

DISERTASI

EFEK EKSTRAK BUAH SAWO MANILA (*Achras Zapota L*) TERHADAP  
EKSPRESI mRNA GEN *HIGH MOTILITY GROUP BOX 1*  
(*HMGB1*) dan SOLUBEL *TUMOR NECROSIS FACTOR*  
*ALPHA (TNF- $\alpha$ )* PADA MENCIT YANG  
TERINFEKSI *SALMONELLA TYPHI*

Effect Of Sapodilla Fruit (*Achras Zapota L*) Extract On mRNA  
High Motility Group Box 1 (*HMGB1*) Gene Expression And  
Tumor Necrosis Factor Alpha (*TNF- $\alpha$* ) Solubles On Mice BALB/C  
Current Infected *Salmonella Typhi*

HASTA HANDAYANI IDRUS  
C013171002



PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020



**EFEK EKSTRAK BUAH SAWO MANILA (*Achras Zapota L*) TERHADAP  
EKSPRESI mRNA GEN *HIGH MOTILITY GROUP BOX 1*  
(*HMGB1*) dan SOLUBEL *TUMOR NECROSIS FACTOR*  
*ALPHA (TNF- $\alpha$ )* PADA MENCIT YANG  
TERINFEKSI *SALMONELLA TYPHI***

**Disertasi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor**

**Program Studi**

**Ilmu Kedokteran**

**Disusun dan diajukan oleh**

**HASTA HANDAYANI IDRUS  
C013171002**

**Kepada**

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**



## DISERTASI

**EFEK EKSTRAK BUAH SAWO MANILA (*ACHRAS ZAPOTA L*) TERHADAP  
EKSPRESI GEN mRNA *HIGH MOTILITY GROUP BOX* (HMGB-1) DAN  
SOLUBLE TUMOR NERCOISIS FACTOR ALPHA (TNF- $\alpha$ ) PADA  
MENCIT YANG TERINFEKSIB *SALMONELLA TYPHI***

Disusun dan diajukan oleh

**HASTA HANDAYANI IDRUS**  
C013171002

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
pada tanggal 21 April 2020  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasehat,

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)  
Promotor

Prof. dr. Veni Hadju, M.Sc, Ph.D  
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)  
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed



## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hasta Handayani Idrus

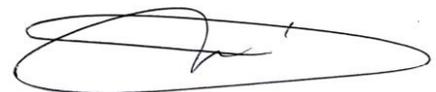
Nomor Mahasiswa : C013171002

Program Studi: Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penelitian yang saya tulis ini adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan usulan penelitian ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Maret 2020

Yang Menyatakan,



Hasta Handayani Idrus



## TIM PENILAI UJIAN PRA PROMOSI

Promotor : Prof.dr.Mochammad Hatta,Ph.D, Sp.MK (K)

Co Promotor : Prof.dr. Veny Hadju, M.Sc, Ph.D

Prof.Dr.dr. Suryani As'ad,M.Sc, Sp.GK (K)

Penilai : Prof.dr. Budu,Ph.D,Sp.M (K),M.Med.Ed

Prof.dr.Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok

Prof.Dr.Yusminah Hala, MS

Prof.Dr. Gemini Alam,M.Sc,Apt

dr.Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA (K)

Dr.dr.Burhanuddin Bahar,MS



## KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahNya penulis telah dapat menyelesaikan disertasi dengan judul “Efek Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras Zapota L*) Terhadap Ekspresi Gen mRNA *High Motility Group Box 1 (Hmgb1)* Dan Solubel *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )* Pada Mencit yang Terinfeksi *Salmonella typhi*” sebagai salah satu persyaratan mencapai gelar Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Tak lupa kita hanturkan salam dan sholawat atas junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta sahabat dan keluarganya yang telah membimbing dan menuntun kita untuk tetap istiqomah dijalanNya.

Penulis bermaksud memberikan sumbangsih penelitian terkait peranan tumbuhan herbal yaitu sawo manila untuk pengobatan penyakit demam tifoid. Hal tersebut karena tingginya angka kasus resistensi antibiotik yang banyak terjadi bukan hanya di Indonesia tapi juga di beberapa negara di dunia.

Penulis sepenuhnya mengakui dan menyadari tidak terlepas dari bimbingan, arahan dan dukungan dari berbagai pihak, meskipun tanggung jawab akhir penulisan ini berada pada penulis sendiri. Dalam kesempatan ini dengan sepenuh hati penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga dan

pujian yang setinggi-tingginya kepada :



1. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA sebagai Rektor Universitas Hasanuddin atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program S3 dan menyelesaikannya dengan maksimal dan tepat waktu.
2. Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas hasanuddin dan penguji saya yang telah banyak memberikan masukan yang sangat bermanfaat dalam penyelesaian disertasi ini.
3. dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Sp.GK, Ph.D selaku ketua Program Studi S3 ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin atas segala motivasi dan dukungannya dalam menyelesaikan disertasi ini sehingga terselesaikan dengan tepat waktu.
4. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku promotor dalam mengarahkan dan memberikan dukungan yang besar dalam penyelesaian disertasi ini serta terus memotivasi untuk meneliti dan melakukan publikasi internasional atas hasil dari penelitian disertasi ini.
5. Prof. dr.Veny Hadju, M.Sc, Ph.D dan Prof. Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K) selaku co-promotor atas bimbingannya tanpa henti dan telah memberikan banyak ilmu, motivasi serta dukungan dan arahan dalam penyelesaian disertasi ini.
6. Prof. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok, Prof. Dr. Gemini Alam, M.Sc, Apt, Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS, dan dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.S selaku tim penguji yang telah memberikan banyak ilmu, dukungan, arahan dan masukan yang membangun dalam terselesaikannya disertasi

i.



7. Prof. Dr. Yusminah Hala, MS selaku penguji eksternal dan guru besar dari Fakultas Biologi Universitas Negeri Makassar yang telah meluangkan waktunya serta memberikan ilmu, motivasi, nasehat dan bimbingan dalam penyelesaian disertasi ini.
8. Seluruh staf Laboratorium Biologi Molekuler dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Pak Romi, Pak Mus, Pak Markus dan Pak Wani atas segala ilmu, pengalaman dan pelajaran hidup yang sangat berharga untuk penulis. Kepada Seluruh staf Prodi S3 Ilmu Kedokteran, Pak Mumu, Pak Akmal, Ibu Ida dan seluruh staf pegawai FK UNHAS atas bantuan yang telah diberikan selama penulis menjalani pendidikan.
9. Bapak Rektor UMI Prof. Dr.H. Basri Modding, Wakil Rektor I Dr. Ir.H.Hanafi Assad, MT, Wakil Rektor II Prof.Dr.H. Salim Basalamah, SE, M.Si, Wakil Rektor III Prof.Dr.H. Laode Husein, SH,MH, Dan seluruh staf Yayasan Wakaf UMI yang telah memberikan dukungan penuh, motivasi dan doa sehingga penulis mampu menyelesaikan pendidikan dengan tepat waktu.
10. Prof. dr.H. Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.F selaku dekan Fakultas Kedokteran UMI yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama penulis menjalani masa pendidikan.
11. Seluruh Civitas Akademika Fakultas Kedokteran UMI atas doa dan dukungannya sehingga disertasi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.



komandan Lanud TNI AU Makassar, Kepala Rumah Sakit TNI AU dr. Rody Sarjoto Makassar, Tim Dokter IGD, dan seluruh staf RS TNI AU dr.

Dody Sarjoto Maassar atas dukungan, semangat, dan doa yang telah diberikan kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan pendidikan dengan tepat waktu.

13. Lembaga pengelola dana pendidikan (LPDP) BUDI-DN Kemenristekdikti atas bantuan yang telah diberikan selama penulis menjalani masa pendidikan.
14. Seluruh teman angkatan S3 FK UNHAS angkatan 2017 awal yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu dan seperjuangan selama menjalani masa pendidikan dr.Vivien Novarina Kasim, M.Kes dan dr. Ami Febriza Achmad, M.Kes yang telah banyak memberikan bantuan dan dukungan sehingga penulis dapat selesai tepat waktu.
15. Suamiku yang sangat aku cintai Syarifuddin, ST,MM yang telah memberikan dukungan penuh untuk melanjutkan pendidikan dan selalu memberi motivasi dan doa sehingga penulis selalu semangat dalam menyelesaikan pendidikan.
16. Terkhusus ayahanda tercinta Drs. H. Idrus, MM dan Hj.Hastati Hasan, SE ibunda tersayang dan seluruh saudara, ipar dan sepupu yang telah memberikan banyak pelajaran hidup, motivasi, doa, dan kesabaran dalam mendidik dan mendoakan kebaikan yang tak pernah putus serta ikhlas membantu dalam segala hal selama penulis menjalani pendidikan kalian adalah panutan dan hadiah yang Allah berikan kepadaku.
17. Putra-putraku tersayang Rifqi Aunur Rahman Syarif dan Waritzu Ataya Naufal Syarif yang selalu mendampingi, memberikan perhatian dan pengertian kepada maminya sehingga dapat berkonsentrasi dalam menyelesaikan disertasi ini.



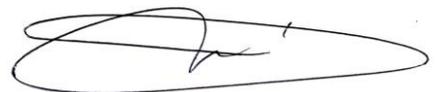
18. Sahabat dunia akhiratku dr.Rasfayanah, M.Kes, Nujumulyana Jalil, M.Keb, dr. Zulfitriani Murfat, M.Kes, Nova Deli Halimah, yang telah banyak memberikan dukungan dan doa selama penulis menjalani pendidikan.
19. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah ikut berperan membantu sehingga disertasi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.

Penulis menyadari bahwa dibalik usaha yang maksimal dalam pembuatan disertasi ini masih terdapat kekurangan sehingga masih jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu kritik dan saran yang membangun senantiasa ditunggu untuk memperbaiki kualitas disertasi ini demi perkembangan ilmu pengetahuan dimasa yang akan datang. Akhir kata semoga disertasi ini dapat bermanfaat bagi kita semua serta perkembangan ilmu biologi molekuler dalam bidang Mikrobiologi dan Infeksi dimasa yang akan datang.

Amin Ya Rabbal Aalamin.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, Maret 2020



Hasta Handayani Idrus



## ABSTRAK

**HASTA HANDAYANI IDRUS.** *Efek Ekstrak Buah Sawo Manila (Achras zapota L) terhadap Ekspresi Gen mRNA High Motility Group Box 1 (HMGB1) dan Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada Mencit yang Terinfeksi Salmonella TYPHI (Mochammad Hatta, Veni Hadju, Suryani As'ad).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak buah sawo manila (*Achras Zapota L*) terhadap ekspresi *gen High Motility Group Box 1 (HMGB1)* dan *Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )* pada mencit yang telah diinfeksi dengan *Salmonella typhi*.

Penelitian ini bersifat eksperimental murni (*True-Experimental Design*) menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan di laboratorium. Desain penelitian ini menggunakan rancangan secara acak dengan desain *Matching Pre test - Post test Comparison Group Design*. Kelompok akan dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok intervensi.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa (H-4) ke (H-30) ditemukan penurunan ekspresi mRNA HMGB1 pada kelompok EBSM 510 mg/KgBB ( $p=0.011$ ), EBSM 750 mg/KgBB ( $p=0.000$ ), *Levofloxacin* 98 mg/KgBB ( $p=0.000$ ) dan *aquades* ( $p=0.033$ ). Pada pengamatan (H-4) ke (H-30) ditemukan penurunan konsentrasi TNF- $\alpha$  pada keempat kelompok EBSM 510 mg/KgBB ( $p=0.024$ ), EBSM 750 mg/KgBB ( $p=0.018$ ), *Levofloxacin* 98 mg/KgBB ( $p=0.001, p<0.05$ ) dan *aquades* ( $p=0.012$ ).

Kata kunci: Ekstrak Buah Sawo Manila, mRNA HMGB1, *Soluble TNF- $\alpha$*  *Salmonella Typhi*.



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## ABSTRACT

**HASTA HANDAYANI IDRUS.** *The Effect of Sapodilla Fruit (Achras Zapota L) Extract (SFE) on mRNA High Motility Group Box 1 (HMGB1) Gene Expression and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) Soluble on Mice Infected with Salmonella Typhi* (supervised by Mochammad Hatta, Veni Hadju and Suryani As'ad).

The research aimed to investigate the effect of the sapodilla fruit (*Achras Zapota L*) on the High Motility Group Box 1 (HMGB1) gene expression and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) soluble on the mice infected with the *Salmonella typhi*.

The research was the *true experimental design* using the completely randomized design (CRD) conducted in the laboratory. The research used the randomized design with the *Matching Pre test – Post test Comparison Group Design*. The groups were divided into the control group and intervention group.

The observation result from (D-4) to (D-30) indicates the decrease of mRNA HMGB1 in SFE group 510 mg/KgBW ( $p=0.011$ ), SFE 750 mg/KgBW ( $p=0.000$ ), Levofloxacin 98 mg/KgBW ( $p=0.000$ ), and aquades ( $p=0.033$ ). The observation from (D-4) to (D-30) indicates the decrease of TNF- $\alpha$  on the four SFE groups 510 mg/KgBW ( $p=0.024$ ), SFE 750 mg/KgBW ( $p=0.018$ ), Levofloxacin 98 mg/KgBW ( $p=0.001$ ,  $p<0.05$ ), and aquades ( $p=0.012$ ).

**Key words:** Sapodilla fruit extract, mRNA HMGB1, TNF- $\alpha$  soluble, *Salmonella typhi*



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix

### BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Pertanyaan Penelitian.....	6
D. Tujuan Penelitian.....	7
E. Manfaat Penelitian.....	8

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Sawo Manila ( <i>Achras Zapota L.</i> ).....	9
B. Efek antimikroba Ekstrak Sawo Manila.....	31
C. Tinjauan HMGB1.....	33
D. Mekanisme Hubungan Sawo manila, HMGB1, dan <i>S.typhi</i> .....	42
E. Tinjauan <i>TNF- α</i> .....	44
F. Peran HMGB1 & <i>TNF- α</i> pada <i>Salmonella typhi</i> .....	50
G. Tinjauan <i>Salmonella typhi</i> .....	53
H. Tinjauan Demam Tifoid.....	71
I. Kerangka Teori.....	94
J. Kerangka Konsep.....	95
K. Defenisi Operasional dan Kriteria Objektif.....	95
L. Hipotesis.....	97

### BAB III METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian.....	98
B. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	99
C. Subjek Penelitian.....	100
D. Bahan Dan Protokol Penelitian.....	101
E. Perlakuan pada Subyek Penelitian.....	113
Ekstraksi RNA (Boom Method) .....	115
Protokol Realtime PCR.....	116
Protokol Analisis ELISA <i>TNF- α</i> .....	118
Pemeriksaan Jumlah Koloni Bakteri (JKB) .....	119



J. Etika Penelitian.....	121
K. Jenis Dan Cara Pengumpulan Data.....	123
L. Analisis Data.....	123
M. Alur Penelitian.....	125

#### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

A. Hasil Penelitian.....	128
1. Efek EBSM terhadap HMGB1.....	131
2. Efek EBSM terhadap <i>TNF-α</i> .....	135
3. Efek EBSM terhadap Jumlah Kolonosasi <i>S.typhi</i> .....	140
B. Pembahasan Hasil Penelitian.....	143
1. Efek EBSM terhadap HMGB1.....	143
2. Efek EBSM terhadap <i>TNF-α</i> .....	147
3. Efek EBSM terhadap Jumlah Kolonosasi <i>S.typhi</i> .....	151

#### **BAB V SIMPULAN DAN SARAN**

A. Simpulan.....	154
B. Saran.....	154

<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>156</b>
----------------------------	------------

#### **LAMPIRAN**



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon sawo manila ( <i>Achras zapota L</i> )	18
Gambar 2.2 Buah sawo manila ( <i>Achras zapota L</i> )	19
Gambar 2.3 Struktur inti Tanin	21
Gambar 2.4 Struktur inti Flavonoid	23
Gambar 2.5 Struktur Triterpenoid	26
Gambar 2.6 HMGB1 dalam inflamasi Bakteri	34
Gambar 2.7 Peran HMGB1 Intraeluler dan Ekstraseluler	39
Gambar 2.8 Peran HMGB1 Ekstraseluler	41
Gambar 2.9 Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	56
Gambar 2.10 <i>Salmonella typhi</i> secara skematik	63
Gambar 2.11 Antigen bakteri <i>Salmonella typhi</i>	66
Gambar 2.12 mekanisme respon imunitas bakteri intraseluler	68
Gambar 2.13 respon imunitas spesifik setelah terpapar antigen	69
Gambar 2.14 Infeksi <i>Salmonella typhi</i> di epitel usus	74
Gambar 2.15 Patofisiologi demam tifoid	77
Gambar 2.16 Respon Imun terhadap bakteri	77
Gambar 2.17 Kerangka Teori	94
Gambar 2.18 Kerangka Konsep	95
Gambar 3.1 Alur Penelitian	125
Gambar 4.1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif EBSM	129
Gambar 4.2 Hasil Uji Fitokimia Kuantitatif EBSM	130
Gambar 4.3 Dinamika perubahan ekspresi gen mRNA HMGB1	134
Gambar 4.4 Dinamika perubahan konsentrasi <i>TNF-<math>\alpha</math></i>	139
Gambar 4.5 Dinamika perubahan kolonisasi bakteri <i>S. typhi</i>	142



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Gizi Buah Sawo manila	10
Tabel 2.2 Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	66
Tabel 3.1 Desain Penelitian	98
Tabel 3.2 Rancangan Penelitian	99
Tabel 3.3. Jenis dan Cara pengumpulan data	123
Tabel 4.1 Hasil Skrining uji fitokimia EBSM	129
Tabel 4.2 Perbedaan dinamika ekspresi mRNA HMGB1	132
Tabel 4.3 Perbedaan dinamika ekspresi mRNA HMGB1	133
Tabel 4.4 Perbedaan dinamika kadar soluble TNF- $\alpha$	136
Tabel 4.5 Perbedaan dinamika kadar soluble TNF- $\alpha$	137
Tabel 4.6 Dinamika perubahan Jumlah kolonisasi <i>S.typhi</i>	141



## DAFTAR SINGKATAN

APC	: Antigen Presenting Cell
ATP	: Adenosin Trifosfat
BAP	: <i>Blood Agar Plate</i>
BCR	: B Cell Receptor
C5	: Isoprene
CD	: cluster of differentiation
CD4	: Cluster Diffentiation 4
CD8	: Cluster Diffentiation 8
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
CHIP	: Chemotaxis Inhibitory Protein
CRP	: C-Reactive Protein
Da	: Daltons
DAMPs	: Damaged Assosiated Molecular Patterns
DMAPP	: dimetil alil piropospat
DNA	: Deoxyribo Nucleid Acid
EAP	: Extracellular adherence protein
EBSM	: Ekstrak Buah Sawo Manila
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
F3	: Isolat Triterpenoid
HMGB1	: <i>High Motility Group Box 1</i>
ICAM-1	: Intracelluler Adhasion Molecule 1
IFN	: Interferon
IgG	: Immonoglobilin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL	: Interleukin
IL-1	: Interleuikin 1
IL-10	: Interleukin 10
IL-2	: Interleukin 2
IL-4	: Interleukin 4
IL-5	: Interleukin 5
IL-6	: Interleukin 6
IPP	: dimetil alil isopentenil
KgBB	: Kilogram Berat Badan
KLT	: Kromatografi lapisan Tipis
KOH	: Kalium Hidroksida
LPS	: Lipopolisakarida
MC	: <i>Mac Conkay</i>
MDR	: <i>Multiple Drug Resistance</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
MMP	: Matrix Metalloprotenase
	: Multidrug Resisten
	: messenger-Ribose Nucleid Acid
	: Mycrobial Type Culture Collection
	: Myeloid Differentiation Primary Respone protein 88



NF	: Nuclear Factor
NK	: <i>Natural Killer</i>
NLF	: <i>Non Laktosa Fermenter</i>
NLRs	: <i>NOD-like receptors</i>
NO	: Nitrite Oxyde
NOS	: Nitric Oxyde Synthase
OH	: Oksigen Heterosiklik
OMP	: Outer Membran Protein
PAMPs	: Pathogen Assosiated Moleculer Patterns
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PKP	: Pusat Kegiatan Penelitian
PMN	: Phagocytic Polymorphonuclear
Ppm	: Part Per Million
RES	: <i>retikuloendotelial system</i>
RNS	: Reactive Nitrogen Species
ROS	: Reactive Oksigen Spesies
RT-PCR	: Real Time Polymery Chain Reaction
S.Typhi	: Salmonella typhi
SAP	: Serum Amiloid P
Sel B	: Limfosit B
Sel T	: Limfosit T
Tc	: T cytotoxic
TCR	: T Cell Receptor
TGF	: Transforming Growth
TGF- $\beta$	: Transforming Growth $\beta$
Th 1	: T Helper 1
TLR4	: Toll Like Receptors 4
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TRIF	: TIR Domain Containing Adapter Inducing IFN $\beta$
UV	: Ultra Violet
WHO	: World Health Organization



## DAFTAR LAMPIRAN

1. Biodata Penulis
2. Rekomendasi Etik Penelitian Disertasi
3. Surat Keterangan Uji Fitokimia Kualitatif
4. Surat Keterangan Uji Fitokimia Kuantitatif
5. Hasil Uji Ekspresi Gen mRNA HMGB1
6. Hasil Uji ELISA TNF- $\alpha$
7. Foto Dokumentasi Penelitian



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. LATAR BELAKANG

Sawo manila atau lebih dikenal dengan nama latin Sapodilla (*Achras zapota L*) Van Royen adalah tumbuhan yang berasal dari Amerika Tengah, Mexico dan Hindia Barat (Mukhriani et al., 2014). Di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama Sawo Kecil oleh orang jawa dan Punrulu oleh orang bugis Sulawesi selatan. Tanaman ini dapat tumbuh di berbagai dataran baik dataran rendah maupun dataran tinggi dan sudah tersebar di seluruh Indonesia (Mukhriani et al., 2014). Tanaman ini adalah tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan dapat berbuah sepanjang tahun akan tetapi panen buah terbesar terjadi pada bulan desember. Sawo Manila sangat berpotensi untuk dibudidayakan karena pemeliharannya sangatlah mudah (Arsyad et al., 2016).

Sawo manila (*Achras zapota L*) adalah pohon buah yang dapat berbuah sepanjang tahun. Sawo manila memiliki pohon yang besar dan rindang, dapat tumbuh hingga setinggi 30-40 m. Bunga tunggal terletak di ketiak daun dekat ujung ranting, bertangkai 1-2 cm, kerap kali menggantung, diameter bunga s/d 1,5 cm, sisi luarnya berbulu kecoklatan, berbilangan 6. Kelopak biasanya tersusun dalam dua lingkaran; mahkota bentuk genta, putih, berbagi sampai setengah panjang tabung. Daun

terletak berseling, sering mengumpul pada ujung ranting. Helai tepi rata, sedikit berbulu, hijau tua mengkilap, bentuk bulat-telur



orong sampai agak lanset, 1,5-7 x 3,5-15 cm, pangkal dan ujungnya bentuk baji, bertangkai 1-3,5 cm, tulang daun utama menonjol di sisi sebelah bawah. Bercabang rendah, batang sawo manila berkulit kasar abu-abu kehitaman sampai coklat tua. Seluruh bagiannya mengandung lateks, getah berwarna putih susu yang kental (Crane et al., 2016).

Pada penelitian ini peneliti menggunakan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB, hal tersebut mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Arsyad pada tahun 2016 yang meneliti konsentrasi minimum dari ekstrak etanol buah sawo manila terhadap pertumbuhan bakteri dari *Eschericia coli* dimana pada penelitian ini dosis yang digunakan adalah 250 mg/kgBB, 510 mg/kgBB, 750 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Hasil yang diperoleh adalah didapatkan penurunan koloni bakteri *E.coli* yang signifikan pada dosis 510 mg/kgBB, 750 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Hasil yang hampir sama didapatkan pada dosis 750 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB (Arsyad et al., 2016). Inilah yang melatarbelakangi peneliti untuk menguji dua dosis yang berbeda yaitu 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB.

Manfaat dari buah sawo manila telah banyak dikenal secara empiris di masyarakat yaitu buah yang mentah digunakan untuk pengobatan penyakit demam tifoid dengan cara buah mentah di cuci/dibersihkan kemudian buahnya diparut dan hasil dari parutan di peras menggunakan daun halus dan hasil saringannya diminumkan pada

a demam tifoid (Thanh et al., 2016). Buah yang masak dapat bahan pembuatan sirup atau jika dilakukan fermentasi dapat



dijadikan anggur atau cuka. Pohonnya sendiri dapat menjadi tanaman hias atau tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat (Rozikaet al., 2013).

Demam tifoid adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri basil gram negatif yaitu dikenal dengan nama *Salmonella typhi* dimana bakteri ini masuk melalui makanan yang tercemar (Paul et al., 2017). Vektor hewan yang membawa bakteri ini adalah kaki kecoa, kaki lalat dan kaki tikus. Setelah masuk ke saluran pencernaan manusia bakteri ini kemudian masuk dan berkembangbiak di usus dan menyebar ke seluruh aliran darah sehingga terjadilah demam (Wain et al., 2014).

Demam tifoid adalah infeksi sistemik akibat *Salmonella typhi*. Pada tahun 2011 *Salmonella typhi* diperkirakan menginfeksi 21,7 juta orang dan menyebabkan 217.000 kematian di seluruh dunia. Insidensi tinggi demam tifoid banyak ditemukan di Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Afrika Selatan, sebanyak 80% kasus berasal dari area kumuh di Bangladesh, Cina, India, Indonesia, Laos, Nepal, Pakistan, dan Vietnam (Crump et al., 2015).

Prevalensi nasional Tifoid berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan dan keluhan responden adalah 1,60%. Sebanyak 14 provinsi mempunyai prevalensi Tifoid diatas prevalensi nasional, yaitu Nanggroe Aceh Darussalam, Bengkulu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Banten, Nusa

a Barat, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan



Timur, Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Gorontalo, Papua Barat dan Papua (Choudhary et al., 2017).

Provinsi Sulawesi Selatan suspek penyakit typhus tercatat sebanyak 23.271 yaitu laki-laki sebanyak 11.723 dan perempuan sebanyak 11.548 sedangkan penderita demam typhoid sebanyak 16.743 penderita yaitu laki-laki sebanyak 7.925 dan perempuan sebanyak 8.818 penderita dengan insiden rate (2,07) dan (CFR=0,00%), dengan kasus yang tertinggi yaitu di Kabupaten Bulukumba (3.270 kasus), Kota Makassar (2.325 kasus) Kabupaten Enrekang (1.153 kasus) dan terendah di Kabupaten Toraja Utara (0 kaspus), Kabupaten Luwu ( 1 kasus) dan Kabupaten Tana Toraja (19 kasus) (Crump et al., 2015).

*Salmonella Typhi* adalah basil Gram negatif yang menyebabkan demam tifoid pada manusia (Vinod et al., 2017). Bakteri ini bisa bertahan dalam phagosome sehingga bisa lolos dari sistem imunitas tubuh. Beberapa komplikasi demam tifoid yaitu perforasi ileum, bakteremia, dan infeksi endovaskular. Terapi umum demam tifoid adalah agen antimikroba, seperti kloramfenikol, ampicilin, dan Levofloxacin (Baltazar et al., 2015).

Antibiotik pertama untuk mengobati demam tifoid adalah kloramfenikol, digunakan pada tahun 1948 dan selanjutnya menjadi terapi pilihan sampai tiga dekade di samping ampicilin dan trimetoprim sulfametoksazol (Pham et al., 2015). Laporan pertama

ai resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol pada tahun duapuluh tahun kemudian dilaporkan resistensi *Salmonella typhi*



terhadap kloramfenikol, ampisilin, dan trimetoprim sulfametoksazol, atau dikenal sebagai MDR (multiple drug resistance) *Salmonella typhi*. Saat ini peningkatan resistensi *Salmonella typhi* terhadap terapi lini kedua yaitu sefalosporin generasi ke-3 dan golongan kuinolon juga telah banyak dilaporkan (Ramachandran et al., 2017).

Kelompok kelompok mobilitas tinggi 1 (HMGB1) adalah protein yang diekspresikan secara konstitutif di hampir semua jenis sel. Sebagai tanggapan terhadap infeksi mikroba, HMGB1 disekresikan dari sel kekebalan yang diaktivasi untuk mengatur peradangan (Reed et al., 2016). Di sini kita meninjau mekanisme yang berbeda dimana beberapa komponen herbal menghambat aksi atau sekresi HMGB1 seperti dengan memodulasi aktivasi inflamasi, autophagic degradation, atau endocytic serapan (Nabanita et al., 2016). Mengingat interaksi timbal balik Antara proses seluler ini, kita dapat mengembangkan terapi herbal yang efektif untuk pengelolaan klinis penyakit inflamasi salah satunya demam typhoid yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*.

TNF- $\alpha$  berperan dalam pertahanan pejamu untuk infeksi bakteri, virus dan parasit. TNF- $\alpha$  diproduksi oleh makrofag dan diaktifkan oleh sel T limfosit, antigen, sel NK, dan sel mast (Lee et al., 2015). TNF- $\alpha$  biasanya tidak terdeteksi pada individu sehat tapi sering ditemukan dalam kondisi inflamasi dan infeksi dalam serum. TNF- $\alpha$  bekerja terhadap

dan endotel, menginduksi inflamasi akut pada kadar rendah9 TNF- $\alpha$  merupakan pirogen yang kuat (Xue-ke Zhao et al., 2016).



TNF- $\alpha$  berperan pada inflamasi sistemik pada kadar sedang. TNF- $\alpha$  menimbulkan kelainan patologis syok septik pada kadar yang tinggi, sebab TNF- $\alpha$  bersifat sitotoksik (Olmos et al., 2014).

Sawo manila telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai pengobatan alternative dari penyakit demam tifoid, dengan cara memarut buahnya dan memeras air yang terkandung didalamnya dengan menggunakan kain halus. Pengobatan ini terbukti efektif dalam menyembuhkan pasien demam tifoid. Selain itu banyaknya kasus resistensi terhadap antibiotik dalam kasus demam tifoid membuat peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian Efek Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras zapota L*) Terhadap Ekspresi mRNA Gen *High Motility Group Box 1 (HMGB1)* Dan Solubel *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )* Pada Mencit Yang Terinfeksi *Salmonella typhi*.

## B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka dapat diajukan beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/BB dapat menurunkan ekspresi mRNA gen *High Motility Group Box 1 (HMGB1)* pada mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*?
2. Apakah ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/BB dapat menurunkan



Solubel *Tumor Necrosis Factor Alpha* (*TNF- $\alpha$* ) pada kelompok mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*?

3. Apakah Ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/kgBB dapat menurunkan jumlah kolonisasi bakteri pada kelompok mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*?

### C. PERTANYAAN PENELITIAN

1. Apakah terdapat penurunan ekspresi mRNA gen *High Motility Group Box 1* (HMGB1) pada kelompok mencit yang telah diinfeksi *Salmonella typhi* dan mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dengan kelompok kontrol?
2. Apakah terdapat penurunan Solubel *Tumor Necrosis Factor Alpha* (*TNF- $\alpha$* ) pada kelompok mencit yang telah diinfeksi *Salmonella typhi* dan mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dengan kelompok kontrol?
3. Apakah terdapat penurunan jumlah kolonisasi bakteri *Salmonella typhi* pada kelompok mencit yang telah diinfeksi *Salmonella typhi* dan mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dengan kelompok kontrol?



## D. TUJUAN PENELITIAN

### a. TUJUAN UMUM

Untuk mengetahui efek ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dalam menurunkan ekspresi mRNA gen High Motility Group Box 1 (HMGB1) dan Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (*TNF- $\alpha$* ) pada mencit yang telah diinfeksi dengan *Salmonella typhi*.

### b. TUJUAN KHUSUS

1. Untuk mengetahui tingkat penurunan ekspresi mRNA gen *High Motility Group Box 1* (HMGB1) pada kelompok mencit yang telah diinfeksi dengan *Salmonella typhi* dan mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dengan kelompok kontrol
2. Untuk mengetahui tingkat penurunan Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (*TNF- $\alpha$* ) pada kelompok mencit yang telah diinfeksi *Salmonella typhi* dan mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dengan kelompok control.
3. Untuk mengetahui penurunan jumlah kolonisasi *Salmonella typhi* pada kelompok mencit yang mendapatkan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kgBB dan 750 g/kgBB dengan kelompok control.



## E. MANFAAT PENELITIAN

Pada dasarnya suatu penelitian tidak dapat memecahkan semua masalah yang ada, akan tetapi selalu diupayakan untuk mempersempit kesenjangan antara kenyataan. Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Aspek Teoritis (keilmuan)

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumber informasi tentang mekanisme efek Sawo manila (*Achras zapota* L) sebagai anti-mikroba dalam infeksi *Salmonella Typhi*

2. Aspek Penelitian

Sebagai data yang bisa dijadikan dasar untuk penelitian lanjutan ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota* L) sebagai obat herbal terstandar

3. Aspek Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang efek anti-mikroba ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota* L) sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai terapi adjuvant yang dapat meningkatkan efektivitas terapi utama, sehingga akan mengurangi jumlah kolonisasi bakteri *Salmonella thypi*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. TINJAUAN SAWO MANILA (*Achras zapota L.*)

Sawo manila (*Achras zapota L*) adalah pohon buah yang dapat berbuah sepanjang tahun. Sawo manila memiliki pohon yang besar dan rindang, dapat tumbuh hingga setinggi 30-40 m. Nama lain sawo manila adalah *Manikara zapota L*, nama daerahnya adalah *West-Indische mispel*, *Nefle d' Amerique*, *Sapotiller*, *Sapotillbaum*, *Neesberry*, *Sapodilla-Ind*, *Ciku-Sund*, *sawo londa*, *sabu manila*, *sabo jawa*. Berasal dari Amerika tropic, di jawa umum di budidayakan di daerah dataran rendah; pembiakan dilakukan dengan cangkakan atau dengan biji (Bano et al., 2017).

Buahnya yang manis dapat diperoleh setahun penuh, orang mengenalnya dengan bentuk elipsoidis dan berbentuk kira-kira seperti buah apel maka sering disebut juga sawo apel. Buah sawo manila yang baik dapat diperoleh didaerah Jakarta dipasar minggu dan daerah sekitarnya. Beratnya sangat berbeda dari buah yang besar dan baik berat kulitnya 25 gram, dan buahnya 150 gram dan berat biji sekitar 1 gram.

Dalam satu buah sawo manila terdapat kandungan 30% tannin, 30%

oid, 30 % flavonoid, dan 10% air (Deshmukh et al., 2015)



Tabel 2.1 Komposisi gizi per 100 gram daging buah sawo mentah (Kusmiyati et al., 2014)

KOMPONEN GIZI	KADAR
Energi (kkal)	83
Protein (g)	0,44
Lemak (g)	1,10
Karbohidrat (g)	19,96
Serat (g)	5,3
Kalsium (mg)	21
Besi (mg)	0,8
Magnesium (mg)	12
Fosfor (mg)	12
Kalium (mg)	193
Natrium (mg)	12
Seng (mg)	0,1
Tembaga (mg)	0,09
Selenium (mg)	0,6
Vitamin C (mg)	14,7
Riboflavin (mg)	0,02
Niasin (mg)	0,2
Vitamin B6 (mg)	0,04
Folat (mg)	14
Vitamin A (IU)	60

Pada tabel 2.1 diatas kita melihat bahwa banyaknya kandungan vitamin dan mineral yang terdapat pada buha sawo manila yang mentah. Komposisi per 100 gr buah sawo manila yang mentah terdapat kalori sebesar 83 kkal, kalsium 21 mg, kalium 193 mg, Vit. C 14,7 mg, dan pro vitamin A 60 IU dan masih banyak lagi (Kusmiyati et al., 2014). Beberapa daerah di Indonesia yang sudah menggunakan sawo manila sebagai pengobatan tradisoal untuk penyakit demam tifoid dengan metode perasan dari parutan buah muntah yangkemudian air perasannya

kan pada penderita tifoid adalah beberapa daerah di pulau Jawa Jogjakarta, Solo, Batu Malang. Beberapa daerah di pulau tan seperti Samarinda dan Balikpapan dan beberapa daerah di



Sulawesi selatan seperti Sinjai, Bulukumba, Bone dan Sidrap (Kusmiyati et al., 2014).

Indonesia sebagai negara dengan sumber daya alam yang memiliki keanekaragaman hayati nomor dua di dunia setelah Brazil berpeluang sebagai produsen produk-produk yang mengandalkan bahan baku dari alam. Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang telah diidentifikasi dan 950 jenis diantaranya diketahui memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat, suplemen makanan, kosmetika dan farmasi nutrisi (*nutraceutical*) (Milind et al., 2015).

Obat tradisional sudah diakui bermanfaat dalam menunjang sistem pengobatan modern. Memasuki era globalisasi ini, perkembangan teknologi dan bentuk pemanfaatan tumbuhan obat di Indonesia berkembang sangat pesat dengan volume permintaan 1000 tanaman obat per tahun (Kusmiyati et al., 2014). Kedudukan Indonesia sebagai “Mega Biodiversity” terbesar kedua di dunia setelah Brazil, memiliki tumbuhan tropis dan biota laut yang sangat beragam (Singh et al., 2016).

Di wilayah Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 diantaranya diduga memiliki khasiat sebagai obat. World Conservation Monitoring Center telah melaporkan bahwa wilayah Indonesia merupakan kawasan yang banyak dijumpai beragam jenis tanaman obat, sedangkan jumlah tanaman yang telah dimanfaatkan

mencapai 2.518 jenis. Indonesia mempunyai beragam kultur dan kearifan daerah. Terdapat warisan leluhur secara turun temurun yang



masih menyajikan pengobatan berbagai penyakit secara tradisional (Anelia et al., 2016).

Pengobatan ini memanfaatkan berbagai tanaman obat yang berada di lingkungan sekitar tempat tinggal. Adanya pandangan mengenai “Back to Nature” yaitu penggunaan obat-obatan tradisional dari berbagai tanaman obat yang terdapat di lingkungan sekitar, membuat banyak penelitian ilmiah dan informasi ilmiah perlu diberikan untuk membuktikan potensi dari berbagai jenis tanaman obat yang berada di Indonesia untuk meningkatkan kesehatan maupun ekonomi di Indonesia (Novia et al., 2015).

Salah satu dari tanaman berpotensi sebagai obat adalah sawo manila (*Achras zapota* L). Kandungan senyawa kimia buah sawo manila adalah tannin, flavonoid dan triterpenoid (Fayek et al., 2014). Biji sawo mengandung saponin, serta pada buahnya banyak mengandung kalium, energi, karbohidrat, vitamin (A, C, B6), magnesium serta fosfor (Mondal et al., 2012).

Buah muda yang direbus dapat digunakan untuk menghentikan diare, bagian daunnya digunakan untuk mengobati demam, obat untuk batuk, pilek, obat luka dan borok, selain itu bagian bunganya digunakan sebagai ramuan rempah untuk wanita yang baru melahirkan (Aditi Maha et al., 2015). Infus buah muda dan bunga diminum untuk meredakan

paru, sedangkan pembuatan teh dari kulit kayu dapat digunakan obat penurun panas dan menghentikan diare serta disentri. Biji



yang dihancurkan memiliki daya diuretik dan untuk meredakan infeksi kandung kemih dan batu ginjal (Kamaraj et al., 2012).

Ekstrak cairan dari biji sawo yang dihancurkan digunakan di Yucatan sebagai obat penenang dan obat tidur. Rebusan daun sawo yang dicampur dengan labu siam yang manis dan diminum setiap hari untuk menurunkan tekanan darah . Khasiat sawo manila sebagai obat dikarenakan kandungan tannin, flavonoid dan teriterpenoid pada batang juga daun bahkan buahnya sehingga dapat dikatakan baik sebagai alternatif obat diare alami (Oliveira et al., 2014).

Di samping itu daun mengandung saponin dan batangnya mengandung tannin (Arsyad et al., 2016). Getah buah sawo manila juga dapat digunakan untuk campuran gula-gula. Ekstrak dari buah muda menyimpan banyak khasiat dan memiliki potensi sosial dalam pelayanan kesehatan sebagai obat tradisional atau antimikrobia. Getah buah, buah muda, dan daunnya, bisa digunakan sebagai obat diare, bagian daun dan batang sawo mengandung flavonoid (Oliveira et al., 2014).

Buah sawo manila merupakan buah yang mudah didapat dan harganya dapat dijangkau semua kalangan masyarakat. Buah sawo manila juga dapat menjadi alternatif obat karena bersifat alami dan aman dikonsumsi. Faktor penyebab terjadinya diare antara lain infeksi mikrobia pathogen diantaranya adalah *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*,

*bacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*,  
*chia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas cocovenenans*,



Salmonella sp, Shigella sp, Staphylococcus aureus, Vibrio cholera, dan Yersinia enterocolitica (Uekane et al., 2016).

Keadaan gizi, higiene dan sanitasi, sosial budaya, musim, sosial ekonomi juga merupakan faktor yang mendukung penyebab terjadinya diare. Masyarakat yang jauh dari pelayanan kesehatan resmi sangat tergantung pada alam sekelilingnya untuk menanggulangi diare. Di Indonesia banyaktanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat terutama di pedesaan untuk mengobati diare (Uekane et al., 2016).

Terdapat aktivitas antimikrobia pada ekstrak kulit batang dan buah sawo manila ditunjukkan dengan zona penghambatan pada kisaran diameter zona hambat 8-16 mm. Buah sawo manila memiliki aktivitas antimikrobia karena melalui uji fitokimia kualitatif dan kuantitatif yaitu ditemukannya senyawa triterpenoid, flavonoid, dan tannin (Uekane et al., 2016).

Ekstrak biji Manilkara zapota, Annona squamosa, dan Tamarindus indica menggunakan metanol dan aseton yang diujikan terhadap Staphylococcus aureus MTCC 737, Streptococcus pyrogenes MTCC 442, Escherichia coli MTCC 723, Aeromonas hydrophila MTCC 1457, Shigella flexneri MTCC 1457, Salmonella paratyphi A, V. cholerae MTCC 3906, Pseudomonas aeruginosa MTCC 617 dan Staphylococcus epidermidis MTCC 435, namun hanya memiliki aktivitas terhadap S.

S. paratyphi, V. cholerae, dan S. epidermidis (Oliveira et al.,



Zat antimikrobia dapat diekstrak menggunakan etanol, eter, maupun senyawa lain yang sesuai dengan zat aktif yang terdapat pada tumbuhan. Zat aktif yang terdapat pada tumbuhan juga perlu diuji daya antimikrobianya menggunakan bakteri tertentu (Rao et al., 2014).

Penelitian yang menggunakan bakteri *Vibrio cholerae* mewakili bakteri Gram negatif dan bakteri *Clostridium perfringens* mewakili bakteri Gram positif (Rubino et al., 2012). Selain itu, kedua bakteri ini dapat mewakili bakteri penyebab diare. Perkembangan obat tradisional saat ini sangat meningkat, harga obat kimia saat ini cukup meningkat bahkan masyarakat berpenghasilan rendah sulit untuk membelinya, sehingga penggunaan obat tradisional lebih disukai dan harganya lebih murah, bahkan efek samping yang ditimbulkan tidak berbahaya terhadap kehidupan (Vishwasrao et al., 2016).

Tanaman sekitar bisa bermanfaat baik daun, batang, akar, buah, bunga dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif, dari sekian banyak tanaman yang dapat dimanfaatkan misalnya adalah buah sawo manila (*Achras zapota L*) dari suku *sapotaceae* (Pientaweeratch et al., 2016). Menurut penelitian sebelumnya diketahui pada buah dan daun sawo manila mengandung senyawa fitokimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan glikosida yang telah diketahui mempunyai aktifitas antibakteri (Vishwasrao et al., 2016).

Penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa ekstrak air dan metanol sawo Manila memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus*



*aureus*. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit kulit seperti jerawat. Jerawat merupakan kelainan pada kulit akibat penyumbatan muara saluran lemak sehingga terjadi penumpukan lemak dan disertai radang. Penggunaan obat jerawat hanya dimaksudkan untuk mengurangi gejala-gejala yang timbul, mencegah terjadinya bekas luka yang permanen dan untuk mencegah infeksi (Raymon et al., 2016).

Kemampuan sawo manila (*Achras zapota L*) dapat menjadi alternatif untuk pengobatan pada penyakit seperti jerawat akibat infeksi *Staphylococcus aureus*, pemanfaatan sawo manila (*Achras zapota L*) dapat diaplikasikan dalam bentuk sediaan lotion. Lotion merupakan preparat cair yang dimaksudkan untuk pemakaian luar pada kulit. Kebanyakan lotio mengandung banyak serbuk halus yang tidak larut dalam media dispersi dan disuspensikan dengan menggunakan zat pensuspensi dan zat pendispersi (Rozika et al., 2013).

Sawo (*Achras zapota L.*) berasal dari daerah tropis Amerika Tengah dan Meksiko. Di Indonesia tanaman ini sering dijumpai di pekarangan. Tanaman ini berupa pohon yang bergetah . Berdasarkan hasil penelitian buah sawo merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat diare (Kusmiyati et al., 2014). Beberapa masyarakat di Kalimantan Selatan, khususnya Kabupaten Hulu Sungai Utara menggunakan buah sawo sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit diare (Amlan et



Buah sawo yang digunakan masyarakat adalah buah yang masih muda. Buah sawo diparut dan kemudian diambil airnya untuk diminum. Berdasarkan pustaka, buah sawo (*Achras zapota L.*) mengandung tanin. Lebih lanjut kandungan tanin dapat melindungi dinding mukosa usus terhadap rangsangan isi usus atau mengendapkan racun, ini dapat membantu daya antibakteri secara keseluruhannya (Pientaweeratch et al., 2016).

Pemeriksaan simplisia buah sawo menghasilkan kadar air 15,33%, kadar abu total 1,89%, kadar abu yang tidak larut asam 0,95%, kadar sari yang larut dalam etanol 37,45%, kadar sari yang larut dalam air 38,01%. Hasil skrining fitokimia simplisia buah sawo menunjukkan adanya flavonoid, glikosida, dan tannin (Morais et al., 2015). Ekstrak buah sawo manila yang mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan tanin mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 2% dan 2,5% (Lim et al., 2018).

Kandungan flavanoid, triterpenoid dan tanin dalam buah sawo yang dapat berfungsi sebagai antibakteri ini perlu diteliti lebih lanjut untuk memastikan pengaruhnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Escherichia coli* (Moo-huchin et al., 2013). *Escherichia coli* yang umumnya menyebabkan diare terjadi di seluruh dunia. Oleh karena itu

tarik meneliti konsentrasi hambat minium Ekstrak Etanol Sawo



(*Achras zapota L.*) terhadap pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* (Ningrum et al., 2018).

Tanaman sawo (*Achras zapota L.*) mengandung senyawa-senyawa kimia meliputi saponin, flavanoiod dan tanin. Tanin merupakan astrigen, polifenol, berasa pahit, dapat mengikat dan mengendapkan protein serta larut dalam air (terutama air panas) (Altemimi et al., 2017). Umumnya tanin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri, tetapi tanin juga banyak diaplikasikan untuk pengobatan diare, hemostatik (menghentikan pendarahan) dan wasir (Tiwari et al., 2011).

Sawo manila (*Achras zapota L*) adalah pohon buah yang dapat berbuah sepanjang tahun. Sawo manila memiliki pohon yang besar dan rindang, dapat tumbuh hingga setinggi 30-40 m (**Gambar 2.1**). Bunga tunggal terletak di ketiak daun dekat ujung ranting, bertangkai 1-2 cm, kerap kali menggantung, diameter bunga s/d 1,5 cm, sisi luarnya berbulu kecoklatan, berbilangan 6. Kelopak biasanya tersusun dalam dua lingkaran; mahkota bentuk genta, putih, berbagi sampai setengah panjang tabung (Macias, 2015).

Daun tunggal, terletak berseling, sering mengumpul pada ujung ranting. Helai daun bertepi rata, sedikit berbulu, hijau tua mengkilap, bentuk bulat-telur jorong sampai agak lanset, 1,5-7 x 3,5-15 cm, pangkal dan ujungnya bentuk baji, bertangkai 1-3,5 cm, tulang daun utama

di sisi sebelah bawah (**Gambar 2.2**) . Bercabang rendah, batang



sawo manila berkulit kasar abu-abu kehitaman sampai coklat tua. Seluruh bagiannya mengandung lateks, getah berwarna putih susu yang kental.

Buah sawo manila memiliki tangkai yang pendek, berbentuk bulat, bulat telur atau jorong, berukuran sekitar 3-6 x 3-8 cm, berwarna coklat kemerahan sampai kekuningan (**Gambar 2.2**). Permukaan luarnya bersisik-sisik kasar coklat yang mudah mengelupas, dan sering ada sisa tangkai putik yang mengering di ujungnya (Gilman et al., 2014).



**Gambar 2.1** Pohon sawo manila (*Achras zapota L*)

Buah sawo manila memiliki biji sampai 12 butir, namun kebanyakan kurang dari 6, berbentuk lonjong pipih, hitam atau kecoklatan mengkilap, panjang lebih kurang 2 cm, keping biji berwarna putih lilin (Crane et al., 2016).



**Gambar 2.2** Buah sawo manila (*Achras zapota L*)

### 1. Klasifikasi Tanaman

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Ebenales
Suku	: Sapotaceae
Marga	: <i>Achras</i>
Jenis	: <i>Achras zapota L</i> (Mukhriani et al., 2014).

### 2. Kandungan *Achras zapota L* sebagai antimikroba

Pemeriksaan simplisia buah sawo manila menghasilkan kadar air 15,33%, kadar abu total 1,89%, kadar abu yang tidak larut asam 0,95%, kadar sari yang larut dalam etanol 37,45%, kadar sari yang larut dalam air 38,01%. Hasil skrining fitokimia simplisia satu buah sawo 120 gram menunjukkan adanya flavonoid 30% , triterpenoid 35%, dan tannin 35% (Qiuping et al., 2006)

Kandungan tanin, flavonoid dan triterpenoid dalam buah sawo yang dapat berfungsi sebagai antibakteri hasil uji KLT menunjukkan bahwa

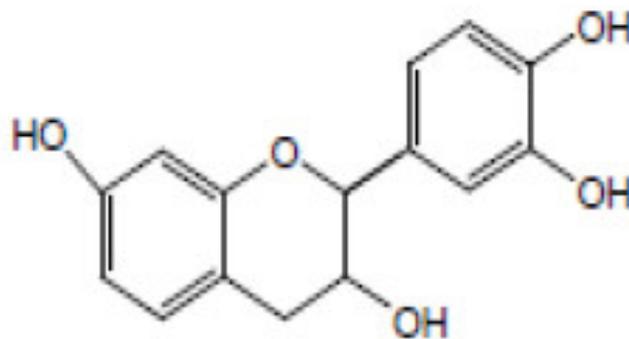
buah sawo manila 100 gram mengandung senyawa tannin 30%,  
d 35%, dan saponin 35%. Sedangkan Ekstrak etanol kulit batang



sawo manila mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Persamaan hasil yang diperoleh tersebut dapat disebabkan karena adanya kesamaan pada penggunaan pelarut yaitu etanol dan metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi (Yeo et al., 2014).

### 3. Senyawa Tanin

Tanin adalah senyawa fenol yang memiliki berat molekul 500-3000 daltons (Da). Tanin diklasifikasi atas dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik, yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*). Mekanisme kerja senyawa tanin yaitu menghambat pembentukan polipeptida dinding sel bakteri yang menyebabkan lisisnya dinding sel sehingga sel bakteri mati (Mondong et al., 2015)



Gambar 2.3 Struktur inti Tanin



Sifat utama tanin tumbuh-tumbuhan tergantung pada gugusan fenolik –OH (**Gambar 2.3**) yang terkandung dalam tanin, dan sifat tersebut secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut (Rohyani et al., 2015):

1. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid.
2. Semua jenis tanin dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas.
3. Dengan garam besi memberikan reaksi warna. Reaksi ini digunakan untuk menguji klasifikasi tanin, karena tanin dengan garam besi memberikan warna hijau dan biru kehitaman.
4. Tanin akan terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu (99 -102 oC).
5. Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa dan enzim.

Umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh dengan sifat sebagai berikut (Malangngi et al., 2012):

1. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut.
2. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent).



3. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka.
4. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun.

#### 4. Senyawa Flavonoid

Flavonoid terdiri atas ribuan jenis, tersebar luas pada berbagai pigmen tumbuhan. Termasuk dalam flavonoid adalah flavon, flavonol, flavanonol, xanton, flavonon, calkon, auron, antosianin dan katekin. Ditinjau dari struktur kimianya flavonoid adalah rangkaian cincin benzena terhubung oleh rantai O-OH alifatik. Umumnya flavonoid mengandung cincing pyran menghubungkan rantai OH dengan cincin benzena lain (**Gambar 2.4**). Pada kelas yang berbeda terdapat tambahan cincin oksigen heterosiklik dan gugus hidroksil (Noer et al., 2014). Flavonoid dapat dibentuk dari glikosida dan umumnya bersifat larut air atau dapat diekstraksi dengan pelarut polar seperti metanol, etanol atau aseton; akan tetapi lebih kurang polar dibandingkan dengan karbohidrat (Nirwana et al., 2015).

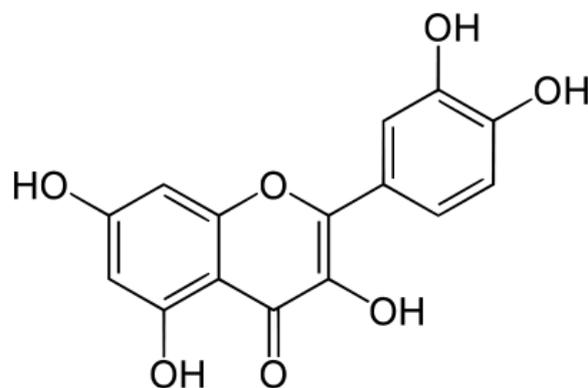
Flavonoid terdistribusi secara luas pada kerajaan tumbuhan yang memiliki pigmen, sering berfluoresensi setelah radiasi UV. Flavonoid juga berperan sebagai regulator metabolik dan melindungi sel dari radiasi UV.

Flavonoid memiliki fungsi kunci dalam mekanisme pengenalan biokimia

produksi signal, mirip dengan regulator pertumbuhan (Putranti,



Biosintesis pada sel tumbuhan: flavonoid adalah derivat asam shikimat melalui jalur fenilpropanoid. Subtansi yang dihasilkan berhubungan dalam jalur ini : isoflavon, auron, flavon dan flavonol dihasilkan dari kalkon, leukoantosianiniidin, flavon dan flavonol dari flavanonol dan antisoanidin dari leucoantosiadidin (Puspitasari et al., 2015).



**Gambar 2.4** Struktur inti Flavonoid

Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada molekul gula sebagai glikosida, dan dalam bentuk campuran, jarang sekali dijumpai berupa senyawa tunggal (Puspitasari et al., 2015). Disamping itu sering ditemukan campuran yang terdiri dari flavonoid yang berbeda kelas. Misalnya antosianin dalam mahkota bunga yang berwarna merah, hampir selalu disertai oleh flavon atau flavonol yang tak berwarna. Dewasa ini diperkirakan telah berhasil diisolasi sekitar 3.000 senyawa (Puspitasari et al., 2015). Flavonoid dalam tumbuhan

memiliki empat fungsi (Susanty et al., 2016) :

1) Sebagai pigmen warna



- 2) Fungsi fisiologi dan patologi
- 3) Aktivitas Farmakologi
- 4) Flavonoid dalam makanan.

Aktifitas Farmakologi dianggap berasal dari rutin (glikosida flavonol) yang digunakan untuk menguatkan susunan kapiler, menurunkan permeabilitas dan fragilitas pembuluh darah. Flavonoid dapat digunakan sebagai obat karena mempunyai bermacam macam bioaktivitas seperti antiinflamasi, anti bakteri, anti kanker, antifertilitas, antiviral, antidiabetes, antidepressant dan diuretic (Noer et al., 2014).

## 5. Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa metabolid sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C 30 asiklik , yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Mawa et al., 2016). Sebagian besar senyawa Triterpenoid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak dipergunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa Triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai anti jamur, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan anti virus

et al., 2016).



Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa isolat triterpenoid (F3) dengan konsentrasi 1000 ppm memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter daerah hambat sebesar 10 mm untuk bakteri *E. coli* dan 7 mm untuk bakteri *S. aureus*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sukadana pada tahun 2008 dapat disimpulkan bahwa isolat triterpenoid dari biji papaya yang merupakan senyawa golongan triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi sebagai antibakteri pada konsentrasi 1000 ppm (Soemiati et al., 2014).

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yaitu skualena, senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif (Madhavi et al., 2017). Senyawa triterpenoid dapat dibagi menjadi empat golongan, yaitu: triterpen sebenarnya, saponin, steroid, dan glikosida jantung (Soemiati et al., 2014).

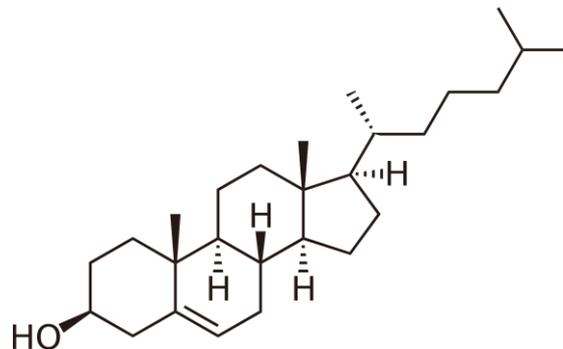
Triterpen berdasarkan jumlah cincin yang terdapat dalam struktur molekulnya triterpen sebenarnya dapat dibagi atas (Soemiati et al., 2014):

1. Triterpen asiklik yaitu triterpen yang tidak mempunyai cincin tertutup, misalnya skualena.
2. Triterpen trisiklik adalah triterpen yang mempunyai tiga cincin

tertutup pada struktur molekulnya, misalnya: ambrein.



3. Triterpen tetrasiklik adalah triterpen yang mempunyai empat cincin tertutup pada struktur molekulnya, misalnya:lanosterol
4. Triterpen pentasiklik adalah triterpen yang mempunyai lima cincin tertutup pada struktur molekulnya, misalnya  $\alpha$ -amirin.



**Gambar 2.5** Struktur Triterpenoid

Terpenoid merupakan derivat dehidrogenasi dan oksigenasi dari senyawa terpen. Terpen merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan dan sebagian kelompok hewan. Rumus molekul terpen adalah  $(C_5H_8)_n$  (**Gambar 2.5**). Terpenoid disebut juga dengan isoprenoid. Hal ini disebabkan karena kerangka karbonnya sama seperti senyawa isopren. Secara struktur kimia terenoid merupakan penggabungan dari unit isoprena, dapat berupa rantai terbuka atau siklik, dapat mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, karbonil atau gugus fungsi lainnya (Dwisari et al., 2016).



terpenoid merupakan komponen penyusun minyak atsiri. Minyak berasal dari tumbuhan yang pada awalnya dikenal dari penentuan

struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hydrogen dan atom karbon dari suatu senyawa terpenoid yaitu 8 : 5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid (Dwisari et al., 2016).

Terpenoid merupakan bentuk senyawa dengan struktur yang diturunkan dari unit isoprene (C<sub>5</sub>) yang bergandengan dalam model kepala ke ekor, sedangkan unit isoprene diturunkan dari metabolisme asam asetat oleh jalur asam mevalonat (MVA). Mekanisme dari tahap-tahap reaksi biosintesis terpenoid adalah asam asetat setelah diaktifkan oleh koenzim A melakukan kondensasi jenis Claisen menghasilkan asam asetoasetat. Senyawa yang dihasilkan ini dengan asetil koenzim A melakukan kondensasi jenis aldol menghasilkan rantai karbon bercabang sebagaimana ditemukan pada asam mevalinat, reaksi-reaksi berikutnya adalah fosforilasi, eliminasi asam fosfat dan dekarboksilasi menghasilkan isopentenil (IPP) yang selanjutnya berisomerisasi menjadi dimetil alil pirofosfat (DMAPP) oleh enzim isomerisasi (Dwisari et al., 2016).

IPP sebagai unit isoprene aktif bergabung secara kepala ke ekor dengan DMAPP dan penggabungan ini merupakan langkah pertama dari polimerisasi isoprene untuk menghasilkan terpenoid. Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah diisolasi dengan lebih 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan proses siklisasi dari

(Ghosh et al., 2013). Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang



mempunyai gugus fungsi pada siklik tertentu (**Gambar 2.5**). Sedangkan penamaan lebih disederhanakan dengan memberikan penomoran pada tiap atom karbon, sehingga memudahkan dalam penentuan substituen pada masing-masing atom karbon (Kurniawati et al., 2014).

Triterpenoid biasanya terdapat pada minyak hati ikan hiu, minyak nabati (minyak zaitun) dan ada juga ditemukan dalam tumbuhan seprimitif sphagnum tetapi yang paling umum adalah pada tumbuhan berbiji, bebas dan glikosida (Hemaia et al., 2015). Triterpenoid telah digunakan sebagai tumbuhan obat untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Struktur terpenoida yang bermacam ragam timbul sebagai akibat dari reaksi-reaksi sekunder berikutnya seperti hidrolisa, isomerisasi, oksidasi, reduksi dan siklisasi atas geranil-, farnesil-, dan geranil-geranil pirofosfat (Soemiati et al., 2014).

Ekstraksi senyawa terpenoid dilakukan dengan dua cara yaitu: melalui sokletasi dan maserasi. Teknik maserasi menggunakan pelarut methanol. Ekstrak methanol dipekatkan lalu dihidrolisis dalam 100 mL HCl 4M. Hasil hidrolisis diekstraksi dengan 5 x 50 mL n-heksana. Ekstrak n-heksana dipekatkan lalu disabunkan dalam 10 mL KOH 10%. Ekstrak n-heksana dikentalkan lalu diuji fitokimia dan uji aktivitas bakteri (Madhavi et al., 2017).

Uji aktivitas bakteri dilakukan dengan pembiakan bakteri dengan menggunakan jarum ose yang dilakukan secara aseptis. Lalu dimasukkan



ke dalam tabung yang berisi 2mL Muller-Hinton broth kemudian diinkubasi bakteri homogen selama 24 jam pada suhu 35°C. suspensi bakteri homogeny yang telah diinkubasi siap dioleskan pada permukaan media Muller-Hinton agar secara merata dengan menggunakan lidikapas yang steril. Kemudian tempelkan disk yang berisi sampel, standartetrasiklin serta pelarutnya yang digunakan sebagai kontrol. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. dilakukan pengukuran daya hambat zat terhadap bakteri (Mayanti et al., 2016).

Uji fitokimia dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard. Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara asam setatanhidrat dan asam sulfat pekat. Alasan digunakannya asam asetat anhidrat adalah untuk membentuk turunan asetil dari steroid yang akan membentuk turunan asetil dalam kloroform setelah. Alasan penggunaan kloroform adalah karena golongan senyawa ini paling larut baik didalam pelarut ini dan yang paling prinsipil adalah tidak mengandung molekul air. Jika dalam larutan uji terdapat molekul air maka asam asetat anhidrat akan berubah menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalanan turunan asetil tidak akan terbentuk. Manfaat Terpenoid adalah sebagai berikut (Soemiati et al., 2014):

1. sebagai pengatur pertumbuhan (seskuiterpenoid absisin dan diterpenoid giberellin).



2. sebagai antiseptic, ekspektoran, spasmolitik, anestetik dan sedative, sebagai bahan pemberi aroma makan dan parfum (monoterpenoid).
3. sebagai tumbuhan obat untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (triterpenoid).
4. sebagai hormon pertumbuhan tanaman, podolakton inhibitor pertumbuhan tanaman, antifeedant serangga, inhibitor tumor, senyawa pemanis, anti fouling dan anti karsinogen (diterpenoid).
5. Sebagai anti feedant, hormon, antimikroba, antibiotik dan toksin serta regulator pertumbuhan tanaman dan pemanis (seskuiterpenoid).
6. Karotenoid memberikan sumbangan terhadap warna tumbuhan dan juga diketahui sebagai pigmen dalam fotosintesis .
7. Terpenoid memegang peranan dalam interaksi tumbuhan dan hewan, misalnya sebagai alat komunikasi dan pertahanan pada serangga..
8. Beberapa terpenoid tertentu yang tidak menguap juga diduga berperan sebagai hormon seks pada fungus.



### Antimikroba Ekstrak Mawo manila (*Achras zapota* L)

Penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak buah sawo (*Achras*

*zapota L*) terhadap *Salmonella typhi* menggunakan metode in vitro didapatkan hasil adanya penurunan yang signifikan pada pemberian ekstrak sawo manila 510 mg/kgBB dengan nilai  $p=0,009$  ( $p<0,05$ ), penurunan yang signifikan pada pemberian ekstrak sawo manila 750 mg/kgBB dengan nilai  $p=0,007$  ( $p<0,05$ ), penurunan yang signifikan pada pemberian levofloxacin 98 mg/kgBB dengan nilai  $p=0,009$  ( $p<0,05$ ), dan penurunan yang signifikan pada pemberian aquades 0,11cc/KgBB dengan nilai  $p=0,004$  ( $p<0,05$ ).

Sawo manila (*Achras zapota L*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella thyposa* dengan diameter hambatan terbesar 18,68 mm pada konsentrasi 45%. Dari hasil KLT menggunakan eluent kloroform : methanol : air (15 : 6:1) dengan penampak muda sinar UV 366 nm menunjukkan 3 noda dengan  $R_f$  0,77 0,62, 0,37. Sedangkan larutan pembanding kloramfenicol dengan menggunakan eluent yang sama memiliki noda dengan  $R_f$  0,85. Analisa KLT- Bioautografi diperoleh 2 noda yang aktif dengan  $R_f$  0,77 dengan diameter hambatan 9,27 mm dan  $R_f$  0,62 dengan diameter hambatan 9,12 mm dalam menghambat pertumbuhan bakteri pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa*. Dari hasil ini dapat diketahui bahwa buah sawo manila ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri bakteri *Salmonella thyposa* karena adanya kandungan saponin yang mampu menghambat DNA polimerase dari

dan juga kandungan tannin yang mampu menghambat sintesis polipeptida dinding sel bakteri dan flavonoid yang mampu



menghambat DNA gyrase dari bakteri sehingga dapat mengganggu keutuhan sel bakteri dan menyebabkan kematian dari bakteri (Deshmukh et al., 2015).

Pada pengujian mikrobiologi pada ekstrak etanol 70% pada konsentrasi 5% di peroleh ada 1 replikasi yang memiliki zona hambat sedangkan, pada replikasi yang lain tidak didapati zona hambat. Ini kemungkinan terjadi karena adanya kesalahan pada saat penetesan ekstrak pada paper disc yang menyebabkan adanya zona hambat pada salah satu replikasi (Devatkal et al., 2014).

Penghambatan pertumbuhan bakteri diduga berasal dari senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak diantaranya adalah alkaloid, fenolik dan steroid. Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa (alkali) dan dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri, sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri (Menezes et al., 2017). Koagulasi protein akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Deshmukh et al., 2015).

Fenolik merupakan senyawa yang mengandung fenol (senyawa turunan fenol) yang secara kimiawi telah diubah untuk mengurangi kemampuannya dalam mengiritasi kulit dan meningkatkan aktivitas

nya (Bhutia et al., 2011). Aktivitas antimikroba senyawa fenolik dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme



sehingga menyebabkan isi sel keluar. Mekanisme kerja antibakteri senyawa steroid yaitu dengan cara merusak membran sel bakteri (Alves et al., 2010).

Berdasarkan hasil uji statistik diketahui bahwa untuk ekstrak etanol 1%, etil asetat 1%, dan n-heksan 1% didapatkan hasil tidak signifikan. Selanjutnya untuk ekstrak etanol 5%, etil asetat 5%, dan n-heksan 5% di dapatkan hasil yang signifikan antara n-heksan dan etil asetat serta etanol dan etil asetat sedangkan pada ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan didapatkan hasil yang tidak signifikan. Pada konsentrasi 10% antara n-heksan, etil asetat, dan etanol diapatkan hasil yang signifikan pada ketiga ekstrak tersebut (Amlan et al., 2013).

Dari hasil uji mikrobiologi diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat buah sawo paling memiliki aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol 70%, maka dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis bioautografi. Pada pengujian KLT bioautografi digunakan eluen n-heksanetil asetat dengan perbandingan 2:3 hasil dari elusi didapatkan spot noda dengan nilai Rf (Osman et al., 2011).

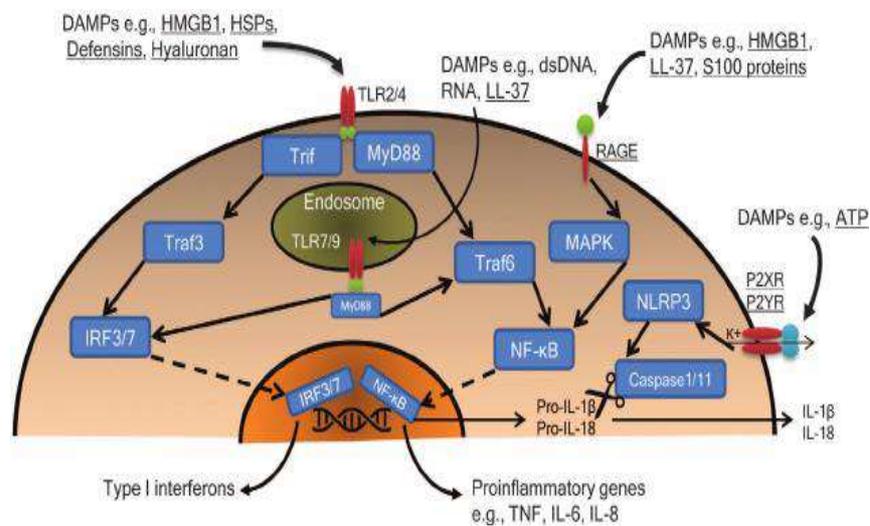
### C. TINJAUAN HMGB1 (High Motility Group Box 1)

*High Motility Group Box 1* (HMGB1) adalah protein yang diekspresikan secara konstitutif di hampir semua jenis sel. Sebagai

an terhadap infeksi mikroba, HMGB1 disekresikan dari sel an yang diaktivasi untuk mengatur peradangan. Di sini kita



meninjau mekanisme yang berbeda dimana beberapa komponen herbal menghambat aksi atau sekresi HMGB1 seperti dengan memodulasi aktivasi inflamasi, autophagic degradation, atau endocytic serapan. Mengingat interaksi timbal balik Antara proses seluler ini, kita dapat mengembangkan terapi herbal yang efektif untuk pengelolaan klinis penyakit inflamasi salah satunya demam typhoid yang disebabkan oleh salmonella thypi (Reed et al., 2016).



**Gambar 2.6 HMGB1 dalam inflamasi bakteri (Reed et al., 2016)**

Peran Ekstraseluler HMGB1 sebagai Alarmin Begitu dilepas, HMGB1 berfungsi sebagai alarmin Sinyal untuk waspada, merekrut, dan mengaktifkan sel kekebalan tubuh. Untuk Misalnya, mengikat berbagai produk mikroba (mis., CpG-DNA atau LPS), kemudian diteruskan ke MyD88 dan seterusnya sehingga memudahkan reseptor sel untuk meningkatkan respon inflamasi **Gambar 2.6** (Reed et al., 2016).



HMGB1 (High Motility Group Box 1), secara evolusioner merupakan protein pengikat DNA 30 kDa, kemudian diekspresikan di

hampir semua jenis sel. Urutan (NLS), HMGB1 diangkut ke dalam inti oleh kompleks impor nuklir, yang kemudian mempertahankannya di protein preformed. Ini membawa dua pengulangan internal domain bermuatan positif ("HMG box 1 "yang dikenal sebagai" HMGB 1 "dan" HMGB 2 ") di ujung N dan yang memiliki rantai kontinyu bermuatan negatif (aspartik dan asam glutamat) residu di C-terminus. KotakHHG ini memungkinkan HMGB1 untuk mengikat DNA kromosom dan memenuhi fungsi nuklir dalam menstabilkan struktur nukleosom dan mengatur ekspresi mRNA (Nabanita Das et al., 2016).

Menguji ekspresi local HMGB1 membuat hewan rentan terhadap infeksi. Memperkuat peran menguntungkan intraselular HMGB1 dalam kekebalan terhadap infeksi dan luka. Sebagai tanggapan atas infeksi dan cedera, bagaimanapun, HMGB1 disekresikan dari sel kekebalan yang diaktifkan atau dilepaskan secara pasif dari sel yang terluka. Sekresi / pelepasan HMGB1 yang berlebihan memberikan kontribusi negatif terhadap patogenesis infeksi dan penyakit radang yang menimbulkan derita Contohnya, pada model hewan endotoksin atau sepsis (diinduksi oleh ligasi cecal dan tusukan, CLP), HMGB1-menetralkan antibodi meningkatkan kelangsungan hidup dan penyelamatan tikus dari sepsis mematikan bahkan jika diberikan pada 24 jam setelah CLP (Pan et al., 2017).



membentuk HMGB1 sebagai mediator berbagai penyakit telah mendorong pencarian inhibitor yang bisa menurunkan

sekresi HMGB1. Dalam penelitian ini, peneliti akan melihat efek ekstrak sawo manila (*Achras zapota* L) dalam menghambat Sekresi dan aksi HMGB1 dan berharap bisa mengembangkan strategi terapi HMGB1 yang baru untuk pengobatan penyakit demam tifoid.

Sebagai tanggapan atas produk mikroba (misalnya, ds-RNA, CpG-DNA, dan endotoksin) , makrofag / monosit disekresikan HMGB1 ke lingkungan ekstraselular dengan cara yang tertunda. Karena tidak memiliki urutan peptida pemimpin, HMGB1 tidak bisa secara aktif disekresikan melalui retikulum endoplasma klasik- Jalur exocytotic Golgi. Sebagai gantinya, ini pertama kali dikirim vesikel sitoplasma ("translokasi nukleus-ke-sitoplasma") dan kemudian disekresikan ke lingkungan ekstraselular (Zhang et al., 2017).

Transkripsi nukleus-ke-sitoplasma diatur oleh posttranslasional modifikasi (mis., asetilasi atau fosforilasi) dari NLS. Misalnya bakteri endotoksin atau sitokin proinflamasi (mis., IFN) dapat aktifkan jalur sinyal JAK / STAT1 dan asetil residu lisin di dalam situs NLS, yang menyebabkan penyerapan dari HMGB1 menjadi vesikel sitoplasma (Hayashi et al., 2018). Selanjutnya, sitoplasma HMGB1 disekresikan ke dalam ruang ekstraselular sebagian melalui piroptosis yang dimediasi-1-dimediasi, sebuah sel proinflamasi yang diprogram mati dimana makrofag teraktivasi dengan cepat melepaskan sejumlah besar seluler isi (termasuk dan sitokin seperti IL-1 $\beta$ ) secara ekstraselular. Memang,



penghambatan farmakologis genetik gangguan caspase 1 secara merata mengurangi sekresi HMGB1 (Vishwasrao et al., 2016).

Secara khusus, procaspase-1 membentuk heteromer Kompleks protein dengan protein adaptor (disebut apoptosisassociated protein), Reseptor seperti NOD (NLR, misalnya NLRP1, NLRP3, dan NLRC4) (Ge et al., 2014). Hasilnya proteincomplex, disebut "inflammasome", bertanggung jawab untuk membelah procaspase-1 untuk menghasilkan caspase-1, yang memicu inflammasome aktivasi serta pyroptosis. Inflammasom aktivasi menempati peran penting dalam pengaturan Sekresi HMGB1, karena terganggunya gangguan genetic komponen inflammasome (misalnya, caspase 1 atau Nalp3) sepenuhnya blok sekresi LPS / ATP-inducedHMGB1. Baru saja, protein kinase RNA berikatan rangkap ganda (PKR) telah ditetapkan sebagai pengatur utama inflammasome aktivasi dan sekresi HMGB1 (Davies et al., 2018).

Menempatkan tiga residu sistein (C23, C45, dan C106) itu bersifat redoks-sensitif, HMGB1 dapat dimodifikasi menjadi tiga isoform disebut "HMGB1" (bentuk all-thiol), "disulfida HMGB1" (sebagian teroksidasi), dan HMGB1 teroksidasi. HMGB1 "all-thiol" berikatan dengan kemokin lainnya (mis., CXCL12) dan merangsang perekrutan leukosit melalui Reseptor CXCR4. The "disulfida" HMGB1 dapat mengaktifkan sel kekebalan tubuh untuk menghasilkan sitokin / kemokin melalui TLR4 atau reseptor lainnya

RAGE, TLR2, TLR4, TLR9, kelompok diferensiasi 24 (CD24) /



Siglec-10, Mac-1, trombomodulin, atau satu transmembran tunggal protein domain (Mori et al., 2018).

Sekali Teroksidasi penuh, HMGB1 tidak memiliki kemokin atau aktivitas sitokin. Dengan demikian, HMGB1 Bisa berfungsi baik sebagai kemokin untuk merangsang leukosit migrasi atau sebagai sitokin untuk activatemacrophages dan sel endotel menghasilkan lebih banyak sitokin, kemokin, dan molekul adhesi (Lu Yi et al., 2015).

### **1. Peran HMGB1 Dalam Intraseluler**

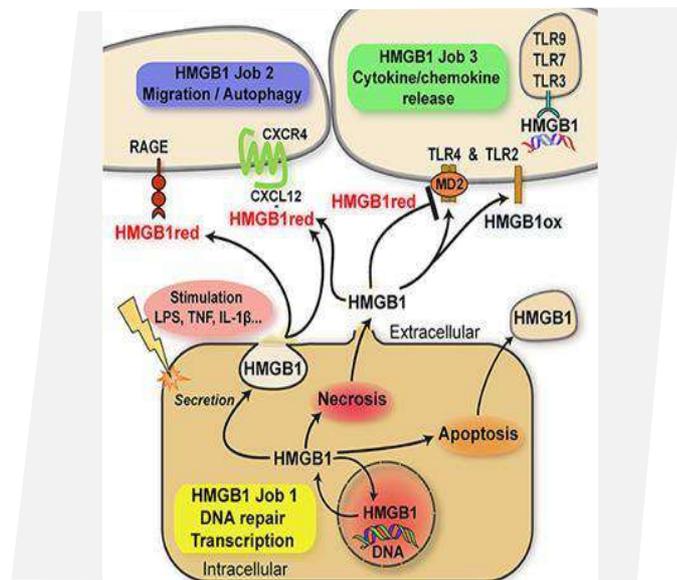
HMGB1 sebenarnya adalah protein kecil memiliki fungsi mengunci nukleosom membuatnya lebih mudah untuk bergerak di dalam sel. HMGB1 merupakan protein nuklir paling mobile kumpulan dari HMGB1 akan dengan mudah menjelajahi inti sel. Setiap nukleosom dari setiap individu akan dikunjungi oleh HMGB1 rata-rata setiap 2 detik, dan protein HMGB1 akan tinggal di sana selama sepersekian detik. Pergerakan ini memastikan bahwa HMGB1 hanya akan 'mengembara' dalam waktu yang wajar, melakukan tugasnya, dan kemudian pergi. Dalam arti tertentu, HMGB1 dapat dianggap sebagai pelumas umum chromatin, atau 'chromatin chaperone' yang tidak menggunakan energi selain gerakan Brown. (Reed et al., 2016).

HMGB1 memiliki karakteristik berupa lipatan berbentuk L, yang dibentuk oleh tiga segmen heliks. HMGB1 akan mengikat DNA (Gambar

ara eksklusif melalui alur minor. HMGB1 menghasilkan perubahan dalam struktur DNA target. Urutan asam amino di daerah heliks



dari HMGB1 yang berbentuk-L akan memberikan spesifisitas dalam pengikatan DNA, sedangkan jenis asam amino interkalasi dan sudut lipatan berbentuk-L akan mempengaruhi tingkat di mana DNA dilepas dan ditekuk. Interaksi antara HMGB1 dan targetnya sangat spesifik dan dipengaruhi oleh mutasi titik tunggal (Nabanita Das et al., 2016).



**Gambar 2.7 Peran HMGB1 intaseluler dan ekstraseluler**

Faktor tambahan yang menentukan spesifisitas pengikatan motif ini adalah sekuens asam amino yang berdekatan dengan HMGB1 dan jumlah domain dalam protein. Kemampuan HMGB1 untuk menginduksi deformasi lokasi DNA spesifik merupakan aspek penting dari fungsi biologisnya. Properti kemampuan HMGB1 untuk mengenali dan mengikat konformasi DNA yang diubah. Semua karakteristik ini memungkinkan

untuk bertindak di dalam sel dan mengikat DNA, mengatur isi dan menentukan arsitektur kromosom (Vishwasrao et al.,



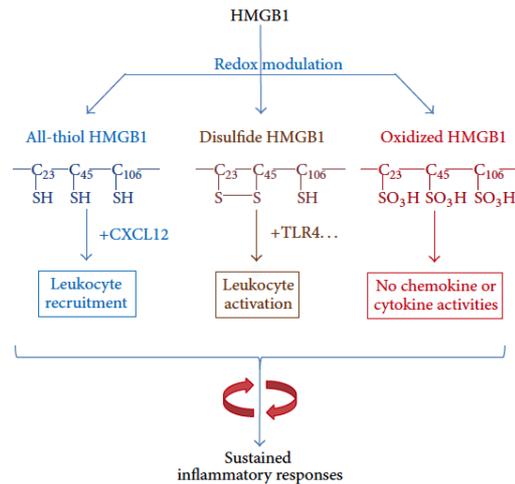
## 2. Peran HMGB1 Dalam Ekstraseluler

Makromolekul nuklir salah satunya HMGB1, dapat berpindah lokasi ke ruang ekstraseluler, di mana mereka dapat mengaktifkan imunitas. HMGB1 bertindak sebagai sitokin kuat dan sinyal apabila terjadi kerusakan jaringan, dan oleh karena itu pelepasan dari HMGB1 harus dikontrol dengan ketat. Dari sudut pandang ini, jelas bahwa sel-sel apoptosis tidak boleh melepaskan HMGB1, karena jika sel-sel apoptosis juga melepaskan HMGB1 maka hal tersebut dapat mengaktifkan respon inflamasi yang sama dari sel-sel nekrotik, dan jika hal tersebut terjadi maka jumlah HMGB1 yang tidak terkendali malah akan memicu peradangan (Davies et al., 2018).

Maka dari itu sel nekrotik sekunder juga tidak menyiarkan HMGB1, sehingga inflamasi dapat terkontrol. Beberapa protein dibelah oleh caspases dalam sel apoptosis, tetapi HMGB1 tidak dibelah, HMGB1 juga tidak mengalami modifikasi posttranslasiional lainnya. Sebaliknya, HMGB1 mengikat erat ke kromatin kondensasi sel apoptosis (Gambar 2.7). Analisis menunjukkan bahwa mobilitas HMGB1 dalam sel apoptosis adalah pada dasarnya adalah nol, HMGB1 tidak dapat berdifusi dari sisa-sisa sel mati. Inti apoptosis mewakili suatu sink untuk HMGB1 ekstraseluler: inkubasi sel-sel apoptosis permeabilisasi dengan HMGB1 rekombinan yang dapat larut menghasilkan pengikatan efisien HMGB1 ke

. Karena HMGB1 tidak diubah secara kimia selama apoptosis, kromatin itu sendiri yang akan dimodifikasi (Pan et al., 2017).





**Gambar 2.9 Peran HMGB1 ekstraseluler (Pan et al., 2017).**

HMGB1 ekstraseluler yaitu sebagai sitokin proinflamasi/kemokin, dimana aktivitas imunologis HMGB1 dimodulasi oleh status redoks dengan cara yang berbeda, sehingga memfasilitasi leukosit untuk teraktifasi dan menghasilkan respon inflamasi berkelanjutan (**Gambar 2.9**). Peran HMGB1 ekstraseluler berfungsi sebagai alarm sinyal untuk mengingatkan, merekrut, dan mengaktifkan sel-sel kekebalan tubuh (Pan et al., 2017).

HMGB1 akan berikatan ke berbagai produk mikroba (misalnya CpG-DNA atau LPS), sehingga memfasilitasi mereka untuk memberikan sinyal inflamasi jika terjadi infeksi atau kerusakan sel. Antibodi spesifik HMGB1 bersifat protektif terhadap iskemia / reperfusi, toksik bahan kimia, aterosklerosis, tukak lambung, dan hyperoxia. Sedangkan mekanisme yang berbeda dimana beberapa terapi herbal secara efektif menghambat aktif Sekresi dari HMGB1 dengan harapan dapat meningkatkan respon inflamasi (Zhang et al., 2017).



#### **D. Mekanisme Hubungan Ekstrak Buah Sawo Manila, HMGB1 dan Infeksi *Salmonella typhi***

Kandungan yang terdapat ekstrak buah sawo manila seperti tanin, flavonoid dan triterpenoid memiliki mekanisme dalam dalam menghambat sekresi dari HMGB1 yang diinduksi oleh endotoksin dari bakteri *Salmonella typhi*. Pada bagian ini kita akan membahas bagaimana hubungan antara komponen zat aktif yang terdapat dalam ekstrak buah sawo manila dengan HMGB1 dan infeksi dari *Salmonella typhi* (Valdesferrer et al., 2012).

Komponen tanin dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak buah sawo manila akan Merangsang autophagy degradasi dari HMGB1 sehingga menyebabkan terhambatnya sekresi HMGB1 setelah adanya stimulasi dari lipopolisakarida dari bakteri *Salmonella typhi*. Dengan mencegah sekresi dari HMGB1 yang diinduksi oleh LPS yang dikeluarkan oleh bakteri *Salmonella typhi* maka secara otomatis akan menghancurkan HMGB1 di sitoplasma melalui proses degradasi seluler dengan mekanisme autophagy (Mori et al., 2018).

Proses tersebut sebagai proses seluler yang yang dilakukan oleh sel untuk mendegradasi makromolekul dari sitoplasma yang rusak. Proses autophagy dimulai dengan pembentukan struktur membran ganda, yang memanjang dan menelan bagian sitoplasma untuk membentuk

gosom. Selanjutnya, autofagosom dengan lisosom membentuk



autophagolysosom degradatif, di mana HMGB1 yang ditelan terdegradasi oleh asam hidrolase lisosom (Mori et al., 2018).

Komponen tannin dan flavonoid dapat berkonjugasi dengan protein baik secara kovalen atau tanpa ikatan melalui ikatan hidrogen, susunan aromatik, atau interaksi hidrofobik. Karena hal tersebut maka HMGB1 tidak dapat melewatinya secara fisik dikarenakan celah yang sempit dan proses ini juga memicu degradasi autophagic. Secara konsisten, pada konsentrasi yang efektif hal tersebut dapat menghambat sekresi HMGB1 dan meningkatkan pembentukan autophagosomes (Mori et al., 2018).

Triterpenoid terbukti secara efektif dapat menghambat induksi dari lipopolisakarida yang dikeluarkan oleh bakteri *Salmonella typhi* dan secara otomatis juga dapat menghambat sekresi dari HMGB1 karena HMGB1 diinduksi oleh lipopolisakarida melalui gap junction. Sekresi dari HMGB1 didukung oleh beberapa jalur yang pertama, ultrapure lipopolisakarida yang dikeluarkan oleh bakteri *Salmonella typhi* jalur ini bebas dari kontaminasi protein bakteri dan asam nukleat yang dapat menghambat sekresi HMGB1. Jalur yang kedua adalah lipopolisakarida dari bakteri *Salmonella typhi* memicu peningkatan regulasi yang secara efektif menginduksi sekresi HMGB1. Lipopolisakarida dapat mengaktivasi dan mengsekresi HMGB1 (Lu Yi et al., 2015).

Komponen yang terdapat dalam ekstrak buah sawo manila yaitu

flavonoid dan triterpenoid mampu mencegah sekresi dari HMGB1 induksi oleh endotoksin yang dikeluarkan oleh bakteri *Salmonella*



typhi. Akan tetapi belum diketahui apakah efek perlindungan ini juga terkait dengan penghambatan pada sitokin lainnya (Lu Yi et al., 2015).

Komponen yang terdapat dalam ekstrak buah sawo manila yaitu tanin, flavonoid dan triterpenoid telah terbukti efektif dalam menghambat sekresi HMGB1 yang diinduksi oleh endotoksin dan diaktifkan melalui mekanisme yang kompleks. Akan tetapi perlu kita ketahui bahwa hubungan yang kompleks antara endositosis, autophagy, dan aktivasi inflammasome, penting untuk menguji apakah perlindungan yang lebih baik dapat dicapai oleh terapi kombinasi dengan beberapa agen anti-HMGB1 (Lu Yi et al., 2015).

#### **E. Tinjauan *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )***

*Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )* adalah salah satu sitokin pleiotropik yang berperan dalam proses inflamasi, menginisiasi polymorphonuclear (PMN) dan mengaktifkannya sehingga PMN dapat mencapai tempat infeksi. *Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )* merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri Gram negatif dan mikroba lainnya (Marusic et al., 2012).

Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. Sumber utama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast. Lipopolisakarida merupakan rangsangan paten terhadap makrofag untuk

produksi TNF- $\alpha$ . IFN- $\gamma$  yang diproduksi sel T dan sel NK juga yang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF- $\alpha$  (Q. Yang



et al., 2013). TNF- $\alpha$  mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrophil dan makrofag (Lee et al., 2015).

TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasit. Hampir semua proses inflamasi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit darah (Xue-ke Zhao et al., 2016). Aktivasi ini menyebabkan banyak perubahan dalam sel, di antaranya ialah produksi TNF, IL-1, dan IL-6, yaitu sitokin-sitokin yang menyebabkan efek multipel pada hospes (Lu et al., 2014).

TNF- $\alpha$  berperan dalam pertahanan pejamu untuk infeksi bakteri, virus dan parasit. TNF- $\alpha$  diproduksi oleh makrofag dan diaktifkan oleh sel T limfosit, antigen, sel NK, dan sel mast. TNF- $\alpha$  biasanya tidak terdeteksi pada individu sehat tapi sering ditemukan dalam kondisi inflamasi dan infeksi dalam serum. TNF- $\alpha$  bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut pada kadar rendah karena TNF- $\alpha$  merupakan pirogen yang kuat. TNF- $\alpha$  berperan pada inflamasi sistemik pada kadar

TNF- $\alpha$  menimbulkan kelainan patologis syok septik pada kadar tinggi, sebab TNF- $\alpha$  bersifat sitotoksik (Lu et al., 2014).



## 1. Peran TNF- $\alpha$ Intraseluler dan Ekstraseluler

Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan mikroba lainnya, selain itu TNF- $\alpha$  juga merupakan proinflamasi yang memberikan peran homeostatik dan patofisiologis dalam terjadinya infeksi bakteri. Dalam kondisi patologis, mikroglia melepaskan TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar (Marusic et al., 2012).

TNF- $\alpha$  adalah komponen penting dari apa yang disebut respons inflamasi yang dikaitkan dengan kondisi infeksi. Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. Sumber utama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast. Lipopolisakarida merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk menyekresi TNF. IFN- $\gamma$  yang diproduksi sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF- $\alpha$ . (Lee et al., 2015).

TNF- $\alpha$  mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel

dan makrofag. TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang



menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasite (Lee et al., 2015).

Hampir semua proses inflamasi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit darah. Aktivasi ini menyebabkan banyak perubahan dalam sel, di antaranya ialah produksi TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6, yaitu sitokin-sitokin yang menyebabkan efek multipel pada hospes. Efek-efek ini meliputi: 1) induksi demam; 2) respon fase akut hepatik yang disertai leukositosis dan produksi protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP); dan 3) diferensiasi atau aktivasi dari sel T, sel B dan makrofag (Lu et al., 2014).

Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) pertama kali disintesis sebagai protein transmembran dimana pembelahan domain ekstraseluler TNF- $\alpha$  diperantarai oleh matrix metalloprotease TNF- $\alpha$  yang mengkonversi enzim (TACE) dan kemudian melepaskan TNF- $\alpha$  terlarut. Hebatnya TNF- $\alpha$  terbukti aktif secara biologis untuk mentransduksi sinyal yang melibatkan dua reseptor permukaan yang berbeda. Karena TNF- $\alpha$  adalah mediator utama dalam mekanisme patologis sejumlah besar gangguan di perifer dan gangguan autoimun menargetkan tindakan TNF- $\alpha$  tampaknya menjadi diseminasi yang menarik dan strategi (Lu et al., 2014).

## **2. Efek biologis TNF- $\alpha$ sebagai berikut (Doll et al., 2016):**

1. Pengerahan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta

mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan mikroba.

Memacu ekspresi molekul adhesi sel-sel endotel vaskuler untuk



leukosit.

3. Merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis serta pengerahan leukosit.
4. Merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1 dengan efek seperti TNF- $\alpha$ .
5. Menginduksi apoptosis sel inflamasi yang sama.
6. Merangsang hipotalamus yang menginduksi panas, sehingga disebut pirogen endogen.
7. Produksi TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar dapat mencegah kontraktilitas myokard dan tonus otot polos vaskuler yang menurunkan tekanan darah atau syok dan sel lemah yang menimbulkan kaheksia (gangguan metabolisme berat seperti gula darah turun sampai dengan kadar yang tidak memungkinkan untuk hidup).
8. Komplikasi sindrom syok sepsis yang ditimbulkan bakteri gram negative atau gram positif yang ditandai dengan kolaps vaskuler. Dengan demikian beberapa fungsi biologis TNF- $\alpha$  terdiri proliferasi seluler dan diferensiasi, tumorigenesis, apoptosis atau kematian sel nekrotik, imunoregulator, metabolisme lipid, koagulasi dan fungsi endotel.

### 3. Molekular Patogenesis TNF- $\alpha$

Setelah menginvasi jaringan mamalia, bakteri mengaktifkan sel-sel imun dan jaringan makrofag. Makrofag yang teraktivasi mensekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )



dan IL-8 yang berperan fagositosis dan meningkatkan respon imun sel T (Olmos et al., 2014).

Dalam darah, bakteri atau produk bakteri menimbulkan peradangan sistemik ditandai dengan aktivasi makrofag dalam sistem retikuloendotelial, leukositosis, pelepasan sitokin dan hipotensi. Beberapa organisme gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan tebal yang menghambat insersi kompleks serangan membran C5b-9 pada membran sel bakteri (Zafar et al., 2016). *Salmonella typhi* dapat menginduksi respon peradangan pada saluran pernapasan melalui aktivasi TNFR. Mekanisme kompleks respon pejamu terhadap invasi oleh mikroba patogen meliputi produksi dan pelepasan proinflamasi dan imunomodulasi sitokin, yang sangat diperlukan pada stimulasi leukosit dan sel-sel lain oleh pathogen (Kinases et al., 2017).

Dengan demikian sintesis sitokin diperlukan untuk pertahanan pejamu melawan infeksi. Namun respon inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan disfungsi organ dan kematian pejamu. Produk bakteri berupa fragmen dinding sel peptidoglikan dan asam lipoteikoat mempunyai karakteristik sebagai imunostimulator, yang dapat menginduksi pelepasan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 dan IL-10 dari kultur monosit makrofag tikus (Ali et al., 2013).

Dalam lingkungan ekstraseluler *Salmonella thypii* harus mengatasi

invasi oleh komplemen dan antibodi yang secara langsung maupun tidak langsung mengarah pada pembunuhan *Salmonella thypii* atau



secara fagositosis. *Salmonella thypii* mempunyai beberapa strategi untuk melawan pembunuhan neutrofil, dengan mengeluarkan Chemotaxis Inhibitory Protein (CHIP), dan Extracellular adherence protein (Eap) serta mengikat molekul adhesi endotel ICAM-1 (Kema et al., 2016). Penghambatan ICAM-1 mencegah adhesi leukosit, diapedesis dan ekstravasasi dari aliran darah ke bagian yang terinfeksi. Setelah tiba di lokasi infeksi, neutrofil melepaskan zat antimikroba, termasuk peptida antimikroba, ROS, RNS, protease dan lisosim (Guo et al., 2014)

Pertahanan terhadap ROS dari *Salmonella thypii* dengan melepaskan sejumlah besar enzim antioksidan ( misalnya katalase, pigmen, superoksida dismutase) yang menetralisasi ROS dan RNS31. Infeksi bakteri yang parah biasanya menyebabkan pejamu meningkatkan respon imunitas spesifik dalam waktu 7 hingga 10 hari untuk membatasi infeksi yang sedang berlangsung dan terjadinya reinfeksi. Respon Imunitas karena infeksi *Salmonella thypi* (Z. Yang et al., 2018).

#### **F. Peran HMGB1 dan TNF- $\alpha$ Dalam Infeksi *Salmonella typhi***

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit. Pada kasus infeksi bakteri *Salmonella typhi*, misalnya, TNF- $\alpha$  diproduksi berlebihan dan memainkan peran penting. Dalam sel endotel yang distimulasi oleh TNF- $\alpha$ , molekul merekrut sel-sel inflamasi yang selanjutnya mempercepat siklus proses inflamasi. Toll-like receptor 4

adalah protein transmembran yang memainkan peran kunci dalam respon imun (Vishwasrao et al., 2016).



Situs pengikatan ligan dalam domain ekstraseluler dari TLR4 berinteraksi dengan patogen terkait pola molekul (PAMP) pada spesies mikroba seperti lipopolysaccharides (LPS), yang mengaktifkan TLR4 yang mengarah ke kaskade sinyal intraseluler transduksi untuk bertahan melawan patogen yang menyerang . Selain mengikat ke PAMP, TLR4 juga dapat berinteraksi dengan molekul endogen yang dilepaskan dari jaringan yang rusak (terkait kerusakan molekul pola molekul; DAMPs), dan menginduksi banyak proses inflamasi steril yang dikenal dengan nama HMGB1 (Vishwasrao et al., 2016).

*High Motility Group Box 1* (HMGB1) adalah salah satu DAMP yang mengaktifkan TLR4. Meskipun jalur sinyal TNF- $\alpha$  telah dipelajari secara luas, tidak jelas apakah TLR4 terlibat dalam transduksi sinyal TNF- $\alpha$ . Baru-baru ini, kami menemukan bahwa TLR4 memainkan peran penting dalam transduksi sinyal glukosa tinggi sel epitel tubulus ginjal, di mana TLR4 berada diaktifkan oleh HMGB1. Proses ini diprovokasi oleh ROS yang dihasilkan segera setelah stimulasi glukosa tinggi. Karena TNF- $\alpha$  juga merangsang generasi ROS dan mentransmisikan sinyal melalui ROS seperti yang disebutkan di atas, ada kemungkinan bahwa HMGB1 diaktifkan TLR4 merupakan bagian dari jalur pensinyalan TNF- $\alpha$ . Berdasarkan informasi diatas, dapat disimpulkan bahwa rilis HMGB1 dan aktivasi TLR4 selanjutnya bisa menjadi jembatan antara ROS dan

ya menstimulasi TNF- $\alpha$ . Peran HMGB1 dalam aktivasi TLR4 stimulasi TNF- $\alpha$  (Vishwasrao et al., 2016).



HMGB1 akan dikeluarkan oleh sel yang rusak yang banyak disekresikan oleh makrofag yang memberikan penanda jika terjadinya infeksi entah bakteri ataupun virus. Dalam penelitian ini, kami mengeksplorasi kemungkinan peran TLR4 dalam transduksi sinyal TNF- $\alpha$ . Data menunjukkan bahwa jalur HMGB1-TLR4 terlibat dalam transduksi sinyal TNF- $\alpha$  sebagai berikut; setelah stimulasi dengan TNF- $\alpha$ , ROS segera dihasilkan dan menginduksi pelepasan HMGB1 ekstraseluler yang pada gilirannya mengikat TLR4 dan mengaktifkannya, yang mengarah ke aktivasi MyD88, molekul adaptor. Sejauh ini, jalur sinyal TNF- $\alpha$  telah dipelajari secara luas, tetapi tidak diketahui apakah TLR4 berpartisipasi dalam transduksi sinyal TNF- $\alpha$ . Ketika TLR4 diaktifkan oleh interaksi dengan LPS, MyD88, molekul adaptor TLR4, merekrut IRAK-1 untuk mengaktifkan sinyal hilir molekul (Vishwasrao et al., 2016).

Demikian juga, TNF- $\alpha$ , dalam penelitian ini, dengan cepat meningkatkan pengikatan IRAK-1 ke MyD88 dan dengan demikian ke TLR4. Setelah stimulasi TNF- $\alpha$  dan memainkan peran penting dalam transduksi sinyal. Aktivasi TLR4 dimulai dengan mengikat ligan ke reseptor. Pada saat ini Studi, HMGB1 adalah ligan yang mengaktifkan TLR4 setelah stimulasi TNF- $\alpha$ . Selain mengikat PAMP seperti LPS yang dikeluarkan oleh bakteri *Salmonella typhi* (Davies et al., 2018).

HMGB1 adalah salah satu DAMP yang dapat mengaktifkan TLR4 .

a, ia hadir dalam nukleus dan memiliki fungsi penting dengan t DNA dan membengkokkannya untuk memungkinkan pengikatan



transkripsi faktor. Menanggapi sitokin proinflamasi serta infeksi dari bakteri *Salmonella typhi*. HMGB1 dapat dilepaskan secara ekstraseluler dan berperan sebagai sinyal bahaya yang mengaktifkan kekebalan bawaan respon (Zhang et al., 2017).

TNF- $\alpha$  adalah salah satu rangsangan untuk sekresi HMGB1. HMGB1 dalam budaya media, yang diukur dengan ELISA atau Western blot analysis, terbukti meningkat setelahnya Stimulasi TNF- $\alpha$ . Namun, peningkatan HMGB1 dalam media kultur sel adalah signifikan setidaknya beberapa jam setelah stimulasi, dan peran HMGB1 dalam TNF- $\alpha$  transduksi sinyal belum ditangani. Sebaliknya, penelitian ini menunjukkan bahwa ada adalah pelepasan HMGB1 ekstraseluler segera setelah stimulasi TNF- $\alpha$  (Zhang et al., 2017).

HMGB1 adalah *coimmunoprecipitated* dengan TLR4, dan jumlah HMGB1 yang terikat ke TLR4 meningkat tak lama setelah terpapar dengan TNF- $\alpha$ . Di sisi lain, glycyrrhizin, antibodi penawar HMGB1 dan penipisan HMGB1 oleh infeksi RNA semua menghambat aktivasi yang diinduksi TNF- $\alpha$  (Zhang et al., 2017).

### **G. TINJAUAN SALMONELLA TYPHI**

*Salmonella typhi* merupakan bakteri penyebab salmonellosis yang merupakan salah satu penyakit edemis dan menimbulkan kerugian yang serius terutama di Negara berkembang termasuk Indonesia. Bakteri

lla ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi atau tinja dari seorang penderita tifoid (Ramachandran et al.,



2016). Bakteri masuk melalui mulut bersama makanan dan minuman, kemudian berlanjut ke saluran pencernaan. Jika bakteri yang masuk dengan jumlah yang banyak maka bakteri akan masuk ke dalam usus halus selanjutnya masuk ke dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan bakteremia, demam tifoid, dan komplikasi organ lain (Xinxin et al., 2017).

Salmonella merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang bergerak yang khas memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Salmonella menghasilkan H<sub>2</sub>S (Wilson et al., 2014). Isolat salmonella pada media SSA pada suhu 37°C maka koloni akan tampak cembung, transparan, bercak hitam dibagian pusat. Bakteri salmonella akan mati pada suhu 60°C selama 15 – 20 menit melalui pasteurisasi, pendidihan dan klorinasi (Sharma et al., 2017).

## 1. Epidemiologi

Salmonella typhi merupakan flora normal dalam usus dimana infeksi terjadi akibat kontaminasi makanan dan minuman yang mengakibatkan bakteri masuk ke dalam tubuh. Sebagian besar penderita tifoid merupakan sebagai agen pembawa (carrier) yang terletak pada kandung empedu, saluran empedu, dan sebagian pada usus atau saluran kemih. Di Indonesia, tifoid tidak dijumpai secara endemis namun sering

pada kota-kota besar (Park et al., 2017).

kejadian kasus penyakit pada pria dan wanita tidak terdapat



perbedaan namun angka kejadian tertinggi ditemukan pada usia remaja. Data yang ditemukan pada rumah sakit menunjukkan peningkatan jumlah penderita tiap tahunnya sekitar 500/100000 penduduk dimana angka kematian yaitu 0,6 - 5 %. Terjadinya kematian tersebut akibat terlambatnya penanganan, pengobatan dan tingginya biaya pengobatan (Verbrugghe et al., 2012).

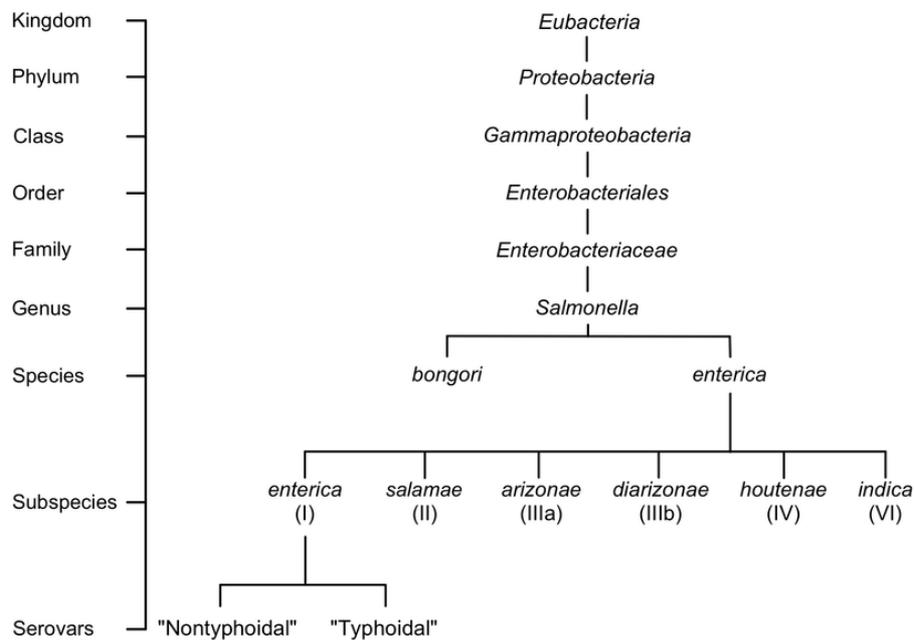
## 2. Klasifikasi *Salmonella* Thypi

Klasifikasi *Salmonella* bersifat kompleks karena organisme ini merupakan suatu rangkaian yang berkesinambungan, dan bukan satu spesies umum. Anggota genus *Salmonella* awalnya diklasifikasikan berdasarkan epidemiologi, pejamu, reaksi biokimia dan struktur antigen O,H dan Vi (Garai et al., 2012). Penelitian hibridasi DNA telah menunjukkan adanya tujuh kelompok evolusioner. Saat ini, genus *salmonella* dibagi menjadi dua spesies yang masing-masing terbagi atas banyak subspecies dan serotype. Kedua spesies tersebut adalah *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori* (dahulu disebut subspecies V). *Salmonella enterica* terdiri dari lima subspecies. Subsies enterica (subsies I); subsies salamae (subsies II); subsies arizonae (subsies IIIa); subsies diarizonae (subsies IIIb); subsies houtenae (subsies IV) dan subsies indica (subsies VI) (**Gambar 2.10**) (Maskey et al., 2012).



menurut nomenklatur yang baru, *Salmonella* dibedakan menurut keterkaitan DNA-nya, sehingga sekarang hanya terdapat dua

spesies *Salmonella* yaitu *Salmonella bongori* dan *Salmobella enterica*. Nama semula *S. Typhi* menjadi *S. enterica serovar Typhi* yang disingkat *S. Typhi*. *Salmonella* yang menyerang manusia disebut sebagai strain dalam subspecies I atau *S. enterica*.



**Gambar 2.10** Klasifikasi *Salmonella typhi*

Sebagian besar penyakit pada manusia disebabkan oleh galur subspecies I. Seseekali infeksi pada manusia dapat disebabkan oleh subspecies IIIa dan IIIb atau subspecies lain yang biasanya ditemukan pada hewan berdarah-dingin, misalnya reptil (**Gambar 2.10**). Nomenklatur klasifikasi yang mungkin akan diterima secara luas adalah sebagai berikut

*enterica* subspecies *enterica* serotype *Thyphimurium*, yang dapat disingkat menjadi *Salmonella* *Thyphimurium* dengan nama genus yang



dituliskan dalam bentuk miring dan nama serotipe dituliskan dalam bentuk regular (McClelland et al., 2015).

Terdapat lebih dari 2.500 serotipe salmonella, meliputi lebih dari 1.400 serotipe dalam grup I hibridisasi DNA yang dapat menginfeksi manusia. Empat serotype salmonella yang dapat menyebabkan demam enteric dapat diidentifikasi di laboratorium klinis melalui pemeriksaan serologis dan biokimia. Serotipe tersebut harus secara rutin diidentifikasi karena kepentingan klinisnya. Keempat serotype tersebut adalah *Salmonella* Paratyphi A (serogrup A), *Salmonella* Paratyphi B (serogrup B), *Salmonella* Choleraesuis (serogrup C1) dan *Salmonella* Typhi (serogrup D). Lebih dari 1.400 salmonella lain yang diisolasi di laboratorium klinis dikelompokkan ke dalam serogrup berdasarkan antigen O yang dimilikinya menjadi serogrup A,B,C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>,D dan E (Frech et al., 2015).

### 1. Morfologi *Salmonella Typhi*

Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif batang, tidak membentuk spora, motil, berkapsul dan berflagella (bergerak dengan rambut getar) (Kintz et al., 2017). Bakteri ini dapat hidup pada pH 6-8 pada suhu 15-41C (suhu optimal 37 C ). Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan 54,4 C selama satu jam dan suhu 60C selama 15 – 20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan khlorinisasi (Mutai et al., 2018). Terjadinya

in *Salmonella typhi* pada manusia yaitu secara jalur fekal-oral.



Sebagian besar akibat kontaminasi makanan atau minuman yang tercemar (H. J. Kim et al., 2016).

## 2. Anatomi Bakteri

Bakteri tersusun atas dinding sel dan isi sel. Disebelah luar dinding sel terdapat selubung atau kapsul. Di dalam sel bakteri tidak terdapat membrane dalam (endomembran) dan organel bermembran seperti kloroplas dan mitkondria. Struktur tubuh bakteri dari lapisan luar hingga bagian dalam sel yaitu flagela, dinding sel, membrane sel, mesosom, lembaran fotosintetik, sitoplasma, DNA, plasmid, ribosom, dan endospore (Nasstrom et al., 2014).

### 1. Flagela

Flagela terdapat salah satu ujung, pada kedua ujung atau pada permukaan sel. Fungsinya untuk bergerak. Berdasar letak dan jumlahnya, tipe flagella dapat dibedakan menjadi montrik, amfitrik, lofotrik, dan peritrik. Flagela terbuat dari protein yang disebut flagelin. Flagella berbetuk seperti pembuka sumbat botol. Fungsinya adalah untuk bergerak. Flagella berputar seperti baling-baling untuk menggerakkan bakteri (Nasstrom et al., 2014).

### 2. Dinding sel

Dinding sel tersusun atas peptidoglikan yakni polisakarida yang berikatan dengan protein. Dengan adanya dinding sel ini, tubuh bakteri

bentuk yang tetap. Fungsi dinding sel adalah untuk melindungi  
dasarakan struktur protein dan polisakarida yang terkandung di



dalam dinding sel ini, bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif. Pada bakteri gram negatif, peptidoglikan terletak di antara membran plasma dan membran luar dan jumlahnya lebih sedikit. Umumnya bakteri gram negatif lebih patogen (Nasstrom et al., 2014).

Bakteri gram-negatif dinding sel gram negatif mengandung 10-20 % peptidoglikan, diluar lapisan peptidoglikan ada struktur membran yang tersusun dari protein fosfolipida dan lipopolisakarida. Apabila diberi pewarna gram menghasilkan warna merah (Nasstrom et al., 2014) .

Di sebelah luar dinding sel terdapat kapsul. Tidak semua sel bakteri memiliki kapsul. Hanya bakteri patogen yang berkapsul. Kapsul berfungsi untuk mempertahankan diri dari antibodi yang dihasilkan selinang. Kapsul juga berfungsi untuk melindungi sel dari kekeringan. Kapsul bakteri tersusun atas persenyawaan antara protein dan glikogen yaitu glikoprotein (Kaur et al., 2018).

Dinding sel *S. typhi* dibentuk 20% nya oleh lapisan lipoprotein. Sementara itu lapisan fosfolipid dan LPS membentuk 80% dinding sel kuman *S. typhi*. Lipopolisakarida yang terdiri dari lipid A, oligosakarida, dan polisakarida yang merupakan bagian terpenting dan utama yang menentukan sifat antigenik dan aktivitas eksotoksin. Lipid A merupakan asam lemak jenuh yang menentukan aktivitas endotoksin dari LPS yang selanjutnya dapat mengakibatkan demam dan reaksi imunologis sang

(Kaur et al., 2018).

*Outer Membran Protein (OMP)* ialah dinding sel terluar membran



sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang berfungsi sebagai sawar untuk mengendalikan aktivitas masuknya cairan ke dalam membran sitoplasma serta berfungsi sebagai reseptor bakteriofag dan bakteriolisin (Larossa et al., 2019).

Antigen OMP merupakan bagian dinding sel yang terletak di luar membrane sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. OMP ini terdiri dari 2 bagian yaitu bagian protein porin dan protein non porin. Porin merupakan komponen utama OMP, terdiri atas ompC, ompD dan ompF dan merupakan saluran hidrofilik yang berfungsi untuk difusi solute dengan BM < 6.000. Sifat resisten terhadap proteolysis dan denaturasi pada suhu 85-1000C. Protein non porin terdiri atas protein ompA, protein A dan lipoprotein, bersifat sensitive terhadap protease, tetapi fungsinya masih belum diketahui dengan jelas (Nasstrom et al., 2014).

### 3. Membrane sel

Membrane sel tersusun atas molekul lemak dan protein, seperti halnya membran sel organisme yang lain. Membrane sel bersifat semipermeable dan berfungsi mengatur keluar masuknya zat keluar atau ke dalam sel (Sabbagh et al., 2019).

### 4. Mesosom

Pada tempat tertentu terjadi penonjolan membran sel ke arah atau ke sitoplasma. Tonjolan membrane ini berguna untuk menyimpan energi atau pabrik energi bakteri. Organ sel (organel) ini



disebut mesosom. Selain itu mesosom berfungsi juga sebagai pusat pembentukan dinding sel baru diantara kedua sel anak pada proses pembelahan (Sabbagh et al., 2019).

#### 5. Lembar fotosintetik

Khusus pada bakteri berfotosintesis, terdapat pelipatan membrane sel kearah sitoplasma. Membrn yang berlipat-lipat tersebut berisi klorofil,dikenal sebagai lembar fotosintetik (tilakoid). Lembar fotosintetik berfungsi untuk fotosintesis contohnya pada bakteri ungu. Bakteri lain yang tidak berfotosintesis tidak memiliki lipatan demikian (Sabbagh et al., 2019).

#### 6. Sitoplasma

Sitoplasma adalah cairan yang berada di dalam sel (cytos = sel, plasma= cairan). Sitoplasma tersusun atas koloid yang mengandung berbagai molekul organik seperti karbohidrat, lemak, protein, mineral, ribosom, DNA, dan enzim-enzim. Sitoplasma merupakan tempat berlangsungnya reaksi-reaksi metabolisme (Kintz et al., 2017).

#### 7. DNA

Asam deoksiribonukleat (deoxyribonucleic acid, disingkat DNA) atau asam inti, merupakan materi genetic bakteri yang terdapat di dalam sitoplasma. Bentuk DNA bakteri seperti kalung yang tidak berujung pangkal. Bentuk demikian dikenal sebagai DNA sirkuler. DNA tersusun

atas utas polinukleotida berpilin. DNA merupakan zat pengontrol protein bakteri, dan merupakan zat pembawa sifat atau gen. DNA



ini dikenal pula sebagai kromosom bakteri. DNA bakteri tidak tersebar di dalam sitoplasma, melainkan terdapat pada daerah tertentu yang disebut daerah inti. Materi genetik inilah yang dikenal sebagai inti bakteri (Kintz et al., 2017).

#### 8. Plasmid

Selain memiliki DNA kromosom, bakteri juga memiliki DNA nonkromosom. DNA nonkromosom bentuknya juga sirkuler dan terletak di luar DNA kromosom. DNA nonkromosom sirkuler ini dikenal sebagai plasmid. Ukuran plasmid sekitar 1/1000 kali DNA kromosom. Plasmid mengandung gen-gen tertentu misalnya gen kebal antibiotik, gen patogen. Seperti halnya DNA yang lain, plasmid mampu melakukan replikasi dan membentuk kopi dirinya dalam jumlah banyak. Dalam sel bakteri dapat terbentuk 10-20 plasmid (Maskey et al., 2012).

#### 9. Ribosom

Ribosom merupakan organel yang berfungsi dalam sintesis protein atau sebagai pabrik protein. Bentuknya berupa butir-butir kecil dan tidak diselubungi membran. Ribosom tersusun atas protein dan RNA. Di dalam sel bakteri terkandung 15.000 ribosom, atau kira-kira  $\frac{1}{4}$  masa sel bakteri tersebut. Ini menunjukkan bahwa ribosom memiliki fungsi yang penting bagi bakteri (Maskey et al., 2012).

#### 10. Endospora

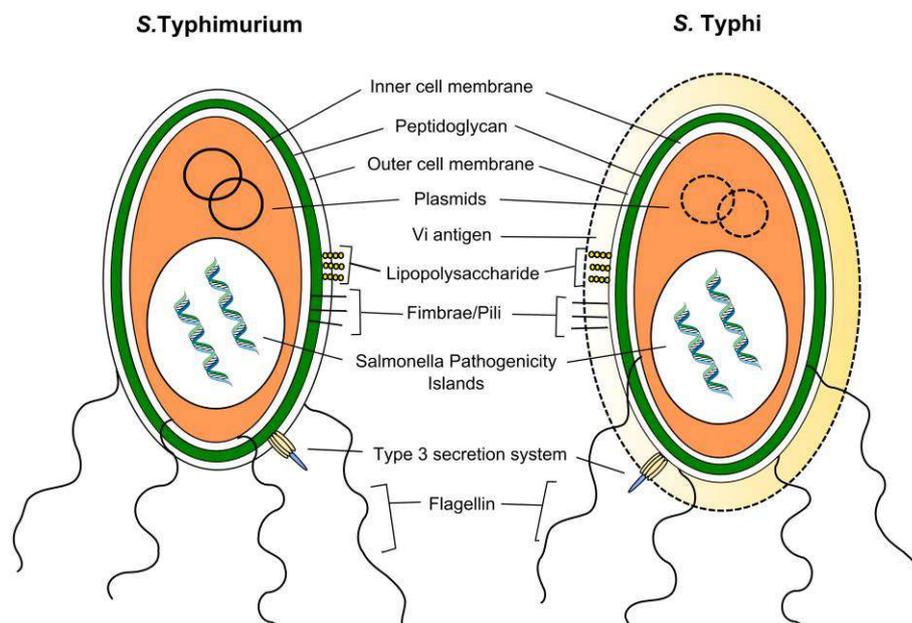
Bakteri ada yang dapat membentuk endospora, pembentukan endospora merupakan cara bakteri mengatasi kondisi lingkungan yang



tidak menguntungkan. Endospora tahan terhadap panas sehingga tidak mati oleh proses memasak biasa. Spora mati di atas suhu 120 C. jika kondisi telah membaik, endospora dapat tumbuh menjadi bakteri seperti sedia kala (Garai et al., 2012).

### 11. Reproduksi bakteri

Bakteri bereproduksi secara vegetatif dengan membelah diri secara biner. Pada lingkungan yang baik bakteri dapat membelah diri tiap 20 menit. Pembuahan seksual tidak dijumpai pada bakteri, tetapi terjadi pemindahan materi genetik dari satu bakteri ke bakteri lain tanpa menghasilkan zigot. Peristiwa ini disebut proses paraseksual. Ada tiga proses paraseksual yang telah diketahui, yaitu transformasi, konjugasi, dan transduksi (Garai et al., 2012).



**Gambar 2.11** *Salmonella typhi* secara skematik



### 3. Sifat Biokimia *Salmonella* sp

*Salmonella* sp. bersifat aerob dan anaerob fakultatif, pertumbuhan *Salmonella typhi*. pada suhu 37°C dan pada pH 6-8. *Salmonella typhi* memiliki flagel jadi pada uji motilitas hasilnya positif (**Gambar 2.11**), Pada media BAP (*Blood Agar Plate*) menyebabkan hemolisis. Pada media MC (*Mac Conkay*) tidak memfermentasi laktosa atau disebut *Non Laktosa Fermenter* (NLF) tapi *Salmonella typhi* (Verbrugghe et al., 2012). memfermentasi glukosa, manitol dan maltosa disertai pembentukan asam dan gas kecuali *Salmonella typhi* yang tidak menghasilkan gas. Kemudian pada media indol negatif, MR positif, Vp negatif dan sitrat kemungkinan positif. Tidak menghidrolisiskan urea dan menghasilkan H<sub>2</sub>S (Ramachandran et al., 2016).

### 4. Struktur Antigen *Salmonella typhi*

Struktur antigen *S. typhi* terdiri dari 3 macam antigen, yaitu (Xinxin et al., 2017) :

1. Antigen O (Antigenik somatik) merupakan bagian terpenting dalam menentukan virulensi kuman. Bagian ini mempunyai struktur kimia lipopolisakarida disebut endotoksin dan terletak pada lapisan luar dari tubuh kuman. Antigen ini bersifat hidofilik, tahan terhadap pemanasan suhu 100°C selama 2-5 jam dan tahan alkohol 96 % dan etanol 96% selama 4 jam pada suhu 37°C tetapi tidak tahan terhadap formaldehid.

yang dibentuk adalah IgM. Namun antigen O kurang imunogenik  
aglutinasi berlangsung lambat. Maka kurang bagus untuk



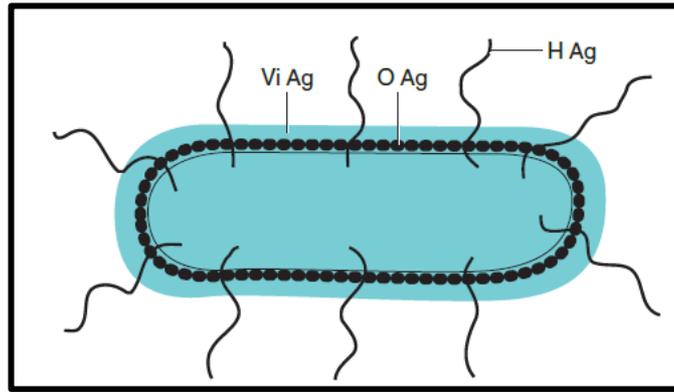
pemeriksaan serologi karena terdapat 67 faktor antigen, tiap-tiap spesies memiliki beberapa faktor. Oleh karena itu titer antibodi O sesudah infeksi lebih rendah dari pada antibodi H (**Gambar 2.12**).

2. Antigen H (Antigen flagella) yang terletak pada flagella dan fimbria (pili) dari kuman. Flagel ini terdiri dari badan basal yang melekat pada sitoplasma dinding sel kuman, struktur kimia ini berupa protein yang tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan terhadap panas dan alkohol pada suhu 60 °C, selain itu flagel juga terdiri dari *the hook* dan filamen yang terdiri dari komponen protein polimerase yang disebut flagelin dengan BM 51-57 kDa yang dipakai dalam pemeriksaan asam nukleat kuman *S. typhi*. Antigen H pada *Salmonella* sp. dibagi dalam 2 fase yaitu fase I : spesifik dan fase II : non spesifik. Antigen H sangat imunogenik dan antibodi yang dibentuk adalah IgG (**Gambar 2.12**).

3. Antigen Vi (permukaan) yang terletak pada kapsul (*envelope*) dari kuman yang dapat melindungi kuman terhadap fagositosis. Struktur kimia proteinnya dapat digunakan untuk mendeteksi adanya karier dan akan rusak jika diberi pemanasan selama 1 jam pada suhu 60 °C dan pada pemberian asam serta fenol. Antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat asam. Kuman yang mempunyai antigen Vi bersifat virulens pada hewan dan mausia. Antigen Vi juga menentukan kepekaan terhadap *bakteriofaga* dan dalam laboratorium sangat berguna untuk diagnosis

kuman *S.* Adanya antigen Vi menunjukkan individu yang kuman merupakan pembawa kuman (*carrier*) (**Gambar 2.12**).





**Gambar 2.12** Antigen bakteri *S. typhi*

Ketiga komponen antigen tersebut di atas di dalam tubuh penderita akan menimbulkan pembentukan 3 macam antibodi yang lazim disebut agglutinin. *Salmonella* diklasifikasikan berdasarkan Kauffman dan White berdasarkan struktur antigen somatik nya dan antigen flagellanya (Gilchrist et al., 2017).

**Tabel 2.2** Klasifikasi *Salmonella* menurut Kauffman-White

Grup	<i>Salmonella Serotype</i>	O Antigens	H antigens	
			Phase 1	Phase
A	S. Paratyphi A	1, 2, 12	A	-
B	S. Paratyphi B	1, 4, (5), 12	B	1, 2
	S. Stanley	1, 4, (5), 12, 27	D	1, 2
	S. Typhimurium	1, 4, (5), 12	I	1, 2
C1	S. Paratyphi C	6, 7, (Vi)	C	1, 5
	S. Choleraesuis	6, 7	C	1, 5
C2	S. Manhattan	6, 8	D	1, 5
D	S. Sendai	1, 9, 12	A	1, 5
E1	S. Typhi	9, 12, Vi	d	-
	S. Dublin	1, 9, 12, (Vi)	g. p	-
	S. Anatum	3, 10	e. h	1, 6

## 7. Sifat Kuman *S. typhi*

Bakteri ini dapat hidup pada pH 6-8 pada suhu 15-41<sup>0</sup>C (suhu optimal 37 <sup>0</sup>C ). Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan 54,4<sup>0</sup>C selama satu jam dan suhu 60<sup>0</sup>C selama 15 – 20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan sterilisasi. Terjadinya penularan *S. typhi* pada manusia yaitu secara fekal-oral. Sebagian besar akibat kontaminasi makanan atau minuman yang tercemar (Gilchrist et al., 2017)



Dinding sel *S. typhi* dibentuk 20% nya oleh lapisan lipoprotein. Sementara itu lapisan fosfolipid dan LPS membentuk 80% dinding sel kuman *S. typhi*. Lipopolisakarida yang terdiri dari lipid A, oligosakarida, dan polisakarida yang merupakan bagian terpenting dan utama yang menentukan sifat antigenik dan aktivitas eksotoksin. Lipid A merupakan asam lemak jenuh yang menentukan aktivitas endotoksin dari LPS yang selanjutnya dapat mengakibatkan demam dan reaksi imunologis yang pejamu (Kaur et al., 2018).

*Outer Membran Protein* (OMP) ialah dinding sel terluar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang berfungsi sebagai sawar untuk mengendalikan aktivitas masuknya cairan ke dalam membran sitoplasma serta berfungsi sebagai reseptor bakteriofag dan bakteriolisin (Khan, 2014).

## 8. Mekanisme Respon Imunitas terhadap *Salmonella thypii*

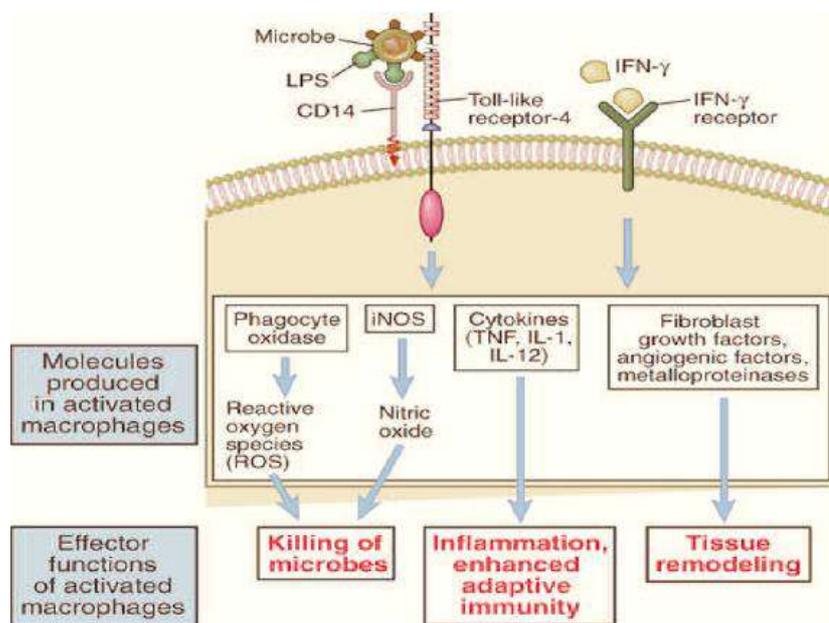
Respon imunitas yang terjadi akibat adanya invasi bakteri *Salmonella thypii* sebagai antigen ketika masuk kedalam tubuh akan dieliminasi oleh neutrophil dan makrofag sebagai perannya dalam system imun innate. Makrofag juga dapat berperan sebagai antigen presenting cells (APC). Bakteri akan difagositosis dalam makrofag kemudian dikenali oleh major histocompatibility complex II (MHC II) selanjutnya akan dipresentasikan dalam bentuk antigen peptida. MHC II kemudian akan

berinteraksi dengan limfosit T. Limfosit T mempunyai beberapa molekul permukaan sel atau cluster of differentiation (CD). Antigen peptida yang telah



dipresentasikan oleh MHC II akan berikatan dengan limfosit T helper (CD4) pada bagian T Cell Receptor (TCR). Mekanisme utama dari respon imunitas seluler bakteri *Salmonella thypii* adalah menginvasi secara local dan mengakibatkan toksisitas di usus (Kim et al., 2019).

Pertahanan umum dari pejamu adalah dengan cara opsonisasi oleh immunoglobulin Dan dibunuh oleh fagosit. Makrofag merupakan sumber utama sitokin inflamasi yang Bertanggung jawab terhadap terjadinya infeksi gram negatif seperti *Salmonella thypii* mampu menghasilkan respon sitokin sistemik (Kim et al., 2019).



**Gambar 2.13** mekanisme respon imunitas bakteri intraseluler

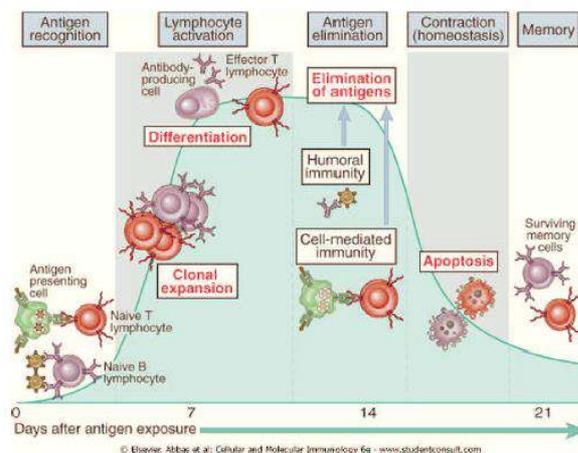
Sel dendritik dan fagosit yang diaktifkan oleh mikroba mensekresi sitokin yang menyebabkan infiltrasi leukosit ke lokasi infeksi sehingga menelan dan menghancurkan bakteri. Pada tahap awal infeksi sitokin berperan sebagai salah satu komponen bakteri *Salmonella thypii*



menyebabkan keluarnya sitokin seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 sebagai mediator utama syok septik. IFN- $\gamma$  dan IL-12 juga dapat berkontribusi dalam perkembangan infeksi (**Gambar 2.13**) (Abbas et al., 2014).

Stimulasi makrofag oleh IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Interleukin, LPS dan peptidoglikan akan memacu transkripsi gen yang menyebabkan peningkatan kadar NOS dan Nitric OxydeSynthase (NOS). Jika NOS meningkat maka sekresi NO juga meningkat. Respon imunitas nonspesifik untuk bakteri intraseluler terutama terdiri dari fagositosis dan sel NK. Bakteri intraseluler mengaktifkan sel-sel NK Dengan merangsang produksi makrofag dari IL-12 (Abbas et al., 2014).

Sel NK menghasilkan IFN- $\gamma$  yang Juga mengaktifkan makrofag dan memicu fagositosis bakteri. Respon imunitas nonspesifik ini dapat membatasi pertumbuhan bakteri sampai dengan hari ketujuh, Untuk mengatasi infeksi membutuhkan respon imunitas yang Diperantarai respon imunitas spesifik setelah hari ketujuh (**Gambar 2.14**) (Abbas et al., 2014).



**Gambar 2.14** respon imunitas spesifik setelah terpapar antigen



Senyawa flavonoid yang terdapat dalam Sawo manila (*Achras zapota* L) ini dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit, yang mempengaruhi sel CD4+ kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi IFN- $\gamma$  mengaktifkan makrofag, sehingga mengalami peningkatan metabolik, motilitas, dan aktivitas fagositosis secara cepat dan efisien dalam membunuh mikroba patogen (Macleod et al., 2015).

Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung dengan mendonorkan ion hydrogen sehingga ion radikal bebas berubah menjadi stabil. Keadaan ion yang telah stabil menyebabkan menurunnya keadaan stress oksidatif di dalam jaringan. Mekanisme penurunan stress oksidatif dalam jaringan merupakan mekanisme anti inflamasi dari senyawa flavonoid. Keadaan ini direspon oleh system imun dengan menurunkan transduksi sinyal Toll Like Receptor (TLR), sehingga dapat menurunkan stimulus sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  (Amlan et al., 2013).

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri Gram-negatif dan mikroba lainnya. Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. TNF disebut TNF- $\alpha$  atas dasar historis dan untuk membedakannya dari TNF- $\beta$  atau limfotoksin sumberutama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan

sel NK, dan sel mast. Lipopolisakarida merupakan rang-sangan terhadap makrofag untuk menyekresi TNF. IFN- $\gamma$  yang diproduksi



sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF (Marusic et al., 2012).

TNF mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrofil dan makrofag. TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasite (Alia et al., 2014).

Hampir semua proses inflamasi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit darah. Aktivasi ini menyebabkan banyak perubahan dalam sel, di antaranya ialah produksi TNF, IL-1, dan IL-6, yaitu sitokin-sitokin yang meyebab-kan efek multipel pada hospes. Efek-efek ini meliputi: 1) induksi demam; 2) respon fase akut hepatik yang disertai lekositosis dan produksi protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP); dan 3) diferensiasi atau aktivasi dari sel T, sel B dan makrofag (Guo et al., 2014).

## H. TINJAUAN DEMAM TIFOID

Demam tifoid akut merupakan penyakit infeksi akut bersifat sistemik

ebabkan oleh mikroorganisme *Salmonella enterica* serotipe *typhi* enal dengan *Salmonella typhi*. Penyakit ini masih sering dijumpai



di negara berkembang yang terletak di subtropis dan daerah tropis seperti Indonesia (Sidabutar et al., 2010).

Penyakit demam tifoid (typhoid fever) yang biasa disebut tifus merupakan penyakit menyerang bagian saluran pencernaan. Selama terjadi infeksi, kuman tersebut bermultiplikasi dalam sel fagositik mononuklear dan secara berkelanjutan dilepaskan ke aliran darah . Demam tifoid termasuk penyakit menular yang tercantum dalam Undang-undang nomor 6 Tahun 1962 tentang wabah (Sidabutar et al., 2010). Kelompok penyakit menular ini merupakan penyakit yang mudah menular dan dapat menyerang banyak orang sehingga dapat menimbulkan wabah. Demam tifoid dikenal juga dengan sebutan typhus abdominalis, typhoid fever, atau enteric fever. Istilah tifoid ini berasal dari bahasa Yunani yaitu typhos yang berarti kabut, karena umumnya penderita sering disertai gangguan kesadaran dari yang ringan sampai yang berat (Paul et al., 2017).

### **1. Epidemiologi Demam Tifoid**

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi yang dijumpai di seluruh dunia, secara luas di daerah tropis dan subtropis terutama di daerah dengan kualitas sumber air yang tidak memadai dengan standar higienis dan sanitasi yang rendah yang mana di Indonesia dijumpai dalam keadaan endemis (Crump et al., 2015).

Prevalensi rate penyakit demam tifoid di daerah endemis berkisar 5 per 100.000 penduduk per tahun sampai 1.000 per 100.000



penduduk per tahun. Tahun 2003 insidens rate demam tifoid di Bangladesh 2.000 per 100.000 penduduk per tahun. Insidens rate demam tifoid di negara Eropa 3 per 100.000 penduduk, di Afrika yaitu 50 per 100.000 penduduk, dan di Asia 274 per 100.000 penduduk. Indisens rate di Indonesia masih tinggi yaitu 358 per 100.000 penduduk pedesaan dan 810 per 100.000 penduduk perkotaan per tahun dengan rata-rata kasus per tahun 600.000 – 1.500.000 penderita. Angka kematian demam tifoid di Indonesia masih tinggi dengan CFR sebesar 10%. Tingginya insidens rate penyakit demam tifoid di negara berkembang sangat erat kaitannya dengan status ekonomi serta keadaan sanitasi lingkungan di negara yang bersangkutan (Crump et al., 2015).

## 2. Patogenesis Demam Tifoid

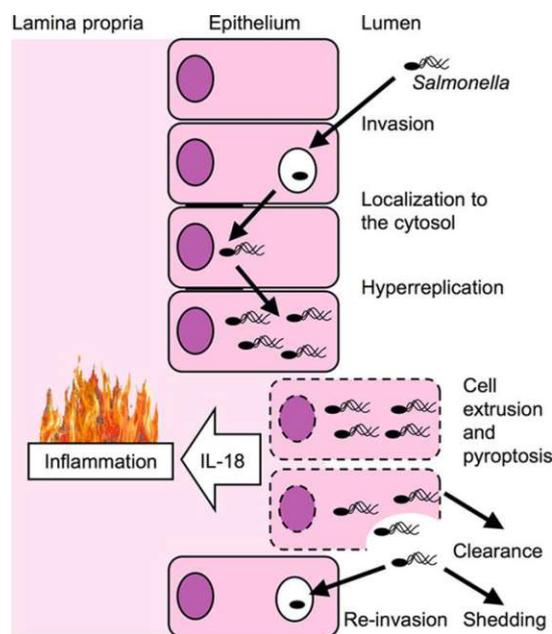
Perjalanan penyakit *Salmonella typhi* melalui beberapa proses, diawali dengan masuknya kuman melalui makanan dan minuman yang tercemar melalui jalur oral-fekal. Yang kemudian tubuh akan melakukan mekanisme pertahanan melalui beberapa proses respon imun baik lokal maupun sistemik, spesifik dan non-spesifik serta humoral dan seluler (Wain et al., 2014).

*Salmonella typhi* yang masuk ke saluran cerna tidak selalu akan menyebabkan infeksi, karena untuk menimbulkan infeksi *Salmonella typhi* harus dapat mencapai usus halus. Keasaman lambung ( $\text{PH} \leq 3,5$ )

salah satu faktor penting yang menghalangi *Salmonella typhi* mencapai usus halus. Namun sebagian besar kuman *Salmonella typhi*



dapat bertahan karena memiliki gen *ATR* (*acid tolerance response*). *Achlorhydria* akibat penuaan, gastrektomi, pompa proton inhibitor, pengobatan histamin antagonis reseptor H2, atau pemberian antacid dapat menurunkan dosis infeksi yang mempermudah kuman untuk lolos menuju usus halus (**Gambar 2.15**) (Kajiwara et al., 2018).



**Gambar 2.15** Infeksi Salmonella di epitel usus

Setelah masuk ke saluran cerna dan mencapai usus halus, *Salmonella typhi* akan menemui dua mekanisme non spesifik yaitu motilitas dan flora normal usus berupa bakteri-bakteri anaerob (Kajiwara et al., 2018). Motilitas usus bersifat fisik berupa kekuatan peristaltik usus untuk menghanyutkan kuman keluar. Di usus halus kuman akan menembus

usus diperantarai *microbial binding* terhadap epitel dan memicu *Microfold cells* (*M cells*) sehingga sel-sel epitel menjadi deskuamasi, menembus epitel mukosa usus, masuk dalam



lamina propria, menetap dan berkembang biak. Kuman akan berkembang biak dalam sel mononuklear sebelum menyebar ke dalam aliran darah (**Gambar 2.16**) (Paul et al., 2017).

Di dalam sel fagosit mononuklear, kuman masuk menginfeksi *Peyer's patches*, yaitu jaringan limfoid yang terdapat di ileum terminal dan bermultiplikasi, kemudian kuman menembus kelenjar limfoid intestinal dan duktus torasikus masuk ke dalam aliran darah sistemik. Setelah 24-72 jam terjadi bakteriemia primer namun jumlah kuman belum terlalu banyak maka gejala klinis belum tampak (Thanh et al., 2016). Bakteriemia primer berakhir setelah kuman masuk ke dalam organ *retikuloendotelial system* (RES) di hati limpa, kelenjar getah bening mesenterium dan kelenjar limfoid intestinal untuk berkembang biak. Di organ ini kuman menjalani masa inkubasi selama 10-14 hari, dalam organ RES kuman berkembang pesat dan kembali masuk ke peredaran darah dan menimbulkan bakteriemia sekunder. Pada saat terjadi bakteriemia sekunder, dapat ditemukan gejala-gejala klinis dari demam tifoid (Kajiwara et al., 2018).

Pada dinding sel *Salmonella typhi* terdapat pirogen LPS (endotoksin) dan sedikit peptidoglikan. Endotoksin merupakan pirogen eksogen yang sangat poten untuk merangsang respons imun makrofag dan sel lain untuk menginduksi sekresi sitokin. Sebagai reseptor, Komponen CD14 akan berikatan dengan LPS. Ikatan tersebut kemudian berikatan pula

kelompok molekul *Toll-like receptors* (TLR). Aktivasi yang terjadi  
menstimulasi produksi sitokin dan aktivasi reseptor sitokin : reseptor



sitokin tipe I (untuk IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15) ; reseptor sitokin tipe II (untuk IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-10); reseptor TNF (untuk TNF, CD4OL, Fas); reseptor superfamili immunoglobulin (IL-1, M-CSF). (Thanh et al., 2016) Laju infeksi demam tifoid sangat ditentukan oleh aktivitas aktivasi reseptor tersebut. Berbagai sitokin tersebut mengikuti sirkulasi sistemik, menginduksi produksi prostaglandin, memengaruhi stabilitas pusat termoregulasi berefek terhadap pengaturan suhu tubuh dan menyebabkan demam (Lo et al., 2018).

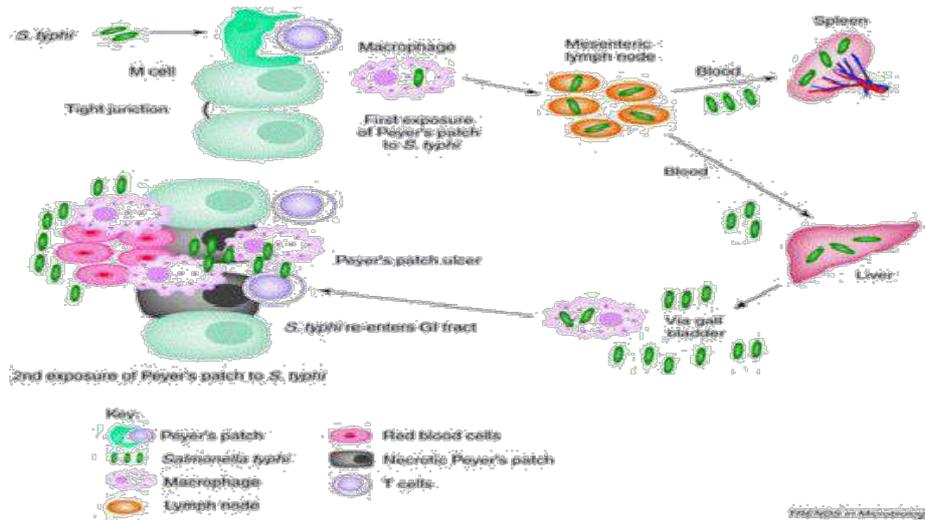
Sitokin tersebut pula yang menimbulkan dampak pada pusat nafsu makan menyebabkan nafsu makan menurun, memengaruhi ambang nyeri, sehingga timbul nyeri pada kepala, sendi, otot-otot, dan nyeri pada daerah saluran cerna. Sitokin memengaruhi perubahan pada *plaque peyeri*, inflamasi pada mukosa saluran cerna, menyebabkan motilitas saluran cerna terganggu, sehingga muncul keluhan mual, muntah, diare, nyeri abdomen, perdarahan, perforasi, sedangkan konstipasi terjadi pada tahap lanjut. Kondisi patologis akibat infeksi merangsang hiperaktivitas RES dan menimbulkan pembengkakan hati dan limpa (Upadhyay et al., 2015).

Pentingnya imunitas dalam penegakan diagnosis ditunjukkan dari kenaikan titer antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi*. Peran imunitas seluler yaitu dalam penyembuhan penyakit (Warren et al., 2017). Pada

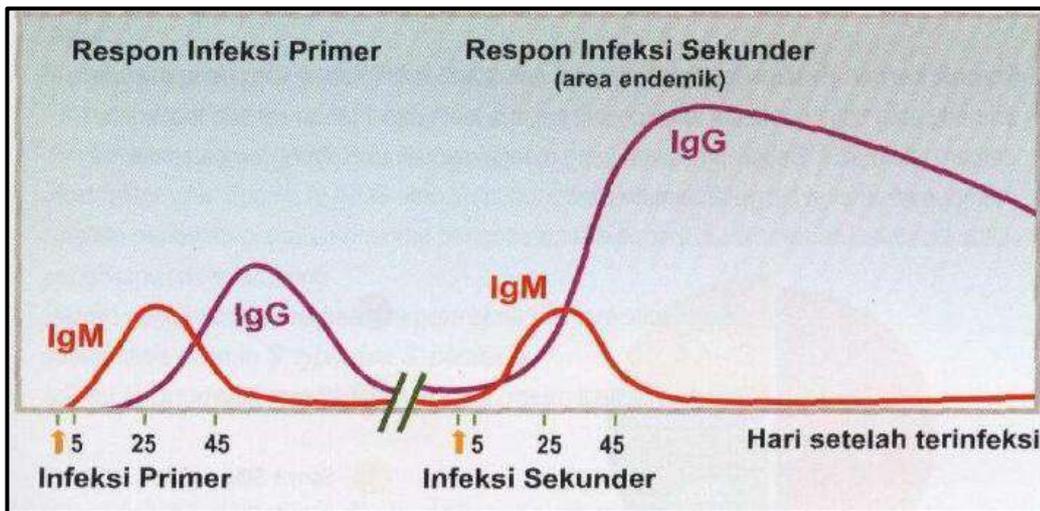
primer, respon humoral melalui sel limfosit B akan berdiferensiasi sel plasma yang akan merangsang terbentuknya immunoglobulin



(lg). Pada infeksi akut, yang pertama terbentuk antibodi O (IgM) yang muncul pada hari ke 3-4 demam, kemudian disusul antibodi pada infeksi kronik yaitu antibodi flagela H (IgG) (**Gambar 2.17**) (Warren et al., 2017).



**Gambar 2.16.** Patofisiologi demam tifoid



**Gambar 2.17** Respon imun terhadap bakteri

### 3. Gejala Klinis Demam Tifoid

Gejala klinis demam tifoid seringkali tidak khas dan sangat bervariasi yang sesuai dengan patogenesis demam tifoid. Spektrum klinis demam tifoid tidak khas dan sangat lebar, dari asimtomatik atau yang



ringan berupa panas disertai diare yang mudah disembuhkan sampai dengan bentuk klinis yang berat baik berupa gejala sistemik panas tinggi, gejala septik yang lain, ensefalopati atau timbul komplikasi gastrointestinal berupa perforasi usus atau perdarahan (Mogasale et al., 2016).

Hal ini mempersulit penegakan diagnosis berdasarkan gambaran klinisnya saja. Gejala klinis demam tifoid pada anak biasanya lebih ringan jika dibanding dengan penderita dewasa. Masa inkubasi rata-rata 10 – 20 hari (Gauld et al., 2018). Setelah masa inkubasi maka ditemukan gejala prodromal, yaitu perasaan tidak enak badan, lesu, nyeri kepala, pusing dan tidak bersemangat. Gejala-gejala klinis yang timbul sangat bervariasi dari ringan sampai dengan berat, dari asimtomatik hingga gambaran penyakit yang khas disertai komplikasi hingga kematian (Wijedoru et al., 2017).

Demam merupakan keluhan dan gejala klinis terpenting yang timbul pada semua penderita demam tifoid. Demam dapat muncul secara tiba-tiba, dalam 1-2 hari menjadi parah dengan gejala yang menyerupai septikemia oleh karena *Streptococcus* atau *Pneumococcus* daripada *Salmonella typhi* (Choudhary et al., 2017). Gejala menggigil tidak biasa didapatkan pada demam tifoid tetapi pada penderita yang hidup di daerah endemis malaria, menggigil lebih mungkin disebabkan oleh malaria.

Demam tifoid dan malaria dapat timbul secara bersamaan pada satu

a. Sakit kepala hebat yang menyertai demam tinggi dapat  
papai gejala meningitis, di sisi lain *Salmonella typhi* juga dapat



menembus sawar darah otak dan menyebabkan meningitis (Kaljee et al., 2013).

Manifestasi gejala mental kadang mendominasi gambaran klinis, yaitu konfusi, stupor, psikotik atau koma. Nyeri perut kadang tak dapat dibedakan dengan apendisitis. Penderita pada tahap lanjut dapat muncul gambaran peritonitis akibat perforasi usus. Gejala klinis yang biasa ditemukan, yaitu (Wain et al., 2014):

#### 1. Demam

Pada kasus-kasus yang khas, demam berlangsung 3 minggu. Bersifat febris remiten dan suhu tidak berapa tinggi. Selama minggu pertama, suhu tubuh berangsur-angsur meningkat setiap hari, biasanya menurun pada pagi hari dan meningkat lagi pada sore dan malam hari. Dalam minggu kedua, penderita terus berada dalam keadaan demam. Dalam minggu ketiga suhu tubuh berangsur-angsur turun dan normal kembali pada akhir minggu ketiga.

#### 2. Gangguan pada saluran pencernaan

Pada mulut terdapat nafas berbau tidak sedap. Bibir kering dan pecah-pecah (ragaden). Lidah ditutupi selaput putih kotor (coated tongue), ujung dan tepinya kemerahan, jarang disertai tremor. Pada abdomen mungkin ditemukan keadaan perut kembung (meteorismus). Hati dan limpa membesar disertai nyeri pada perabaan. Biasanya didapatkan konstipasi,

api mungkin pula normal bahkan dapat terjadi diare.



### 3. Gangguan kesadaran

Umumnya kesadaran penderita menurun walaupun tidak berapa dalam, yaitu apatis sampai somnolen. Jarang terjadi sopor, koma atau gelisah.

## 4. Komplikasi Demam Tifoid

Komplikasi demam tifoid dapat dibagi atas dua bagian, yaitu (Kajiwara et al., 2018) :

### 1. Komplikasi Intestinal

#### a. Perdarahan Usus

Sekitar 25% penderita demam tifoid dapat mengalami perdarahan minor yang tidak membutuhkan tranfusi darah. Perdarahan hebat dapat terjadi hingga penderita mengalami syok. Secara klinis perdarahan akut darurat bedah ditegakkan bila terdapat perdarahan sebanyak 5 ml/kgBB/jam.

#### b. Perforasi Usus

Terjadi pada sekitar 3% dari penderita yang dirawat. Biasanya timbul pada minggu ketiga namun dapat pula terjadi pada minggu pertama. Penderita demam tifoid dengan perforasi mengeluh nyeri perut yang hebat terutama di daerah kuadran kanan bawah yang kemudian meyebar ke seluruh perut. Tanda perforasi lainnya adalah nadi cepat, tekanan darah turun dan bahkan sampai syok.



## 2. Komplikasi Ekstraintestinal

1. Komplikasi kardiovaskuler: kegagalan sirkulasi perifer (syok, sepsis), miokarditis, trombosis dan tromboflebitis.
2. Komplikasi darah: anemia hemolitik, trombositopenia, koagulasi intravaskuler diseminata, dan sindrom uremia hemolitik.
3. Komplikasi paru: pneumoni, empiema, dan pleuritis.
4. Komplikasi hepar dan kandung kemih: hepatitis dan kolelitiasis.
5. Komplikasi ginjal: glomerulonefritis, pielonefritis, dan perinefritis.
6. Komplikasi tulang: osteomielitis, periostitis, spondilitis, dan artritis.
7. Komplikasi neuropsikiatrik: delirium, meningismus, meningitis, polineuritis perifer, psikosis, dan sindrom katatonia.

## 5. Pemeriksaan Penunjang Diagnosis Demam Tifoid

Penegakan diagnosis demam tifoid didasarkan pada manifestasi klinis yang diperkuat oleh pemeriksaan laboratorium penunjang. Penelitian yang menggunakan berbagai metode diagnostik untuk mendapatkan metode terbaik dalam usaha penatalaksanaan penderita demam tifoid secara menyeluruh masih terus dilakukan hingga saat ini (Upadhyay et al., 2015).

Diagnosis definitif demam tifoid tergantung pada isolasi *Salmonella typhi* dari darah, sumsum tulang atau lesi anatomi tertentu. Adanya gejala klinis dari karakteristik demam tifoid atau deteksi dari respon antibodi

adalah sugestif demam tifoid tetapi tidak definitive (Crump et al., Kultur darah adalah *gold standard* dari penyakit ini. Dalam



pemeriksaan laboratorium diagnostik, dimana patogen lainnya dicurigai, kultur darah dapat digunakan. Lebih dari 80% pasien dengan demam tifoid terdapat *Salmonella typhi* di dalam darahnya. Kegagalan untuk mengisolasi organisme dapat disebabkan oleh beberapa faktor (Upadhyay et al., 2015):

1. Keterbatasan media laboratorium
2. Penggunaan antibiotik
3. Volume spesimen, atau
4. Waktu pengumpulan, pasien dengan riwayat demam selama 7 sampai 10 hari menjadi lebih mungkin dibandingkan dengan pasien yang memiliki kultur darah positif .

Aspirasi sum-sum tulang adalah standar emas untuk diagnosis demam tifoid dan sangat berguna bagi pasien yang sebelumnya telah diobati, yang memiliki sejarah panjang penyakit dan pemeriksaan kultur darah yang negatif (Wijedoru et al., 2017). Aspirasi duodenum juga telah terbukti sangat memuaskan sebagai tes diagnostik namun belum diterima secara luas karena toleransi yang kurang baik pada aspirasi duodenum, terutama pada anak-anak. Pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dibagi dalam empat kelompok, yaitu:

#### **a. Pemeriksaan Darah Tepi**

Penderita demam tifoid bisa didapatkan anemia, jumlah leukosit

bisa menurun atau meningkat, mungkin didapatkan  
topenia dan hitung jenis biasanya normal atau sedikit bergeser ke



kiri, mungkin didapatkan aneosinofilia dan limfositosis relatif, terutama pada fase lanjut (Choudhary et al., 2017).

Penelitian oleh beberapa ilmuwan mendapatkan bahwa hitung jumlah dan jenis leukosit serta laju endap darah tidak mempunyai nilai sensitivitas, spesifisitas dan nilai ramal yang cukup tinggi untuk dipakai dalam membedakan antara penderita demam tifoid atau bukan, akan tetapi adanya leukopenia dan limfositosis relatif menjadi dugaan kuat diagnosis demam tifoid (Choudhary et al., 2017).

#### **b. Pemeriksaan bakteriologis dengan isolasi dan biakan kuman**

Diagnosis pasti demam tifoid dapat ditegakkan bila ditemukan bakteri *Salmonella typhi* dalam biakan dari darah, urine, feses, sumsum tulang, cairan duodenum. Berkaitan dengan patogenesis penyakit, maka bakteri akan lebih mudah ditemukan dalam darah dan sumsum tulang pada awal penyakit, sedangkan pada stadium berikutnya di dalam urin dan feses (Choudhary et al., 2017).

Kultur organisme penyebab merupakan prosedur yang paling efektif dalam menduga demam enterik, dimana kultur untuk demam tifoid dapat menjelaskan dua pertiga dari kasus septikemia yang diperoleh dari komunitas yang dirawat di rumah sakit (Paul et al., 2017). Kultur darah adalah prosedur untuk mendeteksi infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri atau jamur. Tujuannya adalah mencari etiologi bakteremi dan

dengan cara kultur secara aerob dan anerob, identifikasi bakteri sensitivitas antibiotik yang diisolasi. Hal ini dimaksudkan untuk



membantu klinisi dalam pemberian terapi antibiotik yang terarah dan rasional (Keddy et al., 2018).

Media pembiakan yang direkomendasikan untuk *Salmonella typhi* adalah media empedu (gall) dari sapi dimana dikatakan media Gall ini dapat meningkatkan positività hasil karena hanya *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* yang dapat tumbuh pada media tersebut. Masing-masing koloni terpilih diamati morfologinya, meliputi: warna koloni, bentuk, diameter 1-2 mm, tepi, elevasi, sifat yaitu berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasikan laktosa, atau kemampuannya untuk menghemolisa sel darah merah. Hasil yang menunjukkan ditemukannya bakteri dalam darah dengan cara kultur disebut bakteremi, dan merupakan penyakit yang mengancam jiwa, maka pendeteksiannya dengan segera sangat penting (Warren et al., 2017).

Indikasi kultur darah adalah jika dicurigai terjadi bakteremi atau septikemi dilihat dari gejala klinik, mungkin akan timbul gejala seperti : demam, mual, muntah, menggigil, denyut jantung cepat (*tachycardia*), pusing, hipotensi, syok, leukositosis, serta perubahan lain dalam sistem organ dan atau laboratoris (Wain et al., 2014). Biakan darah terhadap *Salmonella* juga tergantung dari saat pengambilan pada perjalanan penyakit. Beberapa peneliti melaporkan biakan darah positif 40-80% atau 70-90% dari penderita pada minggu pertama sakit dan positif 10-50%

akhir minggu ketiga (Keddy et al., 2018). Sensitivitasnya akan pada sampel penderita yang telah mendapatkan antibiotika dan



meningkat sesuai dengan volume darah dan rasio darah dengan media kultur yang dipakai. Pada keadaan tertentu dapat dilakukan kultur pada spesimen empedu yang diambil dari duodenum dan memberikan hasil yang cukup baik, akan tetapi tidak digunakan secara luas karena adanya resiko aspirasi terutama pada anak (Keddy et al., 2016).

Salah satu penelitian pada anak menunjukkan bahwa sensitivitas kombinasi kultur darah dan duodenum hampir sama dengan kultur sumsum tulang. Hasil biakan yang positif memastikan demam tifoid akan tetapi hasil negatif tidak menyingkirkan demam tifoid, karena hasilnya tergantung pada beberapa faktor (Warren et al., 2017). Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil biakan meliputi jumlah darah yang diambil, perbandingan volume darah dari media empedu dan waktu pengambilan darah (Thanh et al., 2016).

Bakteri dalam feses ditemukan meningkat dari minggu pertama (10-15%) hingga minggu ketiga (75%) dan turun secara perlahan. Biakan urine positif setelah minggu pertama. Biakan sumsum tulang merupakan metode baku emas karena mempunyai sensitivitas paling tinggi dengan hasil positif didapat pada 80-95% kasus dan sering tetap positif selama perjalanan penyakit dan menghilang pada fase penyembuhan. Metode ini terutama bermanfaat untuk penderita yang sudah pernah mendapatkan terapi atau dengan kultur darah negatif sebelumnya. Prosedur terakhir ini

invasif sehingga tidak dipakai dalam praktek sehari-hari (Kaljee et al., 2016).



Pemeriksaan pada keadaan tertentu dapat dilakukan kultur pada spesimen empedu yang diambil dari duodenum dan memberikan hasil yang cukup baik akan tetapi tidak digunakan secara luas karena adanya risiko aspirasi pada anak (Mogasale et al., 2016). Salah satu penelitian pada anak menunjukkan bahwa sensitivitas kombinasi kultur darah dan duodenum hampir sama dengan kultur sumsum tulang. Volume 5-10 ml dianjurkan untuk orang dewasa, sedangkan pada anak-anak dibutuhkan 2-4 ml, sedangkan volume sumsum tulang yang dibutuhkan untuk kultur hanya sekitar 0.5-1 ml. Bakteri dalam sumsum tulang juga lebih sedikit dipengaruhi oleh antibiotika daripada bakteri dalam darah (Paul et al., 2017).

Hal ini dapat menjelaskan teori bahwa kultur sumsum tulang lebih tinggi hasil positifnya bila dibandingkan dengan darah walaupun dengan volume sampel yang lebih sedikit dan sudah mendapatkan terapi antibiotika sebelumnya (Choudhary et al., 2017). Spesifisitasnya walaupun tinggi, pemeriksaan kultur mempunyai sensitivitas yang rendah dan adanya kendala berupa lamanya waktu yang dibutuhkan (5-7 hari) serta peralatan yang lebih canggih untuk identifikasi bakteri sehingga tidak praktis dan tidak tepat untuk dipakai sebagai metode diagnosis baku dalam pelayanan penderita (Nuruzzaman et al., 2016).



### c. Uji Serologis

#### a. Uji Widal

Uji Widal merupakan suatu metode serologi baku dan rutin digunakan sejak tahun 1896. Prinsip uji Widal adalah memeriksa reaksi antara antibodi aglutinin dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagela (H) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi (Crump et al., 2015). Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum. Semakin tinggi titernya, semakin besar kemungkinan infeksi ini. Uji Widal ini dilakukan untuk deteksi antibodi terhadap kuman *Salmonella typhi*. Pada uji ini terjadi suatu reaksi aglutinasi antara antigen kuman *Salmonella typhi* dengan antibodi yang disebut aglutinin. Antigen yang digunakan pada uji Widal adalah suspensi *Salmonella* yang sudah dimatikan dan diolah di laboratorium. Maksud uji Widal adalah menentukan adanya aglutinin dalam serum penderita tersangka demam tifoid (Wain et al., 2014).

Tes aglutinasi Widal dapat dilakukan dengan menggunakan uji hapusan (*slide test*) dan uji tabung (*tube test*). Uji hapusan dapat dilakukan dengan cepat dan digunakan dalam prosedur penapisan. Uji hapusan dilakukan dengan menggunakan antigen *Salmonella typhi* komersial yang tersedia, setetes suspensi antigen ditambahkan pada serum pasien yang diduga terinfeksi *Salmonella typhi*. Hasil



penapisan positif membutuhkan determinasi kekuatan dari antibody (Thanh et al., 2016).

Di Indonesia pengambilan titer O aglutinin  $\geq 1/40$  dengan memakai *slide test* (prosedur pemeriksaan membutuhkan waktu 15 menit) menunjukkan nilai ramal positif 96%. Campuran suspensi antigen dan antibodi diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C di dalam air. Tes ini dapat digunakan untuk konfirmasi hasil dari uji hapusan. Penelitian pada anak oleh Choo et al (1990) mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas masing-masing sebesar 89% pada titer O atau H diatas 1/40 dengan nilai prediksi positif sebesar 34.2% dan nilai prediksi negatif sebesar 99.2% (Nuruzzaman et al., 2016).

Beberapa penelitian pada kasus demam tifoid anak dengan hasil biakan positif, ternyata hanya didapatkan sensitivitas uji Widal sebesar 64-74% dan spesifisitas sebesar 76-83%. Interpretasi dari uji Widal ini harus memperhatikan beberapa faktor antara lain sensitivitas, spesifisitas, stadium penyakit; faktor penderita seperti status imunitas dan status gizi yang dapat mempengaruhi pembentukan antibodi; gambaran imunologis dari masyarakat setempat (daerah endemis atau non-endemis); faktor antigen; teknik serta reagen yang digunakan (Choudhary et al., 2017).

Kelemahan uji Widal yaitu rendahnya sensitivitas dan spesifisitas serta sulitnya melakukan interpretasi hasil membatasi penggunaannya

penatalaksanaan penderita demam tifoid akan tetapi hasil uji Widal positif akan memperkuat dugaan pada tersangka penderita demam



tifoid (penanda infeksi) (Wijedoru et al., 2017). Uji Widal saat ini walaupun telah digunakan secara luas di seluruh dunia, namun manfaatnya masih diperdebatkan dan sulit dijadikan pegangan karena belum ada kesepakatan akan nilai standar aglutinasi (*cut-off point*). Upaya untuk mencari standar titer uji Widal seharusnya ditentukan titer dasar (*baseline titer*) pada orang sehat di populasi dimana pada daerah endemis seperti Indonesia akan didapatkan peningkatan titer antibodi O dan H pada orang-orang sehat. Kelemahan lain adalah banyak terjadi hasil negatif palsu dan positif palsu pada tes ini. Hasil negatif palsu tes Widal terjadi jika darah diambil terlalu dini dari fase tifoid (Thanh et al., 2016).

Pemberian antibiotik merupakan salah satu penyebab penting terjadinya negatif palsu. Penyebab hasil negatif lainnya adalah tidak adanya infeksi *Salmonella typhi*, status karier, inokulum antigen bakteri pejamu yang tidak cukup untuk melawan antibodi, kesalahan atau kesulitan dalam melakukan tes dan variabilitas antigen (Kajiwara et al., 2018). Hasil positif palsu dapat terjadi apabila sudah pernah melakukan tes demam tifoid sebelumnya, sudah pernah imunisasi antigen *Salmonella* sp., ada reaksi silang sebelumnya dengan antigen selain *Salmonella* sp., variabilitas dan kurangnya standar pemeriksaan antigen, infeksi malaria atau bakteri enterobacteriaceae lainnya, serta penyakit lain seperti dengue (Vinod et al., 2017).



## b. Uji Tubex

Uji Tubex merupakan uji semi-kuantitatif kolometrik yang cepat (beberapa menit) dan mudah untuk dikerjakan. Uji ini mendeteksi antibodi *anti-Salmonella typhi* O9 pada serum pasien, dengan cara menghambat ikatan antara IgM anti-O9 yang terkonjugasi pada partikel latex yang berwarna dengan lipopolisakarida *Salmonella typhi* yang terkonjugasi pada partikel magnetik latex. Hasil positif uji Tubex ini menunjukkan terdapat infeksi *Salmonellae serogroup D* walau tidak secara spesifik menunjuk pada *Salmonella typhi*. Infeksi oleh *Salmonella paratyphi* akan memberikan hasil negatif (Garai et al., 2012).

Secara imunologi, antigen O9 bersifat imunodominan sehingga dapat merangsang respon imun secara independen terhadap timus dan merangsang mitosis sel B tanpa bantuan dari sel T. Karena sifat-sifat tersebut, respon terhadap antigen O9 berlangsung cepat sehingga deteksi terhadap anti-O9 dapat dilakukan lebih dini, yaitu pada hari ke 4-5 untuk infeksi primer dan hari ke 2-3 untuk infeksi sekunder. Perlu diketahui bahwa uji Tubex hanya dapat mendeteksi IgM dan tidak dapat mendeteksi IgG sehingga tidak dapat dipergunakan sebagai modalitas untuk mendeteksi infeksi lampau (McClelland et al., 2015).

Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan 3 macam komponen, meliputi: 1) tabung berbentuk V, yang juga berfungsi untuk

meningkatkan sensitivitas, 2) Reagen A, yang mengandung partikel latex yang diselubungi dengan antigen *S.typhi* O9, 3) Reagen B, yang



mengandung partikel lateks berwarna biru yang diselubungi dengan antibodi monoklonal spesifik untuk antigen O9. Untuk melakukan prosedur pemeriksaan ini, satu tetes serum (25  $\mu$ L) dicampurkan ke dalam tabung dengan satu tetes (25  $\mu$ L) reagen A. Setelah itu dua tetes reagen B (50  $\mu$ L) ditambahkan ke dalam tabung. Hal tersebut dilakukan pada kelima tabung lainnya. Tabung-tabung tersebut kemudian diletakkan pada rak tabung yang mengandung magnet dan diputar selama 2 menit dengan kecepatan 250 rpm (Kintz et al., 2017).

Interpretasi hasil dilakukan berdasarkan warna larutan campuran yang dapat bervariasi dari kemerahan hingga kebiruan. Berdasarkan warna inilah ditentukan skor, yang interpretasinya dapat dilihat pada tabel berikut. Jika serum tidak mengandung antibodi terhadap O9, reagen B ini bereaksi dengan reagen A. Ketika diletakkan pada daerah mengandung medan magnet (magnet rak), komponen magnet yang dikandung reagen A akan tertarik pada magnet rak, dengan membawa serta pewarna yang dikandung oleh reagen B (H. J. Kim et al., 2016).

Sampel darah pasien dengan diagnosis klinis demam tifoid untuk membandingkan spesifisitas, sensitivitas, *positive predictive value* (PPV) dan *negative predictive value* uji Tubex dengan uji Widal. Pada penelitian tersebut, didapatkan sensitivitas uji Tubex sebesar 100% (Widal: 53,1%), spesifisitas 90% (Widal: 65%), PPV 94,11% (Widal: 70,8%), NPV 100% (6,4%) (Sabbagh et al., 2019).



### c. Uji Typhidot

Uji typhidot dapat mendeteksi antibodi IgM dan IgG yang terdapat pada protein membran luar *Salmonella typhi*. Hasil positif pada uji typhidot didapatkan 2-3 hari setelah infeksi dan dapat mengidentifikasi secara spesifik antibodi IgM dan IgG terhadap antigen *S.typhi* seberat 50 kD, yang terdapat pada strip nitroselulosa. Pada penelitian Gopalakhrisnan dkk 2002, didapatkan sensitivitas uji ini sebesar 98%, spesifisitas sebesar 76,6% dan efisiensi uji sebesar 84%. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Olsen dkk, didapatkan sensitifitas dan spesifisitas uji ini hampir sama dengan uji Tubex yaitu 79% dan 89% dengan 78% dan 89% (Carthy et al., 2014).

Pada kasus reinfeksi, respon imun sekunder (IgG) teraktivasi secara berlebihan sehingga IgM sulit terdeteksi. IgG dapat bertahan sampai 2 tahun sehingga pendeteksian IgG saja tidak dapat digunakan untuk membedakan antara infeksi akut dengan kasus reinfeksi atau konvalesen pada kasus uji primer. Untuk mengatasi masalah tersebut, uji ini kemudian dimodifikasi dengan menginaktivasi total IgG pada sampel serum. Uji ini, yang dikenal dengan nama uji Typhidot-M, memungkinkan ikatan antara antigen dengan IgM spesifik yang ada pada serum pasien. Studi evaluasi yang dilakukan oleh Khoo KE dkk pada tahun 1997 lebih sensitif (sensitivitas mencapai 100%) dan lebih cepat (3 jam) dilakukan

ndingkan dengan kultur (Kaur et al., 2018).



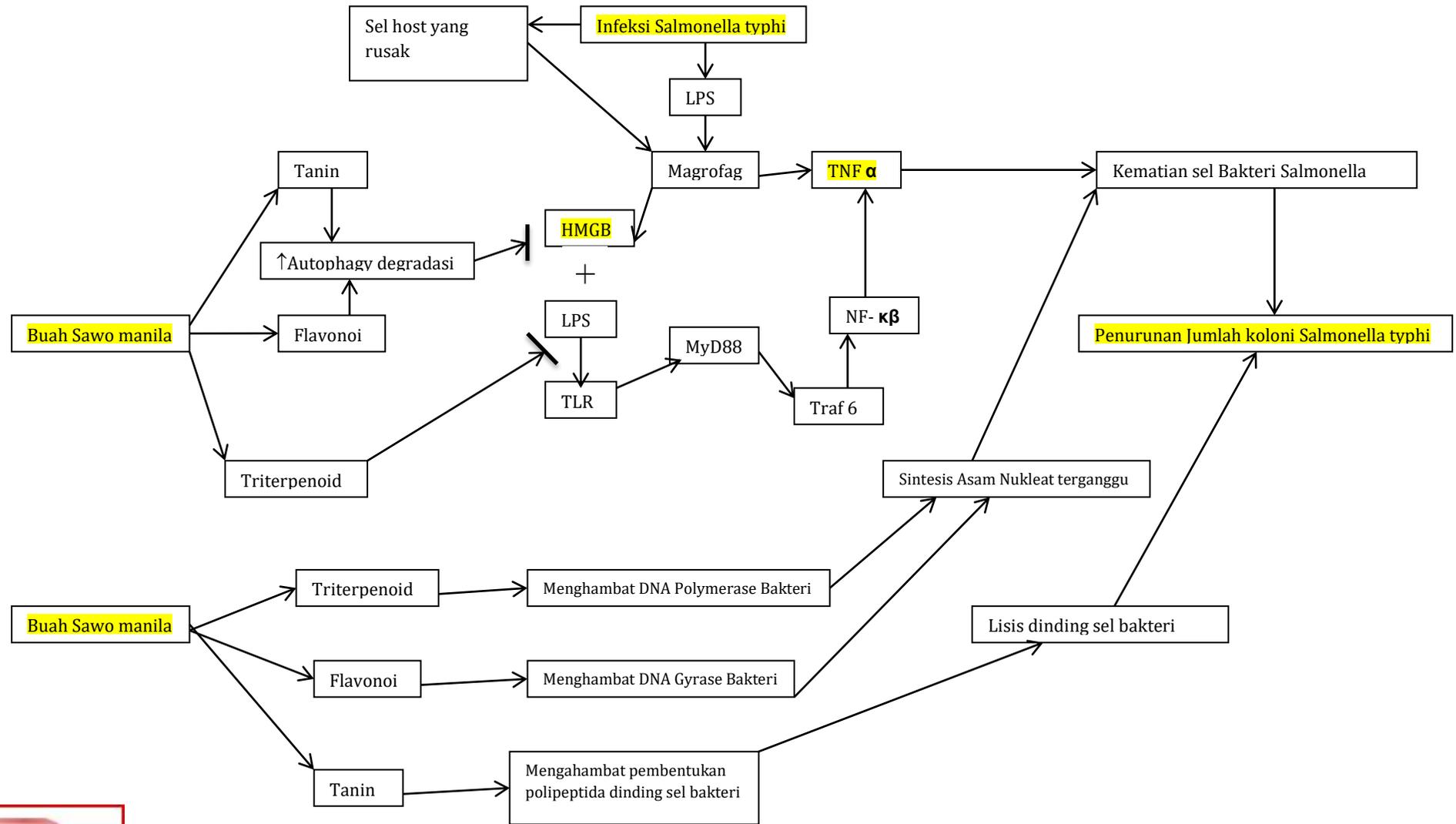
#### d. Pemeriksaan kuman secara molekuler

Metode lain untuk identifikasi bakteri *Salmonella typhi* yang akurat adalah mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagellin bakteri *Salmonella typhi* dalam darah dengan teknik hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA dengan cara polymerase chain reaction (PCR) melalui identifikasi antigen Vi yang spesifik untuk *Salmonella typhi* (H. J. Kim et al., 2016).

Spesifisitas PCR sebesar 100% dengan sensitivitas yang 10 kali lebih baik daripada penelitian sebelumnya dimana mampu mendeteksi 1-5 bakteri/ml darah. Kendala yang sering dihadapi pada penggunaan metode PCR ini meliputi risiko kontaminasi yang menyebabkan hasil positif palsu yang terjadi bila prosedur teknis tidak dilakukan secara cermat, adanya bahan-bahan dalam spesimen yang bisa menghambat proses PCR (hemoglobin dan heparin dalam spesimen darah serta bilirubin dan garam empedu dalam spesimen feses), biaya yang cukup tinggi dan teknis yang relatif rumit. Usaha untuk melacak DNA dari spesimen klinis masih belum memberikan hasil yang memuaskan sehingga saat ini penggunaannya masih terbatas dalam laboratorium penelitian (Carthy et al., 2014).



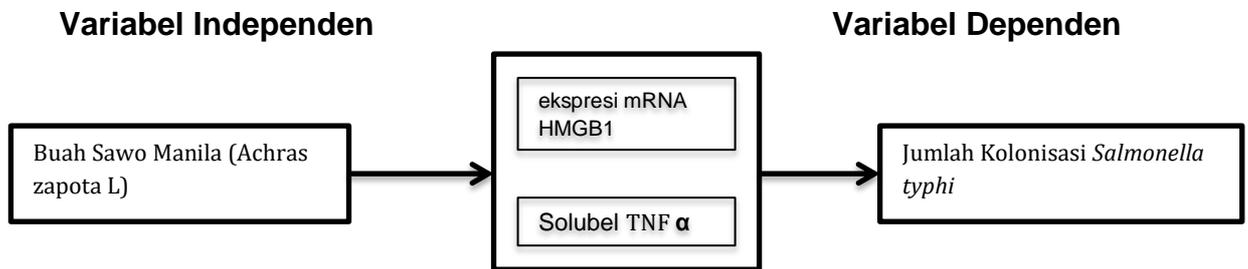
# I. KERANGKA TEORI



Gambar 2.18 Kerangka Teori



## J. KERANGKA KONSEP



**Gambar 2.19** Kerangka Konsep

Adapun variabel pada penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas (variable independen) : Ekstrak buah Sawo manila (Achras zapota L)
2. Variabel Antara : Ekspresi mRNA gen HMGB1 dan Solubel  $TNF-\alpha$
3. Variabel Tergantung (Variabel Dependen) : jumlah kolonisasi bakteri *Salmonella typhi*
4. Variabel Kendali : berat badan tikus, umur tikus dan jenis kelamin tikus

## K. Definisi Operasional variable dan Kriteria Objektif

1. Ekstrak buah Sawo manila (Achras zapota L)

Merupakan isolate essential flavonoid, triterpenoid dan tanin yang diperoleh melalui proses ekstraksi dari buah Sawo manila dengan konsentrasi diatas 80%. Dosis ekstrak buah sawo manila per hari yang diberikan adalah 510 mg/kg BB dan 750 mg/kg BB, diberikan 3 hari

mencit diinduksi oleh *Salmonella typhi*. Ekstrak buah sawo manila



dilarutkan dalam aquades dan diberikan melalui sonde nasogastrik, sekali sehari selama 5 hari.

## 2. Ekspresi mRNA Gen High Motility Group Box 1 (HMGB1)

Profil ekspresi mRNA gen High Motility Group Box 1 (HMGB1) yang diukur dengan realtime PCR

Kriteria objektif :

Meningkat : Apabila nilai  $\geq$  mean (9,634 Ct), menggunakan Kit PCR Applied Biosystem Taqman One-Step RT-PCR Master Mix Reagents.

Menurun : Apabila nilai  $<$  mean 9,634 Ct), menggunakan Kit PCR Applied Biosystem Taqman One-Step RT-PCR Master Mix Reagents.

## 3. Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (*TNF- $\alpha$* )

Kadar Solubel *TNF- $\alpha$*  yang diukur dengan tehnik kuantitatif Sandwich Enzyme Immunoassay (ELISA). Satuan dalam pemeriksaan sitokin ini adalah pikogram (pg) per milliliter. Range normal 0.625 – 40 ng/ml, menggunakan ELISA Kit (Sandwich ELISA).

Kriteria objektif :

Kadar *TNF- $\alpha$*  meningkat :  $>$  40 ng / ml

Kadar *TNF- $\alpha$*  normal : 0.625 – 40 ng/ml

Kadar *TNF- $\alpha$*  menurun :  $<$  0.625 ng/ml

## 4. Jumlah kolonisasi *Salmonella typhi*

Merupakan spesimen bakteri yang diperoleh dari kultur jaringan

stomak, limpa dan hepar setelah 7 hari intervensi. Jumlah koloni yang dihitung dengan cara proporsional yaitu jumlah koloni (%) yang



tumbuh pada medium perlakuan (jaringan tikus yang diintervensi ekstrak) dibagi dengan jumlah koloni pada kontrol dikalikan 100%.

#### L. Hipotesis

4. Ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/BB dapat menurunkan ekspresi mRNA gen *High Motility Group Box 1* (HMGB1) pada kelompok mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*.
5. Ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/BB dapat menurunkan Solubel *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- $\alpha$ ) pada kelompok mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*.
6. Ekstrak buah Sawo manila (*Achras zapota L*) dengan dosis 510 mg/kg BB dan dosis 750 mg/BB dapat menurunkan jumlah kolonisasi bakteri pada kelompok mencit balb/c yang telah diinfeksi *Salmonella typhi*.

