

**ANALISIS KADAR PROTEIN VITAMIN D RESEPTOR (VDR)
PADA PENDERITA DEMAM TIFOID AKUT REKUREN DAN
HUBUNGANNYA DENGAN PENDERITA DEMAM TIFOID**

ANALYSIS OF PROTEIN VITAMIN D RECEPTOR (VDR)
LEVELS IN RECURRENT ACUTE TIFOID FEVER PATIENTS
AND THEIR RELATIONSHIP WITH TIFOID FEVER PATIENTS

FATMAWATI ANNISA SYAMSUDDIN



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

**ANALISIS KADAR PROTEIN VITAMIN D RESEPTOR (VDR)
PADA PENDERITA DEMAM TIFOID AKUT REKUREN DAN
HUBUNGANNYA DENGAN PENDERITA DEMAM TIFOID**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi

Disusun dan diajukan oleh

FATMAWATI ANNISA SYAMSUDDIN

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**ANALISIS KADAR PROTEIN VITAMIN D RESEPTOR (VDR) PADA
PENDERITA DEMAM TIFOID AKUT REKUREN DAN HUBUNGANNYA
DENGAN PENDERITA DEMAM TIFOID**

Disusun dan diajukan oleh :

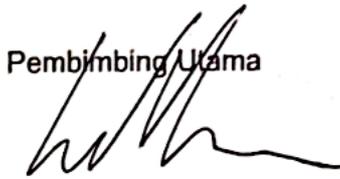
FATMAWATI ANNISA SYAMSUDDIN

Nomor Pokok P062191024

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 13 Agustus 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)
NIP : 1957 0416 1985 03 1001

Pembimbing Pendamping



dr. Firdaus Hamid, Ph.D
NIP : 1977 1231 2002 12 1002

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP : 1977 0121 2003 12 2003

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
NIP : 1967 0308 1990 03 1001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Fatmawati Annisa Syamsuddin

Nomor Mahasiswa : P0621910224

Program Studi : Ilmu Biomedik

Konsentrasi : Mikrobiologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendirian dan tidak mengambil alih tulisan dan ide orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas tindakan tersebut.

Makassar, 16 Agustus 2021

Yang menyatakan



Fatmawati Annisa Syamsuddin

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim.

Alhamdulillah puji dan syukur peneliti kepada **Allah SWT** atas berkah, rahmat dan ridho-Nya, dan salam serta salawat kepada junjungan **Nabi Muhammad SAW** sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik pada Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Selesainya penyusunan tesis ini juga tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, maka dari itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus, ikhlas serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. **Prof.dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)** sebagai Ketua Komisi Pembimbing; dan **dr. Firdaus Hamid, P.hD** sebagai pembimbing yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan memberi motivasi yang tinggi walaupun dalam suasana pandemik Covid-19.
2. **Prof. dr. Rosdiana Natsir, Ph.D, Sp.Biok (K)** ; **Prof.Ahyar Ahmad, Ph.D** dan **Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS** masing-masing sebagai penguji dan pembahas yang banyak memberikan dorongan, motivasi serta saran-saran yang berguna demi penyempurnaan dari tesis ini.
3. Rektor Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubulu MA**, Direktur pascasarjana **Prof. Dr. Jamaluddin Jompa**, dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc**, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Magister Ilmu Biomedik

4. Rektor Universitas BOSOWA **Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Saleh Pallu, M.Eng** dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas BOSOWA **Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes** yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melanjutkan studi pada Program Magister Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
5. Orang tua penulis **Prof.Dr. Ir. Syamsuddin Hasan, M.Sc** dan **Ir. Nurhaerani Syamsuddin**, dengan didikan keduanya penulis dapat mengenal dan mencintai ilmu pengetahuan serta agama. Didalam penulisan tesis dan journal, penulis juga selalu diberikan dorongan dan motivasi yang tinggi sehingga dapat memberikan hasil yang positif. Kepada Keluarga Kakak **Drg. Rezki Wahyuni Syamsuddin** bersama keluarga dan adik **Muhammad Agung, ST** saudara penulis; dengan kebersamaannya semua didalam keluarga sehingga terbangun kekompakan yang kokoh.
6. Kepada suami tercinta **Ashady Alimuddin, SE, MM** yang menjadi penyejuk hati dalam suasana suka dan duka yang mendukung penulis baik dalam bentuk finansial maupun non finansial; **Drs. H. Alimuddin** dan **Hj. Hafsah Mappellawa, SKM** Mertua Penulis yang selalu memberi semangat, dukungan material, motivasi yang tinggi; **Arsyila Dzakhirah Ashady** dan **Ayesha Shafiyah Ashady** anak-anak penulis yang selalu memberikan kesejukan hati dalam suasana apapun sehingga proses pendidikan dan penulisan tesis dapat selesai dengan baik.

7. Kepada seluruh teman-teman sejawat baik di Universitas Hasanuddin maupun di Universitas BOSOWA penulis menyampaikan terima kasih atas kebersamaannya semua.

Tesis ini merupakan karya monumental bagi penulis yang penulis persembahkan kepada anak-anakku yang tercinta Arsyila dan Ayesha.

Makassar, 16 Agustus 2021

Fatmawati Annisa Syamsuddin

ABSTRAK

FATMAWATI ANNISA SYAMSUDDIN. *Analisis Kadar Protein Vitamin D Reseptor (VDR) pada Penderita Demam Tifoid Akut Rekuren dan Hubungannya dengan Penderita Demam Tifoid (dibimbing oleh Mochammad Hatta dan Firdaus Hamid).*

Penelitian ini bertujuan menilai ekspresi protein vitamin D reseptor (VDR) dalam serum demam tifoid akut rekuren (DTAR) dan perbandingan pasien demam tifoid (DT) dengan orang sehat (OS).

Penelitian ini menggunakan 30 pasien DTAR dan 30 pasien demam tifoid yang dikumpulkan dari beberapa puskesmas dan rumah sakit di daerah endemis, Indonesia. Sebagai pembanding juga diperiksa 30 OS yang diambil dari Unit Transfusi Darah (UTD) Makassar. Profil protein VDR ditentukan dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Selain itu, dilakukan pula perbandingan antara titer widal dan kadar protein VDR untuk mengetahui hubungan kedua hal tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata ekspresi protein VDR pada DTAR ditemukan 13,44 ng/mL dengan standar deviasi 3,99 ng/mL, sedangkan nilai rata-rata ekspresi protein VDR pada DT 24,88 ng/mL dengan standar deviasi 2,99 ng/mL dan nilai rata-rata ekspresi protein VDR pada OS ditemukan 43,49 ng/mL dengan standar deviasi 4,40 ng/mL. Hasil korelasi antara titer widal DTAR dan DT dengan ekspresi protein VDR menunjukkan korelasi negatif dengan nilai *p* value 0,004. Dengan demikian, terdapat perbedaan signifikan antara ekspresi VDR pada DTAR, DT, dan OS dengan ekspresi VDR pada DTAR lebih rendah dibandingkan dengan DT dan ekspresi VDR pada DT lebih rendah dibandingkan dengan OS. Terjadi penurunan ekspresi protein VDR pada penderita DTAR dibandingkan dengan DT dan OS sehingga kadar VDR yang rendah pada keadaan infeksi demam tifoid dan rekurensi akut dapat menurunkan fungsi VDR pada makrofag sebagai peran dalam proses antimikroba dan menghambat multiplikasi penyakit.

Kata kunci: demam tifoid, Elisa, endemik, rekuren akut, vitamin D Reseptor (VDR)



ABSTRACT

FATMAWATI ANNISA SYAMSUDDIN. *Analysis of Protein Vitamin D Receptor (VDR) Levels in Recurrent Acute Typhoid Fever Patients and Their Relation to Typhoid Fever Patients (Supervised by Mochammad Hatta and Firdaus Hamid)*

This study assesses the levels of VDR protein in the serum of RATF and its comparison with typhoid fever (TF) patients and healthy persons (HP).

The study employed 30 RATF patients and 30 typhoid fever patients collected from a number of health centers and hospitals in endemic areas, Indonesia. As a comparison, 30 HP were also examined, which were collected from Makassar Blood Transfusion Unit. The VDR protein profile was determined by Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA). In Addition, Widal test and ELISA test were also compared to determine the relationship between these tests on RATF and TF.

It is found that the mean of VDR protein expression of RATF is 13.44 ng/ml with a standard deviation of 3.99 ng/mL, the mean of VDR protein expression of TF is 24.88 ng/mL with a standard deviation of 2.99 ng/mL, and the mean of VDR protein expression of HP is 43.49 ng/mL with a standard deviation of 4.40 ng/mL. The correlation results between RATF-TF Widal titre and VDR proteins level indicate a negative correlation with p-value of 0.004.

There is a significant difference in VDR expression of RATF, TF, and HP. With the finding of lower VDR expression in RATF compared to TF and lower VDR expression in TF compared to HP, this study confirmed the decreasing expression of VDR protein in RATF patients compared to the TF patients and healthy persons. Therefore, low VDR level in the case of typhoid fever infection and acute recurrence may possibly reduce the VDR function on macrophages as an antimicrobial agent in inhibiting disease multiplication.

Keywords: Typhoid Fever, ELISA, Endemic, Acute Recurrent, Vitamin D Receptor (VDR)



DAFTAR ISI

Prakata	v
Abstrak	viii
Abstract	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Singkatan	xv
Daftar Lampiran	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang masalah	1
B. Rumusan masalah	6
C. Tujuan penelitian	6
D. Manfaat penelitian	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Demam tifoid	
1. Sejarah	8
2. Definisi	9
3. Epidemiologi	9
4. Penyebab	11
5. MANifestasi klinis	12
6. Diagnosis	15
7. Komplikasi	17
8. Pengobatan	18
9. Pencegahan	21
B. Salmonella typhi	
1. Etiologi	22
2. Patogenesis	23

3. Faktor pathogenesis	26
C. Vitamin D Reseptor (VDR)	
1. Interaksi vitamin D dengan Vitamin D Reseptor	32
2. Letak VDR.....	33
3. VDR dan sel T	37
4. Jalur sinyal intraseluler yang memodulasi ekspresi VDR	38
5. Sistem imun	38
6. Makrofag	42
D. Pemeriksaan laboratorium dan bakteriologis	
1. Pemeriksaan darah rutin	44
2. Tes fungsi hati	44
3. Kultur	44
E. Serologis demam tifoid (DT)	
1. Tes widal	45
2. Tes rapid	46
a. Uji typhidot	46
b. Tes TUBEX®	46
c. Tes dipstick	47
d. Tes haemaglutinasi (HA)	47
F. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	48
G. Pemeriksaan biologi molekuler demam tifoid (DT)	48
H. Kerangka teori	51
I. Kerangka konsep	51
J. Hipotesis	52
K. Definisi operasional	52
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Rancangan penelitian	54
B. Tempat dan waktu penelitian	54
C. Sampel dan kriteria sampel	54
D. Alat dan bahan penelitian	55
E. Cara kerja	56

F. Alur penelitian	60
G. Analisis statistik	60
H. Etika penelitian	61
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	62
B. Pembahasan	65
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	71
B. Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	72

DAFTAR TABEL

1. Distribusi VDR di jaringan/sel normal	34
2. SNP <i>VDR</i> umum posisi gen dan alel resiko putative	36
3. Titer widal DTAR dan DT	63
4. Perbandingan hasil kadar protein VDR pada DTAR, DT dan OS.....	64

DAFTAR GAMBAR

1. Tingkat kejadian demam tifoid di berbagai wilayah dunia	11
2. Pewarnaan gram bakteri <i>Salmonella Typhi</i> dari kultur darah positif	23
3. Jalur kelangsungan hidup <i>S.typhi</i> dan hubungannya dengan diagnosa demam tifoid	26
4. Struktur antigen pada dinding bakteri <i>Enterobacteriaceae</i>	27
5. Model reseptor vitamin D (VDR)	28
6. Lokasi gen VDR pada kromosom 12	36
7. Model yang diusulkan untuk pensinyalan VDR di sel T	37
8. Mekanisme induksi respon anti bakteri yang dimediasi oleh pengikatan 1,25-(OH) ₂ D-VDR pada makrofag	42
9. Box Plot Kadar Protein Vitamin D reseptor pada DTAR, DT dan OS	65

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan
LPS	Lipopolisakarida
IL-1	Interleukin 1
TNF	<i>Tumor necroting factor</i>
DT	Demam tifoid
DTAR	Demam tifoid akut rekuren
VDR	<i>Vitamin D receptor</i>
OS	Orang sehat
NRAMP-1	<i>Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1</i>
NOD 2	<i>Nucleotide Oligomerization Binding Domain 2</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
RXR _s	<i>retinoid-X receptors</i>
VDREs	<i>vitamin D response elements</i>
25(OH)D / kalsidiol	<i>25 hidroxy vitamin D</i>
CYP27B1	<i>1-α-hydroxylase</i>
1,25(OH) ₂ D ₃	<i>1,25 dihydroxyvitamin D</i>
TB	<i>Tuberkulosis</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
AIDS	<i>Acquired immunideficiency syndrome</i>
CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i>
TLRs	<i>Toll-like Receptors</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i>
Protein SMAD3	<i>Signal Mothers Against Decapentaplegic homolog 3 (Protein coding gene)</i>

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil Analisa human vitamin D receptor (VDR) ELISA Kit	82
2. Hasil uji widal	85
3. Rekomendasi Persetujuan etik	87
4. Dokumentasi Kegiatan	88
5. Analisis Statistik	89
6. Surat keterangan jurnal	93
7. Surat bebas plagiasi	94

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid (DT) adalah penyakit akut pada saluran pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri gram negative, berflagel, berbentuk basil, tidak berspora, motil dan bersifat fakultatif anaerob (Hamer, 2010). Masa inkubasi antara 5 sampai 21 hari tergantung pada inokulum, kesehatan dan status imun penderita. Setelah masa inkubasi timbul bakteremia dengan gejala klinik yang khas yaitu demam, malaise, dan ketidaknyamanan perut yang tidak terlokalisir. Penderita DT biasanya mengeluhkan gejala demam, nyeri pada kepala, nyeri pada tenggorokan, batuk kering, hepatomegali, splenomegali, dan bradikardi sering terjadi (Gillespie, 2014), (Hamer, 2010)

DT masih menjadi masalah kesehatan di dunia terutama pada negara berkembang. Di seluruh dunia, diprediksikan sebanyak 17 juta orang mengidap penyakit ini setiap tahun. Paling banyak terjadi di negara dengan kalangan warga berpenghasilan rendah, khususnya di Afrika, Asia Tenggara serta Amerika Latin. Pada daerah Sulawesi Selatan, Indonesia, DT adalah salah satu penyakit infeksi yang paling penting (Hatta & Smits, 2007b). Penyakit ini endemik di Sulawesi Selatan di seluruh wilayah dan merupakan penyakit keempat yang paling sering menular di 24 kabupaten.

Pada beberapa kabupaten di Sulawesi Selatan, tifoid menjadi penyebab utama septikemia yang didapat dari masyarakat, dengan laporan tingkat insiden melebihi 250/100.000 penduduk (Hatta et al., 2009), (Hatta & Ratnawati, 2008).

Fase pertama infeksi adalah lokalisasi ke epitel usus oleh *Salmonella* menyebabkan peningkatan sekresi cairan dan terjadi perubahan patogenik pada usus besar. *Salmonella* memiliki lipopolisakarida (LPS) yaitu makrofag yang merangsang endotoksin untuk menghasilkan limfokin seperti *interleukin 1* (IL-1) serta *tumor necrotic factor* (TNF). Adanya antigen tersebut pada *S.typhi* menurunkan jumlah organisme yang diperlukan untuk memulai infeksi dengan mencegah fagositosis. Untuk memulai infeksi *S. typhi* harus bertahan hidup dari asam lambung, dan memasuki usus kecil tempat organisme menyerang dinding usus selanjutnya dibawa ke sel-sel dari sistem retikulo-endotel yang dapat menetap dalam keadaan semi-dorman. mereka kemudian muncul kembali sehingga terjadi bakterimia dan masuk kembali ke usus melalui saluran empedu. Selama fase bakterimia kedua, infeksi terletak di patch peyer dan dinding usus menipis dan memburuk, menyebabkan perforasi dan perdarahan (Di Domenico et al., 2017), (Gillespie, 2014).

DT paling sering disebabkan dari makanan atau minuman yang terkontaminasi pasien. Selain penularan dari manusia ke manusia (fecal-oral), kontaminasi urin yang terinfeksi juga sering terjadi (Esmailnia et al., 2020), (Hamer, 2010). secara umum faktor risiko DT dapat dibagi menjadi

faktor-faktor yang ada kaitannya dengan tingkat pendidikan yang rendah, kurangnya jangkauan memperoleh air yang bersih sanitasi yang masih buruk, praktik mencuci tangan kurang dan kebersihan yang buruk, serta konsumsi makanan dan minuman jalanan (Sutiono et al., 2010).

Dengan penggunaan antibiotik sebagai pilihan pengobatan sangat efektif, tingkat kematian menurun menjadi kurang dari 1 %. Sebanyak 5% sampai 10% pasien yang telah diobati dengan antibiotik setelah pemulihan awal mengalami kekambuhan akut (Im et al., 2020). tingkat fatalitas kasus Penderita DT yang memperoleh pengobatan yang efektif sebanyak 10-30%, namun dengan pengobatan antibiotik yang akurat jumlah ini mampu berkurang menjadi 1-4%. Umumnya jumlah kematian sebanyak 10% -20% pada DT yang tidak diobati (Buckle et al., 2012).

Masalah semakin kompleks dengan meningkatnya resistensi terhadap obat yang digunakan, kekambuhan/demam tifoid rekuren akut (DTAR) dan karier yang disebabkan oleh pengaruh dari sifat dari bakteri *S. typhi* sendiri, yang dapat menetap secara persisten pada kantung empedu (Dwiyanti et al., 2015).

Infeksi *S. typhi* mempunyai variasi gen flagellin baru dari kepulauan Indonesia bagian timur, yaitu Ind. Variasi gen ini berbeda dengan gen *fliC* Hd dan z66, hal tersebut dapat menyebabkan meningkatnya tingkat kekambuhan.. Selain itu, sistem imun juga mempengaruhi terjadinya kasus karier dan rekuren terutama yang berhubungan dengan aktifitas sel makrofag sebagai sistem fagositosis (Dougan & Baker, 2014), (Hatta, 2011)

Terdapat sejumlah gen yang dapat mempengaruhi respon imunitas tubuh antara lain gen *Vitamin D Receptor (VDR)*, *Natural Resistance Associated Macrophage Protein (NRAMP-1)*, gen *Nucleotide Oligomerization Binding Domain 2 (NOD 2)* yang masing-masing memiliki region. Pada 2020, Junita dkk melakukan penelitian tentang protein NRAMP-1 yang terekspresi baik pada penderita DTAR dan lebih rendah secara bermakna dibandingkan penderita DT, hal ini sesuai dengan fungsi dari protein NRAMP-1 sebagai aktivasi makrofag dalam proses mengeliminasi mikroorganisme termasuk infeksi *S. typhi* (Junita et al., 2020), (Paschoal, 2014). Diperkirakan bahwa fungsi makrofag mempengaruhi perkembangan keparahan DT dan telah dilakukan genotipe dalam tiga gen (*NOD2*, *VDR* dan *NRAMP1*) yang terlibat dalam modulasi fungsi makrofag dan mungkin terkait dengan penyakit imunitas termasuk keparahan gejala demam tifoid (Dwiyanti et al., 2017).

Vitamin D terbukti mengurangi ekspresi sitokin proinflamasi dan memiliki efek pengaturan autophagy dan berbagai sel imun termasuk makrofag, sel T, sel B, sel dendritik, serta sel epitel. Vitamin D bekerja di usus dengan menstimulasi reabsorpsi kalsium dan memberikan efeknya pada jaringan ini dengan mengikat VDR. Gen *VDR* juga sangat penting dalam mengatur homeostasis usus dengan mencegah invasi bakteri patogen, menghambat peradangan, dan menjaga integritas sel (Efendi et al., 2019).

Gen *VDR* terdapat pada makrofag, sel dendritik, limfosit T dan limfosit B. Kemampuan dari makrofag dan sel dendritik serta sel T dan sel B teraktivasi untuk mengekspresikan enzim CYP27B1, dan kemampuan *1,25 dihydroxyvitamin D₃* untuk mengatur proliferasi dan fungsi sel-sel tersebut. Gen *VDR* ditemukan pada tahun 1969 (meskipun hanya sebagai protein pengikat untuk metabolit vitamin D yang belum diketahui yang kemudian diidentifikasi sebagai *1,25 (OH)₂D*), dan akhirnya diklon dan diurutkan pada tahun 1987. Gen *VDR* hampir tersebar pada sel dan jaringan dalam tubuh manusia (Kongsbak et al., 2013).

Saat tubuh terkena infeksi terutama yang disebabkan oleh pathogen, tubuh akan mengadakan respon imun dengan mengubah vitamin D inaktif (*25-hydroxy vitamin D₃*) menjadi bentuk aktif (*1,25-dihydroxy vitamin D₃*) dan peningkatan konsentrasi *1,25-dihydroxy vitamin D₃* dalam seluler akan mengaktifkan gen *VDR*. Interaksi antara *1,25-dihydroxy vitamin D₃* dengan gen *VDR* akan mengarah ke peningkatan LL-37 selular yang mengkode protein yang menyebabkan pembunuhan bakteri intraseluler dengan memproduksi *antimicrobial peptide* (CAMP) dan β -defensin-4 (DEFB4) dan aktivitas antimikroba akan disempurnakan oleh fagosit tersebut (MPKB, 2012), (Zasloff, 2006).

Telah banyak kajian dan penelitian yang berhubungan dengan polimorfisme gen *VDR* dan beberapa penyakit infeksi. Pada awalnya *VDR* dipelajari pada penelitian yang dilakukan di Gambia yang menyebutkan bahwa *VDR*

sebagai gen kandidat pada infeksi tuberculosis. Pada tahun 1994, Morrison et al. menemukan adanya hubungan antara polimorfisme di wilayah 3' dari gen *VDR* dan osteoporosis. Selanjutnya, polimorfisme gen *VDR* ini dikaitkan dengan berbagai penyakit seperti hepatitis B, HIV dan kusta (Paschoal, 2014). *VDR* terbukti mampu menghambat perkembangan bakteri *S. typhi* yang berhubungan dengan jumlah koloni bakteri (Febriza et al., 2020). Namun belum pernah dilakukan penelitian mengenai gen *VDR* yang berperan dalam sistem imunitas dengan penderita DTAR. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai penentuan kadar protein *VDR* pada penderita DTAR dan DT.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat hubungan antara kadar protein *VDR* dengan kejadian DTAR?
2. Apakah terdapat hubungan antara titer widal dengan kadar protein *VDR*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk menentukan kadar protein *VDR* pada penderita DTAR

2. Tujuan Khusus
 - a. Menentukan kadar protein *VDR* pada penderita DTAR
 - b. Membandingkan kadar protein *VDR* pada penderita DTAR dengan penderita DT

- c. Membandingkan kadar protein VDR pada penderita DTAR dengan OS
- d. Membandingkan kadar protein VDR pada penderita DT dengan OS
- e. Membandingkan titer widal dengan kadar protein VDR

3. Manfaat Penelitian

1. Bagi institusi pendidikan dan pengembangan ilmu :
 - merupakan pengalaman berharga bagi peneliti untuk memulai melakukan riset atau penelitian dan mengembangkannya di masa yang akan datang
 - Mendukung institusi pendidikan terutama bidang kesehatan, baik di tingkat pelayanan maupun klinisi
 - Mendukung bidang ilmu biologi dalam pengembangan IPTEK dalam penanganan demam tifoid
 - Memperkaya pengetahuan dan menambah informasi tentang hubungan kadar protein VDR terhadap faktor yang terlibat dalam imunopatomekanisme kejadian DTAR
1. Aplikasi untuk masyarakat :

Diharapkan dari hasil penelitian ini yaitu adanya perbedaan kadar protein VDR dapat menjadi salah satu biomarker untuk pencegahan terhadap kejadian DTAR.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. DEMAM TIFOID

1. Sejarah

Nama demam tifoid (DT) berasal dari bahasa Yunani yang berarti asap, ketidakjelasan, pingsan, dan mengacu pada apatis, kebingungan, dan gejala neuropsikiatri yang terlihat pada infeksi berat. pada tahun 1869, istilah demam enterik yang lebih akurat diusulkan oleh Wilson sebagai alternatif untuk DT karena lokasi infeksi yang anatomis. pada tahun 1873, Budd mendemonstrasikan penularan DT melalui makanan dan air. Elberth pada tahun 1880 mendeskripsikan *Bacillus typhosus* pertama kali dan diisolasi dari limpa pasien yang terinfeksi oleh Gaffkey pada tahun 1884.

Kemudian pada tahun 1896 Georges-Fernand Widal telah menemukan salah satu metode reaksi serologi untuk penegakan diagnosis DT. Selanjutnya Kauffman dan White mempelajari interaksi antibodi dengan antigen permukaan bakteri dan menetapkan klasifikasi antigen dari genus *salmonella* yang masih digunakan sampai sekarang (Hamer, 2010). Sebuah sejarah menarik tentang “*Tifoid Marry*” yang menjadi seorang karier demam tifoid di Amerika pada tahun 1907, dimana setiap restoran tempat dia bekerja selalu terjadi epidemi tifoid. (Gopinath et al., 2012)

2. Definisi

DT atau biasa disebut dengan *enteric fever* adalah penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica serotype typhi* (*S. typhi*) yang spesifik pada manusia (Hamer, 2010). Mikroorganismenya ini merupakan salah satu penyebab utama penyakit demam dan penyebab kematian pada populasi yang menetap di lingkungan yang tidak bersih dan sanitasi yang buruk. Penyakit ini juga sering dikaitkan pada populasi yang terpapar air dan makanan yang tidak aman dan wisatawan yang berkunjung ke daerah endemik juga menjadi resiko (Chowdhury et al., 2014). *S. typhi* dapat terbawa dalam air karena terkontaminasi kotoran manusia dan ditularkan melalui tangan. (Sutiono et al., 2010)

3. Epidemiologi

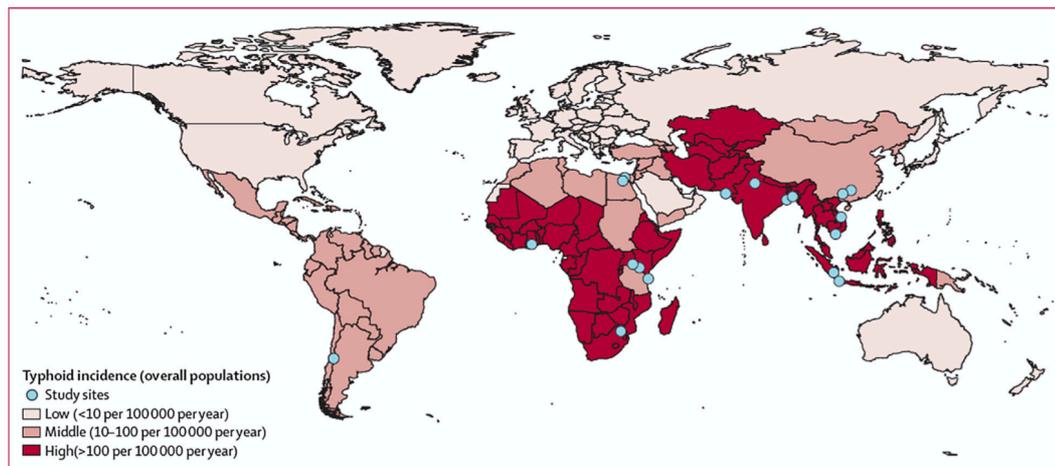
DT merupakan penyakit infeksi menular yang dapat terjadi pada dewasa maupun anak. Setiap tahunnya angka kejadian DT sekitar 21 juta kasus dengan jumlah kematian 128.000 sampai 161.000 kasus dan 90% diantaranya terjadi di Asia. Dengan perbaikan sanitasi dan kebersihan yang baik, jumlah tersebut menurun. Namun, pada tahun 2012 berdasarkan *world health organization* (WHO) sebanyak 748 juta orang masih mengandalkan sumber air minum yang tidak layak dan sejumlah 2,5 miliar orang masih kekurangan akses terhadap fasilitas sanitasi yang baik. Negara Asia Tengah, Asia Tenggara, India dan Afrika Selatan merupakan negara insiden tertinggi dengan angka kejadian >100 kasus per 100.000

penduduk pertahun. Amerika Serikat merupakan negara dengan insiden terendah dengan total 85% kasus kebanyakan dikaitkan dengan wisatawan yang telah berkunjung dari negara endemik terutama negara India (Harris & Brooks, 2020), (Saporito et al., 2016).

Angka yang berujung pada kematian tidak lebih dari 1% namun angka tersebut bervariasi di seluruh dunia. Pada negara Vietnam dan Pakistan, dari jumlah pasien yang dirawat di rumah sakit, angkanya kurang dari 2 %, sedangkan di beberapa wilayah di Papua Nugini dan Indonesia, angkanya mampu mencapai 30-50%. Hal tersebut banyak disebabkan karena pemberian antibiotik yang tertunda (Hatta & Ratnawati, 2008).

Perkiraan beban penyakit dunia terbaru untuk DT dan paratyphoid memaparkan bahwa pada tahun 2000, ada 22 juta kasus baru demam tifoid, 2.000.000 kematian terkait DT, dan 5,4 juta kasus demam paratifoid (Buckle et al., 2012).

Di Indonesia, sebuah studi telah dilakukan pada wilayah kumuh Jakarta memprediksikan angka terjadinya DT pada kelompok usia 2-4 tahun sebesar 148,7 per 100.000 orang/tahun, pada kelompok usia 5–15 tahun sebesar 180,3 dan pada kelompok usia di atas 16 tahun sebesar 51,2. Dengan onset usia rata-rata 10,2 tahun (Alba et al., 2016). Di wilayah endemik *S. Typhi*, sekitar 1-4% orang yang terinfeksi menjadi karier asimtomatik kronis yang merupakan ancaman bagi kesehatan masyarakat setempat (Di Domenico et al., 2017)



Gambar 1. Tingkat kejadian demam tifoid di berbagai wilayah dunia (Saporito et al., 2016).

4. Penyebab

Penyakit DT merupakan penyakit menular yang ditularkan melalui mulut yang disebabkan oleh bakteri *S. Typhi*. Organisme *salmonella* ditemukan di lingkungan dan di berbagai hewan. Inang utama organisme penyebab penyakit pada manusia adalah hewan penghasil makanan, unggas, sapi, dan organisme tersebut ditularkan ke manusia baik melalui kontak langsung atau melalui media makanan yang terinfeksi (Hamer, 2010)

Selain itu, penularan dapat berasal dari konsumsi makanan yang telah terkontaminasi dan air yang tidak higienis. Karena bakteri *S.typhi* dapat bertahan hidup selama sehari-hari di air sehingga kontaminasi air permukaan seperti air tawar, air tanah dan air limbah berperan utama sebagai penyebab penyakit DT. Buang air besar ditempat terbuka adalah salah satu penyebab dari penularan DT> Selain itu, makanan yang

dibiarkan terbuka beberapa waktu dan memakan makanan mentah merupakan penyebab utama kontaminasi (Paul & Bandyopadhyay, 2017)

Bakteri akan masuk ke saluran pencernaan dan kemudian menyebabkan dangan pada usus besar dan usus halus. Seiring perkembangan penyakit, bakteri dapat memasuki aliran darah sehingga dapat menyebabkan perdarahan. Pada kasus yang parah (*severe*), nekrosis jaringan limfoid dapat terjadi dengan ulserasi pada mukosa usus yang dapat menyebabkan perforasi usus dan mengancam jiwa (Chowdhury et al., 2014).

5. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis DT bervariasi dari penyakit ringan dengan batuk kering ringan, demam ringan dan malaise hingga manifestasi klinis parah dengan ketidaknyamanan perut dan berbagai komplikasi. Gejala pada anak umumnya lebih bervariasi dan lebih ringan dibandingkan pada dewasa. Ada banyak faktor yang terkait dengan tingkat keparahan dan hasil klinis infeksi secara keseluruhan. termasuk durasi penyakit, usia, toksisitas strain, riwayat pajanan atau vaksinasi, pilihan pengobatan antibakteri, jumlah obat yang disuntikkan, faktor risiko host (misalnya, tipe HLA, AIDS atau immunosupresi lainnya).

Setelah masa inkubasi selama 7 sampai 14 hari, timbulnya bakteremia ditandai dengan demam dan malaise. Penderita biasanya datang terlambat pada minggu pertama setelah timbulnya gejala dan mengeluhkan infeksi

akut umum seperti demam ringan, nyeri kepala, mual, muntah, kehilangan nafsu makan, diare dan konstipasi. Pada pemeriksaan fisik, hanya didapatkan suhu badan yang meningkat. Setelah dua minggu, tanda/gejala klinis menjadi lebih jelas berupa demam remiten, lidah tifoid yang pada klinis disebut lidah kotor, pembesaran hati dan limpa dapat terjadi, perut kembung mungkin disertai gangguan kesadaran dari yang ringan sampai berat. Pada saat demam tinggi dapat disertai dengan gangguan sistem saraf pusat seperti kesadaran menurun mulai dari apatis sampai koma (Chowdhury et al., 2014), (Paul & Bandyopadhyay, 2017)

Tidak seperti orang dewasa, demam pada anak muncul secara tiba – tiba, kadang timbul gambaran klasik berupa *stepwise pattern*, dapat pula mendadak tinggi dan remiten (39 – 41° C), rasa nyeri pada badan yang ekstrem, anoreksia, nyeri kepala, muntah, dan kembung pada perut. Klinis demam tifoid pada bayi dan anak usia dini biasanya meliputi demam dengan atau tanpa diare, kejang, dan khususnya anemia. Anemia mungkin terjadi akibat kehilangan darah atau hemolisis akibat autoantibodi (Gupte, 2009).

Lidah kotor merupakan hal yang sering ditemukan pada pemeriksaan fisik. Setelah beberapa hari demam meningkat, lidah kotor sering terjadi dengan tanda lidah nampak kering, dilapisi selaput tebal berwarna putih, kuning, atau coklat, bagian belakang lidah nampak lebih pucat sedangkan bagian ujung dan tepi lidah nampak lebih kemerahan. Kemungkinan

deskuamasi epitel dapat terjadi sehingga papila lebih prominen apabila penyakit makin progresif, (Gupte, 2009).

Pada palpasi yang dalam nyeri perut kadang dirasakan dan bunyi peristaltik meningkat. Orang dewasa sering merasakan sembelit dan penurunan nafsu makan, tetapi diare, toksisitas, dan komplikasi seperti koagulasi intravascular diseminata lebih banyak kasus pada bayi. hepatomegali dan splenomegali yang terjadi biasanya ringan, diperkirakan terjadi akibat rekrutmen sel mononuclear dan pembentukan respon imun spesifik terhadap kolonisasi *S. typhi* (Paul & Bandyopadhyay, 2017).

Pada akhir minggu pertama, 25 – 30% kasus demam dapat timbul lesi papul macula eritem (*rose spot*) pada abdomen dan dada dengan diameter 2-4mm. Sebanyak 50% pasien didapatkan bradikardi relative pada puncak demam tinggi yaitu suhu tubuh meningkat dan denyut nadi tidak ikut meningkat, namun hal ini bukan menjadi gejala yang sensitif atau spesifik untuk demam tifoid dan tidak menyingkirkan kemungkinan penyakit lain (Hamer, 2010).

Kekambuhan terjadi pada 5 hingga 10 persen penderita, biasanya dua hingga tiga minggu setelah resolusi demam. Rekuren kadang lebih ringan dari serangan awal, dan isolat *S. enterica serotype typhi* dari pasien yang mengalami rekuren biasanya memiliki pola kerentanan antibiotik yang sama

seperti isolat yang diperoleh selama serangan awal. Infeksi ulang hanya dapat dibedakan dari kekambuhan dengan tipe molekuler. (Chowdhury et al., 2014).

6. Diagnosis

Sebanyak 80% diagnosis DT dapat ditegakkan dengan melihat keluhan dan manifestasi klinis. Namun perlu dilakukan pemeriksaan penunjang untuk mendukung penegakan diagnosis dan untuk menyingkirkan kemungkinan penyakit infeksi lain. Pemeriksaan *gold standar* untuk DT yaitu pemeriksaan kultur darah dengan sensitivitas sekitar 40 – 60% dan dapat dipengaruhi oleh pengobatan antibiotik, pengambilan sampel, media kultur, durasi inkubasi dan variasi bakterimia pada pasien, darah yang dibutuhkan sebanyak 2-4mL untuk anak dan 10 – 15 mL untuk remaja dan dewasa (Nelwan, 2012).

Kultur darah pada negara maju menggunakan peralatan yang canggih untuk meningkatkan spesifisitas dan standarisasi dari pemeriksaan, namun di negara berkembang masih terhambat oleh masalah biaya dan fasilitas kultur darah terbatas hanya pada rumah sakit di kota besar saja. Kultur biopsi sumsum tulang lebih sensitif dibandingkan kultur darah karena jumlah organisme dalam sumsum tulang lebih tinggi dibandingkan jumlah organisme dalam darah. sebanyak 30% kultur feses penderita dengan sakit akut dan hasilnya akan meningkat seiring dengan durasi penyakit. Kultur urin memiliki sensitivitas 0-58% (Baker et al., 2010).

Uji serologis digunakan untuk mendeteksi antibody spesifik terhadap komponen dari antigen *S. typhi*. Terdapat beberapa uji serologis yang bisa dimanfaatkan untuk pemeriksaan penunjang demam tifoid antara lain uji widal dan tes tubex.

6.1 Uji widal

Uji widal, dikembangkan pada tahun 1896. Tujuan uji widal adalah mendeteksi adanya aglutinasi antibody terhadap antigen O dan H dari *S. typhi*. Berdasarkan kriteria diagnostik rutin, titer antibody O 1: 320 atau H 1:640 dianggap positif dengan manifestasi klinis yang sesuai (Paul & Bandyopadhyay, 2017).

6.2 Tes tubex

Tes tubex yaitu uji aglutinasi yang bertujuan untuk mendeteksi antibody IgM terhadap antigen LPS O-9. Tes tubex memiliki spesifitas dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan uji widal. Sensitivitas dari tes ini yaitu 75 – 80% dan spesifitas 75-90% (Kusumaningrat & Yasa, 2014).

Baru-baru ini probe DNA dan *polymerase chain reaction* (PCR) telah dikembangkan untuk mendeteksi *Salmonella enteritica serotype typhi* secara langsung dari darah. PCR sebagai alat diagnostik untuk mendeteksi *Salmonella serovar Typhi* pertama kali dipelajari oleh Song dkk yang mengembangkan PCR untuk amplifikasi gen *fliC-d Salmonella serovar Typhi*. Pemeriksaan PCR memiliki tingkat spesifitas dan sensitifitas lebih besar dibandingkan uji widal dan tes tubex, akan tetapi keterbatasan biaya yang cukup tinggi dan terdapat resiko kontaminasi yang menyebabkan hasil

menjadi positif palsu menjadi hambatan pemeriksaan ini, sehingga PCR belum digunakan pada praktek klinis dan terbatas hanya dalam laboratorium penelitian (Zhou & Pollard, 2010).

7. Komplikasi

Dengan pengobatan yang adekuat, penyembuhan sempurna dapat terjadi pada sebagian besar penderita DT, sebagian akan dorman, dan dapat terjadi komplikasi pada sebagian penderita yang dapat membahayakan nyawa, utamanya pada penderita yang diberikan pengobatan tidak adekuat atau penderita tidak mendapat pengobatan.

Komplikasi yang harus diperhatikan :

a. Abdomen

Perforasi gastrointestinal, perdarahan gastrointestinal, Hepatitis, Cholecystitis (biasanya subklinis).

b. Kardiovaskular

Perubahan elektrokardiografi yang tidak spesifik, myocarditis, shock.

c. Neuropsikiatri

Ensefalopati, delirium, status psikotik, cranial atau perifer neuritis, Guillain-barre sindrom, meningitis, gangguan koordinasi.

d. Respiratori

Bronkhitis Pneumonia (*Salmonella enterica* serotype *typhi*, *Streptococcus pneumoniae*).

e. Hematologi

Anemia, Koagulasi intravaskular diseminata (biasanya subklinis), trombositopenia, sindrom uremik hemolitik.

f. Lainnya

Abses fokal, faringitis, keguguran, kambuh, karier kronis, influenza, dengue, leptospirosis, mononukleosis menular, brucellosis, penyakit rickettsia, dll.(Paul & Bandyopadhyay, 2017)

8. Pengobatan

pengobatan demam tifoid terbagi atas farmakologi dan non farmakologis yang dapat menunjang terapi yang tepat.

8.1 Farmakologis

i. Simptomatik

Gejala utama pada DT yaitu demam, dapat diberikan antipiretik.

ii. Antibiotik

Antibiotik yang bisa diberikan yaitu :

- a. Ciprofloxacin dengan dosis dewasa 1 gram/hari dibagi dalam 2 dosis dan untuk anak-anak : 30 mg/kg/hari dibagi menjadi 2 dosis. Ciprofloxacin merupakan golongan fluorokuinolon yang mempunyai mekanisme menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba namun biasanya obat ini tidak disarankan untuk anak – anak dengan umur kurang dari 15 tahun peroral selama 5-7 hari.

- b. Cefixime bisa dijadikan sebagai alterenatif dari ciprofloxacin bagi anak-anak kurang dari 15 tahun dan usia lebih dari tiga bulan dengan dosis 20 mg/kg/hari dibagi menjadi 2 dosis peroral selama 7 hari.
- c. Amoxicilin dengan dosis dewasa 3 gram/hari dibagi menjadi 3 dosis dan untuk anak-anak 75 – 100 mg/kg/hari dibagi menjadi 3 dosis peroral selama 14 hari.
- d. Kloramfenikol dengan dosis anak-anak 1-12 tahun 100mg/kg/hari dibagi menjadi 3 dosis dan untuk usia lebih dari 13 tahun 3 gram/hari dibagi menjadi 3 dosis peroral selama 10-14 hari tergantung tingkat keparahannya. Kloramfenikol merupakan obat yang masih menjadi pilihan utama untuk pengobatan demam tifoid karena sensitive dan efektif terhadap *S. typhi*. Obat ini harus diberikan secara hati-hari karena efek samping yang sangat berat seperti anemia aplastik dan jika diberikan pada bayi usia kurang dari 2 minggu dengan gangguan ginjal dan hati, akan menyebabkan kloramfenikol terkumpul dalam darah serta dapat menghambat pembentukan sel-sel darah, sehingga kloramfenikol menjadi obat golongan sefalosporin pilihan kedua setelah ceftriaxone untuk terapi demam tifoid.
- e. Ceftriaxone dengan dosis dewasa 2 – 4 gram perhari diberikan sekali dan untuk anak – anak 75 mg/kg perhari diberikan sekali secara IM/IV selama 3 menit atau Infus selama 30 menit.

Delirium, stupor, koma sampai syok merupakan gejala DT kasus berat dapat diberikan kortikosteroid IV (dexametasone) 3 mg/kg dalam 30 menit untuk dosis awal, kemudian dilanjutkan 1 mg/kg tiap 6 jam sampai 48 jam.

Transfusi darah kadang-kadang diperlukan untuk kasus DT dengan penyulit perdarahan usus. Sedangkan laparotomi disertai dengan tambahan antibiotika metronidazole harus segera dilakukan pada kasus yang sudah terjadi perforasi (Grouzard, Veronique ; Rigal, 2016).

8.2 Non Farmakologis

Selain terapi farmakologis, ada terapi non farmakologis sebagai pendukung terapi agar pengobatan penyakit dapat berhasil dengan cepat.

a. Tirah baring

Tirah baring (*bed rest*) merupakan upaya untuk mengurangi aktivitas yang bisa memperburuk keadaan pasien dan direkomendasikan untuk pasien DT untuk mengurangi resiko komplikasi perforasi usus atau perdarahan usus.

b. Nutrisi

Makanan lunak berkalori tinggi, tinggi protein, dan rendah serat sangat membantu untuk memenuhi nutrisi pasien, tetapi tidak akan

memperburuk kondisi usus. Yang terbaik adalah memiliki serat rendah (*low fiber*) untuk mencegah pendarahan dan perforasi.

9. Pencegahan

Jalur penularan DT adalah melalui air minuman atau makanan yang terkontaminasi *Salmonella typhi*. Pencegahan dimulai dari memastikan akses ke air bersih dan kesadaran diri untuk menjaga kebersihan terutama untuk makan dan minum.

9.1 Air bersih

DT adalah penyakit yang ditularkan melalui air. Tindakan pencegahan utama adalah memastikan akses ke air bersih dan aman. Air yang digunakan harus berkualitas, bersih dan harus cukup untuk digunakan pada semua masyarakat untuk kebutuhan rumah tangga seperti mencuci, memasak dan terutama untuk air minum.

9.2 Sanitasi dan menjaga kebersihan

Sanitasi juga berperan penting untuk pencegahan dan pengendalian DT.

- a. Mencuci tangan rutin sebelum makan cukup berpengaruh pada kasus DT, oleh karena itu dibutuhkan kesadaran dari tiap masyarakat untuk selalu mencuci tangan sebagai bentuk pencegahan DT.

- b. Pembuangan limbah harus difasilitasi dengan baik untuk semua masyarakat secara merata.

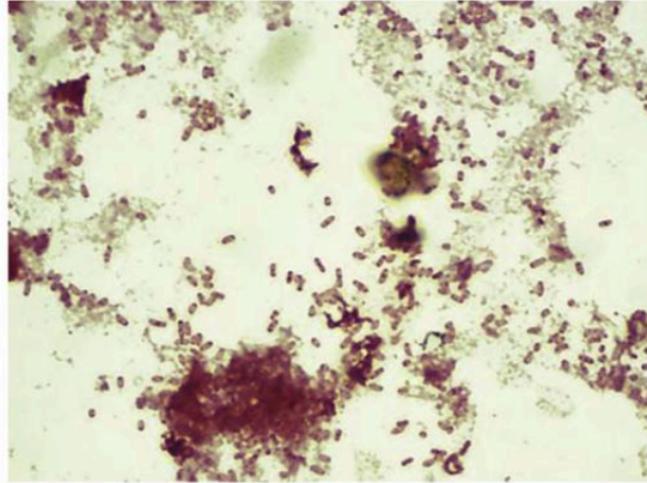
9.1 Vaksinasi

Vaksinasi diperlukan untuk mencegah penyebaran global dari infeksi dan resistensi terhadap berbagai obat terutama antibiotik. Vaksin yang banyak tersedia di Indonesia adalah Vi kapsul polisakarida yang hanya boleh diberikan pada usia >2 tahun. Vaksinasi ditujukan untuk wisatawan yang akan berkunjung ke daerah endemic selain itu ahli mikrobiologi, pekerja limbah dan anak-anak juga direkomendasikan oleh WHO (Chowdhury et al., 2014).

B. SALMONELLA TYPHI

1. Etiologi

Salmonella typhi merupakan organisme pada saluran pencernaan yang berasal dari Enterobacteriaceae. *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang tidak membentuk spora, memiliki motilitas (bergerak dengan flagela rambut tepi) dan memiliki tipe metabolisme aerob, dan dapat hidup dalam kondisi fakultatif anaerob. Ukuran *Salmonella typhi* adalah 2-4 μm x 0,5-0,8 μm (Tang, 2014).



Gambar 2. Pewarnaan gram bakteri *Salmonella Typhi* dari hasil kultur darah positif (Murray et al., 2020).

2. Patogenesis

Bakteri *S.typhi* dapat memasuki tubuh manusia dari mulut yang merupakan *port d'entry* bakteri tersebut. Setelah menelan makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri *S.typhi* maka akan melewati mekanisme pertahanan tubuh. Pertama infeksi bakteri dapat menurun dengan pengaruh asam lambung, namun sebagian bakteri yang mampu mentolerir pH 4,0 atau lebih tinggi dapat bertahan hidup, selanjutnya bakteri salmonella harus melewati lapisan lendir yang menutupi epitel usus kecil dan menghindari produk sekresi dari usus, pankreas dan kantong empedu serta sekretori IgA (Saporito et al., 2016).

Jika respon humoral tubuh host dalam hal ini immunoglobulin A (IgA) kurang baik atau tidak mampu mengeliminasi bakteri maka bakteri akan

masuk ke dalam sel – sel epitel usus utamanya sel microfold (sel M) dan akan berlanjut ke lamina propria. Jumlah bakteri *S. typhi* yang dapat menimbulkan gejala klinis DT pada manusia sebanyak $\geq 10^5$ *Colony Forming Units* (CFU).

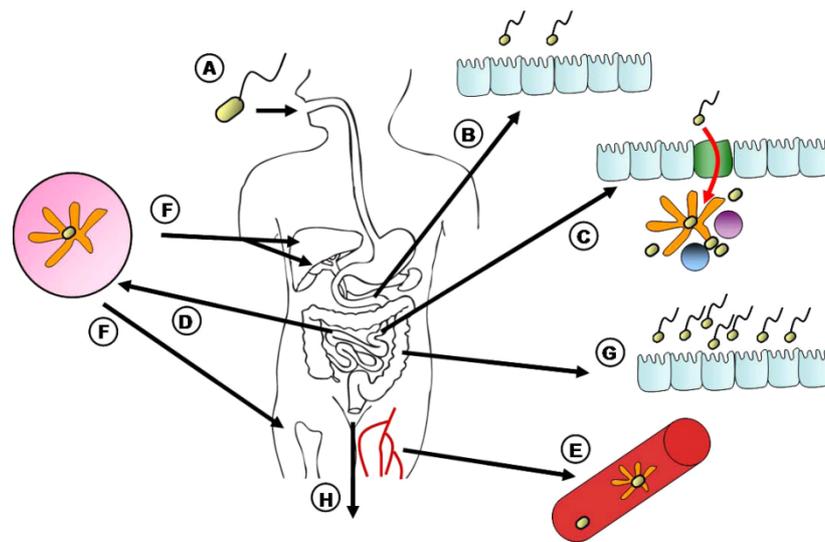
Di lamina propria, bakteri tumbuh dan sel fagosit terutama makrofag akan memfagositnya. Bakteri *S.typhi* berproliferasi pada makrofag dan dibawa ke *plaque payeri* ileum distal dan kelenjar getah bening mesenterika. Melalui saluran torasikus bakteri yang terkandung dalam makrofag ini memasuki aliran darah (sehingga menyebabkan bakteremia asimtomatik pertama) dan akan menyebar ke semua organ retikuloendotelial dalam tubuh termasuk hati, limpa dan sumsum tulang. Di organ ini, bakteri meninggalkan sel fagosit, berproliferasi di luar sel atau ruang sinusoidal, dan masuk kembali ke dalam sirkulasi menyebabkan bakteremia kedua dengan tanda dan gejala infeksi sistemik (Chowdhury et al., 2014).

Ketika bakteri berada di hati dan masuk ke kandung empedu, mereka berkembang biak, dan diekskresikan secara bertahap di dalam saluran usus bersamaan dengan cairan empedu. Beberapa bakteri diekskresikan dalam tinja dan beberapa masuk ke usus dan kembali ke dalam sirkulasi. Karena aktivasi dan overaktivitas makrofag, proses yang sama berulang kali melepaskan berbagai mediator inflamasi dalam fagositosis *Salmonella* dan mengakibatkan timbulnya gejala respon inflamasi sistemik tubuh seperti

seperti demam, malaise, mialgia, nyeri kepala, nyeri perut, gangguan psikotik, instabilitas vaskuler dan koagulasi (Baker et al., 2010).

Pada *plaque payeri* makrofag yang terlalu aktif menginduksi respon nekrosis organ dan hiperplasia jaringan. Seiring perkembangan penyakit, perdarahan gastrointestinal dapat terjadi karena erosi pembuluh darah disekitar *plaque necrotic payeri* dan hiperplasia karena penumpukan sel mononuklear di dinding usus. Proses ini menyebar ke otot, ke serosa usus, dan dapat menyebabkan perforasi (Baker et al., 2010).

Waktu yang dibutuhkan bakteri *S. typhi* pada fase bakteremia memperbanyak diri sekitar 10 – 14 hari dari fase inkubasi DT dalam proses *S. typhi* mengeluarkan endotoksin lipopolisakarida dalam proses inflamasi lokal yang menempel pada reseptor sel endotel kapiler bisa menyebabkan demam, leukopenia, gangguan neuropsikiatrik, kardiovaskuler, pernapasan (Baker et al., 2010).



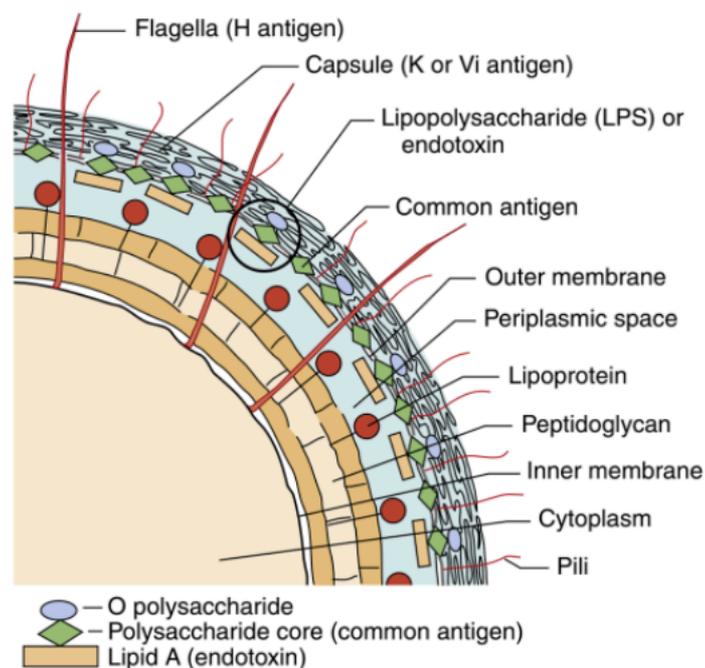
Gambar 3. Jalur kelangsungan hidup *S.typhi* dan hubungannya dengan diagnosa demam tifoid (Baker et al, 2010)

3. Faktor patogenisitas

S. Typhi adalah bakteri menular yang menempel pada sel inang, menyerang sel dan jaringan inang, menunjukkan toksisitas, dan mampu menghindari sistem imunitas inang. Ada tiga antigen utama pada *S.typhi* yaitu sel somatik (O) terdiri dari oligosakarida dari LPS terletak di membran luar bakteri.

Flagelar antigen (H) terdapat pada protein flagellar yang terdiri dari protein. Antigen H pada spesies *Salmonella* tertentu bersifat tidak biasa karena organisme dapat reversibel berganti diantara dua jenis antigen H yaitu fase 1 dan fase 2 oleh karena itu disebut difasik, sehingga organisme dapat menggunakan perubahan ini untuk menghindari respon kekebalan inang.

Antigen (K) terletak pada permukaan kapsuler bakteri yang terdiri polisakarida dan merupakan antigen paling tidak umum ditemukan pada *salmonella*. Antigen K dapat diidentifikasi oleh reaksi quellung (pembengkakan kapsular) pada kehadiran antisera spesifik dan digunakan untuk serotipe *E. coli* dan *S. typhi* untuk tujuan epidemiologi. Pada *S. typhi*, antigen tersebut disebut antigen Vi (virulensi) (Eng et al., 2015).



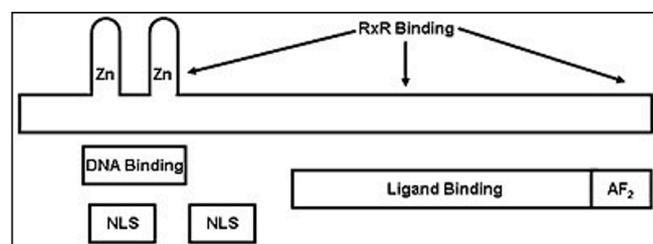
Gambar 4. Struktur antigen pada dinding bakteri *Enterobacteriaceae*. (Murray et al., 2020)

C. VITAMIN D RECEPTOR (VDR)

VDR ditemukan tahun 1969 (meskipun hanya sebagai protein pengikat untuk metabolit vitamin D yang belum diketahui yang kemudian diidentifikasi sebagai 1,25 (OH)₂D), dan akhirnya diklon dan diurutkan pada

tahun 1987. VDR adalah anggota keluarga besar protein (lebih dari 150 anggota) yang mencakup reseptor untuk hormon steroid, hormon tiroid, keluarga metabolit vitamin A (retinoid) dan berbagai metabolit kolesterol, asam empedu, isoprenoid, asam lemak dan eicosanoid (Bikle, D., 2017).

Gen *VDR* merupakan reseptor nuklear dan faktor transkripsi aktivasi ligan, yang terdiri dari domain pengikat DNA dan domain pengikat ligan α -heliks. Heterodimerisasi dengan *retinoid-X receptors* (RXRs) akan diaktivasi oleh ligan yang berikatan dengan protein VDR. Heterodimerisasi protein VDR/RXR penting untuk menghasilkan afinitas tinggi ikatan DNA ke *vitamin D response elements* (VDREs) di wilayah regulasi gen target 1,25-(OH)₂D. DNA yang berikatan dengan heterodimer protein VDR/RXR akan merekrut beberapa protein koregulator, yang mengontrol modifikasi histon, remodeling kromatin serta menginisiasi transkripsi dan ikatan *RNA polymerase II*. Lebih lanjut, pengikatan ligan ke VDR juga dapat memblokir transkripsi heteromer protein VDR/RXR yang menggantikan pengikatan DNA oleh faktor nuklir aktif sel T untuk menekan ekspresi gen sitokin (Efendi et al., 2019).



Gambar 5. Model reseptor vitamin D (VDR). (Bikle, D., 2017)

Diketahui bahwa faktor genetik polimorfisme gen *VDR* maupun *vitamin D binding protein* (*VDBP*) berpengaruh terhadap respon pemberian suplementasi vitamin D terhadap kadarnya. Dilihat dari faktor usia, didapatkan bahwa penuaan berhubungan dengan penurunan kadar 25(OH)D plasma dibandingkan dengan kelompok usia yang lebih muda. Sedangkan penyakit sistemik yang mempengaruhi penyerapan vitamin D seperti penyakit Crohn, *cystic fibrosis*, dan penyakit seliak membutuhkan asupan vitamin D dengan dosis lebih besar dibandingkan populasi normal untuk mencapai kadar 25(OH)D yang normal (Mazahery & von Hurst, 2015). Gen *VDR* yang mengkode reseptor vitamin D, memiliki berbagai polimorfisme dan variasi pada lokus *VDR* telah dikaitkan dengan kerentanan dan perkembangan beberapa penyakit imun (Pike, 2011).

Salah satu penelitian mengkorelasikan polimorfisme gen *VDR* Fok-I pada pasien yang terinfeksi HIV yang membawa *genotype Ff* dianggap rentan terhadap perkembangan penyakit yang lebih cepat menjadi AIDS, baik pada dewasa maupun anak, dengan kemungkinan bahwa individu dengan polimorfisme *VDR* mungkin memiliki jumlah CD4 yang lebih rendah karena proliferasi virus yang lebih cepat (Jiménez-Sousa et al., 2019).

Pada penyakit *Leprae*, *Mycobacterium leprae* dapat dimatikan dengan aktivasi dari TLRs makrofag yang dapat meningkatkan regulasi gen *VDR* dan gen *1- α -hydroxylase* vitamin D sehingga terjadi induksi peptida anti mikroba katelisidin. Sitokin pro-inflamasi yang disebabkan oleh aktivasi

makrofag memodulasi TGF- β . TGF- β berperan dalam menjaga toleransi sistem kekebalan dengan mengatur diferensiasi, proliferasi, dan kelangsungan hidup limfosit. Aktivasi TGF- β ini mengontrol inisiasi dan regresi respon inflamasi tanpa mempengaruhi respon imun terhadap patogen. Aktivasi TGF- β memicu protein SMAD3 yang bertindak sebagai ko-aktivator VDR atau faktor transkripsi dalam nukleus. Makrofag yang diaktifkan oleh rangsangan pathogen mengeluarkan sitokin seperti TNF- α . Sitokin ini dapat menginduksi *inducible nitric oxide species* (iNOS) dan *nitric oxide* (NO) yang berperan dalam membunuh bakteri *M. leprae* (Lastória & de Abreu, 2014).

Dengan mengikat VDR, yang terdapat di Sebagian besar jaringan tubuh manusia, vitamin D aktif (1,25(OH)₂D atau kalsitriol), dapat mengaktifkan sinyal VDR dan menimbulkan berbagai respon antimikroba seperti induksi autofagi, pelepasan dan aktivasi antibakteri peptida katelisin, fusi fagolisosom, serta pembunuhan bakteri *M. tuberculosis* intraseluler yang dimediasi makrofag (Huang et al., 2017).

Sebuah meta-analisis menunjukkan hubungan yang signifikan antara polimorfisme VDR dan tuberculosis genotipe *FokI* dan *BsmI* pada populasi Asia (Gao et al., 2010). Lebih lanjut, telah dilakukan penelitian untuk mengetahui hubungan antara polimorfisme gen VDR atau kadar vitamin D menggunakan serum 25(OH)D dengan TB-MDR. Penelitian dilakukan dengan analisis SNP gen VDR pada tiga lokus pada populasi india : *BsmI*, *TaqI*, dan *FokI* dan hasilnya menunjukkan bahwa genotipe *Ff FokI* dan alel

t TaqI berkorelasi positif dengan TB-MDR. Diketahui juga ada hubungan antara polimorfisme *VDR* pada pasien TB-MDR dengan kadar 25(OH)D yang rendah. Hal ini membuktikan bahwa ada hubungan antara polimorfisme *VDR* dengan kadar 25(OH)D yang rendah dan dapat meningkatkan terjadinya TB-MDR (Higa et al., 2012), (Rathored et al., 2012).

Beberapa penelitian telah mengkorelasikan gen *VDR* dengan berbagai kanker termasuk adenokarsinoma kolorektal, kanker prostat dan kanker payudara. Ekspresi gen *VDR* berbeda – beda tergantung pada jenis kanker, dengan ekspresi secara berlebihan (*over expressed*) atau menjadi kurang terekspresi (*supressed*). Ekspresi yang berlebihan menunjukkan bahwa beberapa reseptor berikatan dengan kalsitriol (Kure et al., 2009), (McCullough et al., 2009).

Diferensiasi sel adenokarsinoma kolorektal dapat dipengaruhi oleh gen *VDR* telah ditunjukkan pada studi Deeb dkk. Diketahui bahwa melalui proses induksi diferensiasi selular dan proliferasi sehingga gen *VDR* dapat menghambat perkembangan dan progresivitas tumor. Reseptor vitamin D meningkatkan ekspresi enzim *brush borders*, merangsang pematangan membrane apical microvilli pada kultur sel kanker kolon, memperbaiki morfologi mikrovili dan membentuk massa sehingga membentuk morfologi diferensiasi tumor yang baik (Deeb et al., 2007).

1. Interaksi vitamin D dengan VDR

Gen *VDR* memberikan instruksi untuk membuat protein yang disebut reseptor vitamin D (VDR), yang memungkinkan tubuh merespons vitamin D. Vitamin D terdapat dalam dua bentuk yaitu vitamin D₃ (kolekalsiferol) diproduksi di kulit oleh sinar UVB (UVR) dan vitamin D₂ (ergokalsiferol) yang dihasilkan oleh UVR pada bahan tanaman dan ragi (Bikle, D., 2017).

Untuk manusia, vitamin D tidak aktif diperoleh dari makanan, suplemen, atau sintesis vitamin di kulit (Holick, 2008). 7-dehidrokolesterol diubah menjadi vitamin D asli di kulit saat terkena sinar UVB. Vitamin D asli kemudian dihidroksilasi di hati membentuk senyawa kalsidio atau 25 hidroksi vitamin D (25(OH)D) yang merupakan senyawa inaktif. Di ginjal, dengan bantuan enzim yang distimulasi oleh hormon paratiroid yaitu *1- α -hydroxylase* (CYP27B1), senyawa inaktif tersebut akan diubah menjadi senyawa aktif kalsitriol atau *1,25 dihydroxyvitamin D* (1,25(OH)₂D) (Aranow, 2011), (Bikle, D., 2009).

Metabolisme vitamin D₃/D₂ dapat dibioaktivasi oleh jalur klasik yang melibatkan ginjal dan jalur non klasik yang tidak melibatkan ginjal. Vitamin D₃ disintesis di kulit melalui fotodegradasi *7-dehydrocholesterol* menjadi provitamin D₃, diikuti dengan isomerisasi termal menjadi vitamin D₃. Pada proses selanjutnya vitamin D₃ dilepaskan dari membran plasma keratinosit, vitamin D₂ dari usus diserap oleh DBP ke dalam plasma, kemudian masuk

ke darah vena dalam sistem limfatik yang berikatan dengan DBP dan lipoprotein yang pada akhirnya dibawa menuju hati. Hidroksilasi vitamin D₂/D₃ di hati pada rantai C-25 dengan enzim *25-hydroxylase vitamin D* (CYP2R1) menghasilkan 25-OHD. Vitamin 25-OHD diangkut oleh DBP dan disimpan dalam lemak. Kadar 25OHD merupakan indikator yang baik dari kandungan vitamin D tubuh, karena kadar serumnya meningkat sebanding dengan jumlah vitamin D dengan waktu paruh sekitar 3 minggu (Bikle, D. D., 2014).

Proses metabolisme kedua yaitu aktivasi biologis vitamin D terjadi di ginjal. Enzim CYP27B1 menghidrolisis 25OHD pada posisi C1 pada rantai A menjadi 1,25(OH)₂D. Pengaturan ginjal sangat ketat dan dilakukan oleh hormon paratiroid. Kadar kalsium yang lebih rendah atau kadar fosfat yang lebih tinggi segera memicu produksi hormon paratiroid oleh kelenjar paratiroid, yang meningkatkan produksi 1,25-(OH)₂D. Hidroksilasi 1,25-(OH)₂D dicegah dengan meningkatkan kalsium atau hanya dengan 1,25-(OH)₂D. Kemudian, 1,25 dihidroksivitamin D diangkut ke usus kecil, di mana ia berinteraksi dengan reseptor VDR spesifik untuk meningkatkan efisiensi penyerapan kalsium usus (Deluca et al., 2013).

2. Letak VDR

VDR tersebar luas, meskipun tidak secara universal, didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh yang berbeda. Banyak dari jaringan ini awalnya tidak dianggap jaringan target untuk 1,25(OH)₂D (Bikle, D., 2017). VDR

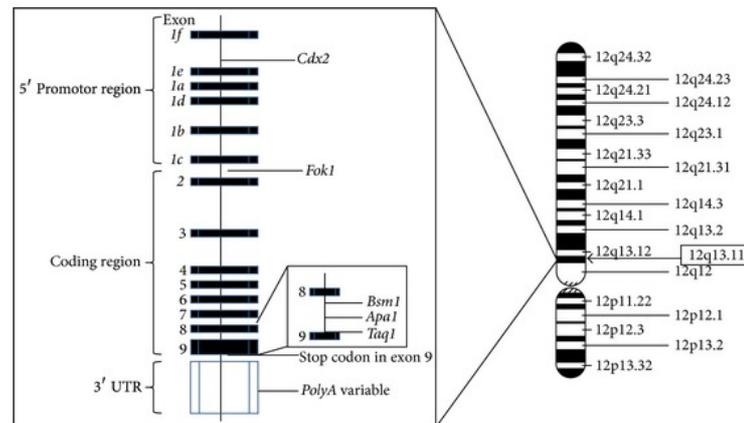
didistribusikan secara luas ke seluruh usus kecil dari duodenum ke ileum dan usus besar termasuk sekum. Lebih khusus lagi, VDR terlokalisasi di sel epitel usus, sesuai dengan fungsi vitamin D dalam penyerapan kalsium usus. VDR diekspresikan dengan kuat dalam sel beta pancreas, sel epitel tubular ginjal, sel epitel bronkial, sel epitel kulit. VDR terdeteksi dalam osteoblas dan kondrosit. VDR ditemukan di dalam sel sistem kekebalan seperti sel T, promielosit, monosit, makrofag, dan sel dendritik. VDR diidentifikasi pada sel epitel sekretori kelenjar prostat, sel epitel kelenjar susu, sel epitel retikuler timus. VDR juga ditemukan di kelenjar endokrin tertentu, kelenjar paratiroid dan tiroid, dan di jaringan reproduksi tertentu (Wang et al., 2012).

Tabel 1. Distribusi VDR di jaringan/sel normal (Wang et al., 2012).

Organ / Jaringan	Tingkat ekspresi	Jenis sel
Sistem Pencernaan		
Usus halus	+++++	Epitel
Usus besar	+++++	Epitel
Hati		
Pankreas		Epitel
Ginjal		
Tubulus distal	+++++	Epitel
Tubulus proximal	++	Epitel
Podosit glomerulus	+	Podosit
Sistem pernafasan		
Sel alveolar paru – paru		
Bronkus	+++++	Epitel

Tulang		
Osteoblast	+++++	Osteoblas
Kondrosit	+	Kondrosit
Sistem otot		
Sistem imun		
Timus	+++++	Epitel
Limpa/kelenjar getah bening	++	Monosit / Makrofag / Sel T
Sistem Endokrin		
Tiroid		
Paratiroid	+++++++	Epitel
Kelenjar dibawah otak	+++	Epitel
Kelenjar adrenal		
Otak		
Otak besar	?	
Otak kecil	?	
Sumsum tulang belakang	?	
Sistem reproduksi		
Testis	++	Sel germinal
Kelenjar prostat	++++	Epitel
Kelenjar susu	++++	Epitel
? Tidak sepenuhnya didefinisikan		

Protein VDR yang disandi oleh gen VDR ditemukan pada kromosom 12q12-g14 dan memiliki lebih dari 479 *single nucleotide polymorphisms* (SNP), beberapa di antaranya dapat meningkatkan *uptake* $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (McCullough et al., 2009).



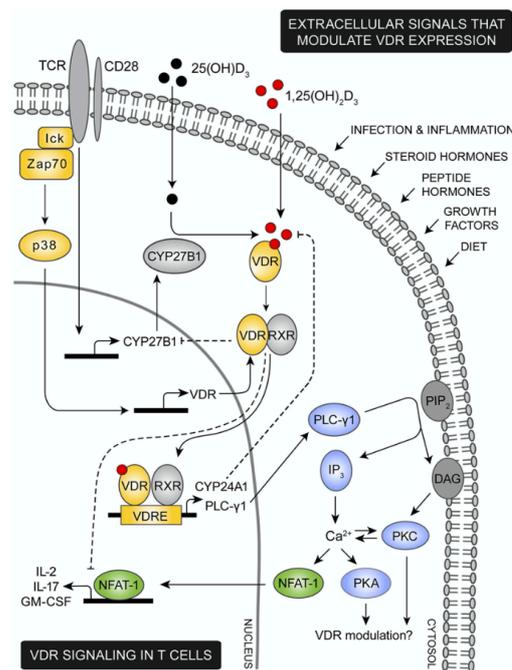
Gambar 6. Lokasi gen VDR pada kromosom 12 (kanan); dan beberapa polimorfisme VDR yang saat ini dikenal (kiri). Gen tersebut memiliki sembilan ekson, delapan di antaranya (nomor 2-9) menyandikan protein dan nomor satu yang ditunjuk (1a-1f) berisi enam subunit yang tidak diterjemahkan (Higa et al., 2012).

Tabel 2. SNP VDR umum, posisi gen, dan alel risiko putatif (L. et al., 2009).

SNP Name	Position on VDR	DbSNP Reference	Gene position	Major allele	Putative risk
<i>Fok1</i>	Exon 2	<i>rs10735810</i> (aka <i>rs2228570</i>)	C/T 30875	C (F)	f
<i>Cdx2</i>	Block C2	<i>rs11568820</i>	G/A 1229	G	G
<i>Bsm1^b</i>	Block B	<i>rs1544410</i>	G/A 64922	G (b)	b
<i>Apa1</i>	Block B	<i>rs7975232</i>	C/A 63935	A (A)	a
<i>Taq1</i>	Block B	<i>rs731236</i>	T/C 65013	T (T)	T
<i>Poly(A)^b</i>	3' UTR	<i>rs17878969</i>	Microsatellite repeat	A ₁₈ -A ₂₄	L

3. VDR dan Sel T

Karena pentingnya sel T dalam kekebalan pelindung dan dalam perkembangan gangguan inflamasi dan autoimun, beberapa studi telah meneliti dampak ekspresi gen *VDR* pada perkembangan, diferensiasi, dan fungsi sel T.



Gambar 7. Model yang diusulkan untuk pensinyalan gen VDR di sel T. (Kongsbak et al, 2013)

Meskipun kelimpahan VDR dalam sel T mencerminkan daya tanggap sel terhadap 1,25(OH)₂D₃, konsep ini sepertinya jauh lebih kompleks. Selain regulasi transkripsi dari VDR, faktor tambahan yang berdampak pada aktivitas VDR harus dipertimbangkan. Termasuk ketersediaan ligan, induksi jalur pensinyalan intraseluler, modifikasi VDR pasca-translasi,

translokasi nukleus, dan pengikatan DNA serta perekrutan ko-regulator yang diaktifkan (Kongsbak et al., 2013).

4. jalur sinyal intraseluler yang memodulasi ekspresi gen *VDR*

Modulasi ekspresi gen *VDR* sebagai hasil dari rangsangan fisik dimediasi oleh berbagai jalur pensinyalan intraseluler. Beberapa penelitian meyakini bahwa aktivasi jalur *protein kinase A* (PKA) yang bergantung pada cAMP mengarah pada peningkatan kelimpahan gen *VDR* (Kongsbak et al., 2013).

5. Sistem Imun

Studi epidemiologi terbaru telah mengamati peran ekstra-skeletal (peran non-klasik) vitamin D sebagai imunomodulator dalam sistem kekebalan. Ada hubungan antara kadar vitamin D yang rendah dan penyakit autoimun dan infeksi. Vitamin D memiliki efek antimikroba, memodulasi imun dan diduga mempengaruhi kadar sitokin (Bartley et al., 2013), (Visweswaran & Lekha, 2013). Respon imunomodulator vitamin D aktif 1,25-(OH)₂D telah diketahui selama beberapa tahun, tetapi peran penting vitamin D dalam fungsi imun normal manusia baru diketahui selama 5 tahun terakhir. Ini adalah efek dari *wide genome analysis* yang mendefinisikan kembali pandangan vitamin D dan imunitas. (Pike, 2011).

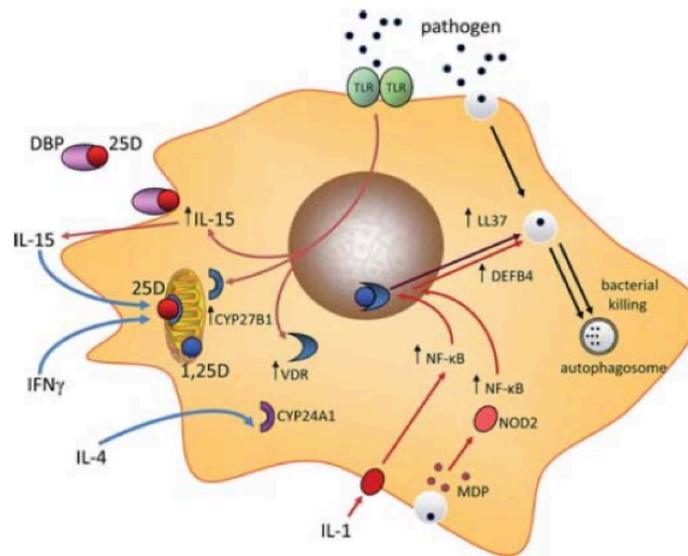
Dari berbagai laporan tentang efek immunomodulator vitamin D, yang paling menarik perhatian adalah kemampuan vitamin D untuk mengatur sistem imun bawaan dan adaptif. Seorang peneliti pemenang hadiah nobel, pada tahun 1903, Dr. Finsen mampu menyembuhkan epidermis infeksi tuberculosis dan infeksi lupus vulgaris menggunakan penyinaran cahaya terfokus. Penelitian lain menunjukkan bahwa paparan sinar UV dapat mengaktifkan sintesis vitamin D di epidermis, mendorong penelitian lebih lanjut untuk menunjukkan efektivitas suplementasi vitamin D oral dalam mengobati infeksi mikroba seperti kusta dan infeksi bakteri seperti lupus. Pada tahun 2006, *wide genome analysis* menunjukkan bahwa aktivasi patogen dari sistem vitamin D dalam monosit/makrofag klinis terkait dengan mekanisme antimikroba vitamin D. Selanjutnya, ada laporan tentang hubungan antara defisiensi vitamin D dan perkembangan tuberculosis (Talat et al., 2010).

Paparan respons antimikroba terhadap vitamin D adalah hasil dari dua pengamatan. Pada pengamatan pertama bahwa Sebagian besar sel yang berproliferasi pada sistem imun mengekspresikan gen *VDR* untuk 1,25-(OH)₂D seperti 1,25-(OH)₂D yang mengikat sel dalam system imun adaptif (limfosit B dan limfosit T), dan khususnya yang mengikat 1,25-(OH)₂D dengan sel sistem imunitas seluler (makrofag, sel dendritic, monosit, neutrophil, dan derivate monositik). Metabolisme vitamin D oleh sel dalam sistem imunitas merupakan pengamatan kedua. Berdasarkan dua pengamatan ini, disimpulkan bahwa sel imun yang mengekspresikan *VDR*

ini tidak hanya merespon vitamin D aktif yang bersirkulasi, tetapi juga jaringan target vitamin D klasik seperti usus, ginjal, dan tulang (Chun et al., 2014). Secara umum terdapat tiga jalur imunoreaktivitas 1,25-(OH)₂D- gen *VDR* yaitu jalur intrakrin, parakrin dan endokrin (Hewison, 2012).

Jalur intrakrin terlibat dalam aktivitas antibakteri alami diprakarsai oleh pengenalan patogen oleh *pattern recognition receptor* TLR2/1 yang menginduksi ekspresi *CYP27B1* dan *VDR*. Induksi ekspresi *CYP27B1* dalam sistem intrakrin mengubah 25-OHD menjadi vitamin D 1,25-(OH)₂D bentuk aktif, dan selanjutnya berikatan dengan *VDR* untuk mendorong regulasi transkripsi gen dari sel target. Respon penting pertama dari jalur intrakrin adalah *VDR* mengatur ekspresi gen *cathelicidin* (LL37) ,yang mengkodekan protein yang akan mengaktifkan penghancuran bakteri intraseluler dengan memproduksi β -defensin-4 (DEFB4) dan *antimicrobial peptide* (CAMP). Mekanisme kedua adalah induksi ekspresi *CYP27B1* oleh TLR2 yang melibatkan sitokin interleukin-15. Ketika terinduksi oleh TLR, makrofag akan mensekresikan IL-15. Hal ini juga daapt memblokir *iron-regulatory hepcidin* (HAMP), menginduksi ekspresi protein NOD2 dan meningkatkan autofagosom. Respon yang diinduksi DEFB4 juga memerlukan sinyal imun yang mendukung seperti ikatan NOD2 yang berikatan dengan *muramyl dipeptide* (MDP), dan respon IL-1 yang dimediasi NK κ β (Jo, 2013).

Jalur mekanisme parakrin meregulasi respon antimikroba melalui intrakrin vitamin D. Sitokin inflamasi yang ikut terlibat dalam jalur parakrin adalah IFN- γ , yang memediasi respon antibakteri dari makrofag yang terikat pada vitamin D, sedangkan IL-4 mampu meningkatkan ekspresi CYP24A1 (berfungsi sebagai pemecah 1,25-(OH) $_2$ D menjadi 25(OH)D) dan menstimulasi aktivitas *24-hydroxylase* pada monosit dengan menghentikan induksi TLR2/1 memicu LL37. Mekanisme terakhir adalah jalur endokrin. Neutrofil menunjukkan ekspresi *VDR* yang sangat tinggi dan sel monosit menunjukkan ekspresi serupa dari LL37 yang diinduksi 1,25-(OH) $_2$ D. Respon neutrofil terhadap infeksi tidak melalui kompleks 1,25-(OH) $_2$ D-VDR, namun dipicu langsung oleh 1,25-(OH) $_2$ D sebagai faktor endokrin (Hewison, 2012).



Gambar 8. Mekanisme induksi respon anti bakteri yang dimediasi oleh pengikatan 1,25-(OH)₂D-VDR pada makrofag (Hewison, 2012).

6. Makrofag

Rook et al. menunjukkan bahwa 1,25(OH)₂D₃ dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada tahun 1986. Mekanisme untuk ini tetap tidak jelas sampai publikasi oleh Liu et al. dari hasil mereka di makrofag. Mereka mengamati bahwa aktivasi *Toll Like Receptor* TLR2/1 oleh lipoprotein yang diekstraksi dari *M. tuberculosis* mengurangi viabilitas *M. tuberculosis* intraseluler pada monosit manusia dan makrofag bersamaan dengan peningkatan ekspresi gen VDR dan CYP27B1 dalam sel-sel ini. Pembunuhan *M. tuberculosis* terjadi hanya jika serum di mana sel dibudidayakan mengandung kadar 25OHD yang memadai, substrat untuk CYP27B1. (Bikle, D., 2017)

Hal tersebut memberikan bukti yang jelas tentang pentingnya nutrisi vitamin D (seperti yang ditunjukkan oleh kadar serum 25OHD yang memadai) dalam mencegah dan mengobati penyakit ini, dan menunjukkan peran penting untuk produksi endogen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oleh makrofag untuk mengaktifkannya. Aktivasi TLR2/1 atau langsung mengobati sel-sel ini dengan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ menginduksi cathelicidin peptida antimikroba, yang merupakan racun bagi *M. tuberculosis*. Jika induksi cathelicidin diblokir seperti pada siRNA, kemampuan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ untuk meningkatkan pembunuhan *M. tuberculosis* dicegah. Selanjutnya, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ juga menginduksi produksi spesies oksigen reaktif yang jika diblokir juga mencegah aktivitas antimikrobakterial dari $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ makrofag yang diolah (Bikle, D., 2017).

D. PEMERIKSAAN LABORATORIUM DAN BAKTERIOLOGIS

Untuk menegakkan diagnosis DT dapat dilakukan pemeriksaan bakteriologis, uji serologis, dan pemeriksaan molekuler. Pemeriksaan dapat dilakukan pada sampel darah, urine, feses, sumsum tulang, cairan duodenum atau dari *rose spots* pasien dan diagnosis dapat ditegakkan bila ditemukan bakteri *S. typhi* dalam biakan dari sampel tersebut.

Terkait dengan patogenesis penyakit, maka pada awal penyakit *S. typhi* 30-90% akan lebih mudah ditemukan dalam darah dan sumsum tulang pada penderita dengan dugaan DT, sedangkan pada stadium berikutnya di

dalam urine dan feses. Hasil kultur pada penderita demam tifoid tergantung pada banyak faktor seperti volume sampel, kadar bakteri *S. typhi*, jenis media kultur yang digunakan, waktu pengambilan sampel dan lama inkubasi (Massi, M. Nasrum et al., 2005).

1. Pemeriksaan Darah Rutin

Lima belas sampai 25% pasien menunjukkan leukopenia dan neutropenia. Leukositosis ditemukan pada perforasi usus dan infeksi sekunder. Pada anak yang lebih kecil, leukositosis sering terjadi dan dapat mencapai 20.000-25.000/mm³ (Paul & Bandyopadhyay, 2017).

2. Tes fungsi hati

Pada pemeriksaan tes fungsi hati bisa terganggu. Meskipun disfungsi hati yang signifikan jarang terjadi, dalam beberapa penelitian dan laporan kasus menunjukkan ada gangguan hati yang menstimulasi hepatitis virus akut dan juga muncul sebagai abses hati (Paul & Bandyopadhyay, 2017).

3. Kultur

Kultur darah adalah metode diagnostik standar. namun kultur darah memiliki sensitifitas yang rendah dibandingkan kultur sumsum tulang oleh karena sumsum tulang mengandung lebih banyak mikroorganisme dibandingkan dalam darah.. Pada minggu pertama, sensitivitas kultur darah meningkat dengan volume kultur darah (dari anak sekolah dan orang

dewasa harus diambil 10-15 ml, sedangkan dari balita dan anak prasekolah diperlukan 2-4 ml). dibandingkan orang dewasa, balita memiliki tingkat bakteremia yang lebih tinggi. Kultur juga telah dibuat dari lapisan darah buffy, bekuan darah yang diobati streptokinase, sekresi usus (dengan menggunakan kapsul tali duodenum), dan kerokan *rose spot*. Sensitivitas kultur feses bergantung pada jumlah feses yang diinokulasi, dan angka positif meningkat bersamaan dengan durasi penyakit. Pada 30% pasien dengan DT akut dapat ditemukan kultur feses positif. Sensitivitas kultur urin adalah 0-58% (Chowdhury et al., 2014).

Walaupun metode kultur kuman *S. typhi* merupakan *gold standard* namun memerlukan waktu 3-5 hari sampai bakteri teridentifikasi, dan sulit untuk dilakukan pada pusat pelayanan kesehatan masyarakat yang tidak memiliki sarana laboratorium lengkap (Zhou & Pollard, 2010).

Hasil kultur positif dari sampel darah penderita digunakan untuk memastikan diagnosis, dan hasil kultur dari dua kultur negatif berturut-turut pemeriksaan feses atau urin digunakan untuk menentukan apakah penderita telah sembuh atau karier (Sabir, et al, 2014, Hatta et al, 2013, Hatta et al, 2011).

E. SEROLOGI DEMAM TIFOID

1. Tes widal

Tes widal digunakan mendeteksi antibodi aglutinasi terhadap antigen O dan H dari *Salmonella enterica serotype typhi*. Sensitivitas yang

dilaporkan adalah 70 hingga 80 persen dengan spesifisitas 80 hingga 95 persen. Hasil ini dapat menjadi positif palsu karena *Salmonella enterica* serotipe *typhi* berbagi antigen dengan serotipe *salmonella* lain dan berbagi epitop yang bereaksi silang dengan *Enterobacteriaceae* lain. Hasil seperti itu mungkin juga terjadi dalam kondisi klinis lain, mis. malaria, tifus, bakteremia yang disebabkan oleh organisme lain dan sirosis. Hasil tes juga bisa menjadi negatif apabila respons antibodi yang tumpul dengan penggunaan antibiotik sebelumnya. Selain itu, pasien dengan tifoid mungkin tidak menunjukkan respons antibodi yang terdeteksi atau tidak ada peningkatan titer antibodi yang dapat dibuktikan (Paul & Bandyopadhyay, 2017).

2. Rapid tes

a. Uji Typhidot

Uji typhidot biasa disebut metode *dot enzyme immunoassay* adalah pemeriksaan untuk mendeteksi adanya IgM yang spesifik untuk *S. typhi* dengan menggunakan strip membrane nitroselulosa yang mengandung protein spesifik 50kDa dan antigen kontrol. Pemeriksaan Typhidot-M adalah pemeriksaan diagnostik yang sederhana, efektif, sensitif, teruji cepat (hanya 3 jam dibandingkan dengan 48 jam untuk kultur darah dan 24 jam untuk tes Widal) namun keterbatasan pada biaya merupakan hambatan dari pemeriksaan ini (Narayanappa et al., 2010).

b. Tes TUBEX

Tes tubex adalah salah satu tes aglutinasi kompetitif semi-kuantitatif yang cepat (<2 menit) serta sederhana untuk mendeteksi keberadaan antibodi IgM terhadap antigen *S.typhi* lipopolisakarida (LPS) O-9 menggunakan mikrosfer berwarna untuk meningkatkan sensitivitas. dan antibodi IgG tidak terdeteksi sehingga dalam mendiagnosis infeksi akut tes ini sangat akurat .

c. Tes dipstick

Tes dipstick *Salmonella* adalah tes untuk mendeteksi adanya antibody IgM terhadap *S. typhi* berdasarkan ikatan antara antigen LPS *S. typhi* dan antigen IgM spesifik *S. typhi* dengan menggunakan peralatan yang sederhana dan menggunakan komponen stabil yang dapat disimpan selama selama lebih dari dua tahun diluar lemari pendingin. Dipstick ini terdiri dari dua strip pita membrane nitroselulosa yang tersusun secara horizontal yaitu pertama sebagai pita yang mendeteksi (garis antigen imobilisasi selebar 2mm) dan sebagai control reagen (garis terpisah dari antibody IgM *anti-human* yang melekat pada penyangga yang kaku (Hatta et al., 2002).

d. Tes Hemaaglutinasi (HA)

Pada berbagai negara, telah banyak penelitian tentang kegunaan tes hemaaglutinasi. Beberapa studi di India, uji anti LPS HA menunjukkan hasil

sensitivitas sebesar 60% dan spesifisitas sebesar 98,2% dengan nilai prediksi negatif 96,7% dan nilai prediksi positif 66,7%. Tes HA dapat dijadikan sebagai pemeriksaan alternatif selain tes widal di wilayah endemik DT karena ada beberapa studi menunjukkan bahwa tes HA pasif sebanding dengan tes Widal (Wain & Hosoglu, 2008).

F. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi IgG, antibodi IgM dan IgA terhadap antigen LPS O9, antibodi IgG terhadap antigen *flagella d* (Hd) dan antibodi terhadap antigen Vi *S. typhi*. Metode yang paling umum = digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen *S. typhi* dalam sampel klinis yaitu *double antibody sandwich* ELISA. Untuk diagnosis yang akurat, sensitifitas dan spesifitas Elisa igG/IgM lebih tinggi dibandingkan dengan tes widal. Dengan menggunakan teknik yang sama, Chaicumpa dkk (1992) memeriksa sampel urin dan memperoleh hasil sensitivitas 65% dengan tes tunggal dan pada pemeriksaan kontinu sensitivitas 95% dan spesifisitas 100%. Pada sampel darah tes ini memiliki sensitivitas sebesar 95%, pada sampel feses sensitivitas sebesar 73% dan pada sumsum tulang sensitivitas sebesar 40% (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

G. PEMERIKSAAN BIOLOGI MOLEKULER DEMAM TIFOID

Tingkat bakterimia yang rendah dapat menunjukkan hasil negative pada pemeriksaan kultur darah, namun PCR mampu mendeteksi *S. typhi* pada penderita dengan kultur darah negatif dengan hasil positif 57% (Massi, Muhammad Nasrum et al., 2003).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan metode pemeriksaan biologi molekuler untuk mendeteksi keberadaan DNA *S. typhi* dengan amplifikasi (perbanyak) primer oligonukleotida tertentu dengan cara in vitro dari DNA gen flagellin *S. typhi*. Dengan PCR jumlah nanogram DNA template mampu diperbanyak 10⁵-10⁶-kali lipat (Massi, Muhammad Nasrum et al., 2003), (Sucipta, 2015).

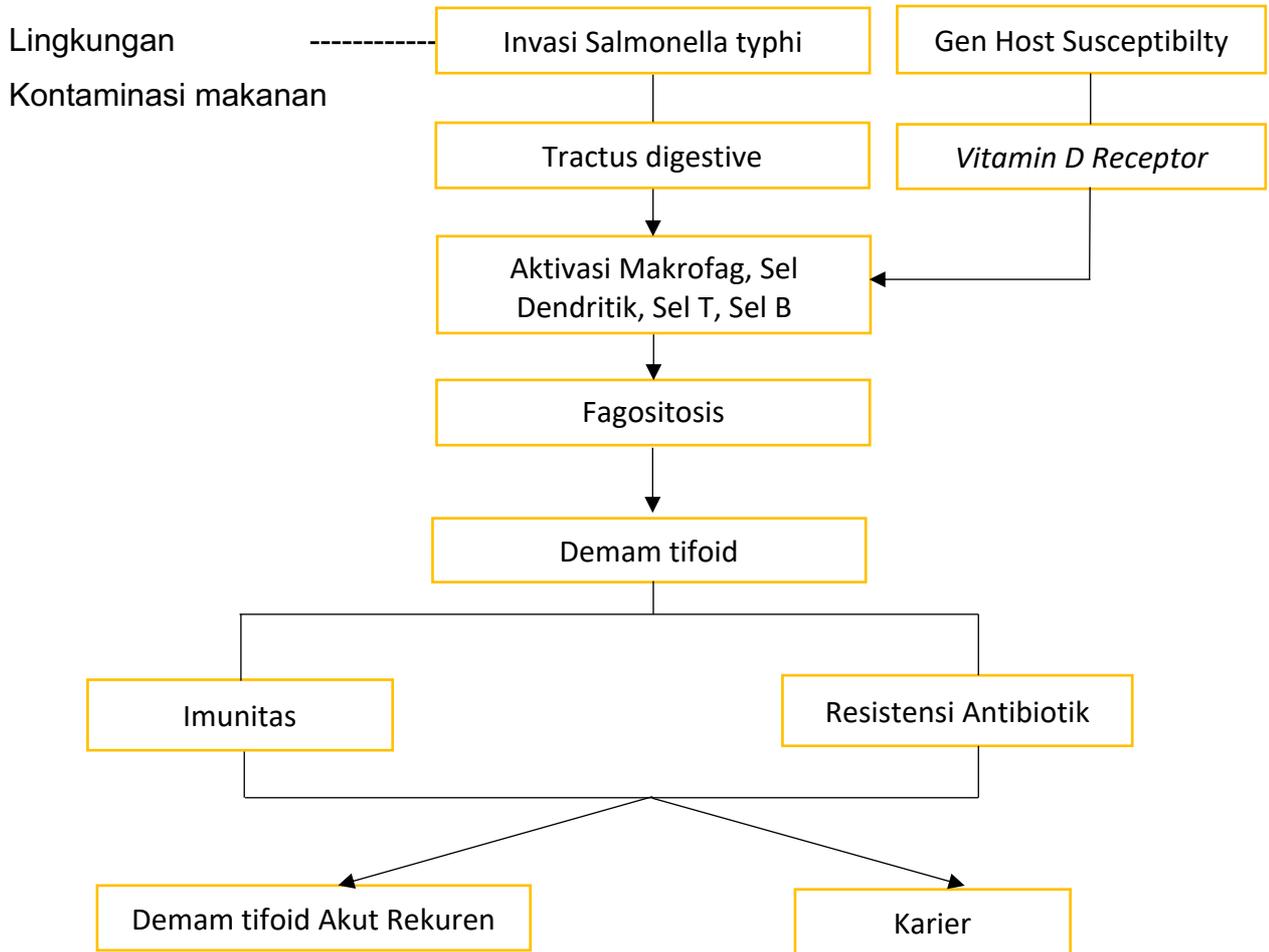
Pemeriksaan PCR untuk *S.typhi* menggunakan primer H1-d dan mampu mendeteksi urutan gen dari *S. typhi* dengan cepat (dalam beberapa jam). Nilai diagnostik PCR merupakan nilai diagnostik tertinggi untuk pemeriksaan DT dengan hasil sensitivitas dan spesifitas serta efektifitas yang sama antara PCR urin dan PCR darah. Dalam beberapa studi, metode PCR dengan DNA *S. typhi* menunjukkan positif pada semua sampel dengan spesifitas 100% (Ambati et al., 2007), (Kumar et al., 2002).

Modifikasi PCR terbaru yaitu metode nested PCR setelah Song dan kawan-kawan menggunakan pemeriksaan metode ini untuk pemeriksaan bakteri *S.typhi* pada spesimen darah. Pada amplifikasi pertama digunakan sepasang primer untuk amplifikasi sebanyak 40 siklus dengan waktu 1 menit pada 94°C, 75 detik pada 5°C, dan 3 menit pada 72°C dalam termosikler,

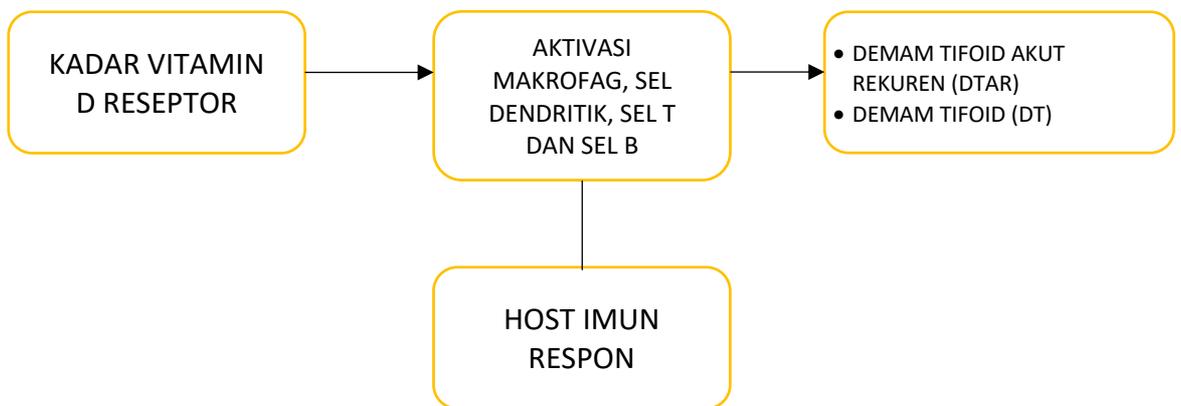
kemudian dipindahkan ke tabung lain, dengan menggunakan sepasang primer yang spesifik terhadap internal *sequence* dari data produk PCR yang dihasilkan pada putaran pertama. PCR kedua juga menggunakan 40 siklus dengan penggunaan waktu dan suhu yang sama, setelah itu, hasil amplifikasi ini dideteksi dengan menggunakan elektroforesis gel (Hatta & Smits, 2007b).

Penggunaan PCR masih terbatas dalam laboratorium klinis dikarenakan jika proses teknis tidak dilakukan dengan hati – hati, yang terjadi adalah resiko kontaminasi tinggi yang dapat mengakibatkan hasil positif, bahan sampel dapat menghambat proses PCR, biaya yang cukup tinggi, dan relatif lebih rumit (Massi, Muhammad Nasrum et al., 2005).

H. KERANGKA TEORI



I. KERANGKA KONSEP



Variabel independen

Variabel antara

Variabel dependen

J. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini ialah:

1. Kadar protein VDR pada DTAR lebih rendah dibandingkan DT
2. Kadar protein VDR pada DTAR lebih rendah dibanding OS
3. Kadar protein VDR pada DT lebih rendah dibanding OS
4. Terdapat hubungan antara titer widal dengan kadar protein VDR penderita DTAR dan DT

K. Definisi Operasional

1. DTAR adalah penderita DT dengan kultur darah positif yang datang kembali kerumah sakit/Puskesmas setelah 1 minggu terapi selesai dengan gejala dari penyakit yang sama dan melibatkan organ yang sama dengan interval irregular.
2. DT adalah penderita yang memiliki gejala demam dengan suhu diatas $37,5^{\circ}$ C, lebih dari 3 hari dan telah melalui pemeriksaan dokter dan dinyatakan DT berdasarkan hasil kultur darah positif.
3. OS adalah orang yang tidak menderita DT atau penyakit infeksi lain dan diambil sampel darahnya dari Unit Trsfusi Darah (UTD) Makassar
4. Protein VDR diambil dari serum penderita DTAR,DT dan OS, kemudian dilakukan pemeriksaan kadarnya dengan teknik ELISA dan dinilai dengan satuan ng/mL.
5. Kultur positif : Dari darah teridentifikasi *S. typhi* berdasarkan pewarnaan Gram,tes kultur dan tes biokimia

6. Widal test : suatu reaksi aglutinasi antara antigen *S. typhi* dan antibody yang disebut aglutinin.
7. Widal positif: hasil titer secara serial dilusi dengan menggunakan kit Widal test menunjukkan dilusi 1/160 , 1/320 atau lebih