

**DETEKSI MOLEKULAR *Cryptococcus Species*
PADA SPESIMEN DARAH HASIL BIAKAN NEGATIF
DI RUMAH SAKIT UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

Molecular Detection of Cryptococcus species on Negative Culture Blood

Specimen in Hasanuddin University Hospital Makassar



Oleh:

dr. Kurniati Kasman

C195172001

Pembimbing:

dr. Baedah Madjid, Sp.MK(K)

dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2022

DETEKSI MOLEKULAR *Cryptococcus Species* PADA SPESIMEN
DARAH HASIL BIAKAN NEGATIF DI RUMAH SAKIT UNIVERSITAS
HASANUDDIN MAKASSAR

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Mikrobiologi Klinik

Disusun dan diajukan oleh

KURNIATI KASMAN

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
MIKROBIOLOGI KLINIK FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

KARYA AKHIR
DETEKSI MOLEKULAR CRYPTOCOCCUS PADA SPESIMEN DARAH
HASIL BIAKAN NEGATIF DI RUMAH SAKIT
UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh :

Kurniati Kasman

Nomor Pokok : C195172001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

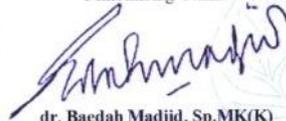
Pada Tanggal 12 Desember 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



dr. Baedah Madjid, Sp.MK(K)



dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D, Sp.MK

Ketua Program Studi Mikrobiologi Klinik
Fakultas Kedokteran UNHAS

Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS


Prof. dr. Mochammad Hatta, Sp.MK(K)
NIP. 197310312008011009
Prof. Dr. Haezmi Rasyid, M.Kes., Sp.PD-KGH., Sp.GK.
NIP. 1968530 1996032001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kurniati Kasman

Nomor Pokok : C195172001

Program Studi : Mikrobiologi Klinik

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

Makassar, 7 Desember 2022

yang menyatakan,



KURNIATI KASMAN

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas terselesaikannya tesis yang berjudul “Deteksi Molekular *Cryptococcus Species* pada Spesimen Darah Hasil Biakan Negatif di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar”. Salam dan salawat tak lupa pula kami kirimkan untuk Nabi Besar Muhammad SAW.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga kami haturkan kepada:

1. dr. Baedah Madjid, Sp.MK(K) sebagai penasehat utama yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini.
2. dr. Rizalinda Syahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK selaku anggota penasehat yang juga telah membimbing dan mengarahkan dalam penyusunan tesis ini.
3. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K) selaku Ketua Program Studi Mikrobiologi Klinik dan juga selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberi saran perbaikan tesis ini.
4. Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD-KPTI selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberi saran perbaikan tesis ini.
5. dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK(K) selaku Sekretaris Program Studi Mikrobiologi Klinik dan juga selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberi saran perbaikan tesis ini.
6. Suami, Andi Irvan, SE, MM dan anak-anak kami tercinta Andi Rajata Muhammad Shiddiq dan Andi Queena Khadijah Saliha, dan juga keluarga besar terutama keempat orang tua kami atas support yang diberikan agar kami dapat menempuh pendidikan PPDS.

7. Para dosen dan teman-teman Prodi Mikrobiologi Klinik yang tak sedikit pula bantuan dan dorongan semangatnya.

Penulis persembahkan tesis ini sebagai rasa terima kasih yang tulus. Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kami mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikannya.

Makassar, 7 Desember 2022

Kurniati Kasman

ABSTRAK

KURNIATI KASMAN. *Deteksi Molekular Cryptococcus species pada Spesimen Darah Hasil Biakan Negatif di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar* (dibimbing oleh Baedah Madjid dan Rizalinda Sjahril).

Cryptococcus species adalah genus jamur penyebab *cryptococcosis* dan merupakan jamur golongan *basidiomycota*. Jamur ini berbentuk bulat hingga oval dengan diameter 5-10 mm dan dikelilingi oleh kapsul polisakarida. Jenis jamur ini memiliki kecenderungan utama untuk menyebabkan penyakit paru, meningitis, hingga sepsis. Jamur yang paling sering menjadi pathogen pada manusia, yaitu *Cryptococcus neoformans* dan *Cryptococcus gattii*. Mikroorganisme melalui pemeriksaan kultur darah adalah metode yang dapat dilakukan dalam menegakkan mikroorganisme penyebab sepsis. Penelitian ini bertujuan mengetahui ada tidaknya species *cryptococcus* dari kultur darah yang tidak ditemukan mikroba. Penelitian dilakukan menggunakan metode observatif deskriptif dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan menemukan *cryptococcus species* pada darah yang pada pemeriksaan sebelumnya dengan metode biakan tidak ditemukan mikroba di RSPTN Unhas. Hasil penelitian menunjukkan *cryptococcus species* jenis *cryptococcus neoformans* dan *cryptococcus gattii* tidak ditemukan pada 134 (100%) specimen dari kultur darah negatif pasien. Hal ini karena pasien memang tidak terinfeksi oleh spesies jamur ini. Hasil PCR *cryptococcus* negatif pada pemeriksaan kultur darah biakan negatif karena pasien memang tidak terinfeksi *cryptococcus species*. Dapat pula karena sampel telah tersimpan lama. Selain itu, pemeriksaan kultur darah untuk deteksi *cryptococcus* kurang sensitif.

Kata kunci: *Cryptococcus*, kultur darah negatif, PCR



ABSTRACT

KURNIATI KASMAN. *Molecular Detection of Cryptococcus Species on Blood Specimen of Negative Culture at Universitas Hasanuddin Hospital of Makassar* (supervised by Baedah Madjid and Rizalinda Sjahril)

Cryptococcus species that is a genus of fungi that cause cryptococcosis, is a fungus belonging to the Basidiomycota group, round to oval in shape with a diameter of 5-10 mm surrounded by a polysaccharide capsule that has the main tendency to cause lung disease, meningitis to sepsis and the most common pathogens in humans are Cryptococcus neoformans and Cryptococcus Gattai. Microorganism through blood culture examination is a method that can be used to establish the microorganisms that cause sepsis. This study aims to determine whether there are Cryptococcus species from blood cultures in which no microbes are found. The study used an observational descriptive method with a cross-sectional approach to find Cryptococcus species in blood in which in the previous examination with culture method microbes were not found at Education Hospital of Hasanuddin University. The results show that Cryptococcus species including Cryptococcus neoformans and Cryptococcus Gattai are not found in 138 (100%) specimens in the patient with negative blood culture. This is because the patient is not infected by this bacterial species. In conclusion, negative results on blood culture examination can be caused by the fact that the sample has been stored for a long time. Besides, the blood culture examination for the detection of Cryptococcus is less sensitive, but this condition can also be caused by the patient's blood that is not infected with Cryptococcus species.

Keywords: cryptococcus, negative blood culture, PCR



DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	v
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Pertanyaan Penelitian.....	5
1.4. Tujuan Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1.1.5. Identifikasi Laboratorium <i>Cryptococcus</i>	7
2.1.2.2. Epidemiologi <i>Cryptococcosis</i>	19
2.1.2.5. Patomekanisme <i>Cryptococcosis</i>	23
2.1.2.6. Manifestasi Klinis <i>Cryptococcosis</i>	26
3.1. Kerangka Konsep.....	33
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	36
4.1. Jenis Penelitian.....	36
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	36
4.3. Populasi dan Subyek Penelitian.....	36
4.5. Jumlah Subyek.....	38
4.7. Alur Penelitian.....	40
4.8. Prosedur Kerja.....	40
4.9. Alat dan Bahan Penelitian.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul Tabel	Halaman
Tabel 1	Alat dan bahan penelitian	
Tabel 2	<i>Dummy table</i> Distribusi Karakteristik Responden	
Tabel 3	<i>Dummy table</i> Proporsi <i>Cryptococcus</i> pada Penderita Sepsis yang Dirawat di Rumah Sakit Pendidikan Tinggi Nasional (RSPTN) Universitas Hasanuddin Makassar	
Table 4	<i>Dummy table</i> Distribusi Species <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar	
Table 5	<i>Dummy table</i> Distribusi spesies <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar berdasarkan Usia	
Table 6	<i>Dummy table</i> Distribusi spesies <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar berdasarkan Jenis Kelamin	
Table 7	Distribusi Karakteristik Responden	
Table 8	Proporsi <i>Cryptococcus</i> pada Penderita Sepsis yang Dirawat di Rumah Sakit Pendidikan Tinggi Nasional (RSPTN) Universitas Hasanuddin Makassar	
Table 9	Distribusi Species <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar	

Table 10	Distribusi spesies <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar berdasarkan Usia	
Table 11	Distribusi spesies <i>Cryptococcus</i> yang Ditemukan pada Darah Penderita Sepsis yang Dirawat di RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar berdasarkan Jenis Kelamin	

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul Gambar	Halaman
Gambar 1	Pohon Filogenetik Genus <i>Cryptococcus</i>	
Gambar 2	Distribusi <i>Cryptococcus meningitis</i> diberbagai benua	
Gambar 3	Representasi skema dari kerusakan sel inang yang dimediasi <i>C. neoformans</i> pada berbagai skala	
Gambar 4	Penampakan <i>C. neoformans</i> mikroskopis pewarnaan tinta india cairan serebrospinalis	
Gambar 5	Bagian paru yang diwarnai dengan HE. Pola histologis <i>Cryptococcosis</i> .	
Gambar 6	Koloni <i>Cryptococcus</i> pada media agar darah	
Gambar 7	Jamur <i>Cryptococcus</i> dalam kultur. Koloni yang diisolasi pada agar Sabouraud	

Gambar 8	Pemeriksaan CrAg lateral flow assay	
Gambar 9	Presentasi skema dari prinsip PCR	
Gambar 10	Kerangka teori	
Gambar 11	Kerangka konsep	
Gambar 12	Alur penelitian	

DAFTAR SINGKATAN

No.	Singkatan	Kepanjangan atau arti
	mm	milimeter
	%	persen
	AIDS	Acquired Immunodefficiency Syndrome
	SSP	Susunan saraf pusat
	HIV	Human Immunodeficiency Virus
	μm	mikrometer
	var.	varian
	CSF	Cairan serebrospinal
	HE	hematoxilin dan eosin
	GMS	Grocott's methenamine silver
	MM	<i>mucicarmine Mayer</i>

	SAB	Sabouraud
	BHI	brain-heart infusion
	°	derajat
	C	Celcius
	CGB	<i>canavanine-glycine-bromothymol blue</i>
	CrAg	antigen kapsuler polisakarida <i>cryptococcal</i>
	LFA	lateral flow assay
	FDA	Food and drug administration
	DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
	PCR	polymerase chain reaction
	IDSA	Infectious Diseases Society of America
	mg	Milligram
	kg	kilogram

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cryptococcus adalah genus jamur penyebab *cryptococcosis*, termasuk jamur golongan basidiomycota, berbentuk bulat hingga oval dengan diameter 5-10 mm yang dikelilingi oleh kapsul polisakarida (Fothergill 2015; Gazzoni et al. 2009). Ada 2 spesies *Cryptococcus* yang paling sering menjadi patogen pada manusia yaitu *Cryptococcus neoformans* dan *Cryptococcus gattii*, yang bisa dibagi lagi menjadi 3 varietas, berdasarkan perbedaan struktural dalam kapsul polisakarida terdiri dari 5 serotipe, dan 8 sub tipe molekuler (Curi, Lazera & Vasconcelos-Santos 2016).

Cryptococcus pertama kali dilaporkan sebagai agen infeksi penyebab infeksi berat pada akhir abad ke-19 masehi. Dilaporkan hampir satu juta kasus *cryptococcal meningitis* pada tahun 2006, dengan jumlah kematian mencapai 625.000 pada 3 bulan pertama setelah terinfeksi (Mora-Montes and Lopes-Bezerra, 2017). Di Jakarta sendiri prevalensi kriptokokkal meningitis pada pasien AIDS sebesar 21,9% (Adawiyah and Wahyuningsih, 2012). Diperkirakan jumlah kasus *cryptococcal meningitis* terkait AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) akan terus berkurang seiring dengan semakin awalnya deteksi *Cryptococcus* dan semakin baiknya terapi anti jamur di berbagai negara. Namun,

cryptococcosis tetap menjadi penyakit infeksi paling fatal bagi penderita AIDS di seluruh dunia (Mora-Montes and Lopes-Bezerra, 2017).

Cryptococcus species memiliki kecenderungan utama untuk menyebabkan penyakit paru, meningitis hingga sepsis (Fothergill, 2015). Bagian tubuh lain yang lebih jarang terkena infeksi termasuk kulit, prostat, mata, dan tulang/sendi. Namun, harus ditekankan bahwa jamur ini dapat menyebar luas dan menginfeksi sebagian besar organ pada pasien dengan immunosupresi berat dan dengan demikian memiliki kemampuan untuk muncul di bagian tubuh manusia mana pun (Curi, Lazera & Vasconcelos-Santos 2016). *C. neoformans*, patogen utama pada genus *Cryptococcus*, dan *C. gattii*, patogen yang sedang naik daun terutama pada daerah pasifik barat laut Amerika, telah menjadi penyebab utama infeksi oportunistik pada pasien dengan AIDS. Kedua spesies ini sama-sama menargetkan pasien-pasien *immunocompromised*, namun sangat penting untuk membedakannya karena penanganan dan terapinya bisa berbeda (Fothergill, 2015).

Prevalensi infeksi *Cryptococcus* pada sistem saraf pusat (SSP) dalam sebuah studi kohort pada pasien human immunodeficiency virus (HIV)-seropositif dilaporkan sebanyak 46%. Keterlibatan sistem saraf pusat lebih sering terjadi pada pasien HIV-positif, sedangkan keterlibatan paru lebih sering terjadi pada pasien HIV-negatif. Beberapa bentuk penyakit defisiensi imun ditemukan pada 91% pasien yang terinfeksi *Cryptococcus*, diluar terinfeksi HIV, termasuk sirosis hati (36%), diabetes

mellitus (33%), dan penyakit autoimun (27,3%) (Li & Mody 2010). Sebuah penelitian dari Uganda melaporkan bahwa 11% pasien rawat inap dengan infeksi human immunodeficiency virus (HIV) memiliki *cryptococcosis* paru sebagai infeksi sekunder. Penelitian terbaru dari Thailand mencatat bahwa 13% pasien HIV dengan pneumonia memiliki antigen *cryptococcosis* dalam serum, meskipun sepertiga dari populasi ini tidak memiliki meningitis *cryptococcosis*. Sebuah penelitian sebelumnya melaporkan bahwa 67% dari *cryptococcosis* paru pada pasien imunokompeten dapat menyebar ke dalam sistem saraf pusat menyebabkan meningitis *cryptococcosis* (Setianingrum, Rautemaa-Richardson & Denning 2019). Data mengenai infeksi *Cryptococcus sp* di Indonesia sendiri sangatlah minim dan dianggap belum menggambarkan kejadian sebenarnya di lapangan. Namun laporan Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia mencatat terjadi peningkatan kasus meningitis oleh *Cryptococcus neoformans* pada tahun 2004 sebesar 21,9%. (Mustiani, Jiwintarum and Jiwantoro, 2019).

Pada system inkubasi otomatis BacT/Alert ditemukan hasil 2,6 % negatif palsu (24/904), dimana 4,2% (1/24) diantaranya teridentifikasi sebagai *Candida albicans* dan sisanya adalah bakteri patogen lain seperti Coagulase negative *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus spp*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumonia* dan *Neisseria spp* (Kocoglu, Bayram and Balci, 2005). Menimbang penelitian tersebut maka kami ingin melihat apakah ada *Cryptococcus sp.* yang tidak terdeteksi

melalui sampel darah pada inkubasi otomatis BacT/Alert dengan pemeriksaan molekuler (PCR) untuk melihat apakah ada tidaknya hasil negatif palsu dan melihat proporsi negatif palsu pada sampel-sampel tersebut.

Model deteksi laboratorium untuk *Cryptococcus* didasarkan pada pemeriksaan langsung, kultur jamur, tes biokimia, dan imunodiagnosis. Namun, prosedur-prosedur tersebut memiliki keterbatasan yang dapat menghambat diagnosis akhir (Sidrim *et al.*, 2010). *Cryptococcus* dapat dibiakkan dengan mudah dari sampel seperti cairan serebrospinal, sputum, dan biopsi kulit pada media kultur jamur rutin (Curi *et al.*, 2016). Metode mikroskopis dan kultur, meskipun spesifik, menunjukkan sensitivitas 50-80% serta membutuhkan waktu dan membutuhkan lebih banyak tenaga kerja dan volume sampel yang besar (Saha *et al.*, 2009). Saat ini, meskipun tidak diterapkan dalam diagnosis rutin, ada metode molekuler yang tersedia untuk mendeteksi sekuens gen spesifik kompleks *Cryptococcus* dari spesimen dan kultur. Alat molekuler memiliki sensitivitas dan spesifitas deteksi yang tinggi, dengan potensi untuk mengatasi keterbatasan diagnosis konvensional, dan dapat digunakan untuk identifikasi, dan studi epidemiologi molekuler (Sidrim *et al.*, 2010). Pengetahuan ini mendukung perlunya studi deteksi terhadap infeksi *Cryptococcus* berdasarkan pemeriksaan molekuler. Dari berbagai studi yang dilaporkan bahwa deteksi *Cryptococcus* dengan pemeriksaan molekuler mempunyai tingkat sensitivitas dan spesifitas lebih tinggi

dibandingkan kultur darah. Publikasi studi deteksi molekuler *Cryptococcus* di Indonesia khususnya Makassar perlu dilakukan secara periodik dan berkelanjutan.

1.2. Rumusan Masalah

Cryptococcus species adalah jamur patogen penyebab Cryptococcosis, penyakit yang dapat menyebabkan sepsis dan berakibat fatal terutama pada pasien-pasien dengan penyakit defisiensi imun, tersebar di berbagai penjuru dunia. Berdasarkan hal tersebut di atas maka yaitu rumusan masalah penelitian ini adalah: “Apakah bisa ditemukan *Cryptococcus species* pada spesimen darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba?”

1.3. Pertanyaan Penelitian

1.3.1. Apakah secara molekuler bisa ditemukan *Cryptococcus neoformans* pada darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba?

1.3.2. Apakah secara molekuler bisa ditemukan *Cryptococcus gattii* pada darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba?

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Untuk menemukan *Cryptococcus species* secara molekuler pada darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba.

1.4.2. Tujuan khusus

- a. Untuk menemukan *Cryptococcus neoformans* secara molekuler pada darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba.
- b. Untuk menemukan *Cryptococcus gattii* secara molekuler pada darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi sebelumnya tidak ditemukan mikroba.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan acuan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya tentang *Cryptococcus* di Makassar.

1.5.2. Manfaat untuk Instansi Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan bagi instansi penyedia layanan kesehatan dalam upaya penanganan penderita

tentang kemungkinan adanya infeksi dengan *Cryptococcus species* untuk membuat kebijakan dalam diagnosis penderita dengan manifestasi klinis dan penyakit komorbid dengan hasil biakan darah negatif untuk pemeriksaan lanjutan deteksi molekuler deteksi *Cryptococcus species*.

1.5.3. Manfaat untuk Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengalaman peneliti dalam mengaplikasikan ilmu pengetahuan tentang *Cryptococcus species*.

1.6. Keterbaruan Penelitian

Penelitian tentang *cryptococcosis* di Indonesia masih kurang, karenanya melalui penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan data *Cryptococcus species* penyebab *cryptococcosis*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Landasan Teori

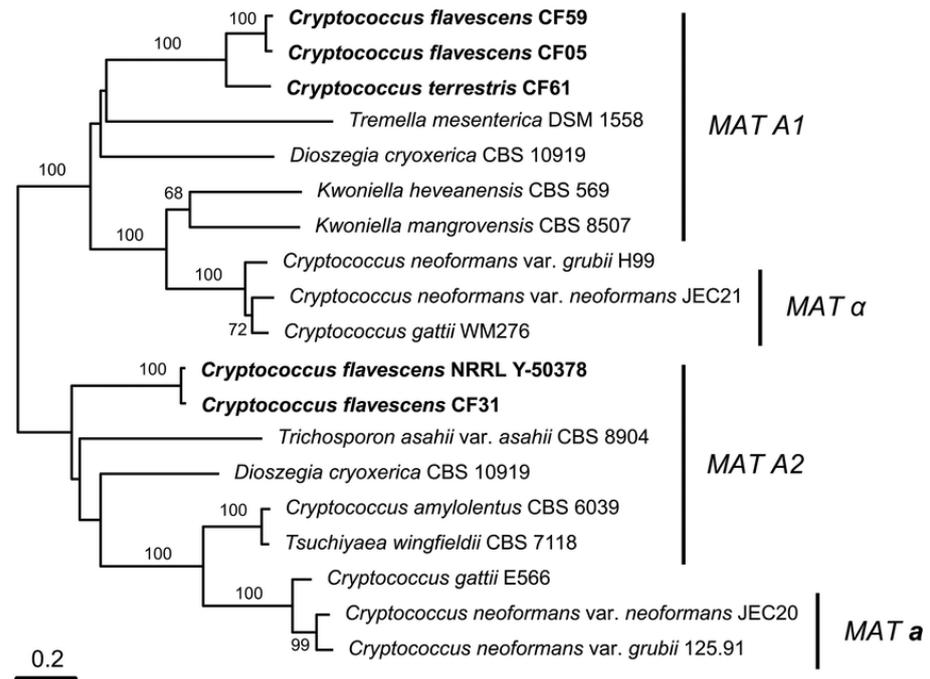
2.1.1. *Cryptococcus species*

2.1.1.1. Definisi *Cryptococcus species*

Cryptococcus species adalah jamur penyebab penyakit *cryptococcosis*, merupakan jamur golongan basidiomycota, berbentuk bulat hingga oval dengan diameter 5-10 μm yang dikelilingi oleh kapsul polisakarida (Fothergill 2015; Gazzoni et al. 2009). Ada 2 spesies *Cryptococcus* yang paling sering menjadi patogen pada manusia yaitu *Cryptococcus neoformans* dan *Cryptococcus gattii*, yang bisa dibagi lagi menjadi 3 varietas, berdasarkan perbedaan struktural dalam kapsul polisakarida terdiri dari 5 serotipe, dan 8 subtipe molekuler (Curi, Lazera & Vasconcelos-Santos 2016).

2.1.1.2. Klasifikasi Genus *Cryptococcus*

2.1.1.2.1. Klasifikasi *Pylogenetic Genus Cryptococcus*



Gambar 1. Pohon Filogenetik Genus *Cryptococcus*.

Sumber: (Yurkov *et al.*, 2015).

2.1.1.2.2. **Klassifikasi Molekular Genus *Cryptococcus***

Metode identifikasi molekuler telah meningkatkan keragaman genetik yang signifikan di antara kompleks *C. gattii*- *C. neoformans* dan sistem klasifikasi 2 spesies saat ini. Hanya ada 2 spesies yang diketahui menyebabkan penyakit pada manusia, *C. neoformans* dan *C. gattii*. Saat ini, divisi berikut telah dijabarkan yakni *C. neoformans* var. *grubii* (serotipe A) dengan 3 genotipe (VNI, VNII, VNB); *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipe D atau VNIV); dan 5 spesies samar lainnya, *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii*, dan *C. decagattii* (serotipe B/C atau VGI-IV (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.1.3. **Struktur Genus *Cryptococcus***

Struktur yang khas pada pengamatan mikroskopik, *Cryptococcus* yaitu jamur dengan kapsul polisakarida berbentuk bulat atau oval dengan diameter 4–6 μm , dikelilingi oleh kapsul yang tebalnya bisa mencapai 30 μm . Jamur spheris yang berkembang biak dengan bertunas pada setiap titik di permukaan, kadang-kadang menghasilkan beberapa tunas secara bersamaan di berbagai titik dengan ukuran rata-rata 5,0 – 10 μm dan dapat mencapai ukuran 50 -100 μm (Gazzoni *et al.*, 2009).

2.1.1.4. Siklus Hidup *Cryptococcus Species*

Siklus hidup *Cryptococcus* melibatkan bentuk aseksual dan seksual. Bentuk aseksual adalah jamur enkapsulasi haploid yang bereproduksi secara mitosis dengan tunas dan ditemukan dalam spesimen klinis dan lingkungan. Keadaan seksual diamati saat ini dalam kondisi laboratorium tertentu, menghasilkan meiosis antara 2 jenis pasangan (MAT_a dan MAT_α) untuk membentuk sambungan, basidia dan basidiospora. Strain tipe pasangan mewakili sebagian besar isolat klinis dan lingkungan, mungkin terkait dengan kemampuan mereka untuk menghasilkan buah haploid. Perkawinan sesama jenis antara 2 galur dari jenis yang sama (MAT_α – MAT_α) memang terjadi dan diperkirakan menghasilkan spora infeksius yang menyebabkan infeksi pada manusia (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.1.5. Identifikasi Laboratorium *Cryptococcus*

Biakan menjadi standar baku dalam penegakan diagnosis infeksi *Cryptococcus* tetapi memiliki beberapa kelemahan.. Spesimen

dapat diambil melalui darah dan cairan cerebrospinal. Kultur dapat memakan waktu hingga 7 hari untuk tumbuh dan perlu diinkubasi hingga 10 hari untuk penghitungan kuantitatif. Kultur juga dapat menghasilkan hasil negatif palsu ketika beban *Cryptococcus* rendah, meskipun hasil diagnostik dapat ditingkatkan dengan menggunakan volume cairan spinal serebral yang lebih tinggi. Pengambilan spesimen yang tepat akan membantu proses pemeriksaan dan penegakan diagnosis (Abassi, Boulware and Rhein, 2015).

Diagnosis laboratorium *Cryptococcus* mencakup metode konvensional (pemeriksaan mikroskopis langsung dan histopatologi) biasanya terkait dengan serologi dan isolasi organisme dalam kultur (Gazzoni *et al.*, 2009).

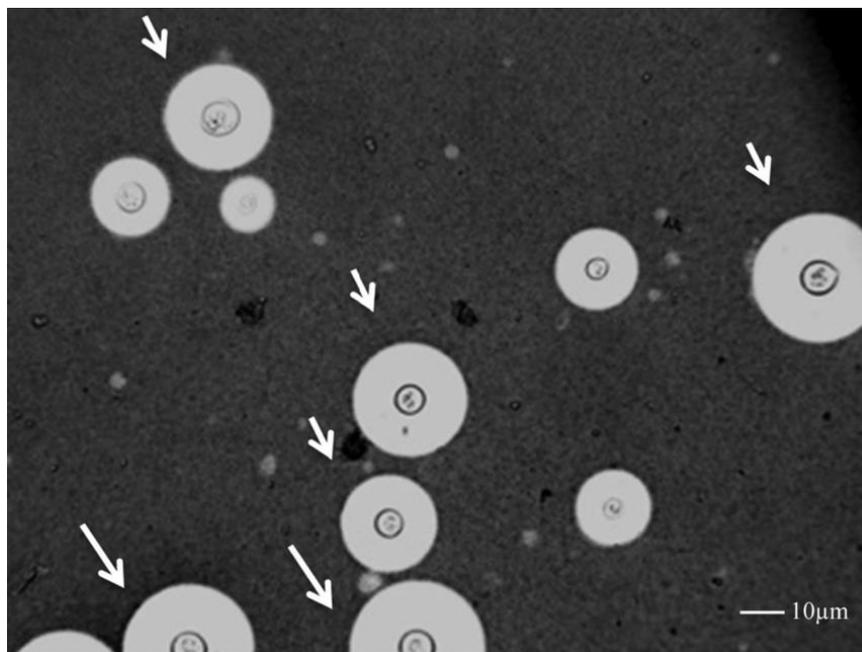
a. Bahan Pemeriksaan

cari teori tentang spesimen

b. Diagnosis Mikroskopis *Cryptococcus* dengan Pewarnaan Negatif.

Mikroskop dengan pewarnaan tinta India secara historis merupakan metode cepat dan sumber daya rendah untuk mendeteksi *Cryptococcus* di CSF. Pewarnaan memenuhi bidang latar belakang, tetapi tidak diambil oleh kapsul *Cryptococcus* yang tebal, membentuk lingkaran cahaya yang dapat divisualisasikan menggunakan mikroskop cahaya. Meskipun sederhana dan mudah diakses di rangkaian terbatas sumber daya, dengan tergantung tingginya infeksi *Cryptococcus* dan sayangnya

pemeriksaan tersebut mempunyai sensitivitasnya rendah (86% jika diperiksa oleh ahli), yang berarti bahwa 1 dari 7 diagnosis terlewatkan oleh mikroskop tinta India. Untuk orang yang mengalami proses penyakit awal dengan beban infeksi yang lebih rendah, sensitivitas tinta India hanya 42% ketika nilai *Cryptococcus* pada CSF <1.000 per ml CSF. Sentrifugasi CSF kemungkinan dapat meningkatkan sensitivitas mikroskop (Rajasingham *et al.*, 2019).



Gambar 4. Penampakan *C. neoformans* mikroskopis pewarnaan tinta india cairan serebrospinalis.

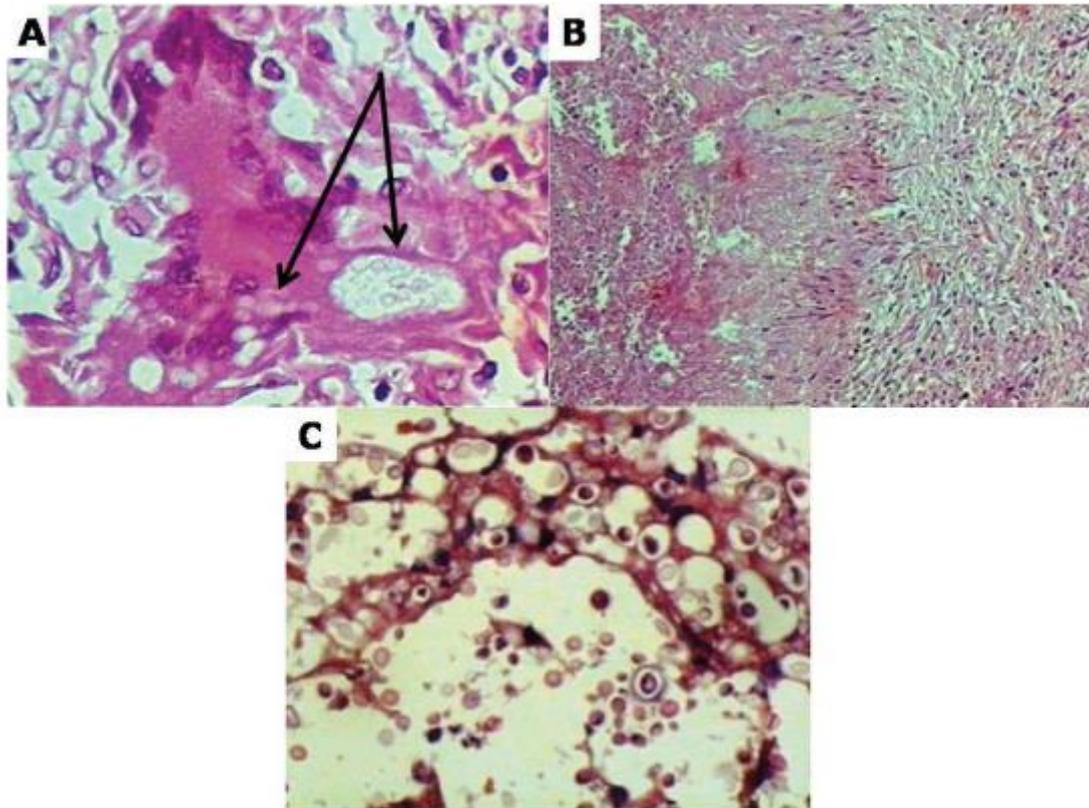
Jamur yang berkapsul terlihat pada pewarnaan tinta india dari cairan serebrospinal pada pasien dengan meningitis *Cryptococcus* (Robertson *et al.*, 2014).

c. Pemeriksaan Histopatologi *Cryptococcus*

Identifikasi secara histopatologi pada spesimen hasil biopsi didasarkan pada karakteristik mikromorfologi *Cryptococcus*, dan termasuk teknik histokimia hematoxilin dan eosin (HE) dan Grocott's silver

(GMS), serta teknik histokimia khusus seperti *mucicarmine Mayer* (MM), yang mewarnai kapsul magenta, dan *Fontana Masson* (FM), yang mewarnai melanin jamur coklat kemerahan (Gazzoni *et al.*, 2009).

Cryptococcus dapat diidentifikasi dengan pewarnaan histologis jaringan dari paru-paru, kulit, sumsum tulang, otak, dan organ lainnya. Pewarnaan histopatologis dan sitologi sedimen CSF yang disentrifugasi dan cairan tubuh lainnya lebih sensitif daripada metode pewarnaan tinta India. Organisme diamati sebagai jamur yang berkembang biak dengan tunas berbasis sempit. Jamur paling baik diidentifikasi dengan pewarnaan khusus yang memberi label pada kapsul polisakarida termasuk mucicarmine, periodik *acid-Schiff*, dan pewarna Alcian blue. Pewarnaan *Fontana-Masson* mengidentifikasi melanin di dinding sel jamur. Pewarnaan jamur lain seperti *Calcofluor*, yang mengikat kitin jamur, atau perak *methenamine Gomori*, yang mewarnai dinding sel jamur, juga digunakan untuk mengidentifikasi organisme dari spesimen klinis (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).



Gambar 5. Bagian paru yang diwarnai dengan HE. Pola histologis *Cryptococcosis*.

A. sel raksasa berinti banyak dari tipe benda asing (x100).

B. inflamasi granulomatosa yang terdiri dari nekrosis, makrofag, limfosit dan aktivitas fibroblastik (x10).

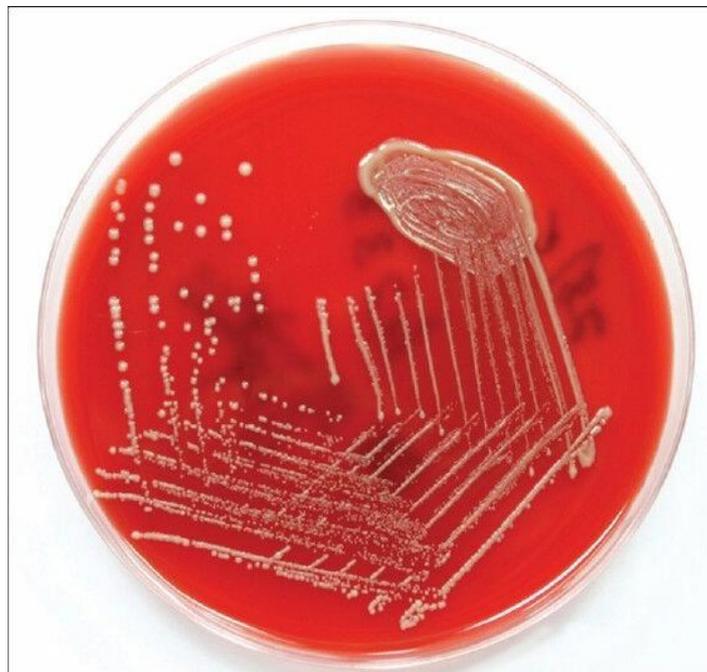
C. bagian dari kelenjar getah bening jaringan limfoid oleh jamur ekstraseluler (x100). Sumber: (Gazzoni *et al.*, 2009).

d. Biakan *Cryptococcus*

Pada pengamatan makroskopik, tampak adanya koloni berwarna putih krem ditumbuhkan dalam kultur media agar darah, yang diidentifikasi sebagai *C. neoformans*. Kapsul jamur terdiri dari polisakarida glucuronoxylomannan dan glucuronoxylomannogalactan yang berkontribusi terhadap virulensi patogen (Bal *et al.*, 2014).

Identifikasi *Cryptococcus* dikonfirmasi dengan isolasi jamur dengan koloni mukoid putih (tergantung pada ketebalan kapsul) setelah kultur

pada media jamur (dalam waktu 48-72 jam), yaitu agar Sabouraud (SAB) pada 25 ° C, dan brain-heart infusion (BHI) pada 35 °C; dan dengan mikroskop dengan menunjukkan adanya sel jamur bulat hingga oval, bertunas pada dasar yang sempit, dengan struktur kapsul di sekitarnya. Spesies dibedakan dengan reaksi pewarnaan ketika ditanam pada agar *canavanine-glycine-bromothymol blue* (CGB) (Gazzoni *et al.*, 2009).



Gambar 6. Koloni *Cryptococcus* pada media agar darah.

Sumber: (Bal *et al.*, 2014).

Biakan CSF dan darah dianggap sebagai standar emas untuk diagnosis *Cryptococcus*. Sayangnya, diagnosis dapat memakan waktu berhari-hari, dan hingga 1 hingga 2 minggu untuk hasil yang pasti. Dengan demikian, metode diagnostik lain telah digunakan untuk mempercepat diagnosis dan pengobatan. Dalam pengaturan penelitian, kultur CSF kuantitatif telah digunakan yang memberikan informasi klinis

yang berharga. Kultur kuantitatif CSF ini mudah dilakukan di laboratorium mikrobiologi mana pun. Teknik sederhana menggunakan 100ul volume CSF dengan lima pengenceran serial 1:10 dalam air, pelapisan pada agar Sabouraud dekstrosa, dan kemudian penghitungan kultur kuantitatif dengan pertumbuhan paling sedikit. Peningkatan beban kultur secara kuantitatif merupakan faktor risiko kematian 2 minggu pada saat kultur, dengan 40% peningkatan kemungkinan kematian per log₁₀ CFU/ml peningkatan CSF dalam pertumbuhan *Cryptococcus* (Rajasingham *et al.*, 2019).



Gambar 7. Jamur *Cryptococcus* dalam kultur. Koloni yang diisolasi pada agar Sabouraud.

Sumber: (Mora-Montes and Lopes-Bezerra, 2017)

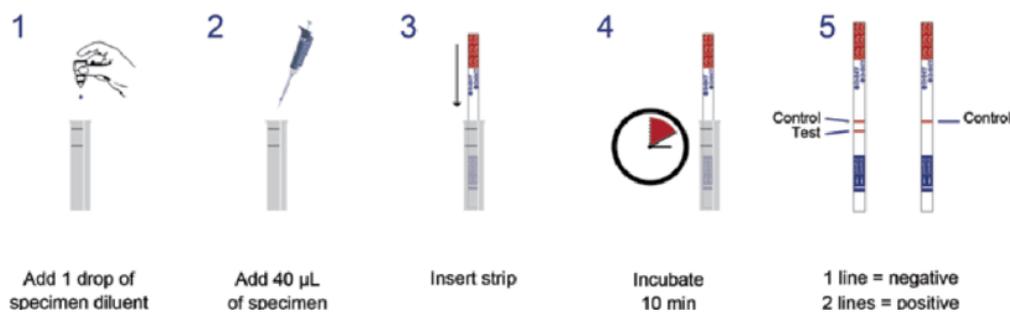
e. Diagnosis Serologi *Cryptococcus*

Diagnosis *Cryptococcosis* meningkat secara signifikan dengan pengembangan tes serologis untuk antigen kapsuler polisakarida *cryptococcal* (CrAg), yang dilepaskan selama infeksi. CrAg dapat

diidentifikasi menggunakan aglutinasi lateks, yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas >99% dalam darah dan CSF. Perbandingan yang lebih baru telah melaporkan sensitivitas 97% hingga 98% dan spesifisitas 86% hingga 100%. Hasil dapat kualitatif, atau semikuantitatif dengan titer dengan pengenceran serial 1:2. Tes aglutinasi lateks mendeteksi antigen polisakarida dari kapsul *Cryptococcus*, tetapi proses melakukan tes memerlukan pengujian di lingkungan laboratorium, dan dengan demikian pekerja laboratorium. Secara keseluruhan, aglutinasi lateks CrAg sekarang merupakan tes kuno, karena aglutinasi lateks lebih mahal, kurang sensitif, kurang spesifik, dan memerlukan pengiriman/penyimpanan rantai dingin (Rajasingham *et al.*, 2019).

CrAg lateral flow assay (LFA), disetujui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan AS (FDA) pada tahun 2011, adalah uji dipstick imunokromatografi yang juga mendeteksi antigen dengan hasil kualitatif atau semikuantitatif. Jika CrAg ada dalam setetes serum, plasma, atau sampel CSF, CrAg akan berikatan dengan antibodi *anticryptococcal* terkonjugasi pada strip tes untuk menyebabkan garis yang terlihat. Tes *dipstick point-of-care* yang disetujui FDA ini telah mengubah lanskap diagnostik meningitis *Cryptococcus*, karena tidak memerlukan infrastruktur laboratorium. Petugas kesehatan setengah terampil tanpa pelatihan laboratorium dapat melakukan tes ini di klinik atau di samping tempat tidur pasien. Tidak diperlukan pendinginan, dan hasilnya tersedia setelah 10 menit. Sebaliknya, pengujian CrAg berbasis laboratorium menggunakan

aglutinasi lateks membutuhkan waktu sekitar 5 jam dari pemesanan pengujian (Rajasingham *et al.*, 2019).



Gambar 8. Pemeriksaan CrAg lateral flow assay.

Sumber: (Robertson *et al.*, 2014)

f. Identifikasi molekuler *Cryptococcus*

Pemeriksaan molekuler memiliki sensitivitas dan spesifisitas deteksi yang tinggi, dengan potensi untuk mengatasi keterbatasan diagnosis konvensional, dan dapat digunakan untuk identifikasi, dan studi epidemiologi molekuler. Alat dan teknik pemeriksaan molekuler utama berdasarkan deteksi *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan identifikasi agen utama *Cryptococcosis* yang diperoleh dari spesimen klinis (Sidrim *et al.*, 2010).

Di antara beberapa teknik untuk memanipulasi dan memperoleh data dari DNA, polymerase chain reaction (PCR) (yang muncul pada akhir 1980-an) memungkinkan amplifikasi segmen kecil dan spesifik genom, memungkinkan perolehan secara *in vitro* dari banyak salinan dari wilayah spesifik dari total DNA. Teknik ini telah memungkinkan kemajuan dalam diagnosis *Cryptococcosis* dengan sensitivitas dan spesifisitas yang cukup

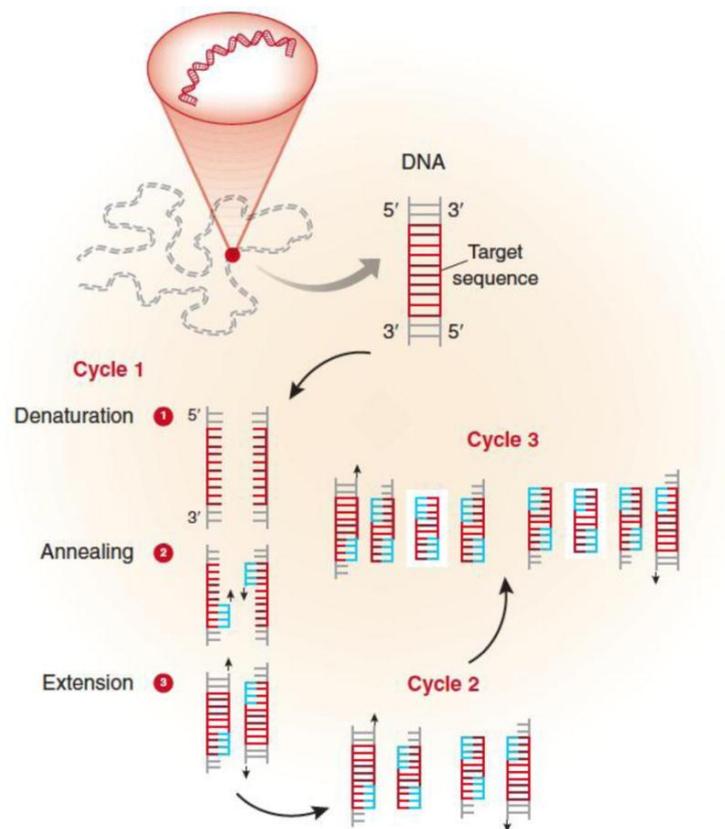
tinggi untuk mendeteksi jumlah minimal spesies kompleks *C. neoformans*. Selain itu, ini adalah metode yang cepat dan mudah dijalankan dan biayanya lebih murah daripada hibridisasi. Selain itu, teknik ini dapat sepenuhnya otomatis dan diterapkan untuk mengidentifikasi jamur dari sampel yang terkontaminasi dan (atau) kultur campuran. PCR juga dapat digunakan dalam kaitannya dengan teknik lain, yang dijelaskan di bagian pengetikan, menjadikannya alat yang berharga untuk studi epidemiologi molekuler (Sidrim *et al.*, 2010).

PCR adalah uji enzimatik yang sederhana, yang memungkinkan amplifikasi fragmen DNA spesifik dari kumpulan DNA yang kompleks. Setiap uji PCR membutuhkan keberadaan DNA template, primer DNA, nukleotida, dan DNA polimerase. DNA polimerase adalah enzim kunci yang menghubungkan nukleotida individu bersama-sama untuk membentuk produk PCR. Nukleotida mencakup empat basa – adenin, timin, sitosin, dan guanin (A, T, C, G) – yang ditemukan dalam DNA. Nukleotida ini bertindak sebagai blok bangunan yang digunakan oleh DNA polimerase untuk membuat produk PCR yang dihasilkan. Primer DNA dalam reaksi menentukan produk DNA yang tepat untuk diamplifikasi. Primer DNA adalah fragmen DNA pendek dengan urutan terdefinisi yang melengkapi DNA target yang akan dideteksi dan diamplifikasi. Primer DNA berfungsi sebagai titik ekstensi untuk DNA polimerase untuk membangun (Carriço *et al.*, 2013).

PCR dapat dilakukan dengan menggunakan DNA sumber dari berbagai jaringan dan organisme, termasuk darah tepi, kulit, rambut, air liur, dan mikroba. Hanya sejumlah jejak DNA yang diperlukan untuk PCR untuk menghasilkan salinan yang cukup untuk dianalisis menggunakan metode laboratorium konvensional. Untuk alasan ini, PCR adalah tes yang sensitif (Carriço *et al.*, 2013).

Ada dua metode utama untuk memvisualisasikan produk PCR: (1) pewarnaan produk DNA amplifikasi dengan pewarna kimia seperti etidium bromida, yang menginterkalasi antara dua untai dupleks atau (2) pelabelan primer PCR atau nukleotida dengan fluoresen pewarna (fluorofor) sebelum amplifikasi PCR. Metode terakhir memungkinkan label untuk langsung dimasukkan ke dalam produk PCR (Carriço *et al.*, 2013).

Saat ini, salah satu metode paling revolusioner untuk diagnosis patogen adalah *real-time* PCR. Teknik ini, yang menggabungkan PCR konvensional dengan penyesuaian untuk mendapatkan tingkat sensitivitas yang jauh lebih tinggi, memungkinkan evaluasi jumlah molekul yang dihasilkan per siklus. *Real-time* PCR adalah salah satu metode paling modern yang diterapkan untuk mempelajari *Cryptococcosis* dan agen etiologi utamanya untuk deteksi dan identifikasi *C. neoformans* dan *C. gattii* yang cepat dan tepat dari kultur atau langsung dari spesimen klinis. Secara khusus, teknik berbasis PCR telah memungkinkan diagnosis patogen yang lebih cepat dan tidak sulit dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (Sidrim *et al.*, 2010).



Gambar 9. Presentasi skema dari prinsip PCR.

Sumber: (Carriço *et al.*, 2013)

Ada banyak keuntungan dari PCR. Pertama, teknik ini sederhana untuk dipahami dan digunakan, serta menghasilkan hasil yang cepat. PCR adalah teknik yang sangat sensitif dengan potensi untuk menghasilkan jutaan hingga miliaran salinan produk tertentu untuk pengurutan, kloning, dan analisis. Dengan demikian, dapat digunakan untuk menganalisis perubahan tingkat ekspresi gen pada tumor, mikroba, atau keadaan penyakit lainnya (Carriço *et al.*, 2013).

Meskipun PCR adalah teknik yang baik namun teknik ini memiliki keterbatasan. Karena PCR adalah teknik yang sangat sensitif, segala

bentuk kontaminasi sampel oleh DNA dalam jumlah sedikit pun dapat menghasilkan hasil yang menyesatkan. Selain itu, untuk merancang primer DNA untuk PCR, diperlukan beberapa data sekuens sebelumnya. Oleh karena itu, PCR hanya dapat digunakan untuk mengidentifikasi ada atau tidak adanya patogen atau gen yang diketahui. Keterbatasan lain adalah bahwa primer DNA yang digunakan untuk PCR dapat mengenali secara non-spesifik ke sekuens yang serupa, tetapi tidak sepenuhnya identik dengan DNA target. Selain itu, nukleotida yang salah dapat dimasukkan ke dalam urutan PCR oleh DNA polimerase, meskipun pada tingkat yang sangat rendah (Carriço *et al.*, 2013).

2.1.2. *Cryptococcosis*

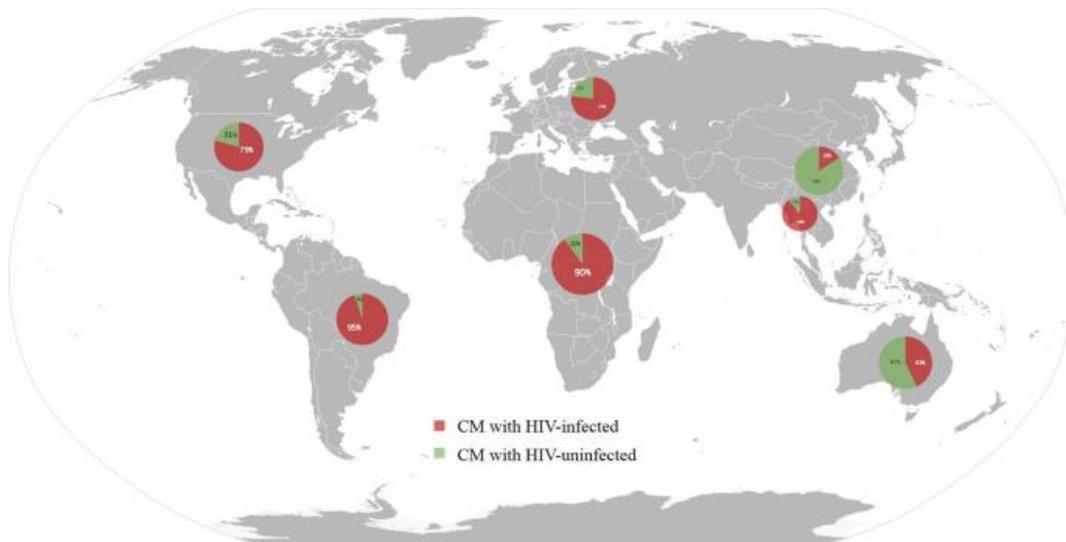
2.1.2.1. Definisi *Cryptococcosis*

Cryptococcosis adalah suatu penyakit sistemik yang disebabkan oleh genus *Cryptococcus*, dimana penyakit ini seringkali berakibat fatal, menginfeksi terutama pada meninges, dan biasanya dikaitkan dengan penyakit immunodefisiensi terutama HIV/AIDS (Aguiar *et al.*, 2021).

2.1.2.2. Epidemiologi *Cryptococcosis*

Prevalensi dan morbiditas dan mortalitas yang terkait dengan *Cryptococcus meningitis* tetap sangat tinggi dan sumber daya perawatan kesehatan lain yang diperlukan terbatas, khususnya Afrika sub-Sahara dan sebagian Asia. Faktanya, kematian mencapai puncaknya pada sekitar 600.000 kematian per tahun pada dekade pertama abad ke-21; bahkan hari ini, kemungkinan kematian terkait *Cryptococcus meningitis* mendekati

beberapa ratus ribu per tahun (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).



Gambar 2. Distribusi *Cryptococcus meningitis* diberbagai benua.

Sumber: (Chen, Xu and Xu, 2020)

Di Cina, *Cryptococcus meningitis* terutama disebabkan oleh *C. neoformans*. Namun, berbeda dari yang dilaporkan di negara lain, beberapa penelitian dari China menunjukkan bahwa proporsi yang sangat tinggi (sekitar 85%) dari kasus *Cryptococcus meningitis* ditemukan pada pasien yang tidak terinfeksi HIV, termasuk sebagian besar inang yang imunokompeten, dengan populasi pasien yang terinfeksi HIV (16%) secara signifikan lebih rendah daripada di sebagian besar negara dan wilayah seperti Amerika Serikat (80%), Brasil (95%) dan Eropa (77%) (Gambar 2) (Chen, Xu and Xu, 2020).

Sekitar 95% infeksi *Cryptococcus* disebabkan oleh strain *C. neoformans* (serotipe A) dengan sisa 4% hingga 5% infeksi disebabkan oleh *C. neoformans* (serotipe D) atau *C. gattii* (strain serotipe B/C). *C.*

neoformans var. *neoformans* biasanya dihubungkan dengan infeksi pada pasien *immunocompromised*, sementara sebaliknya *C. neoformans* var. *gattii* lebih kepada pasien-pasien immunokompeten. Sedangkan *C. neoformans* var. *grubii* (serotipe A) ditemukan di seluruh dunia, *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipe D) terutama ditemukan di negara-negara Eropa dan *C. gattii* terbatas secara geografis di daerah tropis dan subtropis, seperti California selatan, Hawaii, Brasil, Australia, Asia Tenggara, dan Afrika tengah (Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2020).

Data mengenai infeksi *Cryptococcus* sp di Indonesia sendiri sangatlah minim dan dianggap belum menggambarkan kejadian sebenarnya di lapangan. Namun laporan Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia mencatat terjadi peningkatan kasus meningitis oleh *Cryptococcus neoformans* pada tahun 2004 sebesar 21,9%. (Mustiani, Jiwintarum and Jiwantoro, 2019). Pada penelitian tahun 2018 di RS Dr. Soetomo Surabaya didapatkan prevalensi pemeriksaan serologi *Cryptococcus* pada pasien HIV/AIDS sebesar 7,32% (Sajuni Widjaja¹, Erwin Astha Triyono³, Arthur Pohan Kawilarang², 2018).

Dalam suatu laporan kasus disebutkan adanya penyebaran infeksi *C. neoformans* pada populasi pasien immunokompeten dengan gambaran klinis multipel abses kronik tanpa adanya gejala susunan saraf pusat. (Ruan *et al.*, 2017)

Negative routine microbial cultures may not necessarily rule out cryptococcosis, especially in early stage. Besides, cryptococcal latex agglutination test does have a chance of false negative, which might be related with “capsule-deficiency”. Moreover, this phenomenon could be related with low-grade virulence and relative long illness duration. (Ruan *et al.*, 2017)

2.1.2.3. Penyebab *Cryptococcosis*

Patogen penyebab *Cryptococcosis* adalah *C. neoformans* dan *C. gattii*. Jumlah kasus akibat infeksi *C. neoformans* diperkirakan melebihi 1 juta kasus baru, dengan tingkat kematian 625.000 setiap tahunnya. *C. neoformans* biasanya berhubungan dengan pasien-pasien *immunocompromised* (AIDS, gangguan neutropenik, dan pasien yang mendapat terapi kortikosteroid jangka panjang), sedangkan *C. gattii* lebih kepada pasien-pasien immunokompeten (Aguiar *et al.*, 2021).

2.1.2.4. Penularan *Cryptococcosis*

Cara infeksi *Cryptococcus* umumnya secara inhalasi, setelah terinhalasi maka jamur akan berkolonisasi dan kemudian dapat menyebar secara hematogen atau disseminasi limfatik ke organ lain (Adawiyah and Wahyuningsih, 2012). Penyebarannya secara inokulasi primer pada kulit sangat jarang dilaporkan, dan hampir tidak ada laporan penularan secara iatrogenic maupun zoonotik (Adawiyah and Wahyuningsih, 2012; May *et al.*, 2016). Baddley dkk melaporkan adanya 2 kasus penularan *Cryptococcus neoformans* lewat donor organ hati dan ginjal. Sebelumnya di tahun 1971, oleh Ooi dkk juga melaporkan kasus *cryptococcuria* pada

pasien wanita usia 29 tahun pasca transplantasi ginjal (Baddley et al., 2011).

2.1.2.5. Patomekanisme *Cryptococcosis*

Cryptococcus neoformans biasanya tidak dianggap sebagai jamur patogen sitotoksik tetapi ada banyak bukti bahwa mikroba ini dapat merusak sel dan jaringan inang. Kerusakan pada infeksi *C. neoformans* terjadi pada empat tingkat skala: molekuler, seluler, jaringan, dan tingkat organisme. Kerusakan molekuler adalah yang disebabkan oleh enzim atau molekul yang dihasilkan oleh *C. neoformans*, yang menginduksi modifikasi molekul dan sel inang dan memanifestasikan dirinya pada tingkat molekuler atau organel. Kerusakan seluler adalah yang menyebabkan modifikasi arsitektur dan struktur sel inang karena aksi toksik *C. neoformans*. Kerusakan jaringan menyebabkan disorganisasi anatomis dan fungsional di luar cedera seluler. Bersama-sama, ini bergabung untuk menghasilkan penyakit *Cryptococcosis* pada tingkat organisme (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).

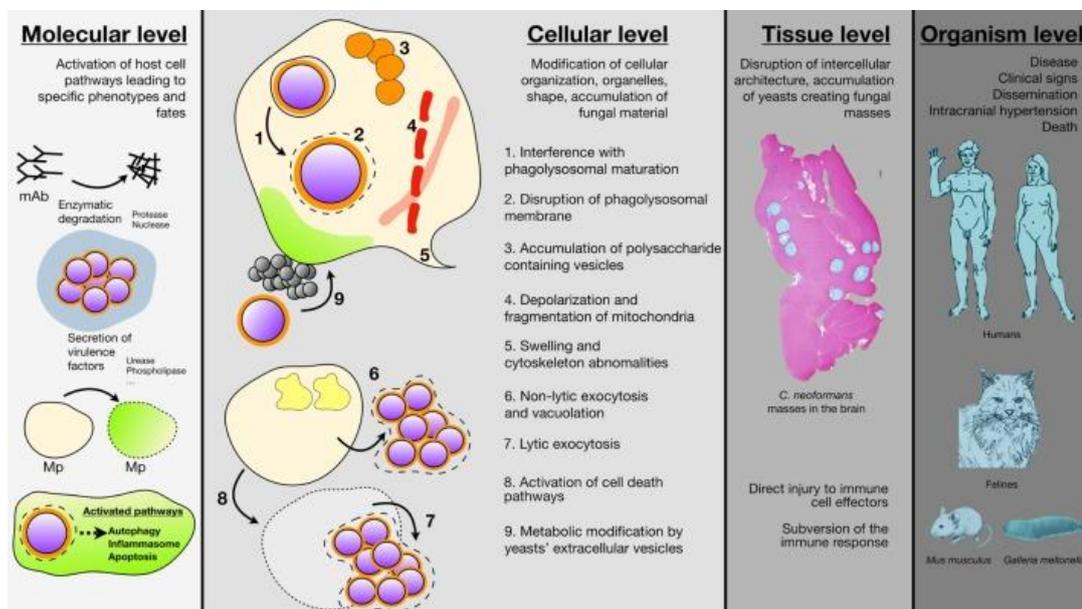
Cryptococcus neoformans mengeluarkan sejumlah besar enzim dengan potensi untuk mendegradasi molekul inang. Di antara semua enzim yang dihasilkan oleh jamur ini, kandidat utama sebagai mediator toksisitas inang pada tingkat molekuler adalah protease, urease, fosfolipase, dan nuklease. Protease dapat mengganggu mekanisme pertahanan inang dengan memecah molekul yang penting secara imunologis dan secara langsung merusak sel efektor. Protease serin

kriptokokus meningkatkan permeabilitas sawar darah-otak, yang dapat membantu dalam proses infeksi otak. Mekanisme urease mendorong invasi otak dapat melibatkan mengkatalisis hidrolisis urea menjadi amonia untuk merusak sel-sel endotel secara lokal di pembuluh darah otak. *C. neoformans* yang kekurangan fosfolipase menunjukkan replikasi intraseluler yang tertunda, yang dapat menghasilkan pemeliharaan integritas membran fagosom yang lebih baik (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).

Dengan kerusakan sel, sitotoksitas *Cryptococcus* berkontribusi pada pembentukan penyakit melalui setidaknya dua mekanisme utama. Pertama, kerusakan sistem imun pejamu dalam jaringan, yang menimbulkan kerusakan sistem imun, jaringan di sekitarnya dan dapat menimbulkan gejala pada pejamu yang pada akhirnya memungkinkan terjadinya infeksi yang menetap. Kedua, kerusakan sel-sel endotel di pembuluh darah otak (mungkin di organ lain juga), mendahului invasi sistem saraf pusat yang menyebabkan meningoensefalitis, bentuk *Cryptococcosis* yang paling umum yang mengancam jiwa (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).

Sistem kekebalan rusak selama infeksi *C. neoformans* oleh cedera langsung pada sel-sel efekturnya dan oleh gangguan kekebalan yang efektif. Hasil dari interaksi *C. neoformans* dan makrofag merupakan penentu penting bagi nasib mikroba dan inang selama infeksi. Bentuk kerusakan kedua pada sistem kekebalan adalah gangguan pada

kemampuannya untuk mengatur respons yang efektif. Di sini, kerusakannya beragam dan berasal dari kerusakan seluler yang dijelaskan di atas serta efek langsung dari komponen *Cryptococcosis* yang memengaruhi respons sel imun, yang pada gilirannya mengganggu imunitas efektif (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).



Gambar 3. Representasi skema dari kerusakan sel inang yang dimediasi *C. neoformans* pada berbagai skala

Kerusakan pada tingkat molekuler dihasilkan dari sekresi berbagai enzim oleh *C. neoformans* (protease, nuklease, urease, fosfolipase) yang mendegradasi molekul inang seperti antibodi dan/atau memodifikasi membran sel. Tertelannya *C. neoformans* juga dapat memicu autofagi, apoptosis, dan kematian sel pada pejamu (mAb, antibodi monoklonal; Mp, makrofag). Kerusakan pada tingkat seluler melibatkan modifikasi kompartemen seluler seperti akumulasi vakuola polisakarida (1), penghambatan pematangan fagolisosom (2), kebocoran fagolisosom (3), pembelahan dan depolarisasi mitokondria (4), pembengkakan dan abonomalitas sitoskeleton (5) atau modifikasi metabolik karena sekresi vesikel *C. neoformans* (6), menelan *C. neoformans* juga menghasilkan eksositosis non-litik (7), atau litik (8). Kerusakan pada tingkat jaringan terdiri dari lesi *Cryptococcus* yang khas pada parenkim otak setelah inokulasi *C. neoformans* secara intravena pada mencit (pengorbanan tujuh hari setelah inokulasi). Pada kerusakan tingkat organisme bergabung untuk menghasilkan tanda-tanda klinis yang terkait dengan penyakit *Cryptococcosis* pada manusia

dengan diseminasi dan kelainan neurologis sebagai presentasi klinis paling parah yang menyebabkan kematian (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).

Ciri khas dari banyak kasus *Cryptococcus* meningoensefalitis kriptokokus adalah pembentukan massa sel jamur di otak dengan sedikit atau tanpa inflamasi. Gambaran ini secara khusus membedakan struktur ini dari granuloma di mana inflamasi dan respon imun terorganisir dengan baik. Pada tingkat organisme kombinasi kerusakan molekuler, seluler, dan jaringan menyebabkan *Cryptococcosis*. Mekanisme respon kerusakan patogenesis mikroba menunjukkan penyakit terjadi ketika kerusakan inang cukup untuk mempengaruhi hemostasis, yang pada gilirannya menghasilkan gejala klinis (Casadevall, Coelho and Alanio, 2018).

2.1.2.6. Manifestasi Klinis *Cryptococcosis*

Cryptococcus neoformans dan *C. gattii* memiliki kecenderungan utama untuk menetapkan penyakit klinis di paru-paru dan SSP (susunan saraf pusat). Bagian tubuh lain yang lebih jarang terkena infeksi termasuk kulit, prostat, mata, dan tulang/sendi. Namun, harus ditekankan bahwa jamur ini dapat menyebar luas dan menginfeksi sebagian besar organ pada pasien dengan immunosupresi berat dan dengan demikian memiliki kemampuan untuk muncul di bagian tubuh manusia mana pun (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.6.1. Manifestasi Klinik Pada Saluran Pernafasan

Saluran pernapasan berfungsi sebagai pintu masuk terpenting bagi *Cryptococcus*. Manifestasi klinis *Cryptococcosis* paru berkisar dari

kolonisasi tanpa gejala pada saluran pernapasan atau nodul paru sederhana pada radiografi dada hingga pneumonia yang mengancam jiwa dengan adanya sindrom gangguan pernapasan akut. Pada pejamu normal, infeksi paru terisolasi tanpa gejala dapat terjadi pada sekitar sepertiga pasien dan dapat diidentifikasi hanya dengan radiografi dada yang abnormal. Faktanya, temuan radiologis yang paling umum dari *Cryptococcosis* termasuk nodul nonkalsifikasi tunggal atau multipel yang terdefinisi dengan baik dan infiltrat paru, meskipun efusi pleura, limfadenopati hilus, dan kavitas paru juga dapat ditemukan pada infeksi *Cryptococcosis*. Pasien dengan *Cryptococcosis* paru dapat datang secara akut dengan gejala pneumonia. Pada pasien *immunocompromised*, pneumonia *Cryptococcus* biasanya bergejala dan dalam beberapa kasus dapat berkembang pesat menjadi sindrom gangguan pernapasan akut, bahkan tanpa adanya keterlibatan SSP. Keterlibatan paru berkisar antara 10% hingga 55% pasien dengan *Cryptococcus* meningoensefalitis terkait AIDS, meskipun gejala SSP biasanya mendominasi gambaran klinis (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.6.2. Manifestasi Klinik pada Susunan Saraf Pusat

Manifestasi klinis *Cryptococcosis* SSP meliputi berbagai tanda dan gejala, seperti sakit kepala, demam, neuropati kranial, perubahan mental, lesu, kehilangan memori, dan tanda-tanda iritasi meningeal. Gejala biasanya berkembang selama beberapa minggu. Namun, pada beberapa kesempatan, pasien datang dengan gejala yang lebih akut atau kurang

khas, seperti sakit kepala. Pada pasien dengan sistem kekebalan tubuh yang sangat lemah, pasien terinfeksi HIV dengan *Cryptococcosis* SSP, beban organisme jamur biasanya tinggi dan dapat mencapai tingkat lebih dari 1 juta jamur per mililiter CSF. Pasien-pasien ini akibatnya mungkin memiliki tanda dan gejala yang lebih pendek, titer antigen polisakarida CSF yang lebih besar, dan tekanan intrakranial yang lebih tinggi daripada individu lain yang lebih imunokompeten (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.6.3. Manifestasi Klinik pada Kulit

Infeksi kulit adalah manifestasi klinis *Cryptococcosis* ketiga yang paling umum dan pasien dapat datang dengan berbagai lesi kulit. Lesi sering tidak dapat dibedakan dari yang disebabkan oleh infeksi lain dan biopsi kulit dengan kultur dan histopatologi sangat penting untuk diagnosis definitif. *Cryptococcus* kulit primer sangat jarang dan biasanya berhubungan dengan cedera kulit dan inokulasi langsung dari jamur dan munculnya lesi kulit biasanya menandakan adanya infeksi yang menyebar (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.6.4. Manifestasi Klinik pada Prostat

Prostat bukanlah tempat yang jarang untuk infeksi *Cryptococcus*, tetapi *Cryptococcosis* prostat biasanya tidak menunjukkan gejala. Sebagai contoh, infeksi *C. neoformans* laten telah diketahui menyebar dalam aliran darah selama operasi urologis pada prostat. Kelenjar prostat dapat

berfungsi sebagai reservoir penting untuk kekambuhan penyakit pada pasien dengan beban jaringan jamur yang tinggi. laporan awal meningitis.

2.1.2.6.5. Manifestasi Klinik pada Mata

Cryptococcus sebelum epidemi AIDS, tanda dan gejala okular dicatat dalam sebagian besar kasus, seperti palsy okular dan papilledema. Beberapa manifestasi okular lainnya dari *Cryptococcosis* telah diidentifikasi, termasuk penyakit retina yang luas dengan atau tanpa vitritis, yang dapat menyebabkan kebutaan ireversibel. Kehilangan penglihatan mungkin karena infiltrasi saraf optik oleh jamur atau gangguan vaskular dari hipertensi intrakranial.

2.1.2.6.6. Manifestasi Klinik pada Organ lain

Cryptococcus neoformans dapat menyebabkan penyakit pada dasarnya setiap organ tubuh manusia. Faktanya, identifikasi pertama jamur ini dari spesimen klinis adalah dari pasien dengan osteomyelitis tibialis pada abad ke-19. Keterlibatan tulang *Cryptococcosis* biasanya muncul sebagai lesi osteolitik terbatas pada tulang tubuh mana pun, tetapi paling sering pada vertebra, dan osteomyelitis *Cryptococcus* telah dikaitkan dengan sarkoidosis yang mendasarinya. Infiltrasi sumsum tulang dapat diamati pada pejamu dengan sistem imun yang sangat lemah. Peritonitis jamur dan *Cryptococcuria* juga dilaporkan dalam beberapa rangkaian kasus (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.7. Diagnosis *Cryptococcosis*

cari referensi

2.1.2.8. Penatalaksanaan *Cryptococcosis*

Memperbaiki dan mengendalikan imunodefisiensi inang dan pemulihan kekebalan, dapat menjadi skenario klinis yang kompleks selama pengelolaan *Cryptococcus*. Lebih lanjut, komplikasi spesifik, seperti sindrom pemulihan kekebalan, peningkatan tekanan intrakranial, dan *Cryptococcoma*, mungkin memerlukan strategi khusus untuk keberhasilan pengelolaan *Cryptococcosis*. Rejimen obat antijamur untuk pengelolaan *Cryptococcosis* yakni rejimen yang paling cocok untuk penyakit jamur invasif. Sejak pedoman terakhir Infectious Diseases Society of America (IDSA) pada tahun 2000, hanya azol dengan spektrum luas (posaconazole dan voriconazole) dan echinocandins (anidulafungin, caspofungin, dan micafungin) telah tersedia sebagai obat antijamur *Cryptococcus* (Perfect *et al.*, 2018). Amfoterisin B deoksikolat adalah landasan pengobatan untuk infeksi *Cryptococcus* berat, termasuk meningoensefalitis. Dosis induksi standar 0,7 sampai 1 mg/kg/hari dianjurkan. Liposomal amfoterisin B (3-6 mg/kg/hari) telah menjadi alternatif pilihan dengan hasil yang serupa dan nefrotoksisitas yang lebih sedikit, dan direkomendasikan secara khusus untuk induksi primer pada pasien yang berisiko mengalami disfungsi ginjal (Curi, Lazera and Vasconcelos-Santos, 2016).

2.1.2.9. Komplikasi *Cryptococcosis*

cari referensi

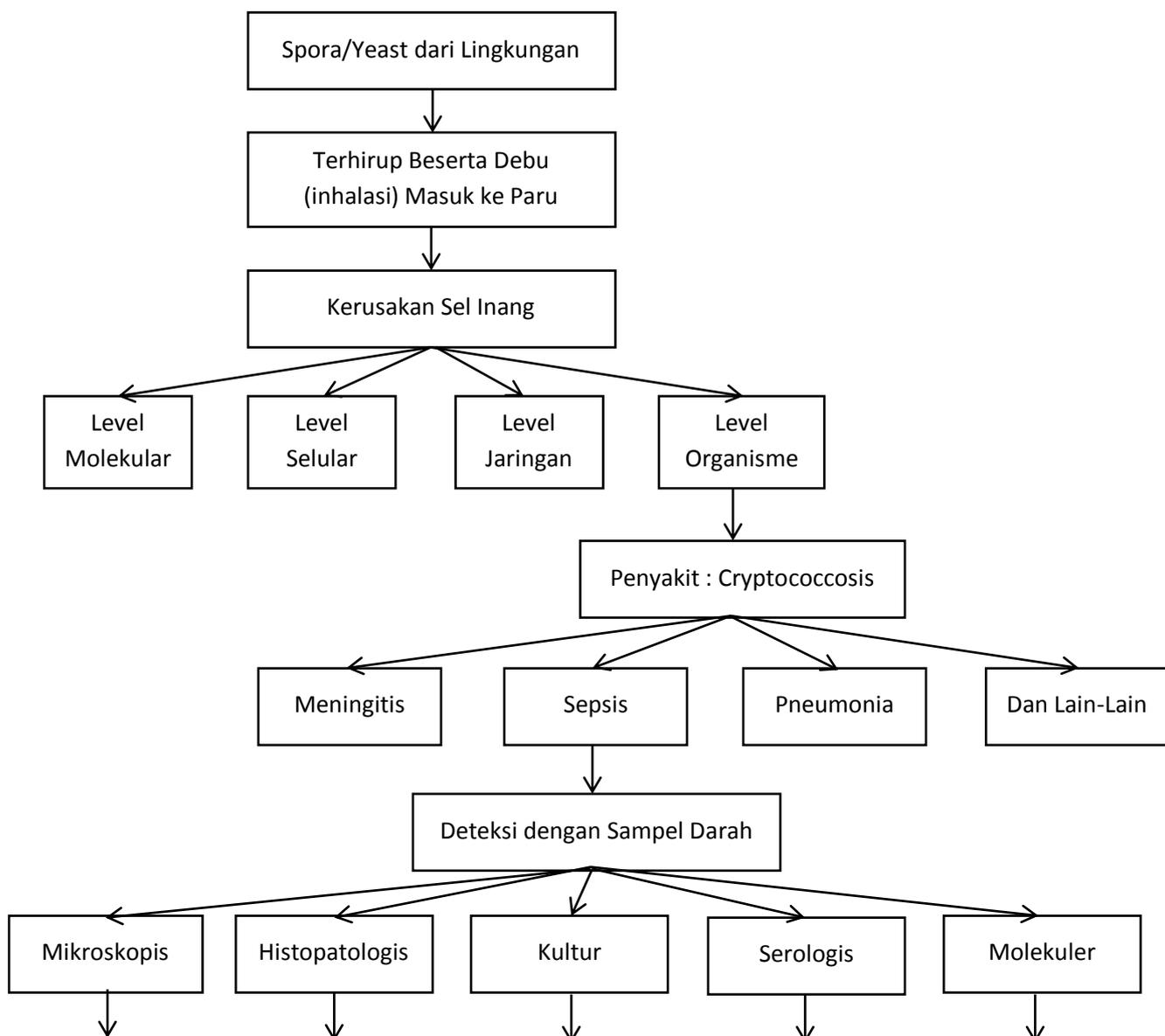
2.1.2.10. Prognosis *Cryptococcosis*

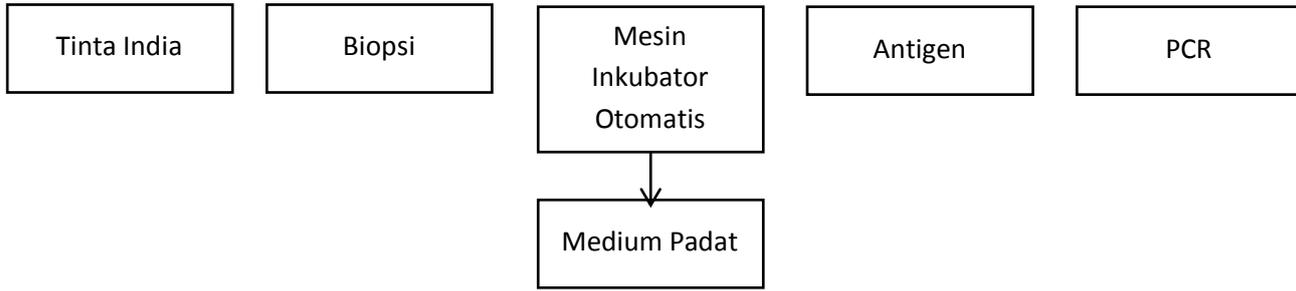
cari referensi

2.1.2.11. Pengendalian *Cryptococcosis*

cari referensi

2.2. Kerangka Teori

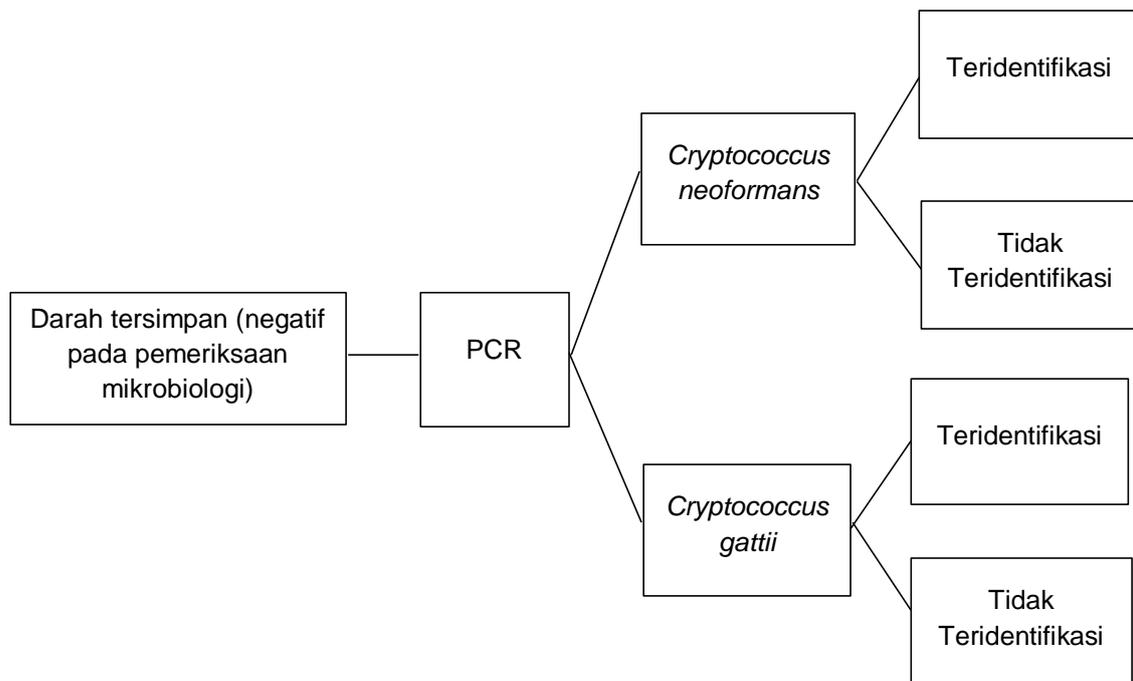




Gambar 2.2.1. Kerangka Teori

BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 11. Kerangka Konsep

3.2. Definisi Operasional

3.2.1 Darah Tersimpan

Darah tersimpan pada penelitian ini adalah darah yang tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi lalu telah dilakukan inkubasi selama 5 (lima hari) pada mesin inkubator otomatis BacT/Alert yang dinyatakan tidak terdeteksi mikroorganisme lalu dilakukan

pewarnaan gram untuk mengkonfirmasi hal tersebut dan hasil akhirnya dinyatakan bahwa hasil kultur mikrobiologi Tidak Ada Pertumbuhan Mikroorganisme.

3.2.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) pada penelitian ini adalah metode molekular yang digunakan untuk identifikasi *Cryptococcus species* pada darah tersimpan.

3.2.3. *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus neoformans pada penelitian ini adalah *Cryptococcus species* yang teridentifikasi dengan metode *PCR multiplex* menggunakan pasangan *primer forward* CNa-70S (5'-ATTGCGTCCACCAAGGAGCTC-3') dan *reverse* CNa-70A (5'-ATTGCGTCCATGTTACGTGGC-3') yang teramplifikasi pada 695 bp dari darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mikrobiologi lalu tidak ditemukan mikroorganisme.

Kriteria Obyektif *Cryptococcus neoformans*

- a. *Cryptococcus neoformans* teridentifikasi: bila pada pemeriksaan molekular menggunakan *PCR multiplex* menggunakan pasangan *primer forward* CNa-70S (5'-ATTGCGTCCACCAAGGAGCTC-3') dan *reverse* CNa-70A (5'-ATTGCGTCCATGTTACGTGGC-3'), teridentifikasi *Cryptococcus neoformans*.
- b. *Cryptococcus neoformans* tidak teridentifikasi: bila pada pemeriksaan molekular menggunakan *PCR multiplex* menggunakan

pasangan *primer forward* CNa-70S (5'-ATTGCGTCCACCAAGGAGCTC-3') dan *reverse* CNa-70A (5'-ATTGCGTCCATGTTACGTGGC-3'), tidak teidentifikasi *Cryptococcus neoformans*.

3.2.4. ***Cryptococcus gattii***

Cryptococcus gattii pada penelitian ini adalah *Cryptococcus species* yang teridentifikasi dengan metode *PCR multiplex* menggunakan pasangan *primer forward* CNb-49S (5'-ATTGCGTCCAAGGTGTTGTTG-3') dan *reverse* CNb-49A (5'-ATTGCGTCCATCCAACCGTTATC-3') yang teramplifikasi pada 448 bp dari darah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, yang pada pemeriksaan mirobiologi lalu tidak ditemukan mikroorganisme.

Kriteria obyektif *Cryptococcus gattii*:

- a. *Cryptococcus gattii* teridentifikasi: bila pada pemeriksaan molekular menggunakan *PCR multiplex* menggunakan pasangan *primer forward* CNb-49S (5'-ATTGCGTCCAAGGTGTTGTTG-3') dan *reverse* CNb-49A (5'-ATTGCGTCCATCCAACCGTTATC-3') teidentifikasi *Cryptococcus gattii*.
- b. *Cryptococcus gattii tidak* teridentifikasi: bila pada pemeriksaan molekular menggunakan *PCR multiplex* menggunakan pasangan *primer forward* CNb-49S (5'-ATTGCGTCCAAGGTGTTGTTG-3') dan *reverse* CNb-49A (5'-ATTGCGTCCATCCAACCGTTATC-3') tidak teidentifikasi *Cryptococcus gattii*.