



THE MOST PRECIOUS GENE IN DETECTION OF *Escherichia Coli* WITH PCR AND QPCR METHOD: A LITERATURE REVIEW

GEN YANG PALING BERPENGARUH DALAM MENDETEKSI *Escherichia Coli* DENGAN METODE PCR DAN QPCR: LITERATUR REVIEW

Nyoman Yudi Antara¹, Ida Ayu Preharsini Kusuma²

^{1,2} Program Studi Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Halu Oleo

E-mail: yudiantaranyoman@gmail.com

ARTICLE INFO

Correspondent:

Ida Ayu Preharsini Kusuma
yudiantaranyoman@gmail.com

Keywords:

**Diarrhea, *Escherichia coli*,
Gen, PCR**

Website:

<https://idm.or.id/JSCR/index.php/JSCR>

Page: 1487 - 1499

ABSTRACT

Diarrhea is a disease that can occur in both adults and children. It is also a prevalent disease in many countries, particularly in developing nations like Indonesia. Diarrhea is caused by various types of microorganisms, one of which is *Escherichia coli* (*E. coli*). The *E. coli* bacteria have several types that cause diarrhea, including enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), and diffusely adherent *E. coli* (DAEC). One of the detection methods currently being developed is the PCR method. Therefore, this review focuses on identifying the genes used to determine the strain type of *E. coli* bacteria. Based on the review, EPEC and ETEC strains have been the most extensively studied. Additionally, the PCR method is used more frequently (86.74%) compared to qPCR (13.16%). The most commonly used genes for detecting strain types are *stx1* and *stx2* (STEC), *ST/est* and *LT/elt* (ETEC), *eae* and *bfpA* (EPEC), *ipaH* (EIEC), *DaaE* (DAEC), and *aggR* and *CVD432* (EAEC). These frequently used genes in this review can serve as markers for detecting *E. coli* and its types.

Copyright © 2024 JSCR. All rights reserved.

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Koresponden Ida Ayu Preharsini Kusuma <i>yudiantaranyoman@gmail.com</i> Kata kunci Diare, Escherichia coli, Gen, PCR Website: <i>https://idm.or.id/JSCR/index.php/JSCR</i> Hal: 1487 - 1499	Diare adalah penyakit yang dapat terjadi pada dewasa maupun anak-anak. Diare juga menjadi penyakit yang terjadi di banyak negara khususnya negara berkembang seperti Indonesia. Diare disebabkan oleh berbagai jenis mikroorganisme salah satunya <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>). Bakteri <i>E. coli</i> mempunyai beberapa tipe yang menjadi penyebab terjadinya diare yaitu diantaranya <i>E. coli</i> (EPEC), enterohaemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC), enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC), enteroggregative <i>E. coli</i> (EAEC), enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC) dan diffusely adherent <i>E. coli</i> (DAEC). Salah satu metode deteksi yang berkembang saat ini adalah dengan metode PCR. Untuk itu review ini berfokus pada penentuan gen-gen yang digunakan untuk menentukan tipe strain dari bakteri <i>E. coli</i>. Berdasarkan hasil review, bakteri strain EPEC dan ETEC menjadi tipe strain yang paling banyak diteliti. Metode yang digunakan lebih banyak menggunakan PCR (86,74%) dibandingkan qPCR (13,16%). Selain itu, didapatkan juga gen-gen yang paling sering digunakan untuk mendeteksi tipe strain <i>E. coli</i>, yaitu gen <i>stx1</i> dan <i>stx2</i> (STEC), gen <i>ST/est</i> dan <i>LT/elt</i> (ETEC), gen <i>eae</i> dan <i>bfpA</i> (EPEC), gen <i>ipaH</i> (EIEC), gen <i>DaaE</i> (DAEC), dan gen <i>aggR</i> dan <i>CVD432</i> (EAEC). Oleh sebab itu, beberapa gen yang sering diteliti yang dihasilkan dari review ini dapat menjadi acuan untuk dijadikan sebagai marker dalam mendeteksi penyakit <i>E. coli</i> beserta tipenya. Copyright © 2024 JSCR. All rights reserved

PENDAHULUAN

Penyakit diare didefinisikan sebagai peningkatan dalam pengeluaran tinja yang berhubungan dengan meningkatnya pergerakan usus dan likuiditas dari tinja (Kiesau, 2007). Diare dapat menyerang anak-anak maupun dewasa. Diketahui penyakit diare menjadi penyebab kematian terbanyak kedua pada anak-anak dibawah lima tahun. Sebanyak 525.000 anak dibawah 5 tahun diperkirakan meninggal setiap tahunnya, serta terdapat 1.7 juta kasus diare setiap tahun di seluruh dunia (WHO, 2023). Studi yang dilakukan pada 195 negara menemukan bahwa kasus kematian terbanyak khususnya pada anak-anak dibawah 5 tahun terdapat pada negara-negara yang berpenghasilan rendah dan menengah yang melingkup negara-negara di sub sahara Afrika dan Asia Tenggara (Troeger et al., 2018). Kejadian diare yang tinggi pada suatu daerah dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti durasi menyusui, sumber air bersih (minum), kebersihan dan sanitiasi, usia serta tingkat pendidikan dari Ibu (Ugboko et al., 2020). Menariknya, faktor lainnya seperti peralihan cuaca dan kekeringan juga berhubungan dengan peningkatan kasus diare pada anak-anak (Dimitrova et al., 2023).

Diare dapat disebabkan oleh beberapa jenis mikroorganisme seperti enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), *Vibrio cholerae*, dan rotavirus yang menyebabkan diare akut cair (Sarker et al., 2021). *Shigella sp*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Schistosoma*

mansoni, *Entamoeba histolytica* adalah bakteri dan parasit penyebab disentri (Dejkan & Hatam-Nahavandi, 2021). Beberapa bakteri tersebut, seperti *E.coli* dan *Shigella* juga dapat menyebabkan diare persisten atau diare kronis (Dupont, 2016). Terdapat banyak spesies dari bakteri, parasit maupun virus yang juga dapat menyebabkan penyakit diare. Jenis bakteri yang paling banyak menjadi penyebab diare di dunia secara berurutan adalah *E. coli* 10% sampai 25%, *Shigella* 10%, *Salmonella* 3%, *Campylobacter* 3 sampai 6% (Mikhail et al., 1990; Notario et al., 1996). Bakteri seperti *Shigella* dan *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) yang menghasilkan toksin tahan panas adalah salah satu patogen terpenting yang terkait dengan diare sedang hingga berat (MSD) pada anak di bawah 5 tahun (Kotloff et al., 2017).

Diare yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* adalah tergolong dalam diare yang bukan menyebabkan inflamasi, dan biasanya berasal dari air yang dikonsumsi. *E. coli* tergolong kedalam keluarga *Enterobacteriaceae* dan termasuk kedalam bakteri Gram negatif. Bakteri *E.coli* yang dapat menyebabkan diare tergolong dalam strain enterotoxigenic yaitu strain yang dapat memproduksi enterotoxin (Evans & Evans, 1996). Seiring berkembangnya pengetahuan, beberapa strain *E. coli* telah berkembang untuk dapat menyebabkan penyakit pada gastrointestinal, saluran kemih, atau sistem saraf pusat. Strain *E. coli* penyebab diare, setidaknya dibagi menjadi 6 kategori berdasarkan skema patogeniknya yaitu *enteropathogenic E.coli* (EPEC), *enterohaemorrhagic E. coli* (EHEC), *enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *enteroaggregative E. coli* (EAEC), *enteroinvasive E. coli* (EIEC) dan *diffusely adherent E. coli* (DAEC) (Nataro & Kaper, 1998).

Penyakit diare dapat menjadi masalah yang sangat serius apabila tidak dapat dikendalikan dan ditangani dengan cepat. Untuk dapat menangani hal tersebut diperlukan diagnosis yang cepat dan tepat. Saat ini metode yang masih banyak digunakan untuk mendeteksi penyebab diare adalah metode mikroskopis dengan pewarnaan Gram, media kultur, pengujian toksin, pengujian antigen-antibodi, dan tes biokimia (O'Donnell, 2012). Beberapa tes tersebut masih dikategorikan sebagai metode diagnostik secara konvensional. Metode konvensional memiliki akurasi yang baik namun memiliki beberapa kelemahan seperti waktu pengerjaan yang lama, dan melelahkan (Loman et al., 2013; Platts-Mills et al., 2013). Selain itu, pada jenis bakteri yang sulit untuk dikultur akan mengakibatkan tidak terdeteksinya bakteri secara baik. Meskipun demikian, metode yang paling banyak digunakan saat ini adalah metode pemeriksaan tinja dengan mikroskop, metode ini juga membutuhkan syarat seperti peralatan, pelatihan yang cukup, dan waktu yang lama, serta kurang sensitif. Untuk dapat menutupi kekurangan tersebut, telah dikembangkan metode dengan berbasis molekuler yaitu memanfaatkan DNA atau RNA sebagai bahan dasar mendeteksi penyebab penyakit diare. Metode tersebut meliputi, PCR, metagenomik, dan bioinformatika (Ugboko et al., 2020).

Review dan analisis ini mencoba melakukan skrining gen menggunakan konsep PCR dengan menggunakan primer dari gen yang didapatkan dari setiap varian bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Dengan pendekatan PCR kita dapat mendeteksi varian bakteri dengan lebih cepat, sehingga pasien bisa mendapatkan pengobatan yang tepat. Pemilihan gen yang tepat dapat membantu keakuratan dalam mendeteksi adanya bakteri *Escherichia coli* penyebab diare.

Mekanisme Infeksi *Escherichia coli*

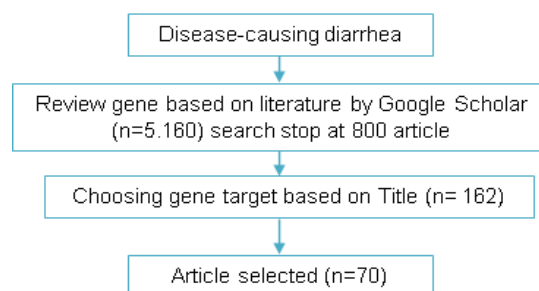
Berdasarkan jenis *E. coli* yang menginfeksi, mempunyai masing-masing cara untuk dapat mengenali atau menginfeksi inangnya. EPEC menginfeksi dengan cara melekat

pada eritrosit usus halus, dan merusak bentuk mikroivli normal kemudian menginduksi penempelan yang spesifik dan menyebabkan lesi. Selanjutnya terjadi gangguan sitoskeletal dengan respon inflamasi dan diare (permulaan penempelan-protein translokasi oleh sekresi tipe III-pembentukan alas). EHEC juga menginduksi terjadinya penempelan dan lesi, tetapi terjadi pada usus besar. Perbedaannya adalah EHEC berelaborasi dengan shiga toxin (Stx), selanjutnya terjadi penyerapan sistemik yang mengakibatkan potensi mengancam keselamatan hidup. ETEC juga melakukan hal yang sama seperti EPEC dan EHEC kemudian menginduksi diare berair dengan mensekresikan enterotoksin yang labil terhadap panas (LT) dan/atau stabil terhadap panas. EAEC melekat pada epitel usus kecil dan besar dalam biofilm tebal dan menguraikan enterotoksin sekretori dan sitotoksin. EIEC menginvasi sel epitel kolon, melisiskan fagosom dan bergerak melalui sel dengan mengnukleasi mikrofildamen aktin. Bakteri mungkin bergerak secara lateral melalui epitel dengan penyebaran sel ke sel secara langsung atau mungkin keluar dan masuk kembali ke membran plasma baso-lateral. DAEC memunculkan efek transduksi sinyal karakteristik dalam enterosit usus kecil yang bermanifestasi sebagai pertumbuhan proyeksi seluler seperti jari yang panjang, yang membungkus bakteri. AAF, fimbriae kepatuhan agregat; BFP, pilus pembentuk bundel; CFA, antigen faktor kolonisasi; DAF, faktor percepatan peluruhan; EAST1, enteroaggregative E. coli ST1; LT, enterotoksin yang tidak tahan panas; ShET1, Shigella enterotoksin 1; ST, enterotoksin tahan panas (Kaper et al., 2004)

METODE PENELITIAN

Metode Pencarian dan Pemilihan Gen

Penelitian ini menggunakan pendekatan telaah pustaka. Artikel telaah dilakukan di Google Scholar dari tahun 2019-2024 menggunakan kata kunci; "Escherichia coli" DAN Deteksi molekuler ATAU Deteksi molekuler DAN "Ekspresi gen" DAN PCR ATAU qPCR ATAU RT-PCR DAN Manusia DAN Anak ATAU Anak-anak DAN Diare. Tujuan penggunaan kata kunci ini adalah untuk mencari gen terbaik dan umum pada E. coli yang menyebabkan diare. Artikel dipilih berdasarkan kriteria inklusi yaitu artikel harus mengandung gen deteksi pada pasien diare dan mengandung hasil PCR atau RT PCR (jumlah gen terdeteksi pada bakteri atau cq atau ct. Pada penelitian ini berfokus pada seberapa sering gen tersebut digunakan dalam penelitian penentuan keberadaan *Escherichia coli*.

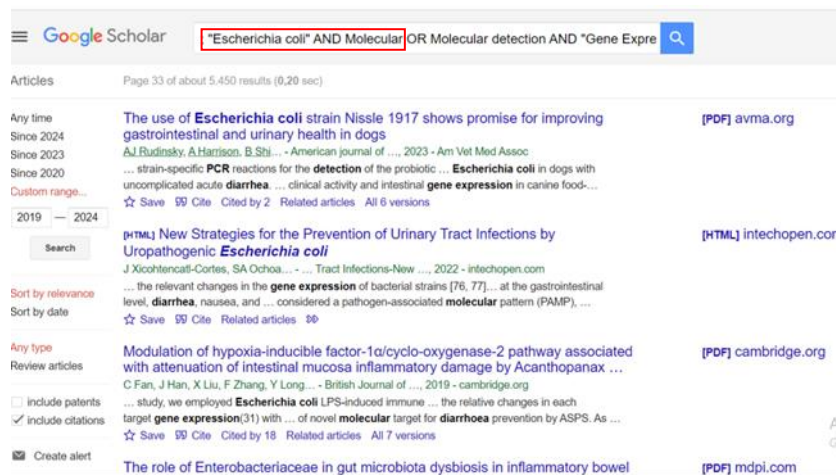


Gambar 1. Skema pemilihan artikel

HASIL DAN PEMBAHASAN

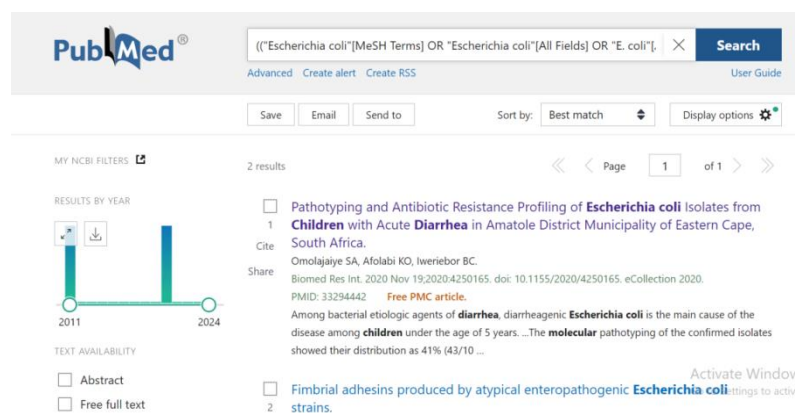
Berdasarkan hasil pencarian artikel yang dilakukan di Google Scholar, ditemukan 5.160 artikel dan 162 artikel yang memenuhi syarat berdasarkan dari

judul dan abstrak. Dari 162 artikel terdapat 70 artikel yang masuk dalam kategori inklusi pada penelitian ini. Terdapat perbedaan jumlah yang sangat jauh antara artikel yang didapat dengan jumlah artikel yang muncul pada google scholar search dan pencarian dihentikan pada page 40 atau 800 article. Hal ini disebabkan karena google scholar mempunyai tipe pencarian yang acak dan tidak menempatkan artikel terbaru sebagai posisi teratas dari pencarian. Selain itu, google scholar mencari dengan kata perkata sehingga tingkat kespesifikan dari pencarian menjadi lebih rendah (Beel & Gipp, 2009). Lihat gambar 2



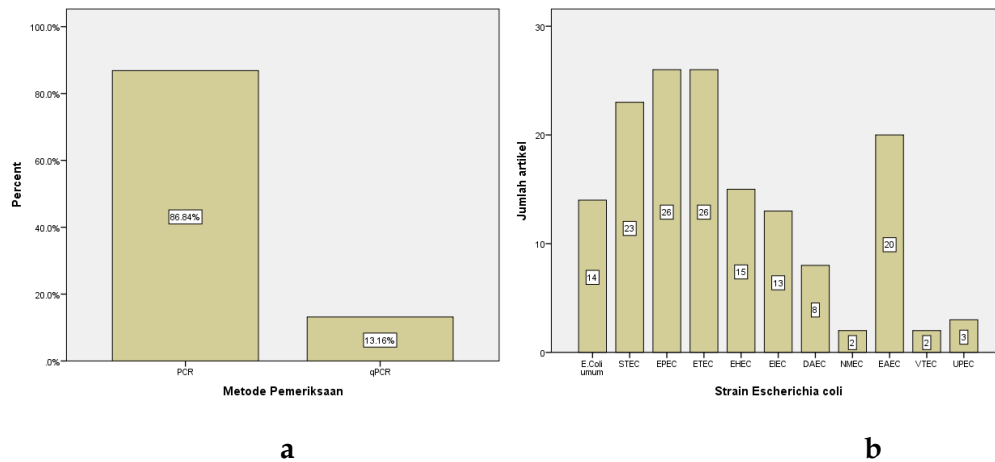
Gambar 2. Hasil pencarian google scholar. Didapatkan 5.450 artikel hasil pencarian

Hasil ini berbanding terbalik dengan kata kunci yang sama digunakan pada PubMed dengan kata kunci yang telah disesuaikan dengan metode pencarian artikel pada pubmed dengan rentang tahun yang sama yaitu tahun 2019-2024. Kata kunci yang digunakan pada pencarian artikel di Pubmed adalah ("Escherichia coli"[MeSH Terms] OR "Escherichia coli"[All Fields] OR "E. coli"[All Fields]) AND (Molecular OR "Molecular detection") AND "Gene Expression" AND (PCR OR qPCR OR RT-PCR) AND (Child OR Children) AND Diarrhea). Dari pencarian tersebut hanya ditemukan 2 artikel yang sesuai dengan kata kunci diatas. Lihat gambar 3. Dari perbedaan ini maka peneliti memutuskan untuk mencari artikel menggunakan *database Google Scholar* meski tingkat kespesifikan yang rendah dan membutuhkan waktu yang lebih banyak dalam pencarian artikel yang diinginkan.



Gambar 3. Hasil pencarian menggunakan data base PubMed. Didapatkan 2 artikel yang terkait dengan kata kunci

Hasil yang didapatkan dari penelusuran artikel menggunakan kata kunci berbahasa Inggris didapatkan bahwa penelitian mengenai strain ETEC dan EPEC merupakan jenis terbanyak yang dilakukan penelitian diikuti oleh STEC dan selanjutnya jenis EAEC (Gambar 4a). Serta sebagian besar artikel menggunakan metode pemeriksaan berbasis PCR (86,84%) untuk mendeteksi keberadaan *E. coli* dan jenisnya.



Gambar 4. a. Jumlah artikel berdasarkan strain yang didapatkan dalam artikel. b. Metode pemeriksaan yang digunakan dalam setiap artikel yang ada dalam penelitian

Pemilihan Gen Berdasarkan Literatur

Escherichia coli umum

a. *uidA*

Berdasarkan hasil telaah pustaka terdapat beberapa gen yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan *E. coli* secara umum yaitu gen *uidA* (7 artikel) sebagai salah satu gen yang paling banyak diteliti kemudian diikuti oleh gene *eae* (6), *stx1* (4) dan *stx2* (4) yang sama banyak. Gen *uidA* atau yang dikenal sebagai gen penyandi protein *beta-glucuronidase* merupakan gen yang ada pada bakteri *E. coli* dan mempunyai kemampuan untuk mereaktivasi konjugat obat *glucoronide*. Proses aktivasi senyawa tersebut dapat secara signifikan merusak saluran pencernaan (Roberts et al., 2013). Gen *uidA* telah dikenal sebagai salah satu gen untuk mendeteksi keberadaan bakteri *E. coli* baik di lingkungan maupun di feses pada penderita diare (Lasalde et al., 2005). Hal ini dibuktikan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan hasil positif (terdeteksi) gen *uidA* dengan metode PCR untuk mendeteksi bakteri keberadaan *E. coli* (Igbokwe et al., 2015; Nasser et al., 2023; Thavaththurai & Amarasekara, 2021; Titilawo et al., 2015). Namun, selain dari gen *uidA* masih terdapat banyak gen yang ditemukan dalam studi literatur ini yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan *E. coli* secara umum (Lihat Supplementary).

STEC (*Shiga Toxin-producing Escherichia coli*) dan EHEC (*Enterohaemorrhagic Escherichia coli*)

a. *Stx1* dan *Stx2*

Berdasarkan penelitian ini, STEC dan EHEC sama-sama ditentukan tipenya berdasarkan pengujian keberadaan gen *stx1* dan *stx2* dengan beberapa gen *eae* sebagai tambahan pemeriksaan. *Stx* (*shiga-toxin*) merupakan salah satu gen yang memproduksi toksin dan ditemukan dalam *Shigella dysenteriae* 1 dan dalam beberapa serogroup *E. coli*. Selain *stx1*, beberapa jenis *E. coli* memproduksi tipe lain dari *stx*

yaitu *stx2*. *Stx2* mempunyai sifat yang sama dalam sifat toksinnya namun berbeda secara antigenik. Karena keberadaan subtype dari masing-masing toksin telah diidentifikasi, protootipe dari toksin pada masing-masing grup *stx* dikenal dengan *Stx1a* atau *Stx2a*. *Stx1a* dan *Stx2a* juga menunjukkan perbedaan dalam sitotoksitas pada berbagai jenis sel, mengikat secara berbeda pada analog atau mimik reseptor, menginduksi respons kemokin diferensial, dan memiliki beberapa karakteristik struktural yang khas (Melton-Celsa, 2014).

EHEC merupakan subtype dari STEC dan metode standar untuk mendeteksi keberadaan strain ini biasanya menggunakan gen *stx*, *eae* dan *O-serogroup-specific gene*. Kelemahan dari gen *stx* dalam menentukan strain *E.coli* tipe EHEC yaitu masih ditemukannya hasil yang positif pada beberapa strain bukan EHEC (Delannoy et al., 2012; Delannoy, Beutin, & Facha, 2013). Namun, beberapa alternatif gen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan EHEC, beberapa gen diantaranya yaitu *espK* *espV*, dan *ureD*, atau Z2098 (Delannoy, Beutin, & Fach, 2013). Dalam studi literatur ini, terdapat beberapa gen yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan STEC atau EHEC selain *Stx1*, *Stx2*, dan *eae* yaitu diantaranya *ehxA*, *wzxO45*, *wzxO103*, *escV*, *ent*, *hlyA*, *stla*, *ltl*, dan *fliC7*.

ETEC Enterotoxigenic Escherichia coli

a. ST/est

Heat stable toxin (ST) adalah enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *E.coli* khususnya ETEC yang berasal dari manusia, begitu juga dengan *heat-labile enterotoxin (LT)* (Sack, 1980). Enterotoksin ST merupakan toksin monomerik yang mengandung beberapa residu sistein dimana ikatan disulfida dihitung sebagai stabilitas panas dari ETEC. ST dapat diklasifikasikan menjadi dua genotipe utama, yaitu STa dan STb; biasanya, galur ETEC yang diisolasi dari manusia menghasilkan STa (STI) yang dikodekan oleh gen *estA*, sedangkan STb (atau STII) sebagian besar diproduksi oleh galur ETEC hewan. Terdapat dua subtype STa yang berbeda, yaitu ST_h (atau STI_b) dan ST_p (atau STI_a). Gen STa dan STb secara dominan ditemukan pada plasmid sedangkan beberapa gen *ST-encoding* ditemukan di transposon. Gen STa tidak hanya ditemukan pada ETEC namun juga ditemukan di beberapa bakteri gram negative, termasuk *Yersinia enterocolitica* dan *V. cholerae* non-OI (Rao, 1985; Tang et al., 2015).

Mekanisme patogenesis dari STa adalah dengan cara berikatan dengan reseptor *membrane-spanning guanylate cyclase (GC-C)*. Ikatan tersebut menstimulasi aktivitas *guanylate cyclase*, menyebabkan peningkatan kadar GMP siklik intraseluler, yang akhirnya menstimulasi produksi sekresi klorid dan menghambat penyerapan NaCl (Tang et al., 2015). Meskipun mekanisme enterotoksin STa menyebabkan terjadinya diare telah cukup jelas diketahui, namun kontribusi signifikan dari STa terhadap proses infeksi masih belum cukup jelas. Pada penelitian ini, sebagian besar artikel memilih gen STa atau *estA* sebagai referensi untuk mendeteksi keberadaan ETEC. Tidak menutup kemungkinan bahwa terdapat gen-gen lainnya yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam menentukan keberadaan ETEC.

b. LT/elt

Gen penyandi LT disebut *elt* atau *etx* dan berlokasi di plasmid, yang juga mengandung gen mengkode ST atau CFA. Gen-gen tersebut disusun sebagai cluster A-B di mana situs pengikatan ribosom B dan wilayah pengkodean A tumpang tindih. Subunit A dan B disintesis secara individual dan disekresikan melalui membran

bagian dalam ditambah dengan pemrosesan rangkaian sinyal khasnya. Di periplasma, subunit berkumpul menjadi konfigurasi A1B5 matang, yang disatukan oleh ikatan non-kovalen. Empat residu terakhir dari subunit A diperlukan untuk stabilitas struktur holotoxin. Terdapat 3 mekanisme cara LT dapat menyebabkan diare salah satunya adalah pengikatan holotoksin LT pada membrane sel host, terjadi endositosis dan bertranslokasi kedalam sel yang melibatkan proses transportasi retrograde trans-golgi. Melalui serangkaian proses, saluran utama kloride (CFTR) dari sel epitel diaktifkan. Hal ini menyebabkan peningkatan sekresi ion klorida yang disekresikan oleh sel crypt (Tang et al., 2015).

EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli)

a. eae

Gen *eae* adalah gen yang berlokasi di LEE (*Locus of Enterocyte Effacement*). Gen *eae* mengkode suatu protein bernama Intimin. Intimin merupakan protein outer-membran yang berperan sebagai mediator pelekatan EPEC dengan sel epitel di usus. Gen *eae* ditemukan pada *E.coli* tipe EPEC, EHEC serta dapat ditemukan pada Strain *Citrobacter rodentium* dan *Hafnia alvei* yang mampu menghasilkan A/E *histopathology* (*attaching and effacing histopathology*). Namun keberadaan dari *eae* tidak ditemukan pada flora normal, strain ETEC, dan spesies bakteri lainnya yang tidak memproduksi lesi A/E. Intimin sangat penting dalam virulensi EPEC khususnya strain E2348/69, akan tetapi masih dibutuhkan beberapa factor virulen untuk suatu penyakit (Tang et al., 2015). Dalam penelitian ini, semua artikel yang mendeteksi keberadaan EPEC menggunakan gen *eae* sebagai primer.

b. bfpA

Gen *bfpA* adalah suatu gen yang mengkode protein *Bundle-forming Pili* (BFP). Protein BFP merupakan protein yang diproduksi oleh strain *E.coli* yaitu *typical* EPEC (tEPEC). BFP diperlukan untuk dua hal dari EPEC yang dapat dipelajari secara in vitro dan mungkin memerankan peran penting dalam kolonisasi bakteri secara in vivo. Pertama BFP diperlukan untuk autoagregasi, yaitu kemampuan dari EPEC untuk secara reversible membentuk kluster multiseluler dalam kultur cair (Bieber et al., 1998; Blank et al., 2000). Kedua BFP digunakan sebagai pelekatan lokal, yang mana memungkinkan EPEC mempunyai kapasitas untuk membentuk mikrokoloni pada sel epitel (Cravioto et al., 1979; Scaletsky et al., 1984). Pada penelitian ini gen *bfpA* merupakan gen yang paling dominan digunakan dalam penelitian indentifikasi EPEC.

EIEC (Enteroinvasive Escherichia coli)

a. ipaH

Gen *ipaH* merupakan gen yang ditemukan pada *Shigella* yang mengkode protein E3 Ubiquitin-ligase. Protein tersebut memodulasi ubiquitinasi seluler yang menyebabkan degradasi pada protein sel host (Perrett et al., 2011). Gen *ipaH* diketahui mampu mentrigger kematian sel dan memodulasi sinyal inflamasi pada host selama infeksi bakteri. Namun, substrat spesifik dari *ipaH* protein masih belum diketahui secara pasti (Maculins et al., 2016). Dalam review ini, gen *ipaH* dideteksi terbanyak menggunakan metode PCR. Metode yang lebih baik jika PCR dikombinasikan dengan ELISA (Sethabutr et al., 2000).

DAEC (DEFFUSELY ADHERENT *Escherchia coli*)**a. *DaaE***

Gen *daaE* adalah gen penyandi protein F1845 fimbrial protein. DaaE adalah bagian dari keluarga Dr adhesin bakteri *E.coli*. Hemagglutinin dari *E.coli* uropatogenik memediasi perlekatan pada saluran kemih bagian atas. Adhesin ini mengikat antigen golongan darah Dr adhesin dan juga mengaglutinasi eritrosit manusia dengan adanya D-mannosa (hemagglutinin resisten mannan (MRHA)). C1845 adalah galur yang bertanggung jawab atas penyakit diare (UniProt, 2024). Dalam penelitian ini, gen *daaE* menjadi gen yang paling banyak dijadikan referensi untuk mendeteksi keberadaan DAEC, namun ada beberapa gen yang dapat dijadikan referensi pendamping selain *daaE* diantaranya, *afaB*, *daaC*, *dad*, *asp*, *pet*, *sigA*, *sat*, *espC*, dan *pic*.

EAEC (ENTEROAGGREGATIVE *Escherichia coli*)**a. *aggR***

Hasil dari penelitian review ini menunjukkan bahwa gen *aggR* adalah gen yang paling banyak menjadi referensi penelitian untuk mendeteksi keberadaan EAEC. AggR dikenal sebagai regulator transkripsi, yang dikodekan oleh plasmid pAA, berperan sebagai pengatur utama virulensi EAEC, mengendalikan berbagai gen virulensi yang ditemukan pada plasmid pAA (termasuk pembentukan AAF) serta gen pada kromosom. EAEC menempel pada mukosa dengan membentuk lapisan lendir tebal yang mengumpulkan bakteri, memungkinkan mereka bertahan hidup. Produksi biofilm ini terkait dengan fungsi gen *fis* dan *yafK*. Protein berukuran 10 kDa yang disekresikan dan dikodekan oleh plasmid pAA, dikenal sebagai protein anti-agregasi (Aap) atau dispersin, membantu pergerakan bakteri di permukaan sel untuk agregasi dan penempelan berikutnya (Tang et al., 2015).

b. *CVD432*

Gen selanjutnya yang menjadi temuan dalam review ini adalah CVD432. Gen ini merupakan sebuah urutan fragmen DNA kriptik, atau adhesi agregatif (AA), dari plasmid pAA, telah dimanfaatkan sebagai penanda molekuler untuk EAEC dalam penelitian epidemiologi. Faktor virulensi potensial lainnya yang umum pada EAEC termasuk enterotoksin tahan panas EAST1 dan enzim mukinase yang disebut 'Pic' (Tang et al., 2015).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil review, bakteri strain EPEC dan ETEC menjadi tipe strain yang paling banyak diteliti. Adapun metode yang digunakan lebih banyak menggunakan PCR (86,74%) dibandingkan qPCR (13,16%). Selain itu, didapatkan juga gen-gen yang paling sering digunakan untuk mendeteksi tipe strain yaitu gen *stx1* dan *stx2* (STEC), gen *ST/est* dan *LT/elt* (ETEC), gen *eae* dan *bfpA* (EPEC), gen *ipaH* (EIEC), gen *DaaE* (DAEC), dan gen *aggR* dan *CVD432* (EAEC). Berdasarkan beberapa gen yang sering digunakan dalam penelitian, maka hasil review ini dapat dijadikan rekomendasi untuk dijadikan sebagai marker untuk mendeteksi penyakit *E. coli* dengan tipe tertentu. Penentuan tipe dari bakteri *E.coli* akan membantu diagnosis menjadi lebih baik. Penelitian selanjutnya bias menggunakan pendekatan degenerate primer untuk mendesign primer serta menggunakan metode qPCR untuk melihat ekspresi dari masing-masing gen pada masing-masing tipe strain.

DAFTAR PUSTAKA

- Beel, J., & Gipp, B. (2009). Google scholar's ranking algorithm: The impact of articles' age (an empirical study). *ITNG 2009 - 6th International Conference on Information Technology: New Generations, April*, 160-164. <https://doi.org/10.1109/ITNG.2009.317>
- Bieber, D., Ramer, S. W., Wu, C. Y., Murray, W. J., Tobe, T., Fernandez, R., & Schoolnik, G. K. (1998). Type IV pili, transient bacterial aggregates, and virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Science (New York, N.Y.)*, 280(5372), 2114-2118. <https://doi.org/10.1126/science.280.5372.2114>
- Blank, T. E., Zhong, H., Bell, A. L., Whittam, T. S., & Donnenberg, M. S. (2000). Molecular variation among type IV pilin (bfpA) genes from diverse enteropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infection and Immunity*, 68(12), 7028-7038. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.12.7028-7038.2000>
- Cravioto, A., Gross, R. J., Scotland, S. M., & Rowe, B. (1979). An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Current Microbiology*, 3(2), 95-99. <https://doi.org/10.1007/BF02602439>
- Dejkam, A., & Hatam-Nahavandi, K. (2021). Dysentery in Children. *Iranian Journal of Public Health*, 50(9), 1930. <https://doi.org/10.18502/IJPH.V50I9.7082>
- Delannoy, S., Beutin, L., & Fach, P. (2012). Use of clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequence polymorphisms for specific detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of serotypes O26:H11, O45:H2, O103:H2, O111:H8, O121:H19, O145:H28, and O157:H7 by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(12), 4035-4040. <https://doi.org/10.1128/JCM.02097-12>
- Delannoy, S., Beutin, L., & Fach, P. (2013). Discrimination of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) from Non-EHEC strains based on detection of various combinations of Type III effector genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(10), 3257-3262. <https://doi.org/10.1128/JCM.01471-13>
- Delannoy, S., Beutin, L., & Facha, P. (2013). Towards a molecular definition of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC): Detection of genes located on O Island 57 as markers to distinguish EHEC from closely related enteropathogenic *e. coli* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(4), 1083-1088. <https://doi.org/10.1128/JCM.02864-12>
- Dimitrova, A., Gershunov, A., Levy, M. C., & Benmarhnia, T. (2023). Uncovering social and environmental factors that increase the burden of climate-sensitive diarrheal infections on children. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(3), e2119409120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2119409120>
- Dupont, H. L. (2016). Persistent Diarrhea: A Clinical Review. *JAMA*, 315(24), 2712-2723. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2016.7833>

- Evans, D. J., & Evans, D. (1996). *Escherichia Coli* in Diarrheal Disease. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7710/>
- Igbokwe, H., Bhattacharyya, S., Gradus, S., Khubbar, M., Griswold, D., Navidad, J., Igwilu, C., Masson-Meyers, D., & Azenabor, A. A. (2015). Preponderance of toxigenic *Escherichia coli* in stool pathogens correlates with toxin detection in accessible drinking-water sources. *Epidemiology and Infection*, 143(3), 494–504. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001046>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. . (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Kiesau, M. (2007). Diarrhea. *Comprehensive Pediatric Hospital Medicine*, 149–152. <https://doi.org/10.1016/B978-032303004-5.50035-1>
- Kotloff, K. L., Platts-Mills, J. A., Nasrin, D., Roose, A., Blackwelder, W. C., & Levine, M. M. (2017). Global burden of diarrheal diseases among children in developing countries: Incidence, etiology, and insights from new molecular diagnostic techniques. *Vaccine*, 35(49), 6783–6789. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.036>
- Lasalde, C., Rodriguez, R., Smith, H. H., & Toranzos, G. A. (2005). Heterogeneity of uidA gene in environmental *Escherichia coli* populations. *Journal of Water and Health*, 3(3), 297–304. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.041>
- Loman, N. J., Constantinidou, C., Christner, M., Chan, J. Z. M., Quick, J., Weir, J. C., Quince, C., Smith, G. P., Betley, J. R., Aepfelbacher, M., & Pallen, M. J. (2013). A Culture-Independent Sequence-Based Metagenomics Approach to the Investigation of an Outbreak of Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* O104:H4. *JAMA*, 309(14), 1502–1510. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2013.3231>
- Maculins, T., Fiskin, E., Bhogaraju, S., & Dikic, I. (2016). Bacteria-host relationship: ubiquitin ligases as weapons of invasion. *Cell Research*, 26(4), 499–510. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.30>
- Melton-Celsa, A. R. (2014). Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiology Spectrum*, 2(4), 1–21. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ehec-0024-2013>
- Mikhail, I. A., Fox, E., Haberberger, R. L. J., Ahmed, M. H., & Abbatte, E. A. (1990). Epidemiology of bacterial pathogens associated with infectious diarrhea in Djibouti. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(5), 956–961. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.5.956-961.1990>
- Nasser, A., Dallal, M. M. S., Foroushani, A. R., & Yavarian, J. (2023). Effect of Propidium Monoazide in the Detection of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in the Pediatric. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 11(2). <https://doi.org/10.5812/pedinfect-135011>
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology*

- Reviews*, 11(1), 142–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
- Notario, R., Borda, N., Gambande, T., & Sutich, E. (1996). Species and serovars of enteropathogenic agents associated with acute diarrheal disease in Rosario, Argentina. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 38(1), 5–7. <https://doi.org/10.1590/s0036-46651996000100002>
- O'Donnell, L. A. (2012). Sherris Medical Microbiology as a Resource for Doctor of Pharmacy Students. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 13(1), 102–103. <https://doi.org/10.1128/JMBE.V13I1.403>
- Perrett, C. A., Lin, D. Y., & Zhou, D. (2011). Interactions of Bacterial Proteins with Host Eukaryotic Ubiquitin Pathways. *Frontiers in Microbiology*, 2. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2011.00143>
- Platts-Mills, J. A., Liu, J., & Houpt, E. R. (2013). New concepts in diagnostics for infectious diarrhea. *Mucosal Immunology*, 6(5), 876–885. <https://doi.org/10.1038/MI.2013.50>
- Rao, M. C. (1985). Toxins which activate guanylate cyclase: heat-stable enterotoxins. *Ciba Foundation Symposium*, 112, 74–93. <https://doi.org/10.1002/9780470720936.ch5>
- Roberts, A. B., Wallace, B. D., Venkatesh, M. K., Mani, S., & Redinbo, M. R. (2013). Molecular insights into microbial β -glucuronidase inhibition to abrogate CPT-11 toxicity. *Molecular Pharmacology*, 84(2), 208–217. <https://doi.org/10.1124/mol.113.085852>
- Sack, R. B. (1980). Enterotoxigenic *Escherichia coli*: identification and characterization. *The Journal of Infectious Diseases*, 142(2), 279–286. <https://doi.org/10.1093/infdis/142.2.279>
- Sarker, M. H. R., Moriyama, M., Rahman, M. M., Das, S. K., Uzzaman, M. N., Das, J., Uddin, A., Banu, S., Khan, S. H., Shahid, A. S. M. S. B., Shahunja, K. M., Chisti, M. J., Faruque, A. S. G., & Ahmed, T. (2021). Characteristics of Rotavirus, ETEC, and *VibrioCholerae* Among Under 2-year Children Attending an Urban DiarrhealDisease Hospital in Bangladesh. *Journal of Primary Care & Community Health*, 12. <https://doi.org/10.1177/21501327211049118>
- Scaletsky, I. C. A., Silva, M. L. M., & Trabulsi, L. R. (1984). Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infection and Immunity*, 45(2), 534–536. <https://doi.org/10.1128/iai.45.2.534-536.1984>
- Sethabutr, O., Venkatesan, M., Yam, S., Pang, L. W., Smoak, B. L., Sang, W. K., Echeverria, P., Taylor, D. N., & Isenbarger, D. W. (2000). Detection of PCR products of the ipaH gene from *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by enzyme linked immunosorbent assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 37(1), 11–16. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(00\)00122-x](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(00)00122-x)
- Tang, Y.-W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., & Schwartzman, J. (2015). *Molecular*

Medical Microbiology (Second). Elsevier.

- Thavaththurai, M., & Amarasekara, U. (2021). *Identification of E. Coli in Drinking Water Samples in Jaffna (Valikamam, West) Area and Detection of Antibiotic Resistance*. 84(23), 61-84.
- Titilawo, Y., Obi, L., & Okoh, A. (2015). Occurrence of virulence gene signatures associated with diarrhoeagenic and non-diarrhoeagenic pathovars of *Escherichia coli* isolates from some selected rivers in South-Western Nigeria. *BMC Microbiology*, 15(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0540-3>
- Troeger, C., Blacker, B. F., Khalil, I. A., Rao, P. C., Cao, S., Zimsen, S. R., Albertson, S. B., Stanaway, J. D., Deshpande, A., Abebe, Z., Alvis-Guzman, N., Amare, A. T., Asgedom, S. W., Anteneh, Z. A., Antonio, C. A. T., Aremu, O., Asfaw, E. T., Atey, T. M., Atique, S., ... Reiner, R. C. (2018). Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(11), 1211-1228. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30362-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30362-1)
- Ugboko, H. U., Nwinyi, O. C., Oranusi, S. U., & Oyewale, J. O. (2020). Childhood diarrhoeal diseases in developing countries. *Heliyon*, 6(4), e03690. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03690>
- UniProt. (2024). *daaE Gene*. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P13719/entry>
- WHO. (2023). *Diarrhoeal disease*. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>