

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella Typhi*2.1.1 Taksonomi *Salmonella Typhi*

Berdasarkan Jawetz, *et al.*, dalam buku Mikrobiologi Kedokteran, Taksonomi *S. Typhi* adalah :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Species	: <i>Salmonella enterica</i> sub spesies <i>enteric</i> serotipe Typhi atau <i>Salmonella Typhi</i>

(Brooks *et al.*, 2008)

2.1.2 Morfologi

S. Typhi merupakan bakteri batang Gram negatif. *S. Typhi* bergerak menggunakan *peritrichous flagella*. Bakteri ini merupakan bakteri anaerob fakultatif dan juga fakultatif intraseluler karena kemampuannya hidup di dalam maupun di luar sel. Sesuai dengan karakteristik *Enterobacteriaceae*, *S. Typhi* mudah tumbuh pada medium sederhana. *S. Typhi* dapat menghasilkan H_2S dari thioulfate. Bakteri ini mampu bertahan dalam air yang membeku untuk waktu yang lama. *Salmonella* resisten terhadap bahan kimia tertentu (misal, hijau

brilian, natrium tetrasetat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lainnya (Brooks *et al.*, 2008).



Gambar 2.1. S.Typhi, (Gram negatif, berbentuk batang) (Todar,2008).

2.1.3 Faktor Virulensi dan Struktur Antigen *Salmonella* Typhi

2.1.3.1 Antigen O

Antigen O disebut juga antigen somatik. Antigen O adalah komponen terluar lipopolisakarida (LPS) dinding sel bakteri gram negatif. Antara bakteri satu dengan yang lain, memiliki antigen O yang berbeda tergantung pada susunan gula dan side-chain substitusi. Antigen O ini resisten terhadap panas dan alkohol. Antigen O yang hilang menyebabkan perubahan bentuk koloni yang halus menjadi kasar (*rough variant*). IgM merupakan antibodi terhadap antigen O. Adanya IgM terhadap antigen O dalam sirkulasi berhubungan dengan resistensi terhadap penyakit dan infeksi (Brooks *et al.*, 2008)

Antigen O berperan dalam kemampuan *S. Typhi* untuk menempel pada reseptor sel hospes dan bertahan hidup secara intraseluler. Antigen O penting

dalam *intestinal survival*. Antigen O ini juga penting dalam menentukan kepekaan beberapa serotipe terhadap protein komplemen, *host cationic proteins*, dan terhadap interaksi dengan makrofag. *Salmonella* dengan antigen O yang utuh lebih resisten terhadap pembunuhan oleh komplemen dari serum normal daripada varian kasar (*rough variant*). Ketahanan terhadap pembunuhan oleh serum normal ini karena perlindungan dari *LPS core polysaccharides* oleh polisakarida antigen O dan *complement-activating lipid A*. Internalisasi bakteri oleh makrofag dipengaruhi oleh deposisi komplemen pada organisme. Antigen O mencegah aktivasi dan deposisi komplemen pada permukaan bakteri (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.3.2 Antigen K

Antigen K merupakan kapsul yang menyelubungi bagian luar antigen O. Pada *S. Typhi*, antigen K disebut antigen Vi. Antigen Vi ini hanya dimiliki oleh *S. Typhi*. Antigen Vi bisa hilang sebagian atau seluruhnya. Organisme yang memiliki antigen Vi jelas lebih virulen dibanding organisme yang tidak memiliki antigen Vi karena antigen Vi dapat mencegah destruksi intraseluler di dalam sel hospes. Kecepatan fagositosis juga dipengaruhi oleh adanya antigen Vi. *S. Typhi* dengan antigen Vi tidak difagositosis oleh sel-sel PMN secepat organisme tanpa antigen Vi karena penurunan ikatan C3b oleh antigen Vi (Brooks *et al.*, 2008; Dzen *et al.*, 2010).

2.1.3.3 Antigen H

Antigen H terdapat pada flagella bakteri. Sehingga hanya bakteri motil yang memiliki antigen H. Antigen H ini dapat hilang dan menyebabkan bakteri menjadi tidak motil. Antigen H dapat didenaturasi oleh panas dan alkohol.

Antigen H merupakan salah satu antigen utama dalam penggolongan *Salmonella*. *Salmonella* memiliki antigen H yang bisa berubah secara periodik untuk perlindungan terhadap antibodi manusia. Penentu untuk antigen H adalah sekuens asam amino pada protein flagel (flagelin). Dalam satu serotipe, antigen H terdapat pada satu atau dua bentuk, disebut fase 1 dan fase 2. *Salmonella* cenderung berubah bentuk dari satu fase ke fase lainnya yang disebut variasi fase (Dzen *et al.*, 2010; Brooks *et al.*, 2008).

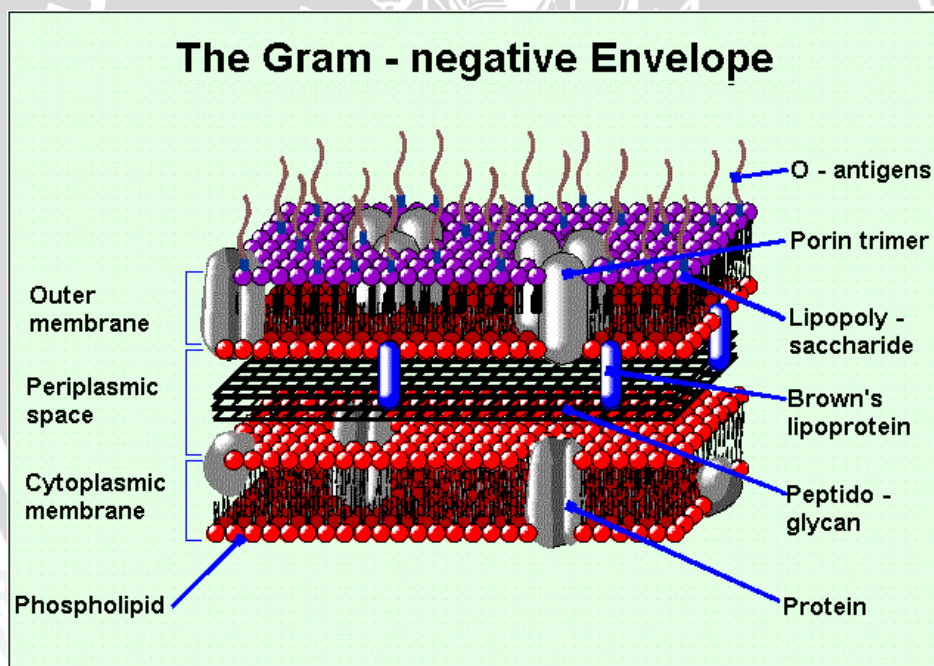
2.1.3.4 Toksin

Endotoksin merupakan bahan toksik dari dinding sel bakteri Gram negatif yang dikeluarkan saat bakteri mengalami lisis. Endotoksin terdiri dari tiga bagian yaitu core polisakarida, antigen O (bersifat imunogenik) dan Lipid A. Endotoksin memiliki sifat tahan panas dan memiliki berat molekul antara 3000 dan 5000 (lipooligosakarida, LOS) dan beberapa juta (lipopolisakarida). Endotoksin juga dapat diekstraksi. Endotoksin berperan pada stadium bakteremia pada demam enterik. Endotoksin bertanggungjawab pada demam yang tampak pada penderita. Mulanya, endotoksin berikatan pada protein tertentu dalam sirkulasi darah kemudian mengadakan interaksi dengan reseptor pada makrofag dan monosit serta sel sel RES. Kemudian akan dilepaskan IL-1, TNF, dan sitokin serta akan diaktifkan sistem komplemen dan rangkaian koagulasi. Gejala yang muncul adalah sebagai berikut demam, leukopenia, hipotensi, dan syok akibat gangguan perfusi organ organ vital (Brooks *et al.*, 2008; Dzen *et al.*, 2010).

2.1.3.5 Outer Membrane Protein (OMP)

OMP (*Outer Membrane Protein*) terletak pada permukaan bakteri Gram negatif. OMP penting dalam menginduksi respon imun spesifik. OMP juga

merupakan faktor adhesin yang berfungsi dalam perlekatan bakteri ke sel hospes. Terdapat protein mayor porin OMP C, OMP F, dan protein mayor nonporin OMP A yang masing-masing memiliki berat molekul 38.5 kDa, 37.5 kDa, dan 24.5 kDa. Protein minor memiliki berat molekul < 20 kDa sampai 140 kDa. Respon antibodi terhadap OMP pada pasien demam tifoid memperlihatkan spesifisitas yang bervariasi bergantung pada kemurnian sediaan dan yang spesifik untuk *S. Typhi* (Muliawan, 1999). Pada Gambar 2.2 menunjukkan bahwa dinding sel bakteri terdiri dari dua struktur utama yaitu *Outer Membrane* dan *Internal Membrane* atau yang biasa disebut *Cytoplasmic Membrane*. Pada *Outer Membrane* inilah terdapat OMP.



Gambar 2.2 Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif (Davidson, 2005)

2.1.3.6 Protein AdhO36

Penelitian yang dilakukan oleh Winarsih dan Santoso tahun 2002 menyatakan bahwa terdapat protein adhesin yang bernama AdhO36 dengan berat molekul sekitar 36 kDa. Protein AdhO36 *S. Typhi* ini merupakan imunogen

mukosal yang dapat menginduksi respon imun mukosal protektif dengan membentuk *secretory-IgA* (S-IgA) untuk menghambat atau memproteksi proses adhesi dan kolonisasi *S. Typhi* pada enterosit mencit Balb/c. Protein AdhO36 juga dapat menginduksi imunitas humoral sistemik mencit Balb/c apabila diberikan per oral. Imunisasi per oral protein AdhO36 juga mampu menghambat proses adhesi invivo *S. Typhi* pada enterosit mencit (Santoso, 2003).

Selanjutnya pada penelitian yang dilakukan Winarsih (2005) dilaporkan beberapa karakteristik protein AdhO36 *S. Typhi* yaitu :

- a. Protein AdhO36 *S. Typhi* memiliki berat molekul sekitar 36 kDa pada suhu di atas 40°C dan sekitar 74 kDa pada suhu di bawah 40°C.
- b. Protein AdhO36 *S. Typhi* menggumpalkan eritrosit manusia golongan darah O, eritrosit marmut, dan eritrosit mencit. Protein AdhO36 *S. Typhi* tidak menggumpalkan eritrosit manusia golongan darah A, B, dan AB dan eritrosit domba.
- c. Protein AdhO36 *S. Typhi* menunjukkan reaksi spesifik terhadap serum penderita demam tifoid.
- d. Protein AdhO36 *S. Typhi* merupakan senyawa glikoprotein. Protein AdhO36 OMP *S. Typhi* tersusun atas lima fraksi polipeptida yaitu 1 polipeptida mempunyai pH iso elektris sekitar 7 dan dua polipeptida mempunyai pH iso elektris sekitar 4, 2 polipeptida mempunyai pH iso elektris antara 3-4.

2.1.4 Patogenesis Demam Tifoid

Salmonella enterica serovar Typhi merupakan penyebab dari infeksi sistemik demam tifoid. Organisme ini masuk ke tubuh hospes melalui rute oral yang biasanya bersama makanan dan minuman yang terkontaminasi. Sumber

dari organisme ini adalah karier manusia. Karier manusia dapat berupa penderita yang baru sembuh dari infeksi (*convalescent carriers*) yang mengekresikan bakteri ini dalam waktu yang pendek atau *chronic carriers* yang bisa mengeluarkan bakteri ini sampai dengan satu tahun. Dibutuhkan $10^5 - 10^8$ salmonela (setara dengan 1000 organisme *S. Typhi*) untuk menyebabkan infeksi klinis dan subklinis pada manusia. Bakteri ini dapat bertempat tinggal di jaringan ikat *biliary tree* dalam waktu yang lama dan diekresikan dalam jumlah yang banyak (Dzen *et al.*, 2008 ; Brooks *et al.*, 2008).

Bakteri *S. Typhi* masuk melalui rute oral dan dapat bertahan terhadap asam lambung. Kemudian bakteri ini akan masuk ke dalam tubuh melalui mukosa usus pada ileum terminalis. Bakteri ini melekat pada mikrovili usus, kemudian melewati barier usus yang melibatkan mekanisme *membrane ruffling*, *actin rearrangement*, dan internalisasi dalam vakuola intraseluler. Selanjutnya *S. Typhi* menyebar ke sistem limfoid mesenterika lalu masuk ke dalam pembuluh darah melalui sistem limfatik. Fase bakteremia primer ini biasanya tidak menampilkan gejala, serta kultur darah akan memberikan hasil yang negatif. Fase inkubasi ini dapat terjadi selama 7 – 14 hari (Nelwan, 2012).

S. Typhi ini akan menyebar melalui pembuluh darah ke seluruh tubuh. Bakteri ini kemudian berkolonisasi di organ-organ sistem retikuloendotelial yaitu di limpa, hati, dan sumsum tulang. Selain itu, *S. Typhi* dapat melakukan replikasi di dalam makrofag. Setelah replikasi, *S. Typhi* akan masuk kembali ke peredaran darah dan menyebabkan bakteremia sekunder sekaligus berakhirnya masa inkubasi. Pada fase bakteremia sekunder akan didapatkan gejala klinis seperti demam, sakit kepala, dan nyeri abdomen (Nelwan, 2012).

Pada fase bakteremia sekunder, akan didapatkan bakteri yang tersebar luas pada limpa, hati, sumsum tulang, kandung empedu, dan *Peyer's patches* di mukosa ileum terminal. Proses inflamasi pada *Peyer's patches* akan menyebabkan nekrosis dan iskemia yang kemudian menjadi ulserasi. Ulserasi dapat menyebabkan komplikasi perdarahan dan perforasi usus. Kondisi bakteremia ini dapat menetap selama beberapa minggu apabila tidak diobati dengan antibiotik (Nelwan, 2012).

Penderita yang sudah sembuh dari demam tifoid dapat mengalami kekambuhan apabila bakteri masih menetap dalam organ organ sistem retikuloendotelial. Bakteri ini memiliki kesempatan untuk berproliferasi kembali. Kondisi menetapnya bakteri dalam tubuh penderita yang sudah sembuh dinamakan *carrier* atau pembawa bakteri (Nelwan, 2012).

2.1.5 Manifestasi Klinik Demam Tifoid

Pada periode inkubasi selama 7 – 14 hari tidak ditemukan gejala klinis. Selanjutnya, dapat muncul gejala klinis yang bervariasi mulai dari yang ringan seperti demam yang tidak tinggi, malaise, batuk kering sampai gejala yang berat seperti demam yang makin tinggi setiap harinya, rasa tidak nyaman pada perut, dan berbagai macam keluhan lainnya (Nelwan, 2012).

Gejala klinis yang biasanya dikeluhkan oleh pasien adalah demam sore hari disertai beberapa keluhan seperti mialgia, nyeri abdomen, anoreksia, dan konstipasi. Konstipasi sering dijumpai pada orang dewasa. Sedangkan pada anak, diare lebih sering dijumpai pada awal gejala yang kemudian dilanjutkan dengan konstipasi. Lidah kotor, nyeri tekan perut dan pembengkakan hati, limpa atau kedua duanya juga merupakan manifestasi klinis yang dapat dijumpai. Ruam makular atau makulopapuler (*rose spots*) mulai nampak pada hari ke 7 –

10, dan mulai nampak pada dada bagian bawah dan abdomen pada hari ke 10 – 15 serta menetap selama 2 – 3 hari. Bradikardi relatif saat demam tinggi dapat dijadikan indikator demam tifoid (Nelwan, 2012).

Bila tidak terjadi komplikasi, gejala klinis akan membaik dalam 2 – 4 minggu. Namun, pasien yang sudah sakit selama lebih dari dua minggu dapat mengalami komplikasi. Komplikasi yang sering ditemukan yaitu reaktif hepatitis, perdarahan gastrointestinal, perforasi usus, ensefalopati tifosa, serta gangguan pada sistem tubuh lainnya mengingat penyebaran kuman adalah secara hematogen (Nelwan, 2012).

2.1.6 Identifikasi *Salmonella Typhi*

Berdasarkan Jawetz, *et al.* (2008) metode identifikasi *Salmonella* adalah sebagai berikut:

a. Biakan pada medium diferensial

Medium EMB, MacConkey, atau deoksikolat memungkinkan deteksi cepat organisme yang tidak memfermentasikan laktosa (tidak hanya salmonela dan shigela tetapi juga proteus, serratia, pseudomonas, dan lain-lain). Organisme gram positif sedikit dihambat. Medium bismuth sulfat memungkinkan deteksi cepat salmonela yang membentuk koloni hitam karena produksi H_2S .

b. Biakan pada medium selektif

Spesimen diletakkan pada agar *Salmonella*-shigella (SS), agar enterik Hektoen, XLD, atau agar deoksikolat-sitrat, yang membantu pertumbuhan *Salmonellae* dan shigellae melebihi Enterobacteriaceae lain.

- c. Biakan pada medium yang diperkaya

Spesimen (biasanya feses) juga diletakkan di dalam selenit F atau kaldu tetrasonat, keduanya menghambat replikasi bakteri normal usus dan memungkinkan multiplikasi *Salmonella*. Setelah inkubasi selama 1-2 hari, spesimen tersebut diletakkan pada medium diferensial dan medium selektif.

- d. Identifikasi akhir

Koloni yang dicurigai pada medium padat diidentifikasi dengan pola reaksi biokimia (Lampiran) dan uji aglutinasi slide dengan serum spesifik.

2.1.7 Metode Serologi

Berdasarkan Jawetz, *et al.* (2008) teknik serologi dapat digunakan untuk menentukan titer antibodi pada pasien yang dicurigai menderita demam tifoid.

- a. Uji Aglutinasi

Serum yang telah diketahui dan biakan yang tidak diketahui dicampur di atas slide. Gumpalan dapat terjadi selama beberapa menit. Pemeriksaan ini berguna untuk identifikasi preliminar biakan dengan cepat. Alat untuk mengaglutinasi dan menentukan serogrup salmonela melalui antigen O-nya : A, B, C1, C2, D, dan E.

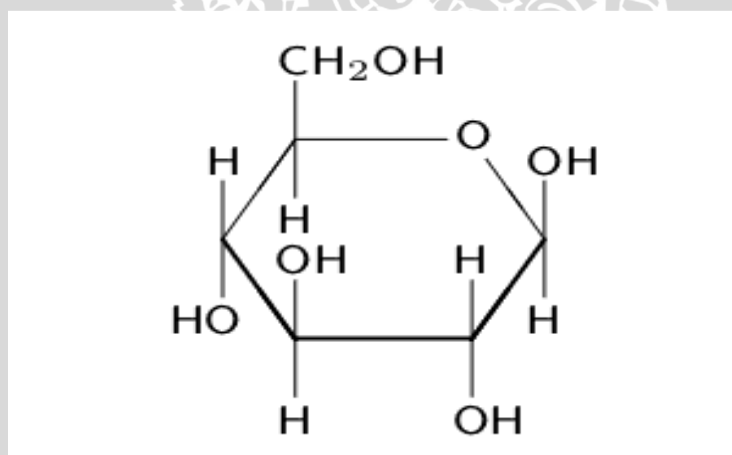
- b. Uji Aglutinasi Pengenceran Tabung (Tes Widal)

Interpretasi dari tes widal adalah sebagai berikut : Titer O yang tinggi atau meningkat ($\geq 1 : 160$) menandakan adanya infeksi aktif, Titer H yang tinggi ($\geq 1 : 160$) menunjukkan riwayat imunisasi atau infeksi di masa lampau, titer antibodi yang tinggi terhadap antigen Vi timbul pada beberapa *carrier*.

2.2 Glukosa

2.2.1 Definisi

Di dalam kamus kedokteran Dorland's edisi 29 (2002), *glucose* didefinisikan sebagai suatu monosakarida aldohexosa yang terdapat dalam bentuk D- pada buah dan tanaman lain dan dalam darah hewan normal; juga dalam bentuk terikat dengan glukosida dan di-, oligo-, dan polisakarida. Ini merupakan produk akhir katabolisme karbohidrat dan sumber energi utama makhluk hidup yang penggunaannya dikontrol oleh insulin. Kelebihan glukosa akan diubah menjadi glikogen dan akan disimpan di dalam hati dan otot yang akan dipergunakan bila diperlukan dan akhirnya akan diubah menjadi lemak dan disimpan sebagai jaringan lemak.



Gambar 2.3 Struktur Glukosa (Chemical Education Digital Library)

2.2.2 Metabolisme Karbohidrat pada Bakteri

Karbohidrat merupakan sumber utama karbon bagi bakteri aerob dan anaerob. Karbohidrat juga merupakan sumber energi. Unsur karbon tersebut diperlukan untuk sintesis karbohidrat, asam amino, lipid, dan purin oleh bakteri. Kemampuan bakteri untuk menghidrolisis karbohidrat penting untuk mengambil bahan makanan di sekitar bakteri hidup dan juga sangat penting untuk

identifikasi dan klasifikasi bakteri tersebut. Hasil akhir pemecahan karbohidrat oleh bakteri aerob adalah karbondioksida (CO_2) dan air (H_2O), sedangkan bakteri anaerob hasilnya adalah asam laktat (Dzen *et al.*, 2010).

Proses pemecahan glukosa secara glikolisis terjadi pada banyak bakteri, bahkan kadang-kadang merupakan satu-satunya cara, contohnya pada *Hemofermentative lactic bacteria*. Proses glikolisis terjadi melalui serangkaian reaksi bertahap berupa reaksi oksidasi-reduksi dan enzimatik. Proses glikolisis dapat dijelaskan melalui skema dari *Embden Meyerhof pathway*, yaitu :

- a. Pembentukan fruktosa 1,6-difosfat
- b. Pemecahan fruktosa 1,6-difosfat menjadi triosa
- c. Oksidasi 3-fosfogliseraldehid, dan
- d. Pembentukan asam piruvat (Dzen *et al.*, 2010)

Glukosa 6-fosfat dianggap sebagai metabolit fokal karena berperan sebagai prekursor langsung untuk unit pembangun metabolik dan sebagai sumber karbohidrat dengan panjang beragam yang digunakan untuk tujuan biosintetik. Glukosa 6-fosfat dapat dibentuk dari karbohidrat terfosforilase lainnya melalui pemilihan jalur dari seperangkat reaksi untuk interkonversi panjang rantai. Reaksi yang terjadi ditentukan oleh potensial genetik sel tersebut, sumber karbon utama, dan kebutuhan biosintetik organisme. Regulasi metabolik diperlukan untuk memastikan bahwa reaksi yang dipilih adalah reaksi yang dapat memenuhi kebutuhan organisme tersebut (Brooks *et al.*, 2008)

2.2.3 Peran Glukosa pada *Salmonella Typhi*

Glukosa merupakan sumber karbon utama bagi *Salmonella Typhi*. Glukosa penting untuk kelangsungan hidup *S. Typhi*. Sumber karbon ini berguna untuk sintesis protein, lipid dan purin. Adaptasi terhadap perubahan sumber

karbon merupakan kemampuan yang penting bagi bakteri. Adaptasi ini melalui sistem regulasi molekuler yaitu pengenalan sumber karbon dan pengaturan operasi metabolik terhadap perubahan sumber karbon. Bakteri mampu mengenali sumber karbon gula melalui *Phosphotransferase sugar uptake system* (PTS) dan *Transcription Factors* (TF). Penyesuaian operasi metabolik diatur oleh ikatan terhadap metabolit sentral yaitu *Cra-fructose-1,6-biphosphate* (Cra-FBP), *Crp-cyclic AMP* (Crp-cAMP), *IclR-glyoxylate* (IclR-GLX) dan *IclR-pyruvate* (IclR-PYR), dan *PdhR-pyruvate* (PdhR-PYR). Pengenalan dan pengaturan metabolisme mencapai *coupling* melalui TF yang mana akan mengenali ketersediaan sumber karbon dan pada saat yang sama akan meregulasi ekspresi protein (Kotte, 2010).

Glukosa juga merupakan sumber energi utama bagi *S. Typhi*. Glukosa akan dioksidasi pada proses glikolisis, dari proses oksidasi tersebut setiap satu molekul glukosa akan menghasilkan 2 mol ATP. ATP ini berguna sebagai sumber energi untuk pertumbuhan *S. Typhi* (Dzen *et al.*, 2010).

Glukosa juga diperlukan untuk kesuksesan infeksi sistemik *S. Typhi*. Selama infeksi sistemik, *S. Typhi* melakukan penetrasi ke dalam barrier usus dan mencapai limfonodus mesenterikus. Di limfonodus ini bakteri ditelan oleh sel-sel fagosit seperti makrofag. Ketika di dalam makrofag, *S. Typhi* dikompartemenkan ke dalam fagosom intraseluler yang kemudian dimodifikasi untuk menjadi *Salmonella containing vacuole* (SCV). SCV berfungsi sebagai pelindung yang akan mencegah fusi lisosom dan terpaparnya bakteri kepada sel host antimicrobial agen. *Salmonella* harus mendapatkan nutrisi untuk replikasi di dalam makrofag. Dalam proses replikasi dan bertahan hidup di dalam makrofag, *S. Typhi* membutuhkan glikolisis. Dengan demikian, untuk terjadinya suatu infeksi

sistemik juga diperlukan glikolisis. Transpor karbohidrat juga diperlukan untuk intraseluler replikasi di dalam makrofag, dan glukosa merupakan karbohidrat mayor yang paling diperlukan (Bowden *et al.*, 2009).

