ANALISIS RESIKO KEJADIAN AKUT REKUREN DEMAM TIFOID DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR PROTEIN NUCLEOTIDE BINDING OLIGOMERIZATION DOMAIN 2 (NOD2)

AN ANALYSIS THE RISK RECURRENT ACUTE THYPHOID FEVER AND THE RELATION WITH LEVELS OF THE NUCLEOTIDE BINDING OIGOMERIZATION DOMAIN 2 PROTEIN (NOD2)

SRI WAHYUNI

P062191005

MAGISTER ILMU BIOMEDIK

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

ANALISIS RESIKO KEJADIAN AKUT REKUREN DEMAM TIFOID DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR PROTEIN NUCLEOTIDE BINDING OLIGOMERIZATION DOMAIN 2 (NOD2)

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi

Disusun dan diajukan oleh

SRI WAHYUNI

Kepada

MAGISTER ILMU BIOMEDIK

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

ANALISIS RESIKO KEJADIAN AKUT REKUREN DEMAM TIFOID DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR PROTEIN NUCLEOTIDE BINDING OLIGOMERIZATION DOMAIN 2 (NOD2)

Disusun dan diajukan oleh :

SRI WAHYUNI

Nomor Pokok : P062191005

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 16 Agustus 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama	Pembimbing Pendamping
Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)	**dr. Firdaus Hamid, Ph.D**
NIP : 1957 0416 1985 03 1001	**NIP : 1977 1231 2002 12 1002**
Ketua Program Studi Ilmu Biomedik	Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc	**Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc**
NIP : 1977 0121 2003 12 2003	**NIP : 1967 0308 1990 03 1001**

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: Sri Wahyuni
Nomor Mahasiswa	: P062191005
Program Studi	: Ilmu Biomedik
Konsentrasi	: Mikrobiologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan dan pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Agustus 2021

Yang menyatakan

Sri wahyuni

PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah Puji Syukur senantiasa peneliti panjatkan kehadirat **Allah SWT** atas segala berkah, Rahmat, Hidayah dan Nikmat-Nya, serta salam dan salawat tercurah kepada junjungan **Nabiullah Muhammad SAW** sehingga peneliti dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar pendidikan sebagai Magister.

Pertama-tama saya haturkan ucapan terima kasih yang tulus kepada orang tua saya, **Ayahanda H. Mursalin, S.Pd** dan **Ibunda Hj. Irma yanneng, S.Pd** yang memelihara, menjaga, membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang serta menanamkan nilai-nilai kehidupan dalam diri saya sehingga saya mampu menjadi insan seperti saat ini.

Penyusunan dan penyelesaian tesis ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis dengan rasa syukur menyampaikan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada : **Prof. dr. Mochammad Hatta, ph.D, Sp.MK (K),** selaku Pembimbing dan **dr. Firdaus Hamid, Ph.D** selaku pembimbing 1**. Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok (K); Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D** dan **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** selaku penguji, yang telah memberikan

bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat saya selasaikan dengan baik.

Rasa hormat dan terima kasih saya sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubulu MA**, Direktur Sekolah Pasca Sarja **Prof. Dr. Jamaluddin Jompa**, Dekan Fakultas Kedokteran **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**, Ketua Program Studi S2 Ilmu Biomedik **Dr. dr. Ika Yustisia, M Sc,** yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat saya selasaikan dengan baik.

Rasa terima kasih saya sampaikan kepada **Fatmawati Annisa, Dewi Mutisari, Andi zsazsa**, dan **Wahyunita** selaku teman seangkatan saya di program studi mirobiologi yang telah membantu dan mendorong saya untuk terus berusaha dalam menyelesaikan tesis ini demi mewujudkan cita-cita untuk memperoleh gelar M.Biomed.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat saya tuliskan satu persatu, penulis sampaikan rasa terima kasih. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Makassar, 18 Agustus 2021

SRI WAHYUNI

ABSTRAK

SRI WAHYUNI. *Analisis Resiko Kejadian Akut Rekuren Demam Tifoid dan Hubungannya dengan Kadar Protein Nucleotide Binding Oligomerization Domain 2 (NOD2)* (dibimbing oleh Mocharmmad Halta dan Fircaus Hamid)

Penelitian ini bertujuan menentukan kadar protain NOD2 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT), dermam tifoid (DT), dan orang seral (OS).

Panelitian ini menggunakan sampel 30 ARDT dan 30 DT yang dikumpulkan dari boberapa puskesmas dan rumah sakit di daerah endemis, Indonesia. Sebagai pembanding diperiksa orang sehat sebanyak tiga puluh orang yang diambi dari Dinas Tranefusi Darah (UTD Makassar). Dalam menganiliss kadar NOD2 digunakan matode adalah enzyma-linked immunosorbent assay (Elisa). Data dianalisis menggunakan student t test.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kadar protein NOD2 ditemukan perbedaan signifikan antara sampel ARDT dan DT dibandingkan orang sehat ($p < 0,001$). Kemudian terdapat kore'asi negatif antara kadar protein NOD2 dan titer widal dengan koefisien R2 sebesar -0.262 dan p value = 0,013. Terjadi penurunan ekspresi protein NOD2 pada panderita DT dan ARDT, sehingga bisa di simpulkan semakin rendah kadar protein NOD2 maka semakin tinggi kemungkinan terjadinya DT dan ARDT. Kemudiankorelasi negatif antara protein NOD2 dan titer widal menandakan semakin tinggi titer widal maka semakin rendah kadar protein NOD2.

Kata kunci : NOD2, akut rekuren demam tifoid, demam tifoid, Elisa

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
PUSAT BAHASA

ABSTRACT

SRI WAHYUNI. *An Analysis of The Risk Recurrent Acute Typhoid Fever and The Relation with Levels of The Nucleotide Binding Oigomerization Domain 2 Protein (NOD2)* (Supervised by **Mochammad Hatta** and **Firdaus Hamid**)

The purpose of this study is to determine the levels of NOD2 protein in Acute Recurrent of Typhoid Fever (ARTF), typhoid fever (TF) patients, and healthy people (HP).

The study used a sample of 30 ARTF and 30 TF collected from several health centers and hospitals in endemic areas, Indonesia. As a comparison, 30 healthy people were examined who were taken from the Blood Transfusion Service, Makassar, Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) was used to analyze NOD2 levels. The data analysis used was the student t-test.

The results show that a significant difference of NOD2 level is found between the ARTF and TF group compared to HP group ($p<0.001$). Then there is a negative correlation between NOD2 levels and widal titer with R2 coefficient of 0.262 and p value = 0.013.

There is a decrease in NOD2 protein expression in patients with TF and ARTF, so it can be concluded that the lower the NOD2 levels, the higher the likelihood of TF and ARTF. Then the negative correlation between NOD2 and widal titer indicates that the higher the widal titer, the lower the NOD2 level results.

Keywords: NOD2, Acute recurrent of typhoid fever, typhoid fever, ELISA

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
PUSAT BAHASA

DAFTAR ISI

PRAKATA v
ABSTRAK vii
ABSTRACT viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
DAFTAR SINGKATAN xiv
BAB I PENDAHULAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 6
C. Tujuan penelitian 6
D. Manfaat penelitian 7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 8
A. Demam Tifoid 8
1. Sejarah 8
2. Definisi 8
3. Etiologi 10
4. Epidemiologi 11
5. Gejala 11
6. Komplikasi 15
7. Diagnosis 15
8. Pencegahan 15
9. Patogenesis 16
B. Salmonella typhi 19
1. Tinjauan Umum 19
2. Morfologi 20
3. Klasifikasi dan Karakteristik 21

4. Fisiologi 24
C. Sistem imunitas 25
1. Sistem Imun Alamiah (Non Spesifik) 26
2. Sistem Imun Adaptif (Spesifik) 26
D. Nucleotida Binding Oligomerization Domain 2 (NOD2) 27
E. Pemeriksaan Mikrobiologi Deman Tifoid 31
F. Pemeriksaan Laboratorium..... 34
1. Pemeriksaan Darah tepi 35
2. Identifikasi Melalui Isolasi/Biakan 35
3. Identifikasi Bakteri Melalui Uji Serologis 35
4. Identifiksasi dengan Teknik PCR..... 39
G. Kerangka Teori 41
H. Kerangka Konsep 42
I. Hipotesis..... 42
J. Definisi Operasional..... 42
BAB III METODE PENELITIAN..... 44
A. Rancangan Penelitian..... 44
B. Waktu dan Tempat Penelitian..... 44
C. Sampel dan Kriteria Sampel 44
D. Alat dan Bahan 45
E. Cara Kerja 46
F. Alur Penelitian 51
G. Analisis Data..... 51
H. Etika Penelitian 51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 53
A. Hasil..... 53
B. Pembahasan 56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 59
A. Kesimpulan..... 59
B. saran 59
DAFTAR PUSTAKA..... 60

DAFTAR TABEL

1. Tes biokimia identifikasi S. typhi dan S. paratyhphi..... 48
2. Perbandingan hasil kadar protein NOD2 pada ARDT, DT dan orang sehat..... 54

DAFTAR GAMBAR

1. Proses yang terjadi pada penderita demam tifoid..... 18
2. Patogenesis bakteri *Salmonella typhi* 18
3. Morfologi *S. typhi*..... 21
4. Posisi dari Ketiga Antigen pada Permukaan Tubuh Bakteri *S. typhi*..... 22
5. Lokasi Gen *NOD2* dan Gambaran Protein NOD2 28
6. Struktur Mutasi dan Jalur Intraseluler Utama yang diinduksi oleh Protein NOD2 29
7. Kerangka Teori 41
8. Kerangka Konsep 42
9. Alur Penelitian 51
10. Box plot kadar protein nod2 pada ARDT, DT dan orang sehat.. 55

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil analisa Human NOD2 ELISA Kit Cat. No. Cat: No: LS-F68704-1 71
2. Hasil titer widal 74
3. Rekomendasi persetujuan etik 76
4. Dokumentasi kegiatan 77
5. Analisa statistik menggunakan uji *student t-test* dan *pearson corrrelation* 80

DAFTAR SINGKATAN

ARDT	: Akut Rekuren Demam Tifoid
Aw	: Water Activity (aktivitas air)
CARDs	: Caspase Recruitment domains
CARD15	: Caspase Recruitment Domain-Containing Protein 15
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DT	: Demam Tifoid
ELISA	: Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay
EMBA	: Eosin Methylene Blue Agar
HRP	: horseradish peroxidase
H_2S	: Hydrogen sulfide
OS	: Orang Sehat
IgA	: Imunoglobulin A
IgG	: Imunoglobulin G IgG
IgM	: Imunoglobulin M
IgS	: Imunoglobulin S
IMViC	: Indol Metil Voges - Proskauer Citrate
LPS	: Lipopolikasarida
MAPK	**:** Mitogen-Activated Protein Kinase
M cell	: Microfold cell
MDP	: Muramyl Dipeptide
MR/PV	: Methyl Red / Voges Proskauer
M. leprae	: *Mycobacterium leprae*
M. tuberculosis	: *Mycobacterium tuberculosis*
NF-κβ	: Nuclear Factor Kappa-beta
NOD2	: Nucleotide Binding Oligomerisation Domain 2
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PBS	: Phosphate Buffer Saline Solution
pH	: Power of Hydrogen
RIP2	: Receptor-Interacting Protein 2

SIM	: *Sulfide Indol Motility*
SSA	: *Salmonella Shigella Agar*
S. bongori	: *Salmonella bongori*
S. enterica	: *Salmonella enterica*
S. enteriditis	: *Salmonella enteriditis*
S. hirschfeldii	: *Salmonella hirschfeldii*
S. paratyphi	: *Salmonella paratyphi*
S. schottmuelleri	: *Salmonella schottmuelleri*
S. typhi	: *Salmonella typhi*
TAB2, TAB3	: TAK1 Binding Protein 2 and 3
TAK1	: Transforming Growth Factor-β-Activated Kinase 1
TB	: Tuberkulosis
TLR	: Toll-like receptor
TMB	: Tetramethylbenzidine
TSIA	: Triple Sugar Iron Agar
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid (DT) merupakan penyakit infeksi sistemik akut yang menyerang sistem retikuloendotelial, kelenjar limfe, saluran cerna, dan kantung empedu. Hal ini disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* dan ditularkan melalui jalur fecal-oral (Sidabutar dan Hindra, 2010). Spesies *Salmonella* dapat dibagi menjadi 2 yakni spesies *non typhoid* dan *typhoidal*. spesies *typhoidal* dapat mengakibatkan DT dan untuk spesies *non typhoidal* dapat mengakibatkan diare atau disebut enterokolitis. Spesies *typhoidal* misalnya bakteri *S. Paratyphi*, *S. Enteriditis dan S. typhi* (Kuswiyanto, 2017).

World Health Organization (WHO), 2017 memperkirakan orang sakit akibat DT sebanyak 11-20 juta orang dan 128.000-161.000 orang meninggal setiap tahun. Pada masyarakat golongan menengah kebawah, populasi yang tidak memliki akses ke air yang aman dan sanitasi yang memadai dan kelompok rentan termasuk anak-anak, memilki resiko DT yang lebih tinggi.

Di Indonesia penyakit DT merupakan penyakit yang bersifat endemik. Jumlah kasus DT di Indonesia sebanyak 81.116 dan menempati urutan

kedua dari 10 besar. Dan menurun pada tahun 2010, dengan 41.081 kasus DT (Depkes RI, 2009).

Proses infeksi *S. typhi* pada manusia dimulai ketika *S. typhi* masuk bersama makanan atau minuman ke dalam tubuh manusia yang nantinya akan mencapai sistem pencernaan, mencapai usus halus dan saluran sel M dan menyebabkan lesi serta bermultifikasi pada saluran plak peyer, kelenjar mesenterik dan limfa kemudian dibawa ke aliran darah. Selanjutnya terbawa oleh darah menuju berbagai organ dan diekskresi dalam tinja (Everest, 2001; Santoso, 2003; Jawetz, dkk., 2005).

Jika DT tidak diobati secara efektif, angka kematiannya adalah 10-30%. Sedangkan mereka yang menerima terapi yang tepat mengalami penurunan jumlah menjadi 1-4 %. Untuk penyakit DT yang tidak diobati, angka kematiannya 10% - 20% sedangkan angka kematian kurang dari 1% untuk penyakit DT yang diobati dengan benar. Setelah pemulihan awal, 5% - 10% pasien yang diobati dengan antibiotik akan mengalami kekambuhan akut / kambuh DT (Hatta, dkk, 2011; Grossman, dkk., 1995).

DT dapat di obati, salah satunya yaitu dengan terapi antibiotik. Namun terapi yang cukup, tidak menutup kemungkinan penderita mengalami kekambuhan kembali (Dahlan & Munawar, 2014). ARDT biasanya terjadi setelah terapi tidak di lanjutkan selama seminggu, namun ada kasus yang dilaporkan kambuh setelah 70 hari terapi tidak di lanjutkan. Dalam kasus ini, hasil kultur darah positif lagi, dan kadar serum antibodi H, O, dan Vi yang tinggi dan gejala klinis dapat muncul kembali. Namun pada penderita

DT carrier, pemeriksaan darah biasanya tidak ditemukan hasil yang siginifikan. Karena bakteri yang bertahan dalam keadaan semi-dorman dalam empedu dikarenakan motilitas flagella, maka pemeriksaan urin dianjurkan (Dwiyanti, dkk, 2015)

Beberapa pasien DT dikategorikan carrier (pengidap bakteri namun tidak memperlihatkan gejala sakit), air seni dan kotoran penderita dapat mengandung bakteri *S. typhi* yang dapat menginfeksi orang lain melalui minuman atau makanan yang terkontaminasi. Pada kotoran maupun air seni penderita DT akan menyebabkan bakteri *Salmonella* menetap sampai bertahun-tahun. *S.typhi* hanya berkembang dan dapat hidup di dalam tubuh manusia. Oleh karena itu, penderita DT di temui di tempat-tempat di mana penduduknya kurang menjaga kebersihan tangan dengan mencuci tangan menggunakan sabun manakala airnya mungkin tercemar dengan sisa kambuhan (suhaemi, 2010) Infeksi bakteri ini tidak selalu memiliki manifestasi klinis. Tergantung dari jumlah bakteri dan faktor virulensi serta imunitas manusia (Noer, 1996; Hatta and Smits, 2007).

Secara epidemiologi, peningkatan kasus-kasus DT ini dapat diakibatkan oleh interaksi dari beberapa faktor resiko yang dapat berasal dari *agent, host* dan lingkungan. Faktor resiko *agent* berasal dari kuman *S. typhi* yang mungkin telah mengalami resistensi dan virulensi dari kuman; sedangkan *host* dapat berasal dari kondisi manusianya yakni adanya pengaruh daya tahan tubuh penderita (sistem imunitas tubuh).

Faktor resiko lainnya adalah lingkungan, termasuk kondisi lingkungan yang tidak bersih dan kemiskinan (Sudharmono, dkk., 2000).

Bentuk pertahanan tubuh terhadap antigen adalah mengaktifkan imunitas. Mekanisme pertahanan tubuh terbagi atas 2 yaitu *innate immunity* (imunitas alami) dan *adaptive immunity* (imunitas adaptif). Imunitas alami berfungsi sebagai perlindungan langsung terhadap infeksi, sedangkan imunitas adaptif memberikan perlindungan yang lebih spesifik terhadap infeksi, tetapi berkembang lebih lambat. (Abbas, dkk., 2016). Di tinjau dari segi host (manusia) terdapat mekanisme imunitas seluler dan imunitas humoral. Komponen dari imunitas seluler di dominasi oleh sel-sel monoknuklear (monosit/makrofag). *Salmonella* merupakan salah satu infeksi kuman intraseluler yang dapat di hambat oleh makrofag dengan cara memfagosit bakteri yang menempel pada membran dengan gerakan seperti amuboid selanjutnya bakteri mengalami lisis setelah dicerna oleh enzim lisosom yang dihasilkan makrofag dan akhirnya bakteri tereliminasi sehingga tubuh tetap sehat atau sembuh (Kresno, 2001).

Infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri diantaranya *S. typhi, M. tuberculosis* dan *M. leprae* sangat erat kaitannya dengan *host susceptibility* dari pasien itu sendiri (Dunstan dkk, 2001; Hatta dkk, 2004; Fitness dkk,2004; Hatta dkk, 2010; Hill, 1999), dimana telah dilakukan penelitian terhadap kandidat gen untuk kepekaan terhadap infeksi *S. typhi* dan *M. leprae* yang berpengaruh terhadap kejadian infeksi pada manusia diantaranya adanya polimorfisme dari gen *host susceptibility* salah

satunya gen *NOD2* (Duncan dkk, 2010; Mustafa dan Hatta, 2011); Dwiyanti dkk, 2017).

Gen *NOD2* merupakan salah jenis gen yang menyandi protein NOD2. Protein NOD2 berperan sebagai reseptor intraselulerr yang mengikat bagian peptidoglikan bakteri yaitu muramil dipeptida karena stimuli yang berupa ikatan NOD2 dengan muramil dipeptida mengaktifkan faktor transkripsi NF-κβ, sehingga terjadi induksi sintesis sitokin proinflmasi. Respon proinflamasi berfungsi untuk mengeliminasi bakteri usus yang keberadaanya akan menimbulkan inflamasi yang berkelanjutan (Kumar, dkk., 2019). Protein NOD2 juga berperan dalam memediasi respon sistem imun alami terutama makrofag dan umumnya ditemukan pada bagian sitoplasma sehingga dapat menjaga kekebalan host terhadap infeksi bakteri (Stockton, *et al*., 2002; Divangahi, *et al*., 2008; Coulombe, *et al*., 2009).

Beberapa peneltian telah dilakukan untuk mengetahui hubungan antara gen *NOD2* terhadap kerentanan suatu penyakit misalnya pada penyakit Chron's, blau sindrom, kusta bahkan penyakit tuberculosis (adriani, dkk., 2011) pada penyakit chron's ditemukan adanya polimorfisme gen *NOD2*, dimana terjadi sistem imum tubuh kurang mengenal dengan baik bagian muramil dipeptida bakteri yang masuk. Muramil dipeptida merupakan bagian dari komponen dinding sel bakteri, yang dapat dikenali oleh gen *NOD2* tapi tidak oleh TLR1, TLR2, maupun TLR6. Gen *NOD2* lokus exon 4 (802) merupakan gen yang memilki basa

tunggal yang disubtitusi dari kodon 802 dalam exon 4. Bila terjadi mutasi maka lokasi basa nitrogen akan mengalami perubahan yang dapat mempengaruhi urutan basa nukleotida normal sehingga dapat mempengaruhi asam aminonya.

Adanya mutasi pada gen *NOD2* dapat mengakibatkan kegagalan pengenalan dinding sel bakteri yang masuk terutama bagian muramil dipeptida akibatnya NF-κβ juga mengalami kegagalan untuk mengaktivasi sistem imun lainnya sehingga semakin banyak bakteri yang masuk dan berpotensi mengakibatkan reaksi inflamasi (Barnisch, *et al*, 2005).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh junaidi (2011) terdapat polimorfisme gen *NOD2* sebesar 6,7% dari penderita suspek DT sehingga bisa di simpulkan bahwa faktor genetik berkaitan dengan penyakit yang terinfeksi bakteri salah satunya bakteri *S. thypi* yang menyebabkan penyakit DT. Berdasarkan uraian diatas maka dilakukanlah penelitian tentang analisis resiko kejadian ARDT dan hubungannya dengan kadar protein NOD2

B. Rumusan Masalah

Apakah ada hubungan kadar protein NOD2 dengan kejadian ARDT?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

   Untuk menentukan kadar protein NOD2 pada penderita ARDT

2. Tujuan Khusus

a. Membandingkan kadar protein NOD2 pada penderita ARDT dan DT
b. Membandingkan kadar protein NOD2 pada penderita ARDT dan orang sehat (OS)
c. Membandingkan kadar protein NOD2 pada penderita DT dan OS
d. Melihat korelasi antara titer widal dan kadar protein NOD2

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan: Melalui penelitian ini, diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman tentang hubungan antara kadar protein NOD2 dan faktor yang terlibat dalam imunopatomekanisme kejadian ARDT
2. Manfaat penerapan pada masyarakat: Dengan melihat hasil penelitian berupa perbedaan kadar protein NOD2, hasil penelitian dapat digunakan sebagai biomarker untuk mencegah kejadian ARDT.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Demam Tifoid

1. Sejarah

Typhoid berasal dari bahasa Yunani yang berarti *smoke*, yang disebabkan oleh penguapan panas tubuh dan demam tinggi. Bretoneau (1813) pertama kali melaporkan gambaran klinis awal dan kelainan anatomi DT, sedangkan Cornwalls Hewett (1826) melaporkan perubahan patologis, dan Piere Louis (1829) menamakan *Typhos* dalam bahasa Yunani yang berarti asap / kabut, karena biasanya penderita sering disertai gangguan kesadaran, mulai dari ringan sampai berat. A. Pfeifer berhasil menemukan *Salmonella* pada feses pasien untuk pertama kali, kemudian Hueppe menemukan *Salmonella* dalam urine, dan R.d Neuhauss menemukan *Salmonella* dalam darah. Pada saat yang sama, Widal (1896) berhasil memperkenalkan diagnosis serologis DT (Ismail dkk. 2002)

2. Definisi

DT adalah suatu penyakit infeksi yang disebakan oleh bakteri *S. typhi* dan bersifat endemik yang termasuk dalam penyakit menular (Cahyono, 2010). Bakteri *S.typhi* berbentuk batang dengan ukuran 2-4 µm x

0,5-0,8 µm, memiliki flagel, tidak berspora dan ketika pewarnaan gram bersifat gram negatif (Wanenoor, 2011).

DT adalah tipe salmonellosis yang paling umum. Tipe lain dari demam enterik adalah demam paratifoid yang disebabkan oleh *S. paratyphi A, S. schottmuelleri* (semula *S. paratyphi* B), dan *S. hirschfeldii* (semula *S. paratyphi* C). DT menunjukkan ciri-ciri lebih parah daripada demam enterik yang lain (Widagdo, 2011).

Menurut WHO (2003), Penyakit DT di seluruh penjuru dunia disebarkan lewat makanan dan minuman yang terontaminasi sebelumya oleh tinja. Selama ribuan tahun, *S. typhi* sudah menjadi patogen utama manusia, berkembang pada wilayah dengan sanitasi yang buruk, kekacauan sosial dan kelebihan populasi.

Penyakit ini lebih dominan ditemukan pada anak-anak, namun pada orang muda atau dewasa tidak menutup kemungkinan dapat terjangkit DT. Dalam masyarakat, penyakit ini biasa dikenal dengan nama *thypus*, tetapi dalam dunia kedokteran disebut *thypus abdominalis* atau *tyfoid fever*, karena umumnya bakteri menyerang usus, sehingga usus bisa terluka dan menyebabkan pendarahan serta dapat pula terjadi kebocoran usus (Rasmilah, 2001).

Punjabi (2004) melaporkan beberapa penelitian bahwa laki-laki lebih cenderung terkena DT di bandingkan wanita di seluruh dunia, Karena laki-laki lebih banyak bekerja dan makan di luar, hal ini tidak menjamin kebersihan. Namun, menurut teori daya tahan tubuh manusia,

dibandingkan dengan pria, wanita lebih mungkin terkena DT atau mengalami komplikasi. Teori yang mendukung pernyataan ini adalah ketika *S. typhi* memasuki sel-sel hati, hormon estrogen bekerja lebih keras karena menangani dua hal sekaligus pada wanita.

3. Etiologi

S. typhi adalah bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, mempunyai flagella dan tidak berkapsul. *S. typhi* mempunyai envelope antigen (K) yang terdiri dari polisakarida, antigen somatik (O) yang terdiri dari oligosakarida dan flagelar antigen (H) yang terdiri dari protein. Selain itu, *S. typhi* memiliki makromolekular lipopolisakarida kompleks yang membentuk lapisan luar dari dinding sel yang dinamakan endotoksin (Soedarmo, *et al*, 2010).

Bakteri *S. typhi* ditemukan dalam tinja, darah dan air kemih penderita DT. Cuci tangan yang tidak bersih setelah buang air besar dan setelah buang air kecil dapat mengakibatkan penyebaran bakteri ke dalam makanan dan minuman terjadi. Lalat mampu menyebarkan bakteri langsung dari kotoran ke makanan (Hatta, *et al.,* 2008). Seseorang yang sering menderita DT menandakan bahwa dia makan makanan atau minuman yang terkontaminasi bakteri ini (Zulkhoni, 2011).

Bakteri masuk melalui saluran pencernaan dan menyebabkan radang usus kecil dan besar. Sehingga bakteri masuk ke dalam peredaran darah. Pada kasus yang parah (severe), dapat mengalami perforasi (perlubangan) pada usus. Sebanyak 3% penderita DT tidak mendapatkan

pengobatan yang cukup. dimana dalam fesesnya biasanya di dapatkan bakteri *S. typhi* selama lebih dari 1 tahun. Sebagian penderita DT yang terinfeksi oleh bakteri *S. typhi* tidak memperlihatkan gejala-gejala klinis (Crump, 2010).

4. Epidemiologi

Penyakit DT menyerang penduduk di semua negara. Seperti penyakit menular lainnya, DT lebih sering terjadi di negara berkembang dengan higiene perorangan dan kebersihan lingkungan yang kurang bersih. Menurut lokasi, lokal, perilaku masyarakat dan kondisi lingkungan Prevalensi kasus DT bervariasi. Insiden tahunan di seluruh dunia adalah sebanyak 17 juta, di mana 600.000 orang meninggal karena penyakit ini. WHO memperkirakan 70% kematian terjadi di Asia. Indonesia merupakan negara endemik DT. Diperkirakan 800 pasien ditemukan per 100.000 orang sepanjang tahun (Widoyono, 2011).

DT bersifat sporadic di negara maju, terutama sehubungan dengan kegiatan pariwisata di negara berkembang. Secara umum, dilaporkan bahwa kejadian DT di bawah usia 30 tahun adalah 75%. Anak-anak, biasanya di atas 1 tahun, sebagian besar di atas 5 tahun, dengan manifestasi klinis ringan (Depkes RI, 2006).

5. Gejala

a. Gejala klinis

Gejala klinis DT sangat beragan, mulai dari gejala yang sangat ringan dan belum terdiagnosis, dengan gejala klinis yang khas (sindrom DT),

hingga gejala klinis yang parah dan disertai dengan komplikasi. Gejala klinis DT pada anak cenderung tidak khas. Gejala klinis DT pada anak-anak seringkali tidak spesifik. Semakin muda anak, semakin tidak spesifik gejala klinis DT yang ditimbulkan (Yekti dan Romiyanti, 2016).

Secara umum, perjalanan penyakit ini jangka pendek, jarang berlangsung lebih dari 2 minggu. Pada orang dewasa, gejala klinis DT seringkali parah. Tetapi pada anak kecil, itu menjadi lebih ringan. Gejala klinis anak usia sekolah di atas 10 tahun mirip dengan orang dewasa, yaitu demam tinggi hingga kekurangan cairan tubuh dan peredarahan usus yang bisa sampai pecah (perforasi) (Yekti dan Romiyanti, 2016).

Ciri-ciri gejala klinis yang biasanya ditimbulkan pada penderita DT yakni (Yekti dan Romiyanti, 2016):

1. Demam

Gejala utama DT yang ditimbulkan yaitu demam atau panas. Awalnya hanya demam yang tidak jelas, kemudian suhu tubuh berfluktuasi, yaitu lebih rendah atau normal di pagi hari, tetapi di sore dan malam hari akan lebih tinggi. Demam kadang mencapai 39 hingga 40ºC. Intensitas demam akan semakin tinggi dan disertai dengan gejala lain contohnya nyeri otot, pegal, sakit kepala, diare, insomnia, anoreksia, mual serta muntah. Pada minggu kedua, intensitas demam semakin tinggi, dan kadang-kadang berlanjut. Suhu tubuh akan menurun secara bertahap pada minggu ke-3 ketika kondisi pasien mulai membaik dan kembali normal pada akhir minggu ke-3. Perlu dicatat bahwa tidak selalu ada bentuk karakteristik

demam pada DT. Jenis demam menjadi tidak teratur, mungkin karena intervensi terapeutik atau komplikasi yang terjadi lebih awal. Untuk anak-anak, terutama anak kecil, demam tinggi dapat menyebabkan kejang.

2. Gangguan saluran pencernaan

Karena demam jangka panjang, bau mulut sering ditemukan. Bibir kering dan terkadang pecah-pecah. Lidah terlihat kotor, ditutupi lapisan coklat, dan ujung dan tepi lidah berwarna merah dan tremor, yang jarang terjadi pada pasien anak. Dalam keadaan normal, pasien sering mengeluh sakit perut, terutama mulas, disertai mual dan muntah. Penderita dewasa cenderung mengalami konstipasi, sedangkan anak lebih sering mengalami diare.

3. Gangguan kesadaran

Secara umum, gangguan kesadaran akan muncul dalam bentuk kehilangan kesadaran ringan biasa ditemukan kesadaran apatis. Jika gejala klinisnya parah, beberpa pasien akan mengalami somnolen dan koma atau dengan gejala-gejala psikosis. Sedangkan gejala delirium (mengigau) lebih menonjol pada penderita tahapan toksik.

4. Hepatosplenomegali

Pada penderita DT, mengalami pembesaran pada daerah limfa dan atau hati. Jika ditekan hati terasa nyeri dan kenyal.

5. Bradikardia relatif dan gejala lain

Bradikardi relatif adalah peningkatan suhu tubuh namun tidak sejalan dengan peningkatan frekuensi nadi. Parameter yang biasa digunakan

yaitu setiap peningkatan suhu 1°C tidak diikuti peningkatan frekuensi nadi 8 denyut dalam satu menit. Gejala bradikardi relatif jarang didapatkan, mungkin karena sulitnya pemeriksaan teknis. Gejala lain yang dapat ditemukan pada DT adalah rose spot (bintik merah pada kulit) yang biasanya muncul di perut bagian atas, dan gejala klinis yang berhubungan dengan komplikasi yang terjadi

Sebagian besar pasien yang telah diterapi tetap mengeksresikan patogen selama sebulan setelah gejala klinis hilang, dan hampir 5% pasien terus. mengeksresikan pathogen etelah lima bulan. Sekitar 3% menjadi pembawa (carier) dan terus berlanjut mengeksresikan organism tersebut selama hidup mereka. Pembawa (carier) muncul dan berkembang setelah adanya infeksi asimptomtik. (Hatta, *et al*., 2011).

b. Masa Inkubasi

Masa inkubasI pasien DT biasanya terjadi sekitar 7 hingga 21 hari, meskipun umumnya terjadi sekitar 10 hingga 12 hari. Gejala awal penyakit DT tidak memiliki sesalan ataupun gejala penyakit tidak khas (Haryono, 2012) seperti:

1) Anoreksia
2) Lidah kotor
3) Malas
4) Nyeri otot
5) Sakit kepala bagian depan
6) Gangguan perut (Haryono, 2012).

6. Komplikasi

DT dapat dibagi menjadi komplikasi intestinal dan komplikasi ekstratestinal. Komplikasi intestinal seperti: pendarahan usus, perforasi usus, dan ileus paralitik. Sedangkan komplikasi ekstratestinal seperti: komplikasi tulang, komplikasi neuropsikiatrik komplikasi darah, kandung kemih, komplikasi paru, komplikasi kardiovaskular, komplikasi hepar dan komplikasi ginjal (Juwono, 2004).

7. Diagnosis

peningkatan metode diagnosis DT masih terus dikembangkan hingga mendapatkan metode yang mudah dilakukan, cepat dan murah biayanya dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Menegakkan diagnosis sedini mungkin merupakan hal yang penting, karena pengobatan dini dan tepat dapat dengan cepat mengobati DT, menghindari komplikasi serius dan kematian, serta memungkinkan usaha identifikasi carier untuk mengendalikan penyebaran penyakit DT (Pawitro, dkk., 2002).

Diagnosis DT dapat diperiksa dengan Pemeriksaan laboratorium yang terbagi dalam 4 kelompok, yaitu: (1) pemeriksaan darah tepi; (2) pemeriksaan bakteriologis dengan isolasi dan biakan bakteri; (3) uji serologis; dan (4) pemeriksaan bakteri secara molekuler (Tumbelaka, 2005).

8. Pencegahan

Penyakit DT dapat dicegah dengan mengedukasi masyarakat tentang pentingnya membersihkan tangan setiap selesai buang air besar dan

sebelum memegang makanan maupun minuman, dan dengan menyediakan fasilitas cuci tangan yang memadai. Hal ini terutama penting bagi mereka yang pekerjanya adalah penjamah makanan dan mereka yang pekerjanya merawat pasien dan anak-anak (Masriadi, 2017).

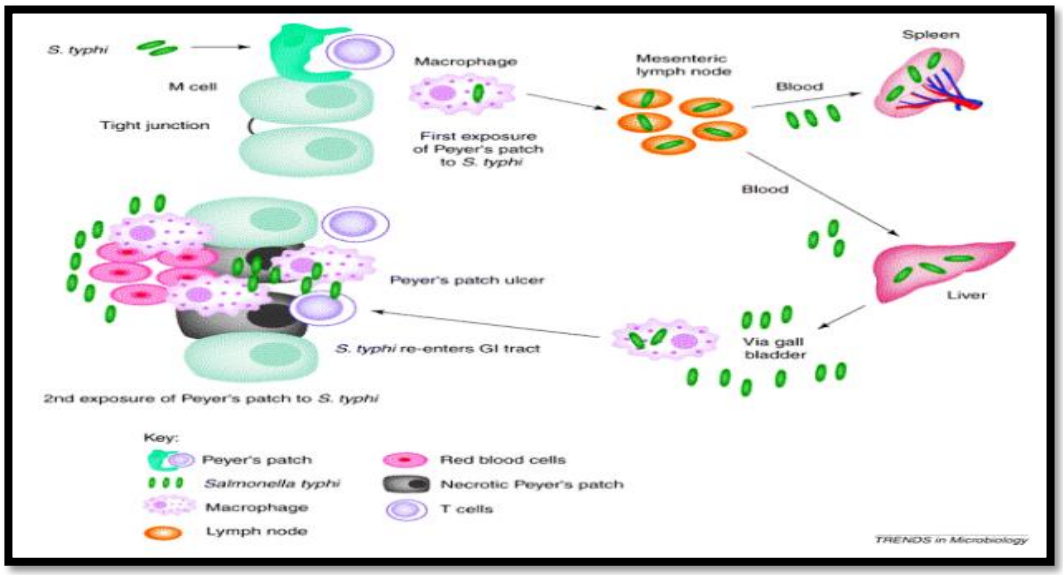
Dengan memasak dan minum air, membuat dan menggunakan jamban yang dalam kondisi bersih, mencuci tangan sebelum dan sesudah makan, dan mengusir lalat di lingkungan rumah (Koes I, 2014). Selalu menjaga kebersihan pribadi, lingkungan yang bersih, pembuangan limbah yang tepat dan klorinasi air minum (Soedarto, dkk., 2009).

9. Patogenesis

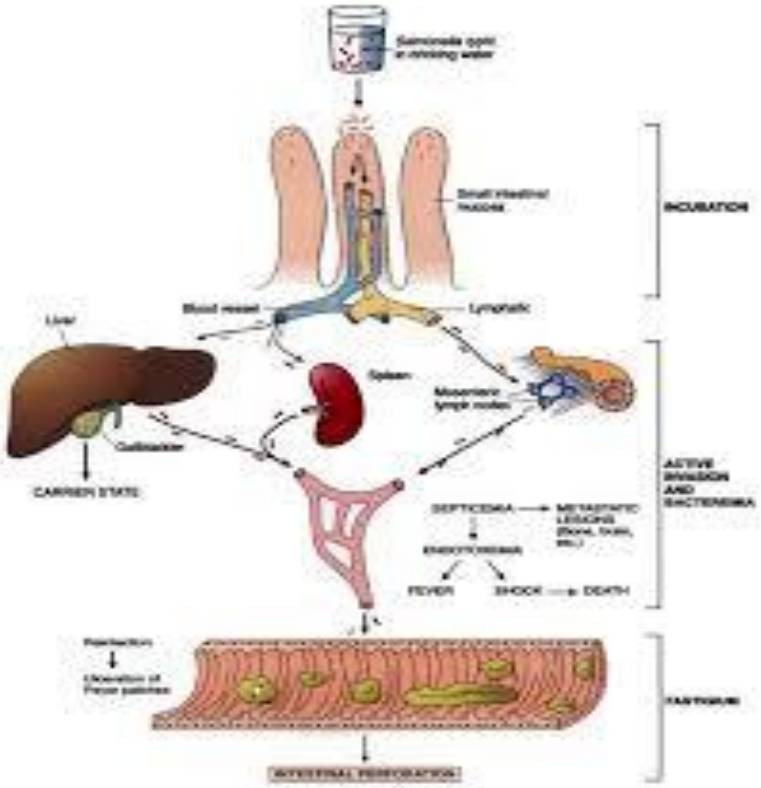
S. typhi masuk ke dalam tubuh seseorang melalui makanan atau minuman yang telah terkontaminasi. setelah masuk ke dalam tubuh, bakteri *S. typhi* akan menuju ke saluran pencernaan dan menempel pada fagosit mononuklear (makrofag dan monosit). Sel fagosit ini yaitu sel-sel sistem kekebalan tubuh dan digunakan untuk membunuh bakteri dan virus patogen yang masuk ke dalam tubuh manusia. Namun, *S. typhi* mampu mempertahankan dan berkembang biak di dalam sel-sel tersebut. Karena kemampuannya untuk bertahan hidup di dalam sel, maka bakteri tersebut diklasifikasikan sebagai parasit fakultatif intraseluler. Beberapa bakteri dihancurkan oleh asam lambung, dan sebagian lagi masuk ke usus halus dan mencapai jaringan limfoid plak peyer di pusat ileum yang mengalami hipertrofi (Everest, 2001; De Witt, 2002).

S. typhi di saluran pencernaan akan menyerang sel- mukosa di usus halus. Setelah menempel, bakteri bermigrasi ke folikel limfoid dari usus dan nodul limfa mesentrik. Bakteri mampu bertahan dan bereproduksi diantara sel fagosit mononuklear dari folikel limfoid, limfa serta hati. Periode yang dibutuhkan untuk bereproduksi dan memperbanyak diri yaitu 10 hingga 14 hari dari periode inkubasi DT. *S. typhi* mengeluarkan endotoksin selama inflamasi lokal pada jaringan tempat bakteri berkembang biak dan merangsang pelepasan zat pirogen dan leukosit pada jaringan yang meradang yang menyebabkan demam. Sejumlah besar bakteri dalam darah (bakteremia) dapat menyebabkan demam tinggi. Tempat utama yang selalu terkena infeksi sekunder adalah sumsum tulang, kantung empedu, hati dan ginjal (Everest, 2001).

Setelah periode proliferasi intraseluler dan terjadinya bakteremia kedua, bakteri akan dilepaskan ke dalam darah lagi. Jangka waktu ini biasanya sangat lama, melibatkan banyak organ, dan biasanya pasien akan mengalami demam tinggi. Bakteremia ini akan menimbulkan 2 kejadian kritis yaitu masuknya bakteri ke dalam kantung empedu dan plak peyer. Periode ini akan menimbulkan peradangan dan nekrosis jaringan klinis, yang ditandai dengan kolesistitis nekrotikans dan pendarahan perforasi usus (Syahrurachaman, dkk., 1994; Everest, 2001).



Gambar 1. Proses yang terjadi pada penderita DT (Everest, 2001)



Gambar. 2 Patogenesis bakteri *S. typhi*
(Scwart, David A., Genta R. M., Bennet, D.P., Pomerants R.J., 2008)

B. Salmonella typhi

1. Tinjauan Umum

Salmonella adalah organisme prokariot (bersel tunggal), diklasifikasikan sebagai kelompok bakteri golongan *Gammaproteobacteria*, dan termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Seluruh anggota genus *Salmonella* adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang lurus berukuran 0.70 – 1.50 x 2.00 – 5.00 µm dan anaerob fakultatif, dan serta tidak memiliki kemampuan membentuk spora (*non-sporulating*). *Salmonella* sp. lebih banyak mempunyai flagella tipe *peritrichous* sehingga memiliki kemampuan motilitas sel (kecuali serotipe Gallinarum atau Pullorum), mempunyai *fimbriae*, membentuk koloni dengan diameter antara 2 hingga 4 mm (kecuali serotipe Abortusovis), bersifat patogen, dan mudah beradaptasi dengan inang (*host*). *Salmonella* sp. dapat tumbuh optimal pada suhu 35 – 37°C, pH 6.50 – 7.50, dan Aw antara 0.94 – 0.99. Karena karakteristiknya tersebut, beberapa bakteri *Salmonella* dapat dimatikan dengan perlakuan berupa pasteurisasi atau blansing (dipanaskan hingga suhu sekitar 80– 00°C) (Prayoga dan wardani, 2015).

Salmonella terbagi menjadi 2 spesies, yakni *S. enterica* dan *S.bongori*. Spesies *S. enterica* sendiri terdiri atas enam subspesies, yaitu subspesies *enterica*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, dan *salamae*, dimana subspesies tersebut terdiri atas bermacam serotipe sedangkan *S.bongori*

merupakan spesies yang berdiri tunggal tanpa memiliki subspesies dan serotipe (Prayoga dan wardani, 2015).

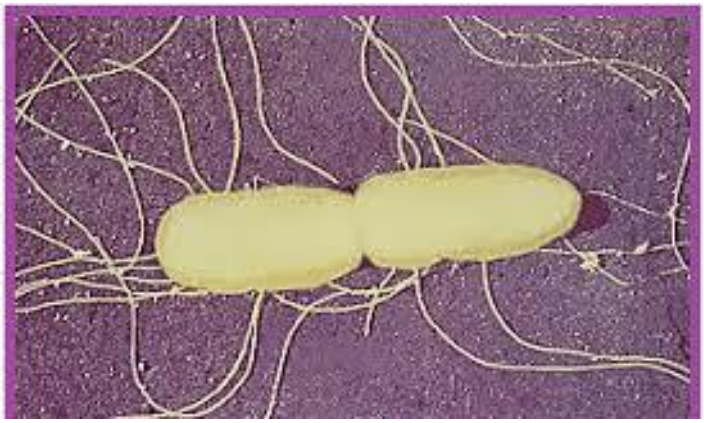
Salmonella sp. umumnya dikelompokkan secara garis besar berdasarkan jenis penyakit yang diakibatkannya menjadi dua golongan, yakni *typhoid* dan *non-typhoid*. *Salmonella* golongan *non-tifoid* merupakan kelompok *Salmonella* yang dapat menyebabkan penyakit tifus, yang termasuk dalam golongan *typhoid* ini adalah *S. typhi* dan *S. paratyphi* (A, B, dan C). Sedangkan *Salomonella* golongan *non-typhoid* merupakan kelompok *Salmonella* yang tidak dapat menyebabkan penyakit tifus, yang termasuk dalam golongan *non-typhoid* ini adalah seluruh anggota genus *Salmonella* lainnya (Prayoga dan wardani, 2015).

S. typhi merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi sistemik pada manusia yaitu DT. Patogenisitas bergantung pada berbagai faktor virulensi, seperti kemampuannya untuk menempel pada sel inang (*adhesi*), flagella, enzim, toksin, faktor bioaktif, yang akan mendorong bakteri untuk menempel pada mukosa usus halus, invasi, multiplikasi dan menyebar masuk ke jaringan limfoid sampai ke aliran darah serta beredar ke seluruh tubuh ke hati, *bone marrow* (sumsung tulang), limpa, kandung empedu dan plak peyer (Jindal, *et al*., 2012; Alexan, *et al*., 2009*).*

2. Morfologi

S. typhi berbentuk batang, tidak berspora, dengan ukuran 10 hingga 35 µm x 0,5 hingga 0,8 µm, besar koloni rata-rata 2-4 mm dan memiliki flagela peritrikh. Bakteri ini memfermentasi glukosa dan manosa tanpa

menghasilkan gas, tetapi tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa. Beberpa isolat *Salmonella* yang diisolasi dari bahan klinis menghasilkan H_2S (Jawetz, *et al*., 2006).



Gambar 3. Morfologi *S. typhi* (Sumber: Parkhill *et al.,* 2001)

Pada suhu 37ºC, isolat *S. typhi* memperlihatkan koloni yang berbentuk cembung, transparan dan memiliki bercak hitam dibagian pusat pada media SSA (*Salmonella* dan *Shigella* agar) (Nugraha, 2012). Bakteri *S. typhi* akan mati melalui pasteurisasi, perebusan dan klorinasi pada suhu 60ºC selama 15 hingga 20 menit (Kementerian kesehatan RI, 2006).

3. Klasifikasi dan Karakteristik

Menurut Garrity (2004) dalam ”Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” klasifikasi *S. typhi* yaitu:

Kingdom : Procaryotae

Phylum : Proteobacteria

Classis : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

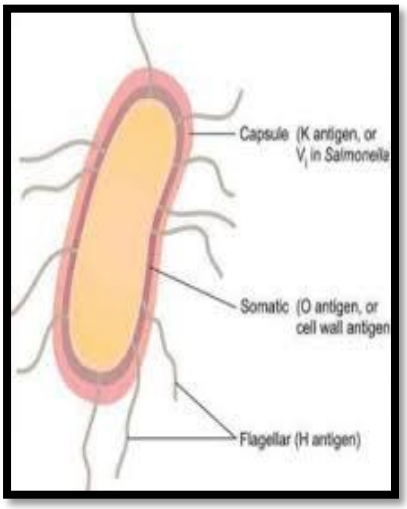
Species : *Salmonella typhi*

S. typhi terdiri atas 3 antigen utama (Nelwan, 2012) yaitu:

a. Antigen O (antigen somatic), yaitu berada pada lapisan luar tubuh bakteri. Bagian ini memiliki struktur kimia lipopolisakarida (endotoksin). Antigen ini tahan dengan suhu panas dan alkohol tetapi tidak tahan dengan formaldehid

b. Antigen H (antigen flagela), yaitu terletak pada flagela, fimbriae atau fili dari kuman. Antigen ini mempunyai struktur kimia suatu protein dan tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan dengan panas diatas 60°C, asam serta alkohol

c. Antigen Vi adalah polimer polisakarida asam yang terdapat dalam kapsul (envelope) dari bakteri dan melindungi *Salmonella* dari fagositosis.



Gambar 4. Posisi dari ketiga antigen pada permukaan tubuh bakteri *S. typhi* (Mahandaru, 2013)

Sebagian besar serotipe *Salmonella* tumbuh pada suhu 5 hingga 47°C, dengan suhu optimal 35 hingga 37°C, tetapi sebagian besar serotipe dapat tumbuh pada suhu serendah 2-4°C atau setinggi 54°C (Gray dan FedorkaCray, 2012). *Salmonella* sensitif terhadap kondisi panas dan dapat mati disuhu 70°C atau lebih tinggi. *Salmonella* tumbuh dalam kisaran pH 4 hingga 9, dan nilai terbaik adalah antara 6,5 dan 7,5.. Bakteri ini membutuhkan aktivitas air yang tinggi (aw) antara 0,99 dan 0,94 (air murni aw = 1,0) tetapi dapat bertahan hidup dengan aw < 0,2 seperti pada makanan kering (Nelwan, 2012).

S. typhi dapat menyebar pada makanan dan minuman yang telah terkontaminasi bakteri tersebut. Beberapa bakteri dihancurkan oleh asam lambung, sementara yang lain terus berkembang biak di saluran pencernaan. Jika sejumlah besar bakteri masuk, itu adalah sekitar 106 hingga 109. Bakteri akan masuk ke usus halus, jika respon imun humoral mukosa IgA usus yang tidak baik. Pertama, menembus sel epitel, terutama sel M, dan kemudian memasuki lamina propia. Di lamina propia, bakteri berkembang biak dan ditelan oleh fagosit, terutama makrofag (Nelwan, 2012).

bakteri dalam hal ini bakteri *S. typhi* dapat berkembang biak dan hidup dalam makrofag, dan kemudian dibawa ke Plak Peyer, Ileum distal, ke kelenjar getah bening mesenterika. Melalui duktus torasikus bakteri akan masuk ke dalam peredaran darah, menyebabkan bakteremia (asimtomatik) dan DT. Bakteremia dianggap asimtomatik karena terjadi

pertama kali dalam waktu kurang lebih 24-72 jam setelah bakteri tertelan, dan biasanya asimtomatik karena bakteri tersebut dilapisi oleh sel-sel utama sistem retikuloendotelial tubuh, yaitu hati, limpa, dan sumsum tulang. Pada organ ini, bakteri akan meninggalkan makrofag, kemudian berkembang biak di luar sel (ruang sinusoid) kemudian masuk ke sirkulasi darah kembali, menyebabkan bakteremia untuk kedua kalinya, dan menunjukkan tanda dan gejala infeksi sistemik. (Nelwan, 2012).

Di dalam hati, bakteri masuk ke kantong empedu dan berkembang biak kemudian diekskresikan bersama dengan cairan empedu kedalam lumen usus. Sekitar setengah dari bakteri diekskresikan dalam tinja, dan setengah lainnya memasuki sirkulasi melalui usus. Pada awalnya proses yang sama diulangi, karena aktivasi makrofag, beberapa mediator inflamasi dilepaskan selama proses fagositosis *Salmonella*, menyebabkan gejala peradangan sistemik yaitu demam, sakit kepala, instabilitas vascular, malaise, sakit perut, mialgia, gangguan mental dan koagulasi (Nelwan, 2012).

4. Fisiologi

Bakteri ini akan tumbuh di kondisi aerob dan anaerob fakultatif dengan suhu 15ºC – 41ºC (suhu pertumbuhan optimal 37ºC) serta pH pertumbuhan 6-8. Secara umum isolat *Salmonella* dikenal dengan karakteristik yaitu pergerakan positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, laktosa, voges praskauer dan KCN. Beberapa isolat *Salmonella* dari

bahan klinis menghasilkan H_2S. *S. typhi* hanya membentuk sedikit H_2S dan tidak membentuk gas selama fermentasi glukosa. Pada media SSA, EMBA dan MacConkey, koloni bakteri berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna. Koloni akan berwarna hitam cerah karena terbentuknya H_2S pada agar Wilson Blair. (Rasmilah, 2001).

C. Sistem Imunitas

Sistem imun yaitu semua proses yang digunakan tubuh untuk melindungi tubuh, sebagai pelindung dari bahaya yang ditimbulkan oleh berbagai zat di lingkungan. Pertahanan tubuh terhadap infeksi mikroba patogen terjadi dalam banyak cara. Pertama, sistem kekebalan alami atau non-spesifik (natural/innate) menghilangkan patogen infeksius atau membunuhnya pada kontak pertama. Ketika patogen menyebabkan infeksi, respons non-adaptif awal sangat penting untuk mengendalikan infeksi dan mempertahankan kendalinya sampai respons imun adaptif terbentuk. Respon imun adaptif limfosit T dan B membutuhkan waktu beberapa hari untuk menemukan antigen spesifik untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel efektor. Sebelum sel memiliki kesempatan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi, mereka tidak dapat memulai respons sel B yang bergantung pada sel T (T-cell dependent B-cell responses)(Kresno, 2001).

Ketika sistem kekebalan tubuh terkena benda asing (antigen), dua jenis sistem kekebalan akan dipicu, yaitu *innate immunity* and *adaptive immunity* (Baratawidjaja, 2000; Kresno, 2001; Campbell, 2002):

1. **Sistem imun Alamiah (Non Spesifik)**

Sistem imun alami merupakan pertahanan utama tubuh terhadap berbagai serangan mikroba karena dapat memberikan respon yang segera (Baratawidjaya, 2002)

Garis pertahanan pertama imunitas bawaan dilakukan oleh barier epitelial kulit dan mukosa serta sel-sel alami dan antibodi yang terletak di epitel, yang semuanya memiliki fungsi menghalangi masuknya mikroorganisme. Ketika mikroorganisme menghancurkan epitel dan memasuki jaringan atau sirkulasi, mereka diserang oleh fagosit, limfosit spesifik yang disebut limfosit alami dan limfosit alami lainnya, dan beberapa protein plasma termasuk protein sistem komplemen. seluruh mekanisme kekebalan bawaan alami ini secara khusus mengenali dan merespons mikroorganisme (Abbas, dkk., 2016)

2. **Sistem imun Adaptif (Spesifik)**

Sistem kekebalan adaptif adalah respons yang diperoleh terhadap antigen tertentu yang sebelumnya telah terpapar oleh tubuh. Sistem imun adaptif mampu berperan tanpa bantuan sistem imun non alamiah, dengan menghancurkan antigen yang berbahaya bagi tubuh. Secara umum, terdapat kerjasama yang antara antibodi-komplemen-fagosit dan sel T-makrofag (Kresno, 2001 ; Baratawidjaya, 2002)

sistem imun spesifik terdiri dari limfosit. Limfosit merupakan kunci untuk mengontrol sistem imun. Ada dua jenis, yaitu: sistem imun humoral spesifik (sel B), yang menghasilkan antibodi yang melindungi terhadap

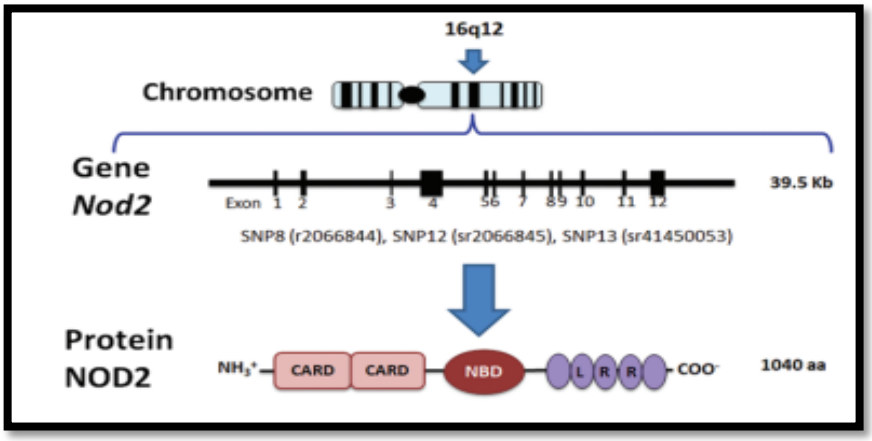
infeksi virus ekstraseluler dan bakteri, Dan sistem kekebalan seluler spesifik (sel T) digunakan untuk bertahan melawan bakteri hidup, virus, parasit, dan tumor ganas di dalam sel (wiedosari, 2002).

D. Nucleotida Binding Oligomerization Domain *2*

Protein *nucleotida binding oligomerization domain* 2 (NOD2) di sandi oleh gen *NOD2*. Protein NOD2 (sebelumnya dikenal sebagai *caspase recruitment domain-containing protein* 15 (CARD15)) memiliki beberapa fungsi penting dalam mempertahankan tubuh dari agen asing seperti virus dan bakteri. Protein ini aktif di beberapa jenis sel sistem kekebalan (seperti monosit, makrofag, dan sel dendritik). Protein NOD2 juga aktif di beberapa sel epitel, termasuk sel paneth, yang ditemukan pada lapisan usus. Sel-sel ini memainkan peran penting dalam mempertahankan dinding usus terhadap infeksi bakteri (inohara *et al*, 2003).

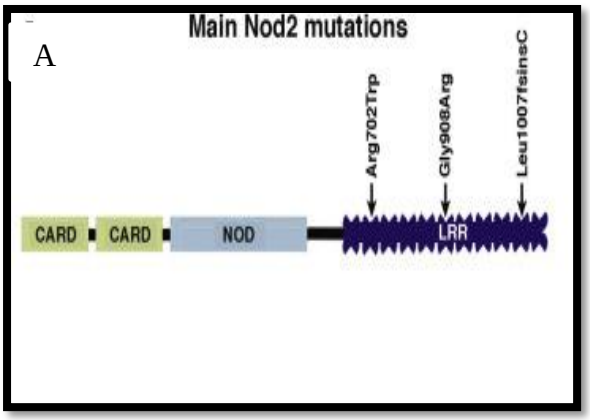
Secara genetik, tubuh manusia dapat mendeteksi infeksi melalui NOD2. NOD2 merupakan protein awal yang berfungsi dalam pendeteksian bakteri dan mengenali keberadaan protein lipopolisakarida baik gram negatif maupun gram positif. Protein ini mengenali dinding sel bakteri (peptidoglikan) terutama bagian muramyl dipeptide (MDP) sehingga dapat menginduksi makrofag. Pengikatan MDP dan NOD2 akan mengaktifkan nuclear factor kappa-B (NF-κβ) dan menginduksi apoptosis, sedangkan faktor ini merupakan salah satu faktor transkripsi yang sangat efektif dalam mendukung sekresi sitokin inflamasi. Mutasi NOD2 akan

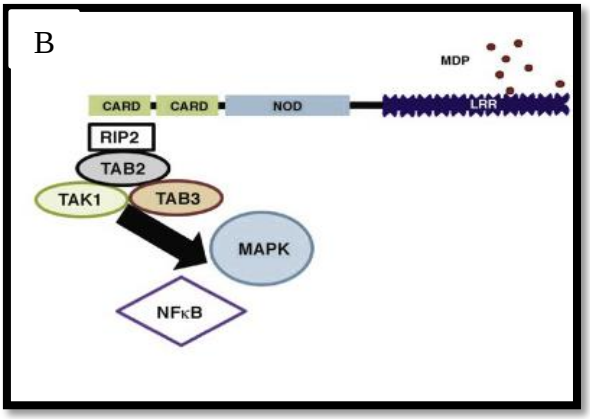
menurunkan kemampuan tubuh untuk mengeliminasi bakteri *pathogen* (Asmawati, 2011).



Gambar 5. Lokasi Gen *NOD2* dan Gambaran Protein NOD2 (Domínguez-Martínez *et al,* 2018*)*

Gen *NOD2*, terletak dikromosom 16 (16q12). Protein NOD2 terdiri dari dua NH_2-terminal Caspase Recruitment domains (CARDs), sentral nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) dan multiple COOH-terminal Leusin rich repeats (LRRs). Hal inilah yang menyebabkan protein NOD2 mampu mengenali lipopolisakarida dan peptidoglikan bakteri.





Gambar 6. Struktur Mutasi dan jalur intraseluler utama yang diinduksi NOD2 (Sumber Ferrand *et al.,* 2019)

Banyak jenis bakteri yang bisa hidup dalam sistem pencernaan. Kebanyakan dari mereka tidak berbahaya, seperti bakteri dalam usus yang biasanya membantu mencerna makanan. Namun keberadaan bakteri lain tidak dapat di hindari sehingga mampu menginfeksi tubuh dan menyebabkan penyakit. Protein NOD2 terlibat dalam mengenali bakteri tertentu dalam usus dan menstimulasi sistem kekebalan tubuh untuk merespon dengan baik. Kompleks protein ini mengatur aktivitas banyak gen, termasuk gen yang mengontrol respons imun dan reaksi inflamasi. Reaksi inflamasi terjadi ketika sistem kekebalan mengirimkan molekul sinyal dan sel darah putih ke tempat cedera atau penyakit untuk melawan agen asing dan memfasilitasi perbaikan jaringan (Akagawa , 2004).

Selain itu protein NOD2 juga berperan dalam proses yang disebut autophagy, yang digunakan sel untuk mengelilingi dan menghancurkan bakteri, virus, dan zat berbahaya lainnya. Selain melindungi sel dari infeksi, autophagy digunakan untuk mendaur ulang bagian sel yang usang

dan memecah protein tertentu saat tidak lagi dibutuhkan. Proses ini juga terlibat dalam penghancuran sel (apoptosis) (Akagawa , 2004)

Adanya mutasi pada gen *NOD2* dapat mengakibatkan kegagalan pengenalan dinding sel bakteri yang masuk terutama bagian muramil dipeptida akibatnya NF-κβ juga mengalami kegagalan untuk mengaktivasi sistem imun lainnya sehingga semakin banyak bakteri yang masuk dan berpotensi mengakibatkan reaksi inflamasi (Barnisch, *et al*, 2005).

Lebih dari 30 varian dari gen *NOD2* diketahui mampu berasosiasi dan meningkatkan kasus *Crohn disease* pada usus halus (ileum). Belum diketahui bagaimana perubahan gen dapat meningkatkan resiko terjadinya *Crohn disease*. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa perubahan gen berperan dalam melindungi sel usus dalam pengenalan bakteri, pertumbuhan bakteri tidak dapat dikendalikan dan dapat menyerang sel usus. Sistem imun yang abnormal menyebabkan radang dan infeksi akibat bakteri dan masalah pada sistem pencernaan seperti *Crohn disease* (Bernisch, *et al.*, 2005)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dwiyanti dkk, 2017 menemukan polimorfisme alel G/C dan C/C ekson 8 pada gen *NOD2* yang terletak pada nukleotida 2722 lebih rentan terjadi pada demam tifoid dengan gejala berat daripada demam tifoid dengan gejala ringan. Masing-masing p-value adalah 0,027 dan 0,014 dan rasio odds adalah 16,7 dan 27,9 (interval kepercayaan 95% adalah 2,422-25,717 dan 2,663-37,128). Temuan ini dianggap signifikan secara statistik. Alel ini mungkin

memfasilitasi perkembangan penyakit. Pengenalan patogen oleh makrofag penting untuk imunitas bawaan. Ada reseptor khusus untuk pola molekuler terkait patogen (PAMP), dari domain oligomerisasi pengikat nukleotida (NOD) tersebut yang berada di sitoplasma. NOD2, yang utamanya terdapat di makrofag, adalah reseptor pengenalan *muramyl dipeptide* (MDP) pada peptidoglikan bakteri gram positif dan negatif.

Penelitian lain oleh Caruso dkk, 2014 mengatakan polimorfisme gen *NOD2* adalah faktor risiko genetik terkuat yang diketahui dalam perkembangan penyakit *Crohn disease.* Tiga varian NOD2 (R702W, G908R, dan L1007insC) dan beberapa varian minor di wilayah C-terminal LRR dan HD2 terkait dengan perkembangan penyakit *Crohn disease*. Individu dengan hanya satu varian *NOD2* hanya memiliki sedikit peningkatan risiko mengembangkan *Crohn disease*, sedangkan homozigot atau senyawa heterozigot untuk varian *NOD2* menunjukkan peningkatan risiko 20 hingga 40 kali lipat. Namun, sebagian besar individu homozigot untuk varian *NOD2* tidak mengembangkan *Crohn disease*, menunjukkan bahwa faktor lingkungan mengubah regulasi kekebalan, dan/atau mikrobiota usus berperan penting untuk perkembangan penyakit.

E. Pemeriksaan Penunjang Mikrobiologi Demam Tifoid

Jika *S. typhi* dalam darah, feses, urin, atau kultur sumsum tulang, diagnosisnya pasti DT. Hasil pemeriksaan laboratorium membantu menegakkan diagnosis DT dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu:

pemeriksaan bakteriologis; uji serologis; dan pemeriksaan molekuler (Abdoel dkk, 2007; Hatta dkk, 2002a; Hatta dkk, 2009; Hatta dkk 2002b). Berkaitan dengan patogenesis penyakit, maka bakteri lebih mungkin ditemukan dalam darah dan sumsum tulang pada tahap awal penyakit, dan dalam urin dan feses pada tahap selanjutnya. Hasil kultur positif mengkonfirmasi DT, tetapi hasil negatif tidak menyingkirkan DT karena hasilnya tergantung pada beberapa faktor (Bhutta ZA, 2006; Hatta dkk, 2007; Wain dkk, 2008).

Faktor yang mempengaruhi hasil konvensional kultur ialah volume specimen darah yang diambil, perbandingan jumlah darah dengan volume transport medium dan timing dan fase DT pada saat pengambilan darah. Hatta (2007) melaporkan bahwa jumlah rata-rata bakteri 7,6 per ml ditemukan dalam darah penderita DT, walaupun penderita DT dalam keadaan bakteremia. Umumnya spesimen darah dibutuhkan volume 10-15 ml pada orang dewasa dan 2-4 ml pada anak. Waktu koleksi dari specimen darah paling baik adalah pada saat demam tinggiatau puncak demam dan sebelum pemberian antibiotik, karena 1-2 hari setelah pemberian antibiotik biasa bakteri *S. typhi* menjadi sulit untuk ditemukan dalam darah. Pertumbuhan *S. typhi* dapat dihambat dengan adanya efek netralisir komplemen atau antibodi. Pada keadaan in darah harus diencerkan 5 – 10 kali. Jumlah *S. typhi* yang ditemukan dalam sumsum tulang lebih banyak dibandingkan dengan jumlah *S. typhi* dalam darah karena pengaruh pemberian antibiotik pada bakteri yang terdapat dalam

sumsum tulang lebih kecil. Oleh karenanya, Volume sumsum tulang yang dibutuhkan untuk kultur sekitar 0,5-1 ml. Ini mungkin karena hasil positif yang lebih tinggi dari kultur sumsum tulang dibandingkan dengan darah, bahkan jika ukuran sampelnya kecil dan pengobatan antibiotik telah diterima sebelumnya (Bhutta ZA, 2006; Hatta dkk, 2007; Wain dkk, 2008).

Metode kultur kuman *S. typhi* masih merupakan gold standard akan tetapi membutuhkan waktu pertumbuhan yang lama dan biasanya membutuhkan waktu kultur 3-5 hari. Pada Pusat pelayanan masyarakat (Puskesmas) yang tidak mempunyai sarana penunjang laboratorium yang memadai maka pemeriksaan kultur masih sangat sulit dilakukan (Hatta dkk, 2002b; Hatta dkk, 2007; Wain dkk 2008; Jawetz, 2005).

Keberhasilan hasil pemeriksaan kultur dari specimen sangat terhantung dengan waktu pengambilan sampel penderita DT. Pada minggu pertama setelah terinfeksi *S. typhi* biasanya ditemukan kultur darah positif sedangkan pada minggu kedua dan minggu ketiga akan ditemukan positif kultur dari specimen urine dan faeces (Cruickshank R, 1968; Hatta dkk, 2007; Wain dkk, 2008; Bhutta ZA, 2006).

Pada gambar 2 menunjukkan perjalanan infeksi *S. typhi* pada penderita DT, dimana pada minggu pertama dapat ditemukan 92% kultur positif pada sumsum tulang dan 75-80% pada darah. Selanjutnya pada minggu ketiga perjalanan penyakit DT ditemukan 10% kultur faeces positif (Hatta dkk, 2011; Sabir dkk, 2014; Hatta dkk, 2007). Kultur sumsum tulang biasanya positif selama perjalanan penyakit dan akan menghilang

selama fase penyembuhan. Pengobatan dengan antibiotik membunuh bakteri dalam darah dalam beberapa jam setelah pemberian, sedangkan bakteri di sumsum tulang lebih sulit dibunuh. Hatta, dkk (2009) melaporkan 80% pasien yang tidak menerima antibiotik memiliki kultur darah positif, sementara hanya 40% pasien yang menerima antibiotik memiliki kultur darah positif, dan 90% pasien memiliki kultur sumsum tulang positif. Hasil kultur positif dari sampel darah pasien digunakan untuk memastikan diagnosis, dan hasil kultur negatif dari dua kultur negatif berturut-turut difungsikan untuk menentukan apakah pasien telah sembuh atau carrier (Easmon C, 2015; Hatta dkk, 2011; Hatta dkk, 2013; Sabir dkk, 2014; Ligia dkk, 2019). Media transpor untuk kultur darah adalah *bile peptone broth*, yang juga digunakan sebagai media enrichment medium dengan perbandingan antara volume darah dengan volume medium adalah 1:3, artinya 1 bagian volume darah membutuhkan 3 bagian volume medium. Untuk feses dapat digunakan buffered glycerol saline atau stuart's transport medium (Jawetz M, 2005; Cruickshank R, 1968; Ryan dkk, 2004).

F. Pemeriksaan Laboratorion

Pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis DT dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: (1) pemeriksaan darah tepi; (2) pemeriksaan bakteriologis dengan isolasi dan biakan bakteri; (3) uji serologis; dan (4) pemeriksaan bakteri secara molekuler (Tumbelaka, 2005).

1. Pemeriksaan Darah Tepi

Gejala yang biasanya ditimbulkan oleh pasien DT adalah anemia; jumlah sel darah putih yang normal, menurun atau meningkat; trombositopenia dan limfositosis relatif, terutama pada stadium lanjut (Hoffman, 1991). Studi oleh beberapa ilmuwan telah menemukan bahwa jumlah dan jenis sel darah putih dan tingkat sedimentasi sel darah merah tidak memiliki nilai spesifik yang cukup tinggi untuk membedakan pasien DT dari pasien non-DT. Namun, adanya leukopenia dan limfositosis relatif menjadi dugaan kuat diagnosis DT (Pawitro, dkk., 2002).

2. Identifikasi Melalui Isolasi/Biakan

Diagnosis berdasarkan pada penemuan *S. typhi* dalam kultur dari darah, air seni, tinja , *bone marrow* (sumsum tulang), atau usus 12 jari. Hasil kultur positif mengkonfirmasi DT, tetapi hasil negatif tidak menghilangkan kecurigaan DT. Kegagalan isolasi/budidaya dapat disebabkan oleh keterbatasan media yang digunakan, volume spesimen yang tidak mencukupi, jumlah bakteri yang sangat minim dalam darah, dan waktu pengambilan spesimen yang tidak tepat. Keterbatasan metode ini adalah sensitivitas yang rendah dan waktu yang lama (5-7 hari), sehingga tidak praktis dan tidak tepat digunakan sebagai metode diagnostik standar dalam perawatan pasien (Prasetyo & Ismoedijanto, 2011).

3. Identifikasi Bakteri Melalui Uji Serologis

Uji serologis dapat dimanfaatkan untuk mendiagnosis DT dengan

mendeteksi antibodi spesifik terhadap komponen antigen *S. typhi*. Volume darah yang diperlukan untuk uji serologi ini adalah 1-3 mL, yang diinokulasikan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan. Beberapa tes serologis yang dapat digunakan untuk DT ini antara lain: uji Widal, metode *enzyme-linked immune sorbent assay* (ELISA), pemeriksaan dipstick dan Latex aglutinasi (drydot) (Rachmat, 2011).

a. Uji Widal

Prinsip uji widal adalah reaksi aglutinasi antara antibodi (aglutinin) dalam serum pasien yang mendapat pengenceran antigen somatik (O) dan flagela (H) yang berbeda. Pengenceran tertinggi yang masih menyebabkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum Antigen yang digunakan dalam uji widal adalah suspensi *Salmonella* yang telah dibunuh dan diproses di laboratorium. Tujuan dari tes Widal adalah untuk menentukan apakah ada agglutinin dalam serum pasien yang diduga menderita DT. Akibat dari infeksi *S typhi* pasien akan membentuk antibodi, yaitu: antibodi O, antibodi H dan antibodi Vi. Di antara ketiga antibodi tersebut, titer hanya mengukur antibodi O dan H untuk diagnosis. Semakin tinggi titer, semakin besar kemungkinan pasien menderita DT (Noer,1996; Baratawidjaja 2000; Hatta *et al*, 2002b)

b. *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

Uji ELISA merupakan suatu pengujian yang melibatkan enzim Bagian penting dari teknik ini adalah untuk mengukur tingkat

imunosorben yang terikat enzim. Keragaman terbesar dari desain ELISA tercermin dalam pilihan konjugat dan substrat. Berbagai enzim dapat digunakan. Enzim ini berikatan langsung dengan antibodi atau antigen, atau secara tidak langsung melalui jembatan biotin/streptavidin atau protein A. Tes ini digunakan untuk imunodiagnosis infeksi virus dan antigen mikroba lainnya. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk mendeteksi Lipopolikasarida (LPS : lgA, lgM, lgG) dan antiflagellum lgS pada DT (Muliawan dan Surjawidjaja, 1999).

c. Uji Dipstik

Uji dipstik adalah uji yang hasilnya akurat untuk mendeteksi antibodi lgM spesifik terhadap antigen lipopolikasarida (LPS) dari *S. typhi* dan *S. paratyphi*, berdasarkan atas ikatan antara lgM spesifik dengan LPS tanpa membutuhkan peralatan dan keterampilan khusus serta dapat diterapkan diparifer (Hatta *et al*, 2002b).berdasarkan hasil penelitian Hatta *et al* (2002b) bahwa tes dipstik mempunyai tingkat sensifitas dan spesifisitas lebih tinggi dibandingkan dengan tes konvensional Widal.

Dipstik mempunyai dua pita horizontal, pita antigen yang digunakan yaitu lipopolikasarida (LPS) dari dinding selnbakteri *S. typhi* yang diisolasi dari bakteri pada penderita DT. Pita bagian bawah merupakan pita antigen *S. typhi* dan sebuah control internal (pita bagian atas). Dengan demikian mengikatkan antigen zat warna khusus yaitu

colloidal red atau palanil red dan selanjutnya zat warna khusus yang telah mengikat antigen tersebut ditempelkan pada kertas nilon. Bila serum penderita antibodi lgM *S. typhi* akan memperlihatkan reaksi yang positif, yang mana akan terlihat pada kertas nilon berupa pita berwarna merah (Hatta *et al,* 2002b).

Pemeriksaan dipstik didasarkan atas ikatan antigen *S.thypi* dengan antibodi manusia spesifik yait lgM. Ikatan antibodi secara spesifik terdeteksi dengan lgM konyugasi manusia. Dipstik disiapkan dengan titik dari berbagai jenis antisera yang diuji dengan menggunakan kumpulan serum normal dari ayam atau manusia dengan pengenceran 1/1000 hingga 1/40.000 dalam larutan penyangga fosfat sebagai antigen. Reagen-reagen antibodi menggunakan berbagai kombinasi partikel pewarna dan antisera yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen sebagai upaya yang digunakan unuk mendeteksi keberadaan antigen sebagai upaya untukmemilih kombinasi yang paling efektif terhadap pewarna dan antisera (Snowden *and* Hommel, 1995).

d. Latex aglutinasi (drydot)

Menurut Abdoel *et al*. (2007) bahwa latex aglutinasi assay (Drydot) menggunakan antigen *S. typhi* yang diekstraksi dengan phenol dan ethanol dari kultur *S. typhi* yang di isolasi dari Indonesia yang ditumbuhkan pada medium luria bertabi agar. Kartu ini dapat

disimpan dan bertahan selama 2 tahun pada suhu 4, 28, 45, atau 55°C.

Pemeriksaan latex agglutinasi dilakukan dengan mengambil 10 ml serum diletakkan di atas kertas agglutinasi dengan titik latex yang kering, selanjutnya latex kering dicampurkan dengan cepat kedalam serum dengan cara mengaduk dengan menggunakan pengaduk khusus yang sesuai dengan tesnya, jika latex suspensi telah homogen kartunya diputar dengan posisi horizontal sampai timbul agglutinasi (gumpalan) selama 30 detik. Interpretasi hasil jika positif maka terbentuk agglutinasi dan jika negatif suspensi tetap homogen (Abdoel *et al*, 2007).

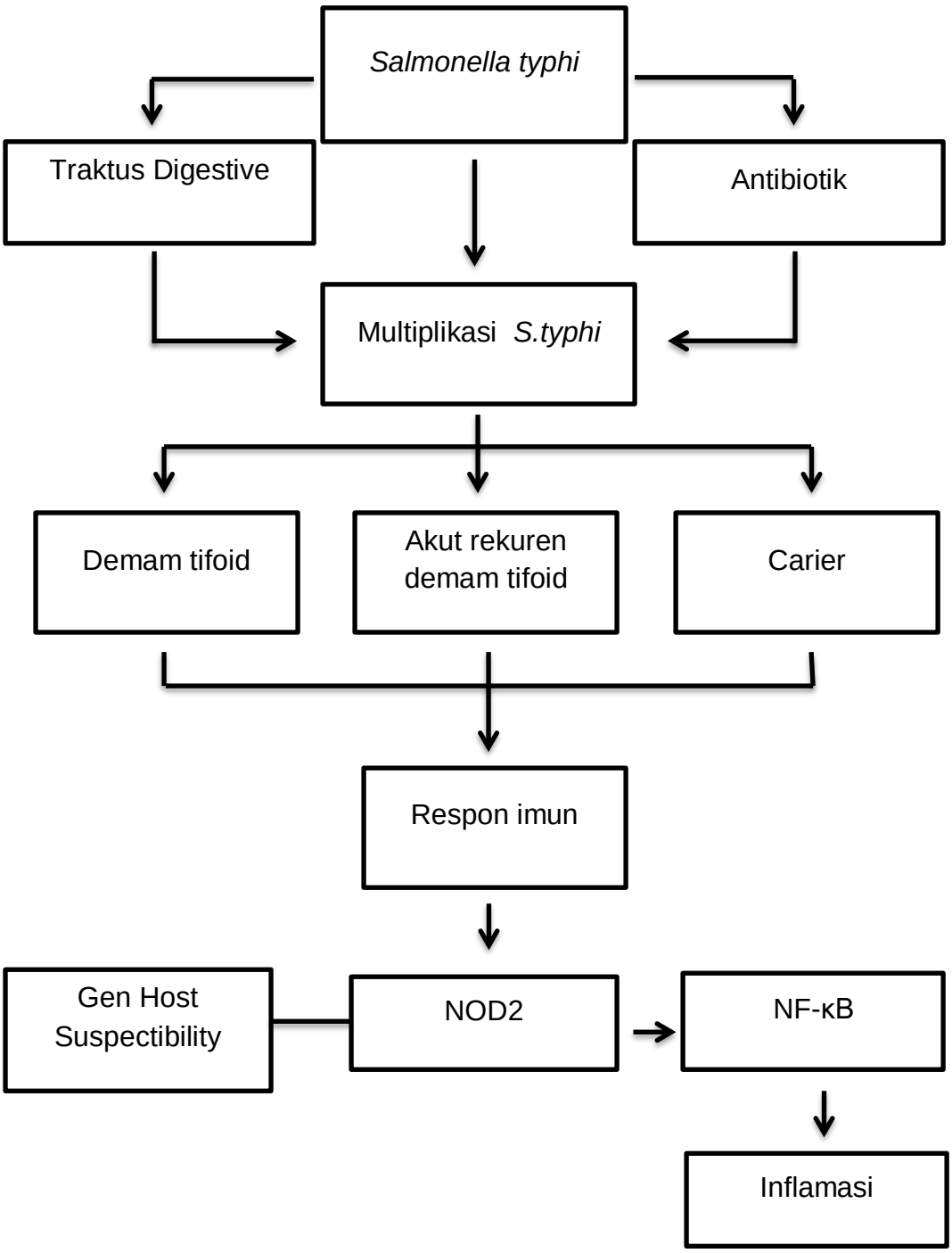
4. Identifiksasi dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

mendeteksi DNA (asam nukleat) *S. typhi* dalam darah dengan hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA *polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode lain untuk mengidentifikasi bakteri *S. typhi*. PCR adalah teknik cepat yang menggunakan dua primer beruntai pendek untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik secara in vitro. Dengan menggunakan teknik ini, sejumlah kecil fragmen DNA yang dibutuhkan akan digandakan secara eksponensial menjadi jutaan salinan dalam beberapa jam. Elektroforesis agarosa, dan *enzyme immunoassay* menggunakan deteksi *probe based colorometric* atau teknologi emisi fluoresensis digunakan untuk mendeteksi produk amplifikasi secara visual (Sulistyaningsih, 2007).

Hambatan yang kadang terjadi pada metode ini adalah penggunaan metode PCR ini antara lain prosedur teknis yang harus dilakukan dengan sangat hati-hati, biaya yang relatif tinggi, dan teknologi yang relatif kompleks (Prasetyo & Ismoedijanto, 2011).

G. Kerangka Teori

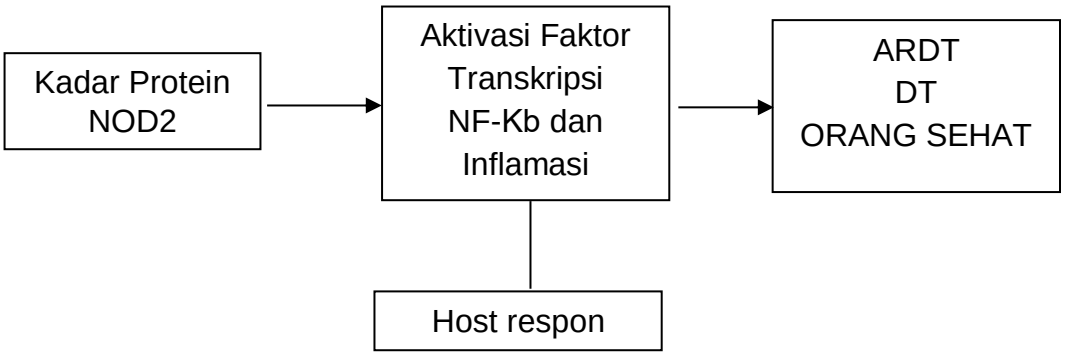
Kerangka teori dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :



Gambar 7. Kerangka Teori

H. Kerangka Konsep

Kerangka konsep dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:



Variabel independen Variabel antara Variabel dependen

Gambar 8. Kerangka Konsep

I. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini ialah:

1. Kadar protein NOD2 pada ARDT lebih rendah dibandingkan DT
2. Kadar protein NOD2 pada ARDT lebih rendah dibanding orang sehat
3. Kadar protein NOD2 pada DT lebih rendah dibanding orang sehat
4. Terdapat korelasi antara titer widal dan kadar protein NOD2

J. Definisi Operasional

1. Akut rekuren deman tifoid adalah penderita DT datang kembali kerumah sakit/Puskesmas dengan gejala dari penyakit yang sama dan melibatkan organ yang sama dengan intervalirregular, dimana hasil kultur darah positif setelah 1 minggu terapi dihentikan.
2. Demam Tifoid adalah penderita yang memilki suhu diatas 37,5° C,

selama lebih dari 3 hari dan telah melalui pemeriksaan dokter dan dinyatakan DT berdasarkan hasil kultur darah positif.

3. Orang sehat adalah orang yang tidak menderita DT atau penyakit infeksi lain yang diambil dari Unit Trasfusi Darah (UTD) Makassar
4. Protein NOD2 diambil dari serum penderita ARDT dan DT dan dilakukan pemeriksaan kadarnya dengan teknik ELISA dan dinilai dengan satuan ng/mL.

2. Kultur positif : Dari darah teridentifkiasi *S. typhi* berdasarkan pewarnaan Gram,tes kultur dan tes biokimia
3. Widal positif: hasil titer secara serial dilusi dengan menggunakan kit Widal test menunjukan dilusi 1/320 atau lebih