

**TESIS**

**Analisis Variasi Gen Flagellin *Salmonella typhi* Pada Urin Penderita  
Demam Tifoid Akut Rekuren**



**RIZKI AMELIA NOVIYANTHI**

**P062171401**

**PROGRAM PASCA SARJANA KONSENTRASI STUDI BIOMEDIK  
MIKROBIOLOGI UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2019**



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

**TESIS**

**ANALISIS VARIASI GEN FLAGELLIN *Salmonella typhi* PADA  
URIN PENDERITA DEMAM TIFOID AKUT REKUREN**

Disusun dan diajukan oleh

**RIZKI AMELIA NOVIYANTHI**

**Nomor Pokok P062171401**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 13 Februari 2019

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Menyetujui  
Komisi Penasehat,**

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

Ketua

Dr. Rizalinda Sjahril, Ph.D, M.Sc

Anggota

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

Yustisia, M.Sc

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



## PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim

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

Pertama-tama saya haturkan ucapan terima kasih yang tulus kepada orang tua saya (**Ayahanda Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)** dan **Ibunda dr. Ratnawati**) yang memelihara, menjaga, membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang serta menanamkan nilai-nilai kehidupan dalam diri saya sehingga saya mampu menjadi insan seperti saat ini.

Penyusunan dan penyelesaian tesis ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis dengan rasa syukur menyampaikan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada : **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok,** dan **dr. Rizalinda Syahril, Ph.D, M.Sc** selaku Pembimbing 1 dan 2 ; **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS,** **Dr. Rosana Agus, MSi,** dan **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku penguji, yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga disertasi ini dapat saya selasai dengan baik.

Rasa hormat dan terima kasih saya sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin

**ries Tina Pulubuhu MA,** Dekan Sekolah Pasca Sarja **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin**

dekan Fakultas Kedokteran **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed,** Ketua



Program Studi S2 Ilmu Biomedik **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc** yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat saya selesaikan dengan baik.

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

Makassar, 13 Februari 2019

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI



## PERNYATAAN KEASLIAN THESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizki Amelia Noviyanthi  
Nomor pokok : P062171401  
Program Studi : Biomedik

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

Makassar, 13 Februari 2019

Yang menyatakan

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI



## ABSTRAK

**RIZKI AMELIA NOVIYANTHI.** *ANALISIS VARIASI GEN FLAGELLIN SALMONELLA TYPHI PADA URIN PENDERITA DEMAM TIFOID AKUT REKUREN* (dibimbing oleh **Rosdiana Natzir** (Ketua), **Rizalinda Syahril** (Pembimbing 1) dan **Burhanuddin Bahar** (Pembimbing 2))

Tujuan penelitian ini ialah untuk menentukan variasi gen flagellin *S. typhi* pada urin penderita demam tifoid akut rekuren (DTAR). Dimana tujuan khususnya ialah menentukan apakah ada hubungan variasi gen flagellin pada urin penderita demam tifoid akut rekuren (DTAR) dengan dengan berat ringannya gejala klinis dan titer antibodi pada DTAR.

Metode penelitian ini termasuk “crosssectional study” secara eksploratif dan data dianalisis secara statistik untuk menentukan hubungan varian gen flagellin dengan gejala klinis DTAR. Pada penelitian ini dilakukan teknik multiplek Polymerase Chain Reaction (RFLP-PCR) untuk mendeteksi gen Hd+, Hj+, Hd+z66+, Hj+z66+, Hd+z66IND+ dan Hj+z66IND+ dari sampel urin dan darah penderita DTAR.

Hasil penelitian ini sebanyak 582 penderita demam tifoid (DT), dimana setelah dilakukan pemeriksaan nested PCR dari urin dan darah untuk mendeteksi gen flagelin yang spesifik untuk *S. Typhi*, maka ditemukan 34 (5.8 %) DTAR. Varian gen flagellin Hd+ dan Hd+z66+ *S.typhi* merupakan varian gen flagellin yang terbanyak ditemukan pada penderita DTAR dan kecenderungan varian gen flagellin Hd+z66IND+ dibandingkan varian gen flagelin lainnya mempunyai gejala lebih berat pada penderita DTAR

**Kata kunci** : Varian gen flagellin, *S.typhi*, Demam Tifoid akut Rekuren



## ABSTRACT

**RIZKI AMELIA NOVIYANTHI.** *ANALYSIS OF SALMONELLA.TYPHI FLAGELLIN GENE IN URINE OF PATIENTS WITH ACUTE RECURRENCE OF TYPHOID FEVER* (Supervise by **Rosdiana Natzir** (chairman), **Rizalinda Syahril** (Chairman 1) dan **Burhanuddin Bahar** (Chairman 2))

The aim of this study was to determine the variation of *S. typhi* flagellin gene in urine and blood of patients with Acute Recurrence of Typhoid fever. Specific goals of this study was determine the correlation between variation of *S.typhi* flagellin gene and severity of disease and antibody titer in Acute Recurrence of Typhoid fever patients.

This research method were explorative cross sectional study and data analyzed using statistic to determine the correlation between variation of *S.typhi* flagellin gene and severity of disease in Acute Recurrence of Typhoid fever. In this study, the multiplex Polymerase Chain Reaction (Multiplex-PCR) was used to detect the Hd+, Hj+, Hd+z66+, Hj+z66+, Hd+z66IND+ dan Hj+z66IND+ of flagellin gene from urine and blood samples of Acute Recurrence of Typhoid fever patients.

The results of this study were 582 typhoid fever patients who performed by nested PCR examination to detect the DNA *S. typhi* in urine dan blood that it was found 34 (5.8 %) of Acute Recurrence of Typhoid fever. The Variation of Hd+ and Hd+z66+ flagellin gene *S.typhi* was found highest among Acute Recurrence of Typhoid fever and Hd+z66IND+ was it may associate with severity of this disease compared with other variation of flagellin gen.

**Keywords:** variation, flagellin gene, *S. typhi*, Acute recurrence typhoid fever



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN THESIS .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar belakang .....	1
B. Rumusan masalah .....	3
C. Tujuan penelitian .....	4
D. Manfaat penelitian .....	4
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
bid .....	5





a. Etiologi ..	6
b. Patogenesis ..	6
c. Epidemiologi ..	8
d. Fisologi Salmonella typhi ..	9
e. Faktor patogenistas Salmonella typhi ..	10
f. Mekanisme infeksi Salmonella typhi ..	12
g. Manifestasi Klinis.....	14
h. Demam tifoid Akut rekuren (DTAR).....	16
i. Uji Laboratorium Diagnostik ..	17
j. Gen Flagellin ..	26
k. Antibodi dan Antigen ..	31
B. Kerangka Teori ..	40
C. Kerangka Konsep ..	41
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN ..</b>	<b>42</b>
A. Rancangan penelitian ..	42
B. Tempat dan waktu penelitian ..	42
C. Sampel dan Kriteria Sampel ..	42
D. Definisi Operasional ..	43
.....han Penelitian ..	43
.....	44
.....tian ..	48



H. Analisis statistik .....	49
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>50</b>
<b>BAB V. PEMBAHASAN .....</b>	<b>58</b>
<b>BAB VI. KESIMPULAN .....</b>	<b>61</b>
<b>BAB VII. SARAN .....</b>	<b>62</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>63</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi S. Typhi di bawah Elektron Mikroskop

Gambar 2. Jalur Hidup S. Typhi dan Hubungannya dengan Diagnosa Demam Tifoid

Gambar 3. Widal Test Kit

Gambar 4. Flagella S. Typhi dan Bentuk Berputar untuk Bergerak

Gambar 5. Hasil Gel Eelektrophoresis Varian Gen Flagellin S. Typhi pada Demam Tifoid Akut Rekuren  
(DTAR)



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Gambaran klinik dan Hasil Widal penderita Demam Tifoid Akut rekuren (DTAR)

Tabel 2. Hubungan Varian Gen Flagellin S. Typhi dengan Karakteristik Gejala Klinis Penderita Demam Tifoid Akut Rekuren (DTAR)



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Urutan nukleotida dan asam amino dari gen Z66Ind

Lampiran 2. Kuesioner penderita Demam Tifoid Akut Rekuren (DTAR)

Lampiran 3. Data penderita Demam Tifoid akut Rekuren (DTAR); n=34

Lampiran 4. Gambar hasil gel elektroforesis DNA *S. typhi* darah penderita Demam Tifoid Akut Rekuren (DTAR)

Lampiran 5. Gambar hasil gel elektroforesis gen flagellin Hd+, Hj+, Hd+z66+, Hj+z66+, Hd+z66IND+ dan Hj+z66IND+ dari sampel penderita DTAR



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Demam Tifoid (DT) merupakan penyakit infeksi akut dan bersifat endemis disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang termasuk bakteri gram negatif berbentuk basil dan bersifat patogen intraselular pada manusia (Silva, 2012). Invasi *Salmonella typhi* (*S. typhi*) terjadi melalui ileum terminal, kemungkinan masuk melalui sel M pada patch Peyer. Selanjutnya, *S. typhi* masuk ke monosit dan kemudian melakukan perjalanan ke sel-sel dari sistem retikulo-endotel yang dapat bertahan dalam keadaan semi-dorman. Mungkin setelah pengaktifan ulang oleh sistem kekebalan tubuh bakteri masuk kembali ke aliran darah dan menyebar ke hati, kandung empedu, dan sumsum tulang (Di Domenico *et al*, 2017).

*S. typhi* memiliki flagella dengan motilitas dan mungkin berperan untuk masuk sel, dan digunakan untuk keluar dari lokasi intraselular (Gunn *et al*, 2014). Flagella juga merupakan target penting dari kekebalan bawaan. Sebagian besar serovar *Salmonella enterica* bersifat bifasik, bergantian antara ekspresi dua antigen flagela, yang dikodekan oleh fase 1 dan gen flagellin fase 2 *fliC* dan *fljB* (Hatta dkk, 2011). Genom *S. typhi* hanya mengandung fase 1 *fliC* gen, yang mengkode anti gen Hd. Namun, beberapa isolat *S. typhi* dari Indonesia mengekspresikan antigen H alternatif, yang dikenal sebagai Hj, dan atau flagel sekunder kedua, yang disebut z66 (Sabir dkk, 2014). Antigen Hj timbul melalui penghapusan di daerah inti yang hipervariabel dari gen *fliC*, dan z66 flagellin antigen dikodekan oleh sebuah gen yang disebut *fljBz66* yang terletak pada plasmid linier (Schreiber *et al*, 2015; Hatta dkk, 2011). Flagel z66 dianggap sama dengan flagelum fase 2 karena ditemukan isolat *S.*

nesia yang antigen Hd dan Hj negatif tetapi adalah motilitas kembali ke positif Hd atau dengan antiserum anti z66 (Dwiyanti dkk, 2015; Tandirogang dkk, 2015).



Masa inkubasi DT umumnya 7 - 14 hari bahkan lebih panjang hingga 21 hari, dan setelah itu gejala pada umumnya menyerupai infeksi akut, yaitu demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, mual muntah, batuk dan konstipasi. (Easmon, 2015).

Penyakit DT menjadi permasalahan kesehatan yang sering terjadi negara berkembang. Di dunia pada bulan September 2005 sampai dengan Januari 2007, WHO mencatat sekitar 42.565 orang menderita DT dan 214 orang meninggal. Besarnya angka pasti kasus DT di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini dikenal mempunyai gejala dengan spektrum klinis yang sangat luas (WHO, 2008: Hatta & Ratnawati, 2008).

Kebanyakan penyakit ini terjadi pada penduduk negara dengan pendapatan yang rendah, terutama pada daerah Asia Tenggara, Afrika, dan Amerika Latin, termasuk Indonesia. Kasus DT ini dilaporkan sebagai penyakit endemis dimana 95 % merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 12 -15 kali lebih besar daripada laporan rawat inap di rumah sakit. Di Indonesia kasus ini tersebar secara merata di seluruh daerah dengan insidensi di daerah pedesaan 385/100.000 penduduk pertahun dan di daerah perkotaan 760/100.000 penduduk pertahun. Umur penderita DT dilaporkan antara 3 - 19 tahun pada 91 % kasus (WHO, 2008).

Tanpa pengobatan yang efektif, DT memiliki tingkat kematian 10 - 30%, namun jumlah ini berkurang menjadi 1 - 4% pada mereka yang menerima terapi yang tepat. Secara umum DT yang tidak diobati membawa angka kematian 10% - 20%. Dalam penyakit yang dirawat dengan benar, tingkat kematian kurang dari 1%. Lima persen sampai 10% pasien yang diobati dengan antibiotik mengalami kekambuhan akut / kambuh DT setelah pemulihan awal. Infeksi Hj dikaitkan dengan gejala klinis yang lebih ringan dibandingkan dengan Hd. Secara in vitro, isolat Hj sama-sama tidak bergerak pada plate agar semi padat dan kurang invasif sel HEp-2 daripada isolat Hd, sehingga disimpulkan bahwa varian

*S. typhi* di Indonesia memiliki hubungan antara motilitas, invasif, dan gejala klinis (Hatta & Rossman *et al*, 1995).



Kekambuhan akut biasanya terjadi sekitar 1 minggu setelah terapi tidak dilanjutkan, namun kekambuhan / kambuh setelah 70 hari telah dilaporkan. Dalam kasus ini, hasil kultur darah positif, dan kadar serum antibodi H, O, dan Vi yang tinggi dan gejala klinis dapat muncul kembali. Pada penderita DT carrier, pemeriksaan darah biasanya tidak ditemukan hasil yang signifikan dikarenakan bakteri yang bertahan dalam keadaan semi-dorman dalam empedu akibat motilitas flagella, maka pemeriksaan urin dianjurkan (Dwiyanti dkk, 2015).

Beberapa *S. typhi* dari kepulauan Indonesia timur membawa sebuah gen flagellin baru, yang diberi nama z66Ind, yang berbeda dari gen Hd fliC dan z66 fliB oleh beberapa perubahan asam nukleat di domain gen tersebut (Hatta dkk, 2011).

Berdasarkan penemuan di atas dan angka kejadian Demam Tifoid Akut Rekuren (DTAR) yang tinggi, maka diperlukan penelitian untuk menentukan hubungan variasi gen flagellin pada *S. typhi* dengan kejadian DTAR.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah ada hubungan antara variasi gen flagellin dengan penyakit demam tifoid akut rekuren?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

Menentukan variasi gen flagellin pada urin penderita demam tifoid akut rekuren

## **D. Manfaat Penelitian**

1. Bagi peneliti, sebagai bahan untuk menambah wawasan dan ilmu pengetahuan

Bagi masyarakat, agar masyarakat mendapatkan informasi mengenai penyebab terjadinya akut rekuren pada penderita demam tifoid dan dapat mendeteksi carrier





3. Sebagai bahan informasi dan penunjang dalam penelitian-penelitian lanjutan dari demam tifoid

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Demam Tifoid

Demam Tifoid (DT) adalah suatu penyakit infeksi akut dan dapat bersifat sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*). Penyakit infeksi dimulai dengan gejala klinis berupa demam yang terus menerus (Umumnya lebih dari satu minggu), adanya gangguan saluran pencernaan, terlihatnya invasi sel bakteri ke dalam sel fagosit mononuklear dari hati, limpa, kelenjar limfe usus dan *plaque Payeri*, sampai dengan gejala berat berupa gangguan kesadaran (delir) dan kerusakan susunan saraf pusat (Easmon, 2015).

Pada penderita Demam Tifoid (DT) yang mengalami masalah traktus gastrointestinal menggambarkan sifat dari infeksi strain *S. typhi* dimana mempunyai kecenderungan lebih berat dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan strain *Salmonella* yang lain (Kidgell *et al*, 2002).

Seorang filosof dari Perancis yang bernama Pierre Louis dari Prancis pada tahun 1829 mengemukakan istilah penyakit typhoid atau typhus dimana dalam bahasa Yunani = typhos. Pada saat itu pemakaian terminologi typhos ini dipakai untuk penderita infeksi yang mengalami gejala demam tinggi

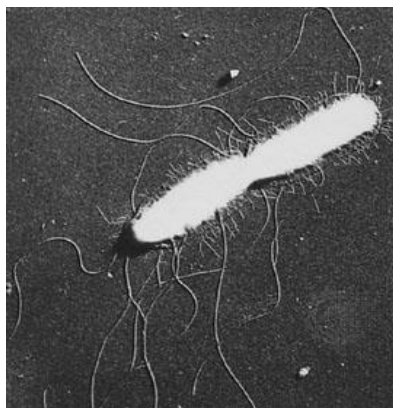
gangguan kesadaran. Setelah itu pada tahun 1880 seorang ilmuwan Eberth menemukan *S typhosus* dalam sediaan limpa dan kelenjar limfe secara histologi. Setelah itu Gaffky berhasil membiakkan dalam medium cair *S. typhi* dan dapat meyakinkan bahwa penularan



infeksi DT melalui air. Selanjutnya Georges-Fernand Widal pada 1896 menemukan salah satu metode reaksi serologi untuk mendiagnosis DT (Tan & Katy, 2012)

### a. Etiologi

*Salmonella typhi* (*S. typhi*) adalah genus yang termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae, yaitu bakteri yang hidup pada saluran pencernaan dengan bentuk morfologi merupakan bakteri berbentuk batang dan bersifat gram negatif, berkapsul, motil, tidak menghasilkan spora, bersifat aerobik dan dapat hidup pada keadaan fakultatif anaerobik. *S. typhi* mempunyai ukuran 2 - 4  $\mu\text{m}$  x 0.5 - 0.8  $\mu\text{m}$ . Semua spesies *Salmonella* yang telah diketahui mempunyai flagella, kecuali *S. pullorum* dan *S. gallinarum* dan fimbria pada *S. paratyphi* A (Cruischack R, 1968).



Gambar 1. Morfologi *S.typhi* dibawah elektron mikroskop

### b. Patogenesis

Bakteri *Salmonella typhi* (*S.typhi*) mempunyai *port d'entry* melalui mulut dan masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dengan bakteri tersebut. Sebagian bakteri akan mati dalam lambung akibat pengaruh asam lambung, sebagian hidup selanjutnya masuk ke duodenum akan berkembang biak. Jumlah bakteri *S. typhi* yang dapat menimbulkan gejala pada manusia sebanyak  $\geq 10^5$  *Colony Forming Units* (CFU). Apabila imunitas tubuh host yang ada pada mukosa dalam hal ini imunoglobulin A (IgA) tidak mampu mengeliminasi bakteri



maka bakteri tersebut akan menembus sel-sel epitel (terutama sel-M) dan selanjutnya ke lamina propria. Di lamina propria kuman berkembang biak dan difagosit oleh sel-sel fagosit terutama makrofag. Bakteri *S.typhi* dapat berkembang biak dalam makrofag dan selanjutnya di bawa ke *plaque Payeri* ileum distal dan kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika, melalui duktus torasikus kuman yang terdapat pada makrofag ini masuk ke dalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa. Di organ tersebut bakteri ini akan meninggalkan sel-sel fagosit dan kemudian berkembang biak di luar sel atau ruang sinusoid dan selanjutnya masuk kembali ke dalam sirkulasi mengakibatkan bakteremia kedua kalinya dengan disertai tanda-tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik (Baker, *et al*, 2010).

Bakteri yang terdapat di dalam hati dan selanjutnya akan masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara *intermiten* ke dalam lumen usus. Sebagian kuman dikeluarkan melalui feses dan sebagian lagi masuk kembali ke dalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali, berhubung makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang selanjutnya akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, instabilitas vaskuler, gangguan mental, dan koagulasi (Baker *et. al*, 2010).

Di dalam *plaque Payeri* makrofag hiperaktif menimbulkan reaksi hiperplasia jaringan *Salmonella typhi* intra makrofag menginduksi reaksi tipe lambat, hiperplasia jaringan dan nekrosis organ). Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar *plaque Payeri* yang sedang mengalami nekrosis dan hiperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuklear di dinding usus. Proses ini berkembang hingga ke lapisan otot, serosa usus, dan dapat mengakibatkan perforasi (Baker *et al*, 2010).

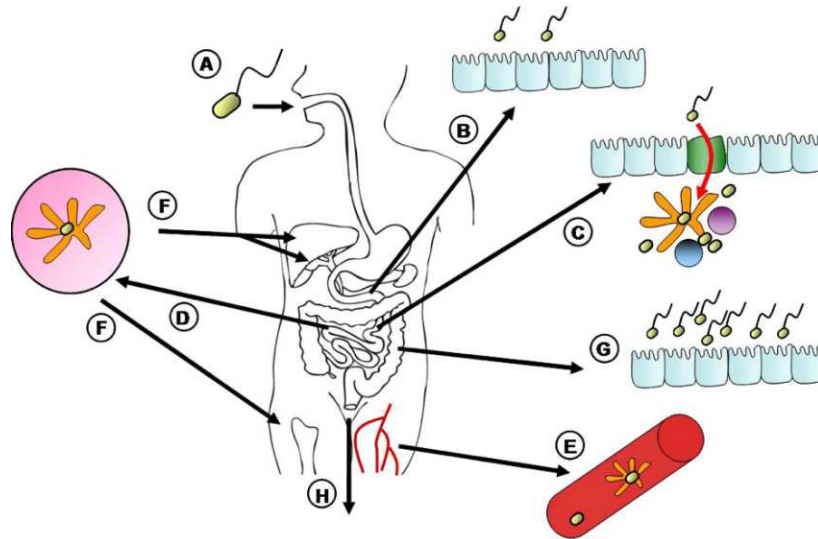
Waktu yang dibutuhkan bakteri *S. typhi* pada periode bakteremia memperbanyak diri antara 10-14

kubasi DT dalam proses *Salmonella typhi* mengeluarkan endotoksin lipopolisakarida

invasi lokal yang menempel pada reseptor sel endotel kapiler bisa menyebabkan demam,

dan neuropsikiatrik, kardiovaskuler, pernapasan (Baker, *et al*. 2010).





Gambar 2. Jalur hidup *S.typhi* dan hubungannya dengan diagnosa DT (Baker,et al, 2010)

### c. Epidemiologi

Insidens, cara penyebaran DT sangat berbeda pada negara maju dengan negara yang sedang berkembang, dimana Insidens sangat menurun di negara maju seperti Amerika sekitar 400 kasus DT setiap tahun. Di negara sedang berkembang insidens mencapai 500/100.000 kasus kematian tiap tahun (WHO, 2008).

Demam Tifoid dapat diklasifikasikan menjadi (Abdoel, et al, 2007) :

1. *Confirmed case* : pasien dengan demam ( $38^{\circ}\text{C}$  atau lebih) yang berlangsung  $\geq 3$  hari, dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium kultur positif *S. typhi*.
2. *Probable case* : pasien dengan demam ( $38^{\circ}\text{C}$  atau lebih) yang berlangsung  $\geq 3$  hari, dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium serodiagnosis positif atau deteksi antigen tanpa isolasi *S. typhi*.
3. *Chronic carrier* : ekskresi kuman *S. typhi* di urin atau feses (diulang dengan kultur empedu atau

num) tetap positif selama lebih dari 1 tahun setelah terjangkit DT akut.

DT lebih sering pada pria, hal ini kemungkinan karena laki-laki lebih sering bekerja rumah dan tidak terjamin kebersihannya. Tetapi berdasarkan teori daya tahan tubuh



wanita lebih rentan untuk terkena dampak lebih berat. Teori yang menunjukkan adalah ketika *S. typhi* masuk ke dalam sel-sel hati, maka hormon estrogen pada wanita akan bekerja lebih berat karena menangani dua hal sekaligus (Hatta, dkk, 2008; Alba, *et al*, 2016; Hatta, dkk, 2009).

#### **d. Fisiologi Salmonella typhi**

*Salmonella typhi* tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, dengan suhu pertumbuhan 15°C - 41°C (suhu pertumbuhan optimum 37°C) dan pH pertumbuhan 6 - 8. *S. typhi* tetap dapat hidup pada suhu ruang dan suhu yang rendah (dalam air membeku) selama 4 minggu sampai berbulan-bulan, dapat bertahan hidup selama berminggu-minggu dalam sampah, bahan makanan kering, serta dapat bertahan dan berkembang biak dalam susu, daging, telur atau produknya tanpa merubah warna atau bentuknya. *S. typhi* juga tahan terhadap bahan kimia tertentu (misalnya sodium tetrathionate, sodium deoxycholate) yang menghambat bakteri enterik lain, sehingga senyawa tersebut ditambahkan pada media untuk mengisolasi *Salmonella* dari tinja (Jawetz, 2005).

Selain itu, *S. typhi* resisten terhadap agen fisik tetapi dapat dibunuh dengan pemanasan sampai 54,4°C (130°F) selama 1 jam atau 60°C (140°F) selama 15 - 20 menit, dengan cara pasteurisasi, dan klorinasi serta pada keadaan kering (Zabriskie, 2009)

Isolat kuman *S. typhi* dikenal dengan sifat-sifat, gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif serta memberikan hasil negatif pada reaksi indol, laktosa, sukrosa, Voges Praskauer dan KCN. *S. typhi* tumbuh cepat dalam media yang sederhana. *S. typhi* membentuk asam dan kadang gas dari glukosa dan manosa. Pada agar SS, Endo, EMB dan MacConkey, koloni kuman berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna, pada agar Wilson Blair koloni kuman berwarna hitam berkilat logam akibat pembentukan H<sub>2</sub>S (Jawetz, 2005).

**estrogenisitas**



*Salmonella typhi* merupakan bakteri patogen yang mempunyai kemampuan transmisi, perlekatan pada sel inang, invasi sel dan jaringan inang, toksigenisitas dan kemampuan menghindari sistem imun inang (Baker, *et al*, 2010)

a. Antigen

Ada tiga kelompok utama antigen pada *Salmonella typhi*, yaitu:

- 1) Antigen dinding sel (juga dikenal sebagai somatik atau antigen O) merupakan suatu lipopolisakarida (LPS). Antigen O, terdiri dari oligosakarida yang disusun dari tiga atau empat gula, diulang sebanyak 15 atau 20 kali. LPS yang disebut juga endotoksin terdiri atas polisakarida O yang bervariasi secara antigenik, polisakarida inti yang sama untuk semua golongan bakteri *Enterobacteriaceae*, serta lipid A. *Salmonella* diklasifikasikan menjadi serovar berdasarkan perbedaan susunan antigen somatik (O) atau lipopolisakarida dan antigen protein flagella (H).
- 2) Antigen H terdapat pada protein flagellar. Organisme yang memiliki flagella, seperti *Escherichia* dan *Salmonella*, memiliki antigen H, sedangkan organisme nonmotil, seperti *Klebsiella* dan *Shigella*, tidak memiliki antigen H. 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, sehingga organisme dapat menggunakan perubahan ini untuk menghindari respon kekebalan inang.
- 3) Kapsular atau antigen polisakarida K, terutama terdapat pada organisme yang memiliki seperti *Klebsiella*. Antigen K dapat diidentifikasi oleh reaksi quellung (pengkakan kapsular) pada kehadiran antisera spesifik dan digunakan untuk e *E. coli* dan *Salmonella typhi* untuk tujuan epidemiologi. Pada *S. typhi*, antigen



tersebut disebut antigen Vi (virulensi). Antigen ini berhubungan dengan sifat invasif yang dimiliki oleh organisme. Antigen ini menyebabkan perlekatan bakteri pada sel epitel sebelum invasi ke saluran cerna. Produksi kapsul polisakarida Vi diatur oleh salah satu gen yaitu Salmonella Pathogenicity island 7 (SPI-7) (Zhang, *et al*, 2008).

#### b. Daya Invasi

*S. typhi* memiliki genom dengan panjang sekitar 5 juta base pair dan mengkode sekitar 4.000 gen. Dari 4000 gen ini, lebih dari 200 gen merupakan gen tidak aktif secara fungsional. Gen untuk faktor virulensi terdapat pada pathogenicity island (PI). Spesies *Salmonella non-patogenik* tidak memiliki PI. Dua tipe utama PI mengkode type three secretion system (TTSS) yang mentranslokasi protein virulensi bakteri ke dalam sel inang selama infeksi (Zhang, *et al*, 2008).

Pertama, TTSS dan efekturnya dikode oleh Salmonella pathogenicity island 1 (SPI-1), diperlukan untuk invasi sel-sel epitel dan diaktifkan dalam lumen usus sebelum invasi sel inang. SPI-1 mensekresi efektor SopE dan SopE2 yang berperan sebagai guanine-nucleotide exchange-factors (GEFs) untuk GTPase Cdc42 dan Rac. Penambahan SPI-1- efektor translokasi dari Salmonella mempengaruhi dinamika aktin selama proses invasi. Selain itu, Salmonella juga mengubah aktin sitoskeleton, melalui manipulasi phosphoinositide. Kedua, Salmonella pathogenicity island 2 (SPI-2) mengkode TTSS, protein efektor, molekular pendamping, dan dua komponen sistem regulasi yang mengaktifkan SPI-2 promotor. Pathogenicity island dan efekturnya diperlukan untuk kelangsungan hidup intraselular dan replikasi pada infeksi sistemik (Zhang, *et al*, 2008).

Selain kedua PI utama, terdapat PI lainnya yang telah diidentifikasi dan sebagian besar merupakan hal

bagi virulensi dan kelangsungan hidup bakteri. Seperti SPI-3, SPI-4 dan SPI-5. Apabila SPI-3, SPI-4, dan SPI-5 bersama-sama dengan SPI-1 dan SPI-2 tidak diaktifkan,



maka *S. typhi* dapat kehilangan kemampuan untuk mengekspresikan beberapa sifat virulensinya (Zhang, *et al*, 2008).

### c. Endotoksin/Lipopolisakarida

Endotoksin adalah lipopolisakarida (LPS) yang terletak pada membran luar dan hanya terdapat pada bakteri gram negatif. Lipid A adalah komponen toksin dari LPS. LPS menginduksi sitokin secara berlebihan, seperti tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1, dan nitrat oksida dari makrofag, sehingga dapat menimbulkan gejala syok septik, seperti demam dan hipotensi. Selain itu, LPS mengaktifkan komplemen cascade (jalur alternatif), sehingga mengakibatkan peningkatan permeabilitas vaskular, koagulasi cascade, dan disseminated intravascular coagulation (Baker, *et al*, 2010)

### f. Mekanisme infeksi *Salmonella typhi*

Sumber penularan utama infeksi *S. typhi* ialah penderita demam enterik dan individu yang bersifat karier. Mereka dapat mengeluarkan berjuta-juta kuman *S. typhi* dalam tinja, urin, dan muntahan mereka, sehingga hal tersebut yang merupakan sumber pencemaran. *Salmonella typhi* dapat ditularkan melalui berbagai cara, yang dikenal dengan 5F yaitu Food (makanan), Finger (jari tangan/kuku), Fomitus (muntah), Fly (lalat), dan melalui Feses (Baker, *et al*, 2010).

*Salmonella typhi* memasuki tubuh inang melalui jalur fekal - oral. Setelah infeksi oral, *Salmonella typhi* menginvasi sel M dan sel-sel epitel serta melewati Peyer's patch, kelenjar limfe mesenterika, pembuluh limfatik dan aliran darah (Carter & Collins, 1974 dalam Mastroeni dan Me´nager, 2003). Mekanisme alternatif invasi *S. typhi* adalah *S. typhi* ditelan oleh sel dendritik (DC) pada permukaan mukosa (Rescigno, *et al*, 2001 dalam Mastroeni dan Me´nager, 2003) dan kemudian diangkut dari saluran pencernaan ke dalam aliran darah oleh fagosit CD18+ (Torres, *et al*, 1999 dalam Mastroeni dan Me´nager,

interaksi dengan faktor komplemen, bakteri mencapai lokasi intraseluler dalam polimorfonuklear (GR1+), DC (CD11c+ MHC-II+) dan kadang-kadang sel B B220+ ; Dunlap, *et al*, 1991; Liang-Takasaki, *et al*, 1983; Saxen, *et al*, 1987; Warren, *et al*,





2002; Yrlid, *et al*, 2001 dalam Mastroeni dan Me´nager, 2003). Kemudian, bakteri ini terlokalisasi dalam fokus infeksi yang terdiri dari fagosit inflamasi dikelilingi oleh jaringan normal (Dahlfors, *et al*, 1997 dalam Mastroeni dan Me´nager, 2003).

Bakteremia terjadi pada penderita setelah bakteri mencapai aliran darah. Kemudian bakteri melewati kapiler-kapiler yang terdapat dalam dinding kandung empedu atau secara tidak langsung melalui kapiler-kapiler hati dan kanalikuli empedu, sehingga bakteri dapat mencapai empedu. Pada empedu yang terinfeksi, dapat menyebabkan invasi ke dalam usus untuk kedua kali yang lebih berat daripada invasi tahap pertama. Invasi tahap kedua ini menimbulkan lesi yang luas pada jaringan limfe usus kecil, sehingga gejala-gejala klinik menjadi jelas (Hatta, dkk, 2002).

Pada awal minggu kedua dari penyakit demam tifoid terjadi nekrosis superfisial yang disebabkan oleh toksin bakteri atau lebih utama disebabkan oleh buntunya pembuluh-pembuluh darah kecil oleh hiperplasia sel limfoid (sel tifoid). Mukosa nekrotik dapat membentuk kerak dan terlepas pada minggu ketiga, sehingga terbentuk ulkus yang berbentuk bulat atau lonjong tidak teratur dengan sumbu panjang ulkus sejajar dengan sumbu usus. Pada umumnya ulkus tidak dalam, tetapi jika submukosa terkena, dasar ulkus dapat mencapai dinding otot dari usus dan dapat mencapai membran serosa (Zabriskie, 2009)

Perdarahan hebat atau perforasi usus dapat terjadi pada waktu kerak lepas dari mukosa yang nekrotik. Kedua komplikasi tersebut merupakan penyebab kematian paling sering pada penderita demam tifoid. Meskipun demikian, beratnya penyakit demam tifoid tidak selalu sesuai dengan beratnya ulserasi. Toksemia hebat dapat menunjukkan demam tifoid berat, sedangkan perdarahan usus dan perforasi menunjukkan ulserasi berat (Zabriskie, 2009).

Pada stadium akhir dari demam tifoid, ginjal kadang-kadang tetap mengandung kuman Salmonella, a dapat terjadi. Dengan demikian, penderita merupakan urinary karier penyakit tersebut. Demam tifoid juga dapat terjadi miokarditis toksik, otot jantung membesar dan melunak, prostatitis, nekrosis tulang, bronkhitis serta meningitis (Zabriskie, 2009).



## **g. Manifestasi Klinis**

Penyakit demam tifoid memiliki berbagai gejala dan tanda khas. Apabila gejala dan tanda khas tampak, diagnosis kerja dapat langsung ditegakkan. Gejala dan tanda khas demam tifoid adalah sebagai berikut (Ryan, 2004) :

### **a. Minggu Pertama (awal terinfeksi)**

Setelah melewati masa inkubasi 10-14 hari, gejala penyakit sama dengan penyakit infeksi akut yang lain, seperti demam tinggi yaitu mencapai 39°C hingga 40°C, yang menurun pada pagi hari kemudian meningkat pada sore atau malam hari. Selain itu, disertai dengan sakit kepala, pusing, pegal-pegal, anoreksia, mual, muntah, batuk, denyut nadi lemah, pernapasan semakin cepat dengan gambaran bronkitis kataral, perut kembung dan merasa tak enak, serta diare dan konstipasi terjadi bergantian.

Pada akhir minggu pertama, diare lebih sering terjadi. Selain itu, khas lidah pada penderita adalah kotor di tengah, tetapi tepi dan ujung berwarna merah serta bergetar atau tremor. Epistaksis dapat dialami oleh penderita, serta tenggorokan terasa kering dan beradang. Ruam kulit (rash) dapat terjadi pada hari ketujuh serta terbatas pada abdomen di salah satu sisi dan tidak merata. Pada infeksi yang berat, purpura kulit yang difus dapat terjadi. Limpa dapat teraba dan abdomen mengalami distensi.

### **b. Minggu Kedua**

Pada minggu kedua, suhu tubuh penderita terus menerus dalam keadaan demam tinggi. Gejala toksemia semakin berat yang ditandai dengan keadaan penderita yang mengalami delirium. Gangguan pendengaran umumnya terjadi. Lidah tampak kering, merah mengkilat. Nadi semakin cepat, sedangkan tekanan darah menurun, Diare lebih sering terjadi, kadang-kadang feses berwarna gelap akibat terjadi perdarahan. Selain itu, dapat terjadi pembesaran hati dan limpa, serta perut kembung dan sering berbunyi.

etiga

i, komplikasi perdarahan dan perforasi cenderung untuk terjadi, akibat lepasnya kerak

a keadaan membaik, gejala-gejala akan berkurang dan suhu tubuh mulai turun.



Sebaliknya jika keadaan makin memburuk, yang ditandai dengan terjadinya tanda-tanda khas berupa delirium atau stupor, otot-otot bergerak terus, inkontinensia alvi serta inkontinensia urin, dan tekanan abdomen sangat meningkat disertai dengan nyeri perut. Penderita dapat mengalami kolaps. Jika denyut nadi sangat meningkat disertai peritonitis lokal atau umum, maka hal ini menunjukkan telah terjadi perforasi usus, sedangkan jika terjadi keringat dingin, gelisah, sukar bernapas dan kolaps dari nadi, maka hal ini memberi gambaran adanya perdarahan. Degenerasi miokardial toksik merupakan penyebab umum kematian penderita demam typhoid pada minggu ketiga.

#### d. Minggu keempat

Merupakan stadium penyembuhan meskipun pada awal minggu ini dapat terjadi pneumonia lobar atau tromboflebitis vena femoralis.

#### e. Relaps

Infeksi ringan yang terjadi pada seseorang hanya menghasilkan kekebalan yang lemah, sehingga kekambuhan dapat terjadi dan berlangsung dalam waktu yang singkat. Kekambuhan dapat terjadi lebih ringan daripada infeksi primer atau gejala lebih berat daripada infeksi primer. Sepuluh persen dari penderita demam tifoid yang tidak diobati akan mengakibatkan timbulnya relaps.

#### h. Demam tifoid Akut rekuren (DTAR)

Lima persen hingga 10% pasien yang diobati dengan antibiotik mengalami kekambuhan demam tifoid setelah pemulihan awal. Kekambuhan biasanya terjadi sekitar 1 minggu setelah terapi dihentikan, tetapi kambuh setelah 70 hari telah dilaporkan.

Rekuren pada penderita demam tifoid dapat disebabkan karena kambuh atau infeksi ulang. Jika awal

identik dengan bakteri dari serangan infeksi kedua dengan gejala DT maka ini disebut

dapat didefinisikan sebagai infeksi baru bila bakteri *S. typhi* yang menyerang berbeda

ma dan kedua atau dengan kata lain terjadi reinfeksi. Namun kedua rekuren ini sangat



sulit dibedakan kecuali dengan menggunakan teknik genotyping dari strain *S. typhi*. Biasanya gejala klinis yang dimunculkan dari penderita DTAR lebih ringan dari gejala awal menderitanya.

Terapi antimikroba menjadi salah satu penyebab terjadi rekuren pada penderita demam tifoid dimana secara umum angka kematian dapat mencapai 30% jika tidak ditangani dengan baik dan tetapi turun menjadi <1% dengan terapi antimikroba yang tepat. Samajpati, *et al*, 2018 melaporkan penelitian tentang angka DTAR telah dilakukan seperti Malaysia, Pakistan, Vietnam, Taiwan, Prancis, Denmark dan India. Namun belum ada data tentang angka demam tifoid akut rekuren di Indonesia. Penelitian di Pakistan menunjukkan bahwa 14% anak-anak dengan demam tifoid diobati dengan antibiotik selama 7 hari, dimana dan semua anak-anak tersebut didiagnosa sebagai penderita DTAR yang dikonfirmasi dengan kultur dalam 4 minggu setelah terapi dihentikan. Di India telah dilakukan penelitian penderita DTAR dengan menggunakan teknik genotyping Multi Locus Variable Assay (MLVA) untuk membedakan strain yang diisolasi dari infeksi pertama dan kedua pada pasien DTAR.

Oleh karena itu, terapi antimikroba yang adekuat pada penderita DT dan harus dipastikan telah terjadi penyembuhan secara bakteriologis sebelum penderita keluar dari rumah sakit atau dilakukan follow up dari dokter yang merawat agar tidak terjadi akut rekuren.

### **i. Uji Laboratorium Diagnostik**

Uji laboratorium diagnostik pada infeksi *S. typhi* adalah sebagai berikut:

#### **a. Spesimen**

Spesimen untuk kultur darah harus diambil secepatnya. Pada demam enterik, kultur darah sering positif dalam minggu pertama penyakit. Kultur sumsum tulang juga dapat digunakan. Kultur urin positif sesudah minggu kedua. Spesimen tinja juga harus diambil secepatnya. Pada demam enterik, kultur tinja memberikan minggu kedua atau ketiga. Kultur positif dari drainase usus 12 jari menunjukkan adanya infeksi biliary pada karier (Jawetz, 2005).

Kultur bakteriologis untuk pengisolasian *Salmonella*



### 1) Kultur diferensial medium

EMB, Mac-Conkey's, atau medium deoksikholat memungkinkan pendeteksian cepat dari fermenter nonlaktosa. Organisme gram positif dalam beberapa hal dihambat. Medium bismut sulfidat memungkinkan pendeteksian cepat dari *S. typhi*, yang membentuk koloni hitam karena produksi H<sub>2</sub>S.

### 2) Kultur medium selektif

Spesimen ditempatkan pada agar Salmonella-Shigella (SS), Hektoen agar enterik, XLD, atau agar deoxycholate citrat yang lebih cocok untuk pertumbuhan salmonella dan shigella.

### 3) Kultur pengayaan

Spesimen (biasanya tinja) diletakkan dalam selenite F atau tetrathionate broth, dimana keduanya menghambat replikasi bakteri saluran usus normal dan memungkinkan meningkatkan pertumbuhan salmonella. Sesudah inkubasi 1-2 hari, kemudian ditanam pada media diferensial dan selektif.

### 4) Identifikasi akhir

Koloni dari media padat diidentifikasi oleh bentuk reaksi biokimia dan tes aglutinasi mikroskop dengan serum spesifik (Jawetz, 2005).

#### c. Metode serologi

##### 1. Tes aglutinasi pengenceran tabung (tes Widal)

Pemeriksaan Widal merupakan suatu metode serologi baku dan rutin digunakan sejak tahun 1896. Prinsip pemeriksaan Widal adalah memeriksa reaksi antara antibodi aglutinin dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagela (H) yang dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi. Serum aglutinasi akan meningkat pada minggu kedua dan ketiga pada infeksi salmonella. Paling tidak 2 contoh serum dicapai 10 hari, dibutuhkan untuk membuktikan adanya peningkatan titer antibodi. Proses



pengenceran berurutan dari serum yang tidak diketahui dites terhadap antigen dari salmonella yang representatif. Hasilnya diartikan sebagai berikut :

- a) Tinggi atau meningkatnya titer O ( $\geq 1:160$ ) menyatakan bahwa infeksi aktif terjadi.
- b) Titer H tinggi ( $\geq 1:160$ ) menyatakan adanya imunisasi atau infeksi terdahulu.
- c) Titer antibodi yang tinggi terhadap antigen Vi terjadi pada beberapa karier.

Interpretasi tes Widal tetap bermasalah dengan sejumlah besar artikel melaporkan cut-off yang berbeda. Selain itu, tes ini telah kehilangan popularitas dalam beberapa tahun terakhir sebagai penentu antigen dari penderita demam typhoid (Jawetz, 2005).

Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum. Semakin tinggi titernya, semakin besar kemungkinan infeksi ini .

Prinsip uji widal ini adalah suatu reaksi aglutinasi antara antibodi (aglutinin) dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagella (H) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi. Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum. Antigen yang digunakan pada uji widal adalah suspensi Salmonella yang sudah dimatikan dan diolah di laboratorium. Tujuan dari uji widal adalah untuk menentukan adanya aglutinin dalam serum pasien yang diduga menderita demam typhoid. Akibat dari infeksi Salmonella typhi , pasien membentuk antibodi tersebut, yaitu : antibodi O, antibodi H, dan antibodi Vi. Dari ketiga antibodi tersebut hanya antibodi O dan antibodi H yang ditentukan titernya untuk diagnosis. Makin tinggi titernya, makin besar kemungkinan pasien menderita demam typhoid.





Gambar 3. Widal Test Kit (sumber : [www.kaplindia.com](http://www.kaplindia.com))

## 2. Tes Haemagglutinası (HA)

Banyak peneliti telah mengevaluasi kegunaan tes HA di berbagai negara. Dalam sebuah penelitian dari India, tes HA anti LPS menunjukkan sensitivitas 60% dan spesifisitas 98,2%. Nilai prediktif positif dan nilai prediktif negatif adalah masing-masing 66,7% dan 96,7%. Dalam penelitian lain, tes Reverse Passive Haemagglutination (RPHA) dirancang untuk mendeteksi antigen *S. typhi*. Tes memiliki sensitifitas 70% dan spesifisitas 92% untuk diagnosis demam typhoid akut. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, menunjukkan bahwa tes HA dapat dibandingkan dengan tes Widal dan menjadi alternatif terhadap tes widal untuk diagnosis serologi demam tifoid di laboratorium mikrobiologi pada daerah-daerah endemik penyakit ini (Wain, 2008).

## 3. Rapid test

### a) Tes Dot blot

Penerapan klinis tes dot blot untuk mendeteksi IgG (sensitivitas dan spesifisitas sebesar 88%) dan IgM (sensitivitas sebesar 12,1% dan spesifisitas sebesar 97%) terhadap antigen flagellar *Salmonella typhi* telah dilakukan di Peru dan Kolombia dengan 100% spesifisitas.



Merupakan DOT enzyme immunoassay (Typhidot dan Typhidot-Mt ; Malaysian Biodiagnostic Research SDN BHD, Kuala Lumpur, Malaysia) yang mendeteksi antibodi IgM atau IgG terhadap antigen spesifik pada protein membran luar dari serotipe *S. typhi*. Tes ini dirancang untuk diagnosis cepat demam typhoid di daerah-daerah dengan sumber daya terbatas. Beberapa studi menunjukkan bahwa Typhidot dan Typhidot-Mt memberikan hasil yang lebih baik daripada tes Widal dalam sensitivitas dan spesifisitas diagnostik.

#### c) Tes dipstick

Tes ini lebih baik dari tes Widal, memiliki sensitivitas dan spesifisitas masing-masing sebesar 77% dan 95%. Keuntungan dari tes dipstick adalah hasil pemeriksaan dapat diperoleh pada hari yang sama, sehingga memungkinkan perawatan yang cepat, hanya membutuhkan volume kecil dari serum, tidak ada peralatan laboratorium khusus diperlukan untuk melakukan uji, dan reagen tetap stabil bila disimpan pada suhu kamar (Wain, 2008).

#### d) Tes Lateral Flow

Tes lateral flow disebut juga tes Immunochromatographic Strip (ICS). Pemeriksaan ini bertujuan untuk mendeteksi antibodi IgM spesifik pada suatu penyakit dengan menggunakan sampel serum. Keuntungan tes lateral flow adalah mudah digunakan dan dapat memberikan hasil dalam waktu cepat yaitu 10 -15 menit. Selain itu, pemeriksaan ini tidak membutuhkan kemampuan khusus dan peralatan laboratorium khusus.

### 4. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Digunakan untuk melacak antigen monoklonal yang spesifik terhadap antibodi yang akan dideteksi. Antigen *S. Typhi* dapat dideteksi dalam urin pada beberapa penderita demam typhoid menggunakan spesifisitas bervariasi dari 25-90%. Berdasarkan hasil penelitian Fadeel, et al (2004) sensitivitas uji ini sebesar 100% pada sampel urine untuk deteksi antigen Vi serta masing-masing deteksi antigen O dan antigen flagella (H) (Wain, 2008).





## 5. PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR (Polymerase Chain Reaction) merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif (Hatta & Henk, 2007)

Berdasarkan hasil penelitian di Indonesia yang meneliti 131 pasien dengan diagnosis klinis typhoid, didapatkan hasil bahwa diagnosis dengan PCR dari DNA dengan spesimen darah yaitu sebesar 84,5%, dan lebih sensitif dibandingkan metode kultur darah yaitu sebesar 61.8%. Penelitian lain di Nepal pada spesimen dari 71 anak-anak yang diduga demam typhoid dilaporkan bahwa sebesar 82,7% positif untuk PCR dari darah dan air seni, dan keduanya jauh lebih tinggi daripada penggunaan kultur darah (26,9%). Berdasarkan penelitian tersebut, para peneliti menyimpulkan bahwa secara signifikan sensitivitas PCR lebih baik dibandingkan dengan metode kultur darah (Wain, 2008).

PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (annealing) pasangan primer pada DNA target, dan pemanjangan (extension) primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA polimerase.

### I. Tahapan PCR

#### a) Denaturasi

Selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusnya ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen. Pada tahap ini, seluruh reaksi enzim tidak berjalan, misalnya reaksi polimerisasi pada

nya. Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90°C- 95°C.

an primer



Pada tahap penempelan primer (annealing), primer akan menuju daerah spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Pada proses annealing ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada templat. Proses ini biasanya dilakukan pada suhu 50°C – 60°C. Selanjutnya, DNA polymerase akan berikatan sehingga ikatan hidrogen tersebut akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus kembali apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya, misalnya pada 72°C.

### c) Reaksi polimerisasi (extension)

Umumnya, reaksi polimerisasi atau perpanjangan rantai ini, terjadi pada suhu 72°C. Primer yang telah menempel akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan templat oleh DNA polimerase (Hatta & Henk, 2007).

## II. Komponen PCR

### a) Enzim DNA Polymerase

Dalam sejarahnya, PCR dilakukan dengan menggunakan Klenow fragment DNA Polimerase I selama reaksi polimerisasinya. Enzyme ini ternyata tidak aktif secara termal selama proses denaturasi, sehingga peneliti harus menambahkan enzim di setiap siklusnya. Selain itu, enzim ini hanya bisa dipakai untuk perpanjangan 200bp dan hasilnya menjadi kurang spesifik. Untuk mengatasi kekurangan tersebut, dalam perkembangannya kemudian dipakai enzim Taq DNA polymerase yang memiliki keaktifan pada suhu tinggi. Oleh karenanya, penambahan enzim tidak perlu dilakukan di setiap siklusnya, dan proses PCR dapat dilakukan dalam satu mesin.

### b) Primer

Primer merupakan oligonukleotida pendek rantai tunggal yang mempunyai urutan komplemen dengan DNA template yang akan diperbanyak. Panjang primer berkisar antara 20-30 basa. Untuk merancang urutan

ahui urutan nukleotida pada awal dan akhir DNA target. Primer oligonukleotida di  
an suatu alat yang disebut DNA synthesizer.

nnya



Selain enzim dan primer, terdapat juga komponen lain yang ikut menentukan keberhasilan reaksi PCR. Komponen tersebut adalah dNTP untuk reaksi polimerisasi, dan buffer yang mengandung MgCl<sub>2</sub>. Konsentrasi ion Mg<sup>2+</sup> dalam campuran reaksi merupakan hal yang sangat kritis. Konsentrasi ion Mg<sup>2+</sup> ini sangat mempengaruhi proses primer annealing, denaturasi, spesifisitas produk, dan aktivitas enzim (Hatta & Henk, 2007).

### III. Jenis-jenis PCR

#### a) Restriction Fragment Length Polymorphism Polymerase Chain Reaction (RFLP PCR)

RFLP PCR adalah salah satu teknik yang secara luas digunakan untuk mendeteksi variasi pada tingkat sekuens DNA atau untuk melihat polimorfisme dalam genom organisme. Teknik ini menggunakan enzim-enzim restriksi yang berfungsi sebagai pemotong DNA rantai ganda pada sekuens yang spesifik, untuk menentukan dua fragmen DNA memiliki kesamaan. Karena sifatnya yang spesifik, maka enzim ini akan memotong situs tertentu yang dikenali oleh enzim ini. Situs enzim pemotong dari genom suatu kelompok organisme yang kemudian berubah karena mutasi atau berpindah karena genetic rearrangement dapat menyebabkan situs tersebut tidak lagi dikenali oleh enzim, atau enzim restriksi akan memotong daerah lain yang berbeda. Proses ini menyebabkan terbentuknya fragmen-fragmen DNA yang berbeda ukurannya dari satu organisme ke organisme lainnya (Dwiyanti, dkk, 2017).

Dalam teknik ini, DNA didigesti atau dipotong dengan enzim restriksi tertentu, kemudian dielektroforesis pada gel agarose yang akan memisahkan fragmen DNA yang dipotong sesuai dengan ukurannya. Apabila DNA tidak identik ukurannya, maka pola fragmen DNA pada gel tidak akan sepadan. Bila pola fragmen DNA sarna, maka enzim restriksi tersebut akan digunakan untuk menentukan dua rantai DNA memiliki kesamaan. Aplikasi teknik RFLP PCR digunakan untuk mendeteksi diversitas genetik, hubungan kekerabatan, dan mampu secara mengesankan mengungkap keanekaragaman genetik mikroba kulturkan di laboratorium (Dwiyanti, dkk, 2017).

transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)



RT-PCR untuk mendeteksi virus RNA atau mikroba hidup dengan terlebih dahulu melalui tahap konversi RNA menjadi DNA yang komplementer. Proses RT-PCR merupakan bagian dari proses PCR biasa. Perbedaannya dengan PCR yang biasa adalah pada proses ini berlangsung satu siklus tambahan yaitu adanya perubahan RNA menjadi cDNA (complementary DNA) dengan menggunakan enzim Reverse Transkriptase. Reverse Transcriptase adalah suatu enzim yang dapat mensintesa molekul DNA secara *in vitro* menggunakan template RNA. Seperti halnya PCR biasa, pada pengerjaan RT-PCR ini juga diperlukan DNA Polimerase, primer, buffer, dan dNTP. Namun berbeda dengan PCR, templat yang digunakan pada RT-PCR adalah RNA murni. Oleh karena primer juga dapat menempel pada DNA selain pada RNA, maka DNA yang mengkontaminasi proses ini harus dibuang (Fias, dkk, 2017)

- c) Multiplex PCR untuk mendeteksi sekaligus beberapa target DNA.
- d) Nested PCR untuk meningkatkan sensitifitas dan spesifitas dengan melakukan amplifikasi 2 kali.
- e) Quantitative real-time PCR untuk mempercepat mengetahui adanya target DNA tanpa melalui proses pasca amplifikasi (misalnya gel elektroforesis) (Fias, dkk, 2017).

#### **j. Gen Flagellin**

Kebanyakan wilayah di dunia, *S. typhi* hanya memiliki satu tipe tunggal flagellar, yang ditandai dengan d (H1-d). Sedangkan beberapa isolat dari Indonesia telah dicatat memiliki antigen flagellar alternatif, j (H1-j). Gen ini spesifik hanya ditemukan di Indonesia yang memiliki pola unik. H1-j mengalami penghapusan (delesi) 261-bp dari gen d. Antigen flagellar dari *S. typhi* (H1-d) dikode oleh rangkaian DNA 1530bp dimana bila dibandingkan dengan serotip H1-j, serotip H1-d menyebabkan gejala klinis yang lebih yang mungkin lebih berat dan hal ini mungkin disebabkan karena sifat motilitas dan daya invasifnya lebih tinggi (Kilger *et al.* 1993; Grossman, *et al.*, 1995).



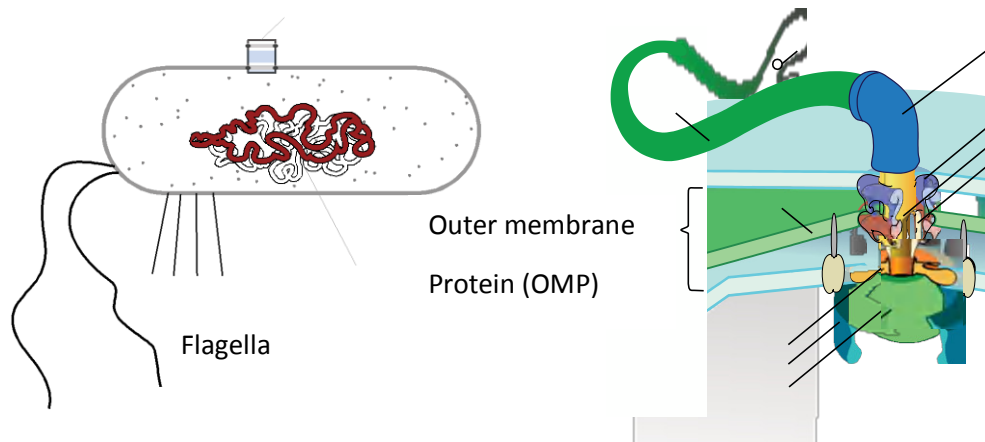
Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

dapat berhubungan dengan motilitas flagellar dan kemotaksis yang membawa bakteri dengan *sel host*. (sel epitelia) Jika fungsi motilitas serotip H1-j berkurang sebagai akibat

perubahan fungsi flagellar, maka daya invasif dan tingkat penyakit klinis dapat juga berkurang. Penurunan motilitas isolasi *H1-j* merupakan suatu kontributor penting pada penurunan invasifnya (Grossman, *et al*, 1995).

Kerusakan fungsi flagellar serotype H1-j dapat menyebabkan (Hatta, dkk, 2010)

1. Menurunnya kemampuan umum bakteri sehingga kesempatan survivalnya terhadap lingkungan menjadi berkurang, baik dalam usus manusia ataupun dalam sistem reticuloendothelial.
2. Rusaknya motilitas bakteri mengurangi daya invasif atau kontak dengan dinding mucosal usus
3. Mengurangi tingkat invasif mikroorganisme sehingga kemungkinan invasi usus dan bakteremia menjadi menurun



Gambar 4. Flagella *S. typhi* dan bentuk berputar untuk bergerak bakteri tersebut (Aldridge P, 2002)

Sebagian besar strain *S. typhi* mempunyai struktur yang menyandi flagella ada dua gen yang menyandi flagella yakni gen *fliC* yang mengkode antigen fase 1 dan *fjiB* yang menyandi antigen fase 2. Sebagai mikroorganisme penyebab DT hanya memiliki gen *fliC* atau fase 1 yang menyandi antigen fase 1. Gen flagellin *Hi-d* ini menyandi gen potensial daya invasif bakteri terhadap inang.



Serotype flagella H1-d ini umum dimiliki oleh *S. typhi* pada penderita demam tifoid di seluruh dunia. Namun penelitian lanjutan dari *S. typhi* ditemukan serotype flagella yang berbeda dengan H1-d. Pada akhir fragmen dari gen penyandi Hi-d terdapat delesi sepanjang 261 bp yang kemudian disebut Hi-j. Serotype H1-j spesifik hanya ditemukan pada isolat *S. typhi* dari Indonesia. Strain Hi-j ditemukan sekitar 10%-50% isolat *S.typhi* di Indonesia dan belum ada data yang menunjukkan eksistensinya di negara lain (Susanna, *et al*, 2005).

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Grossman, *et al*, (1995) memperlihatkan bahwa adanya perbedaan signifikan antara berat ringannya gejala klinis pada penderita DT, kemampuan atau daya invasif dan pergerakan atau motilitas secara *in vitro* pada varian serotipe Hi-d dibandingkan dengan varian serotipe Hi-j. Serotipe Hi-d menimbulkan gejala klinis yang lebih berat dan ini selaras dengan tingkat motilitas pada agar lunak dimana varian serotip Hi-d terlihat lebih invasif terhadap sel-sel Hep-2 line. Hal ini menyebabkan penurunan motilitas serotipe Hi-j menjadi kontributor penting terhadap menurunnya kemampuan daya invasif *S. typhi*.

Berdasarkan penelitian Susanna *et al*, (2005) memperlihatkan adanya dileksi gen flagella pada varian Hi-j menyebabkan interaksi yang kurang efisien dengan reseptor permukaan sehingga mengurangi daya invasi dan sifat virulensi dari serotip varin Hi-j tersebut.

Beberapa hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa selain ditemukan antigen Hi-j yang dianggap variasi dari antigen Hi-d pada *S. typhi*, ternyata di Indonesia juga ditemukan adanya strain *S .typhi* dengan antigen yang berbeda. (Grossman, *et al*, 1995). Selanjutnya Huang, *et al*, 2004. Menemukan varian yang lain dari gen flagelin *S. typhi* yaitu z66 yang mempunyai sifat motilitas berbeda dengan dengan Hi-d dan Hi-j.

in bergerak dan kemotaxis flagella dapat menyebabkan *S. typhi* dapat melakukan dengan *sel host* (sel epitelia). Fungsi motilitas serotipe H1-j berkurang akibat adanya flagella, sehingga daya invasi dan tingkat keparahan dari gejala klinis yang dimunculkan



juga dapat berkurang. Penurunan daya motilitas serotipe H1-j menjadi kontributor penting terhadap penurunan daya invasifnya (Xu *et al.*, 2008; Baker, *et al.*, 2007). Hal serupa juga pernah dilaporkan oleh Grossman *et al.*, 1995, dimana bila dibandingkan dengan serotipe H1-j dan z66, serotipe H1-d menyebabkan klinis penyakit lebih berat, memiliki daya invasi lebih kuat dan lebih motil dalam uji *in vitro* pada medium semisolid. Sebaliknya terhadap profil gen flagelin *z66Ind* oleh Hatta *et al.*, 2011 masih belum jelas dan belum pernah dilaporkan khususnya pada akut rekuren. Motilitas flagella dan profil gen flagelin (*Hi-d, Hi-j, z66 dan z66Ind*) *S. typhi* antara Karier dan DT dalam peningkatan respon antibodi pada penderita akut rekuren masih belum jelas dan belum pernah dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Dengan demikian maka dengan adanya variasi gen flagelin yang berhubungan dengan motilitas bakteri, dimana akan mempengaruhi kemampuan dan respon pertahanan tubuh pada akut rekuren terhadap infeksi *S. typhi*.

Akibat masih belum jelasnya profil gen flagelin (*Hi-d, Hi-j, z66 dan z66Ind*) *S. typhi* pada akut rekuren DT dalam hubungannya terhadap respon imun yang akan terbentuk maka perlu dilakukan penelitian bagaimana variasi gen flagelin pada penderita akut rekuren DT.

Penelitian yang dilakukan oleh Hatta, dkk, 2010 menemukan varian baru dari gen flagellin di Indonesia yaitu *z66IND* yang mempunyai sifat motilitas dengan urutan nukleotida yang berbeda dari variasi yang sudah ada sebelumnya yaitu Hd, Hj, z66.

Telah dilakukan penelitian genotyping bakteri *S. typhi* dimana ditemukan variasi fase yang unik dari beberapa jenis *Salmonella enterica* serovar *typhi* dari Indonesia. Dimana isolat *S. typhi* dari Indonesia telah dijelaskan bahwa selain mengandung gen flagellin fase 1 Hd dan gen flagellin kedua bernama z66. Selain itu ditemukan pula *S. typhi* isolat dari Indonesia dengan gen Hd mutan bernama variasi Hj. Pada penelitian ini pertama diidentifikasi gen flagellin lain dari *S. typhi*, bernama *z66Ind* (GenBank: menunjukkan homologi terdekat dengan gen flagellin dari *Serratia marcescens*. Gen *z66Ind* % pada isolat *S. Typhi* dari Indonesia dan semuanya mengandung gen Hd. Gen Hj tidak



terdeteksi. Gen z66 terdeteksi sebesar 15,4% dari isolat. Adanya gen flagellin "baru" ini dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko untuk menimbulkan keparahan dari gejala klinis DT (Hatta & Henk, 2010).

Variasi gen flagellin z66IND S. typhi ini mungkin berhubungan dengan terjadinya karier pada demam tifoid (Dwiyanti, dkk. 2015). Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi gen flagellin S. typhi yang ditemukan pada 21 penderita Karier Demam Tifoid (KDT) ialah varian Hd+ sebanyak 2 (9.5 %) penderita; Hj+ sebanyak 1 (4.8%) penderita; Hd+z66+ sebanyak 6 (28.6 %) penderita; Hj+z66+ sebanyak 1 (4.8 %) dan gen flagellin Hd+z66IND+ sebanyak 11 (52.3%) penderita KDT. Disini menunjukkan bahwa kebanyakan variasi gen flagellin Hd+z66IND+ ditemukan pada KDT. Disamping itu Dwiyanti, dkk. 2017 menemukan bahwa varian gen flagellin S. typhi baik varian Hd+, Hj+, Hd+z66+, Hj+z66+ dan Hd+z66IND+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis lidah kotor, lemah dan sakit kepala dengan OR masing-masing 0.82, 0.31, 1.15, 1.54 dan 1.87 dan p= 0.816, p=0.023, p=0.599, p=0.402 dan p=0.020.

Demikian pula varian gen flagellin S. typhi Hd+ dan Hd+z66IND+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis apathy dengan OR masing masing 0.63 dan 1.69 dan p=0.658 dan p=0.497.

Varian gen flagellin S. typhi Hd+ dan Hd+z66+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis stupor dengan OR masing masing 1.71 dan p=0.379. Sebaliknya varian gen flagellin S. typhi Hd+z66IND+ memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis stupor dengan OR masing 3.27 dan p=0.000.

Selanjutnya varian gen flagellin S. typhi baik varian Hd+, Hj+, dan Hd+z66IND+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis muntah dengan OR masing -masing dan p= 0.309, p=0.160 dan p=0.118. Demikian pula varian gen flagellin S. typhi Hd+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis konstipasi dengan OR masing-masing 1.25 dan p=0.678.





Demikian pula varian gen flagellin *S. typhi* baik varian Hd+, Hj+, Hd+z66+, Hj+z66+ dan Hd+z66IND+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis diarrhea dengan OR masing-masing 1.77, 1.14, 1.14,1.14 dan 1.98 dan p=0.714, p=0.919, p=0.919, p=0.919 dan p=0.875. Varian gen flagellin *S. typhi* baik varian Hd+ dan Hj+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis melena dengan OR masing-masing 0.37 p=0.363. Sebaliknya varian gen flagellin *S. typhi* Hd+z66IND+ secara bermakna memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis diarrhea dengan OR masing 2.76 dan p=0.000.

Selanjutnya varian gen flagellin *S. typhi* baik varian Hd+ dan Hj+ tidak memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis perforasi dengan OR masing-masing 1.86 dan 1.14 p=0.03 dan p=0.500. Namun varian gen flagellin *S. typhi* Hd+z66IND+ secara bermakna memperlihatkan sebagai faktor resiko untuk munculnya gejala klinis perforasi dengan OR masing 4.37 dan p=0.000

#### **k. Antibodi dan Antigen**

Antibodi merupakan protein yang beredar dan diproduksi pada vertebrata sebagai respon terhadap paparan struktur asing, dikenal sebagai antigen. Antibodi memiliki kemampuan yang sangat beragam dan spesifik untuk mengenali bentuk asing. Antibodi merupakan mediator utama imunitas humoral terhadap semua kelas mikroba. Antibodi, molekul Major histocompatibility complex (MHC), dan reseptor sel T antigen adalah tiga kelas molekul yang digunakan dalam imunitas adaptif untuk mengenali antigen. Dari ketiganya, antibodi memiliki kemampuan mengikat struktur antigen dengan kekuatan terbesar dan membedakan antara antigen yang berbeda (Magarengi, dkk, 2015; Muthiadin, dkk, 2015; Hatta, dkk, 2002)

Antibodi

Antibodi merupakan globulin gamma yang disebut imunoglobulin (Ig) dan memiliki berat molekul 150.000-970.000. Semua imunoglobulin terdiri atas kombinasi rantai polipeptida ringan dan



berat. Kebanyakan merupakan kombinasi 2 rantai berat dan 2 rantai ringan. Namun, ada beberapa imunoglobulin yang memiliki kombinasi sampai 10 rantai berat dan 10 rantai ringan, sehingga memiliki berat molekul besar (Hatta, dkk, 2002; Muthiadin, dkk, 2017)

Ujung dari setiap rantai berat dan rantai ringan, yang disebut bagian yang dapat berubah (variable portion) berbeda-beda untuk tiap sifat antibodi. Bagian inilah yang secara khusus melekat pada tipe antigen tertentu. Bagian yang tetap (constant portion) dari antibodi menentukan sifat-sifat lain dari antibodi, menetapkan beberapa faktor seperti penyebaran antibodi dalam jaringan, perlekatan antibodi pada struktur-struktur spesifik dalam jaringan, perlekatan pada kompleks komplemen, kemudahan antibodi melewati membran, dan sifat-sifat biologis lain dari antibodi (Zabriskie, 2009; Muthiadin, dkk, 2017)

Setiap antibodi bersifat spesifik untuk antigen tertentu. Hal ini disebabkan oleh struktur uniknya yang tersusun atas asam amino pada bagian yang dapat berubah dari rantai ringan dan rantai berat. Susunan asam amino ini memiliki bentuk sterik yang berbeda untuk setiap spesifisitas antigen, sehingga bila suatu antigen kontak dengan bagian ini, terjadi ikatan yang cepat antara antibodi dan antigen (Zabriskie, 2009; Muthiadin, dkk, 2017).

## b) Penggolongan antibodi

Terdapat lima golongan umum antibodi, yaitu (Jawetz, 2005) :

### 1. IgG

IgG merupakan antibodi dominan pada respon sekunder dan menyusun pertahanan yang penting melawan bakteri dan virus. Antibodi ini terdapat sekitar 75% dari seluruh antibodi pada orang normal. Konsentrasi imunoglobulin ini dalam serum sekitar 0,5 – 10 mg/ml. Ini merupakan satu-satunya antibodi yang mampu melintasi plasenta. Oleh karena itu, merupakan imunoglobulin yang paling banyak ditemukan

. Tiap molekul IgG terdiri dari 2 rantai L dan 2 rantai H yang dihubungkan oleh ikatan disulfida (molekul H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>). Oleh karena imunoglobulin ini memiliki dua tempat pengikatan antigen yang disebut divalen. Terdapat empat sub kelas yaitu IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4.



Pembagian subkelas ini berdasarkan perbedaan antigenik pada rantai H dan berdasarkan jumlah dan lokasi ikatan disulfida.

## 2. IgM

IgM merupakan imunoglobulin utama yang diproduksi pada awal respon imunitas primer. IgM terdapat pada permukaan semua sel B yang belum aktif. Konsentrasi IgM dalam serum adalah 1,5 mg/ml (6%). IgM tersusun atas lima unit H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> (masing-masing hampir sama dengan satu unit IgG) dan satu molekul rantai J (joining). Pentamer (berat molekul 900.000) memiliki total sepuluh tempat pengikatan antigen yang identik. Oleh karena itu, disebut memiliki valensi 10. Ini merupakan imunoglobulin yang paling efisien dalam proses aglutinasi fiksasi komplemen dan reaksi antigen antibodi lainnya serta penting juga dalam pertahanan melawan bakteri dan virus. Oleh karena, interaksi imunoglobulin ini dengan antigen dapat melibatkan semua tempat pengikatan antigen tersebut, maka imunoglobulin ini memiliki tingkat aviditas yang paling tinggi dibandingkan dengan imunoglobulin lainnya.

## 3. IgA

IgA merupakan imunoglobulin utama pada hasil sekresi, misalnya susu, saliva, dan air mata serta sekresi traktus respiratorius, intestinal, dan genital. Imunoglobulin ini melindungi membran mukosa dari serangan bakteri dan virus. Tiap molekul IgA memiliki berat molekul 400.000 dan terdiri atas 2 unit H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> dan 1 molekul yang terdiri atas rantai J dan komplemen sekresi. Molekul yang disebut terakhir, merupakan protein yang diturunkan dari celah reseptor poli-Ig. Reseptor ini mengikat dimer IgA dan mempermudah transpornya melintasi sel epitel mukosa. Beberapa IgA terdapat dalam serum sebagai monomer H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> dengan berat molekul 170.000. IgA terdiri atas dua sub kelas yaitu IgA1 dan IgA2. Beberapa bakteri, misalnya neisseria dapat merusak IgA1 dengan cara menghasilkan protease, sehingga menghalangi imunitas yang diperantarai antibodi pada permukaan mukosa. Konsentrasi IgA dalam serum adalah 0,5 – 3



Regio Fc dari IgE terikat pada reseptor yang terdapat pada permukaan sel mast dan basofil. IgE yang terikat ini bertindak sebagai reseptor untuk antigen yang menstimulasi produksinya, sehingga terbentuk kompleks antigen-antibodi yang memicu terjadinya respon alergi tipe cepat (anafilaksis) melalui pelepasan mediator. Pada orang dengan hipersensitivitas alergi yang diperantarai antibodi tersebut, konsentrasi IgE meningkat dengan cepat dan terdapat pada sekresi eksternal. Konsentrasi IgE dalam serum adalah 0,003 mg/ml (<1%).

## 5. IgD

IgD bertindak sebagai reseptor antigen ketika terdapat pada permukaan limfosit B tertentu. Ini juga terjadi pada beberapa sel leukemia limfatik. Di dalam serum, imunoglobulin ini hanya terdapat dalam jumlah sedikit yaitu 0,03 mg/ml (<1%).

### c) Pembentukan antibodi

Sebelum terpajan dengan antigen yang spesifik, klon limfosit B tetap dalam keadaan dormant di dalam jaringan limfoid. Apabila ada antigen asing yang masuk, makrofag dalam jaringan limfoid akan memfagositosis antigen dan kemudian membawanya ke limfosit B di dekatnya. Selain itu, antigen tersebut dapat juga dibawa ke sel T pada saat yang bersamaan, dan sel T helper yang teraktivasi kemudian juga membantu mengaktifkan limfosit B (Muthiadin, dkk, 2017).

Limfosit B yang bersifat spesifik terhadap antigen segera membesar dan tampak seperti gambaran limfoblas. Beberapa limfoblas berdiferensiasi lebih lanjut untuk membentuk plasmablas, yang merupakan prekursor dari sel plasma. Dalam sel-sel ini, sitoplasma meluas dan retikulum endoplasma kasar akan berproliferasi dengan cepat. Sel-sel ini kemudian membelah dengan kecepatan satu kali setiap 10 jam, sampai sekitar 9 pembelahan, sehingga dari 1 plasmablas dapat terbentuk kira-kira 500 sel dalam waktu 4

ng matur kemudian menghasilkan antibodi gamma globulin dengan kecepatan tinggi, ul per detik untuk setiap sel plasma. Antibodi yang disekresikan kemudian masuk ke dan diangkut ke sirkulasi darah. Proses ini berlanjut terus selama beberapa hari atau



beberapa minggu sampai sel plasma kelelahan dan mati (Muthiadin, dkk, 2017; Hatta, dkk, 2013; Zabriskie, 2009)

#### d) Mekanisme kerja antibodi

Antibodi bekerja terutama melalui dua cara untuk mempertahankan tubuh terhadap agen penyebab penyakit: (a) dengan langsung menyerang penyebab penyakit tersebut dan (b) dengan mengaktifkan sistem komplemen yang kemudian dengan berbagai cara yang dimilikinya akan merusak penyebab penyakit tersebut (Jawetz, 2005).

#### I. Kerja langsung antibodi terhadap agen penyebab penyakit

Akibat sifat bivalen dari antibodi dan banyaknya tempat antigen pada sebagian besar agen penyebab penyakit, maka antibodi dapat mematikan aktivitas agen penyakit dengan salah satu cara berikut ini:

##### 1) Aglutinasi

Berbagai partikel besar dengan antigen pada permukaannya, seperti bakteri atau sel darah merah, terikat bersama-sama menjadi satu kelompok.

##### 2) Presipitasi

Kompleks molekular dari antigen yang larut (misalnya racun tetanus) dan antibodi menjadi begitu besar, sehingga berubah menjadi tidak larut dan membentuk presipitat.

##### 3) Netralisasi

Antibodi menutupi tempat-tempat yang toksik dari agen yang bersifat antigenik.

##### 4) Lisis

Beberapa antibodi yang sangat kuat kadang-kadang mampu langsung menyerang membran sel agen

sehingga menyebabkan sel tersebut rusak.



Dalam keadaan normal, kerja antibodi yang langsung menyerang penyebab penyakit yang bersifat antigenik tidak cukup kuat untuk berperan dalam mempertahankan tubuh terhadap penyebab penyakit tersebut. Kebanyakan sifat pertahanan didapat melalui efek penguatan dari sistem komplemen.

## II. Sistem komplemen pada kerja antibodi

Komplemen merupakan istilah gabungan untuk menggambarkan suatu sistem yang terdiri dari kira-kira 20 protein, yang kebanyakan merupakan prekursor enzim. Pemeran utama dalam sistem ini adalah 11 protein yang ditandai dengan C1 – C9, B, dan D. Dalam keadaan normal, semua protein ini terdapat di antara protein-protein plasma dan juga dalam protein plasma yang bocor keluar dari kapiler masuk ke dalam ruang jaringan. Biasanya prekursor enzim ini bersifat inaktif, tetapi dapat diaktifkan dengan 2 cara yaitu (1) jalur klasik dan (2) jalur alternatif.

### 1) Jalur klasik

Jalur ini diaktifkan oleh suatu reaksi antigen-antibodi. Apabila suatu antibodi berikatan dengan suatu antigen, maka tempat reaktif yang spesifik pada constant portion (bagian yang tetap) dari antibodi akan menjadi tidak tertutup atau diaktifkan dan gabungan ini kemudian langsung berikatan dengan molekul C1 dari sistem komplemen. Setelah itu, terjadi pengaktifan pro-enzim C1.

Untuk mengaktifkan banyak molekul pada tahap pertama dari sistem komplemen ini, hanya dibutuhkan sedikit gabungan antigen-antibodi. Enzim C1 yang terbentuk kemudian secara berturut-turut mengaktifkan enzim yang jumlahnya meningkat pada tahap akhir dari sistem ini, sehingga dari awal yang kecil, terjadilah reaksi “penguat” yang besar sekali. Pada mekanisme ini, terdapat berbagai efek penting yang membantu mencegah kerusakan akibat organisme yang menyerbu atau oleh toksin.

Efek-efek penting tersebut adalah :



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

dan fagositosis

duk dari rangkaian komplemen yaitu C3b, dengan kuat mengaktifkan fagositosis oleh fag. Hal ini menyebabkan sel-sel ini menelan bakteri yang telah dilekati oleh kompleks

antigen-antibodi. Proses ini disebut opsonisasi. Proses ini seringkali mampu meningkatkan jumlah bakteri yang dirusak sampai 100 kali lipat.

(b) Lisis

Salah satu produk paling penting dari seluruh produk yang dihasilkan oleh rangkaian komplemen adalah kompleks litik yang merupakan gabungan dari banyak faktor komplemen dan ditandai dengan C5b6789. Produk ini memiliki pengaruh langsung untuk merusak membran sel bakteri atau organisme lainnya.

(c) Aglutinasi

Produk komplemen juga mengubah permukaan organisme penyerbu, sehingga saling melekat satu sama lain, sehingga meningkatkan proses aglutinasi.

(d) Netralisasi virus

Enzim komplemen dan produk komplemen lainnya dapat menyerang struktur beberapa virus, sehingga mengubahnya menjadi nonvirulen.

(e) Kemotaksis

Fragmen C5a menyebabkan kemotaksis dari neutrofil dan makrofag, sehingga menyebabkan sebagian besar sel fagosit ini bermigrasi ke dalam regio lokal dari agen antigenik.

(f) Pengaktifan sel mast dan basofil

Fragmen C3a, C4a, dan C5a mengaktifkan sel mast dan basofil, sehingga menyebabkan sel-sel tersebut melepaskan histamin, heparin, dan beberapa substansi lainnya ke dalam cairan setempat. Bahan-bahan ini

menyebabkan peningkatan aliran darah setempat, meningkatkan kebocoran cairan dan protein ke dalam jaringan, dan reaksi jaringan setempat lainnya yang membantu mengaktifkan agen-agen tersebut. Faktor yang sama juga berperan dalam proses peradangan.



(g) Efek inflamasi

Selain efek peradangan yang disebabkan oleh pengaktifan sel mast dan basofil, terdapat beberapa produk komplemen lain yang turut menimbulkan peradangan setempat. Produk-produk ini meningkatkan aliran darah yang sebelumnya telah meningkat, meningkatkan kebocoran protein dari kapiler, dan kemudian protein akan berkoagulasi dalam ruang jaringan, sehingga menghambat pergerakan organisme penyerang melewati jaringan.

2) Jalur alternatif

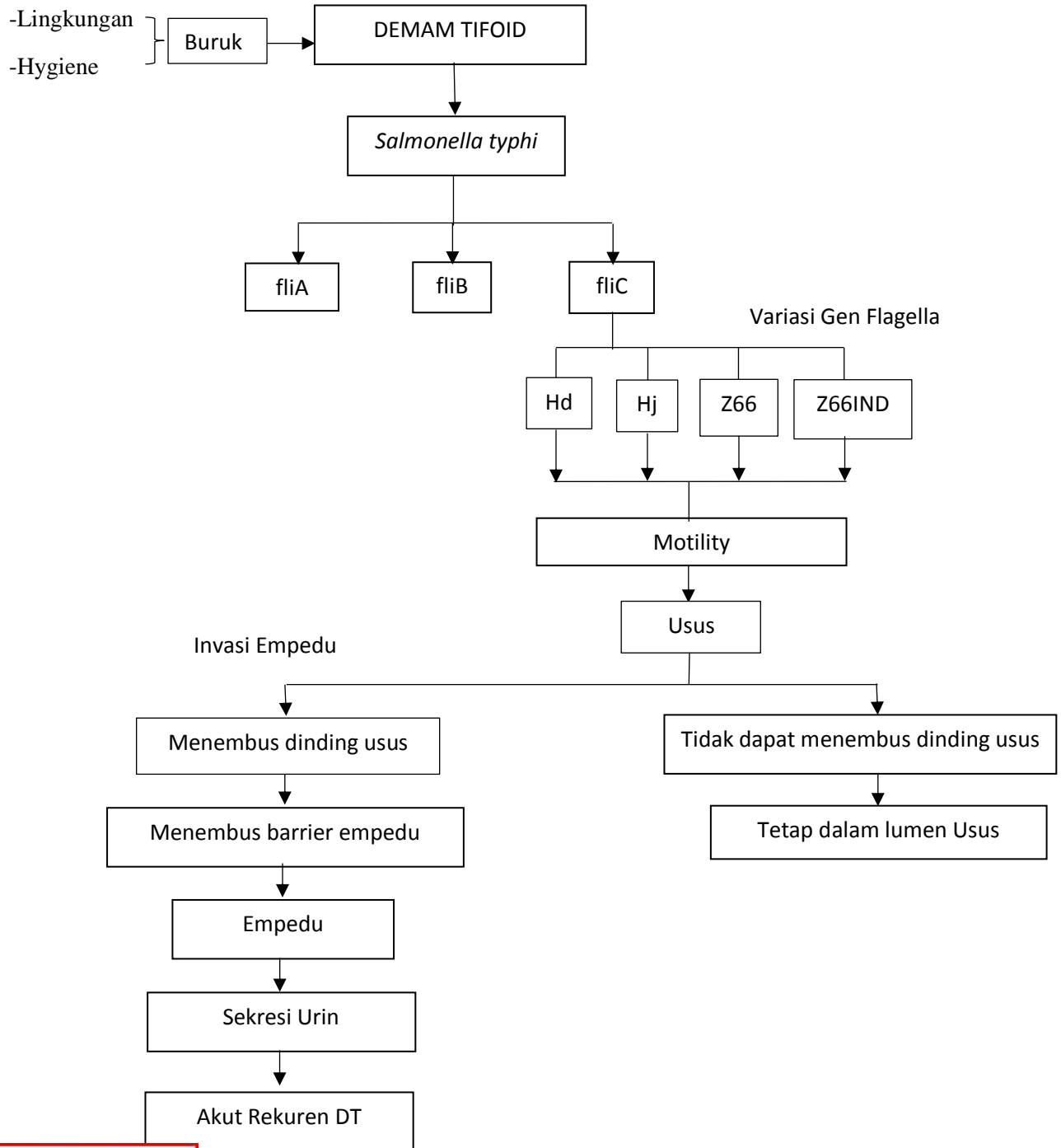
Sistem komplemen kadang-kadang diaktifkan tanpa diperantarai oleh suatu reaksi antigen-antibodi. Hal ini terutama terjadi dalam respon terhadap molekul-molekul polisakarida besar dalam membran sel mikroorganisme yang menyerbu masuk. Bahan-bahan ini bereaksi dengan faktor komplemen B dan D, menghasilkan bahan pengaktif yang mengaktifkan faktor C3 untuk memulai rangkaian komplemen yang tersisa, di luar tingkat C3. Jadi, pada dasarnya semua hasil akhir yang dihasilkan sama dengan yang dihasilkan dalam jalur klasik. Hal ini juga menghasilkan pengaruh yang sama pada pertahanan atau perlawanan terhadap mikroorganisme.

Oleh karena jalur alternatif tidak melibatkan reaksi antigen-antibodi, maka jalur ini juga merupakan garis pertahanan pertama terhadap mikroorganisme, bahkan mampu berfungsi sebelum individu terimunisasi terhadap organisme.





## B. KERANGKA TEORI



### C. KERANGKA KONSEP

