anak (10,44%) dan balita sangat pendek 16 anak (0,96%) (Sri Mugiati,2018).

Entamoeba coli, amoeba ini merupakan spesies non-patogen pada manusia, bersifat kosmoposit, hidup komensial dalam rongga usus besar. Entamoeba coli juga mempunyai frekuensi 10-30 persen di dunia. Lingkaran hidupnya sama dengan Entamoeba histolytica (Muniroh Husni, 2016)

Infeksi Entamoeba coli bersifat asimtomatis dan non patogen. Namun parasite Entamoeba coli sering dijumpai bersamaan dengan infeksi Entamoeba Histolytica pada penderita amebiasis. Diagnosis dilakukan dengan pemeriksaan tinja. Bentuk trofozoit Entamoeba coli agak sukar dibedahkan dengan bentuk prekista Entamoeba histolytica. Kista mudah dibedahkan bila telah memiliki lebih dari 4 inti (Ni Luh Ariwati, 2019).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik amplifikasi DNA dengan target gen tertentu. PCR menggunakan suhu yang bertingkat dengan bantuan enzim taq polymerase untuk mengamplifikasi DNA.Proses PCR menggunakan 1 pasang primer untuk amplifikasi DNA target (Anis Nurwidayati, 2015).

Berdasarkan ulasan diatas, Maka perlu dilakukan penelitian menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk mengidentifikasi Entamoeba coli pada anak balita stunting.

METODE

A. Jenis Penelitian

Desain penelitian ini deskriptif. Pada penelitian ini, peneliti akan melihat apakah terdapat Entamoeba coli pada anak balita stunting menggunakan metode PCR.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan

Adapun alat yang digunakan adalah spoit, turniquet,Sentrifus Vortex, Mikropipet (1000µl, 10µl, 200µl), Pot Sampel, Tabung Eppendorf bersekrup steril 1,5 ml dan 0,5 ml steril, Water Bath Shaker, Tip Aerosol steril 30µl (Gilson), Tip Aerosol steril 20µl (Art), Tip steril (1000µl, 10µl, 200µl), Freezer, Kulkas, Rak Tabung Eppendorf, Tabung Vial PCR, Therma Cycler PCR (Hybaid Omn-E), UV Gel dock, Tangki larutan penyangga elektroda (Mupid +a), Microwave (Sanyo), Erlenmeyer 250 ml, Sisir gel, Cetakan gel, Tabung ukur 100.

Bahan yang digunakan

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini, sampel feses, kit ekstraksi (spin colomn), Ethanol absolute, buffer PCR, primer TA28 (5' GCC AAG AGA ATT GTA GAA ATCG 3'), primer reverse (5' TAA AGA TTA AGC CAT GCA TGT SK 3') dengan target band 550 bp, larutan loading dye, aquadest steril, gel agarosa 2%, Ethidium bromide, Marker 100 bp Ladder, primer Forward dan Reverse, dNTPs (deoxynucleisida trifosfat), ddH2O, enzim,buffer.

C. Prosedur kerja

a. Preparasi sampel

Feses didapatkan dari hasil buang air besar anak stunting yang dimasukkan ke dalam tabung steril yang telah di sediakan. Feses yang dimasukkan sekitar 2-5 gr lalu diberi label berupa kode sampel, nama responden, tanggal dan jam pengambilan sampel. Sampel yang telah didapatkan akan dibekukan di freezer.

b. Ekstraksi DNA

Dalam bead tube dimasukkan 200 mg sampel dan ditambahkan sebanyak 1000 µL LysisBuffer L dan 100 µL LysisAdditive A kemudian di vorteks selama 10-15 detik hingga homogen. Kemudian dipindahkan ke alat magnetik lyser dengan kecepatan alat 6000 selama 4 menit dan di sentrifus selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Pindahkan supernatan yang jernih ke microtube 1,5 mL sebanyak 600 µL. Ditambahkan 100 µL BindingBuffer I lalu di vortex 5-10 detik dan di inkubasi di kulkas/es selama 10 menit, kemudian disentrifus di 12.000 rpm selama 4 menit. Pindahkan 500 µL supernatan ke microtube 1,5 mL yang baru, ditambahkan 500 µL etanol 96% lalu di vortex 5-10 detik.

Dipindahkan 500 µL ke tabung spincolumn yang sudah dipasangkan dengan collectiontube, disentrifus 12.000 rpm selama 2 menit, dibuang supernatan yang ada dalam collectiontube kemudian dipasang kembali lalu dipipet kembali sisa supernatan pada tahap penambahan etanol dan disentrifus lagi pada kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, dibuang supernatannya dan pasang kembali collection tubenya. Ditambahkan 500 µL BindingBuffer C kemudian sentrifus 12.000 rpm selama 2 menit, buang supernatan dan pasang kembali collection tubenya. Selanjutnya, ditambahkan 500 µL WashSolution A, disentrifus

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

selama 2 menit di kecepatan 12.000 rpm, buang supernatan dan pasang kembali collection tubenya, lalu diulangi kembali tahap ini satu kali. Kemudian disentrifus pada 12.000 rpm selama 2 menit tanpa penambahan reagen apapun lalu buang supernatan dan collection tubenya. Dipindahkan spincolum ke elutiontube lalu ditambahkan 100 µL ElutionBuffer B, diinkubasi selama 1 menit di suhu ruang, kemudian disentrifus selama 2 menit di kecepatan 12.000 rpm, buang spincolumn, dan supernatan yang sudah berpindah posisi ke elutiontube siap digunakan pada tahap selanjutnya atau disimpan dalam freezer di suhu -20℃(Norgen Biotek Corp)

c. Pembuatan DNA Market

Sebanyak 25 µl DNA 100 bp ladder dimasukkan kedalam tube berisi 1 ml Blue Juice Loading Dye, dan dicampur untuk marker Label tube dicopot dan diganti menjadi marker.

d. Persiapan Running Elektroforesis

Gel yang telah beku dimasukkan ke dalam elektroforesis dan direndam dalam larutan TAE 0,5x Sebanyak 25 µl amplification hasil PCR (Kontrol Positif, Kontrol negative, sampel) ditambah dengan 2 µl Blue Juice Loading Dye (tanpa marker), dicampur dan dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel sebanyak 10 µl. Pada lubang pertama tambahkan 10 ul DNA leader 100 bp dimasukkan kedalam sumur di dekat Kontrol positif.

e. Running Elektroforesis

Elektroforesis dihidupkan dan dijalankan dari muatan negative (katode) ke muatan positif (anode) pada 100 A dan 120 menit Setelah elektroforesis dilihat pita yang terbentuk. Apabila pita sejajar dengan kontrol positif berarti hasil positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian harus jelas dan ringkas. Hasilnya harus meringkas temuan (ilmiah) daripada menyediakan data dengan sangat rinci. Harap soroti perbedaan antara hasil atau temuan Anda dan publikasi sebelumnya oleh peneliti lain.

Dalam Pembahasan, ini adalah bagian terpenting dari artikel Anda. Di sini Anda mendapatkan kesempatan untuk menjual data Anda. Buatlah Pembahasan sesuai dengan hasil, tetapi jangan ulangi hasilnya. Seringkali harus dimulai dengan ringkasan singkat dari temuan ilmiah utama (bukan hasil eksperimen). Komponen berikut harus dibahas dalam Pembahasan: Bagaimana hasil Anda berhubungan dengan pertanyaan atau tujuan awal yang diuraikan di bagian Pendahuluan (apa)? Apakah Anda memberikan interpretasi secara ilmiah untuk setiap hasil atau temuan Anda yang disajikan (mengapa)? Apakah hasil Anda konsisten dengan apa yang telah dilaporkan peneliti lain (apa lagi)? Atau ada perbedaan?

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Pengambilan sampel di Kabupaten Enrekang, sebanyak 16 sampel diperoleh dan di identifikasi di Laboratorim Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC) menggunakan metode PCR dan didapatkan hasil yang disajikan dalam bentuk tabel dan gambar sebagai berikut :

Tabel. 1 Karakteristik Responden Berdasarkan Umur Dan Jenis kelamin

No	Data Pasien	Frekuensi (n)	Presentase (%)
1.	Umur		
	a. 1 Tahun	4	25%
	b. 2 Tahun	3	19%
	c. 3 Tahun	5	31%
	d. 4 Tahun	4	25%
	Jumlah	16	100%
2.	Jenis Kelamin		
	a. Laki-laki	10	62%
	b. Perempuan	6	38%
	Jumlah	16	100%

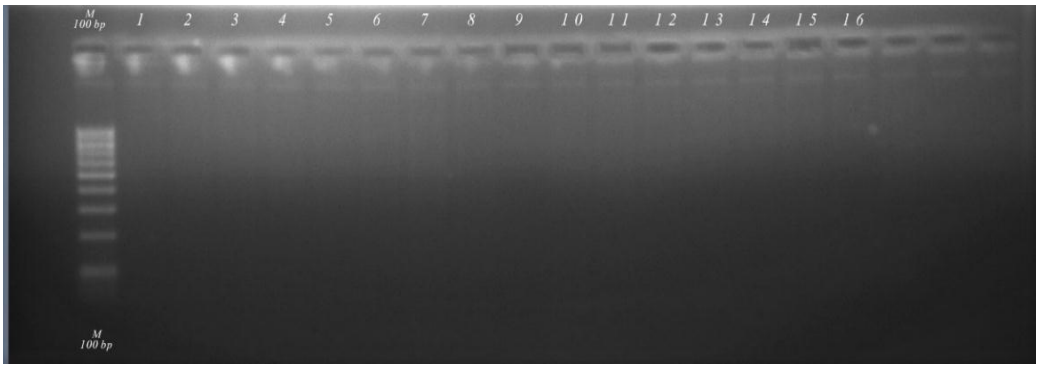
Sumber : Data Primer, 2021

Tabel. 2 Hasil Pemeriksaan Molekuler Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

No	Kode	Hasil PCR	Keterangan
1.	B1 – B16	Negatif	Tidak terdeteksi *Entamoeba coli*

Sumber : Data Primer, 2021

Berdasarkan gambar dibawah menunjukan hasil elektroforeis pada pemeriksaan sampel feses anak balita stunting menggunakan metode PCR, dengan primer TA28 target band 550 bp.



Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektoforesis Sampel Feses Balita Stunting.
Sumber : Data Primer, 2021

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Ket :
M : Marker
No 1-16 : Sampel

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di Kabupaten Enrekang dengan menggunakan sampel feses anak balita stunting. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui apakah terdapat Entamoeba coli pada feses anak stunting menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Stunting merupakan keadaan dimana balita memiliki kelainan pada pertumbuhan jika dibandingkan dengan umur. Keadaan ini dapat diukur dengan panjang atau tinggi badan yang lebih dari -2 SD (Standar deviasi) median standar pertumbuhan anak (Wahyuni et al., 2019)

penelitian ini terdapat beberapa tahap dalam pelaksanaannya, yang pertama yaitu pengumpulan sampel. Setelah itu dilakukan preparasi awal sampel untuk dilakukan proses ekstraksi sampel, pertama-tama dalam bead tube dimasukkan 200 mg sampel dan ditambahkan sebanyak 1000 µL LysisBuffer L dan 100 µL LysisAdditive A kemudian di vorteks selama 10-15 detik hingga homogen. Kemudian dipindahkan ke alat magnetik lyser dengan kecepatan alat 6000 selama 4 menit dan di sentrifus selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Pindahkan supernatan yang jernih ke microtube 1,5 mL sebanyak 600 µL. Ditambahkan 100 µL BindingBuffer I lalu di vortex 5-10 detik dan di inkubasi di kulkas/es selama 10 menit, kemudian disentrifus di 12.000 rpm selama 4 menit. Pindahkan 500 µL supernatan ke microtube 1,5 mL yang baru, ditambahkan 500 µL etanol 96% lalu di vortex 5-10 detik. Dipindahkan 500 µL ke tabung spincolumn yang sudah dipasangkan dengan collectiontube, disentrifus 12.000 rpm selama 2 menit, dibuang supernatan yang ada dalam collectiontube kemudian dipasang kembali lalu dipipet kembali sisa supernatan pada tahap penambahan etanol dan disentrifus lagi pada kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, dibuang supernatannya dan pasang kembali collection tubenya lalu disimpan dalam freezer di suhu -20° C (Norgen Biotek Corp).

Selanjutnya dilakukan proses PCR untuk menggandakan potongan DNA target, langkah ini dimulai dengan dibuatnya MIX PCR dengan cara disiapkan tube 0,2 ml kemudian dipipet 7 µl enzim dan ditambahkan masing-masing 0,5 µl primer forward, primer reverse dan nuclease free water (ddH2O), setelah itu tambahkan 1,5 µl DNA sehingga total larutan menjadi 10 µl. Setelah proses PCR selesai maka akan dilanjutkan dengan proses elektroforesis, pada proses ini molekul DNA akan bergerak didalam pori-pori Gel Agarose dengan bantuan medan listrik pada voltase tertentu, tahap akhir dari proses ini adalah pembacaan hasil visualisasi hasil amplifikasi DNA menggunakan bantuan sinar ultraviolet dan interpetasi hasil dari pita DNA yang terbentuk panjang biosper tertentu.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Berdasarkan tabel 1 menunjukan 16 responden stunting dengan umur 1 tahun berjumlah 4 responden (25%), pada umur 2 tahun berjumlah 3 responden (19%), sedangkan umur 3 tahun sebanyak 5 responden (31%), umur 4 tahun berjumlah 5 responden (25%) pada range umur 4 tahun. Sedangkan pada jenis kelamin laki-laki berjumlah 10 responden (62%) dan perempuan 6 responden (38%). Hal ini sejalan dengan Studi kohort di Ethiopia menunjukan bayi dengan jenis kelamin laki-laki memiliki risiko dua kali lipat menjadi stunting dibandingkan bayi perempuan. Anak laki-laki lebih berisiko stunting dan tau underweight dibandingkan anak perempuan. Beberapa penelitian di sub-Sahara Afrika menunjukan bahwa anak laki-laki prasekolah lebih berisiko stunting dibanding rekan perempuannya. Dalam dua penelitian yang dilakukan di tiga negara berbeda,yaitu Libya,Banglades dan Indonesia, menunjukan bahwa prevelansi stunting lebih besar pada anak laki-laki dibandingkan dengan anak perempuan. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa jenis kelamin anak adalah faktor prediktor yang kuat dari stunting dan severe stunting pada anak usia 0-23 bulan dan 0-59 bulan (Nabila, 2017).

Berdasarkan tabel 2 didapatkan hasil pemeriksaan Molekuler menggunakan metode PCR pada kode sampel B1-B16 yaitu negatif atau tidak terdeteksi Entamoeba coli. Faktor-faktor yang mempengaruhi tidak munculnya pita DNA pada band target yaitu optimasi PCR. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini menyangkut suhu denaturasi dan annealing DNA dalam mesin PCR. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya penempelan primer. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi karena primer tidak menempel atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya. Hal ini menyebabkan teramplifikasi banyak daerah tidak spesifik dalam genom tersebut. Suhu penempelan (annealing) ini ditentukan berdasarkan primer. Kerusakan stok DNA juga dapat berpengaruh yang diakibatkan oleh penyimpanan dilaboratorium yang kurang baik. Peningkatan suhu DNA akan menyebabkan konsentrasi dari DNA menurun, dimana temperature penyimpanan DNA yang dianjurkan adalah pada -20 C hingga -4C. Kerusakan struktur DNA dapat terjadi jika berada pada temperatur yang tinggi karena DNA terdiri dari dua jalinan yang dihubungkan dengan ikatan hidrogen, dimana pada suhu tinggi ikatan tersebut sangat rentan untuk mengalami kerusakan.

Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Sirilak Sukprasert dkk di Thailand tahun 2017 yang menyatakan bahwa Penelitian ini menggunakan metode PCR dengan primer genus-spesifik yang dapat mengam-plifikasi semua spesies Entamoeba Sp (Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, Entamoeba moshkovskii, Entamoeba poleki, Entamoeba coli, dan Entamoeba

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

hartmanni), memperoleh hasil 27% positif dari 137 yang diperiksa menggunakan PCR dengan Primer genus spesifik Entamoeba sp.

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat Entamoeba coli pada sampel feses anak balita stunting dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction) dengan target 550 bp. Disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan terhadap komposisi parasit yang terdapat dalam mikrobiota saluran cerna anak stunting dan digunakan sampel darah.

RFERENSI

Anis Nurwidayati. (2015). "Aplikasi Teknik Diagnosis Schistomiasis Berbabis Molekuler".

Christin angelina f, dkk. (2018). faktor kejadian stunting balita berusia 6-23 bulan di provinsi lampung

Mitra. (2015). "Permasalahan Anak Pendek (Stunting) dan Intervensi Untuk MencegahTerjadimya Stunting. Pekanbaru."

Enrekang, B. P. S. K. (2018). Kabupaten Enrekang Dalam Angka.

Kharismatika Widyastuti, I. (2011). Prevalensi Infeksi Amebiasis Pada Siswa Madrasah Ibtidaiyah Islamiyah Desa Limbang Wetan Kecamatan Buaran Pekalongan, Jawa Tengah.

Muniroh Husni. (2016). Praktikum Parasitologi dan Mikologi Bidang Keahlian Kesehatan Untuk SMK/MAK Kompetensi Analisis Kesehatan.

Nabila, L. N. (2017). Faktor-Faktor yang berhubungan dengan Kejadian Stunting pada Balita Usia 25-59 bulan di Posyandu wilayah Puskesmas Wonosari II.

Muniroh. (2020). identifikasi protozoa dan nemotoda usus pada anak balita penderita stunting di desa bone-bone kabupaten enrekang menggunakan metode kultur dengan mikroskopik 2020.

Tjut Mariam Zanaria, M. (2016). PROTOZOA.

Rahman Jabal, A., Ratnasari, A., & Madani Rusli, N. (2020). Prevalensi Protozoa Penyebab Diare di Kelurahan Antang, Kota Makassar.

Sri Mugianti, dkk, (2018). "Faktor Penyebab Anak Stunting Usia 25-60 Bulan di Kecamatan Sukorejo, Kota Blitar."Analisis determinan kejadian Growth failure (Stunting) pada anak balita usia 12-36 bulan di wilayah

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

pegunungan desa Bontongan Kecamatan Baraka Kabupaten Enrekang. (2019). Al-Sihah : Public Health Science Journal, 11, 50–64.

Sumarni, & Rismawati. (2022). Pengaruh Teknik Hypnobreast Feeding Terhadap Kelancaran ASI Pada Ibu Nifas di Wilayah UPT Puskesmas Tellu Siattinge Kabupaten Bone. Inhealth : Indonesian Health Journal, 1(2), 139~147. https://doi.org/10.56314/inhealth.v1i2.58

Wahyuni, N., Ihsan, H., & Mayangsari, R. (2019). Faktor Risiko Kejadian Stunting pada ¬ Balita Usia 24 - 36 Bulan di Wilayah Kerja Puskesmas Kolono The Risk Factors of Stunting in Toddlers Aged 24 - 36 Months Old in The Working Area of Kolono Public Health Center. 9, 212–218.

Yusnita Sari, S., Ersyad Hamda, M., Imam Cahyadi, A., & Maulinda Utami, J. (2017). Deteksi entamoeba sp. dan telur cacing pada sumber air bersih di wilayah kumuh perkotaan di kota bandung. 38.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License