

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Demam Tifoid

Demam tifoid adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. typhi* serta merupakan masalah kesehatan masyarakat yang berkaitan dengan sanitasi lingkungan yang buruk (Ratnasari et al. 2015).

Demam tifoid adalah penyakit sistemik akut pada sistem pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *S. typhi* dan merupakan penyakit menular yang umum di Indonesia dan Negara-negara berkembang lainnya (Massi 2010).

2.2. *Salmonella typhi*

Bakteri *S. typhi* merupakan salah satu genus dari anggota familia *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang, dan bersifat gram negatif sehingga mempunyai komponen lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan dapat berfungsi sebagai endotoksin, bergerak dengan flagel peritrik (motil), dan tidak membentuk spora. *S. typhi* dapat memproduksi H_2S tetapi tidak dapat membentuk gas dari glukosa (Supardi & sukanto 1999). Pada media Mac Conkey koloni bakteri transparan karena bakteri tidak dapat memfermentasikan laktosa, dengan diameter koloni 2-4 mm (Darmawati 2009).

Klasifikasi *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Class	: Gamma proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Species	: <i>Salmonella typhi</i>

Bakteri *S. typhi* merupakan bakteri yang patogen terhadap manusia dan tidak ditemukan pada hewan. Habitatnya berada pada saluran pencernaan terutama pada mukosa ileum (Yuswananda 2015). Bakteri ini memiliki antigen permukaan yang cukup kompleks dan mempunyai peran penting dalam proses patogenitas, selain itu juga berperan dalam proses terjadinya respon imun pada individu yang terinfeksi. Antigen permukaan tersebut terdiri dari antigen flagel (antigen H), antigen somatik (antigen O), dan antigen kapsul atau antigen K (antigen Vi) (Darmawati 2009).

Antigen H atau antigen flagel, antigen ini terdiri dari suatu protein yang dikode oleh gen *flg* yang berada pada lokus *flic*. Antigen H bersifat termolabil dan dapat rusak oleh alkohol, pemanasan pada suhu diatas 60°C dan asam, dimana pada reaksi aglutinasinya berbentuk butir-butir pasir yang hilang bila dikocok. Antigen H terdiri dari 2 fase yaitu antigen H fase 1 (H1) dan antigen H fase 2 (H2) sehingga dapat dijumpai *S. typhi* serovar H1 dan *S. typhi* serovar H2. Sedangkan antigen H1 terdiri dari H1-d dan H1-j sehingga dapat dijumpai pula *S. typhi* serovar H1-d yang tersebar luas di seluruh dunia dan *S. typhi* serovar H1-j yang hanya dijumpai di Indonesia. Strain bakteri *S. typhi* serovar H1-j bersifat kurang motil pada media semi solid agar dan kurang invasif apabila dibandingkan dengan *S. typhi* serovar H1-d (Grossman et al. 1995).

Antigen O disebut juga sebagai antigen dinding sel karena antigen tersebut adalah bagian *outer layer* dari dinding sel bakteri gram negatif. Antigen O tersusun dari LPS (Lipo Polisakarida) yang berfungsi sebagai endotoksin (Supardi

& Sukanto 1999). Resisten terhadap pemanasan 100°C, alkohol dan asam, reaksi aglutinasinya berbentuk butir-butir pasir (Darmawati 2009).

Antigen Vi atau antigen kapsul, yaitu antigen yang terdiri dari polimer polisakarida dan bersifat asam. Antigen Vi yang dimiliki oleh bakteri berfungsi sebagai antiopsonik dan antipagositik, ekspresi antigen tersebut dikode oleh gen *tvIA* yang berada di dalam lokus *via B*, tidak semua strain *S. typhi* mengekspresikan antigen Vi. Antigen ini mudah rusak oleh pemanasan 1 jam pada suhu 60°C, penambahan fenol dan asam, dimana reaksi aglutinasinya berbentuk seperti awan (Wain et al. 2005).

2.3. Sifat Fisiologis

Bakteri *S. typhi* adalah bakteri yang bersifat fakultatif anaerob, membutuhkan suhu optimal 37°C untuk pertumbuhannya, memfermentasikan D-glukosa, menghasilkan asam tetapi tidak membentuk gas, oksidase negatif, katalase positif, tidak memproduksi indol karena tidak menghasilkan enzim tryptophanase yang dapat memecah tryptophan menjadi indol, methyl red (MR) positif menunjukkan bahwa fermentasi glukosa menghasilkan sejumlah asam yang terakumulasi di dalam medium sehingga menyebabkan pH medium menjadi asam (pH=4,2), dengan penambahan indikator methyl red maka warna medium menjadi merah. Voges-Proskauer (VP) negatif, citrate negatif, menghasilkan H₂S yang dapat ditunjukkan pada media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Bakteri ini menghasilkan H₂S yang merupakan produk hasil reduksi dari asam amino yang mengandung sulfur, H₂S yang dihasilkan akan bereaksi dengan garam Fe dalam media yang kemudian menjadi senyawa FeS berwarna hitam yang mengendap

dalam media. Urease negatif, uji ONPG negatif karena tidak menghasilkan enzim betha galaktosidase sehingga bakteri tidak dapat memfermentasikan laktosa, oleh karena itu strain bakteri *S. typhi* termasuk familia *Enterobacteriaceae* yang bersifat tidak memfermentasikan laktosa (*Non Lactosa Fermenter*) (Darmawati 2009).

Bakteri *S. typhi* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada suhu antara 5-47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Beberapa sel tetap dapat hidup selama penyimpanan beku. Disamping itu, *S. typhi* dapat tumbuh pada pH 4,1-9,0 dengan pH optimum 6,5-7,5. Nilai pH minimum bervariasi bergantung pada serotipe masing-masing, suhu inkubasi, komposisi media, dan jumlah sel. Pada pH dibawah 4,0 dan diatas 9,0, bakteri tersebut akan mati secara perlahan. Bakteri ini tidak dapat berkompetisi secara baik dengan mikroba-mikroba yang umum terdapat di dalam makanan. Misalnya bakteri-bakteri pembusuk, bakteri genus lainnya dalam familia *Escherichiae*, dan bakteri asam laktat. Oleh karena itu, pertumbuhannya sangat terhambat dengan adanya bakteri-bakteri tersebut (Supardi & Sukanto 1999).

2.4. Penularan dan Pencegahan

Penularan penyakit ini melalui saluran cerna yaitu saat seseorang mengkonsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh feses atau urin dari seorang penderita penyakit tifoid kemudian tertelan dan masuk kedalam saluran pencernaan yang dapat menimbulkan infeksi saluran pencernaan (Sharma & Malakar 2013). Penularan dari satu orang ke orang lain juga dapat terjadi selama infeksi. Semakin tinggi jumlah bakteri di dalam suatu makanan, semakin

besar timbulnya gejala infeksi pada orang yang menelan makanan tersebut, dan semakin cepat waktu inkubasi sampai timbulnya gejala infeksi (Supardi & Sukanto 1999).

Pencegahan penyakit ini dapat dilakukan dengan selalu menjaga kebersihan perorangan, kebersihan lingkungan, pembuangan sampah yang rutin, dan pengolahan air minum yang baik. Dapat juga dilakukan imunisasi dengan menggunakan vaksin monovalen bakteri *S. typhi* (Soedarto 2009).

2.5. Patogenitas

Penyakit demam tifoid merupakan penyakit yang hanya menyerang manusia, bakteri *S. typhi* masuk melalui mulut bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut kemudian hanyut ke saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeliminasinya, tetapi bila bakteri ini dapat bertahan dan jumlahnya yang masuk cukup banyak, maka bakteri akan berhasil mencapai usus halus dan berusaha masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin dan merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar, serta gejala lainnya (Darmawati 2009).

2.6. Protein Pili

Pili merupakan bentuk batang lurus dengan ukuran lebih pendek dan lebih kaku bila dibandingkan dengan flagella. Pili tersusun atas unit protein yang disebut pillin, mempunyai struktur yang berbentuk pipa, mempunyai peran dalam proses konjugasi, sebagai reseptor bagi bakteriofag dan berperan pula dalam

proses perlekatan (adhesi) antara bakteri dengan permukaan sel inang. Oleh karena itu pilli mempunyai peran dalam proses patogenesis bakteri (Darmawati 2009).

Pilli termasuk golongan protein yang disebut lektin, melekat pada residu gula yang khusus pada polisakarida permukaan sel. Sehingga mempunyai kecenderungan saling melekat satu sama lain. Kemampuan organisme tertentu seperti *Neisseria gonorrhoeae* dan *Escherichia coli* yang enterotoksigen menyebabkan keracunan dalam saluran usus halus. Timbulnya penyakit ini berkaitan dengan fimbriae, karena adanya mutasi yang menyebabkan hilangnya sifat virulen (Waluyo 2005).

Protein adalah zat organik yang mengandung karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur dan fosfor. Protein berperan penting dalam kelangsungan hidup setiap organisme dan mikroorganisme. Selain itu protein juga berguna untuk metabolisme sel, pembentukan jaringan, dan lain-lain (Muhsafaat et al. 2015).

Struktur protein terdiri dari struktur primer, sekunder, tersier, dan kuaterner (Sari 2011). Kondisi lingkungan di sekitar sangat mempengaruhi stabilitas struktur protein yang terbentuk karena adanya interaksi intramolekuler dan intermolekuler. Kondisi eksternal seperti perubahan pH yang ekstrim atau pengaruh panas. Ada beberapa jenis protein yang sangat peka terhadap lingkungannya. Apabila konformasi protein berubah, misalnya oleh perubahan suhu, pH atau terjadi suatu reaksi dengan senyawa lain, ion-ion logam, maka aktivitas biokimiawinya berkurang. Perubahan konformasi alamiah menjadi

konformasi tidak menentu merupakan suatu proses yang disebut denaturasi (Ikmalia 2008).

Pemisahan protein merupakan tahap yang harus dilakukan untuk mempelajari sifat dan fungsi protein. Protein dapat dipisahkan dari protein jenis lain atau dari molekul lain berdasarkan ukuran, kelarutan, muatan, dan afinitas ikatan. Salah satu teknis yang digunakan untuk melihat profil protein dan menentukan berat molekulnya yaitu menggunakan SDS-PAGE (Dewi 2013).

Perhitungan dilakukan pada marker dengan perhitungan nilai Rf (*Retardation factor*). Nilai Rf diperoleh dengan pembagian jarak pergerakan protein dari tempat awal dengan jarak pergerakan warna dari tempat awal. Nilai Rf tersebut dan nilai log dari Berat Molekul (BM) marker kemudian dimasukkan pada rumus regresi linear dengan rumus $Y=a+bX$ (Mahasri et al. 2010).

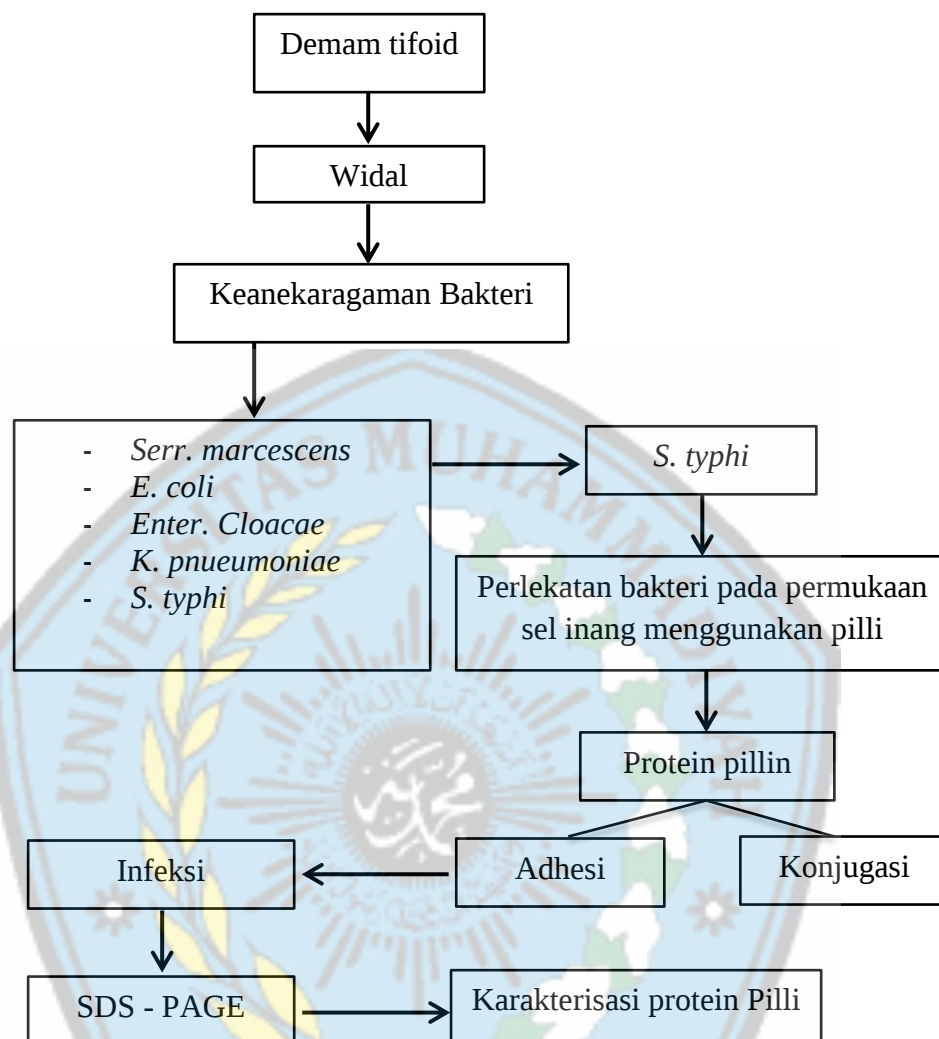
2.7. SDS-PAGE

Elektroforesis adalah suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu campuran berdasarkan pergerakan partikel-partikel koloid yang bermuatan dibawah pengaruh medan listrik. Cara elektroforesis telah digunakan untuk menganalisa protein, enzim, virus, dan asam nukleat (Bintang 2010). Analisis protein dengan metode SDS-PAGE bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Prinsip dasar SDS-PAGE ini adalah denaturasi protein oleh *sodium dodecyl sulphate* yang dilanjutkan dengan pemisahan molekul berdasarkan berat molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel, dalam hal ini digunakan poliakrilamid (Pasila 2008).

Zat lain yang digunakan adalah Temed sebagai inisiator terjadinya polimerisasi dan amonium persulfat (APS) sebagai katalisator. Pemberian Temed dan APS harus disesuaikan dengan kebutuhan karena apabila terlalu banyak dapat menyebabkan protein teroksidasi dan perubahan pada *buffer*, sedangkan pemakaian APS yang terlalu sedikit dapat memperlambat reaksi sehingga polimerasi akan berjalan lambat. Pemilihan konsentrasi gel yang tepat juga menentukan keberhasilan pemisahan fraksi protein karena menentukan besar pori-pori matriks gel, makin tinggi konsentrasi gel maka pori yang terbentuk semakin kecil. Pemakaian *Laemmli buffer* dalam penelitian ini bertujuan agar fraksi protein saat di *running* dapat terpisah dengan sempurna. Pencucian dengan *Electroda buffer* bertujuan untuk menghantarkan listrik agar cairan sampel dapat turun ke dasar *plate*. Pemberian asam asetat diperlukan untuk menghentikan reaksi agar pewarnaan tidak terlalu gelap sehingga dapat terbaca (Pasila 2008).

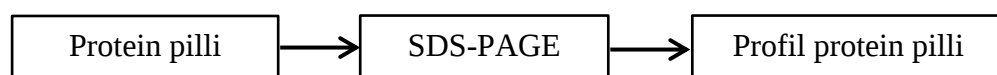
Elektroforesis SDS-PAGE dinilai lebih menguntungkan dibandingkan elektroforesis yang lainnya. Hal ini disebabkan karena besarnya pori medium penyangga serta perbandingan konsentrasi akrilamid dan bis-akrilamid. Selain itu, gel ini tidak menimbulkan konveksi dan bersifat transparan. Medium penyangga dibuat dari reaksi polimerisasi akrilamid dan bis-akrilamid bersama merkaptotetanol digunakan untuk merusak struktur tiga dimensi protein, hal ini terjadi akibat reduksi ikatan disulfide membentuk gugus sulfidril yang dapat mengikat SDS sehingga protein bermuatan sangat negatif dan bergerak ke arah kutub positif (Bintang 2010).

2.8. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori Karakterisasi Protein Pilli *Salmonella typhi* SLT-1 Serovar H1-J Dengan SDS-PAGE

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep Karakterisasi Protein Pilli *Salmonella typhi* SLT-1 Serovar H1-J Dengan SDS-PAGE