

The background of the book cover is a dark, almost black, field filled with various microscopic organisms. In the upper half, there are several rod-shaped bacteria with long, thin flagella, some appearing to be in motion. In the lower half, there are larger, more complex structures, including what appear to be yeast cells and larger, filamentous fungi. The overall aesthetic is scientific and focused on microbiology.

Moch. Irfan Hadi
Muhammad Yusuf Alamudi

IMUNODIAGNOSTIK

P A D A

BAKTERI

D A N

J A M U R

Zifatama

IMUNODIAGNOSTIK PADA BAKTERI DAN JAMUR

PENULIS :

Moch. Irfan Hadi
Muhammad Yusuf Alamudi



Imunodiagnostik Pada Bakteri Dan Jamur

Penulis : Moch. Irfan Hadi

Muhammad Yusuf Alamudi

EDITOR: Mei Lina Fitri Kumalasari

© 2019

Diterbitkan Oleh:

 Penerbit
Zifatama Jawara
Jl. Taman Pondok Jati J4,
Taman - Sidoarjo
Telp : 031-99786278
Email : zifatama1@gmail.com
Anggota IKAPI No. 149/JTI/2014

Cetakan Pertama, Januari 2019

Ukuran/ Jumlah hal: 15,5x23 cm / xiv+205 hlm

Layout : Emji

Cover: Emji

ISBN : 978-602-5815-39-3

Hak cipta dilindungi oleh Undang-undang Ketentuan Pidana Pasal 112 - 119. Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta. Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit.

*“Sebaik Baik Manusia
Adalah Yang Paling
Bermanfaat Bagi Orang
Lain”*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunianya sehingga buku yang berjudul *Imunodiagnostik Pada Bakteri dan Jamur* telah dapat diselesaikan. Buku imunodiagnostik pada bakteri dan jamur membahas tentang berbagai metode imunodiagnostik pada bakteri dan jamur, yaitu pada *Vibrio cholera*, *Mycobacterium leprae*, *Leptospirosis*, *Salmonella typhi*, *Mycobacterium tuberculosis*, Aflatoksin, Onikomikosis, *Malassezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Tinea cruris*, *Aspergillus flavus* dan *Tinea capitis*. Selain itu di dalam buku ini juga membuka pemikiran terhadap ruang penelitian maupun kajian terhadap imunodiagnostik khususnya pada bakteri dan jamur.

Ucapan terima kasih kepada editor Mei Lina Fitri Kumalasari, M.Kes yang telah membantu penyempurnaan dari isi buku ini. Kepada Muhammad Khusnul Milad dan Rijal Mumazziq Z serta penerbit Zifatama Jawara yang telah membantu penerbitan naskah buku ini.

Kami menyadari masih terdapat kekurangan dalam buku ini, untuk itu kritik dan saran terhadap penyempurnaan buku ini sangat diharapkan. Semoga buku ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, Juni 2018

Penulis

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR ISI

BAB 1: PENYAKIT MENULAR DI INDONESIA.....	1
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Immunodiagnostik.....	4
BAB 2: IMUNODIAGNOSTIK PADA <i>Vibrio cholera</i>	9
2.1 Pendahuluan.....	9
2.2 Gambaran Umum Penyakit Kolera.....	10
2.2.1 Pengertian kolera.....	10
2.2.2 Penyebab penyakit kolera	12
2.2.3 Masa inkubasi dan manifestasi klinis	13
2.2.4 Tanda-tanda gagal sirkulasi	14
2.2.5 Cara penularan.....	15
2.2.6 Patogenesis	16
2.2.7 Kekebalan dan kegigitanan.....	17
2.3 Immunodiagnostik pada <i>Vibrio cholerae</i>	18
2.3.1 Strip test	18
2.3.2 Co-agglutination test.....	19
2.3.3 Dark field test	20
2.4 Diagnostik Molekular dan Konvensional	20
2.4.1 PCR (Polymerase Chain Reaction)	20
2.4.2 Konvensional test	23
2.5 Penutup	24
DAFTAR PUSTAKA	24
BAB 3:IMUNODIAGNOSTIK PADA PENYAKIT KUSTA 27	
3.1 Pendahuluan	27
3.1.1 Tingkat cacat	29
3.1.2 Batasan cacat kusta.....	31
3.1.3 Jenis cacat.....	31
3.1.4 Epidemiologi penyakit kusta	32

3.2 Gejala Klinis	35
3.3 Respon imun pada infeksi kusta	37
3.3.1 Respon imun adaptif	38
3.3.2 Gambaran Imunologi Kusta	39
3.4 Immunodiagnostik Penyakit Kusta	40
3.4.1 Pemeriksaan MLPA (<i>Mycobacterium leprae</i> <i>particle agglutination</i>)	41
3.4.2 Pemeriksaan ELISA (<i>Enzyme Linked</i> <i>Immuno-Sorbent Assay</i>)	42
3.4.3 Pemeriksaan <i>Mycobacterium leprae</i> <i>dipstick</i> (ML <i>dipstick</i>)	44
3.4.4 <i>Fluorescent labelled antibody absorption</i> (Uji FLA-ABS)	45
3.4.5 <i>Radioimmunoassay</i> (Uji RIA)	45
3.4.6 Uji inhibisi ELISA atau uji inhibisi monoklonal	45
3.4.7 <i>Mycobacterium leprae lateral flow assay</i> (Uji ML Flow)	46
3.5 Penutup	46
DAFTAR PUSTAKA	47

BAB 4: IMUNODIAGNOSTIK PADA

LEPTOSPIROSIS	49
4.1 Pendahuluan	49
4.2 Gambaran Umum Penyakit Leptospirosis	49
4.2.1 Pengertian leptospirosis	49
4.2.2 Penyebab penyakit	50
4.2.3 Reservoir atau vektor	51
4.2.4 Masa inkubasi dan cara penularan	51
4.2.5 Patogenesis	53
4.3 Immunodiagnostik pada Leptospirosis	54
4.3.1 <i>Microscopic Agglutination Test</i> (MAT)	54
4.3.2 <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> (ELISA)	63
4.3.3 Tes serologis	64
4.4 Penutup	65
DAFTAR PUSTAKA	65

BAB 5:IMUNODIAGNOSTIK PADA <i>Salmonella typhi</i>	67
5.1 Pendahuluan.....	67
5.2 Morfologi dan Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	68
5.2.1 Definisi <i>Salmonella typhi</i>	68
5.2.2 Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	68
5.2.3 Morfologi <i>Salmonella typhi</i>	69
5.3 Diagnosis Demam Tifoid.....	70
5.3.1 Definisi demam tifoid.....	70
5.3.2 Patogenesis demam tifoid	70
5.3.3 Respon imun pada <i>Salmonella typhi</i>	71
5.3.4 Diagnosis pada <i>Salmonella typhi</i>	71
5.4 Penutup	78
DAFTAR PUSTAKA	79

BAB 6: IMUNODIAGNOSIK PADA *Mycobacterium*

<i>tuberculosis</i>	81
6.1 Pendahuluan.....	81
6.2 <i>M.Tuberculosis</i>	81
6.3 Gejala Klinis	83
6.4 Immunodiagnosis Pada <i>M.Tuberculosis</i>	84
6.5 Penutup	87
DAFTAR PUSTAKA	88

BAB 7: IMUNODIAGNOSTIK PADA AFLATOKSIN..... 89

7.1 Pendahuluan.....	89
7.2 Mikroorganisme Penghasil Aflatoksin	90
7.3 Aflatoksin B ₁ (AFB ₁)	92
7.4 Immunodiagnostik Pada Aflatoksin.....	95
7.4.1 Nanopartikel emas	95
7.4.2 Immunostrip.....	97
7.5 Penutup	100
DAFTAR PUSTAKA	100

BAB 8: IMUNODIAGNOSTIK PADA JAMUR

ONIKOMIKOSIS	103
8.1 Pendahuluan.....	103
8.2 Pengertian Onikomikosis	104
8.3 Patogenisitas dan Morbiditas	104
8.4 Gambaran Klinis.....	106

8.5	Diagnosis Laboratorium Onikomikosis	109
8.6	Imunodiagnostik pada Onikomikosis	115
8.7	Penutup	116
	DAFTAR PUSTAKA	117

BAB 9: IMUNODIAGNOSTIK PADA *Malassezia*

	<i>furfur</i>	119
9.1	Pendahuluan.....	119
9.2	Tinjauan Tentang Jamur	120
9.3	Infeksi Jamur	125
9.4	Tinjauan Tentang <i>Malassezia furfur</i>	126
9.5	Pemeriksaan Jamur <i>Malassezia furfur</i>	129
9.6	Imunodiagnostik Pada <i>Malassezia furfur</i>	131
9.7	Penutup	132
	DAFTAR PUSTAKA	133

BAB 10: IMUNODIAGNOSTIK PADA *Cryptococcus*

	<i>neoformans</i>	135
10.1	Pendahuluan	135
10.2	Morfologi dan Serotipe <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i>	136
10.3	Penyebab <i>Cryptococcus neoformans</i>	137
10.4	Epidemiologi.....	137
10.5	Kriptokokal Meningitis.....	137
	10.5.1 Definisi.....	137
	10.5.2 Transmisi penyakit	138
	10.5.3 Patogenesis dan patofisiologis.....	138
	10.5.4 Kapsul Polisakarida sebagai faktor virulensi	139
	10.5.5 Melanin Sebagai faktor virulensi.....	140
	10.5.6 Patogenesis Meningoensefalitis oleh <i>Cryptococcus neoformans</i>	140
	10.5.7 Manifestasi klinis kriptokokal meningitis	141
10.6	Pemeriksaan laboratorium <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i>	142
	10.6.1 Praanalitik pemeriksaan	143
	10.6.2 Pemeriksaan mikroskopis langsung.....	144
	10.6.3 Kultur	144

10.7 Imunodiagnostik Pada <i>Cryptococcus neoformans</i>	146
10.7.1 Deteksi antigen <i>Cryptococcus neoformans</i> dengan aglutinasi lateks	146
10.7.2 Pemeriksaan Berdasarkan Metode Enzyme Immunoassay	146
10.8 Penutup.....	147
DAFTAR PUSTAKA	147

BAB 11: IMUNODIAGNOSTIK PADA *Trichophyton*

<i>rubrum</i>	149
11.1 Pendahuluan	149
11.2 Definisi Jamur	151
11.3 <i>Trichophyton rubrum</i>	154
11.4 Patogenisitas <i>Trichophyton rubrum</i>	156
11.5 Prosedur Diagnostik	156
11.5.1 Pemeriksaan mikroskopik.....	156
11.5.2 Kultur	157
11.5.3 Histopatologi.....	157
11.5.4 Lampu Wood.....	157
11.5.5 Imunodiagnostik pada <i>T. rubrum</i>	157
11.6 Penutup	158
DAFTAR PUSTAKA	159

BAB 12: IMUNODIAGNOSTIK PADA *Tinea cruris*..... 161

12.1 Pendahuluan	161
12.2 Tinjauan Tentang <i>Tinea Cruris</i>	162
12.3 Etiologi dan Faktor Resiko <i>Tinea Cruris</i>	163
12.4 Patofisiologi <i>Tinea cruris</i>	163
12.5 Manifestasi Klinis	165
12.6 Pemeriksaan <i>Tinea cruris</i>	165
12.6.1 Pemeriksaan fisik	165
12.6.2 Pemeriksaan laboratorium.....	166
12.6.3 Diagnosis banding	167
12.7 Imunodiagnostik pada <i>Tinea cruris</i>	170
12.8 Penutup.....	170
DAFTAR PUSTAKA	171

BAB 13: IMUNODIAGNOSTIK PADA <i>Aspergillus flavus</i>.....	173
13.1 Pendahuluan	173
13.2 Tinjauan Tentang <i>Aspergillus flavus</i>	174
13.3 Infeksi <i>Aspergillus flavus</i>	179
13.4 Respon Imun Pada Infeksi <i>A. flavus</i>	181
13.5 Pemeriksaan <i>A. flavus</i>	185
13.5.1 Pemeriksaan Mikroskopis Langsung.....	185
13.5.2 Pemeriksaan Kultur.....	185
13.5.3 Tes Kulit.....	186
13.5.4 Imunodiagnostik pada <i>A. Flavus</i>	186
13.6 Penutup.....	187
DAFTAR PUSTAKA	188
BAB 14: IMUNODIAGNOSTIK PADA <i>Tinea capitis</i>	191
14.1 Pendahuluan	191
14.2 Tinjauan Tentang <i>Tinea capitis</i>	191
14.3 Infeksi <i>Tinea capitis</i>	193
14.4 Pemeriksaan <i>Tinea Capitis</i>	198
14.4.1 Pemeriksaan mikroskopis	198
14.4.2 Pemeriksaan kultur.....	199
14.4.3 Imunodiagnostik Pada <i>Tinea capitis</i>	200
14.6 Penutup	201
DAFTAR PUSTAKA.....	201
TENTANG PENULIS	203

DAFTAR GAMBAR

Gambar 7.1	Konidiofora dari <i>Aspergillus flavus</i> (A); <i>A. parasiticus</i> (B); <i>A. nomius</i> (C) dengan mikroskop elektron	92
Gambar 7.2	Struktur AFB ₁	93
Gambar 7.3	Metabolisme AFB ₁ dalam organ hati	94
Gambar 7.4	Nanopartikel emas	97
Gambar 7.5	Susunan imunostrip menggunakan nanopartikel emas	99
Gambar 7.6	Skema reaksi imunostrip dengan format kompetitif	100
Gambar 8.1	Onikomikosis Subungual Distal dan Lateral	106
Gambar 8.2	Onikomikosis Superfisial Putih	107
Gambar 8.3	Onikomikosis Subungual Proksimal	107
Gambar 8.4	Onikomikosis Distrofik Total	108
Gambar 8.5	Onikomikosis Candida	109
Gambar 8.6	Skema Pemeriksaan Onikomikosis	115
Gambar 9.1	Bentuk sel khamir	121
Gambar 9.2	Struktur tubuh kapang	122
Gambar 9.3	Tipe-tipe hifa	123
Gambar 9.4	Morfologi jamur <i>malassezia furfur</i> perbesaran 40x	128
Gambar 9.5	Kulit yang terinfeksi jamur <i>Malassezia furfur</i>	130
Gambar 13.1	Koloni <i>Apergillus flavus</i> pada media czapek agar	176
Gambar 13.2	Tampilan mikroskopis dari <i>Aspergillus</i>	177
Gambar 13.3	<i>flavus</i> Tampilan mikroskopis 3-D dari <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i>	178

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB 1

PENYAKIT INFEKSI MENULAR OLEH BAKTERI DAN JAMUR

1.1 Pendahuluan

Indonesia dalam beberapa dasawarsa terakhir menghadapi masalah *triple burden diseases*. Di satu sisi, penyakit menular masih menjadi masalah yang ditandai dengan masih sering terjadi KLB beberapa penyakit menular tertentu, munculnya kembali beberapa penyakit menular lama (*re-emerging diseases*), serta munculnya penyakit-penyakit menular baru (*new-emergyng diseases*) seperti HIV/AIDS, Avian Influenza, Flu Babi dan Penyakit Nipah. Berbagai macam organisme penyebab penyakit pada manusia maupun hewan dijumpai di Indonesia karena lingkungan hidup di kawasan ini memungkinkan organisme penyebab penyakit dapat hidup dan berkembang biak dengan sempurna.

Penelitian-penelitian epidemiologi yang banyak dilakukan di Indonesia menunjukkan bahwa penyakit menular masih merupakan penyebab kematian yang penting di Indonesia. Malaria dan Demam Berdarah Dengue merupakan penyakit menular yang tidak saja sulit diberantas di Indonesia, melainkan juga masih merupakan penyakit menular yang menjadi masalah kesehatan dunia seperti bakteri dan jamur.

Bakteri, berasal dari bahasa latin, yaitu kata *bacterium* dan *bacteria* dalam bentuk jamak. Bakteri merupakan kelompok organisme mikroskopik atau disebut juga mikroorganisme yang tidak memiliki membran inti sel. Struktur sel bakteri cukup sederhana

karena tanpa inti sel serta kerangka sel yang biasa ditemukan pada mikroorganisme lainnya. Bakteri umumnya memiliki dinding sel, seperti sel tumbuhan maupun jamur, dengan bentuk yang sangat berbeda. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran besar dalam kehidupan di bumi.

Beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberikan manfaat dibidang pangan, pengobatan, dan industri. Sepanjang sejarah manusia, jutaan orang dilaporkan meninggal dunia akibat infeksi bakteri. Infeksi dapat menular dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Prevalensi penyakit infeksi belum menunjukkan penurunan dari tahun ke tahun. Berbagai faktor penyebab tingginya kasus infeksi diantaranya adalah gizi buruk, sanitasi yang kurang memadai dan pemakaian antibiotika yang telah resisten. Penggunaan antibiotika yang berulang pada beberapa strain bakteri tertentu dapat menyebabkan terjadinya resistensi karena pada bakteri terjadi mekanisme pertahanan diri agar tetap *survive* di alam. Sekitar 30% kejadian infeksi di Amerika Serikat berasal dari rumah sakit (*nosocomial infection*). Bakteri gram negatif yang sering menyebabkan infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacteria* penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) atau karbapenemase dan *Escherichia coli*.

Di Indonesia, bakteri gram negatif yang sering menjadi penyebab infeksi terkait rumah sakit cenderung resisten terhadap antibiotik yang digunakan. Bakteri patogen lain yang sering menyebabkan tingginya kejadian infeksi nosokomial adalah *Staphylococcus aureus*. Patogen yang dapat menimbulkan penyakit secara luas yang berhubungan dengan *toxic shock syndrome* sebagai akibat dari keracunan pangan, *endokarditis*, *pneumonia*, *osteomyelitis*,

sepsis arthritis dan *encephalitis*. Jenis bakteri ini dapat membuat enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan. *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif, dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya. Bakteri lain yang juga dapat menyebabkan penyakit infeksi adalah bakteri *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Leptospira interrogans*, *Gardnerella vaginalis* yang menyerang saluran urogenital.

Beberapa yang lain menyerang sistem saraf, seperti *Neisseria meningitides*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium leprae*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*. Hampir sebagian penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut merupakan penyakit yang sering diderita oleh masyarakat, terutama bakteri yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman yang dikonsumsi oleh manusia.

Selain bakteri, mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan infeksi adalah jamur atau fungi. Jamur merupakan salah satu mikroorganisme penyebab penyakit pada manusia. Lebih dari 400 spesies diketahui menyebabkan penyakit pada hewan dan pada manusia. Penyakit yang disebabkan jamur pada manusia disebut *mikosis*, yaitu *mikosis superficial* dan *mikosis sistemik*. Mikosis superficial merupakan mikosis yang menyerang kulit, kuku, dan rambut terutama disebabkan oleh 3 genera jamur yaitu *Trichophyton*, *Microsporum*, dan *Epidermophyton*. Sedangkan mikosis sistemik merupakan mikosis yang menyerang alat-alat dan organ dalam seperti jaringan *sub-cutan*, paru-paru, ginjal, jantung, mukosa mulut, usus, dan vagina. Selain mikosis superficial dan mikosis sistemik, juga ada mikosis subkutan dan oportunistik. Mikosis subkutan yaitu infeksi terbatas pada dermis, jaringan bawah kulit atau struktur yang berdekatan. Mikosis oportunistik adalah infeksi jamur disemua lingkungan atau bagian dari biota normal. Mereka terutama mempengaruhi orang-orang yang memiliki sistem

kekebalan tubuh berkompromi.

Pasien dalam tahap akhir AIDS biasanya menderita mikosis oportunistik yang dapat mengancam kehidupan. Jamur dapat memanfaatkan berbagai senyawa untuk hidupnya, dan memerlukan oksigen agar dapat hidup (bersifat aerob). Rentang suhu optimalnya (suhu terbaik dimana pertumbuhan jamur dapat maksimal) adalah 20-35°C. Jamur masih tumbuh dalam refrigerator, yaitu suhu antara 10-15°C. Jamur dan sporanya dapat mati pada suhu 100°C, atau pada suhu 71-82°C dalam waktu yang cukup. Cahaya matahari dapat menghambat pertumbuhan sebagian jamur, tetapi ada juga yang tumbuh dalam cahaya terang. Pertumbuhan jamur pada pangan dapat menimbulkan berbagai perubahan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan. Jamur yang merugikan misalnya yang menyebabkan kerusakan atau kebusukan pangan, dan yang sering menimbulkan penyakit atau keracunan pangan akan menghasilkan toksin. *Aspergillus spp.* merupakan salah satu jamur yang dapat menyebabkan keracunan pada makanan.

Dari beberapa spesies *Aspergillus spp.*, *A. flavus* teridentifikasi sebagai penyakit penting. Selain *A. flavus*, jamur lain yang juga menyebabkan penyakit penting pada manusia adalah *Cryptococcus neoformans*, dermatofitosis dan *malassezia furfur* yang dibahas pada buku ini.

1.2 Imunodiagnostik

Istilah *Immunoassay*, *imunserologi* atau yang lebih dikenal dengan *imunodiagnostik* adalah deteksi dan uji zat dengan menggunakan prinsip-prinsip imunologi/serologi, pada sebagian besar penggunaan metode atau pengujian tersebut menggunakan antigen dan antibodi, baik dalam pengukuran sebagai zat yang diuji maupun sebagai bahan uji.

Imunodiagnostik berawal tahun 1940 dan 1950-an, terjadi kesulitan di dalam pemeriksaan sampel atau spesimen dari penyakit infeksi yang membutuhkan waktu yang lama. Pengembangan imunodiagnostik berawal dari teknik *Oudin* dan *imunodifusi Ouchterlony*. Kemudian berkembang metode lain yang didasarkan kepada konsep imunologi, seperti fiksasi komplemen, yang diperkenalkan sebagai metode yang dapat menentukan respon imun seseorang terhadap infeksi. Pemeriksaan seperti *radioimmunoassay*, *enzyme assays* dan teknik hibridoma meningkatkan peranan pemeriksaan serologis untuk penyakit infeksi.

Imunodiagnostik didasarkan pada respon imun yang dibagi dalam 2 kategori yaitu: respon yang dimediasi oleh sel dan respon yang dimediasi oleh antibodi. Respon imun yang dimediasi oleh sel dibawakan oleh sel limfosit T. Limfosit T berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi beragam sel efektor, termasuk sel T helper dan sel T sitotoksik. Sel T sitotoksik secara spesifik menyerang dan membunuh mikroorganismee pada sel hospes yang rusak atau karena terinfeksi patogen.

Sel T helper memproduksi sitokin, sitokin merangsang pematangan sel B sehingga sel B memproduksi antibodi yang mampu membunuh organisme yang menginfeksi. Respon imun yang dimediasi oleh antibodi adalah merupakan protein spesifik yang dihasilkan oleh limfosit B karena protein bersifat menimbulkan reaksi fungsi imunologis dan memiliki struktur globular pada keadaan aktif maka disebut juga immunoglobulin. Antibodi disekresikan ke dalam darah atau cairan limpa (kadang-kala pada cairan tubuh lainnya) oleh sel limfosit B, atau tetap melekat pada permukaan sel limfosit atau sel lain. Karena sel yang terlibat dalam kategori respon imun ini berada dalam sirkulasi darah, tipe imunitas seperti ini disebut juga imunitas humoral.

Secara genetik manusia memiliki kemampuan untuk memproduksi secara langsung antibodi spesifik terhadap hampir semua jenis antigen, baik melalui kontak selama hidup dan oleh pengenalan tubuh sebagai benda asing. Antigen dapat berupa bagian struktur fisik atau bahan kimia yang diproduksi dan dilepaskan oleh patogen misalnya eksotoksin. Satu patogen dapat mengandung atau memproduksi banyak antigen yang berbeda-beda yang dapat dikenali oleh hospes sebagai benda asing, sehingga infeksi oleh satu agent penyakit dapat menimbulkan produksi antibodi yang berbeda-beda. Sebagai tambahan, beberapa antigen memiliki sifat tidak dapat dikenali oleh sel hospes apabila antigen tersebut tidak melalui proses perubahan fisik. Sebagai contoh sebelum bakteri patogen dicerna oleh leukosit polimormonuklear, beberapa antigen pada permukaan sel tidak dapat dikenali oleh sistem imun, sekali bakteri tersebut pecah, antigen inilah yang akan dikenali sehingga terbentuk antibodi untuk melawan antigen tersebut. Berdasarkan alasan tersebut pasien dapat memproduksi antibodi yang berbeda pada saat infeksi oleh satu jenis penyakit. Respon imun akan semakin matang dengan adanya paparan yang berulang, dan antibodi yang terbentuk akan lebih spesifik serta lebih dapat terikat dengan kuat.

Antibodi bekerja dengan jalan:

- 1) Melekat pada permukaan patogen dan membuat patogen lebih dapat diterima oleh sel fagosit (opsonisasi antibodi)
- 2) Berikatan dan menghalangi reseptor permukaan pada sel hospes (antibodi netralisasi)
- 3) Melekat pada permukaan sel patogen dan berperan dalam penghancuran dengan aktifitas lisis sistem komplemen (fiksasi komplemen antibodi).

Imunodiagnostik terhadap sebuah penyakit biasanya hanya mengukur dua kelas antibodi yaitu IgM dan IgG, namun secara imunologi terdapat lima kelas antibodi yang berbeda yaitu : IgG,

IgM, IgE, IgA dan IgD.

Pada struktur antibodi terdapat tempat melekatnya antigen (*antigen binding site*), yang bersifat spesifik pada setiap antibodi yang terbentuk. Berdasarkan spesifitas antibodi, antigen dengan beberapa kesamaan tetapi tidak identik, dapat berikatan pula dengan antibodi, disebut dengan reaksi silang. Komplemen-*binding site* terletak ditengah-tengah struktur molekul dan semua sama pada setiap kelas antibodi. IgM merupakan respon pertama untuk beberapa antigen, walaupun jumlahnya yang tinggi hanya bersifat sementara. Sehingga dengan adanya IgM menandakan bahwa baru terinfeksi atau permulaan infeksiaktif.

Dilain pihak IgG merupakan antibodi yang dapat tetap bertahan lama sampai setelah infeksi hilang. Struktur molekul IgM terdiri dari lima monomer antigen dengan sepuluh antigen-*binding site*.

Pemahaman umum dari konsep imunodiagnostik adalah terjadinya peningkatan titer. Titer antibodi sebanding dengan pengenceran tertinggi serum pasien dimana antibodi masih dapat terdeteksi. Pasien dengan jumlah antibodi yang tinggi karena antibodi masih dapat terdeteksi pada pengenceran tertinggi, serum yang digunakan untuk penentuan titer antibodi harus diambil selama fase akut dari penyakit (ketika pertama kali diketahui atau masih tersangka) dan diulangi selama masa penyembuhan (biasanya dua minggu kemudian). Spesimennya disebut serum akut dan serum konvalesen. Untuk beberapa infeksi, seperti penyakit *legionnaire's* dan hepatitis, titer dapat tidak meningkat sampai beberapa bulan setelah infeksi akut atau dapat tidak pernah meningkat sama sekali. Untuk kebanyakan patogen, peningkatan titer dari pengenceran empat kalinya (yaitu dari positif pada titer 1/8 menjadi 1/32 pada serum berpasangan (akut dan konvalesen), dapat dipertimbangkan didiagnosa sebagai infeksi baru. Hasil yang akurat

untuk diagnosa penyakit infeksi ini akan didapatkan hanya ketika serum akut dan konvalesen diperiksa bersama-sama dalam sistem pengujian yang sama. Imunodiagnostik terhadap antibodi dapat dilakukan dengan berbagai cara. Dalam beberapa kasus antibodi terhadap satu jenis antigen dapat diperiksa dengan lebih dari satu cara tetapi metode penentuan antibodi yang berbeda terhadap satu antigen boleh jadi mengukur antibodi yang berbeda. Berdasarkan alasan tersebut, adanya antibodi terhadap patogen tertentu yang dideteksi oleh satu metode mungkin saja tidak berhubungan dengan adanya antibodi terhadap antigen yang sama tapi dengan metode yang berbeda. Kemudian pula setiap metode pemeriksaan memiliki derajat sensitifitas yang bervariasi dalam mendeteksi adanya antibodi. Oleh sebab itu, imunodiagnostik membutuhkan pengembangan yang terus-menerus dan membuka wahana kajian maupun penelitian di dalam meningkatkan spesifisitas maupun sensitifitas.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB 2 | IMUNODIAGNOSTIK PADA *Vibrio cholera*

2.1. Pendahuluan

Menurut WHO (*World Health Organization*), diare adalah buang air besar encer dan cair lebih dari tiga kali sehari, sementara diare akut adalah diare yang awalnya mendadak dan berlangsung singkat dalam beberapa jam atau 1 hari. Diare akut karena infeksi dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, dan virus, namun infeksi yang sering terjadi biasanya disebabkan karena bakteri. Diare yang disebabkan oleh *Vibrio cholerae* (disebut dengan kolera) merupakan salah satu penyakit oleh karena enterotoksin yang dihasilkannya dan membentuk koloni di dalam usus kecil. Gejala – gejala yang ditimbulkannya meliputi muntah, berak seperti air beras dalam jumlah banyak yang mengakibatkan dehidrasi, kehilangan elektrolit dan naiknya keasaman darah. Pada kasus yang berat, penderita terus menerus buang air besar disertai muntah, sehingga penderita kehilangan cairan serta elektrolit dengan cepat dari saluran pencernaan. Hal ini menyebabkan renjatan keasaman metabolik dan bila tidak diobati akan menyebabkan kematian.

Angka kejadian kasus kolera yang tinggi umumnya terjadi di negara-negara yang sedang berkembang dikarenakan karena belum baiknya *hygiene*, sanitasi serta penyediaan air minum yang memadai. *Vibrio cholerae* banyak ditemui di permukaan air yang terkontaminasi dengan tinja yang mengandung kuman tersebut sehingga air memegang peran utama dalam terjadinya wabah penularan di

daerah pedesaan tempat kolera berjangkit secara endemik. Untuk pemeriksaan *V.cholerae* masih dilakukan secara konvensional yang memerlukan waktu yang cukup lama dan memerlukan fasilitas laboratorium yang memadai. Masih seringnya kejadian luar biasa kolera pada tiap tahunnya, menyebabkan penanganan kasus kejadian luar biasa kolera harus dilakukan secepat mungkin untuk mendapatkan tindakan pengobatan dan pencegahan agar tidak menyebar meluas ke daerah-daerah sekitarnya. Penggunaan rapid diagnostik test ini dapat menjadi pemeriksaan awal di lapangan sehingga tindakan yang bersifat preventif dapat segera dilakukan. Kelebihan dari uji cepat ini adalah cepat, mudah, murah dan dapat dilakukan di tempat. Uji cepat ini mempunyai sensitifitas antara 94 – 100 % dan spesifitasnya antara 84 – 100% jika dibandingkan dengan teknik yang dilakukan secara konvensional. Adapun pemeriksaan *screening* yang lain yaitu dengan *Co-agglutination*, *Dark Field Test*, atau secara biologi molekular dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

2.2 Gambaran Umum Penyakit Kolera

2.2.1 Pengertian Kolera

Penyakit kolera adalah penyakit yang menginfeksi saluran usus dan bersifat akut yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholera*, bakteri ini masuk kedalam tubuh seseorang melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Bakteri tersebut mengeluarkan enterotoksin (racunnya) pada saluran usus sehingga terjadilah diare disertai muntah yang akut dan hebat, akibatnya seseorang dalam waktu hanya beberapa hari kehilangan banyak cairan tubuh dan masuk pada kondisi dehidrasi. Apabila dehidrasi tidak segera ditangani, maka akan berlanjut kearah hipovolemik dan asidosis metabolik dalam waktu yang relatif singkat dan dapat menyebabkan kematian bila penanganan tidak adekuat. Pemberian air minum

biasa tidak akan banyak membantu. Penderita (pasien) kolera membutuhkan infus cairan gula (*Dextrose*) dan garam (*Normal saline*) atau bentuk cairan infus yang dimix keduanya (*Dextrose Saline*).

Ada dua jenis umum *Vibrio cholerae*:

- 1) *Vibrio cholerae* serogrup O1 non-bakteri
- 2) *Vibrio cholerae* serogrup O1.

Dalam kebanyakan kasus, *Vibrio cholerae* serogrup O1 adalah jenis *Vibrio cholerae* yang menyebabkan kolera. *Vibrio cholerae* serogrup O139, sebuah *Vibrio cholerae* serogrup O1 non-bakteri adalah penyebab lain dari kolera. Ada sekitar 70 spesies lain dari *Vibrio cholerae* serogrup O1 non-bakteri, namun spesies lainnya jarang menyebabkan diare.

Morfologi dari *Vibrio cholerae* dapat dideskripsikan sebagai berikut: bakteri batang bengkok seperti koma berukuran ($0,5 \mu\text{m} \times 1,5 - 3,0 \mu\text{m}$), gram negatif, tidak berspora, hidup secara aerob atau anaerob fakultatif, bergerak melalui flagel yang monotrik, tidak membentuk spora, pada biakan tua dapat menjadi berbentuk batang lurus. Suhu optimum untuk pertumbuhan untuk *V.cholerae* adalah pada suhu $18 - 37^{\circ} \text{C}$. Dapat tumbuh pada berbagai jenis media, termasuk media tertentu yang mengandung garam mineral dan asparagin sebagai sumber karbon dan nitrogen. *V.cholera* tumbuh baik pada agar *thio sulfat citrate bile sucrose* (TCBS) yang menghasilkan koloni berwarna kuning. Salah satu ciri khas dari *V. cholera* ini adalah dapat tumbuh pada pH yang sangat tinggi (8.5 – 9.5) dan sangat cepat mati oleh keadaan asam. Pertumbuhan sangat baik pada pH 7,0. Pada pembiakan dengan media yang mengandung karbohidrat yang dapat difermentasi, *V.cholerae* akan cepat mati. *V.cholera* meragi sukrosa dan manosa tanpa menghasilkan gas tetapi tidak meragi arabinosa. Kuman ini juga dapat meragi nitrit. Ciri khas lain yang membedakan dari bakteri enterik gram negatif

lainnya yang tumbuh pada agar darah adalah pada test oksidasi hasilnya positif. Biakan *V.cholera* pada air peptone alkali, setelah pada suhu ruangan selama 6 jam akan tampak pertumbuhan kuman pada perbatasan udara dan cairan. Medium air peptone alkali ini berfungsi sebagai medium transpor yang penting untuk tinja atau usapan dubur dari tersangka kasus cholera.

2.2.2 Penyebab penyakit kolera

Penyebab infeksi kolera adalah bakteri bernama *Vibrio cholerae*. Bakteri kolera memproduksi CTX atau racun berpotensi kuat di usus kecil. Dinding usus yang ditempli CTX akan mengganggu aliran mineral sodium dan klorida hingga akhirnya menyebabkan tubuh mengeluarkan air dalam jumlah besar (diare) dan berakibat kepada kekurangan elektrolit dan cairan. Ada dua siklus kehidupan yang berbeda pada bakteri kolera, yaitu di dalam tubuh manusia dan lingkungan. Bakteri kolera di tubuh manusia ditularkan melalui tinja yang mengandung bakteri. Bakteri kolera bisa berkembang biak dengan subur jika persediaan air dan makanan telah terkontaminasi dengan tinja tersebut. Selain itu bakteri kolera juga dapat berkembang di lingkungan sekitar manusia tinggal. Perairan pinggir pantai yang memiliki krustasea kecil bernama *copepoda* merupakan tempat alami munculnya bakteri kolera. Plankton dan alga jenis tertentu merupakan sumber makanan bagi krustasea, dan bakteri kolera akan ikut bersama inangnya, yaitu krustasea, mengikuti sumber makanan yang tersebar di seluruh dunia. Sumber-sumber infeksi kolera bisa dari faktor makanan dan terpapar air yang mengandung bakteri. Faktor-faktor yang paling umum adalah sebagai berikut:

- 1) Makan kerang mentah atau yang tidak dimasak dengan matang, atau makanan laut lainnya yang berasal dari lokasi tertentu.
- 2) Tumbuhnya bakteri kolera di daerah kolera mewabah bisa

melalui nasi dan millet yang terkontaminasi setelah dimasak dan didiamkan di suhu ruangan selama beberapa jam.

- 3) Bakteri kolera bisa bertahan di air untuk jangka waktu yang lama dan mencemari sumur-sumur yang digunakan oleh masyarakat umum.
- 4) Infeksi kolera bisa bersumber dari sayuran dan buah-buahan mentah yang tidak dikupas dan lahan pertanian yang terkontaminasi oleh pemupukan yang tidak baik atau air untuk pengairan yang mengandung sampah.
- 5) Lingkungan padat penduduk yang tidak memiliki sanitasi memadai.

2.2.3 Masa inkubasi dan manifestasi klinis

Masa inkubasi penyakit kolera adalah 1 sampai 3 hari. Ada beberapa perbedaan pada manifestasi kolera, baik mengenai sifat dan beratnya gejala. Terdapat perbedaan pada kasus individual maupun pada terjadi epidemi. Gejala klinis dapat bervariasi mulai dari asimtomatik sampai dengan gejala klinis berupa dehidrasi berat. Infeksi terbanyak bersifat asimtomatik atau terjadi diare ringan dan umumnya pasien tidak memerlukan perawatan. Manifestasi klinis yang khas ditandai dengan diare yang encer dan berlimpah tanpa didahului oleh rasa mulas maupun *tenesmus* (rasa ingin buang air besar walaupun perut sudah terasa kosong). Dalam waktu singkat tinja yang semula berwarna dan berbau feces berubah menjadi cairan putih keruh (seperti air cucian beras), tidak berbau busuk maupun amis tapi "manis" menusuk. Cairan yang menyerupai air cucian beras ini, bila diendapkan akan mengeluarkan gumpalan-umpalan putih. Cairan ini akan keluar berkali-kali dari anus pasien dalam jumlah besar. Muntah timbul kemudian setelah diare dan berlangsung tanpa didahului mual. Kejang otot dapat menyusul, baik dalam fibrilasi atau fasikulasi, maupun kejang klonik yang nyeri

dan mengganggu. Otot-otot yang sering terlibat ialah betis, biceps, triceps, pektoralis dan dinding perut. Teriakan ataupun rintihan pasien karena kejang yang nyeri itu dapat disangka sebagai teriakan nyeri karena kolik. Kejang otot ini disebabkan karena berkurangnya kalsium dan klorida pada sambungan neuromuskular. Gejala dan tanda kolera terjadi akibat kehilangan cairan dan elektrolit serta asidosis. Pasien berada dalam keadaan lunglai tidak berdaya, namun kesadarannya relatif baik dibandingkan dengan berat penyakitnya. Koma baru dapat terjadi pada saat-saat terakhir. Kejang sentral, stupor yang disebabkan hipoglikemia. Tanda-tanda dehidrasi tampak jelas, nadi menjadi cepat, nafas menjadi cepat, suara menjadi serak, seperti suara bebek manila (*vox cholericus*), turgor kulit menurun (kelopak mata cekung memberi kesan hidung yang mancung dan tipis, tulang pipi yang menonjol), mulut menyeringai karena bibir kering, perut cekung tanpa ada *steifung* maupun kontur usus, suara peristaltik usus bila ada jarang sekali. Jari-jari tangan dan kaki tampak kurus dengan lipatan-lipatan kulit, terutama ujung jari yang keriput (*'haser' omen hand*), diuresis berangsur-angsur kurang dan berakhir dengan anuria. Diare akan bertahan hingga 5 hari pada pasien yang tak diobati.

2.2.4 Tanda-tanda gagal sirkulasi

Berkurangnya volume cairan disertai dengan viskositas darah yang meningkat, akhirnya menyebabkan kegagalan sirkulasi darah. Tanda utama yang dianggap khas adalah suhu tubuh yang rendah ($34^{\circ} - 24,5^{\circ} C$), sekalipun sedang berlangsung infeksi. Frekuensi nadi menjadi cepat dengan isi yang kurang dan akhirnya menjadi cepat dan kecil (*filiform*). Denyut jantung cepat, suara jantung terdengar jauh dan kadang-kadang hanya suara sistolik yang terdengar, namun dengan irama yang tetap teratur. Tekanan darah menurun sebagai tanda renjatan hipovolemik, akhirnya terukur

hanya dengan palpasi. Warna kulit bibir dan selaput mukosa serta kuku jadi ungu akibat sianosis. Hal ini memberi kesan pasien berwarna hitam pada orang yang berkulit gelap, pada perabaan kulit terasa lembab. Sianosis yang terjadi adalah bersifat perifer. Asidosis metabolik terjadi akibat kehilangan bikarbonat jumlah besar dan metabolisme anaerob akibat kegagalan sirkulasi. Tampilan klinis berupa pernafasan yang cepat, mula-mula dangkal, namun akhirnya dalam (*kussmaul*). Perubahan patofisiologi ireversibel lainnya pada organ, agaknya tidak terjadi, bahkan homeostasis masih tetap dapat dipertahankan atau masih mudah dikoreksi. Penyakit kolera dapat berakhir dengan penyembuhan *ad intergrum* (sehat utuh) atau kematian. Penyulit yang diakibatkan oleh penyakitnya sendiri tidak ada. Penyulit yang terjadi biasanya disebabkan oleh keterlambatan pertolongan atau pertolongan yang tidak adekuat, seperti uremia dan asidosis yang tidak terkompensasi. Gagal ginjal dengan anuria yang berkepanjangan terjadi pada presentasi kecil berupa nekrosis tubular yang akut (ATN) yang umumnya dapat diatasi dengan terapi konservatif dan tidak memerlukan dialisis. Penyulit lainnya yang perlu mendapatkan perhatian adalah abortus pada pasien yang hamil muda, komplikasi iatrogenik seperti gagal jantung, reaksi infus berupa demam, infeksi nosokomial (tromboflebitis, sepsis bakterial).

2.2.5 Cara penularan

Diperkirakan selama hasil pemeriksaan tinja masih positif, orang tersebut masih menular dan berlangsung sampai beberapa hari sesudah sembuh. Terkadang status sebagai *carrier* berlangsung hingga beberapa bulan. Berbagai jenis antibiotika diketahui efektif terhadap strain infeksi (misalnya: tetrasiklin untuk strain O139 dan kebanyakan strain O1). Pemberian antibiotika memperpendek masa penularan walaupun sangat jarang sekali, ditemukan infeksi kandung empedu kronis berlangsung hingga bertahun-tahun pada

orang dewasa yang secara terus menerus mengeluarkan *Vibrio cholerae* melalui tinja. Penularannya juga dapat melalui:

- 1) Kotoran
- 2) Muntahan
- 3) Bersinggungan dengan penderita
- 4) Makanan dan minum di satu tempat yang sama
- 5) Benda - benda yang sering dipakai penderita

2.2.6 Patogenesis

V.cholera adalah bakteri gram negatif berbentuk basil yang karakteristiknya sama dengan famili *enterobacteriaceae*. Patologi kolera dihasilkan dari enterotoksin (toksin kolera) yang diproduksi oleh bakteri. Kondisi mengurangi keasaman lambung seperti penggunaan antacid, pemblok reseptor histamine atau penghambat pompa proton atau infeksi *Helicobacter pylory* akan meningkatkan resiko terkena penyakit ini. Toksin *V.cholera* merangsang *adenilat siklae* yang akan meningkatkan *Camp intrasel* dan menghasilkan penghambatan absorpsi natrium serta klorida oleh mikrovili dan menyebabkan pengeluaran klorida dan air oleh sel crypt. Aksi toksin seperti terjadi di sepanjang saluran pencernaan, tetapi kehilangan cairan banyak terjadi di duodenum. Efek dari toksin cholera adalah pengeluaran cairan isotonis (terutama di usus) yang melebihi batas kapasitas saluran intestinal (terutama di kolon). Akan menyebabkan diare yang berair dengan konsentrasi elektrolit sama dengan plasma. Presentasi klinik dapat bertukar dari asimptomatik menjadi dehidrasi *life-threatening* (dapat sembuh dengan sendirinya) untuk diare yang encer. Onset dari diare tiba - tiba dan ditunjukkan dengan cepat atau kadang didahului dengan mual. Tanda umumnya tidak mempunyai "rice water" adalah tanda klasik yang ditandai dengan cholera. Demam terjadi pada kurang dari 5% pasien dan pemeriksaan fisik berkotelasi baik dengan dehidrasi yang berat.

Pada sebagian kasus yang berat, penyakit ini dapat berprogres pada kematian pada 2 – 4 jam jika tidak ditangani. Pada beberapa kasus, akumulasi cairan di dalam lumen intestinal menyebabkan distensi (penggelembungan) abdomen dan ileus dan menyebabkan depleksi (intravaskular tanpa diare). Pasien dapat kehilangan sampai 1 liter cairan isotonis setiap jam.

2.2.7 Kekebalan dan kerentanan

Resistensi dan kerentanan seseorang sangat bervariasi. Kolera gravis biotipe El Tor dan *Vibrio cholera* O139 secara bermakna lebih sering menimpa orang-orang dengan golongan darah O. Infeksi oleh *Vibrio cholerae* O1 atau O139 meningkatkan titer antibodi penggumpalan maupun antibodi terhadap toksin dan meningkatkan daya tahan terhadap infeksi. Serum antibodi terhadap *Vibrio cholera* bisa dideteksi sesudah terjadi infeksi oleh O1 (namun uji spesifik, sensitif dan prosedur pemeriksaan yang dapat dipercaya seperti untuk O1 saat ini tidak ada untuk infeksi O139).

Adanya serum antibodi terhadap *Vibrio cholerae* ini sebagai bukti adanya perlindungan terhadap kolera O1. Studi lapangan menunjukkan bahwa infeksi klinis awal oleh *Vibrio cholera* O1 dari biotipe klasik memberikan perlindungan terhadap infeksi biotipe klasik maupun El Tor; sebaliknya infeksi klinis awal oleh biotipe El Tor memberikan perlindungan jangka panjang namun sangat rendah dan terbatas terhadap infeksi El Tor saja. Di daerah endemis, kebanyakan orang memperoleh antibodi pada awal masa beranjak dewasa. Infeksi oleh strain O1 tidak memberi perlindungan terhadap infeksi O139 dan sebaliknya. Infeksi klinis awal oleh *Vibrio cholera* O139 memberikan proteksi yang cukup bermakna terhadap diare karena infeksi *Vibrio cholera* O139.

Mekanisme imunitas pada kolera belum diketahui benar. Sepanjang yang diketahui, respon imun pada kolera ialah tipe humoral. Meskipun vibrio dan enterotoksin kolera tidak beredar

dalam darah, ternyata tubuh membentuk antibodi humoral bersama-sama dengan kopro-antibodi. Kedua antibodi ini bekerja baik sebagai anti-entrotoksin maupun anti bakteri.

2.3 Imunodiagnostik pada *Vibrio cholerae*

2.3.1 Strip test

Imunokromatografi Assay (ICT) atau disebut juga aliran samping (*lateral flow test*) atau lebih dikenal dengan uji strip (*strip test*) tergolong dalam kelompok immunoassay berlabel seperti imunofluoresens (IF) dan imunoenzim (EIA). Imunokromatografi assay (ICT) merupakan perluasan yang logis dari teknologi uji aglutinasi latex yang berwarna yaitu uji serologi yang telah dikembangkan sejak tahun 1957. Disamping itu, imunokromatografi assay (ICT) merupakan uji laboratorium yang handal sehingga amat dibutuhkan di negara sedang berkembang. Imunokromatografi assay tidak membutuhkan alat canggih (mikroskop elektron dan micro array). Untuk membacanya cukup hanya dengan melihat adanya perubahan warna memakai mata telanjang sehingga jauh lebih praktis.

Uji ini menggunakan metode *sandwich immunochromatography assay*, strip ini menggunakan plastic strip yang dilapisi kertas membran berukuran 5mm x 80mm. Pada daerah strip tersebut merupakan area spesimen yang dilapisi dengan antibodi monoclonal yang diberi *gold*. Area ini digunakan sebagai sistem deteksi. Pada bagian tengah dari membran strip didesain sebagai zona reaksi antara antigen yang terdeteksi dengan tes kontrol. Sementara pada bagian atas dari strip digunakan sebagai pegangan dalam melakukan tes. Pada zona reaksi terdapat 2 pita, pada pita pertama dilapisi dengan antibodi *V.cholerae* dan pada pita kedua dilapisi dengan *anti mouse antibody*. Antibodi *V.cholerae*, pada pita pertama akan mengikat *site* kompleks antigen *V.cholerae- Monoclonal antibody*, sedangkan *anti*

mouse antibody akan mengikat *site monoclonal antibody*, sehingga terbentuk warna merah muda pada daerah pita. Pada spesimen berupa feses yang cair, *V.cholerae* dapat langsung dideteksi dengan sensitivitas 10^6 CFU/mL. Apabila sampel berupa *tipped-cotton swab*, *V.cholerae* dapat dideteksi dengan 10 CFU/mL, akan tetapi harus dilakukan perbanyakkan bakteri terlebih dahulu dengan menggunakan medium alkalis pepton water dan diinkubasi selama 4 – 6 jam. Uji ini dilakukan dengan cara mencelupkan strip ke wadah yang berisi spesimen, kemudian interpretasi hasil dapat dilakukan selama 5 -15 menit. Hasil dengan terbentuknya 2 pita merah muda menunjukkan hasil positif *V.cholerae* dan bila terbentuk satu pita menunjukkan hasil yang negatif. Metode *strip test* ini mempunyai sensitivitas 94 – 100% dan spesivitasnya 84 – 100%.

2.3.2 Co-agglutination test

Tes ini dilakukan dengan menggunakan antisera yang mengandung antibodi monoklonal yang langsung direaksikan dengan bahan sampel dengan menggunakan sediaan gelas. Tes ini juga menggunakan protein A dari bakteri *Staphylococcus aureus* (Cowan 1) yang dilapisi pada antibodi monoklonal. Antigen 3 (*V.cholerae*) akan bereaksi dengan reagen yang mengandung antibodi monoklonal sehingga terbentuk aglutinasi. Spesimen yang digunakan dapat berupa swab tinja atau dengan menggunakan medium perbenihan terlebih dahulu yang diinkubasi 37° C selama 4-6 jam. Tes ini selain cepat, juga mudah dan dapat dilakukan di lapangan, tetapi mempunyai keterbatasan, yakni jumlah minimal bakteri yang terdapat pada specimen feses atau *rectal swab* yang telah dibuat suspensi adalah 10^6 CFU/mL. Dengan jumlah minimal bakteri *V.cholerae* 10^6 CFU/mL, uji diagnostik cepat akan menunjukkan reaksi positif. Apabila jumlahnya kurang dari 106 CFU/mL, maka sampel feses atau *rectal swab* harus dilakukan perbanyakkan terlebih dahulu dengan medium APW. Metode

coagglutination test ini mempunyai sensitifitas 97 % dan spesifitasnya 99%. Semua *Vibrio cholerae* mempunyai antigen flagel H yang sama. Antigen flagel H ini bersifat tahan panas. Antibodi terhadap antigen flagel H tidak bersifat protektif. Pada uji aglutinasi berbentuk awan. Antigen somatic O merupakan antigen yang penting dalam pembagian grup secara serologi pada *Vibrio cholerae*. Antigen somatic O ini terdiri dari lipopolisakarida. Pada reaksi aglutinasi berbentuk seperti pasir. Antibodi terhadap antigen O bersifat protektif. *Vibrio cholerae serogroup* O1 memiliki 3 faktor antigen A, B, dan C yang membagi grup O1 menjadi serotip Ogawa, Inaba, dan Hikojima.

2.3.3 Dark field test

Metode *dark field test* (mikroskop lapangan gelap) dilakukan untuk uji skrining feses untuk menentukan ada tidaknya *V.cholerae*. Spesimen feses bentuk cair dapat dilakukan pemeriksaan langsung dengan meneteskan spesimen pada gelas kaca dan ditutup dengan penutup gelas kaca dan dilihat dibawah mikroskop lapang gelap. Spesimen dapat juga dilakukan perbenihan dulu pada medium alkalis pepton water. Spesimen di bawah mikroskop lapang gelap akan tampak kuman *V.cholerae* yang menunjukkan gerak yang khas yang disebut "*darting motility*", terlebih bila jumlah organisme dalam tinja > 10⁵ per mL. Kuman akan tampak berhenti, tidak bergerak bila ditambahkan antiserum spesifik. Metode *dark field test* ini mempunyai sensitivitas 90% dan spesivitas 96%.

2.4 Diagnostik Molekular dan Konvensional

2.4.1 PCR (Polymerase Chain Reaction)

Reaksi berantai polimerase atau lebih umum dikenal sebagai PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik atau metode perbanyak (replikasi) DNA secara enzimatis tanpa

menggunakan organisme. Dengan teknik ini, dapat menghasilkan DNA dalam jumlah besar dalam waktu singkat sehingga memudahkan berbagai teknik lain yang menggunakan DNA. Metode PCR merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk diagnosis rapid bakteri *V.cholerae*. Adanya bakteri *V.cholerae* dari sampel feses atau rectal swab dapat dideteksi dengan metode PCR ini. Metode ini dilakukan dengan menggunakan primer spesifik dari gen *V.cholerae*. Metode PCR test ini mempunyai sensitifitas 100% dan spesifitas 100%. *Polymerase chain reaction* (PCR) dilakukan dengan menggunakan kit invitrogen. Primer diencerkan sesuai dengan instruksi yang ada pada kemasan primer dalam *tube* master. Perbandingan pengenceran antara primer dengan *nuklease free water* yaitu 10 : 90. Sepuluh bagian primer dari *tube* master dimasukkan ke dalam *tube* steril, kemudian ditambahkan 90 bagian *nuklease free water*. PCR mix yang terdiri dari 10x PCR amplification buffer (5 μ L), 5 mM MgSO₄ (1,5 μ L), 10 mM dNTP mixture (1 μ L), Primer forward (1 μ L), Primer reverse (1 μ L), PCR grade water (36 μ L), Taq polymerase (0,5 μ L), dibuat dalam satu *tube* dan sesuai kebutuhan. Kontrol negatif dibuat dengan menambahkan air steril sejumlah 4 μ L ke dalam 46 μ L PCR mix. Tambahkan DNA template sebanyak 4 μ L ke dalam masing-masing PCR *tube* yang telah di aliquot sehingga akan memberikan volume akhir masing-masing 50 μ L. Kontrol positif dibuat dengan menambahkan kultur DNA kontrol sejumlah 4 μ L ke dalam 46 μ L PCR mix. *Tube* yang telah berisi mix dan DNA template dimasukkan ke dalam mesin PCR. Mesin PCR diprogram dengan tahapan predenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* (pengikatan) pada 55°C selama 1 Menit, *extention* (pemanjangan) pada suhu 72°C selama 1 Menit, dan *elongation* (pemanjangan akhir) pada suhu 72°C selama 7 menit. Proses PCR dilakukan sebanyak 35 siklus. Hasil amplifikasi produk PCR kemudian dilihat dengan menggunakan elektroforesis dan dilihat

dengan pencahayaan ultraviolet. Penanda (marka) yang merupakan campuran molekul dengan ukuran berbeda-beda yang dapat digunakan untuk menentukan ukuran molekul dalam pita sampel dengan melakukan elektroforesis marka tersebut pada lajur di gel yang paralel dengan sampel. Pita pada lajur sampel tersebut dapat dibandingkan dengan pita marka untuk mengetahui jumlah pasang basa DNA yang terdeteksi dan terisolasi dari sampel. Sedangkan pada hasil yang negatif tidak akan terbentuk pita. Pada pembacaan elektroforesis dengan pencahayaan ultraviolet didapatkan pita yang terbentuk dari semua lajur sampel dan kemudian dicocokkan dengan penanda. *V.cholerae* patogen positif mengandung gen *ctx*. Gen *ctx* merupakan gen yang terdapat pada bakteri *V. cholerae* patogen yang menghasilkan toksin kolera (*cholera toxin* = CT). Toksin kolera sangat berperan dalam menyebabkan terjadinya diare. Gen *ctx* ini hanya dimiliki oleh *V. cholerae* patogen sehingga untuk mengidentifikasi bakteri ini hanya dapat dilakukan dengan melihat gen spesifik yang dimilikinya. Gen spesifik tersebut dapat dilihat dengan pemeriksaan menggunakan metode PCR. Tidak semua bakteri *V. cholerae* mempunyai gen *ctx* dan hanya bakteri *V.cholerae* patogen yang mempunyai gen ini yaitu *V. cholerae* serogroup O1 dan O139. Kelebihan pemeriksaan laboratorium untuk diagnosa *V. cholerae* dengan menggunakan metode PCR adalah pada kecepatan waktu yang diperlukan untuk proses pemeriksaan. Selain itu, metode tersebut merupakan metode yang sensitif dan spesifik apabila dibandingkan dengan metode pembiakan yang merupakan metode baku emas (*gold standard*) pada identifikasi bakteri. Identifikasi dengan menggunakan metode PCR, sampel yang kita periksa atau identifikasi bakteri penyebab infeksi dapat diketahui hasilnya dalam waktu satu hari. Hal ini sangat berbeda sekali dengan metode pemeriksaan secara konvensional yang harus membutuhkan waktu yang lebih dari satu hari untuk dapat mengetahui hasilnya. Apabila dibandingkan dengan metode konvensional, metode PCR

memerlukan biaya dan peralatan yang cukup mahal.

2.4.2 Konvensional test

Sampel dari swab rektal ditanam terlebih dahulu pada medium perbenihan alkaline peptone water (APW) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil dari media perbenihan APW kemudian dilakukan subkultur ke medium *thiosulfate-citrate-bile-sucrose* (TCBS) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Apabila terjadi pertumbuhan koloni pada medium agar TCBS selanjutnya dilakukan uji biokimia seperti oksidase, pertumbuhan dengan NaCl, *Kliger Iron Agar* (KIA), *Motility Indole Ornithine* (MIO), *Sucrose Semi Solid* (SSS), lysine, arginine, ornithine, maltose, arabinose. Identifikasi *V. cholerae* secara konvensional dengan kultur dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara langsung dengan menanam bahan pemeriksaan (swab rektal, tinja, muntahan) pada lempeng agar *thiosulfat citrat bile salts sucrose* (TCBS), dan secara tidak langsung yaitu bahan ditanam terlebih dahulu pada media perbenihan alkaline peptone water (APW) dan diinkubasi selama 18 – 20 jam pada suhu 37°C. Dari media perbenihan APW selanjutnya dapat dilakukan subkultur ke media TCBS. Identifikasi yang dilakukan secara konvensional didasarkan pada morfologi dan sifat-sifat bakteri *V. cholerae*. Metode konvensional dengan medium kultur merupakan baku emas dalam mendiagnosis penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri *V. cholerae*. Pemeriksaan dengan medium kultur mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup tinggi, akan tetapi proses pemeriksaan memerlukan waktu yang cukup lama. Sensitivitas metode tersebut mendekati 100% dan pemeriksaan dapat dilakukan terhadap sampel klinis yang mempunyai kandungan bakteri 10- 100 sel. Meskipun metode kultur merupakan metode baku, namun metode konvensional memiliki kekurangan karena untuk identifikasinya memerlukan waktu yang lebih lama yaitu 2–3 hari. Metode konvensional juga

harus dilakukan oleh tenaga laboratorium yang sudah terlatih dan hal lain yang menjadi kendala adalah umumnya tidak tersedianya fasilitas laboratorium mikrobiologi pada kasus kejadian luar biasa kolera.

2.5 Penutup

Kejadian luar biasa diare kolera di Indonesia masih akan terus terjadi, mengingat Indonesia adalah negara yang berkembang. Infrastruktur, sanitasi dan higiene yang masih buruk menyebabkan angka kejadian diare kolera di beberapa daerah Indonesia masih harus diwaspadai. Mengingat standar baku diagnosis bakteri *V.cholerae* dengan menggunakan tehnik konvensional (kultur, isolasi dan identifikasi) memerlukan waktu yang cukup lama dan peralatan yang memadai, maka penggunaan uji diagnostik cepat untuk deteksi bakteri *V.cholerae* sangat berperan pada kasus kejadian luar biasa diare cholera. Penggunaan uji diagnostik cepat ini dapat menjadi pemeriksaan awal di lapangan karena sifatnya yang cepat, mudah, murah sehingga tindakan yang bersifat preventif dapat segera dilakukan. Pada keadaan kasus luar biasa kolera yang terjadi di daerah dengan kapasitas sarana dan prasarana laboratorium yang terbatas dan kurang memadai untuk melakukan pemeriksaan, penggunaan diagnosis cepat seperti strip tes, *co-agglutination test* dan *dark field test* menjadi suatu diagnosis pilihan yang patut dipertimbangkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhuiyan N.A,et al.2003. Use of Dipsticks for Rapid Diagnosis of Cholera Caused by *Vibrio cholerae* O1 and O139 from Rectal Swabs. *J. Clin. Microbiol.* August 2003vol. 41 no. 8 3939-3941

- CDC.2006. V.Cholera Infection.Atlanta Georgia
- CDC.1999. Laboratory Methods for the Diagnosis of Epidemic Dysentery and Cholera.Atlanta Georgia
- Faruque. et al,1998. Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholera*. Microbiology and Molecular Biology Reviews p. 1301–1314
- Jawetz, Melnick, and Adelberg.2004.Mikrobiologi Kedokteran, Penerbit Buku Kedokteran EGC,Jakarta
- Kambang Sariadji, Sunarno, Rudi Hendro Putranto, 2015 Uji Diagnostik *Kolera*Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. Vol.4.1.2015:1-7
- Maheshwari M,dkk.2011. *Vibrio cholerae* - A Review. Veterinary World, Vol.4(9):423-428
- Marek A,et al.2011. Non-toxigenic *Vibrio cholerae* bacteraemia: case report and review of the literature. Journal of Medical Microbiology, 62, 1357–1359
- Silva AJ, Benitez JA (2016) *Vibrio cholerae* Biofilms and Cholera Patogenesis. PLoS Negl Trop Dis10(2):e0004330. doi:10.1371/journal.pntd.0004330
- Usaid.2014. Laboratory Identification Of *Vibrio Cholera*.Usa
- WHO. 2001. *Vibrio Cholera: Guidelines For Drinking-Water Quality*.Geneva-Swiss

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB 3 | IMUNODIAGNOSTIK PADA PENYAKIT KUSTA

3.1 Pendahuluan

Penyakit kusta merupakan salah satu penyakit menular kronik yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium leprae* (*M leprae*) yang intra seluler obligat menyerang saraf perifer sebagai afinitas pertama, lalu kulit dan mukosa traktus respiratorius bagian atas kemudian ke organ lain kecuali susunan saraf pusat. Penyakit kusta dikenal juga dengan nama *Morbus Hansen* atau *lepra*. Istilah kusta berasal dari bahasa sansekerta, yakni *kushta* yang berarti kumpulan gejala-gejala kulit secara umum. Penyakit kusta pada umumnya terdapat di negara-negara yang sedang berkembang sebagai akibat keterbatasan negara tersebut dalam memberikan pelayanan yang memadai dalam bidang kesehatan dan kesejahteraan.

Penyakit kusta adalah penyakit kronik yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium leprae* yang pertama kali menyerang susunan saraf tepi, selanjutnya menyerang kulit, mukosa (mulut) saluran pernafasan bagian atas, sistem retikulo endotelial, mata, otot, tulang dan testis. Penyakit kusta adalah salah satu penyakit menular yang menimbulkan masalah yang sangat kompleks. Masalah yang dimaksud bukan hanya dari segi medis, tetapi meluas sampai masalah sosial, ekonomi, dan psikologis.

Penyakit kusta disebabkan oleh *M. leprae* yang ditemukan oleh G.H. Armauer Hansen tahun 1873 di Norwegia. Basil ini bersifat tahan asam, bentuk pleomorf lurus, batang ramping dan

sisanya berbentuk paralel dengan kedua ujung-ujungnya bulat dengan ukuran panjang 1-8 um dan diameter 0,25-0,3 um. Basil ini menyerupai kuman berbentuk batang yang gram positif, tidak bergerak dan tidak berspora. Dengan pewarnaan *Ziehl-Nielsen*, basil yang hidup dapat berbentuk batang yang utuh, berwarna merah terang dengan ujung bulat (*solid*), sedang basil yang mati bentuknya terpecah-pecah (*fragmented*) atau granular. Basil ini hidup dalam sel terutama jaringan yang bersuhu rendah dan tidak dapat dikultur dalam media buatan (*in vitro*).

Sumber infeksi kusta adalah penderita dengan banyak basil yaitu tipe *multibasiler (MB)*. Cara penularan belum diketahui dengan pasti, hanya berdasarkan anggapan yang klasik ialah melalui kontak langsung antar kulit yang lama dan erat. Anggapan kedua ialah secara inhalasi sebab *M. leprae* masih dapat hidup beberapa hari dalam droplet. Masa tunas kusta bervariasi, 40 hari sampai 40 tahun. Kusta menyerang semua umur dari anak-anak sampai dewasa. Faktor sosial ekonomi memegang peranan, makin rendah sosial ekonomi makin subur penyakit kusta, sebaliknya sosial ekonomi tinggi membantu penyembuhan. Sehubungan dengan iklim, kusta tersebar di daerah tropis dan sub tropis yang panas dan lembab, terutama di Asia, Afrika dan Amerika Latin. Jumlah kasus terbanyak terdapat di India, Brazil, Bangladesh, dan Indonesia. Jenis-jenis klasifikasi yang umum adalah :

1) Klasifikasi Internasional (Madrid, 1953)

- a) *Interdeterminate (I)*
- b) *Tuberkuloid (T)*
- c) *Bordeline (B)*
- d) *Lepromatosa (L)*

2) Klasifikasi Ridley-Jopling (1962) :

- a. *Tuberkuloid – tuberkuloid (TT)*
- b. *Bordeline – tuberkuloid (BT)*

c. *Bordeline – bordeline (BB)*

d. *Lepramatosa – lepramatosa (LL)*

(Emy, S 2003)

Mycobacterium leprae menyerang saraf tepi tubuh manusia. Gangguan fungsi saraf tepi berdasarkan kerusakan saraf tepi berupa: sensorik, motorik dan otonom. Terjadinya cacat pada kusta disebabkan oleh kerusakan fungsi saraf tepi, baik karena kuman kusta maupun karena terjadinya peradangan (neuritis) sewaktu keadaan reaksi lepra.

3.1.1 Tingkat cacat

Kerusakan saraf pada penderita kusta meliputi :

1) Kerusakan fungsi sensorik

Kelainan fungsi sensorik ini menyebabkan terjadinya kurang/mati rasa (anestesi). Akibat kurang/mati rasa pada telapak tangan dan kaki dapat terjadi luka. Sedangkan pada kornea mata, akan mengakibatkan kurang/hilangnya reflek kedip sehingga mata mudah kemasukan kotoran, benda-benda asing yang dapat menyebabkan infeksi mata dan akibatnya buta.

2) Kerusakan fungsi motorik

Kekuatan otot tangan dan kaki dapat menjadi lemah/lumpuh dan lama-lama otot mengecil (atrofi) oleh karena tidak dipergunakan. Jari-jari tangan dan kaki menjadi bengkok (*clow hand/clow toes*) dan akhirnya dapat terjadi kekakuan pada sendi, bila terjadi kelemahan/kekakuan pada mata, kelopak mata tidak dapat dirapatkan (*lagoptalmus*).

3) Kerusakan fungsi otonom

Terjadinya gangguan kelenjar keringat, kelenjar minyak dan gangguan sirkulasi darah sehingga kulit menjadi kering, menebal, mengeras, dan akhirnya dapat pecah-pecah. Pada umumnya

apabila terdapat kerusakan fungsi saraf tidak ditangani secara tepat dan tepat maka akan terjadi cacat ke tingkat yang lebih berat. Tujuan pencegahan cacat adalah jangan sampai ada cacat yang timbul atau bertambah berat.

Tabel 3.1 Tingkat Cacat dan kecacatan pada Penderita Kusta

Tingkat	Mata	Tangan / Kaki
0	Tidak ada pada mata akibat kusta, penglihatan masih normal	Tidak ada anestesi, tidak ada cacat yang terlihat akibat kusta
1	Ada kelainan mata akibat kusta, penglihatan kurang terang (masih dapat menghitung jari pada jarak 6 meter)	Ada anestesi tetapi tidak ada cacat atau terlihat yang kelihatan
2	Penglihatan sangat kurang terang (tidak dapat menghitung jari pada jarak 6 meter)	Ada cacat atau kerusakan yang terlihat

digilib Sumber Depkes RI (2007) ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Keterangan:

- 1) Cacat tingkat 0 berarti tidak ada cacat,
- 2) Cacat tingkat I adalah cacat yang disebabkan oleh kerusakan saraf sensorik yang tidak terlihat seperti kehilangan rasa raba pada telapak tangan dan telapak kaki. Cacat tingkat I pada telapak kaki berisiko terjadinya ulkus plantaris, namun dengan diri secara rutin hal ini dapat cegah. Mati rasa pada bercak bukan merupakan cacat tingkat I karena bukan disebabkan oleh kerusakan saraf perifer utama tetapi rusaknya saraf lokal pada kulit.
- 3) Cacat tingkat II berarti cacat atau kerusakan yang terlihat.
 - a) Untuk mata :
 - (1) Tidak mampu menutup mata dengan rapat (lagophthalmus)

- (2) Kemerahan yang jelas pada mata
 - (3) Gangguan penglihatan berat atau kebutaan
- b) Untuk tangan dan kaki :
- (1) Luka/ulkus di telapak
 - (2) Deformitas yang disebabkan oleh kelumpuhan otot (kaki simper atau kontraktur) dan atau hilangnya jaringan (atropi) atau reabsorpsi dari jari-jari

3.1.2 Batasan cacat kusta

Menurut WHO dalam Srinvasan (2004) batasan kusta adalah sebagai berikut:

- 1) *Impairment*. Kehilangan atau abnormalitas struktur dan fungsi yang bersifat psikologik, fisiologik atau anatomi
- 2) *Disability*. Keterbatasan akibat *empairment* untuk melakukan kegiatan dalam batas-batas kehidupan yang normal bagi manusia.
- 3) *Handicap*. Kemunduran pada individu yng membatasi atau menghalangi penyelesaian tugas normal yang bergantung pada umur, jenis kelamin dan faktor sosial budaya.

3.1.3 Jenis cacat

Cacat yang timbul akibat penyakit kusata dapat dikelompokan menjadi 2 (dua) yaitu :

- 1) Cacat primer. Pada kelompok ini cacat disebabkan langsung oleh aktifitas penyakit, terutama kerusakan akibat respon jaringan terhadap *Mycobacterium leprae*.
- 2) Cacat sekunder. Cacat sekunder terjadi akibat cacat primer, terutama kerusakan akibat saraf sensorik, motorik dan otonom. Contoh ulkus jari tangan, atau kaki putus.

3.1.4 Epidemiologi penyakit kusta

Mekanisme penularan kusta yang tepat belum diketahui. Beberapa hipotesis telah dikemukakan seperti, adanya kontak dekat dan penularan dari udara. Terdapat bukti bahwa tidak semua orang yang terinfeksi oleh kuman *Mycobacterium leprae* menderita kusta. Iklim (cuaca panas dan lembab), diet, status gizi, status sosial ekonomi dan genetik juga ikut berperan, setelah melalui penelitian dan pengamatan pada kelompok penyakit kusta di keluarga tertentu. Belum diketahui pula mengapa dapat terjadi tipe kusta yang berbeda pada setiap individu. Faktor ketidakcukupan gizi juga diduga merupakan faktor penyebab. Penyakit kusta dipercaya bahwa penularannya disebabkan oleh kontak antara orang yang terinfeksi dengan orang sehat. Dalam penelitian terhadap insiden, tingkat infeksi untuk kontak lepra lepromatosa beragam dari 6.2 per 1000 per tahun di Cebu, Philipina hingga 55.8 per 1000 per tahun di India Selatan. Dua pintu keluar dari *Micobacterium leprae* dari tubuh manusia diperkirakan adalah kulit dan mukosa hidung. Telah dibuktikan bahwa kasus lepromatosa menunjukkan adanya sejumlah organisme di dermis kulit. masih belum dapat dibuktikan bahwa organisme tersebut dapat berpindah ke permukaan kulit walaupun telah ditemukan bakteri tahan asam di epidermis. Walaupun terdapat laporan bahwa ditemukan bakteri tahan asam di epitel Deskuamosa di kulit, Weddel et al melaporkan bahwa mereka tidak menemukan bakteri tahan asam di epidermis. Dalam penelitian terbaru. Job et al menemukan adanya sejumlah *Mycobacterium leprae* yang besar dilapisan keratin superficial kulit di penderita kusta lepromatosa. Hal ini membentuk sebuah pendugaan bahwa organisme tersebut dapat keluar melalui kelenjar keringat.

Pentingnya mukosa hidung dalam penularan *Mycobacterium leprae* telah ditemukan oleh Schaffer pada tahun 1898. Jumlah bakteri dari lesi mukosa hidung pada kusta lepromatosa, menurut Shepard,

antara 10.000 hingga 10.000.000 bakteri. Pedley melaporkan bahwa sebagian besar pasien lepromatosa memperlihatkan adanya bakteri di secret hidung penderita. Devey dan Rees mengindikasikan bahwa secret hidung dari pasien lepromatosa dapat memproduksi 10.000.000 organisme per hari. Pintu masuk dari *Mycobacterium leprae* ke tubuh manusia masih menjadi tanda tanya. Saat ini diperkirakan kulit dan pernafasan atas menjadi gerbang masuknya bakteri.

Masa inkubasi kusta belum dapat dikemukakan. beberapa peneliti berusaha mengukur masa inkubasi kusta, masa inkubasi kusta minimum dilaporkan beberapa minggu, berdasarkan adanya kasus kusta pada bayi. Masa inkubasi maksimum dilaporkan selama 30 tahun. Hal ini dilaporkan berdasarkan pengamatan pada veteran perang yang pernah terekspos di daerah endemik dan kemudian berpindah ke daerah non endemik. Secara umum telah ditetapkan masa inkubasi rata-rata dari kusta adalah 3-5 tahun.

Penyakit kusta sampai saat ini masih ditakuti masyarakat, keluarga termasuk sebagian petugas kesehatan. Hal ini disebabkan masih kurangnya pengetahuan/pengertian, kepercayaan yang keliru terhadap kusta dan cacat yang ditimbulkannya (Pedoman Nasional Pemberantasan Penyakit Kusta, 2006). Pada tahun 1991, *World Health Assembly* telah mengeluarkan suatu resolusi yaitu eliminasi kusta tahun 2000 sehingga penyakit kusta tidak lagi menjadi masalah kesehatan masyarakat. Eliminasi yang dimaksud *World Health Organization* (WHO) adalah suatu keadaan dimana prevalensi (jumlah penderita yang tercatat) kurang dari 1/10.000 penduduk (Pedoman Nasional Pemberantasan Penyakit Kusta, 2006).

Menurut WHO *Weekly Epidemiological Report* mengenai kusta tahun 2010, selama tahun 2009 terdapat 17.260 kasus baru di Indonesia, dengan 14.227 kasus teridentifikasi sebagai kasus kusta

tipe Multi Basiler (MB) yang merupakan tipe yang menular. Dari data kasus kusta baru tahun 2009 tersebut, 6.887 kasus diantaranya oleh penderita oleh kaum perempuan, sedangkan 2.076 kasus penderita oleh anak-anak.

Data Kementerian Kesehatan menyebutkan pada 2009 tercatat 17.260 kasus baru kusta di Indonesia (7,49/100.000 penduduk) dan jumlah kasus terdaftar sebanyak 21.026 orang dengan angka prevalensi: 0,91 per 10.000 penduduk. Sedangkan tahun 2010, jumlah kasus baru tercatat 10.706 (Angka Penemuan kasus baru/CDR: 4.6/100.000) dan jumlah kasus terdaftar sebanyak 20.329 orang dengan prevalensi: 0.86 per 10.000 penduduk. Di Sumatera Utara insiden (jumlah kasus baru) kusta 192 kasus pada Januari-Desember 2010, dan 12 % dari kasus tersebut adalah anak berumur kurang 15 tahun. Berdasarkan data, jumlah penderita kusta di Sumatra Utara, masing-masing terdapat di Kabupaten Serdang Bedagai sebanyak 10 penderita, Sibolga 13 penderita, Padang Lawas 10 penderita, Medan 42 penderita, Deli Serdang 15 penderita, Simalungun 17 penderita, Asahan 12 penderita, Labuhan Batu 12 penderita dan Tapanuli Selatan 13 penderita. WHO (1980), membatasi istilah dalam cacat kusta sebagai berikut: *impairment*, *disability*, dan *handicap*. Sedangkan WHO *Expert Committee on Leprosy* dalam laporan yang dimuat dalam WHO *Technical Report Series No. 607* telah membuat klasifikasi cacat bagi penderita kusta. Klasifikasi tersebut antara lain: Tingkat 0, tingkat 1, tingkat 2. Bayangan cacat kusta menyebabkan penderita seringkali tidak dapat menerima kenyataan bahwa ia menderita kusta. Akibatnya akan ada perubahan mendasar pada kepribadian dan tingkah lakunya. Akibatnya ia akan berusaha untuk menyembunyikan keadaannya sebagai penderita kusta. Hal ini tidak menunjang proses pengobatan dan kesembuhan, sebaliknya akan memperbesar resiko timbulnya cacat. Masalah psikososial yang timbul pada penderita kusta lebih menonjol dibandingkan

masalah medis itu sendiri. Hal ini disebabkan oleh adanya stigma dan leprofobi yang banyak dipengaruhi oleh berbagai paham dan informasi yang keliru mengenai penyakit kusta. Sikap dan perilaku masyarakat yang negatif terhadap penderita kusta seringkali menyebabkan penderita kusta merasa tidak mendapat tempat di keluarganya dan lingkungan masyarakat.

Akibatnya penderita cacat kusta (PCK) cenderung hidup menyendiri dan mengurangi kegiatan sosial dengan lingkungan sekitar, tergantung kepada orang lain, merasa tertekan dan malu untuk berobat. Dari segi ekonomi, penderita kusta cenderung mengalami keterbatasan ataupun ketidakmampuan dalam bekerja maupun mendapat diskriminasi untuk mendapatkan hak dan kesempatan untuk mencari nafkah akibat keadaan penyakitnya sehingga kebutuhan hidup tidak dapat terpenuhi, apalagi mayoritas penderita kusta berasal dari kalangan ekonomi menengah ke bawah, padahal penderita kusta memerlukan perawatan lanjut sehingga memerlukan biaya perawatan. Hal-hal tersebut yang akhirnya akan mempengaruhi tingkat kualitas hidup. WHO mendefinisikan kualitas hidup sebagai persepsi individual terhadap posisinya dalam kehidupan, dalam konteks budaya, sistem nilai dimana mereka berada dan hubungannya terhadap tujuan hidup, harapan, standar, dan lainnya yang terkait. Masalah yang mencakup kualitas hidup sangat luas dan kompleks termasuk masalah kesehatan fisik, status psikologik, tingkat kebebasan, hubungan sosial, dan hubungan lingkungan dimana mereka berada

3.2 Gejala Klinis

Perjalanan klinik penyakit kusta merupakan suatu proses yang lambat dan berjalan bertahun-tahun, sehingga acapkali si penderita tidak menyadari adanya proses penyakit di dalam tubuhnya. Sebagian besar penduduk didaerah endemik kusta pernah terinfeksi kuman

Mycobacterium leprae. Namun, karena adanya kekebalan alamiah, hanya sekitar 15% dari mereka yang mungkin akan terjadi sakit. Pada mereka yang kekebalan alamiahnya tidak berhasil membunuh kuman yang masuk, terjadi perkembangbiakan kuman di dalam sel Schwann di perineurium. Proses ini berjalan sangat lambat sebelum muncul gejala klinik yang pertama.^{1,2} Setelah melewati masa inkubasi yang cukup lama (sekitar 2-5 tahun) akan muncul gejala awal penyakit yang bentuknya belum khas, berupa bercak-bercak dengan sedikit gangguan sensasi pada kulit disertai dengan berkurangnya produksi keringat setempat. Keadaan ini disebut fase *indeterminate* dan dianggap sebagai fase dimana kelainan yang terjadi masih belum dipengaruhi oleh kekebalan tubuh. Meskipun tidak semua bentuk *indeterminate* akan berlanjut menjadi kusta yang manifest (*overt*), dalam beberapa tahun setelah kelainan itu ditemukan biasanya akan muncul gejala klinik yang karakteristik. Kelainan yang khas ini bervariasi, bisa pada kulit, saraf tepi maupun organ-organ lainnya. Bentuk kelainan yang terjadi tergantung tipe penyakit kusta yang terjadi dan berkaitan erat dengan imun penderita. Pada fase awal penyakit kusta dapat terjadi perubahan imunologis mengawali gejala klinis, yang biasa disebut kusta subklinis. Kusta subklinis adalah keadaan dimana kuman telah masuk ke dalam tubuh namun individu tersebut tidak menunjukkan gejala klinis penyakit tersebut, tetapi pada pemeriksaan serologis adalah hasilnya positif. Dengan pemeriksaan serologis yang spesifik untuk kusta terlihat bahwa jumlah antibodi terhadap *Mycobacterium leprae* pada individu sudah cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa telah ada antigen spesifik *Mycobacterium leprae* yang merangsang timbulnya antibodi tersebut. Infeksi subklinis merupakan tahap subklinis menuju penyakit dengan manifestasi klinis atau tahap subklinis yang berakhir tanpa manifestasi klinis. Respon imun pada penyakit kusta sangat kompleks yaitu melibatkan imunitas seluler dan humoral. Sebagian besar gejala dan komplikasi penyakit ini disebabkan

oleh reaksi imunologi terhadap antigen yang ditimbulkan oleh *Mycobacterium leprae*. Jika respon imun yang terjadi setelah infeksi cukup baik, maka multiplikasi bakteri dapat dihambat pada stadium awal sehingga dapat mencegah perkembangan tanda dan gejala klinis selanjutnya.

3.3 Respon imun pada infeksi kusta

Mycobacterium leprae merupakan parasit obligat intraseluler, maka respon imun seluler memegang peranan penting dalam ketahanan tubuh terhadap infeksi. Respon imun seluler merupakan hasil dari aktivasi makrofag dengan meningkatnya kemampuan dalam menekan multiplikasi atau menghancurkan bakteri. *Mycobacterium leprae* masuk ke dalam tubuh dan berhasil melewati sistem pertahanan lapis pertama yang akan memfagosit untuk selanjutnya dihancurkan oleh sel tersebut, kemudian ikut bersama monosit dalam aliran darah. Pada beberapa keadaan, kuman tidak terbunuh bahkan ikut bersama dalam aliran darah. Keadaan ini disebut *Trojan horse phenomena*, yaitu kuman ikut menumpang dan berkembang dalam salah satu sel tubuh tanpa dideteksi oleh sistem imunitas yang ada. Suatu saat monosit tersebut akan mati dan pecah sehingga kuman menyebar dan akan mencapai sel Schwann di perinerium saraf tepi yang merupakan predileksi tempat hidupnya.

Mycobacterium leprae adalah kuman yang tahan terhadap lisosim dan kuman tersebut dapat berkembang biak di dalam sel Schwann. Sel ini tidak dapat mengekspresikan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II sehingga sel Schwann yang terinfeksi tidak bisa berkomunikasi dengan sel limfosit T, akibatnya kuman di dalam sel Schwann tidak bisa terdeteksi oleh sistem imun. Bila sel Schwann mati dan pecah maka *Mycobacterium leprae* akan keluar dan menyebar seluruhnya ditangkap kembali oleh sel-sel fagosit lain termasuk sel Schwann. Respon imun seluler

akan bekerja bila kumanditangkap oleh sel fagosit yang profesional khususnya makrofag. Setelah dicerna dan disajikan ke MHC kelas II maka sel Th/CD_{4+} akan mengenal dan selanjutnya dimulailah rangkaian imunitas seluler.

3.3.1 Respon imun adaptif

Setelah *Mycobacterium leprae* yang masuk dikenal oleh sistem imun tubuh, maka dimulailah proses imunitas yang spesifik. Oleh karena *Mycobacterium leprae* adalah kuman yang obligat intracellulair, maka penghancuran kuman yang efektif adalah melalui respon imun seluler. Pada individu yang sehat rangkaian respon ini akan segera berlangsung dengan hasil akhir penghancuran *Mycobacterium leprae* dalam makrofag maupun penghancuran sel target oleh sel T sitotoksik. Makrofag yang telah menangkap dan menyajikan antigen akan mengaktifkan sel limfosit CD_{4+} dan CD_{8+} , menghasilkan proliferasi dan diferensiasi menjadi beberapa jenis sel limfosit yang aktif. Terbentuknya beberapa jenis sel limfosit T sitotoksik dan limfosit CD_{4+} yang memproduksi sitokin memperkuat penghancuran kuman dalam makrofag. Respon imun humoral terhadap *Mycobacterium leprae* merupakan aktifitas sel limfosit B yang berada dalam jaringan limfoid dan sirkulasi darah. Rangsangan dari komponen antigen kuman tersebut akan merubah sel limfosit B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi yang akan membantu proses opsonisasi. Tetapi, pada penyakit kusta fungsi respon imun humoral ini tidak efektif malahan justru menyebabkan timbulnya beberapa penyulit karena terbentuknya secara berlebihan. Hal ini tampak pada penderita kusta lepromatous yang mana akibat rangsangan yang cukup lama oleh antigen *Mycobacterium leprae* maka akan ditemukan antibodi dalam jumlah yang berlebihan dalam sirkulasi darah penderita. Selain antibodi yang spesifik maupun non spesifik, juga ditemukan auto antibodi serta peningkatan komplemen. Keadaan ini dianggap

penyebab terjadinya reaksi *Erythema Nodosum Leprosum* (ENL). Terjadinya produksi yang berlebihan dari antibodi ini diduga akibat lumpuhnya sistem imunitas seluler, sehingga kontrol terhadap sel limfosit menjadi hilang dan akibatnya sel B terus memproduksi antibodi.

3.3.2 Gambaran Imunologi Kusta

Untuk menghadapi rangsangan dari luar tubuh dikenal 2 macam tingkatan sistem kekebalan tubuh yaitu *innate immunity* (kekebalan alamiah), dan *adaptive/acquired immunity* (kekebalan yang didapat). Perbedaan utama keduanya adalah mengenai spesifitas dan *immunologic memory*. Adanya efek imunologis pada kusta yang bersifat spesifik menunjukkan bahwa gangguan yang terjadi adalah pada tingkat *adaptive/acquired immunity* dan bukan pada tingkat *innate immunity*. Dengan demikian gangguan dapat terjadi pada tingkat sel penyaji antigen, limfosit T dan B, atau proses pembentukan limfosit atau antibodi. Proses imunitas yang spesifik mulai bekerja setelah kuman yang masuk dikenal oleh sistem imun tubuh. Karena sifat *M. leprae* adalah obligat intraseluler, maka penghancuran yang efektif harus melalui respons imun seluler. Pada individu yang sehat, rangkaian respons imun seluler akan segera berlangsung dengan hasil akhir penghancuran kuman *M. leprae*, baik penghancuran kuman di dalam makrofag maupun penghancuran melalui sel target oleh sel sitotoksik (Tc). Respons imun seluler pada penyakit kusta bertujuan untuk mengeliminasi kuman *M. leprae* yang hidup dan berkembang di dalam sel-sel tubuh. Konsep teori klasik menyebutkan bahwa penghancuran *M. leprae* di dalam makrofag terjadi sebagai hasil kerja sama antara makrofag dan limfosit-T. Dari bagan di atas dapat dijelaskan kejadian awal setelah terinfeksi oleh *M. leprae* meliputi oleh berbagai kemungkinan yang belum pasti, karena dipengaruhi oleh kesenjangan pengaruh pada waktu masuk, dosis infeksi di sana tidak tampak lesi seperti tanda

suatu infeksi. Ini adalah tahapan subklinis yang mana bias mungkin sebuah tahapan subklinis dalam gerakan berikutnya menuju klinik (menjadi kusta MB ataupun PB), atau tahapan subklinis yang mana bisa berhenti tanpa gejala klinik (sembuh dengan sendirinya). Variasi penelitian menunjukkan bahwa grup terakhir merupakan mayoritas dari individu. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa perbaikan keadaan ekonomi, *hygiene* dan gizi semuanya mempunyai kontribusi untuk mengubah proporsi individu yang akan berkembang menjadi manifest. Fakta perubahan reaksi imun pada individu yang terpapar oleh *M.leprae* tapi tanpa tanda klinis dari infeksi, pertama kali ditemukan oleh Godal dan kawan kawan dengan *limfocyt transformation test* (LTT). Pada kusta Tuberkulosis, produksi immunoglobulin (IgG, IgA, dan IgM) biasanya agak meningkat, sedangkan pada Kusta Lepramatous meningkat secara bermakna. Terdapat peningkatan yang sesuai dari antibodi yang beredar terhadap antigen mikobakten. Keadaan ini dapat mendorong terjadinya reaksi hipersensitifitas.

3.4 Imunodiagnostik Penyakit Kusta

Pemeriksaan serologik kusta di dasarkan atas terbentuknya antibodi pada tubuh seseorang yang terinfeksi *M.leprae*. Jenis antibodi yang terbentuk bermacam-macam karena terdapat berbagai jenis antigen, misalnya antigen golongan lipopolisakarida yang berasal dari kapsel kuman, antigen protein yang berasal dari inti sel dan lain-lain. Antibodi yang bersifat spesifik dan non spesifik. Antibodi yang bersifat spesifik untuk *M. leprae*, antara lain: antibodi anti *phenolic glykolipid-I* (PGL-I) dan antibodi anti protein IRD, 35kD. Sedangkan antibodi yang tidak spesifik, antara lain antibodi anti lipoarabinomanan (LAM), yang juga dihasilkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Pemeriksaan serologik kusta kini banyak dilakukan karena cukup banyak manfaatnya, khususnya dalam segi soroepidemiologi kusta di daerah endemik. Selain itu pemeriksaan

ini dapat membantu diagnosis kusta pada keadaan yang meragukan, karena tanda-tanda klinik dan bakteriologik tidak jelas. Karena yang diperiksa adalah antibodi spesifik terhadap basil kusta, maka bila ditemukan antibodi spesifik terhadap basil kusta, maka bila ditemukan antibodi dalam titer yang cukup tinggi pada seseorang, patutlah dicurigai orang tersebut telah terinfeksi oleh *M. leprae* pada kusta subklinik. Seseorang tampak sehat tanpa adanya penyakit kusta, namun di dalam darahnya ditemukan antibodi spesifik terhadap basil kusta dalam kadar yang cukup tinggi. Pemeriksaan serologi kusta terbatas penggunaannya hanya pada spektrum lepromatosa/multibasilar karena respons imun humoral banyak berperan. Pada pectin tuberkulosis/ pausibasilar pemeriksaan serologik sering negatif karena respon imun seluler lebih menonjol dan hanya sedikit antibodi yang terbentuk. Tingginya titer antibodi ini berkaitan erat dengan indeks bakteriologik dan titernya akan menurun mengikuti pengobatan anti kusta yang diberikan. Penurunan titer antibodi mengikuti penurunan indeks bakteriologik sehingga hal ini dapat dipakai untuk evaluasi basil pengobatan. Selain dapat dipakai untuk evaluasi hasil pengobatan, juga dapat dipakai untuk mendeteksi adanya sekambuhan (*relaps*), yaitu bila didapatkan kenaikan titer antibodi dibandingkan pemeriksaan sebelumnya, meskipun pengobatan telah dinyatakan selesai. Beberapa jenis pemeriksaan serologik kusta yang banyak dipakai, antara lain:

3.4.1 Pemeriksaan MLPA (*Mycobacterum leprae particle agglutination*)

Teknik ini dikembangkan oleh Izumi dan kawan-kawan, dengan dasar reaksi antigen-antibodi yang akan menyebabkan pengendapan (aglutinasi) partikel yang terikat akibat reaksi tersebut. Saat ini telah tersedia di pasaran Kit MLPA yang diproduksi oleh Fuji Rebio Co, dan bisa digunakan untuk pemeriksaan di lapangan. Karena mudah dilaksanakan dan cepat diketahui hasilnya (hanya

diperlukan waktu sekitar 2 jam), teknik ini banyak dipakai untuk skrining mencari kasus kusta subklinis di daerah endemic kusta. Antigen yang digunakan adalah antigen polisakarida sintetik yang sesuai dengan *phenolic glycolipid* -I (PGL-I) suatu antigen spesifik dari dinding kapsul *M.leprae*. antigen ini akan berikatan dengan antibodi anti PGL-I kelas IgM di dalam serum pasien kusta. Hasil positif bila terjadi aglutinasi pada sumur ke-3 (pengenceran 1/32). Pemeriksaan ini bisa bersifat kualitatif saja (hasil positif negatif), tetapi dapat dilanjutkan dengan pemeriksaan semikuantitatif untuk melihat tingginya kadar antibodi IgM PGL-I. Hasil pemeriksaan semi-kuantitatif dinyatakan dalam liter 1:32, 1:64, 1:128 dan seterusnya, yang menunjukkan derajat pengenceran serum. Semakin besar pengenceran berarti semakin tinggi kadar antibodi tersebut dalam darah. Uji MLPA telah terbukti setara dengan uji ELISA yang sifatnya lebih sensitif sehingga uji ini diakui sebagai uji lapangan yang cukup baik. Pada pasien kusta yang belum diobati, tipe pausibasilar (PB) sering memberikan hasil negatif atau positif lemah (1:32), sedangkan pada tipe multibasilar hasilnya positif kuat (>1:1024). Bila mengikuti klasifikasi Ridley-Jopling, tipe TT dan BT sering memberikan hasil negatif, sedangkan tipe BB, BL, dan LL memberikan hasil mulai dari positif lemah, sedang sampai positif kuat.

3.4.2 Pemeriksaan ELISA (*Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*)

Uji ini merupakan uji laboratoris yang memerlukan peralatan khusus serta keterampilan tinggi, sehingga dalam penyakit kusta hanya dilakukan untuk keperluan khusus misalnya untuk penelitian atau kasus tertentu. Keuntungan uji ELISA ini ialah sangat sensitif, sehingga dapat mendeteksi antibodi dalam jumlah yang sangat sedikit. Berbagai antigen dapat digunakan sehingga bermacam-macam antibodi dapat diukur dengan pemeriksa ini, begitu pula

dapat ditentukan kelas antibodi (IgG, IgM, IgA dII) yang ingin diperiksa. Di pasaran tersedia berbagai Kit untuk pemeriksaan IgM total, interferon gama dan lain-lain. Prinsip uji ELISA adalah mengukur banyaknya ikatan antigen-antibodi yang terbentuk dengan memberi label pada ikatan tersebut. Ikatan antigen antibodi yang telah diberi label (biasanya berupa enzim), dapat diukur dengan alat spektrofotometer menggunakan panjang gelombang tertentu. Umumnya uji ini menggunakan plat mikro (micro ELISA) yang memiliki sumur-sumur untuk tempat terjadinya reaksi. Yang dimasukkan pertama biasanya antigen yang telah diketahui, selanjutnya sampel serum dengan antibodi tertentu yang ingin diperiksa dan terakhir dimasukkan zat untuk melabel ikatan antigen-antibodi ini. Setelah terjadi perubahan warna, selanjutnya dilakukan pengukuran kepadatan optic atau *Optical Density* (OD) dengan spektrofotometer. Hasil dinyatakan dalam satuan OD atau unit/ml, bergantung pada Kit yang dipakai. Dalam bidang penyakit kusta, uji ELISA dapat dipakai untuk mengukur kadar antibodi terhadap basil kusta, misalnya antibodi PGL-I, antibodi anti protein 35kD dan lain-lain. Kelas antibodi yang diperiksa juga ditentukan, misalnya IgM anti PGL-I IgG anti PGL-I, dan sebagainya. Untuk antibodi anti PGL-I biasanya IgM lebih dominan bila dibandingkan IgG, sedangkan antibodi terhadap protein biasanya didominasi oleh IgG. Untuk menentukan nilai ambang (*cut morf*) dari hasil uji ELISA ini, biasanya ditentukan setelah mengetahui nilai setara individu yang sakit kusta. Namun untuk daerah endemik kusta, banyak orang sehat juga menunjukkan titer antibodi anti PGL-I yang cukup tinggi, sehingga penentuan nilai ambang ini bervariasi dari satu dan lain tempat. Di daerah Jawa Timur nilai ambang untuk antibodi IgM anti PGL-I telah diketahui sekitar 600 u/ml atau setara dengan titer 1/128 pada uji MLPA. Bila uji ELISA ini digunakan untuk memantau hasil pengobatan penyakit kusta, penurunan antibodi spesifik bias terlihat jelas dengan memeriksa,

serum penderita secara berkala setiap 3 bulan sekali. Kenaikan titer antibodi PGL-I akan terlihat pada kasus sekambuhan, sedangkan titer yang tinggi pada orang yang tampaknya sehat perlu diwaspadai adanya kusta subklinis.

3.4.3 Pemeriksaan *Mycobacterium leprae* dipstick (ML dipstick)

Pemeriksaan serologik dengan menggunakan *Mycobacterium leprae* dipstick (ML dipstick) ditujukan untuk mendeteksi antibodi IgM yang spesifik terhadap *M.leprae*. Dipstick tersebut terdiri atas 2 pita horizontal, satu pita yang terletak di bawah mengandung epitop imunodominan *M.leprae* yang spesifik yaitu PGL-I dan pita kedua berada di atas sebagai kontrol. Pengukuran ini berdasarkan ikatan antara antibodi IgM *M.leprae* spesifik terhadap antigen *M.leprae*. Ikatan antibodi IgM dapat dideteksi secara spesifik dengan suatu *anti human dyeconjugate*. Dipstick yang mengandung antigen dicelupkan dalam serum yang dicecerkan 1:50 dan dicampur dengan reagens, kemudian diinkubasi selama 3 jam. Pewarnaan dan pita antigen menunjukkan adanya antibodi IgM spesifik terhadap *M.leprae*. Pita kontrol digunakan untuk melihat integritas reagens. Pada penelitian yang dilakukan Sekula dkk., didapatkan hasil bahwa kombinasi pemeriksaan antara penghitungan jumlah lesi dengan ML dipstick, ternyata nilai sensitivitasnya naik dari 85% menjadi 94%. Oleh karena itu, pemeriksaan serologis sebaiknya dikonfirmasi dengan penunjang diagnosa lain. Pemeriksaan serologi ini dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis terutama untuk kusta stadium awal, pemantauan hasil pengobatan, dan deteksi adanya *relaps* serta membedakannya dengan reaksi reversal. Hal yang penting diperhatikan pada pemeriksaan serologik ialah bahwa pada pasien kusta hasilnya dapat seronegatif dan sebaliknya pada individu sehat dapat seropositif. Hasil seropositif pada individu sehat terjadi bila didapati kontak serumah dengan pasien kusta, sehingga cara ini digunakan pula untuk deteksi kusta stadium

subklinis.

3.4.4 Fluorescent labelled antibody absorption (Uji FLA-ABS)

Uji FLA-ABS merupakan uji imunofluoresens tidak langsung menggunakan *antibodi anti-human gamma globulin fluorecent* dan serum pasien setelah adsorpsi dengan kardiolipin, lecithin, BCG, dan *Mycobacterium vaccae*. Uji FLA-ABS dapat digunakan untuk mendeteksi penyakit kusta stadium subklinis dengan sensitivitas 81.8%.

3.4.5 Radioimmunoassay (Uji RIA)

Uji RIA merupakan pemeriksaan yang sangat sensitif dan dapat digunakan untuk menilai secara kuantitas berbagai substansi yang dapat ditandai dengan isotop radioaktif. Pada uji ini digunakan antigen yang merupakan salah satu komponen antigenik *M. leprae*, serta dapat bereaksi silang dengan antigen BCG. Percobaan pada armadilo menunjukkan bahwa titer antibodi berkorelasi dengan gejala klinis penyakit kusta. Spesifisitas uji ini rendah sehingga penggunaannya sangat terbatas.

3.4.6 Uji inhibisi ELISA atau uji inhibisi monoklonal (serum antibody competition test/SACT atau monoclonal antibody competition test /MACT)

Uji ini merupakan uji inhibisi kompetitif oleh antibodi serum manusia yang berikatan dengan antibodi monoklonal terhadap *M. leprae* yang ditandai dengan enzim. Antigen yang dapat dikenali pada uji ini adalah protein 36kD. Antigen ini merupakan bagian dari membran sel *M. leprae* dan diduga sebagai antigen yang imunodominan. Beberapa pemeriksaan serologis dan kemoprofilaksis mengidentifikasi epitop spesifik antigen 35kD *M. leprae*. Penilaian sensitivitas dan spesifisitasnya pada kasus

kusta stadium subklinis belum dilaporkan. Pemeriksaan ini dapat mendeteksi hampir 100% pasien kusta tipe borderline lepromatous. Namun, lebih dari 50% pasien kusta tipe tuberkuloid/borderline tuberculoid menunjukkan hasil negatif.

3.4.7 *Mycobacterium leprae* lateral flow assay (Uji ML Flow)

Uji ML Flow adalah pemeriksaan yang mudah untuk mendeteksi antibodi IgM anti PGL-1 *M.leprae*. Uji ML flow merupakan pemeriksaan imunokromatografi yang terdiri atas strip nitroselulosa. Pada salah satu ujung strip terdapat bagian yang terbuat dari serat wool mengandung antibodi anti human IgM yang dilabel dengan koloid emas kering, dan di sisi lainnya terdiri atas bagian yang berfungsi untuk absorpsi. Bahan yang digunakan sebagai sampel adalah darah atau serum. Apabila ditemukan antibodi IgM spesifik, maka akan terjadi ikatan dan tampak garis kemerahan. Penilaian sensitivitas dan spesifisitas uji ini pada penyakit kusta stadium subklinis belum pernah dilaporkan. Namun, terdapat laporan bahwa bila uji ML flow digunakan untuk deteksi dini kusta tipe MB disertai gejala klinis, pemeriksaan BTA, serta histopatologi, menunjukkan sensitivitas 97.4%.

3.5 Penutup

- 1) Kusta adalah penyakit yang menahun dan disebabkan oleh kuman *Micobakterium leprae*.
- 2) Kusta dibagi dalam 2 bentuk, yaitu :
 - a) Kusta bentuk kering (tipe tuberkuloid)
 - b) Kusta bentuk basah (tipe lepramatosa)
- 3) *Mycobacterium leprae* merupakan basil tahan asam (BTA) bersifat obligat intraseluler, menyerang saraf perifer, kulit dan organ lain seperti mukosa saluran napas bagian atas, hati,

sumsum tulang kecuali susunan saraf pusat.

- 4) *Mycobacterium leprae* masuk kedalam tubuh manusia, jika orang tersebut memiliki respon imunitas yang tinggi maka kusta akan lebih mengarah pada lepromatosa.
- 5) Manifestasi klinik dari penderita kusta adalah adanya lesi kulit yang khas dan kehilangan sensibilitas.
- 6) Immunodiagnostik sangat diperlukan dalam mendiagnosis secara dini terhadap *M.leprae*

DAFTAR PUSTAKA

Agusni, I. & Menaldi, S. L. (2003) Beberapa prosedur diagnostik baru pada penyakit kusta. In Sjamsoe-Daili, E., Menaldi, S. L., Ismiarto, S. P. & Nilasari, H. (Eds.) Kusta. Jakarta, Balai Penerbit FK-UI

Amiruddin, MD; Hakim, Z; Darwis, ER. Diagnosis Penyakit Kusta. Dalam: Djuanda, A, Menaldi, SL; Wisesa, TW; Ashadi, LN (eds). *Kusta Diagnostik dan Penatalaksanaan*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 1994:1-15

Abbas, AK, Lichtman, AH; Pober, JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company. 2000:348-351

Alcasis, A; Mira, M; Casanova, JL; Schurr, E. and Abel, L. Genetic Dissection of Immunity in Leprosy. *Curren Opinion Immunology*. 2005. 17: 44-48.

Dharmendra, Detection of subclinical in leprosy. *Lepr. India*. 1999. 54: 192-207.

Hardyanto. Infeksi Subklinik *Mycobacterium leprae* dan Hubungannya dengan Faktor-Faktor Risiko di Indonesia: kajian Seroepidemiologik dan Immunogenetik. *Disertasi*.

Universitas Gajah Mada Yogyakarta. 1996.

Harboe, M. Overview of Host-Parasite Relation. In: Hastings, RC. *Leprosy*. Edinburg: Churchill Livingstone. 1994: 87-112.

Kandouw, JM dan Amiruddin MD. Phenolic Glycolipid. *Jurnal Medika Nusantara*. 1998. 19 (2): 194-199.

Pessolani MV; Ramjaneh FD; De Melo MM; De Melo FS dan Sarno EN. Serological Response of Patients with Leprosy to a 28 to 30 kilodalton Protein Doublet from Early Cultures of *Mycobacterium bovis* BCG. *J. Clin. Microbiol.* 1989.27:2184-2189.

SL; Ismiarto, SP dan Nilasari, H (eds). *Kusta*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2003: 59-65.

Scollard DM; Adam LB; Gillis TP; Krahenbuhl JL; Truman RW and Williams DL. The Continuing Challenges of Leprosy. *Cin. Microbiol. Rev.* . 2006. 19: 338-381.

Sangupta, U. Immunopathology of Leprosy: Current Status. *Indian Journal of Leprosy*. 2000. 72 (3): 381-387.

Y Siskawati, dkk. Kusta subklinis: Beberapa pemeriksaan serologis dan kemoprofilaksis. *MDVI* 2014; 41/2:79 - 84

BAB 4 | IMUNODIAGNOSTIK PADA LEPTOSPOROSIS

4.1 Pendahuluan

Musim hujan yang terjadi dengan intensitas yang tinggi menyebabkan terjadinya banjir di beberapa daerah. Terjadinya banjir memunculkan berbagai masalah kesehatan, selain diare dan gatal – gatal penyakit yang banyak terjadi ketika terjadi banjir yaitu leptospirosis. Leptospirosis disebabkan oleh air kencing tikus yang didalamnya mengandung bakteri *Leptospira aerob* (termasuk golongan *spirochaeta*). Penyakit ini banyak terjadi ketika musim hujan tiba terutama pada lingkungan kurang bersih dan banjir karena bakteri tersebut dapat menyebar melalui banjir. Leptospirosis pada umumnya ditemukan pada daerah dengan iklim tropis dan memiliki kelembaban tinggi, salah satunya ialah di Indonesia. Penyakit ini dimulai dengan gejala demam, nyeri otot, batuk, muntah, hingga menyebabkan kerusakan ginjal, meningitis, dan terjadinya komplikasi pada saluran pernafasan. Untuk mendiagnosis penyakit Leptospirosis dapat dilakukan dengan *Haemagglutination Test*, *Counter Immun Electrophoresis*, ELISA, dan yang dinilai paling umum digunakan serta dinilai paling sensitif ialah diagnosis Leptospirosis secara serologi dengan *Microscopic Agglutination Test (MAT)*.

4.2 Gambaran Umum Penyakit Leptospirosis

4.2.1 Pengertian Leptospirosis

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang dapat

menyerang manusia maupun hewan (zoonosis). Penyakit ini disebabkan oleh *Leptospira* bakteri aerob (termasuk golongan *spirochaeta*) yang berbentuk spiral dan bergerak aktif. Leptospirosis merupakan zoonosis yang paling tersebar luas di dunia. Penyakit ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1886 oleh Adolf Weil dengan gejala panas tinggi disertai beberapa gejala saraf serta pembesaran hati dan limpa. Penyakit dengan gejala tersebut diatas oleh Goldsmith (1887) disebut sebagai "*Weil's Disease*". Pada tahun 1915 Inada berhasil membuktikan bahwa *Weil's Disease* disebabkan oleh bakteri *Leptospira icterohemorrhagiae*. Sejak itu beberapa jenis leptospira dapat diisolasi dengan baik dari manusia maupun hewan.

Spesies *Leptospira interrogans* sendiri terdiri dari 23 serogroups dan 240 serotypes (serovars). Yang paling sering menimbulkan penyakit berat dan fatal adalah serotype *icterohemorrhagiae*. *Leptospira* bisa terdapat pada binatang peliharaan seperti anjing, sapi, babi, kerbau, maupun binatang liar seperti tikus, musang, tupai dll. Di dalam tubuh hewan-hewan ini (juga berlaku sebagai penjamu reservoir) leptospira hidup di ginjal dan air kemihnya. Manusia bisa terinfeksi bakteri *leptospira* karena kontak dengan air atau tanah yang terkontaminasi oleh urin atau cairan tubuh lainnya dari hewan yang terinfeksi bakteri *leptospira*. *Leptospira* masuk lewat kulit yang luka atau membrane mukosa.

4.2.2 Penyebab Penyakit

Bakteri *leptospira* sebagai penyebab leptospirosis berbentuk spiral termasuk dalam ordo *Spirochaetales* dalam famili *Leptospiraceae*, genus *Leptospira*. Lebih dari 170 serotypes dari leptospira yang patogen telah diidentifikasi dan hampir setengahnya terdapat di Indonesia. Bentuk spiral dengan pilinan yang rapat dan ujung-ujungnya yang bengkok seperti kait dari bakteri *leptospira* menyebabkan gerakan *leptospira* sangat aktif, baik gerakan berputar

sepanjang sumbuanya, maju mundur, maupun melengkung karena ukurannya yang sangat kecil. Bentuk yang berpilin seperti spiral, tipis, lentur dengan panjang 10-20 mikron dan tebal 0,1 mikron serta memiliki 2 lapis membran. *Leptospira* hanya dapat dilihat dengan mikroskop medan gelap atau mikroskop phase kontras. *Leptospira* peka terhadap asam dan dapat hidup dalam air tawar selama \pm 1 bulan, tetapi dalam air laut, air selokan dan air kemih yang tidak diencerkan akan cepat mati.

4.2.3 Reservoir atau Vektor

Hewan - hewan yang menjadi sumber penularan leptospirosis ialah *rodent* (tikus), babi, sapi, kambing, domba, kuda, anjing, kucing, serangga, burung, insektivora (landak, kelelawar, tupai), sedangkan rubah dapat sebagai karrier dari leptospira. Dilaporkan pada anjing bahwa *case fatality rate*-nya antara 10-20%. Ada beberapa serovar (serotipe) leptospira adalah sebagai berikut : *L. ichterohaemorrhagiae*, *L. bulgarica*, *L. paidjan*, *L. pyrogenes*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. grippotyphosa*, *L. bataviae*, *L. kremastos*, *L. mwogolo*.

4.2.4 Masa inkubasi dan cara penularan

Masa inkubasi dari leptospirosis 4 – 9 hari, rata -rata 10 hari. Manusia terinfeksi *leptospira* melalui kontak dengan air, tanah (lumpur), tanaman yang telah dikotori oleh air seni dari hewan - hewan penderita leptospirosis. Bakteri *leptospira* masuk kedalam tubuh melalui selaput lendir (mukosa) mata, hidung atau kulit yang lecet dan kadang-kadang melalui saluran cerna dari makanan yang terkontaminasi oleh urin tikus yang terinfeksi leptospira. Masuknya bakteri *leptospira* pada *hospes* secara kualitatif berkembang bersamaan dengan proses infeksi pada semua serovar leptospira. Namun, masuknya bakteri secara kuantitatif berbeda bergantung:

agent, induk semang, dan lingkungan. Melalui cara lain dapat saja terjadi, yaitu melalui permukaan mukosa misalnya melalui luka abrasi, mukosa (*cavitas buccae / buccal cavity*), saluran hidung atau konjungtiva. Bakteri *leptospira* akan masuk dalam peredaran darah yang ditandai dengan adanya demam dan berkembang pada target organ serta akan menunjukkan gejala infeksi pada organ tersebut. Gambaran klinik akan bervariasi bergantung dari kondisi manusianya, spesies hewan dan umurnya. Dapat dikelompokkan bahwa penularan leptospirosis dapat secara langsung dan tidak langsung, sebagai berikut :

1) Penularan Langsung

- a) Melalui darah, urin atau cairan tubuh lain yang mengandung bakteri *leptospira* masuk ke dalam tubuh pejamu.
- b) Dari hewan ke manusia merupakan penyakit akibat pekerjaan, terjadi pada orang yang merawat hewan atau menangani tubuh hewan misalnya pekerja potong hewan, atau seseorang yang tertular dari hewan peliharaan.
- c) Dari manusia ke manusia meskipun jarang, dapat terjadi melalui hubungan seksual pada masa konvalesen atau dari ibu penderita leptospirosis ke janin melalui sawar plasenta dan air susu ibu.

2) Penularan Tidak Langsung

Penularan tidak langsung terjadi melalui genangan air, sungai, danau, selokan air dan lumpur yang tercemar urin hewan. Bakteri ini beberapa hari akan tinggal pada organ seperti hati, limfa, ginjal dengan ditandai perubahan patologis. Mekanisme sistem imunitas tubuh akan aktif apabila bakteri menjangar ke jaringan hati dan ginjal serta berada di tubular ginjal.

4.2.5 Patogenesis

Patogenesis leptospirosis belum dimengerti sepenuhnya. Bakteri *leptospira* masuk ke dalam tubuh pejamu melalui luka iris/ luka abrasi pada kulit, kunjungtiva atau mukosa utuh yang melapisi mulut, faring, oesofagus, bronkus, alveolus dan dapat masuk melalui inhalasi *droplet* infeksius dan minum air yang terkontaminasi. Meski jarang, pernah dilaporkan penetrasi bakteri *leptospira* melalui kulit utuh yang lama terendam air, saat banjir. Bakteri *leptospira* yang tidak virulen gagal bermultiplikasi dan dimusnahkan oleh sistem kekebalan dari aliran darah setelah 1 atau 2 hari infeksi. Organisme virulen mengalami multiplikasi di darah dan jaringan, dan bakteri *leptospira* dapat diisolasi dari darah dan cairan serebrospinal pada hari ke-4 sampai 10 perjalanan penyakit. Bakteri *leptospira* merusak dinding pembuluh darah kecil, sehingga menimbulkan vaskulitis disertai kebocoran dan ekstrasvasi sel. Patogenitas bakteri yang penting adalah perlekatanannya pada permukaan sel dan toksisitas selular. *Lipopolysaccharide* (LPS) pada bakteri *leptospira* mempunyai aktivitas endotoksin yang berbeda dengan endotoksin bakteri gram negatif, dan aktivitas lainnya, yaitu stimulasi perlekatan netrofil pada sel endotel dan trombosit sehingga terjadi agregasi trombosit disertai trombositopenia. Bakteri *leptospira* mempunyai fosfolipase yaitu suatu hemolisis yang mengakibatkan lisisnya eritrosit dan membran sel lain yang mengandung fosfolipid. Beberapa strain serovar *Pomona* dan *Copenhageni* mengeluarkan protein sitotosin. In vivo, toksin ini mengakibatkan perubahan histopatologik berupa infiltrasi makrofag dan sel polimorfonuklear. Organ utama yang terinfeksi bakterileptospira adalah ginjal dan hati. Di dalam ginjal bakteri *leptospira* bermigrasi ke interstisium, tubulus ginjal dan lumen tubulus. Pada leptospirosis berat, vaskulitis akan menghambat sirkulasi mikro dan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga menyebabkan kebocoran cairan dan hipovolemia. Hipovolemia akibat dehidrasi dan perubahan permeabilitas kapiler

salah satu penyebab gagal ginjal. Ikterik disebabkan oleh kerusakan sel-sel hati yang ringan, pelepasan bilirubin dari jaringan yang mengalami hemolisis intravaskular, kolestasis intrahepatik sampai berkurangnya sekresi bilirubin. *Conjunctival suffusion* khususnya perikorneal terjadi karena dilatasi pembuluh darah, kelainan ini sering dijumpai dan patognomik pada stadium dini. Komplikasi lain berupa uveitis, iritis, iridoksiklitis yang sering disertai kekeruhan vitreus dan lentikular. Keberadaan bakteri *leptospira* di *aqueous humor* kadang menimbulkan uveitis kronik berulang. Bakteri *leptospira* difagosit oleh sel-sel retikuloendotelial serta mekanisme pertahanan tubuh. Jumlah organisme semakin berkurang dengan meningkatnya kadar antibodi spesifik dalam darah. Bakteri *leptospira* akan dieliminasi dari semua organ kecuali mata, tubulus proksimal ginjal dan mungkin otak, dimana bakteri *leptospira* dapat menetap beberapa minggu atau bulan.

4.3 Imunodiagnostik pada Leptospirosis

4.3.1 *Microscopic Agglutination Test (MAT)*

Walaupun sudah dikembangkan berbagai teknik pemeriksaan untuk diagnosis penyakit leptospirosis, namun tes serologis yang menjadi pilihan utama dalam mendiagnosis penyakit leptospirosis di seluruh dunia adalah MAT. Dulu, tes ini disebut *agglutination-lysis test*, karena dalam tes ini terjadi lisis bola-bola atau lisis globuler kotoran-kotoran yang berasal dari sel bakteri bila dicampur dengan antiserum yang mempunyai titer tinggi. Tes ini pertama kali diciptakan oleh Martin dan Pettit pada tahun 1918, selanjutnya dikembangkan oleh para ahli yang lain. Seperti sudah dijelaskan sebelumnya, prinsip tes ini adalah, serum penderita direaksikan dengan suspensi antigen serovar *leptospira* hidup. Setelah diinkubasi, campuran antigen-serum diamati dengan mikroskop untuk melihat adanya aglutinasi, kemudian titer antibodi ditentukan berdasarkan

pengenceran terakhir yang masih menunjukkan adanya aglutinasi.

4.3.1.1 Antigen yang Dipakai

Antigen yang digunakan adalah semua jenis serovar *leptospira* yang masih hidup. Bakteri yang digunakan untuk antigen juga dapat dalam keadaan mati. Untuk memenuhi kebutuhan antigen bakteri hidup maupun mati, maka perlu dilakukan pembiakan semua jenis serovar *leptospira*. Antibodi terhadap serovar yang menginfeksi akan timbul dalam tubuh penderita leptospirosis. Disamping itu, sering ditemukan antibodi yang bereaksi silang dengan serovar lain, terutama pada stadium dini. Pada minggu pertama sakit, reaksi silang heterologous dengan serovar lain mungkin lebih kuat dibandingkan dengan reaksi homologous oleh serovar yang menginfeksi. Kadang-kadang reaksi heterologous dapat positif, sementara reaksi homologous negatif. Fenomena ini disebut reaksi paradoxical. Titer antibodi yang bereaksi silang cenderung menurun lebih cepat setelah berbulan-bulan, sementara antibodi spesifik serogrup dan serovar bertahan dalam waktu lama sampai bertahun-tahun. Karakteristik hasil pemeriksaan yang sering antara lain :

- 1) Antibodi sering hanya bereaksi dengan antigen serovar atau serogrup tertentu;
- 2) Jenis serovar yang beredar sangat banyak, dan hanya beberapa serovar menyebabkan penyakit pada daerah tertentu.
- 3) Prevalensi berbagai serovar pada daerah tertentu mungkin berubah sebagai akibat masuknya jamur baru, adanya perubahan sistem pertanian, dsb.
- 4) Masuknya jenis serovar baru ke dalam suatu daerah.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka panel *leptospira* hidup harus terdiri dari berbagai serovar, yang harus dipelihara di dalam laboratorium untuk pemeriksaan MAT. Panel antigen

harus mengandung serovar yang beredar di daerah pemeriksaan. Jika panel tidak lengkap, maka antibody terhadap serovar yang tidak ada pada panel tidak akan dapat dideteksi dan serodiagnosis akan memberikan hasil negatif palsu sehingga hasil yang diperoleh tidak akurat. Jika serovar yang beredar di daerah pemeriksaan tidak diketahui atau berubah, maka panel harus mengandung serovar yang dapat mewakili seluruh serogrup. Hasil pemeriksaan MAT sering memperlihatkan titer antibody terhadap isolat lokal lebih tinggi dibandingkan titer antibody terhadap galur serovar stok laboratorium, walaupun jenis serogrupnya sama. Tujuan penggunaan banyak jenis serovar sebagai antigen pada pemeriksaan MAT adalah agar dapat mendeteksi infeksi yang disebabkan oleh jenis serovar yang tidak umum ditemukan pada suatu daerah, atau jenis serovar yang sebelumnya tidak pernah terdeteksi pada suatu daerah. Dengan demikian, galur *Leptospira* yang dipilih harus terdiri dari galur-galur yang mewakili semua serogrup yang penting atau dipilih berdasarkan: (1) serovar yang paling banyak menginfeksi pada daerah pemeriksaan tertentu, dan (2) serovar atau serogrup yang sudah diketahui berdasarkan data epidemiologi yang sudah dimiliki. Galur lokal sering menunjukkan sensitifitas tes lebih tinggi jika dibandingkan dengan galur referensi. Galur ini juga dapat dimasukkan sebagai antigen. Jumlah serovar yang dipakai sebagai antigen sebaiknya tidak terbatas pada galur lokal, terutama jika penyebab infeksi diperkirakan oleh serovar yang jarang atau galur penyebab infeksi di daerah tersebut belum diketahui. Berdasarkan alasan ini juga, galur saprofit (*L. biflexa* galur PatocI) harus dimasukkan sebagai antigen, karena dapat bereaksi silang dengan antibody manusia yang dirangsang oleh sejumlah serovar patogen. Juga perlu untuk menambahkan serovar lain yang mewakili serogrup yang belum termasuk dalam panel antigen. Untuk mengatasi kesulitan penggunaan antigen hidup, maka digunakan bakteri mati. Bakteri umumnya dibunuh dengan

formalin. Kelemahan pemeriksaan MAT jika menggunakan antigen mati adalah titer antibodi yang diperoleh biasanya sedikit lebih rendah, dan reaksi silang lebih sering ditemukan. Kualitas aglutinasi yang terjadi pada antigen mati berbeda dengan kualitas aglutinasi pada antigen hidup. Bagi laboratorium yang tidak memiliki tenaga ahli untuk memelihara antigen hidup, maka antigen yang dicampur formalin merupakan alternatif yang cukup baik.

4.3.1.2 Penilaian terhadap Hasil Reaksi MAT

MAT biasanya dibaca dengan mikroskop lapangan gelap. Titik akhir pembacaan adalah pengenceran serum yang tertinggi dengan aglutinasi 50%. Karena untuk mendeteksi aglutinasi leptospira 50% sangat sulit, maka titik akhir ditentukan berdasarkan adanya 50% leptospira bebas yang tidak diaglutinasi kemudian dibandingkan dengan suspensi antigen kontrol. Usaha yang perlu dilakukan adalah mengurangi efek subyektivitas dari variasi pengamat, termasuk yang terjadi di laboratorium. Penilaian terhadap hasil MAT sangat rumit, karena sering terjadi reaksi silang antara berbagai serogrup dan ditemukan titer yang sama terhadap seluruh serovar dari serogrup, terutama terjadi pada sampel fase akut. Ada juga ditemukan reaksi yang berlawanan, dimana titer yang tertinggi ditemukan terhadap serogrup yang tidak menginfeksi. Pada sampel yang diambil pada fase akut, sering terjadi reaksi silang yang sangat luas, sedang sampel yang diambil pada fase konvalesen, spesifisitas serogrup relatif lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena MAT dapat bereaksi dengan antibodi IgM, IgG dan antibodi terhadap beberapa antigen umum yang dimiliki oleh berbagai serovar leptospira. Pemeriksaan MAT juga sangat dipengaruhi oleh adanya antibodi persisten yang disebabkan oleh infeksi leptospira sebelumnya di dalam masyarakat. Di samping itu, penilaian dapat juga dipersulit oleh adanya antibodi terhadap penyakit lain, yang dapat bereaksi silang dengan antigen leptospira seperti misalnya, legionellosis, hepatitis, dan penyakit

autoimun. Untuk memastikan diagnosis, maka diperlukan sepaang sampel serum yaitu sampel serum pada fase akut dan sampel serum pada fase konvalesen. Peningkatan empat kali lipat atau lebih antara titer sampel serum pertama dan kedua dapat dipakai untuk memastikan diagnosis tanpa memperhatikan jarak waktu pengambilan sampel pertama dan kedua. Jarak pengambilan sampel pertama dan kedua sangat tergantung pada munculnya gejala pada penderita. Bila gejala khas untuk leptospirosis sudah muncul maka jarak pengambilan sampel pertama dan kedua antara 3-5 hari sudah cukup untuk mendeteksi peningkatan titer antibodi. Pada keadaan Penyakit yang ditemukan lebih dini sehingga gejala tidak jelas atau jika saat munculnya gejala tidak diketahui dengan pasti, maka jarak pengambilan sampel pertama dan kedua sebaiknya berselang waktu antara 10 - 14 hari. Sangat jarang serokonversi tidak terjadi dalam selang waktu tersebut, sehingga bila perlu, selang waktu dapat diperpanjang. Pemeriksaan serologis dengan metode MAT kurang sensitif, terutama untuk pemeriksaan serum fase akut dini. Disamping itu, penderita dengan leptospirosis yang berat mungkin akan meninggal sebelum terjadinya serokonversi, sehingga pemeriksaan MAT pada penderita ini tidak dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis. Meskipun demikian terjadinya infeksi akut dapat diperkirakan dari pemeriksaan satu sampel dengan melihat adanya titer antibodi yang tinggi, yang dihubungkan dengan gejala penyakit leptospirosis yang muncul, seperti panas tinggi akut, dan gejala leptospirosis yang lebih spesifik, seperti sakit kepala, nyeri otot, dan ikterus. Tingginya titer antibodi tersebut tergantung pada tingkat paparan yang ada di dalam populasi atau seroprevalensi pada populasi. Oleh karena itu, versi *Communicable Diseases Control* (CDC), titer $\geq 1:200$ dapat digunakan sebagai dasar untuk mendiagnosis kasus *probable* dengan gejala klinis yang sesuai. Titer ini hanya dapat digunakan pada populasi dengan paparan leptospirosis yang jarang, sedangkan untuk negara dengan

tingkat paparanyang lebih banyak seperti di negara tropis dengan kelembaban yang tinggi, maka nilai titer ini lebih tinggi. Di daerah dimana leptospirosis endemis, maka kasus *probable* leptospirosis ditentukan darisampel tunggal dengan titer $\geq 1:800$, namun lebih disarankan dengan titer ≥ 1.600 .¹³ Untuk memastikandiagnosis, pemeriksaan MAT satu kali sebaiknya dikombinasi dengan pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi antibodi IgM. Bila ditemukan nilai MAT yang lebih tinggi dari nilai titik akhir (*end point*) titer positif dan hasil ELISA menunjukkan IgM positif, maka penderita sudah dapat dianggap positif menderita leptospirosis. Titer antibodi sesudah infeksi akut mungkin sangat tinggi ($\geq 1:25.600$), sehingga membutuhkan waktu berbulan-bulan sampai bertahun-tahun untuk turun sampai ke tingkat yang rendah. Seringsangat sulit untuk membedakan serogrup yang dominan sampai berbulan-bulan sesudah infeksi, walaupun titer reaksi silang menurun dengan kecepatan yang berbeda. Jika mungkin, untuk mengetahui serogrup yang menginfeksi, maka perlu memeriksa beberapa sampel, setelah fase infeksi akut, yang diambil dengan selang waktu tertentu. Kadang-kadang, serokonversi muncul sangatterlambat sampai berminggu-minggu setelah sembuh, sehingga diperlukan pengamatan serologis lebih lama untuk memastikan diagnosis. Beberapa penderita mempunyai titer antibodi akibat sebelumnya diinfeksi oleh serogrup leptospira yang lain. Biasanya, titer $\geq 1:100$ merupakan bukti terjadinya infeksi pada masa lalu. Dalam kasus ini, diagnosis serologis akan dipersulit oleh respons anamnestic, dimana antibodi yang muncul pertama biasanya ditujukan terhadap serovar yang menginfeksi sebelumnya. Kemudian, antibodi spesifik serovar atau serogrup yang baru menginfeksi dapat diidentifikasi setelah titernya meningkat, mengakibatkan penilaian serologis menjadi lebih rumit. Idealnya, titik potong (*Cut-off point*) dibuat berdasarkan perbandingan antara hasil tes serologis yang diperoleh dari penderita leptospirosis yang mempunyai hasil biakan positif

dengan hasil tesserologis dari kelompok penderita leptospirosis yang didiagnosis berdasarkan hasil tes laboratorium yang lain. Akan tetapi, pendekatan ini tidak selalu dapat dilakukan, karena sangat sulit untuk mengumpulkan kelompok penderita leptospirosis positif yang representatif, sehingga usaha untuk membiakkan leptospira dari sampel klinik tidak selalu berhasil. MAT tidak dapat distandarisasi karena antigen yang digunakan adalah leptospira hidup, sehingga hasil tes sedikit bervariasi dari hari ke hari. Berdasarkan alasan ini juga, agar MAT dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis dengan baik, dibutuhkan sepasang sampel serum yang diambil dengan selang waktu tertentu dan diperiksa secara bersamaan. Agar MAT dapat distandarisasi, maka digunakan antigen leptospira mati yang dicampur dengan formalin. Pemeriksaan sebaiknya dilakukan menggunakan antigen dengan nomor *batch* yang sama. Sayangnya, persediaan antigen ini akan mengalami denaturasi hanya dalam beberapa minggu.

4.3.1.3 Sensitivitas MAT

Sensitivitas MAT pada fase dini penyakit biasanya rendah. Sensitivitas MAT meningkat cukup tinggi bila sampel diambil pada fase berikutnya. Sensitivitas MAT pada pengambilan darah pertama pada fase akut adalah 30% dengan nilai perkiraan positif 88%, sedangkan sensitivitas pemeriksaan ELISA adalah 52% dengan nilai perkiraan positif 76%. Sensitivitas MAT meningkat pada pengambilan darah kedua pada fase konvalesen yaitu 63% dengan nilai perkiraan positif 92%, sedangkan sensitivitas ELISA menjadi 89% dengan nilai perkiraan positif 93%. Bharadwaj et al juga menemukan MAT kurang sensitif untuk mendeteksi antibodi pada fase dini penyakit dibandingkan dengan ELISA. Hal ini disebabkan, ELISA mendeteksi antibodi IgM lebih sensitif daripada MAT. Disamping itu, antibodi agglutinin belum muncul pada fase dini penyakit, dan mulai muncul pada minggu kedua penyakit. Oleh

karena itu, untuk keperluan pengobatan penderita, disarankan menggunakan ELISA untuk mendiagnosis penyakit pada fase permulaan, dan selanjutnya perlu melakukan pemeriksaan MAT. Pada fase akut penyakit mungkin hanya ada sedikit korelasi antara antibodi IgM dan MAT, sehingga memberikan sensitifitas yang lebih rendah pada fase ini. MAT umumnya dapat mendeteksi antibodi IgM maupun IgG secara bersamaan. Pada fase awal, sebagian besar penderita akan memperlihatkan munculnya respons antibodi IgM, kemudian antibody IgG muncul pada fase konvalesen. Pada saat ini sensitifitas MAT baru meningkat. Brandao et al, membandingkan sensitifitas antara slide *agglutination test* (SAT), IgM-ELISA dan MAT. Dari hasil penelitian ini, ternyata MAT kurang sensitif untuk mendeteksi antibodi pada fase dini dibandingkan dengan SAT dan IgM-ELISA. Tes ELISA dan SAT memberikan hasil hamper sama. Akan tetapi, MAT tetap dapat mendeteksi antibodi dengan titer yang cukup tinggi pada serum penderita yang diambil satu tahun setelah sakit, sedangkan SAT dan ELISA sudah menurun.

4.3.1.4 Kekurangan MAT

Pemeriksaan MAT tidak dapat mendeteksi antibodi pada fase dini penyakit karena antibody yang dapat dideteksi oleh MAT muncul terlambat walaupun antibodi yang terutama ikut terlibat dalam aglutinasi leptospira adalah antibodi IgM. Dengan demikian, diagnosis penyakit penderita yang meninggal pada fase akut tidak dapat ditegakkan berdasarkan pemeriksaan MAT. Hal itu terjadi karena antibodi agglutinin belum terbentuk. Pada populasi endemis leptospirosis, tingginya titer hasil satu kali pemeriksaan tidak dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis, sehingga perlu pengambilan sampel dua kali dengan selang waktu tertentu (satu pada fase akut dan satu lagi pada fase penyembuhan). Untuk menilai hasil MAT tunggal diperlukan nilai seroprevalensi *Leptospira* asal daerah tempat pemeriksaan. Nilai ambang yang dipakai

untuk menentukan infeksi positif atau negatif tergantung pada prevalensi *leptospira* asal di dalam populasi. Titer antibodi yang dapat dideteksi dengan MAT dapat bertahan sampai bertahun-tahun sesudah terjadi infeksi akut. Disamping itu, seseorang yang menderita leptospirosis sering mempertahankan antibodi IgM dan IgG dengan kadar tinggi sampai berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun, hal itu mempersulit penilaian hasil pemeriksaan MAT pada infeksi berikutnya. Pemeriksaan MAT memberikan hasil yang rendah terutama bila, (1) sampel diambil terlalu dini, (2) penderita mendapat pengobatan antibiotika dosis sangat tinggi pada permulaan fase akut, (3) penderita dengan gejala penyakit sangat berat, dan (4) juga pada penderita immunosupresi, sehingga hasil pemeriksaan MAT yang diperoleh meragukan. Pemeriksaan MAT membutuhkan banyak jenis antigen dari berbagai jenis serovar *leptospira*, sehingga perlu memelihara dan membiakkan semua jenis serovar *leptospira* yang ada. Memelihara dan membiakkan banyak jenis serovar *leptospira* yang dilakukan setiap minggu, sangat berbahaya bagi para petugas, karena mereka dapat terinfeksi. Disamping itu, dalam proses pembiakan sering terjadi kontaminasi silang diantara serovar, sehingga perlu dilakukan verifikasi secara periodik terhadap masing-masing serovar. Titer MAT juga dapat dipengaruhi oleh medium tempat *leptospira* dibiakkan. Pemeriksaan MAT sering memberikan hasil negatif palsu, bila serovar yang ada di daerah tersebut tidak dimasukkan ke dalam panel antigen, apalagi bila serovar yang ada di daerah tersebut adalah serovar baru yang belum ditemukan di daerah lain. Oleh karena itu, hasil MAT negatif belum tentu dapat memastikan bahwa penderita tersebut bukan terinfeksi *leptospira* yang berasal dari daerah tersebut. Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan pemeriksaan ELISA disamping melakukan pemeriksaan MAT. Untuk melakukan pemeriksaan MAT dibutuhkan tenaga ahli yang berpengalaman, dan untuk menyelesaikan pemeriksaan membutuhkan waktu lama. Disamping

itu, untuk melakukan pemeriksaan sampel dengan jumlah yang banyak dan dengan teknik yang rumit, mengakibatkan kualitas hasil yang diperoleh biasanya sedikit meragukan.

4.3.2 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Tes ELISA sangat populer dan bahan yang diperlukan untuk pemeriksaan sudah tersedia secara komersial dengan antigen yang diproduksi sendiri (*in house*). Untuk mendeteksi IgM umumnya digunakan antigen spesifik genus yang bereaksi secara luas, teknik ini kadang-kadang juga digunakan untuk mendeteksi antibodi IgG. Adanya antibodi IgM merupakan pertanda adanya infeksi baru *Leptospira*, atau infeksi yang terjadi beberapa minggu terakhir. Test ELISA cukup sensitif untuk mendeteksi *Leptospira* dengan cepat pada fase akut, dan lebih sensitif dibandingkan dengan MAT. Tes ini dapat mendeteksi antibodi IgM yang muncul pada minggu pertama sakit, sehingga cukup efektif untuk mendiagnosis penyakit. ELISA dapat juga digunakan untuk mendeteksi antibodi IgM dalam cairan serebrospinal, saliva dan urine. Harus diingat bahwa, antibodi klas IgM kadang-kadang masih dapat dideteksi sampai bertahun-tahun, sehingga titer positif (*cut-off point*) harus ditentukan dengan dasar pertimbangan yang sama seperti MAT. Tes ELISA spesifik genus cenderung memberikan reaksi positif lebih dini dibandingkan dengan MAT. ELISA biasanya hanya mendeteksi antibodi yang bereaksi dengan antigen spesifik genus yang sangat luas, sehingga tidak dapat menentukan serovar atau serogrup penyebab. Metode ELISA telah banyak dimodifikasi, misalnya, Dot-ELISA spesifik IgM dikembangkan menggunakan antigen *Leptospira* polivalen yang ditetaskan di atas kertas filter selulose sumur mikrotiter. Dengan metode ini, jumlah reagen yang dibutuhkan sedikit. Di samping untuk mendeteksi IgM, metode ini dimodifikasi untuk mendeteksi IgG dan IgA. *Dipstick assay* telah digunakan secara luas di beberapa negara. Dari hasil pemeriksaan sampel darah yang diambil pada fase

akut, tes ini memberikan sensitifitas 60,1%, dan bila sampel darah diambil pada fase konvalesen sensitifitasnya meningkat menjadi 87,4%. Dari hasil penelitian ternyata sensitifitas IgM-ELISA dan IgM-dipstick komersial untuk mendeteksi leptospirosis akut adalah 89,6-98% dan spesifisitasnya 90-92,7% dengan nilai ramal positif 87,6-90% dan nilai ramal negatif 90,7- 92%. Pemeriksaan dot immunoblot dengan menggunakan conjugate koloid emas dapat memberikan hasil pemeriksaan dalam waktu 30 menit.

4.3.3 Tes serologis lain

Tes macroscopic slide agglutination sudah pernah dilakukan pada binatang dan manusia. Sering digunakan untuk penapisan serum manusia atau binatang, tetapi sering memberikan hasil positif palsu. Juga dapat digunakan sel darah merah yang disensitisasi, bila ditambahkan komplemen akan mengalami hemolitik. Di samping itu, juga dapat dilakukan pemeriksaan hemagglutinas. Pemeriksaan ini dapat mendeteksi antibodi IgM dan IgG.³ Pemeriksaan indirect hemagglutination (IHA) dikembangkan oleh communicable disease control (CDC), mempunyai sensitifitas 92%, spesifisitas 95%, dan dengan nilai ramal negatif 92%, bila dibandingkan dengan MAT. Metode ini tersedia secara komersial. Sensitifitas IHA pada populasi yang endemi *Leptospira* memberikan hasil yang sangat bervariasi. Tes aglutinasi mikrokapsul menggunakan polimer sintetik sebagai pengganti sel darah merah telah dievaluasi secara luas di Jepang dan China, ternyata lebih sensitif dibandingkan dengan MAT atau ELISA-IgM untuk pemeriksaan fase akut, tetapi gagal mendeteksi infeksi yang disebabkan oleh banyak serovar. Pemeriksaan aglutinasi latex sederhana (*simple latex agglutination assay*) mempunyai sensitifitas 82,3% dan spesifisitas 94,6%. Pemeriksaan ini sangat mudah dilakukan dan tidak memerlukan keahlian dan peralatan khusus. Reagen mempunyai masa hidup lama, walaupun pada temperatur lingkungan daerah tropis. Teknik

lain adalah *immunofluorescence*, *RIA*, *counterimmuno-electrophoresis* dan *immuno assay* tetes tebal, tetapi jarang digunakan.

4.4 Penutup

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang dapat menyerang manusia maupun hewan (zoonosis). Penyakit ini disebabkan oleh leptospira bakteri aerob (termasuk golongan *spirochaeta*) yang berbentuk spiral dan bergerak aktif. Leptospirosis merupakan zoonosis yang paling tersebar luas di dunia. Pemeriksaan diagnosis secara serologi dari penyakit Leptospirosis dapat dilakukan dengan *Microscopic Agglutination Test (MAT)*. Tes ini dinilai sebagai pilihan utama diagnosis Leptospirosis. Namun terdapat beberapa kekurangan dari MAT antara lain membutuhkan banyak serovar antigen, dan terkadang sering menimbulkan hasil negatif palsu. ELISA dan pemeriksaan serologis lain dapat digunakan sebagai imunodiagnostik pada leptospirosis.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id *** digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad SN1, Shah S, Ahmad FM. 2005. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *J Postgrad Med*. 2005 Jul-Sep;51(3):195-200
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. (2015) Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis* 9(9): e0003898. doi:10.1371/journal.pntd.0003898
- Evangelista K.V dan Coburn J. 2010. Leptospira as an emerging patogen: a review of its biology, patogenesis and host immune responses. *Future Microbiol*. 2010 September ; 5(9): 1413–1425. doi:10.2217/fmb.10.102
- Haake D.A dan Levett P.N. 2015. Leptospirosis in Humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015 ; 387: 65–97. doi:10.1007/978-3-662-45059-8_5.

- La Scola B dan Musso D. 2013. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* Volume 46, Issue 4, August 2013, Pages 245–252
- Rahardianingtyas, Esti. 2006. *MAT Diagnosis Leptospiriosis*. *Jurnal Vektora* Vol. 4 No. 2 <http://www.repository.usu.ac.id> (diakses 07 Januari 2017)
- Rejeki, Dwi Sarwani Sri. 2005. *Faktor Risiko Lingkungan yang Berpengaruh terhadap Kejadian Leptospiriosis Berat*. <http://www.repository.usu.ac.id> (diakses 07 Januari 2017)
- Toyokawa T1, Ohnishi M, Koizumi N. 2011. Diagnosis of acute leptospirosis *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 Jan;9(1):111-21. doi: 10.1586/eri.10.151
- Setiawan, I Made. 2008. *Microscopic Agglutination Test (MAT) untuk Diagnosis Leptospiriosis pada Manusia* *Majalah Kedokteran FK UKI 2008 Vol XXVI No 1* (diakses 07 Januari 2017)
- Setiawan, I Made. 2008. *Pemeriksaan Laboratorium Untuk Mendiagnosis Penyakit Leptospiriosis*. *Media Litbang Kesehatan Volume XVIII Nomor 1 Tahun 2008*

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB 5

IMUNODIAGNOSTIK PADA *Salmonella typhi*

5.1 Pendahuluan

Demam tifoid adalah suatu penyakit sistemik yang disebabkan oleh kuman *Salmonella typhi*. Di Indonesia demam tifoid merupakan penyakit endemik dengan angka kejadian masih tinggi serta merupakan masalah kesehatan masyarakat yang berkaitan dengan kesehatan lingkungan dan sanitasi yang buruk. Meskipun penyakit ini tidak terbatas pada umur tertentu, namun angka kejadian cukup tinggi pada anak umur di atas 5 tahun. Gejala klinis demam tifoid pada anak umumnya lebih ringan dibandingkan orang dewasa, namun dapat terjadi komplikasi dan kematian. Gambaran klinis pada anak seringkali tidak khas bahkan hanya demam, sehingga terjadi kesulitan untuk menegakkan diagnosis demam tifoid. Oleh karena perlu ditunjang dengan pemeriksaan laboratorium yang andal untuk menegakkan diagnosis,akhir-akhir ini telah dilakukan penelitian uji *Dot Enzyme Immunoassay* (Dot EIA), yakni metode untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen spesifik *S.typhi* ini memberikan peluang untuk pengembangan penelitian uji serodiagnostik pada demam tifoid. Kemajuan dibidang biomolekular telah sampai pada penelitian mendeteksi DNA/RNA (asam nukleat) kuman *S. typhi* dalam darah dengan teknik hibridisasi asam nukleat dengan metoda *polimerase chain reaction* (PCR). Namun, sampai saat ini penggunaannya masih terbatas dalam laboratorium penelitian. Berdasarkan kenyataan tersebut perlu terus dipelajari kemajuan di bidang diagnosis

laboratorium penyakit infeksi khususnya demam tifoid. Dengan harapan dapat ditetapkan pendekatan diagnosis demam tifoid yang lebih cepat, sensitif, spesifik dan murah.

5.2 Morfologi dan Klasifikasi *Salmonella typhi*

5.2.1 Definisi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan salah satu spesies bakteri *Salmonella* yang berbentuk basil, gram negatif, fakultatif aerob, bergerak dengan flagel pertrich, mudah tumbuh pada perbenihan biasa dan tumbuh baik pada perbenihan yang mengandung empedu yang apabila masuk kedalam tubuh manusia akan dapat menyebabkan penyakit infeksi *Salmonella typhi* dan mengarah perkembangan tifus atau demam enterik. *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit demam tifus (*Typhoid fever*) karena invasi bakteri ke dalam pembuluh darah dan gastroenteritis yang disebabkan oleh keracunan makanan/intoksikasi. Gejala demam tifus meliputi demam, mual-mual, muntah dan kematian. *Salmonella typhi* memiliki keunikan hanya menyerang manusia, dan tidak ada inang lain. Infeksi *Salmonella typhi* dapat berakibat fatal kepada bayi, balita, ibu hamil dan kandungannya serta orang lanjut usia. Hal ini disebabkan karena kekebalan tubuh mereka yang menurun. Kontaminasi *Salmonella typhi* dapat dicegah dengan mencuci tangan dan menjaga kebersihan makanan yang dikonsumsi.

5.2.2 Klasifikasi *Salmonella typhi*

- 1) Kerajaan : Bacteria
- 2) Filum : Proteobakteria
- 3) Kelas : Gamma Proteobakteria
- 4) Ordo : Enterobakteriales
- 5) Family : Enteroakteriaceae
- 6) Genus : *Salmonella*
- 7) Spesies : *Salmonella enterica*

- a) *Salmonella arizona*
- b) *Salmonella typhi*
- c) *Salmonella choleraesuis*
- d) *Salmonella enteridis*

5.2.3 Morfologi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah suatu genus berbentuk batang pendek, gram negatif, bergerak dengan flagella, enterobacteria non-spora membentuk, terutama motil dengan diameter sekitar 0,7-1,5 μM , panjang dari 2-5 μ , dan flagela yang berproyek di segala penjurur (yaitu petrichous). *Salmonella typhi* bersifat aerob dan tumbuh pada pH 6-8 dan suhu 37°C, dalam air biasa bertahan selama 4 minggu, dalam feses di luar tubuh manusia tahan hidup selama 1-2 bulan. Mempunyai karakteristik fermentasi terhadap laktosa atau sukrosa. Kuman ini tahan pada pembekuan dalam air jangka waktu lama, namun mati pada pemanasan suhu 54,4°C selama satu jam dan 60°C selama 15 menit. *Salmonella typhi* memiliki karakteristik yang menjadikannya patogen efektif. Dapat memproduksi dan mengekskresikan protein yang disebut "invasin" yang memberi jalan pada sel non-fagosit yang memiliki kemampuan hidup secara intraseluler. Selain itu, *Salmonella typhi* juga memiliki kemampuan menghambat tekanan oksidatif leukosit, yang menjadikan sistem respon imun manusia menjadi tidak efektif. Infeksi *Salmonella typhi* kemudian akan berkembang menjadi demam atau typhoid (Pollack, 2006).

Terdapat tiga jenis *Salmonella* yaitu *Salmonella typhi* (mempunyai 1 serotipe), *Salmonella enteritidis* (lebih dari 1500 serotipe), *Salmonella choleraesuis* (1 serotipe).

5.2.3.1 Struktur Antigen

Salmonella mempunyai empat kompoen antigen, yaitu:

- 1) Antigen O

Antigen O merupakan somatic yang terletak dilapisan luar tubuh kuman. Struktur kimianya terdiri dari lipopolisakarida. Antigen ini tahan terhadap pemanasan 100°C selama 2-5 jam, alcohol dan asam yang encer.

2) Antigen H

Antigen H merupakan antigen yang terletak di flagella, pibriae atau fili *Salmonella typhi* dan berstruktur kimia protein. Antigen ini tidak aktif pada pemanasan diatas suhu 60°C, dan pemberian alcohol atau asam.

3) Antigen Vi

Antigen Vi terletak dilapisan terluar *Salmonella typhi* (kapsul) yang melindungi kuman dari pagositas dengan struktur kimia glikolitid. Akan rusak bila dipanaskan selama 1 jam pada suhu 60°C, dengan pemberian asam dan fenol. Antigen ini digunakan untuk mengetahui adanya karier.

4) Antigen Membrane Protein (OMP)

Antigen OMP *Salmonella typhi* merupakan bagian dinding sel yang terletak diluar membran plasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. OMP ini terdiri dari 2 bagian yaitu protein non porin.

5.3 Diagnosis Demam Tifoid

5.3.1 Definisi demam tifoid

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut disebabkan oleh kuman gram negatif *Salmonella typhi*. Selama terjadi infeksi, kuman tersebut bermultiplikasi dalam sel fagositik mononuklear dan secara berkelanjutan dilepaskan ke aliran darah.

5.3.2 Patogenesis demam tifoid

Salmonella typhi masuk ketubuh manusia melalui makanan

dan air yang tercemar. Sebagian kuman dimusnahkan oleh asam lambung dan sebagian lagi masuk ke usus halus. Setelah mencapai usus, *Salmonella typhi* menembus ileum ditangkap oleh sel mononuklear, disusul bakteriemi I. Setelah berkembang biak di RES, terjadilah bakterimia II Interaksi *Salmonella* dengan makrofag memunculkan mediator-mediator. Lokal (*patch of payer*) terjadi hipertensi, nekrosis dan ulkus. Sistemik timbul gejala panas, instabilitas vakuler, inisiasi sistem beku darah, depresi sumsum tulang dll.

5.3.3 Respon imun pada *Salmonella typhi*

Di usus diproduksi IgA sekretorik yang berfungsi mencegah melekatnya salmonella pada mukosa usus. Humoral sistemik, diproduksi IgM dan IgG untuk memudahkan fagositosis *Salmonella* oleh makrofag. Seluler berfungsi untuk membunuh *Salmonella* intraseluler.

5.3.4 Diagnosis pada *Salmonella typhi*

Dalam penegakkan diagnosis demam tifoid didasarkan pada kondisi klinis penderita yang diperkuat dengan diagnosis penunjang laboratorium. Saat ini sudah tersedia beberapa macam metode diagnosis demam tifoid baik yang sifatnya kualitatif maupun kuantitatif. Pemeriksaan penunjang meliputi pemeriksaan darah tepi, kultur bakteriologi, uji serologis, dan identifikasi secara molekuler. Beberapa metode konvensional seperti uji widal dan kultur darah masih belum menghasilkan spesifisitas dan sensitifisitas uji yang andal. Namun, metode ini masih menjadi tes utama pada berbagai laboratorium di negara berkembang. Mendiagnosis demam tifoid, dengan melihat gambaran klinis demam tifoid pada anak tidak khas yang mengakibatkan sering terjadi kesulitan dalam menegakkan diagnosis bila hanya berdasarkan gambaran klinis, maka perlu ditunjang dengan pemeriksaan laboratorium yang dapat

diandalkan. Sarana laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid secara garis besar digolongkan dalam tiga kelompok yaitu :

- 1) Isolasi kuman penyebab demam tifoid, *Salmonella typhi*, melalui biakan kuman dari spesimen seperti darah, sumsum tulang, urin, tinja, dan cairan duodenum.
- 2) Uji serologi untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi* dan menentukan adanya antigen spesifik dari *Salmonella typhi*.
- 3) Pemeriksaan pelacak DNA kuman *Salmonella typhi*.

5.3.4.1 Biakan *Salmonella typhi*

Diagnosis pasti demam tifoid dapat ditegakkan bila ditemukan kuman *Salmonella typhi* dalam darah, urin, tinja, sumsum tulang, cairan duodenum atau dari rose spots. Berkaitan dengan patogenesis penyakit, maka kuman lebih mudah ditemukan di dalam urin dan tinja. Biakan darah terhadap *Salmonella* tergantung dari saat pengambilan pada perjalanan penyakit. Beberapa penelitian melaporkan biakan darah positif 70-90% dari penderita pada minggu pertama sakit, dan positif 50% pada akhir minggu ketiga. Kuman dalam tinja ditemukan meningkat dari minggu pertama (10-15%) hingga minggu ketiga (75%) dan turun secara perlahan. Biakan urin positif setelah minggu pertama. Biakan sumsum tulang sering tetap positif selama perjalanan penyakit dan menghilang pada fase penyembuhan. Hoffman dkk, melaporkan dalam penelitiannya di RS. Penyakit infeksi pada tahun 1986 di Jakarta bahwa biakan sumsum tulang lebih sensitif (92%) secara bermakna dibandingkan biakan darah (62%), biakan klot streptokinase (51%), dan biakan usap dubur (56%). Gilman dkk, melaporkan dalam penelitiannya terhadap 62 pasien dengan demam tifoid yang sebagian besar dari mereka telah mendapat terapi, bahwa isolasi kuman *Salmonella typhi* positif dari biakan sumsum tulang pada 56 pasien (90%),

sedangkan dari biakan darah, yinja dan urin masing-masing positif pada 25 pasien (40%), 23 pasien (37%) dan 4 pasien (7%). Kuman *Salmonella typhi* berhasil diisolasi pada 24 (63%) dari 38 pasien biakan rose spots. Meskipun metode biakan/isolasi bakteri *Salmonella typhi* sebenarnya sangat menentukan diagnostik, namun terdapat beberapa kendala yaitu :

- 1) Identifikasi kuman *Salmonella typhi* di laboratorium klinik memerlukan waktu 5-7 hari
- 2) Biakan bakteri sulit dilakukan didaerah yang tidak memiliki sarana laboratorium lengkap.

5.3.4.2 Imunodiagnostik pada *Salmonella typhi*

Imunodiagnostik pada *Salmonella typhi* adalah pengujian yang menggunakan serum sebagai sampel. Prinsip utama uji serologis adalah mereaksikan antibodi dengan antigen yang sesuai. Antibodi adalah zat kekebalan yang dilepaskan oleh sel darah putih untuk mengenali serta menetralkan antigen (bibit penyakit baik virus maupun bakteri) yang ada dalam tubuh. Pengukuran kadar antibodi terhadap kuman penyebab infeksi dalam serum atau darah manusia dapat dipakai untuk menunjang diagnosis infeksi oleh mikroorganisme bersangkutan. Beberapa jenis uji serologi infeksi *Salmonella* diuraikan dibawah ini.

5.3.4.2.1 Uji Serologi Widal

Uji serologi standar dan rutin diagnosis demam tifoid adalah uji Widal. Uji ini telah digunakan sejak tahun 1896. Prinsip uji Widal adalah serum pasien dengan pengenceran berbeda-beda ditambah antigen dalam jumlah sama. Jika dalam serum terdapat antibodi maka akan terjadi aglutinasi. Pengenceran tertinggi yang menunjukkan titer antibodi dalam serum. Uji serologi widal sebenarnya tidak spesifik oleh karena beberapa hal, yakni :

1. Semua *Salmonella* dalam grup D (kelompok *Salmonella typhi*) memiliki antigen O yang sama yakni nomor 9 dan 122, namun

- perlu diingat bahwa antigen O nomor 12 dimiliki pula oleh *Salmonella* grup A dan B (yang lebih dikenal sebagai paratyphi A dan paratyphi B)
2. Semua *Salmonella* grup D memiliki antigen H di fase I seperti *Salmonella typhi*.
 3. Titer antibodi H masih tinggi untuk jangka waktu lama setelah infeksi atau imunisasi.

Sensitivitas uji widal juga rendah, sebab kultur positif yang bermakna pada pasien tidak selalu diikuti dengan terdeteksinya antibodi dan pada pasien yang mempunyai antibodi pada umumnya titer meningkat sebelum terjadinya onset penyakit. Sehingga keadaan ini menyulitkan untuk memperlihatkan kenaikan titer 4 kali lipat. Kelemahan lain dari uji widal adalah antibodi sering bervariasi dan sering tidak ada kaitannya dengan gambaran klinis penyakit, dan dalam jumlah yang cukup besar (15% atau lebih) tidak terjadi kenaikan titer O bermakna. Sampai saat ini pemeriksaan serologi widal sulit dipakai sebagai pegangan karena belum ada kesepakatan akan nilai standar aglutinasi (*cut off point*). Untuk mencari standar titer uji serologi widal seharusnya ditentukan titer dasar (*base line titer*) pada anak sehat di populasi. Beberapa penulis telah melaporkan nilai standar aglutinasi yang berbeda-beda untuk diagnosis demam tifoid dengan uji widal, oleh karena nilai sensitivitas, spesifisitas dan perkiraan uji ini sangat berbeda antar laboratorium klinik. Nilai *cut-off* uji widal yang dipakai saat ini berdasarkan penelitian pada tahun 60-an, maka dengan adanya kemajuan sanitasi dan pendidikan kesehatan, data dasar perlu diperbarui. Interpretasi uji widal harus dilakukan sangat hati-hati karena banyak faktor yang berpengaruh terhadap hasil uji ini.

5.3.4.2.2 Uji ELISA

Uji ELISA (*enzyme linkage immunosorbent assay*) untuk melacak antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi* akhir-akhir

ini mulai banyak dipakai. Antibodi yang dilacak dengan uji ini tergantung dari jenis antigen yang dipakai.

5.3.4.2.3 Dot Enzyme Immunosorbent Assay (Dot ELA)

Uji Dot ELA tidak mengadakan reaksi silang dengan *Salmonellosis non-typhoid* bila dibandingkan dengan widal. Dengan demikian bila dibandingkan dengan uji widal, sensitivitas uji Dot ELA lebih tinggi oleh karena kultur positif yang bermakna tidak selalu diikuti dengan uji widal positif. Dikatakan bahwa Typhidot-M ini dapat menggantikan uji widal bila digunakan bersama dengan kultur untuk mendapatkan diagnosis demam tipoid akut yang cepat dan akurat.

Salah satu uji serologi untuk melacak antibodi spesifik terhadap *Salmonella typhi* yang sedang dikembangkan adalah Dot Enzyme Immunosorbent Assay (Dot ELA). Beberapa penelitian terbaru terhadap kuman *Salmonella typhi* melaporkan adanya protein spesifik yang berada di membran luar kuman atau outer membrane protein (OMP) untuk dijadikan antigen dalam sistem pendeteksi antigen IgM *Salmonella typhi*. Ismail dkk, berhasil mengembangkan penelitian penggunaan metode Dot ELA ini untuk mendeteksi antibodi terhadap *Salmonella typhi*. Didapatkan OMP kuman *Salmonella typhi* yang mempunyai berat molekul 50kDa ternyata spesifik hanya didapatkan dari serum pasien demam tifoid (berdasarkan biakan kuman positif dari spesimen penderita). Protein lamiah ini terletak pada membran luar *Salmonella* dan bukan merupakan antigen Vi (antigen kapsul), H (flagel) atau O (dinding sel/lipopolisakarida). Protein ini berfungsi untuk memeriksa uji serodiagnostik pada penderita demam tifoid. Metoda ini lebih maju jika dibandingkan dengan sistem immunoblotting. Pada sistem deteksi ini antigen yang digunakan terbatas pada antigen OMP dengan berat molekul 50 kDa, sedangkan pada immunoblotting masih menggunakan semua fraksi OMP. Pada penelitian lain, Ismail

dkk, melaporkan penelitian terhadap 109 kasus demam tifoid bahwa spesifisitas uji ini 75%, 25% positif terhadap kultur darah negatif. Dilaporkan pula bahwa uji dot EIA inmemiliki sensitivitas 95-100% (pada penderita demam tifoid dengan kultur *Salmonella typhi* positif) dengan sekali pemeriksaan dan 100% dengan pemeriksaan ulang serum. Ini berarti setiap kali kultur darah positif, maka uji ini akan memberikan nilai 100% positif pula. Uji dot EIA tidak ada reaksi silang dengan salmonellosis bukan tifoid jika dibandingkan dengan Widal. Dengan demikian jika dibandingkan dengan uji Widal, sensitivitas uji dot EIA lebih tinggi oleh karena kultur positif yang bermakna tidak selalu diikuti dengan uji Widal positif. Dalam penelitian lain dilaporkan sensitivitas uji Widal adalah 60% bahkan pernah dilaporkan kurang dari 60%.

Saat ini metoda uji dot EIA telah diluncurkan sebagai produk yang disebut *Typhidot*. Dalam kit *Typhidot* telah tersedia beberapa material dan reagen yang telah siap untuk diuji di laboratorium klinik. Beberapa keuntungan metoda ini adalah memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, sedikit kemungkinan terjadinya reaksi silang dengan penyakit demam lain, murah (karena menggunakan antigen dan membran nitroselulosa sedikit), tidak menggunakan alat yang khusus sehingga dapat digunakan luas di fasilitas kesehatan sederhana yang belum tersedia biakan kuman. Keuntungan lain antigen pada membran lempengan nitroselulosa yang belum ditandai dan diblok dapat tetap stabil selama 6 bulan jika disimpan pada suhu 40C dan bila hasil didapatkan dalam waktu 3 jam setelah penerimaan serum pasien.

5.3.4.2.4 Pemeriksaan Antigen

Pelacakan antigen spesifik dari *S.typhi* dalam spesimen pasien demam tifoid (darah atau urin) secara teoritis dapat memberikan diagnosis secara dini dan cepat. Wong dkk, menggunakan tehnik aglutinasi lateks yang dilapisi antibodi monoklonal IgM

Salmonella 0-9 dan dapat memperoleh hasil tes dalam waktu satu menit dengan sensitivitas dan spesifisitas masing-masing sebesar 87,5-100% dan 97,8-100%. Uji ELISA yang sering dipakai untuk mendeteksi adanya antigen *S. typhi* dalam spesimen klinis adalah *double antibodiesandwich* ELISA. Chaicumpa dengan tehnik yang sama mendapatkan sensitivitas 65% dan spesifisitas 100% pada urin penderita. Ia melaporkan bahwa dengan *dot enzyme immunoassay* untuk melacak adanya antigen *S.typhi* dalam urin dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap grup O *Salmonella* antigen 9 mendapatkan sensitivitas 85%. Sadallah menggunakan antibodi monoklonal terhadap antigen flagela d-H untuk deteksi antigen *S. typhi* dalam serum pasien dan mendapatkan sensitivitas sebesar 96% dan spesifisitas 92%.

Dari data tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa masih terdapat variasi nilai yang luas baik sensitivitas maupun spesifisitas dari deteksi antigen spesifik *S. typhi* oleh karena tergantung dari beberapa hal, yakni jenis antigen, jenis spesimen yang diperiksa, tehnik yang dipakai untuk melacak antigen tersebut, jenis antibodi yang digunakan dalam tes (poliklonal atau monoklonal), dan waktu pengambilan spesimen (stadium dini atau lanjut dalam perjalanan penyakit).

5.3.4.3 Pemeriksaan Biologi Molekuler

Metode lain untuk identifikasi kuman *Salmonella typhi* yang akurat adalah mendeteksi DNA (asam nukleat) *Salmonella typhi* dalam darah dengan tehnik hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA dengan cara *polymerase chain reaction* (PCR). Dasar spesifisitas reaksi hibridisasi adalah kemampuan asam nukleat utas/rantai tunggal untuk mendeteksi dan membentuk ikatan hidrogen (hibridisasi) dengan asam nukleat utas tunggal yang mengandung urutan asam nukleat padanannya. Reaksi hibridisasi merupakan reaksi kinetik yang efisien dan dapat mendeteksi sejumlah sangat

kecil asam nukleat kuman dalam waktu yang sangat pendek. Pada sistem hibridisasi ini, sebuah molekul asam nukleat yang sudah diketahui spesifisitasnya (*DNA probe*) digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya urutan asam nukleat yang sepadan dari target DNA (kuman). Meskipun *DNA probe* memiliki spesifisitas tinggi, pemeriksaan ini tidak cukup sensitif untuk mendeteksi jumlah kuman dalam darah yang sangat rendah, misalnya 10-15 *S. typhi*/ml darah dari pasien demam tifoid. Dengan kemajuan teknologi di bidang molekular, target DNA telah dapat diperbanyak terlebih dahulu sebelum dilakukan hibridisasi. Penggandaan target DNA dilakukan dengan tehnik PCR menggunakan *enzyme DNAPolimerase*. Cara ini dapat melacak DNA *S. typhi* sampai sekecil satu pikogram namun usaha untuk melacak DNA dari spesimen klinis masih belum memberikan hasil yang memuaskan.

5.4 Penutup

Salmonella typhi merupakan salah satu spesies bakteri *Salmonella* yang berbentuk basil, gram negatif, fakultatif aerob, bergerak dengan flagel. *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit demam tifus (Typhoid fever), karena invasi bakteri ke dalam pembuluh darah dan gastroenteritis, yang disebabkan oleh keracunan makanan/intoksikasi. Secara garis besar pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis demam tifoid adalah: (1) isolasi kuman *S. typhi* dari biakan spesimen pasien, (2) uji serologi untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap *S. typhi* dan mendeteksi adanya antigen spesifik dari *S. typhi*, dan (3) pemeriksaan melacak adanya DNA *S. typhi*. Dilakukan pemeriksaan penunjang untuk demam tifoid menggunakan metode ELISA dengan teknik *Dot Enzyme Immunosorbent Assay* (Dot EIA). Untuk melacak antibodi spesifik terhadap *Salmonella typhi*.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Andino dan I. Hanning.2015. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. the Scientific World Journal Volume 2015, Article ID 520179, 16 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/S20179>
- Coburn B, et al.2007. *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Immunology and Cell Biology* (2007) 85, 112–118. doi:10.1038/sj.icb.7100007; published online 5 December 2006
- ChowdhuryMAJ.2014. Current status of typhoid fever : a review. *Bangladesh Med J*. 2014 May; 43 (2)
- Dougan G dan Baker S.2014. *Salmonella enterica* Serovar Typhi and the Patogenesis of Typhoid Fever. *Annual Review of Microbiology*.Vol.68:1-520 (Volume publication date September 2014) DOI: 10.1146/annurev-micro-091313-103739
- Liang L, et al. 2013. Immune profiling with a *Salmonella* Typhi antigen microarray identifies new diagnostic biomarkers of human typhoid. *Scientific Reports* 3, Article number: 1043 (2013)doi:10.1038/srep01043
- Oktaviani Ayu. Makalah *Salmonella typhi*. Diakses dalam <http://www.scribd.com>. Diakses tanggal 18 Januari 2017.
- Retnosari S. 2000. Pendekatan Diagnostik Serologik dan Pelacak Antigen *Salmonella typhi*. *Jurnal Sari Pediatri*, Vol. 2, No. 2, Agustus 2000: 90-95. Diakses dalam <https://www.saripediatri.org.com>.
- Sianturi Sintong. Demam Tifoid. Diakses dalam <http://www.scribd.com>. Diakses tanggal 18 Januari 2017.
- Sattar Afma, Yusuf MA, Islam MB, Jahan WA. Different Diagnostic Procedure of Typhoid Fever: A Review Update. *J Curr Adv Med Res* 2014;1(1):35-41]
- Sarman Singh.2001. Patogenesis and Laboratory Diagnosis. Symposium : Typhoid Fever. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine* Vol. 2, No. 1 and 2 January-June 2001

- Shu-Kee Eng et al.2015. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers In Life Science* Vol. 8 , Iss. 3
- WHO.2003. Background document: The Diagnosis, Treatment And Prevention Of Typhoid Fever.Geneva Swiss

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BIOGRAFI PENULIS

Dr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL. Lahir di Tulungagung, 24 April 1986. Menyelesaikan pendidikan Sarjana Kesehatan Masyarakat (S1) di Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga pada tahun 2008. Pendidikan S2 Kesehatan Lingkungan di Universitas Airlangga diselesaikan pada tahun 2010 serta menyelesaikan pendidikan Doktornya juga di Universitas Airlangga program studi Ilmu Kesehatan pada tahun 2017.

Sekarang penulis mengajar di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Sunan Ampel Surabaya. Beberapa Pengalaman Riset yang pernah dilakukan: *Analisis Kualitas Air Susu Sapi Segar Serta Faktor Yang Mempengaruhi: Studi Pada KUD Tani Wilis Kabupaten Tulungagung, 2008; Hubungan Pencemaran Lindi Dan Konsumsi Ikan Dengan Kadar Kadmium Dalam Darah Pada Konsumen Di Dukuh Jawar Kelurahan Tambakdono Kecamatan Pakal Surabaya, 2009; Protein Profile Gene L-Esat-6 Mycobacterium Leprae As A Candidate Of Diagnostic Tool For Early Detection On Leprosy, 2016; Antibodi Anti IDALLE L-ESAT 6 Sebagai Faktor Determinan Kusta Stadium Subklinis Pada Narakontak Serumah Di Daerah Endemis, 2017; Pengaruh Kompleks Linier Alkyl Benzene Sulfonate (LAS) dan Kadmium (cd) Terhadap Peningkatan Akumulasi, Absorpsi dan Toksisitas Kadmium (cd) pada *Cyprinus carpio* L, 2018.* Penulis juga aktif berpartisipasi dalam riset skala nasional yang dilaksanakan oleh Badan Penelitian dan pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik

Indonesia diantaranya: Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013, Riset Pembiayaan Kesehatan di ERA JKN tahun 2015, Riset Penyakit Tidak Menular (PTM) Tumor Payudara dan Lesi Pra Kanker Serviks 2016, Riset Ketenagaan di Bidang Kesehatan (RISNAKES) 2017, Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS 2018), serta Riset Analisis lanjut RISTOJA 2018.

Selain penelitian dan mengajar, penulis juga aktif dalam organisasi profesi diantaranya sebagai Ketua Perhimpunan Sarjana dan Profesional Kesehatan Masyarakat Indonesia (PERSAKMI) kota Surabaya dan sebagai anggota Himpunan Ahli Kesehatan Lingkungan Indonesia (HAKLI).

Dr. Muhammad Yusuf Alamudi, S.Si., M.Trop.med. Lahir di Surabaya Pada Tanggal 21 Januari 1980. Menyelesaikan pendidikan S1 di Fakultas Sains Tek/FMIPA Universitas Airlangga Pada tahun 2003. Pada tahun 2004, melanjutkan program magister di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Ilmu Kedokteran Tropis.. Pendidikan Doktor pada program studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga diselesaikan pada tahun 2013. Tesis yang diambil adalah berkaitan toksoplasma pada ibu hamil terutama pada ekspresi protein. Pada tahun 2008 , penulis mengambil program doktoral di fakultas kedokteran universitas Airlangga dan menjadi salah satu doktor termuda di Indonesia. Disertasi yang diambil berkaitan dengan problematika vaksin penyakit infeksi di indonesia. Saat ini, penulis menjadi salah satu peneliti di Prof Nidom Foundation. Beberapa hasil penelitian yang telah dipublikasi baik nasional dan internasional berkaitan dengan virologi dan vaksin yaitu influenza, hepatitis, HIV dan ebola. Selain sebagai peneliti, penulis juga aktif sebagai penulis baik di media massa maupun media online. Dalam bidang organisasi, penulis aktif di PP Merpati Putih dan pernah menjabat sebagai Pembina Unit

Kegiatan Mahasiswa PP Merpati Putih Universitas Airlangga, Ketua Alumni Program Magister Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Ketua Umum Komunitas Persatuan Indonesia Sejahtera. Bidang riset yang sedang ditekuni saat ini adalah ekspresi protein mikroorganisme yang berkaitan dengan penyakit emerging dan re-emerging di Indonesia. Sebagai pengajar, penulis memberi kuliah di perguruan tinggi swasta, reviewer artikel ilmiah baik nasional maupun internasional, Ketua I LPPM, penguji mahasiswa program doctoral di salah satu perguruan tinggi negeri

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

**Moch. Irfan Hadi
Muhammad Yusuf Alamudi**

IMUNODIAGNOSTIK **PADA** **BAKTERI** **DAN** **JAMUR**

Indonesia merupakan negara yang terletak di daerah tropis dan memiliki dua musim yaitu kemarau dan hujan. Wilayah yang terletak di daerah tropis memiliki keanekaragaman sumber daya alam yang sangat bervariasi termasuk mikroorganisme baik yang menyebabkan penyakit maupun tidak menyebabkan penyakit. Salah satu mikroorganisme yang menyebabkan penyakit adalah bakteri dan jamur. Lebih dari 25% penyakit di Indonesia disebabkan oleh bakteri dan jamur, terlebih lagi pada pasien HIV, bakteri dan jamur merupakan second infection dan mematikan bagi penderita HIV. Salah satu metode dalam mendeteksi bakteri atau jamur adalah imunodiagnostik. Saat ini, imunodiagnostik merupakan salah satu metode cepat dengan sensitifitas dan spesifisitas yg cukup baik. Imunodiagnostik juga dapat digunakan untuk menganalisis profil imun hospes dan bisa dijadikan sebagai biomarker maupun imunoterapi terhadap bakteri dan jamur. Dengan membaca buku ini diharapkan mampu memberikan tambahan informasi dan referensi baik kepada masyarakat awam pada umumnya serta khususnya kepada mahasiswa kedokteran, kesehatan masyarakat, analis medis, dosen serta peneliti di bidang penyakit tropis.



Penerbit
Zifatama Jawa
Jl. Taman Pandok Jati J4,
Taman - Sidoarjo
Telp : 031-99786278
Email : zifatama1@gmail.com

ISBN 978-602-5815-37-3



9 786025 815393