

**PENENTUAN KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE
ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1)
PADA PENDERITA AKUT REKUREN DEMAM TIFOID**

*DETERMINE THE PROTEIN OF NATURAL RESISTANCE
ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) IN
TYPHOID FEVER ACUTE RECURENT*

ADE RIFKA JUNITA



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**PENENTUAN KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE
ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA
PENDERITA AKUT REKUREN DEMAM TIFOID**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi

Disusun dan diajukan oleh

ADE RIFKA JUNITA

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

TESIS

**PENENTUAN KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA PENDERITA AKUT
REKUREN DEMAM TIFOID**

Disusun dan diajukan oleh

ADE RIFKA JUNITA
Nomor Pokok P062191028

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 23 November 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,

dr. Firdaus Hamid, Ph.D

Ketua

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok(K)

Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Ade Rifka Junita
Nomor Mahasiswa : P062191028
Program Studi : S2/ Ilmu Biomedik
Konsentrasi : Mikrobiologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis yang saya tulis yang berjudul “Penentuan Kadar Protein Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1 (NRAMP-1) Pada Penderita Akut Rekuren Demam Tifoid (ARDT)” adalah benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan dan pemikiran orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi Tesis ini hasil karya orang lain , saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 November 2020


Ade Rifka Junita

PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah Puji Syukur senantiasa peneliti panjatkan kehadiran **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 Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)** dan **Ibunda dr. Ratnawati** 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 : **dr. Firdaus Hamid, Ph.D**, selaku Pembimbing; **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok (K)** dan **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** selaku Pembimbing 1 dan 2. **Dr. Rosana Agus, MSi**, dan **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku penguji, yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat saya selasai 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 selasai dengan baik.

Dan yang terakhir, teruntuk orang yang istimewa dalam hidup saya, **Suami tercinta dr. Ahmad Syukri Saleh, Sp.JP, FIHA** yang turut memberikan dukungan baik moril maupun materil yang sangat mendorong 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, Oktober 2020

ADE RIFKA JUNITA

ABSTRAK

ADE RIFKA JUNITA. *PENENTUAN KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA PENDERITA AKUT REKUREN DEMAM TIFOID* (dibimbing oleh Firdaus Hamid dan Rosdiana Natzir)

Penelitian ini menilai profil ekspresi NRAMP-1 dalam serum ARDT dan dibandingkan dengan pasien demam tifoid (DT). Demam tifoid (DT) merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh *Salmonella enterica serovar Typhi* (*S. typhi*) dan masih menjadi masalah kesehatan global terutama di negara berkembang. Peran mekanisme kerentanan inang seperti *Natural Resistance Associated Macrophages Protein-1* (NRAMP-1) masih belum jelas. Diperlukan cara yang efektif dan untuk mempelajari kejadian Akut Rekuren Demam tifoid (ARDT)

Penelitian ini menggunakan 30 pasien ARDT dan 30 pasien demam tifoid yang dikumpulkan dari beberapa Puskesmas dan Rumah Sakit di daerah endemis, Indonesia. Ekspresi NRAMP-1 ditentukan dengan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Sebagai pembanding diperiksa orang sehat 30 orang yang diambil dari Dinas Transfusi Darah (UTD Makassar).

Hasil penelitian menunjukkan 30 sampel ARDT diperiksa dengan ELISA dan didapatkan rerata ekspresi NRAMP-1 adalah 10.941,56 ($\pm 756,28$) pg /mL. Sedangkan sebanyak 30 pasien demam tifoid ditemukan rerata ekspresi NRAMP-1 adalah 11.027,65 ($\pm 852,44$) pg/mL. Selanjutnya ditemukan rerata ekspresi NRAMP-1 pada orang sehat sebesar 21.103,91 ($\pm 352,05$) pg/mL. Tidak ada perbedaan ekspresi NRAMP-1 pada ARDT dibandingkan dengan DT. Namun terlihat penurunan yang bermakna ekspresi NRAMP1 pada ARDT dan DT dibandingkan dengan orang normal. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat faktor molekuler lain yang terlibat dalam host susceptibility terjadinya ARDT.

Kata kunci: NRAMP-1, Akut Rekuren, Demam Tifoid, ELISA, endemic, Indonesia

ABSTRACT

ADE RIFKA JUNITA. *DETERMINE THE PROTEIN OF NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) IN TYPHOID FEVER ACUTE RECURENT* (Supervise by Firdaus Hamid and Rosdiana Natzir)

This study explored the expression of NRAMP-1 in the serum of ARS of typhoid fever compared with typhoid fever patients. Typhoid fever is an acute infectious disease caused *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*) and remains a global health problem especially in developing countries. Host susceptibility mechanisms such as Natural Resistance Associated Macrophages Protein-1 (NRAMP-1) are poorly understood. There is an urgent need for adequate to predict the acute recurrence state (ARS) of typhoid fever as an emerging problem.

This study used 30 patients of ARS of typhoid fever and 30 typhoid fever patients were collect from several Primary Health Care and Hospitals in the endemic area, Indonesia. The expression of NRAMP-1 was determined using Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). As a comparison, 30 healthy persons were examined the NRAMP1 expression who were taken from the Blood Transfusion Service (UTD Makassar).

The result showed 30 ARS samples were examined by ELISA and the mean NRAMP-1 expression was 10.941,56 ($\pm 756,28$) pg /mL. Meanwhile, as many as 30 typhoid fever patients, it was found that the mean NRAMP-1 expression was 11.027,65 ($\pm 852,44$) pg /mL. Furthermore, it was found that the average NRAMP-1 expression in healthy person was 21.103,91 ($\pm 352,05$) pg /mL. There is no significant difference in NRAMP-1 expression on ARS compared to DT. However, there was a significant decrease in NRAMP1 expression on both ARS and Typhoid fever compared to healthy persons. Further study is needed to explore other molecular factors involved in host susceptibility of the occurrence of ARS.

Keywords: NRAMP-1, acute recurrence state, typhoid fever, ELISA, endemic areas, Indonesia

DAFTAR ISI

PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	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. Definisi	8
2. Demam Tifoid Menurut WHO	11
3. Penyebab	13
4. Gejala	14
5. Diagnosis	16
6. Pengobatan	17
B. Salmonella Typhii	18
1. Etiologi	18
2. Patogenesis Demam Tifoid	19
3. Epidemiologi	23
C. Sel Makrofag	24
D. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)	26
E. Pemeriksaan Penunjang Mikrobiologi Demam Tifoid	36
F. Tes Reaksi Imunologis pada Demam Tifoid	39

1. Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)	39
2. Tes Widal dengan pengenceran dan aglutinasi	39
3. Tes Haemagglutinati pad infeksi <i>S. typhi</i>	40
4. Rapid Test Dipstik, Lateral flow dan Dridot pada DT	40
G. Pemeriksaan Biologi Molekuler Demam Tifoid	43
H. Kerangka Teori	44
I. Kerangka Konsep.....	45
J. Hipotesis	45
K. Definisi Operasional	45
BAB III METODE PENELITIAN	47
A. Rancangan Penelitian	47
B. Waktu dan Tempat Penelitian	47
C. Sampel dan Kriteria Sampel.....	47
D. Alat dan Bahan Penelitian	49
E. Cara Kerja.....	49
F. Alur Penelitian.....	53
G. Analisis Statistik	53
H. Etika Penelitian	54
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	56
A. Deskripsi Hasil Penelitian.....	56
B. Pembahasan.....	61
BAB V PENUTUP	65
A. Kesimpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA.....	66

DAFTAR TABEL

Nomor		halaman
1.	Tes biokimia identifikasi <i>S. typhi</i> dan <i>S. paratyphi</i>	52
2.	Manifestasi klinis dan titer Widal pada ARDT dan DT	57
3.	Perbandingan hasil kadar protein NRAMP 1 pada ARDT, DT dan orang sehat	59

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1.	Morfologi <i>Salmonella typhi</i> dengan flagella dengan pewarnaan gram..... 12
2.	Morfologi <i>S. typhi</i> di bawah mikroskop elektron 19
3.	Proses yang terjadi pada penderita demam tifoid23
4.	Jalur hidup <i>S. typhi</i> dan hubungannya dengan diagnosa DT23
5.	Molekular mekanisme gen NRAMP-1 dalam menghambat multiplikasi mikroorganisme didalam sitoplasma sel makrofag dari host31
6.	Lokasi gen NRAMP-1 pada kromosom 2q3535
7.	Hasil tes cepat dipstik pada penderita DT42
8.	Kerangka teori..... 44
9.	Kerangka konsep45
10.	Alur Penelitian53
11.	Box plot kadar protein NRAMP-1 pada ARDT, DT dan orang sehat61

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1.	Kuestioner penderita Akut Rekuren Demam Tifoid (ARDT) dan Demam Tifoid (DT)73
2.	Data Akut Rekuren Demam Tifoid (ARDT)74
3.	Data penderita Demam Tifoid (DT)76
4.	HASIL ANALISA Human NRAMP-1 ELISA Kit Cat. No: CSB-E17597h78
5.	Data Hasil Widal, Stupor dan Kadar NRAMP-1 pada ARDT81
6.	Data Hasil Widal, Stupor dan Kadar NRAMP-1 pada DT82
7.	Rekomendasi persetujuan etik83
8.	Surat keterangan jurnal84
9.	Surat keterangan bebas plagiasi85
10.	Dokumentasi kegiatan86

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid (DT) merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang bersifat akut dan disebabkan oleh *Salmonella enterica serotype Typhi* (*Salmonella typhi*), dimana *Salmonella typhi* (*S. typhi*) ini termasuk bakteri gram negatif berbentuk basil dan bersifat patogen intraselular pada manusia (Wain dkk, 2015, Silva dkk, 2012). Invasi *S. typhi* terjadi melalui ileum terminal dan secara analogi dengan *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, kemungkinan melalui sel M pada patch Peyer. Selanjutnya, *S. typhi* masuk ke monosit dan kemudian melakukan perjalanan ke sel-sel dari sistem retikuloendotelial yang dapat bertahan dalam keadaan semi-dorman. Mungkin setelah aktifnya sistem imun penderita maka *S. typhi* akan masuk kembali ke aliran darah dan menyebar ke hati, kandung empedu, dan sumsum tulang (Amanda dkk, 2011; Di Domenico dkk, 2017).

Dengan ditemukannya alat diagnostik baru yang mudah dan sederhana misalnya lateral flow dan dipstick assay maka diharapkan angka kejadian demam tifoid di Indonesia akan menurun karena kedua teknik ini mudah dan cepat sebagai alat bantu diagnosa dini penderita demam tifoid (Hatta dkk, 2002). Angka kejadian DT di Indonesia masih sangat erat hubungannya dengan tingkatsanitasi lingkungan dan hygiene perorangan

yang rendah menyebabkan penyakit ini masih bersifat endemik (Hatta dkk, 2009).

Kemungkinan lain tidak menurunnya angka kejadian demam tifoid di Indonesia karena adanya karier demam tifoid yang disebabkan pengaruh dari sifat bakteri *S. typhi* itu sendiri, dimana ditemukannya variasi gen flagella yang berhubungan erat dengan karier demam tifoid (Hatta dkk, 2011; Dwiyanti dkk, 2015).

Umumnya demam tifoid yang tidak diobati membawa angka kematian 10% -20%. Dalam penyakit yang dirawat dengan benar, tingkat kematian kurang dari 1%. Lima persen sampai 10% pasien yang diobati dengan antibiotik mengalami kekambuhan akut/kambuh demam tifoid setelah pemulihan awal. Tanpa pengobatan yang efektif, demam tifoid memiliki tingkat fatalitas kasus 10-30%, namun jumlah ini berkurang menjadi 1-4% pada mereka yang mendapat pengobatan antibiotik yang adekuat. (Hatta dkk, 2011; Grossman dkk, 1995).

Akut rekuran demam tifoid (ARDT) biasanya terjadi sekitar 1 minggu setelah terapi tidak dilanjutkan, namun kekambuhan/kambuh setelah 70 hari telah dilaporkan. Disamping itu menurut Baker dkk (2014), ARDT dan terjadi karier dapat dipengaruhi oleh sistem imun penderita dimana salah satu fungsi terpenting dalam sistem fagositosis terhadap *S. typhi* adalah aktifitas dari sel makrofag. Ion Fe^{2+} menghasilkan antimikrobal hidroksil yang radikal pada reaksi Fenton. Ion Zn^{2+} dan Mn^{2+} dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metalloprotease dan

penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan berbagai efek NRAMP-1 pleiotropik dan berperan pada infeksi penyakit autoimmune. Fungsi gen *Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1* (NRAMP-1) dalam aktifitas makrofag sebagai pengangkut divalen kation (Fe^{2+} , Zn^{2+} , dan Mn^{2+}), dimana NRAMP-1 adalah suatu transporter H^+ atau divalenkation. Hal ini menyebabkan keadaan untuk homeostasis ion logam di dalam sel makrofag. NRAMP-1 didalam sel makrofag akan mengaktifkan proses lisosom yang membawa divalen kation dari sitosol ke fagolisom. (Wessling RM, 2015; Yang dkk, 2000).

Makrofag menggunakan banyak jalur untuk menghambat perkembangan bakteri intraseluler yang menggunakan zat besi sebagai faktor pertumbuhannya. Jalur pertama ialah melalui sitokin seperti IFN-gamma yang menghambat ekspresi transkripsi reseptor transferin (TfR). TfR adalah sumber utama zat besi untuk mycobacteria, karena bakteri dapat memanfaatkan ligannya, besi transferin, mengikuti transfer endosomal. Makrofag menghasilkan lipocalin-2 (Lcn2), yang mengikat dan menetralkan siderophores yang dihasilkan oleh *M. tuberculosis* untuk mengumpulkan dan menggunakan kembali zat besi yang ada pada sitoplasma.

Selanjutnya, makrofag yang menghasilkan sitokin seperti TNF-alpha akan menginduksi pembentukan feritin protein pengikat zat besi dan menggabungkan zat besi ke dalam inti tidak tersedia untuk bakteri

intraseluler serta lactoferrin protein yang mengikat besi (Lf), yang juga mengambil logam ini. Makrofag aktif mengekspresikan protein phagolysosomal NRAMP-1, yang di antara efek lainnya memompa besi keluar dari sel makrofag, sehingga mengurangi ketersediaan logam di phagosome untuk mikroorganismenya. Akhirnya, pembentukan nitrit oksida, faktor transkripsi dari nuclear factor erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) akan diaktifkan dan kemudian akan merangsang ekspresi export protein ferroportin (FP1) yang akan memompa besi keluar dari phagolysosome dan dari sitoplasma makrofag (Weiss dkk, 2015; Wessling-Resnick M dkk, 2015).

Mekanisme lain ialah menstimulasi ekspresi hepcidin di hati, yang merupakan salah satu mekanisme untuk pembatasan zat besi untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Semua mekanisme ini akan menghasilkan penurunan kadar zat besi intraseluler dan terbatasnya ketersediaan zat besi untuk yang dibutuhkan dalam metabolisme mikroorganisme dalam pertumbuhannya. Selain itu, berdasarkan efek regulasi negatif dari besi pada aktivitas IFN-gamma, pengurangan dalam ketersediaan logam ini menghasilkan penurunan respon imun terhadap mikroorganisme. Mekanisme tersebut di atas telah diteliti pada bakteri intraseluler lainnya seperti *S. typhimurium*, dan *M. tuberculosis* (Weiss dkk, 2015).

Infeksi yang disebabkan oleh berbagai macam jenis bakteri diantaranya *S. typhi*, *M. leprae*, *M. tuberculosis* sangat berhubungan

dengan host susceptibility dari penderita itu sendiri (Duncan 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 NRAMP-1 (Duncan dkk, 2010; Mustafa dan Hatta, 2011); Dwiyanti dkk, 2017b). Sesuai dengan penelitian Fitness (2004) menunjukkan bahwa modulasi aktifitas dan fungsi makrofag dapat dipengaruhi dan ditingkatkan oleh gen NRAMP-1, dimana beberapa penyakit yang berhubungan dengan sistem imun dapat berhubungan dengan fungsi NRAMP-1 tersebut (Dubaniewicz dkk, 2005). Telah dilakukan beberapa penelitian sebelumnya yang menghubungkan polimorfisme gen NRAMP-1 pada lokus atau urutan nukleotida tertentu dengan kejadian infeksi yang disebabkan *S. typhi*. Dengan melihat polimorfisme gen NRAMP-1 pada lokus 3'Untranslated Region (3'UTR), Intron 4 (INT4) dan D543N pada penderita demam tifoid. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa polimorfisme gen NRAMP-1 pada lokus 3'UTR, INT4 dan D543N mempunyai hubungan dengan kejadian DT (Dwiyanti dkk, 2017; Fitness dkk, 2004; Hatta dkk, 2010; Duncan dkk, 2001). Disamping itu menurut Blackwell (2001), kemungkinan adanya pengaruh langsung gen NRAMP-1 pada beberapa mikroorganisme patogen yang terdapat dalam sel makrofag. Gen NRAMP-1 dapat pula bersifat pleiotropik yang mana berfungsi dalam keseimbangan antara fungsi T helper 1 (Th1) dan T helper 2 (Th2) terhadap

respon imun tubuh yang bersifat adaptif dalam keadaan infeksi. Dari hasil penelitian sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa polimorfisme gen NRAMP-1 mempunyai korelasi dengan dengan titer antibodi yang terbentuk pada penderita yang terinfeksi *S. typhi* (Dwiyanti dkk, 2017).

Berdasarkan penjelasan diatas maka akan dilakukan penelitian mengenai kadar protein NRAMP-1 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT), demam tifoid (DT) dan orang sehat sebagai pembandingan (kontrol negatif).

B. Rumusan Masalah

Apakah ada hubungan kadar protein NRAMP-1 dengan kejadian akut rekuren demam tifoid (ARDT)?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk menentukan kadar protein NRAMP-1 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT)

2. Tujuan Khusus

- a. Menentukan kadar protein NRAMP-1 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT)
- b. Membandingkan kadar protein NRAMP-1 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT) dan penderita demam tifoid (DT)

- c. Membandingkan kadar protein NRAMP-1 pada penderita akut rekuren demam tifoid (ARDT) dan orang sehat
- d. Membandingkan kadar protein NRAMP-1 pada penderita demam tifoid (DT) dan orang sehat

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi pengembangan ilmu: dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang hubungan kadar protein NRAMP-1 terhadap faktor yang terlibat dalam imunopatomekanisme kejadian akut rekuren demam tifoid (ARDT)
2. Manfaat aplikasi untuk masyarakat: dari hasil penelitian ini diharapkan dengan adanya perbedaan kadar protein NRAMP-1 dapat dijadikan sebagai salah satu biomarker untuk pencegahan terhadap kejadian akut rekuren demam tifoid (ARDT).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Demam Tifoid

1. Definisi

Demam tifoid (DT) adalah suatu keadaan infeksi pada saluran pencernaan yang bersifat akut dimana infeksi tersebut disebabkan oleh mikroorganisme Gram negative yaitu bakteri *Salmonella enterica* serotype typhi (*S. typhi*). Disamping itu penyakit demam paratifoid yang disebabkan oleh *S. paratyphi* tipe A, B atau C mempunyai gejala klinis lebih ringan dan mirip dengan DT yang disebabkan infeksi *S. typhi*. (Hatta dkk, 2013b; Gunn dkk, 2014; Easmon C, 2015). Infeksi feco-oral dari bakteri *S. typhi* yang masuk kedalam saluran pencernaan dan melalui makanan, minuman yang terkontaminasi feses atau kotoran yang mengandung bakteri *S. typhi*. Disamping itu, higien dan sanitasi yang rendah juga berkontribusi dalam penularan DT (WHO 2008; Hatta dkk, 2008).

Penyakit DT adalah penyakit infeksi yang bersifat endemic dimana penyakit ini di masyarakat selalu ditemukan kasusnya sepanjang waktu walaupun dengan insiden rate/angka kejadian yang rendah. Asian tenggara termasuk Indonesia merupakan daerah endemic DT. Dari hasil studi terakhir untuk daerah Asia Tenggara pada kelompok anak dibawah 5 tahun ditemukan angka kejadian DT tertinggi dimana kasus ini mempunyai angka

kematian 1% dari seluruh kasus (WHO, 2008). Angka kejadian DT tertinggi pada kelompok umur dewasa dimana angka kematian lebih tinggi apada orang dengan sistim imunitas yang rendah misalnya pada penderita dengan koinfeksi keganasan dan infeksi Human Immunodefisiensi Virus (HIV) (Mastroeni dkk, 2003). Di negara Vietnam dan Pakistan angka kematian dari penderita yang dirawat di Pusat pelayanan Kesehatan dan rumah sakit menunjukkan kurang dari 2%, namun di beberapa negara memperlihatkan data angka kematian yang lebih tinggi, misalnya beberapa daerah di Indonesia dan Papua Nugini dapat mencapai 3-5 %. Kasus yang berujung pada kematian tidak lebih dari 1%, Angka kejadian DT bervariasi diseluruh dunia sesuai dengan kemampuan dalam pencegahan dan penanganan penderita DT. Kematian yang tinggi ini sebagian besar disebabkan penanganan penderita DT yang tidak adekuat dan pemberian antibiotik yang tidak tepat (Rasheed dkk, 2019; Hatta dkk, 2008).

Gejala umum penderita DT ialah demam, sakit kepala, lidah kotor (coated tongue), lemah (malaise), tidak nafsu makan, sakit perut, mual, muntah, diare ringan, konstipasi (sembelit) dan abdomen distensi. Pada keadaan berat gejala dapat berupa gangguan kesadaran (apati, stupor sampai koma). Pada keadaan komplikasi dapat ditemukan gejala melena dan perforasi usus. Gejala ini dapat ditemukan baik pada anak-anak, remaja dan dewasa (Kumar dkk, 2017; Alam, 2002)

Demam tifoid adalah suatu penyakit infeksi akut dan dapat bersifat sistemik dan dimulai dengan gejala klinis berupa demam yang terus-

menerus (umumnya lebih dari satu minggu), adanya gangguan saluran pencernaan, disebabkan adanya invasi *S. typhi* pada sel makrofag atau fagosit mononuklear yang terdapat di kelenjar limfe usus, limfa, hati dan plaque Payer, Bakteri ini dapat juga masuk ke organ lain dan menimbulkan gejala klinis yang berat berupa gangguan kesadaran (koma) dan kerusakan susunan saraf pusat (Brenner dkk, 2000).

Seorang filosof dari Perancis yang bernama Pierre Louis dari Prancis pada tahun 1829 mengemukakan istilah penyakit typhoid atau typhus dimana dalam bahasa Yunani = typhos. Pada saat itu pemakaian terminologi typhos ini sering digunakan pada penderita infeksi yang mengalami gejala demam tinggi yang disertai gangguan kesadaran. Setelah itu seorang ilmuwan Eberth pada tahun 1880 menemukan bakteri jenis *Bacillus typhosus* dalam sediaan limpa dan kelenjar limfe secara histologi. Setelah itu Gaffky pada tahun 1884 berhasil memurnikan *S. typhi* dalam medium cair dan dapat meyakinkan bahwa penularan infeksi demam tifoid melalui air. Selanjutnya Georges-Fernand Widal pada 1896 menemukan salah satu metoda reaksi serologi untuk mendiagnosis demam tifoid (Marineli dkk, 2013; Georges-Fernand Widal, 2019).

Pada penderita demam tifoid yang menyerang traktus gastrointestinal menggambarkan sifat dari infeksi strain *S. typhi* dimana mempunyai kecenderungan lebih berat dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan strain *Salmonella* yang lain (Marmion DE, 1952; Hatta dkk, 2010b; Wain dkk, 2015; Susanna dkk, 2005).

2. Demam Tifoid Menurut WHO

Demam pada penderita DT biasanya muncul setelah 1–3 hari infeksi, dengan gejala mulai dari ringan sampai berat. Gejala lain yang dapat ditemukan pada penderita DT ialah sakit kepala, lemah, mual, sembelit, diare, rose spot (bintik-bintik berwarna merah pada dada) dan pada keadaan lanjut dapat ditemukan adanya perbesaran limfa dan hati.

Pengertian demam tifoid (DT) atau yang lebih awam disebut demam tipus, menurut WHO adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. typhi*. Penyakit ini menular melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh faeces atau urine penderita yang terinfeksi *S. typhi*.

. Demam tifoid (DT) dengan gejala lebih ringan dapat disebabkan oleh *S. paratyphi* (serotipe A, B, atau C). Secara umum, pada infeksi *S. paratyphi* mempunyai gejala klinis yang hampir sama dengan infeksi *S. typhi* tetapi umumnya lebih ringan dan tingkat kematiannya lebih rendah (Aodkk, 2015). Sehingga infeksi salmonella pada manusia dapat dibagi dua. Bakteri penyebab pertama ialah bakteri *S. typhi* dan kedua ialah bakteri *S. paratyphi*. Sebagian besar gejala klinis dengan diare disebabkan oleh selain *S. typhi* (non-typhoidal Salmonella serovars (NTS) (Aodkk, 2015).

Demam tifoid (DT) merupakan penyakit infeksi mikroorganisme *S. typhi* dan dapat menyerang beberapa organ secara sistemik. Mikroorganisme ini hanya menginfeksi manusia dimana penularan penyakit ini dapat melalui makanan atau minuman yang kontaminasi dengan *S. typhi*, termasuk produk makanan seperti susu, atau air tercemar dengan

bakteri tersebut. Angka kejadian DT tinggi biasanya terjadi pada daerah dimana masyarakat mengkonsumsi air yang telah terkontaminasi oleh materi fekal. Hal ini pernah terjadi pada akhir abad ke-19 di banyak kota besar di Amerika Serikat dan Eropa Barat.

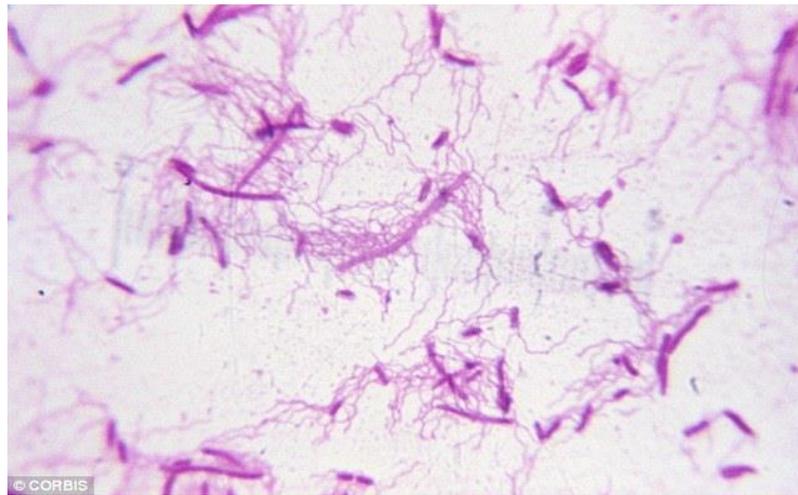
Gejala DT ditandai dengan onset tiba-tiba demam, sakit kepala, mual, nafsu makan berkurang, sembelit dan kadang-kadang disertai diare. Pada saat ini, ada beberapa strain yang tahan telah resisten terhadap antibiotik tertentu misalnya kloramfenikol maka dianjurkan untuk mengganti dengan antibiotik jenis lain misalnya ampicillin, cotrimoxazole atau ciprofloxacin). Hal ini telah banyak ditemukan resistensi terhadap kloramfenikol pada beberapa negara di dunia. Bila penderita DT tidak ditangani dengan baik maka dapat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi (10%) dan hal ini dapat dikurangi menjadi 1% bila mendapat terapi antibiotik yang adekuat. (Parry dkk, 2009; Basnyat dkk, 2007; Bhatta dkk, 2006).

3. Penyebab

Salmonella typhi (*S. typhi*) masuk kedalam mulut dan selanjutnya ke saluran pencernaan baik usus halus maupun usus besar. Hal ini dapat menyebabkan peradangan pada saluran pencernaan dan selanjutnya akan masuk ke aliran darah yang menimbulkan sepsis dan pada kasus yang berat (severe) dapat menyebabkan terjadinya perforasi pada usus.

Pada penderita DT, bakteri *S. typhi* dapat ditemukan dalam feses, urin dan darah. Penularan dan penyebaran *S. typhi* kedalam saluran pencernaan melalui makanan dan minuman dapat terjadi akibat pencucian tangan yang kurang bersih setelah buang air besar maupun setelah berkemih. Serangga lalat dapat pula menjadi vector dalam penyebaran *S. typhi* secara langsung dari tinja ke makanan atau minuman (Hatta dkk, 2008; Easmon 2015).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Crump (2010), pada beberapa penderita DT yang tidak mendapat pengobatan yang adekuat maka masih dapat ditemukan adanya *S. typhi* dalam feses penderita tersebut sampai satu tahun setelah pengobatan. Sekitar 3% penderita DT tersebut dinyatakan sebagai karier dimana tidak menunjukkan gejala klinis DT. namun masih dapat ditemukan adanya *S. typhi* pada feses (Hatta dkk, 2007; Crump dkk, 2010; Crump dkk, 2003; Dwiyaniti dkk, 2015).



Gambar 1. Morfologi *Salmonella typhi* dengan flagella dengan pewarnaan gram

4. Gejala

Gejala DT lain yang khas yaitu bradikardi relatif; kenaikan suhu tubuh tidak diikuti kenaikan denyut nadi yang sepadan (pada keadaan normal kenaikan 1 derajat celcius biasanya diikuti kenaikan denyut nadi 10-15 kali permenit). Namun adanya bradikardi relatif tidak menyingkirkan kemungkinan penyakit lain. Pada umumnya gejala klinis DT muncul secara bertahap mulai hari 3-14 setelah infeksi *S. typhi*. Gejala dapat berupa demam, sakit kepala, penurunan nafsu makan sakit tenggorokkan, nyeri sendi, sembelit dan diare. Jika pengobatan tidak diberikan, maka suhu tubuh secara perlahan akan meningkat dalam waktu sekitar 3 hari yaitu mencapai 39 – 40o C selama 10-14 hari. Pola demam pada demam typhoid secara alamiah (tanpa diobati) sangat khas, yaitu menyerupai anak tangga (step ladder, suhu badan meningkat pada sore dan malam hari dan turun (tidak mencapai normal) pada pagi hari. Panas mulai turun secara bertahap

pada akhir minggu ke-3 dan selanjutnya pada minggu ke-4 kembali kekeadaan normal. Kelainan mata yang disebabkan infeksi *S. typhi* sangat jarang terjadi dan biasanya berhubungan dengan infeksi sistemik. Sekitar 10% penderita DT ditemukan bintik-bintik kecil berwarna merah (rose spot) di dada dan perut pada minggu ke-2 dan berlangsung selama 3-4 hari. Kelainan pada mata yang mungkin terjadi yaitu: perdarahan vitreus, ablasi retina, abses kelopak mata, uveitis, ulkus kornea, perdarahan retina atau ablasi retina, neuritis optik, perdarahan orbita, paralisis otot bola mata, thrombosis. Dapat pula ditemukan gejala klinis berupa pembesaran limfa, hati dan kelenjar getah bening leher (cervical adenopati). Pada DT yang berat, dimana sudah terjadi gangguan organ secara sistemik terutama pada sistem saraf pusat dapat timbul gejala-gejala stupor, dan koma. (Gunn dkk, 2014; Hoffman dkk, 1984; Ligia dkk, 2019)

Setelah penderita mengalami infeksi maka masa inkubasi biasanya ditemukan sekitar 7-14 dimana masa inkubasi ini dipengaruhi oleh jumlah *S. typhi* yang masuk, gizi penderita, status umur dan reaksi imunologis dari penderita DT. Gejala klinik yang timbul sangat bervariasi dari ringan atau asimtomatik sampai berat. Pada keadaan tertentu diagnose DT sulit ditegakkan, karena gambaran klinik yang sangat bervariasi diantara penderita dan demikian juga komplikasi dan kematian yang ditimbulkan akibat infeksi *S. typhi* sangat bervariasi dari suatu daerah, waktu dan negara yang berbeda. (Crump dkk, 2010; Kumar 2017; Refatellu dkk, 2008).

Selanjutnya gejala klinik menjadi makin jelas berupa demam ditemukan setiap hari dan lebih sering pada waktu sore dan malam hari dengan sifat remiten dan adanya bradikardi relatif. Nafsu makan berkurang dan gangguan saluran pencernaan makin jelas. Pada keadaan sistemik *S. typhi* dapat menembus sawar otak sehingga mengakibatkan meningitis dan koma (de Jong HK dkk, 2012; Abdoel dkk 2007; Redffatellu dkk, 2008). Komplikasi lain dari DT ialah melena (2%), perforasi usus (1-2%), peritonitis, endocarditis, osteomyelitis (Alam dkk, 2002; Ligia dkk, 2019).

5. Diagnosis

Diagnosis DT berdasarkan gejala-gejala dan hasil pemeriksaan klinis dan untuk menunjang diagnosis dapat dilakukan pemeriksaan mikrobiologis berupa biakan darah, cairan empedu, urin dan feses untuk mendeteksi adanya *S. typhi*. Widal test sudah jarang digunakan karena tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya rendah. Hasil widal test dapat dijadikan pertimbangan jika terjadi peningkatan titer antibodi sebesar 4 kali lipat. Disamping itu dapat pula dilakukan tes fungsi ginjal mungkin dapat terganggu. Biopsi sumsum tulang dapat memberikan keakuratan diagnosis sebesar 90%. Namun prosedur ini jarang dilakukan karena sangat invasive. Gambaran radiologis yang tampak pada kasus perforasi usus ialah adanya udara bebas mengisi rongga perut. Tes fungsi hati mungkin dapat menunjukkan peningkatan (Gunn dkk, 2014; Bhutta dkk, 2006)

6. Pengobatan

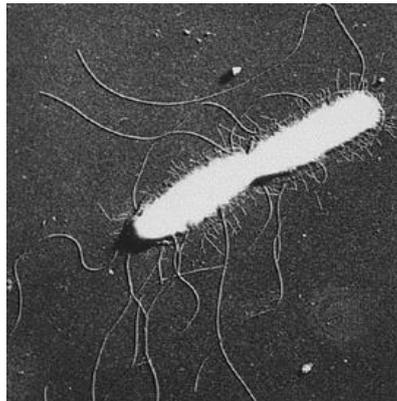
Lebih dari 99% penderita DT dapat disembuhkan mulai dari penanganan ringan dengan bed rest total sampai pemberian antibiotic . Walaupun pilihan obat (Drug of Choice) untuk demam tyhoid di Indonesia adalah antibiotik Kloramfenikol. Namun saat ini telah banyak kasus yang resisten dengan klorafenikol dan meningkatnya tingkat kekambuhan (akut recurrence) Walaupun angka kejadian Akut Rekuren Demam Tifoid (ARDT) yang disebabkan resistensi kloramfenikol belum diketahui secara pasti namun antibiotik pilihan yang dapat digunakan untuk penderita DT ialah ciprofloxacyn, ceftriaxon, azytromycin (Basnyat B, 2007). Pilihan obat untuk anak-anak dan wanita hamil yaitu parenteral ceftriaxon. (Ao dkk, 2010; Hoffman dkk, 1984; Marmion dkk,1952)

Walaupun tingkat efisiensi vaksin untuk pencegahan DT cukup baik (70%) namun pemberian vaksin hanya diberikan pada orang yang mempunyai resiko untuk terpapar *S. typhi* misalnya petugas laboratorium mikrobiologi dan para turis. Pencegahan utama dalam penyebaran penyakit ini yaitu dengan meningkatkan higiene sanitasi makanan dan lingkungan seperti membiasakan cuci tangan dengan bersih setelah buang air besar dan sebelum makan.

B. Salmonella Typhii

1. Etiologi

Semua spesies Salmonella yang telah diketahui mempunyai flagella, kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum* dan fimbria pada *S. paratyphi A*. Dapat hidup pada keadaan fakultatif anaerobik. *Salmonella typhi* mempunyai ukuran 2-4 mikrometer x 0.5-0.8 mikrometer. *Salmonella typhi* (*S. typhi*) adalah genus yang termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae, yaitu bakteri yang hidup pada saluran pencernaan dengan bentuk morfologi merupakan bakteri berbentuk rod (batang) dan dengan pewarnaan Gram akan memperlihatkan sebagai gram negatif, berkapsul, bergerak, tidak menghasilkan spora, bersifat aerobik. (Ryan dkk, 2004; Cruischack R, 1968)



Gambar 2. Morfologi *S. typhi* dibawah mikroskop elektron (Salmonella, <https://www.britannica.com/science/Salmonella>, access date 15 October 2020)

Telah dilakukan beberapa penelitian genotyping bakteri Salmonella typhi dimana ditemukan variasi fase yang unik dari beberapa jenis

Salmonella enterica serovar Typhi dari Indonesia (Grossman dkk, 1995). Isolat *Salmonella typhi* dari Indonesia mengandung gen flagellin fase 1 Hd dan gen flagellin kedua bernama z66 dan yang terakhir, ditemukan pula *S. typhi* isolat dari Indonesia dengan gen Hd mutan bernama variasi Hj. Pada penelitian ini pertama diidentifikasi gen flagellin lain dari *S. typhi*, bernama z66Ind (GenBank: HQ645960.1), menunjukkan homologi terdekat dengan gen flagellin dari *Serratia marcescens*. Gen z66Ind terdeteksi pada 21,8% pada isolat *S. typhi* dari Indonesia dan semuanya mengandung gen Hd. Gen Hj tidak terdeteksi. Gen z66 terdeteksi sebesar 15,4% dari isolat. Adanya gen flagellin "baru" ini dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko untuk menimbulkan keparahan dari gejala klinis DT (Hatta dkk, 2011).

Selanjutnya Wong dkk, 2015, 2016a, 2016b telah menemukan adanya lokus H58 dari bakteri *S. typhi* yang berhubungan dengan gen yang menyandi terjadinya Multidrug resistant (MDR) Dimana MDR ini merupakan ancaman dalam bidang kesehatan secara global yang mempengaruhi banyak negara terutama pada endemis. Pada penelitian ini telah analisis urutan genome utuh sebanyak 1832 *Salmonella enterica serovar Typhi* (*S. typhi*) mengidentifikasi satu dominan dari lokus tersebut.

2. Patogenesis Demam Tifoid

Jumlah bacterial load dari *S. typhi* lebih besar 10⁵ CFU dapat menimbulkan gejala klinis DT. Waktu yang dibutuhkan *S. typhi* untuk memperbanyak diri pada periode bakteremia ialah antara 10 – 14 hari

setelah periode inkubasi DT. Pada periode ini terjadi proses dimana *S. typhi* akan mengeluarkan endotoksin lipopolisakarida yang berperan terjadinya inflamasi lokal dimana terjadi penempelan pada reseptor sel endotel kapiler yang mana akan menimbulkan gejala klinis berupa demam, gangguan pernapasan, leukopenia, kardiovaskuler dan gangguan neurologi dan kesadaran menurun (Raffatellu dkk, 2019; Baker dkk, 2010).

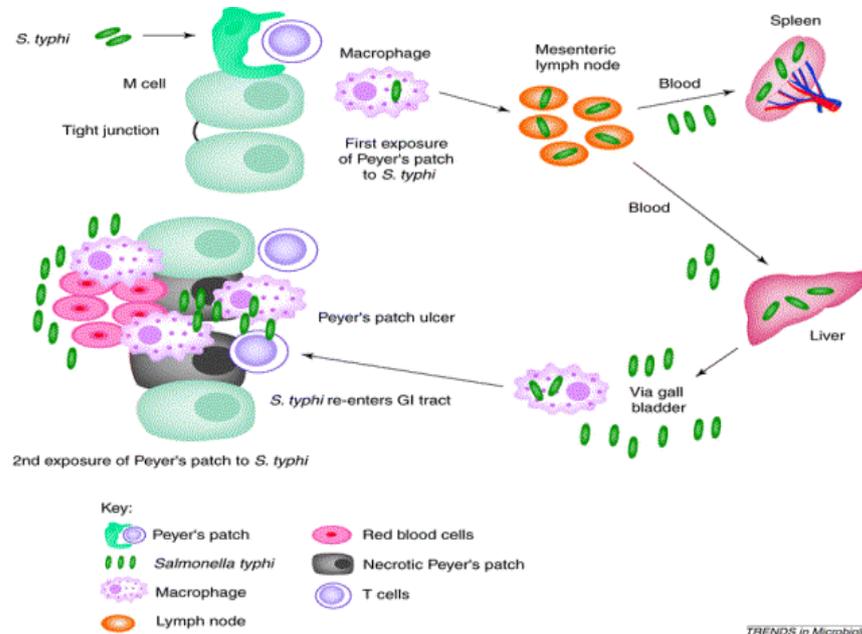
Salmonella typhi (*S. typhi*) mempunyai tempat masuk pada mulut dan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dengan *S. typhi*. Akibat adanya asam lambung maka sebagian bakteri bakteri akan mati, dan yang survive akan masuk kedalam usus halus dan kemudian akan berkembang biak. Bila Immunoglobulin A (Ig A) yang ada pada mukosa yang bersifat imunitas humoral dari tubuh penderita DT tidak mampu mengeliminasi *S. typhi* maka bakteri tersebut akan bmultiplikasi dengan cepat dimana selanjutnya akan menembus lamina propria dan sel-sel epitel. Selanjutnya pada lamina propria, *S. typhi* akan difagosit oleh sel makrofag. *Salmonella typhi* yang survive dalam sel makrofag akan terbawa melalui kelenjar getah bening mesenterika ke plaque Payeri ileum distal. Pada bakteremia yang pertama kali muncul diakibatkan masuknya *S. typhi* yang terdapat pada sel makrofag melalui duktus torasikus kedalam sirkulasi darah. Dan ini biasanya bersifat asimtomatik pada penderita DT. Kemudian akan masuk kedalam organ organ retikuloendotelial penderita DT terutama pada limpa dan hati. Sedangkan bakterimeia yang kedua muncul dengan gejala kllinis pada organ-organ penderita DT. Hal ini diakibatkan lepasnya

S. typhi dari sel makrofag dimana selanjutnya bermultiplikasi diluar sel atau ruang sinusoido dan akhirnya masuk kedalam sirkulasi darah (Mitsuyama M, 2000; Baker dkk, 2015).

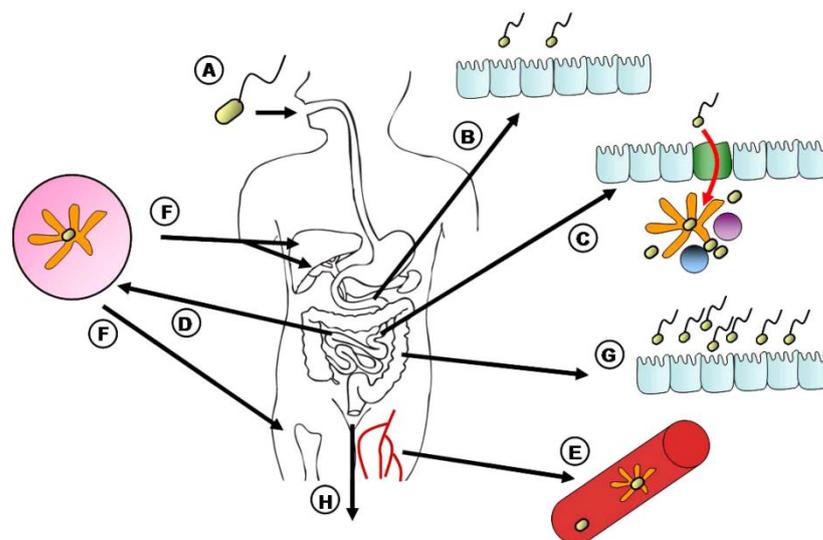
Proses masuknya *S. typhi* kedalam lumen usus terjadi berulang ulang akan melibatkan sel makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman. Selain itu, pada infeksi *S. typhi* terjadi pelepasan beberapa sitokin yang berfungsi sebagai mediator inflamasi dan respon sitokin ini akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti malaise, demam, sakit kepala, myalgia, koagulasi, sakit perut, instabilitas pembuluh darah, dan gangguan mental. Pada keadaan tertentu *S. typhi* masuk kedalam organ hati dan selanjutnya bakteri akan masuk ke dalam kandung empedu dan terjadi multiplikasi atau tersimpan dalam dalam bentuk dorman didalam organ empedu tersebut. *Salmonella typhi* akan keluar bersama cairan empedu dan masuk kedalam lumen usus secara terus menerus. Selanjutnya *S. typhi* akan diekresikan kedalam feses dan keadaan ini menyebabkan karier pada penderita DT yang sebagian kuman dikeluarkan melalui feses. (Hatta dkk, 2011a; Baker dkk, 2010).

Melena pada keadaan lanjut penderita DT terjadi diakibatkan adanya erosi pembuluh darah kapiler sekitar plaque payeri yang sedang mengalami hiperplasia dan nekrosis. Hal ini disebabkan adanya akumulasi sel-sel mononuklear di dinding lumen usus. Proses nekrosis ini berkembang sampai ke lapisan otot dan serosa usus sehingga akan menimbulkan gejala

berupa perforasi usus sebagai komplikasi DT (Ligia dkk, 2019; Baker dkk, 2010).



Gambar 3. Proses yang terjadi pada penderita demam tifoid (Baker, et al, 2010)



Gambar 4. Jalur hidup *S. typhi* dan hubungannya dengan diagnosa DT (Baker, et al., 2015)

3. Epidemiologi

Angka kejadian, transmisi dan cara penyebaran infeksi *S. typhi* sangat berbeda pada negara maju dengan negara yang berkembang, dimana angka kejadian DT terlihat sangat rendah misalnya di Amerika hanya ditemukan sekitar 400 kasus DT pertahun. Sedangkan di negara sedang berkembang, angka kejadian diperkirakan mencapai 500/100.000 kasus kematian tiap tahun (WHO. 2008).

Angka kejadian DT seharusnya lebih tinggi pada wanita karena daya tahan tubuh wanita lebih banyak berhubungan dengan hormone estrogen, dimana secara teoritis bila tubuh terinfeksi *S. typhi* maka bakteri akan masuk ke dalam sel-sel hati dimana menyebabkan estrogen pada wanita akan bekerja lebih berat karena menangani dua hal sekaligus. Namun pada kenyataan secara epidemiologis, angka kejadian DT lebih sering ditemukan pada pria dan ini disebabkan pria lebih sering bekerja dan makan di luar rumah dimana kebersihan makanannya tidak terjamin. (Alba dkk, 2016; Hatta dkk, 2009; Hatta dkk, 2013; Silva TM, 2012).

Klasifikasi DT berdasarkan kejadian kasus epidemiologinya dapat dibagi menjadi 3 grup yaitu pertama confirmed case. Pada kasus ini penderita menunjukkan gejala demam lebih dari 38°C dan berlangsung lebih dari 3 hari dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium kultur positif *S. typhi*. Grup yang kedua ialah probable case dimana pasien dengan demam lebih dari 38°C dan berlangsung lebih dari 3 hari, dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium serodiagnosis positif atau deteksi antigen tanpa konfirmasi *S.*

typhi positif. Dan yang ketiga ialah chronic carrier dimana ekskresi kuman *S. typhi* di urin atau feses, cairan empedu tetap positif selama lebih dari 1 tahun setelah terjangkit DT akut (Wain dkk, 2015; Abdoel dkk, 2017; Wain dkk, 2008; Jawetz M, 2005; Kumar dkk, 2017; Alam SM, 2002).

C. Sel Makrofag

Sel makrofag ini termasuk dalam sistem fagosit mononuklear, diaman makrofag dulu disebut sebagai sel Retikulo Endotelial System (RES). Makrofag berfungsi sebagai fagositik terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh dan tersebar di seluruh tubuh terutama pada organ yang mempunyai sistim vaskuler yang baik (Akagawa K, 2004; de Jong dkk, 2012).

Sel makrofag dalam sistem imun berfungsi juga terhadap aktifitas respon imun dalam proses eliminasi mikroorganisme dan memberikan signal informasi pada sel sistim yang berdekatan misalnya sel limfosit. Berbagai macam substansi terpenting misalnya elastase, enzim lisozim, interferon dan protein yang terdapat pada sistim komplemen dapat dieksresikan oleh sel makrofag pada keadaan aktif. Sel makrofag bersifat fagosit dengan gerakan seperti amuboid dalam sistim imun terhadap infeksi mikroorganisme termasuk *S.typh* dan mempunyai reseptor untuk imunoglobulin pada membrane selnya. Fungsi utama sel makrofag sebagai fagositis antigen atau mikroorganisme sebagai pertahanan tubuh dan perbaikan sel (Jonas dkk, 2018; Merimo dkk, 2017).

Makrofag adalah sel darah putih yang berukuran besar, yang mencerna antigen dan mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh. Sitoplasma sel makrofag mengandung beberapa granula dan mengeluarkan enzim lisosom. Selain itu sel makrofag dapat melepaskan berbagai jenis sitokin yang semuanya terlibat dalam proses eliminasi dan lisis mikroorganisme dalam tubuh. Makrofag ditemukan di dalam darah dan terdapat di tempat-tempat strategis, dimana organ tubuh berhubungan dengan aliran darah atau organ luar. Misalnya makrofag ditemukan di daerah di mana paru-paru menerima udara dari luar dan sel-hati berhubungan dengan pembuluh darah (Mitsuyama M 2000; Amanda dkk, 2011; Akagawa K, 2004).

Sel makrofag juga berfungsi dalam aktivasi sel limfosit dimana sel Th yang teraktivasi oleh sel makrofag akan menghasilkan efek dalam proses kemotaksis yang akan mempengaruhi penarikan sel limfosit, granulosit dan makrofag yang lain. Disamping itu fungsi sel makrofag dalam meningkatkan proses bakterisidal, tumorisidal dan inflamasi pada host yang terinfeksi mikroorganisme (Larabi dkk, 2020; Gordon S, 2003). Enzim lisosom berperan dalam sistem fagositosis interaseluler makrofag dengan kemampuan memecah materi yang berasal dari luar maupun dari dalam. Jadi lisosom akan menyatu dengan vakuola akan memusnahkan bakteri atau benda asing tersebut (Ragland dkk, 2017). Sel makrofag mempunyai pseudopodia yang berfungsi sebagai alat untuk menangkap mikroorganisme. Tonjolan sitoplasma akan menangkap mikroorganisme

dan mikroorganisme akan terperangkap vacuola intrasel. Tonjolan pada sel makrofag akan melekat dan membungkus mikroorganisme setelah mikroorganisme melekat pada permukaan sel makrofag tersebut (Rosania dkk, 1996; Gary dkk, 2009). Sel sistem fagositosis juga terdapat pada jaringan ikat seperti kulit dalam bentuk sel histiosit, dalam organ hati sebagai sel Kupffer, limfonodus, sel microglial pada organ syaraf dan osteocyte pada organ tulang, dimana asal sel makrofag dari sel precursor sumsum tulang sebagai promonosit yang kemudian menjadi monosit. Selanjutnya sel monosit akan beredar melalui pembuluh darah ke organ organ tersebut berupa sel makrofag. Sel makrofag pada organ organ akan berproliferasi lebih banyak untuk menghasilkan sel yang sama (Iwasaki, 2011).

D. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)

Gen NRAMP-1 berfungsi sebagai aktivasi pengeluaran ion logam yang berpengaruh terhadap metabolisme mikroorganisme intraseluler, dimana dapat menghambat multiplikasi mikroorganisme patogen dan mengubah lingkungan fagolisosomal didalam sel makrofag. Dalam melawan mikroorganisme intraselular patogen maka sel makrofag yang mempunyai sifat integral terutama pada fase awal dimana terjadi interaksi yang signifikan antara mikroorganisme dengan sel pertahanan tubuh (makrofag). Gen NRAMP-1 sebelumnya dikenal dengan nama Solute Carrier Family 11 (SLC11A1) merupakan gen spesifik yang dapat menyandi

proton yang digabung dengan divalen pengangkut ion logam dan pengaktifan kerja makrofag (Jeng dkk, 2005; Kissler dkk, 2006).

Peningkatan peran Major Histocompatibility Complex (MHC) kelas II, apoptosis, aktivitas respirasi sel, ekspresi sitokin dan kemokin dipengaruhi oleh gen NRAMP-1 (Soe Li dkk, 2009). Gen NRAMP-1 menyandi membrane protein integral yang dilokalisasi pada endosomal dan lisosomal sel makrofag. Fungsi gen NRAMP-1 dalam mengaktifasi sel makrofag ialah menyandi suatu divalen kation pengangkut protein yang dilibatkan dalam pengendalian multiplikasi intrafagosomal mikroorganisme patogen intraseluler. Namun cara kerja langsung dari gen NRAMP-1 belum jelas. (Dustan, dkk, 2001). Gen NRAMP1 mempunyai beberapa lokus yang menunjukkan kemungkinan adanya polimorfisme urutan nukleotida, diantaranya 3' untranslated region (3'UTR, 1729+55 del 4 TGTG/del), D543N (1703 G/A) dan Intron 4 (469+14 G/C) yang mana dapat mengaktifkan peran sel makrofag dalam mengeliminasi mikroorganisme dan menghambat multiplikasi bakteri. Beberapa penelitian telah membuktikan adanya hubungan gen NRAMP-1 sebagai gen host susceptibility dengan penyakit infeksi (Hatta dkk, 2010; Fitness dkk., 2004, Dwiyantri dkk, 2017).

Beberapa penelitian telah dilakukan tentang hubungan antara gen NRAMP-1 dan berbagai penyakit yang terkait dengan kekebalan seperti Mycobacteriosis, Salmonellosis dan Sarcoidosis. Namun hubungan

tersebut belum begitu jelas (Hatta, 2010; Dwiyantri dkk, 2017, 200; Dubaniewicz dkk,2015, 2001;).

Beberapa fungsi NRAMP-1 pada infeksi mikroba yakni mengatur pengaktifan makrofag pada infeksi dan penyakit autoimun. Sedangkan NRAMP-2 mengendalikan penyakit anemia. Kedua-duanya adalah pengangkut divalen kation (Fe^{2+} , Zn^{2+} , dan Mn^{2+}), NRAMP-2 merupakan suatu simporter H^+ dan ion logam, sedangkan NRAMP-1 adalah suatu antiporter H^+ atau divalen kation. Hal ini menyediakan suatu model untuk ion logam homeostasis di dalam makrofag. NRAMP-2 dilokasi awal endosom dengan ekstraseluler memperoleh divalen kation ke dalam sitosol. NRAMP-1 dilokasi untuk memperlambat proses lisosom yang membawa divalen kation dari sitosol ke fagolisom. Gen NRAMP-1 dikode pada membran protein integral yang diekspresikan dalam leukosit makrofag/monosit dan polimorfonuklear. Dimana pada protein dilokalisasi dalam lisosomal diruangan makrofag dengan cepat dihancurkan dalam partikel membran fagosom pada proses fagositosis. Gen NRAMP-1 dikode pada membran protein integral yang diekspresikan dalam leukosit makrofag/monosit dan polimorfonuklear. Dimana pada protein dilokalisasi dalam lisosomal diruangan makrofag dengan cepat dihancurkan dalam partikel membran fagosom pada proses fagositosis. Pada binatang percobaan mencit, kerentanan terhadap infeksi patogen intraseluler seperti *Salmonella typhimurium*, *Leishmania* dan *Mycobacteria* dikontrol oleh gen NRAMP-1 yang terdapat pada kromosom 1. Gen NRAMP-1 ini mempengaruhi

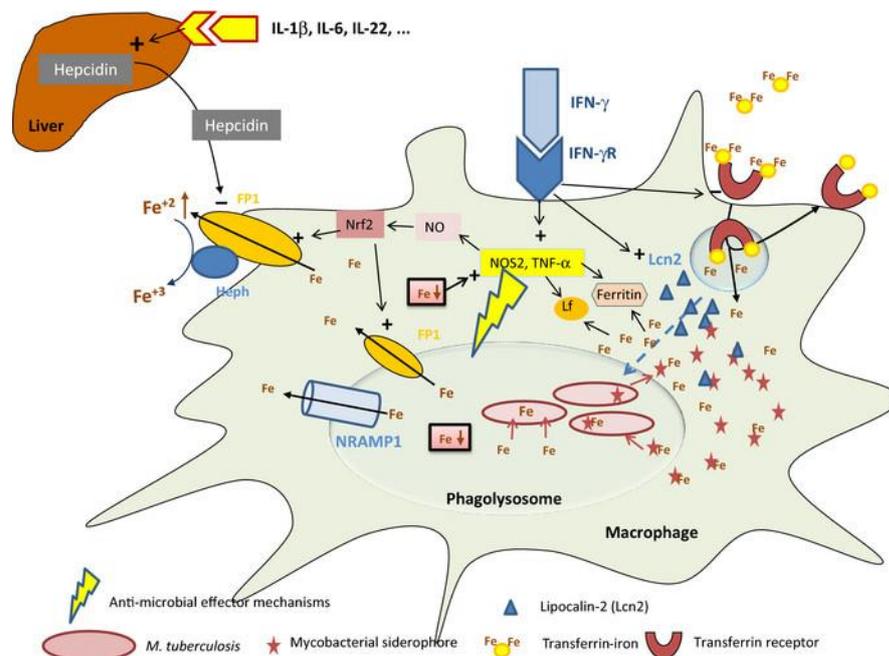
penurunan multiplikasi mikroorganisme dalam sel makrofag. Gen NRAMP-1 berfungsi sebagai pengangkut pH-dependen dan mempunyai efek pleiotropik terhadap berbagai efektor terkait sistem kekebalan untuk memudahkan penghancuran mikroorganisme dalam sel makrofag (Akagawa K, 2004; Jeng dkk, 2005). Daerah kromosomal NRAMP-1 pada tikus terdapat pada kromosom 1 sedangkan manusia pada kromosom 2q35. Pada manusia, lokasi yang paling tinggi ekspresi NRAMP-1 yaitu daerah sekeliling organ paru dan sel leukosit.

Ganz (2017) menemukan antibodi poliklonal dipengaruhi oleh gen NRAMP-1 untuk melawan kuman yang menginfeksi manusia dan menggunakan reagen untuk dilokalisasikan pada protein seluler dan subseluler di dalam neutrofil manusia. Kemungkinan fungsi NRAMP-1 di dalam neutrofil yakni berhubungan dengan NRAMP-1 yang memiliki kepekaan terhadap penyakit seperti lepra dan penyakit penyebab radang seperti arthritis rheumatoid. Gen NRAMP-1 ini pada manusia sama dengan gen NRAMP-1 murine terutama dalam hal resistensinya terhadap parasit intraseluler termasuk *Bacillus calmette Guerin*, *Leishmania* dan *Salmonella*. Dimana NRAMP-1 ini mengkode pula ion transporter yang diletakkan di membran lisosom selama fagositosis dari *Mycobacteria* dan patogen lainnya (Jeng dkk, 2005).

Canonne-Hergaux (2000) mengatakan antibodi poliklonal dihasilkan gen NRAMP-1 untuk melawan kuman yang menginfeksi manusia dan menggunakan reagen untuk dilokalisasikan pada protein seluler dan

subseluler di dalam neutrofil manusia. Kemungkinan fungsi NRAMP-1 di dalam neutrofil yakni berhubungan dengan NRAMP-1 yang memiliki kepekaan terhadap penyakit seperti lepra dan penyakit penyebab radang seperti arthritis rheumatoid. Sejumlah varian polimorfik telah digunakan untuk mempelajari asosiasi NRAMP-1 dan kepekaannya terhadap penyakit TB dan lepra. Studi dilakukan untuk mengukur asosiasi NRAMP-1 terhadap penyakit TB pada suatu populasi Gambia (Afrika barat) dimana dari hasil varian polimorfik menunjukkan bahwa gen NRAMP-1 mempengaruhi kepekaan terhadap beberapa penyakit (Ganz, dkk, 2017).

Pada ion Fe^{2+} menghasilkan antimikrobal hidroksil yang radikal pada reaksi Fenton. Ion Zn^{2+} dan Mn^{2+} dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metalloprotease dan penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan berbagai efek NRAMP-1 pleiotropik dan berperan pada infeksi penyakit autoimun (Yang dkk, 2000).



Gambar 5. Molekular mekanisme gen NRAMP-1 dalam menghambat multiplikasi mikroorganisme didalam sitoplasma sel makrofag dari host (Weiss dkk, 2009)

Sel makrofag yang menghasilkan sitokin seperti TNF-alpha akan menginduksi pembentukan feritin protein pengikat zat besi dan menggabungkan zat besi ke dalam inti tidak tersedia untuk bakteri intraseluler serta lactoferrin protein yang mengikat besi (Lf), yang juga mengambil logam ini. Makrofag aktif mengekspresikan protein phagolysosomal NRAMP-1, yang di antara efek lainnya memompa besi dari makrofag, sehingga mengurangi ketersediaan logam di phagosome untuk mycobacteria. Akhirnya, pada pembentukan nitrit oksida, faktor transkripsi dari nuclear factor erythroid related factor-2 (Nrf-2) akan diaktifkan dan akan merangsang ekspresi besi utama ekspor protein ferroportin (FP1) yang akan memompa besi keluar dari phagolysosome dan dari sitoplasma makrofag (Ganz dkk, 2017; Weiss dkk, 2009).

Makrofag menggunakan banyak jalur untuk menghambat perkembangan bakteri intraseluler yang menggunakan zat besi sebagai faktor pertumbuhannya. Jalur pertama ialah melalui sitokin seperti IFN-gamma yang menghambat ekspresi transkripsi reseptor transferin (TfR). TfR adalah sumber utama zat besi untuk mycobacteria, karena bakteri dapat memanfaatkan ligannya, besi transferin, mengikuti transfer endosomal. Makrofag menghasilkan lipocalin-2 (Lcn2), yang mengikat dan menetralkan siderophores yang dihasilkan oleh *M. tuberculosis* untuk mengumpulkan dan menggunakan kembali zat besi yang ada pada sitoplasma.

Dengan mekanisme yang tetap sulit dipahami, stimulasi ekspresi hepcidin di hati, yang merupakan mekanisme utama untuk pembatasan zat besi untuk ekstraseluler mikroorganisme patogen dapat dicegah. Semua kejadian ini menghasilkan penurunan kadar zat besi intraseluler dan terbatasnya ketersediaan zat besi untuk dalam sel makrofag yang akan digunakan oleh mikroorganisme.

Berdasarkan efek regulasi negatif dari besi pada aktivitas IFN-gamma, pengurangan dalam ketersediaan logam ini menghasilkan penurunan respon imun terhadap mikroba. Mekanisme tersebut di atas telah diteliti pada mikroorganisme intraseluler lainnya seperti *S. typhimurium*, dan *M. tuberculosis* (Weiss dkk, 2009).

Gen NRAMP-1 mengkode makrofag polipeptida spesifik yang diprediksi dalam gambaran karakteristik pada membran protein integral.

Analisis urutan nukleotida NRAMP pada cDNA ditunjukkan dalam 27 perkawinan pada strain tikus yang tidak peka pada fenotifnya. Klon cDNA dikloning dan dikarakteristik dari gen NRAMP manusia. Analisis urutan diindikasikan pada polipeptida manusia yaitu 550 asam amino membran protein dalam 10 sampai 12 yang diduga termasuk domain transmembran (Blackwell dkk, 2001; Tabuchi dkk, 1999).

Tabuchi (1999) mengisolasi cDNA yang mengkode NRAMP manusia yang ukurannya 2,245-bp untuk menghasilkan protein 483 residu asam amino dimana bobot molekularnya adalah 52.8 kD. Dalam hal ini urutan asam amino adalah 89% homolog dengan tikus. Perubahan asam amino dari glisin menjadi aspartat pada posisi 169 (G169 dan D169) di dalam NRAMP-1 yang dihubungkan dengan kepekaan fenotipe. Hubungan antara NRAMP-1 dan kepekaan pada patogen intraseluler yang ditetapkan berdasarkan konstruksi dari NRAMP-1 tikus dan resistensi alel transgenik (NRAMP-1 G169) ini peka pada alel tikus (NRAMP-1 D169). Pada *typhimurium*, kepekaan alel NRAMP-1 tikus tidak mampu untuk mengendalikan infeksi pada mikroba yang jumlahnya sedikit sampai mengalami kematian. Tetapi *S. typhimurium* tumbuh pada tingkat lebih lambat dan cepat dimusnahkan dari binatang (Brown dkk, 2013; Dustan dkk, 2001).

Cellier MF (2013) mengatakan gen NRAMP berisi sedikitnya 15 exon dan 1 exon disandikan oleh asam amino Ala yang ada di dalam intron 4. Menurut Blackwell dkk. (2001) bahwa gen NRAMP manusia memutar 12