

MIKROBIOLOGI DAN PARASITOLOGI PENGETAHUAN TERKINI DAN APLIKASINYA

**Yuyun Nisaul Khairillah
I Putu Bayu Mayura
Hendri Satria Kamal Uyun
Lukman Harun
Anggraini Putri Utami
Menik Kasiyati
Sari Niswatul Muthi'ah
Adriani
Qurrota A'yun
Afifah Nur Shobah**



GET PRESS INDONESIA

MIKROBIOLOGI DAN PARASITOLOGI PENGETAHUAN TERKINI DAN APLIKASINYA

Penulis :

Yuyun Nisaul Khairillah
I Putu Bayu Mayura
Hendri Satria Kamal Uyun
Lukman Harun
Anggraini Putri Utami
Menik Kasiyati
Sari Niswatul Muthi'ah
Adriani
Qurrota A'yun
Afifah Nur Shobah

ISBN :

Editor : Dr. Oktavianis, M.Biomed.

Penyunting : Ilda Melisa, A.Md., Kep.

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd

Penerbit : GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Redaksi :

Jln. Palarik Air Pacah No 26 Kel. Air Pacah
Kec. Koto Tangah Kota Padang Sumatera Barat
Website : www.getpress.co.id
Email : adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, Juli 2024

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan
dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT dalam segala kesempatan. Sholawat beriring salam dan doa kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Alhamdulillah atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis telah menyelesaikan Buku Mikrobiologi Dan Parasitologi Pengetahuan Terkini Dan Aplikasinya ini.

Buku Ini Membahas Bakteriologi Dasar, Pemeriksaan Jenis Bakteri, Sterilisasi Dan Desinfeksi, Immunologi, Respon Imun Pada Infeksi Virus, Virologi, Jenis Sampel, Identifikasi Bakteri Dan Pengecatan, Pengantar Parasitologi, Jenis - Jenis Parasit.

Proses penulisan buku ini berhasil diselesaikan atas kerjasama tim penulis. Demi kualitas yang lebih baik dan kepuasan para pembaca, saran dan masukan yang membangun dari pembaca sangat kami harapkan.

Penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian buku ini. Terutama pihak yang telah membantu terbitnya buku ini dan telah mempercayakan mendorong, dan menginisiasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi masyarakat Indonesia.

Padang, Juli 2024

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB 1 BAKTERIOLOGI DASAR.....	1
1.1 Pendahuluan.....	1
1.2 Morfologi dan Struktur Bakteri	2
DAFTAR PUSTAKA.....	13
BAB 2 PEMERIKSAAN JENIS BAKTERI	15
2.1 Pendahuluan.....	15
2.2 Pewarnaan dengan Pengamatan Mikroskop.....	15
2.2.1 Pewarnaan	16
2.2.2 Pengamatan Mikroskop	21
2.3 Pengamatan Koloni Bakteri pada Media Kultur	22
2.3.1 Klasifikasi Media	23
2.3.2 Pemilihan Media Kultur pada Pemeriksaan Rutin Bakteriologi.....	26
2.3.3 Pengamatan Karakteristik koloni.....	32
2.4 Pemeriksaan Biokimia.....	32
2.4.1 Uji enzim bakteri.....	33
2.4.2 Uji metabolisme bakteri	38
2.4.3 Uji penting lainnya.....	44
2.4.4 Sistem identifikasi komersial	47
2.5 Pemeriksaan Molekuler	48
2.5.1 Metode hibridisasi	48
2.5.2 Metode amplifikasi	52
2.5.3 Metode identifikasi tipe strain	59
2.5.4 Metode sequencing dan DNA microarray	60
2.6 Pemeriksaan Imunokimia.....	61
2.6.1 Uji presipitasi	62
2.6.2 Uji aglutinasi partikel	63
2.6.3 Uji imunofluoresens.....	64
2.6.4 Enzyme immunoassays (EIA)	65
DAFTAR PUSTAKA.....	70

BAB 3 STERILISASI DAN DESINFEKSI	71
3.1 Sterilisasi	71
3.2 Metode sterilisasi Fisik.....	73
3.2.1 Sterilisasi Pemijaran.....	73
3.2.2 Metode panas kering.....	73
3.2.3 Sterilisasi panas basah	74
3.3 Metode Sterilisasi kimia	76
DAFTAR PUSTAKA	80
BAB 4 IMUNOLOGI.....	81
4.1 Pendahuluan	81
4.2 Sistem Imunitas Tubuh	82
4.2.1 Immunologi Alamiah (Innate)	84
4.2.2 Imunitas Didapat (Adaptive)	88
4.3 Antigen dan Antibodi	90
DAFTAR PUSTAKA	93
BAB 5 RESPON IMUN PADA INFEKSI VIRUS.....	95
5.1 Pendahuluan	95
5.2 Virus dan Jalur Infeksi.....	96
5.3 Sistem Imunitas Bawaan.....	99
5.3.1 Pattern Recognition Receptor	100
5.3.2 Toll-like Receptor	100
5.3.3 C-type Lectin Receptors	102
5.3.4 Retinoic acid Inducible gene-I (RIG-1) like Receptors (RLRs).....	103
5.3.5 Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (NLRs)	103
5.3.6 Sensor DNA Sitoplasma dan Jalur Persinyalan Downstream / Hilir	104
5.3.7 Sel Imunitas Bawaan dalam Respon Antivirus.....	106
5.4 Sistem Imunitas Adaptif	107
5.4.1 Sel B dan Antibodi	108
5.4.2 Sel T.....	109
5.4.3 Natural killer T.....	109
5.5 Virus Melawan Sistem Imunitas	109
5.5.1 Interferensi Presentasi Antigen Virus pada Molekul MHC Kelas I.....	110

5.5.2 Penghindaran Antibodi dengan Variasi	
Antigen	110
5.5.3 Perubahan Sinyal PRR dan Respon IFN	111
5.5.4 Bersembunyi di Sel Imun dan Latensi Virus.....	111
DAFTAR PUSTAKA.....	112
BAB 6 VIROLOGI.....	115
6.1 Pendahuluan.....	115
6.2 Klasifikasi Virus.....	116
6.2.1 Klasifikasi Virus oleh Komite Internasional	
Taksonomi Virus (ICTV)	116
6.2.2 Klasifikasi Virus Berbasis Struktur	117
6.2.3 Klasifikasi Baltimore.....	117
6.2.4 Klasifikasi Virus Berdasarkan Materi Genetik.....	118
6.2.5 Klasifikasi Virus Berdasarkan Keberadaan	
Selubung.....	118
6.2.6 Klasifikasi Virus Berdasarkan Struktur Kapsid	
dan Bentuk Virus.....	118
6.2.7 Klasifikasi Virus Berdasarkan Simetri Struktural....	118
6.3 Struktur Virus	119
6.3.1 Partikel Virus Dibangun Dari Subunit.....	119
6.3.2 Struktur Virus Filamentous Dan Nukleoprotein	119
6.3.3 Struktur Partikel Virus Isometrik.....	120
6.3.4 Partikel Virus Tersembunyi (Terikat Membran).....	121
6.3.5 Partikel Virus Dengan Morfologi Kepala-Ekor	121
6.3.7 Struktur virus	121
6.4 Komposisi Virus.....	124
6.5 Replikasi Virus.....	125
DAFTAR PUSTAKA.....	127
BAB 7 JENIS SAMPEL.....	129
7.1 Pendahuluan.....	129
7.2 Jenis Sampel.....	129
7.2.1 Jenis Sampel Pemeriksaan Bakteri.....	130
7.2.2 Jenis Sampel Pemeriksaan Parasit	132
7.2.3 Jenis Sampel Pemeriksaan Jamur	134
7.2.4 Jenis Sampel Pemeriksaan Virus	135
7.3 Penanganan Sampel.....	137
7.3.1 Teknik Pengambilan Sampel	137

7.3.2 Sampel yang Tidak Dapat digunakan.....	138
7.3.3 Penyimpanan dan Pengawetan Sampel	138
7.3.4 Pengiriman Sampel.....	138
7.3.5 Metode Pemeriksaan Sampel	139
DAFTAR PUSTAKA	140
BAB 8 IDENTIFIKASI BAKTERI DAN PENGECATAN	143
8.1 Pendahuluan	143
8.2 Identifikasi Bakteri	144
8.2.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis	144
8.2.2 Identifikasi bakteri secara mikroskopis	145
8.2.3 Identifikasi bakteri secara biokimia.....	146
8.2.4 Identifikasi bakteri secara molekuler	150
8.3 Pengecatan Bakteri.....	151
8.3.1 Pengecatan sederhana	152
8.3.2 Pengecatan negatif.....	152
8.3.3 Pengecatan diferensial.....	152
8.3.4 Pewarnaan khusus.....	154
DAFTAR PUSTAKA	156
BAB 9 PENGANTAR PARASITOLOGI	159
9.1 Pendahuluan	159
9.2 Klasifikasi Parasit	160
9.3 Jenis-Jenis Parasit.....	163
9.3.1 Berdasarkan Habitat.....	163
9.3.2 Berdasarkan Ukuran.....	163
9.3.3 Berdasarkan Inang yang Dihuni.....	164
9.3.4 Berdasarkan Siklus Hidup	164
9.4 Tipe Inang.....	164
9.5 Simbiosis	165
9.6 Siklus Hidup Parasit.....	166
9.7 Transmisi Parasit.....	168
9.8 Patogenesis dari Parasitik	169
DAFTAR PUSTAKA	170
BAB 10 JENIS-JENIS PARASIT	171
10.1 Pendahuluan	171
10.2 Penggolongan Parasite.....	172
10.2.1 Penggolongan Parasite Berdasarkan Tempat Hidup Parasite.....	173

10.2.2 Penggolongan Parasite Berdasarkan Jenisnya.....	173
DAFTAR PUSTAKA.....	187
BIODATA PENULIS	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Jenis Mikroskop pada Pemeriksaan Mikrobiologi +, umum; ±, terbatas; -, jarang.....	22
Tabel 4.1. Characteristics Innate Immunity	87
Tabel 9.1. Organisme yang mengalami siklus hidup langsung yang hanya membutuhkan satu inang (manusia)	166
Tabel 9.2. Organisme dengan siklus hidup tidak langsung/kompleks; memerlukan satu inang definitif dan satu inang perantara.....	167
Tabel 9.3. Organisme dengan siklus hidup tidak langsung/kompleks; memerlukan satu inang definitif dan dua inang perantara.....	167

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Bentuk – bentuk bakteri <i>coccus</i>	3
Gambar 1.2. Bakteri bentuk <i>Sarkina</i>	4
Gambar 1.3. Bakteri bentuk <i>Diplococcus</i> dan <i>Streptococcus</i>	5
Gambar 1.4. Bakteri bentuk <i>Staphylococcus</i>	5
Gambar 1.5. Bakteri bentuk <i>Monobasil</i> dan <i>Diplobasil</i>	6
Gambar 1.6. Bakteri berbentuk <i>Streptobasil</i>	6
Gambar 1.7. Bentuk – bentuk bakteri spiral	7
Gambar 1.8. Perbedaan dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negative	9
Gambar 1.9. Struktur membran plasma bakteri	10
Gambar 1.10. Tipe – tipe endospora pada bakteri.....	11
Gambar 2.1. Bentuk dan Susunan Morfologi Bakteri.....	18
Gambar 2.2. Prosedur Pewarnaan Gram.....	18
Gambar 2.3. A. Bakteri Gram Positif, B. Bakteri Gram Negatif	19
Gambar 2.4. Prosedur Pewarnaan Bakteri Tahan Asam (BTA).....	20
Gambar 2.5. A. Basil BTA-Positif, B. Basil BTA-Negatif .	21
Gambar 2.6. A. <i>Legionella pneumophila</i> pada media pengaya BCYE, B. <i>E. coli</i> (panah A) dan <i>Enterococcus spp.</i> (panah B) pada media <i>non-selective Sheep Blood Agar</i> , C. <i>Enterococcus spp.</i> pada media selektif PEA, D. Batang gram negatif yang memfermentasi laktosa berwarna ungu tua (panah A) dan batang gram negative yang tidak memfermentasi laktosa berwarna merah muda atau tidak berwarna pada media diferensial MacConkey.....	25
Gambar 2.7. Pertumbuhan bakteri pada media diferensial <i>Sheep Blood Agar</i>	26

Gambar 2.8.	A. <i>E. coli</i> menunjukkan fermentasi laktosa pada media HE, B. <i>Shigella spp.</i> Menunjukkan tidak memfermentasi laktosa pada media HE, C. <i>Salmonella spp.</i> Menunjukkan menghasilkan H ₂ S pada media HE.....	28
Gambar 2.9.	Pertumbuhan berbagai bakteri pada thioglycollate broth.	31
Gambar 2.10.	Pertumbuhan berbagai bakteri pada XLD agar.....	31
Gambar 2.11.	Ciri morfologi koloni dan istilah deskriptif untuk koloni bakteri.....	32
Gambar 2.12.	A. Uji katalase menunjukkan katalase positif (kiri) dan katalase negatif (kanan), B. Uji mikrodase menunjukkan mikrodase positif (kiri) dan mikrodase negatif (kanan).34	
Gambar 2.13.	Uji Koagulase	34
Gambar 2.14.	A. Uji LAP menunjukkan LAP positif (kiri) dan LAP negatif (kanan), B. Uji oksidase menunjukkan oksidase positif (kiri) dan koagulase negatif (kanan)	35
Gambar 2.15.	A. Uji tabung indol menunjukkan indol positif (kiri) dan indol negatif (kanan), B. Uji spot indol menunjukkan indol positif (kiri) dan indol negatif (kanan)	36
Gambar 2.16.	A. Uji urease menunjukkan urease positif (kiri) dan urease negatif (kanan), B. Uji PYR menunjukkan PYR positif (kiri) dan PYR negatif (kanan)	37
Gambar 2.17.	A. Uji OPNG menunjukkan OPNG positif (kiri) dan OPNG negatif (kanan), B. Uji hidrolisis hipurat menunjukkan hasil positif (kiri) dan hasil negatif (kanan)	17
Gambar 2.18.	Uji TSI.....	39
Gambar 2.19.	A. Fermenter, B. Oxidizer, C. Non-glucose utilisier	39

Gambar 2.20.	A. Uji MR positif, B. Uji MR negatif, C. Uji VP positif, D. Uji VP negatif	40
Gambar 2.21.	Uji LIA.....	41
Gambar 2.22.	Uji Dekarboksilase Moeller A. Uji dekarboksilase positif, B. Uji dekarboksilase negatif, C. Kontrol	42
Gambar 2.23.	Uji Hidrolisis Eskulin A. Uji hidrolisis eskulin positif, B. Kontrol.....	42
Gambar 2.24.	A. Uji sitrat positif pada <i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i> , B. Uji sitrat negatif pada <i>E.</i> <i>coli</i> , C. Uji asetat positif pada <i>E. coli</i> , D. Uji asetat negatif pada <i>Shigella sonnei</i> , E. Uji piruvat positif pada <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> , F. Uji piruvat negatif pada <i>Enterococcus faecium</i>	44
Gambar 2.25.	A. Uji optochin positif (ditemukan adanya zona hambat pertumbuhan (halo) pada <i>S. pneumonia</i>), B. Uji optochin negatif (tidak ditemukan zona hambat (halo) pada kelompok α - <i>streptococcus</i>), C. Uji bacitracin positif (ditemukan adanya zona hambat pertumbuhan (halo) pada <i>S. pyogenes</i>), D. Uji bacitracin negatif (tidak ditemukan zona hambat (halo) pada kelompok β - <i>streptococcus</i>	45
Gambar 2.26.	A. Uji motilitas positif pada <i>E. coli</i> , B. Uji motilitas negatif pada <i>S. aureus</i> , C. Uji toleransi garam positif pada <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> , D. Uji toleransi garam negatif pada <i>Streptococcus bovis</i> , E. Uji MRS positif pada <i>Lactobacillus lactis</i> , F. Uji MRS negatif pada <i>E. coli</i>	46
Gambar 2.27.	A. Positif ditemukan halo pada disk XV saja, B. Positif ditemukan halo pada disk XV dan disk V, C. Negatif, tidak ditemukan halo pada sekitar disk XV, disk V maupun disk X.....	47

Gambar 2.29. A. Panel tes biokimia (API ; bioMerieux, Inc., Hazelwood, MO), B. Kartu Vitek (API ; bioMerieux, Inc., Hazelwood, MO).	48
Gambar 2.29. Prinsip hibridisasi asam nukleat.....	50
Gambar 2.30. A. Reaksi hibridisasi pada medium pendukung padat, <i>Southern blotting</i> , B. Reaksi hibridisasi dalam larutan	52
Gambar 2.31. Pada siklus pertama DNA untai ganda akan menjadi untai tunggal setelah melalui proses denaturasi.....	55
Gambar 2.32. A. Analisis produk PCR yang diwarnai dengan ethidium bromida menunjukkan perpindahan amplikon pada gel agarosa yang divisualisasikan menggunakan lampu UV. B. Analisis <i>real time</i> PCR pada virus herpes simpleks (HSV) dinilai dari peningkatan fluoresensi reporter seiring dengan akumulasi dari produk PCR yang dipresentasikan dalam bentuk grafik dengan sumbu Y sebagai intensitas fluoresensi dan sumbu X merujuk kepada jumlah siklus. Dapat dilihat terbentuk fluoresen <i>peaks</i> pada kontrol positif dari HSV (HSV PC) dan <i>internal control</i> β -actin (terdapat pada semua manusia). Sedangkan untuk sampel <i>non-template control</i> pada HSV dan β -actin tidak menunjukkan adanya fluoresen <i>peaks</i>	57
Gambar 2.33. Sistem investigasi exo-antigen (Immuno-Mycologics, Inc., Norman, Okla.)	62
Gambar 2.34. A. Uji aglutinasi lateks, B. Uji koaglutinasi.....	64
Gambar 2.35. A. <i>direct fluorescent antibody</i> (DFA), B. <i>indirect fluorescent antibody</i> (IFA)	65
Gambar 2.36. A. <i>direct-solid phase immunosorbent assays</i> (SPIA), B. <i>indirect-solid phase immunosorbent assays</i> (SPIA).....	67

Gambar 2.37. Kit komersial <i>membrane-bound</i> SPIA untuk <i>respiratory syncytial virus</i> (RSV) A. Hasil positif, B. Hasil negatif.....	68
Gambar 2.38. Skema/alur identifikasi bakteri (tidak berlaku untuk bakteri anaerob).....	69
Gambar 3.1. Oven Sterilisasi Metode panas kering	74
Gambar 3.2. Autoklaf.....	75
Gambar 4.1. Sistem Imunitas Tubuh	83
Gambar 4.2. Innate Immunity	85
Gambar 4.3. Immune Response to Microba.....	86
Gambar 4.4. T cell response	88
Gambar 4.5. T Antigen	90
Gambar 4.6. T Antibodi	92
Gambar 5.1. Berbagai macam bentuk virus	97
Gambar 5.2. Pengenalan pola (PRR) Skema TLR.....	102
Gambar 5.3. Jalur Utama Persinyalan <i>Pattern</i> <i>recognition receptors</i> (PRRs).....	105
Gambar 5.4. Respon Sistem Imunitas Adaptif	108
Gambar 7.1. Kultur darah pada media agar	130
Gambar 7.2. (a). Bentuk wadah feses, (b). Sampel feses	131
Gambar 7.3. Sampel urine	132
Gambar 7.4. Teknik kerokan kulit.....	133
Gambar 7.5. Alat Swab Vagina.....	134
Gambar 7.6. Perbedaan Metode RT-PCR dan Rapid Test Antibody.....	137
Gambar 7.7. <i>Cool box</i>	139
Gambar 8.1. Bentuk morfologi koloni bakteri	145
Gambar 8.2. Interpretasi hasil dari Uji SIM (kiri), fermentasi	147
Gambar 8.3. Interpretasi hasil uji voges proskauer (A), uji urease (B) dan uji katalase (C).....	150
Gambar 8.4. Hasil pewarnaan gram pada bakteri. Bakteri gram positif (kiri) dan bakteri gram negatif (kanan).	
Gambar 8.5. Interpretasi hasil pewarnaan basil tahan asam <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	154

Gambar 9.1. Dua kelas utama parasit arthropoda	160
Gambar 9.2. Tiga kelompok utama cacing parasit.....	161
Gambar 9.3. Empat kelompok utama protozoa berdasarkan alat gerak dan sitoskeletal khusus	162
Gambar 10.1. (A) Zooparasit; (B) Fitoparasit; (C) Spirochaeta; (D) Virus.....	172
Gambar 10.2. Morfologi <i>Toxoplasma gondii</i> (A) Takizoit; (B) Bradizoit	174
Gambar 10.3. Apusan sampel darah penderita malaria dengan pewarna Giemsa; (A) Gametosit <i>P. falciparum</i> dan trofozoit <i>P. ovale</i> , (B) Gametosit <i>P. ovale</i> ; (C) Gametosit <i>P.</i> <i>falciparum</i> ; (D) Trofozoit <i>P. falciparum</i>	175
Gambar 10.4. <i>Entamoeba histolytica</i> dalam tinja dan gambaran patologis amebiasis usus.....	176
Gambar 10.5. Morfologi <i>T.vaginalis</i> ; (1) <i>T.vaginalis</i> pada mikroskop langsung 400X; (2) <i>T.vaginalis</i> dalam Giemsa 1000X; (3) <i>T.vaginalis</i> dalam kultur (CPLM) 400X; (4) <i>T.vaginalis</i> pada pewarnaan PAPS 100X.....	177
Gambar 10.6. Trofozoit <i>Giardia lamblia</i> ; (A) Bentuk tetesan air mata, struktur binukleat, dan empat pasang flagella; (B) Kista bernoda; (C) kista tidak bernoda.....	178
Gambar 10.7. Morfologi <i>Trypanosoma evansi</i> ; (A) apusan darah; (B) pewarnaan Giemsa	179
Gambar 10.8. Morfologi <i>Leishmania</i> spp.	179
Gambar 10.9. Trofozoit <i>Balantidium coli</i>	180
Gambar 10.10. <i>Ascaris lumbricoides</i>	181
Gambar 10.11. <i>Enterobius vermicularis</i>	181
Gambar 10.12. <i>Necator americanus</i>	181
Gambar 10.13. Mikrofilaria <i>Wuchereria bancrofti</i> dengan sedikit inflamasi sel	182

Gambar 10.14. Cacing dewasa <i>Fasciola hepatica</i> yang diisolasi dari sapi yang terinfeksi; (A) hati sapi yang terinfeksi cacing dewasa <i>F. hepatica</i> .; (B) dan (C) Cacing dewasa <i>F. hepatica</i> diekstraksi dari hati sapi ternak yang terinfeksi	183
Gambar 10.15. Cacing pita <i>Taenia saginata</i>	184
Gambar 10.16. <i>Musca domestica</i>	185
Gambar 10.17. Nyamuk <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i> , dan <i>Culex</i> pada berbagai tahap kehidupan.....	185
Gambar 10.18. <i>Sarcoptes scabiei</i>	186

BAB 1

BAKTERIOLOGI DASAR

Oleh Yuyun Nisaul Khairillah

1.1 Pendahuluan

Bakteriologi merupakan suatu cabang ilmu yang mempelajari kehidupan mikroorganisme yang berfokus pada bakteri. Secara umum bakteri termasuk dalam katagori makhluk hidup bersel tunggal atau lebih di kenal dengan uni seluler. Selain itu juga bakteri memiliki kekhususan lain antara lain bakteri tidak mempunyai klorofil sehingga hal inilah yang membedakan bakteri berbeda dengan mikroorganisme lainnya. Dalam persebarannya bakteri memiliki cakupan yang lebih luas juga bila dibandingkan dengan organisme lainnya. Bakteri juga memiliki sifat kekhususan lain yaitu bakteri dapat hidup dari berbagai kondisi lingkungan baik yang menguntungkan maupun dalam keadaan tercekam.

Bakteri umumnya juga memiliki struktur yang khas yaitu memiliki struktur yang halus dan tersusun dari bagian luar maupun bagian dalam anatar lain bagian falgellum, bagian pilus, bagian fimbrie, kapsul, dinding sel, ribosom, mesosom, nukleotida. Bahkan beberapa jenis bakteri juga menghasilkan spora sebagai salah satu bentuk dari pertahanan dirinya ketika kondisi lingkungan tidak memungkinkan (Pal and Demissie, 2014).

Bakteri di alam ada yang bersifat menguntungkan ada juga yang memiliki dampak yang merugikan bagi kehidupan. beberapa jenis bakteri yang merugikan dapat menyebabkan penyakit baik bagi hewan, tumbuhan bahkan manusia. Sehingga persebaran dan pertumbuhannya harus di hambat. Bahkan beberapa jenis bakteri yang merugikan harus di bunuh. Untuk mengurangi adanya persebaran penyakit yang di timbulkan oleh beberapa jenis bakteri yang merugikan atau lebih dikenal dengan jenis bakteri patogen. Adapun tujuan dari pengendalian dalam upaya untuk menghambat serta membunuh bakteri antara lain yaitu untuk mnghilangkan bakteri yang tidak di inginkan seperti berbagai jenis bakteri patogen

yang dapat memberikan dampak negatif serta meniadakan beberapa jenis bakteri kontaminan dalam suatu medium pertumbuhan yang akan digunakan dalam proses pertumbuhan bakteri.

Terdapat beberapa tahapan yang dapat digunakan dalam mengatasi pertumbuhan bakteri yang tidak dikehendaki seperti melakukan upaya sterilisasi untuk memastikan seluruh alat dan bahan bebas dari berbagai jenis bakteri kontaminan, desinfeksi digunakan untuk mengurangi pertumbuhan bakteri ataupun mikroorganisme yang merugikan ke tingkatan bahaya yang lebih rendah agar bisa mengurangi dampak yang ditimbulkan serta penggunaan beberapa jenis antibakteri termasuk berbagai jenis antibiotik yang dapat menghambat atau membunuh bakteri patogen (Bintsis, 2017).

Bakteri dapat ditumbuhkan dalam kondisi tertentu maupun dengan kondisi yang menyerupai tempat alami hidupnya dengan beberapa treatment tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam kondisi tertentu harus memperhatikan beberapa aspek penting antara lain jenis medium pertumbuhan yang digunakan serta kandungan nutrisinya (Pal and Demissie, 2014).

1.2 Morfologi dan Struktur Bakteri

Bakteri memiliki ukuran yang sangat kecil. Butuh suatu alat bantu yang akan digunakan ketika ingin mengamati morfologi suatu bakteri yaitu mikroskop. Secara umum bakteri memiliki ukuran yang berbeda – beda antara lain :

1. Ukuran 1 micron (μm) = 1/1000 milimeter (mm)
2. Ukuran 1 nanometer (nm) = 1/1000 micron (μm)
3. Ukuran 1 Angstrom unit ($\text{\AA}$) = 1/10 nm (nanometer)

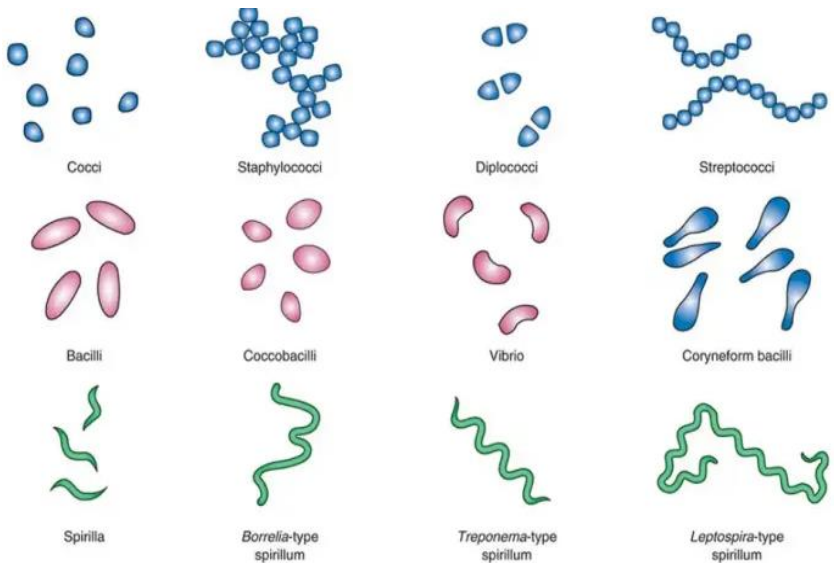
Umumnya bakteri masih bisa teramati dengan mata telanjang tanpa menggunakan alat bantu apabila ukuran bakteri berada pada kisaran 200 μm . Secara umum bakteri memiliki panjang berkisar antara 2,0 – 5,0 μm dengan panjang rata – rata yaitu berkisar antara 0,2 – 1,5 μm (Mamizuka, 2006).

Terdapat beberapa jenis bakteri patogen diketahui memiliki ukuran 0,4 – 2 μm . Pengamatan ukuran berbagai jenis bakteri

sangat penting dilakukan karena untuk mempermudah dalam identifikasi jenis bakteri. Identifikasi ini yang nantinya akan menjadi data pendukung dalam identifikasi selanjutnya seperti menggunakan pengujian biokimia. Umumnya bakteri memiliki berbagai bentuk antara lain jenis *Coccus* (bulat), *Basil* (batang), dan juga spiral (Trivedi, Pandey and Bhadauria, 2010).

1. Bentuk *Coccus* (bulat)

Bakteri yang berbentuk *coccus* atau bulat dikenal juga dengan nama sferis. Beberapa contoh dari bakteri berbentuk *coccus* atau bulat ialah *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria* dan lain sebagainya. Bentuk – bentuk bakteri *coccus* dapat terlihat pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1. Bentuk – bentuk bakteri *coccus*
(Sumber : (Hiremath, 2015))

Bakteri yang tergolong dalam katagori berbentuk *coccus* terbagi lagi atas :

a) *Monococcus*

Monococcus merupakan jenis bakteri yang mempunyai bentuk bulat tunggal. Contohnya pada jenis bakteri *Neisseria gonorrhoeae*, yang menyebabkan kencing nanah.

b) *Diplococcus*

Diplococcus merupakan jenis bakteri dengan bentuk bulat namun memiliki kekhususan yaitu bulat bergandengan. Contohnya pada jenis bakteri *Diplococcus pneumoniae* yang menyebabkan penyakit pneumonia atau yang lebih di kenal dengan penyakit radang paru – paru.

c) *Sarkina*

Sarkina merupakan jenis bakteri berbentuk bulat dengan karakteristik bulat yang berkelompok. Bakteri ini umumnya membentuk kelompok empat – empat. Sehingga bentuk bakteri ini terlihat seperti kubus . Gambar bakteri berbentuk *Sarkina* terlihat pada Gambar 1.2.



Gambar 1.2. Bakteri bentuk *Sarkina*

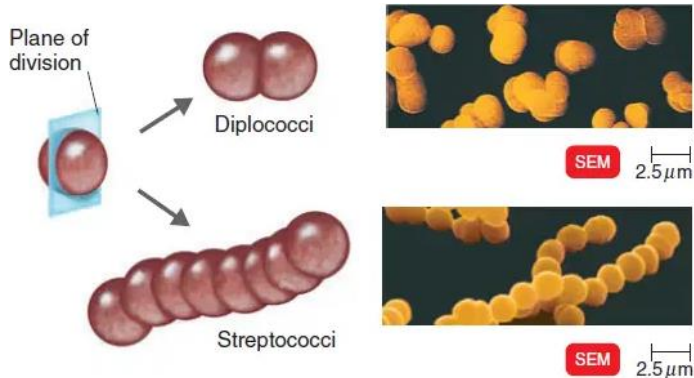
(Sumber : (Hiremath, 2015))

d) *Streptococcus*

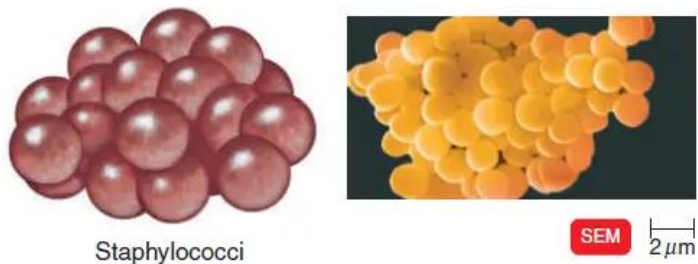
Streptococcus, merupakan jenis bakteri yang mempunyai bentuk bulat. Namun pada jenis bakteri bentuk ini membentuk bulat dengan formasi berkelompok memanjang seperti rantai. Bakteri berbentuk *Diplococcus* dan *Streptococcus* terlihat pada Gambar 1.3.

e) *Staphylococcus*

Staphylococcus, merupakan jenis bakteri yang mempunyai bentuk bulat. Namun pada jenis bakteri ini membentuk bulat sekelompok sel yang tidak teratur atau lebih dikenal dengan bentuk seperti anggur (Al-hamadany, 2017), terlihat pada Gambar 1.4.



Gambar 1.3. Bakteri bentuk *Diplococcus* dan *Streptococcus*
(Sumber : (Hiremath, 2015))



Gambar 1.4. Bakteri bentuk *Staphylococcus*
(Sumber : (Hiremath, 2015))

2. Bentuk *Basil*

Bakteri yang memiliki bentuk *Basil* dikenal juga dengan bentuk batang atau dikenal juga dengan nama bakteri berbentuk silinder. Jenis bakteri berbentuk basil dapat di jumpai pada beberapa spesies bakteri antara lain *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi*. Bakteri berbentuk *Basil* (batang) di kelompokkan lagi menjadi beberapa jenis antara lain:

a) *Monobasil* (bakteri batang tunggal)

Monobasil merupakan jenis bakteri yang memiliki bentuk batang tunggal. Contoh bakteri berbentuk batang tunggal ialah *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*.

b) *Diplobasil*

Diplobasil merupakan jenis bakteri batang yang umumnya berkelompok membentuk pasangan dua – dua. Contoh bakteri berbentuk batang berpasangan dua –dua yaitu pada *Renibacterium salmoninarum*. Bakteri berbentuk *Monobasil* dan *Diplobasil* terlihat pada Gambar 1.5.



Gambar 1.5. Bakteri bentuk *Monobasil* dan *Diplobasil*
(Sumber : (Kumar, 2016))

c) *Streptobasil*

Streptobasil merupakan jenis bakteri batang berantai. Contoh jenis bakteri ini ialah *Azotobacter* sp dan *Bacillus anthracis*. Bakteri berbentuk *Streptobasil* (Kumar, 2016), terlihat pada Gambar 1.6.

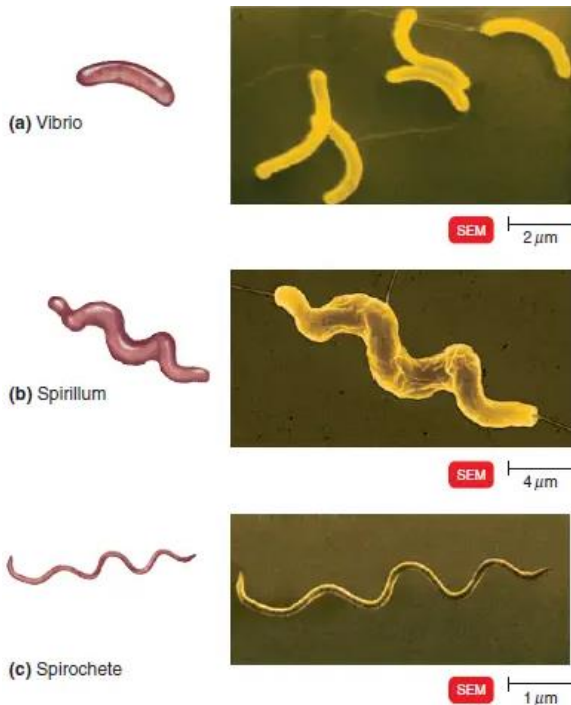


Gambar 1.6. Bakteri berbentuk *Streptobasil*
(Sumber : (Kumar, 2016))

3. Bentuk Spiral

Bakteri berbentuk spiral merupakan bakteri yang memiliki bentuk melilit atau di sebut juga dengan spirillum. Secara umum bakteri berbentuk spiral atau spirillum di bagi menjadi 3 kelompok (Bentuk – bentuk bakteri spiral terlihat pada Gambar 1.7) yaitu :

- Spiral*, merupakan bakteri yang memiliki bentuk seperti spiral. Contoh bakteri yang memiliki bentuk spiral ialah *Helicobacter pylori*.
- Vibrio*, merupakan jenis bakteri yang memiliki bentuk seperti koma. Contoh bakteri yang memiliki bentuk seperti koma ialah *Vibrio cholerae*.



Gambar 1.7. Bentuk – bentuk bakteri spiral
(Sumber : (Kumar, 2016))

- Spirochaeta*, merupakan jenis bakteri yang memiliki bentuk seperti spiral tetapi memiliki kelenturan pada saat melakukan pergerakan. Seperti pada saat melakukan

pengerutan tubuh serta pemanjangan tubuh bakteri. Adapun contoh bakteri yang memiliki bentuk seperti spiral namun lentur ialah *Treponema pallidum*. Jenis bakteri ini merupakan penyebab penyakit sifilis (Alexander N. Glazer, 2007).

Umumnya, struktur pada bakteri dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

1. Struktur bagian dasar
Struktur bagian dasar yang ada pada bakteri dapat meliputi adanya bagian dinding sel, membran sel bakteri, sitoplasma, dan DNA.
2. Struktur Tambahan
Struktur tambahan biasanya meliputi adanya kapsul, flagellum, fimbria, volatin serta endospora.

Fungsi dari masing – masing struktur bakteri :

1. Dinding sel

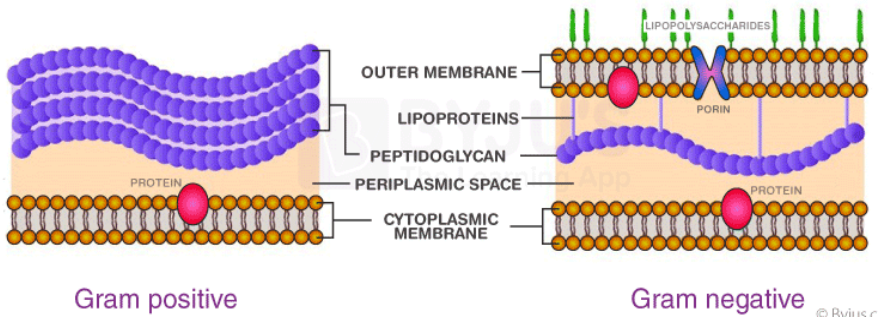
Dinding sel pada bakteri memiliki fungsi yang sangat vital. Selain itu dinding sel pada bakteri umumnya berfungsi sebagai menjaga turgiditas sel dan juga melindungi sel. Dinding sel pada bakteri umumnya terletak diantara membran plasma dan kapsul selai itu juga tersusun atas peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan gabungan antara protein dan polisakarida (Brown *et al.*, 2020).

Sedangkan berdasarkan struktur dinding sel penyusunnya, bakteri dibedakan menjadi dua jenisnya bakteri Gram – negatif dan Gram – positif. Perbedaan dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif terlihat pada Gambar 1.8.

Bakteri Gram positif umumnya memiliki lapisan Gram yang masih tertinggal. Lapisan peptidoglikan memiliki ketebalan yang berbeda – beda seperti komposisi berikut ini ialah Peptidoglikan lebih tebal dengan kisaran sekitar (15 – 18 mm) kandungan lipidnya sekitar (1 – 4 %). Sedangkan untuk bakteri Gram positif mengandung suatu asam teikoat pada dinding selnya dan ketika dilakukan pewarnaan dinding selnya akan

menyerap warna ungu atau violet. Contohnya yaitu pada bakteri (*Lactobacillus bulgaricus*).

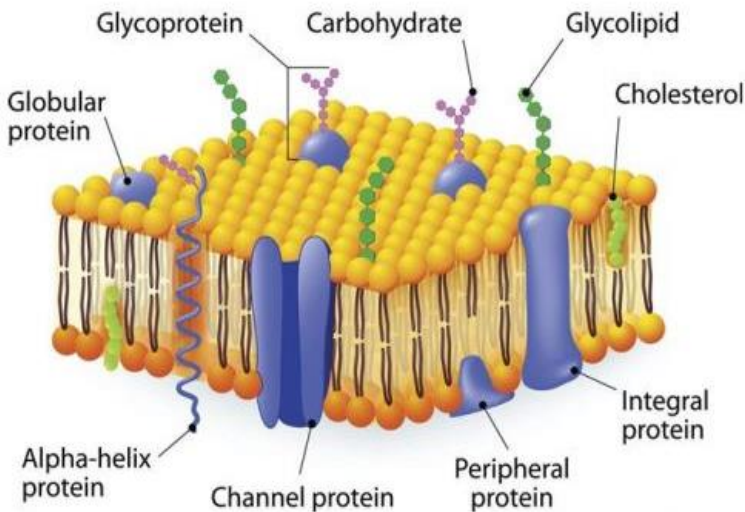
Bakteri Gram negatif memiliki karakteristik yang berbeda dengan bakteri Gram positif, dimana bakteri gram negatif memiliki kandungan lipoprotein, petidoglikan, dan lipopolisakarida. Kandungan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif itu lebih tipis bila dibandingkan dengan bakteri gram positif. Sedangkan untuk kandungan lipid pada bakteri Gram negatif cukup tinggi yaitu sekitar 11 – 22 %. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif terikat secara kovalen antara membran plasma dan membran luar. Pada bakteri Gram negatif memiliki enzim degradasi pada bagian periplasma dengan konsentrasi yang tinggi. pemberian perlakuan pewarnaan bakteri pada jenis bakteri Gram negatif akan memberikan warna merah. Contoh bakteri Gram negatif yaitu pada *Salmonella typhi* (Kshikhundo and Itumhelo, 2016).



Gambar 1.8. Perbedaan dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif
(Sumber : (Sandle, 2018))

2. Membran Plasma

Membran plasma merupakan suatu lapisan yang memiliki karakteristik yaitu selektif permeable. Dimana membran ini akan mengatur seluruh zat masuk dan keluar sel. Umumnya membran plasma tersusun atas protein dan fosfolipid (Kshikhundo and Itumhelo, 2016). Struktur membran plasma terlihat pada Gambar 1.9.



Gambar 1.9. Struktur membran plasma bakteri
(Sumber : (Sandle, 2018))

3. Sitoplasma

Sitoplasma merupakan suatu cairan yang terdapat dalam sel dan memiliki fungsi yang sangat penting yaitu sebagai tempat terjadinya proses metabolisme sel yang akan menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri. Di dalam sitoplasma juga terdapat jenis organel lainnya seperti ribosom, spora, garnula, dan juga DNA (Parry *et al.*, 2014).

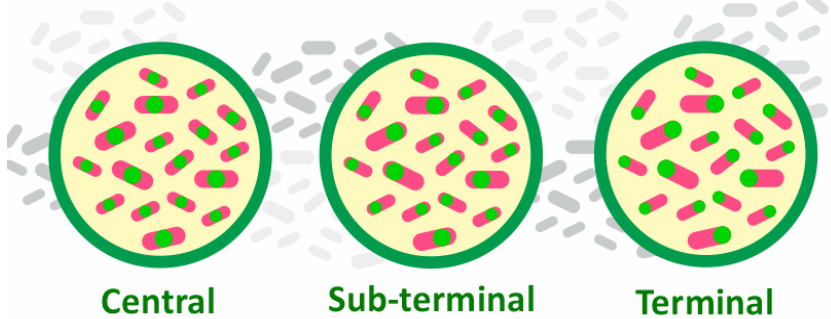
4. Ribosom

Ribosom merupakan bagian dalam sel yang memiliki fungsi sebagai tempat terjadinya proses sintesis protein. Dalam mekanismenya sintesis protein akan di bantu oleh RNA antara lain mRNA, rRNA, dan tRNA. Ribosom juga memiliki ukuran yang sangat kecil dankompleks berkisar antara 10 – 20 nm .

Ribosom pada organisme prokariotik disebut dengan ribosom 70S yang terbagi menjadi subunit 30S dan juga 50S. Ribosom 30S (16S RNA). Sedangkan 50S (23S dan 5S RNA). Huruf S pada ribosom menunjukkan unit Svedbreg. Svedbreg merupakan suatu tanda laju pengendapan pada saat proses sentrifugasi di kecepatan tinggi (Parry *et al.*, 2014).

5. Endospora

Endospora merupakan suatu kondisi bakteri, dimana bakteri akan mengkondisikan dirinya pada lingkungan tertentu. Bakteri akan menghasilkan endospora apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan. Endospora yang dihasilkan bakteri akan memiliki dinding yang tebal, tahan lama, memiliki kemampuan dormansi serta tahan terhadap kondisi panas.



Gambar 1.10. Tipe – tipe endospora pada bakteri
(Sumber : (Kumar, 2016))

Endospora yang dihasilkan bakteri memiliki ciri – ciri khusus antara lain :

- Umumnya endospora akan dihasilkan oleh jenis bakteri dari spesies *Clostridium*, *Bacillus* dan *Sporosarcina*.
- Memiliki ketahanan terhadap proses pemanasan yang tinggi, proses pengeringan, serta desinfektan.
- Dapat menghasilkan sel vegetatif apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan.

Berdasarkan lokasi pembentukannya, endospora dibedakan menjadi beberapa tipe yaitu endospora yang berada di bagian ujung sel (terminal), endospora yang berada di bagian tengah (sub terminal), serta endospora yang berada di bagian tengah (central), terlihat pada gambar 10 (Apriliani and Biologi, 2021).

6. Kapsul

Kapsul pada bakteri merupakan suatu lapisan luar yang memiliki fungsi yang sangat penting. Adapun fungsi dari kapsul

bakteri ialah sebagai perlindungan sel, baik dalam lingkungan yang tidak menguntungkan seperti cekaman maupun serangan dari fagositosis. Selain itu juga kapsul dari bakteri berfungsi dalam proses antitoksin. Kapsul pada bakteri juga tersusun atas protein kompleks dan polisakarida dengan berbagai komposisi.

Kapsul pada bakteri juga memiliki peran penting karena berkaitan dengan sifat keganasan atau patogenitas. Hal ini dikarenakan beberapa jenis bakteri memiliki kandungan yang dapat bersifat fagositik (Milla and Santos-lo, 2021).

7. Flagellum

Bakteri memiliki alat gerak berupa flagellum yang membantu dalam proses pergerakan. Flagel pada bakteri umumnya memiliki panjang yang beranekaragam berkisar antara 3 -20 um dengan diameter berkisar antara 0,01 – 0,013 um. Flagel pada bakteri memiliki beberapa tipe diantaranya ialah :

- a. Monotrik, yaitu flagel yang terdapat pada ujung bakteri. Contohnya pada *Vibrio cholera*
- b. Amfitrik, yaitu flagel yang terdapat di kedua ujung bakteri. Contohnya pada *Alkaligenes faecalis*
- c. Lofotrik, yaitu flagel yang terdapat salah satu atau kedua ujung bakteri. Contohnya pada *Spirillia*
- d. Peritrik, yaitu flagel yang terdapat di seluruh permukaan tubuh bakteri. Contohnya pada *Typhoid bacilli*.

Adanya mekanisme pergerakan flagel bakteri akan mendorong bakteri untuk melakukan pergerakan melingkar seperti searah dengan ukuran jumlah panjang tubuhnya. Sedangkan pergerakan flagel ganda bakteri akan berlawanan dengan arah jarum jam (Sala, 2009).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-hamadany, W. (2017) 'Isolation and Identification of Gram Positive Cocci Bacterial Pathogens from Sappurative Otitis Media Infections', (July). doi: 10.30539/iraqijvm.v37i1.345.
- Alexander N. Glazer, H. N. (2007) *Microbial Biotechnology Fundamental of applied Microbiology*. Second Edi. Cambride University Press.
- Apriliani, D. and Biologi, D. (2021) 'VIABILITY AND PRODUCTION CALCIFYING BACTERIAL ENDOSPORE ON SAND-CEMENT CARRIER', 8(1), pp. 8–13.
- Bintsis, T. (2017) 'Foodborne pathogens', *AIMS Microbiology*, 3(3), pp. 529–563. doi: 10.3934/microbiol.2017.3.529.
- Brown, A. R. *et al.* (2020) 'Review Chemical Biology Tools for Examining the Bacterial Cell Wall', *Cell Chemical Biology*. Elsevier Ltd., 27(8), pp. 1052–1062. doi: 10.1016/j.chembiol.2020.07.024.
- Hiremath, P. S. (2015) 'Identification and classification of cocci bacterial cells in digital microscopic images Identification and classification of cocci bacterial cells in digital microscopic images Parashuram Bannigidad *', (May). doi: 10.1504/IJCBDD.2011.041414.
- Kshikhundo, R. and Itumhelo, S. (2016) 'Bacterial species identification', 3, pp. 26–38.
- Kumar, S. (2016) *Textbook of Microbiology*. Essentials of Microbiology.
- Mamizuka, E. M. (2006) *Bacterial genomes and infectious diseases*, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. doi: 10.1590/s1516-93322006000400021.
- Milla, S. and Santos-lo, A. (2021) 'The bacterial capsule is a gatekeeper for mobile DNA', pp. 4–7. doi: 10.1371/journal.pbio.3001308.
- Pal, M. and Demissie, K. (2014) 'Microbial Food Safety: A Challenge to Public Health Source water treatment Efficacy View project', *Beverage & Food World*, 41(February 2015). Available at: <https://www.researchgate.net/publication/271701096>.

- Parry, B. R. *et al.* (2014) 'The bacterial cytoplasm has glass-like properties and is fluidized by metabolic activity', *National Institut of Health*, 156(0), pp. 183–194. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.028.The.
- Sala, F. (2009) 'Structure and Function of Bacterial Flagella', *Italian Journal of Zoology*, 4137(1972). doi: 10.1080/11250007209430052.
- Sandle, T. (2018) 'Guide to Bacterial Identification', (October).
- Trivedi, P. C., Pandey, S. and Bhadauria, S. (2010) *Text Book of Micrbiology*, Aavishkar Publishers, Distributors. Available at: https://rlmc.edu.pk/themes/images/gallery/library/books/Microbiology/Text_Book_of_Microbiology.pdf.

BAB 2

PEMERIKSAAN JENIS BAKTERI

Oleh I Putu Bayu Mayura

2.1 Pendahuluan

Dalam bidang mikrobiologi, mengidentifikasi suatu jenis bakteri merupakan langkah awal yang sangat penting. Perlu dilakukan satu atau lebih jenis pemeriksaan untuk dapat mengetahui jenis bakteri yang akurat. Hal ini dikarenakan, setiap jenis bakteri yang teridentifikasi akan berkaitan dengan perjalanan ilmiah suatu penyakit, jenis antibiotik yang akan diberikan, serta investigasi kejadian atau wabah yang disebabkan oleh jenis bakteri tersebut (Janda, dkk. 2002).

Maka dari itu, untuk menanggulangi terjadinya misidentifikasi bakteri saat dilakukan pemeriksaan jenis bakteri, dalam bab ini akan dibahas jenis dan alur pemeriksaan bakteri dari yang menggunakan metode tradisional (pewarnaan dengan pengamatan mikroskop, pengamatan koloni pada media kultur, serta pemeriksaan secara biokimia) hingga menggunakan metode yang modern (pemeriksaan molekuler dan pemeriksaan imunokimia) (Braga, dkk. 2013).

2.2 Pewarnaan dengan Pengamatan Mikroskop

Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan kasat mata. Untuk dapat melihat gambaran berupa bentuk, struktur, susunan, dan kelompok bakteri diperlukan suatu pemeriksaan dengan pewarnaan dan pengamatan dibawah mikroskop. Pewarnaan yang spesifik dapat dilakukan langsung pada spesimen klinis atau dapat juga dilakukan pada koloni bakteri yang tumbuh pada media kultur padat ataupun cair. Dengan kombinasi pewarnaan bakteri dan pengamatan dibawah mikroskop dapat dengan cepat dan relatif murah dalam memberikan dugaan agen bakteri penyebab infeksi (Bailey dan Scott's. 2014).

2.2.1 Pewarnaan

Memvisualisasikan suatu bakteri cukuplah sulit, bukan hanya karena ukurannya yang kecil tetapi juga karena mereka transparan dan tidak berwarna. Sehingga diperlukan suatu teknik pewarnaan spesifik agar dapat mempelajari sifat-sifat bakteri dan membaginya kedalam kelompok tertentu untuk tujuan diagnostik. Beberapa teknik pewarnaan tersedia diantaranya, yang pertama merupakan teknik pewarnaan sederhana/*simple staining*, dimana sesuai dengan namanya pewarnaan jenis ini hanya menggunakan satu jenis pewarna dan biasanya digunakan untuk memvisualisasikan morfologi bentuk (kokus, batang/basil, spiral) dan susunan (*chains*/rantai, *clusters*/berkelompok, berpasangan, *tetrad*) bakteri (Gambar 2.1) (Cappuccino dan Welsh. 2020; Mahon, dkk. 2011) Teknik pewarnaan berikutnya berupa, pewarnaan diferensiasi/*differential staining*, pada teknik pewarnaan jenis ini menggunakan dua pewarna yang kontras, dimana hal ini biasanya digunakan untuk pengelompokan bakteri kedalam suatu grup atau untuk memvisualisasikan struktur dari sel bakteri (kapsul, flagela, spora, nucleus). Teknik pewarnaan yang terakhir ialah *probe-mediated stain*, pewarnaan jenis bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri seperti *Chlamydia trachomatis*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila* dengan menggunakan *probe* yang akan berikatan dengan DNA bakteri atau antibodi yang dihasilkan dari reaksi inang-patogen. Adapun jenis pewarnaan yang akan dibahas pada bab ini ialah pewarnaan gram/*gram stain* dan pewarnaan bakteri tahan asam/*acid-fast stain* (Cappuccino dan Welsh. 2020).

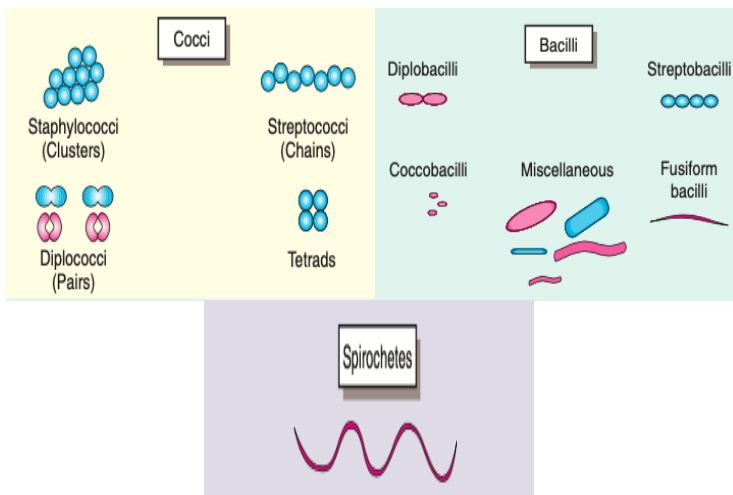
1. Pewarnaan Gram

Pada dasarnya pewarnaan gram merupakan pewarnaan yang paling mudah dan sering dikerjakan di laboratorium mikrobiologi. Selain itu, pewarnaan gram juga dapat memberikan identifikasi dugaan jenis bakteri dengan cepat, dan dapat memberikan petunjuk penting terkait kualitas spesimen serta apakah bakteri tersebut merupakan flora normal yang terkolonisasi pada tempat pengambilan spesimen atau sebaliknya merupakan penyebab terjadinya infeksi yang sebenarnya. Hampir semua bakteri yang penting secara klinis dapat di deteksi menggunakan teknik

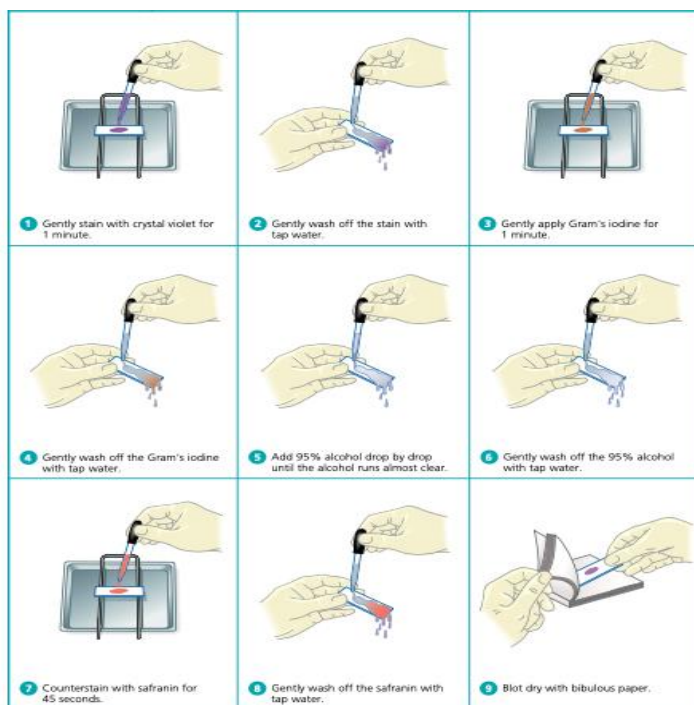
pewarnaan ini kecuali chlamydia, mycoplasma, urea plasma dan spirochetes. Pada pewarnaan ini bakteri akan dikelompokkan kedalam 2 kelompok besar yaitu, bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Bailey dan Scott's. 2014).

Pada prosedur awal pewarnaan gram diperlukan hapusan bakteri pada *object-glass* yang sebelumnya sudah terfiksasi dengan metode pemanasan atau dengan menggunakan methanol. Setelah itu dilanjutkan dengan penambahan pewarna kristal violet dan didiamkan selama 1 menit. Cuci dengan air mengalir kemudian tambahkan pewarna mordant/iodine dan diamkan selama 1 menit. Bilas dengan air mengalir dan tambahkan 95% alkohol sebagai agen dekolorisasi kurang lebih selama 20-30 detik. Cuci kembali dengan air mengalir dan terakhir tambahkan pewarna safranin selama 45 detik. Bilas dengan air mengalir lalu keringkan (Gambar 2.2) (Cappuccino dan Welsh. 2020).

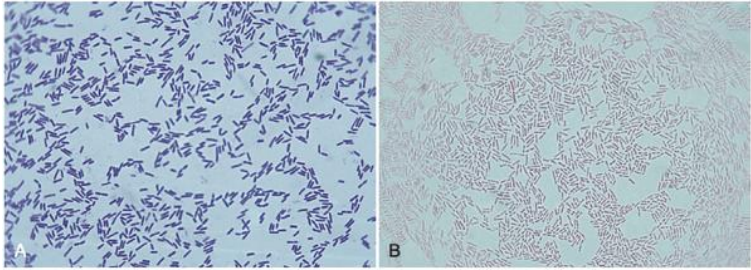
Perbedaan struktur dinding sel pada bakteri gram negatif dan bakteri gram positif memberikan warna yang berbeda pada kedua kelompok tersebut. Pada gram positif akan tampak berwarna biru-keunguan, hal ini dikarenakan kandungan struktur peptidoglikan dan asam teikoat lebih tebal. Ikatan peptidoglikan dan asam teikoat ini yang membuat bakteri gram positif kebal terhadap dekolorisasi alkohol. Sedangkan pada gram negatif kandungan peptidoglikan lebih tipis sehingga rentan terhadap dekolorisasi, dimana pada akhirnya akan mengabsorbsi warna merah dari safranin (Gambar 2.3.) (Bailey dan Scott's. 2014; Mahon, dkk. 2011).



Gambar 2.1. Bentuk dan Susunan Morfologi Bakteri
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.2. Prosedur Pewarnaan Gram
(Sumber: Cappuccino dan Welsh, 2020)



Gambar 2.3. A. Bakteri Gram Positif, B. Bakteri Gram Negatif
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

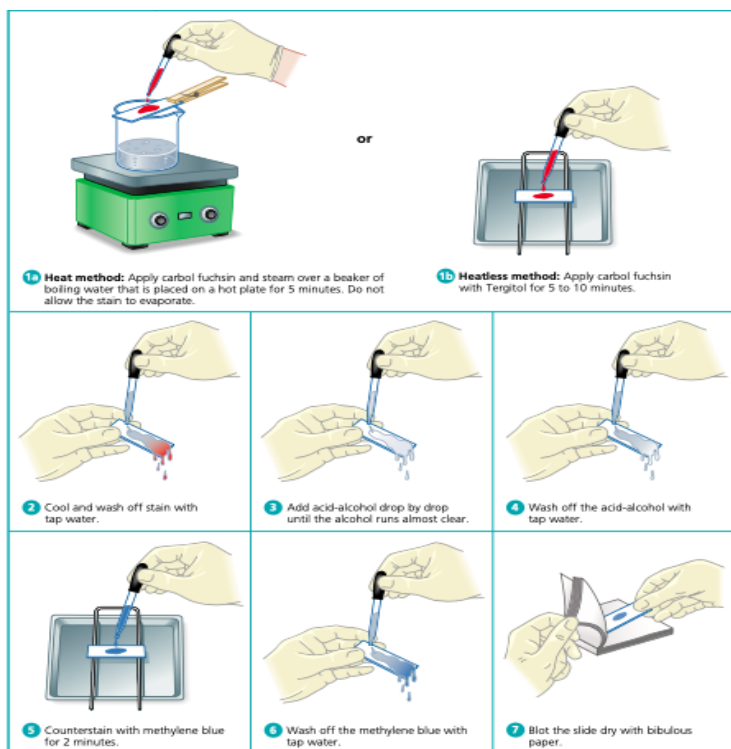
2. Pewarnaan Bakteri Tahan Asam (BTA)

Beberapa bakteri kebal terhadap dekolorisasi oleh asam alkohol, hal ini dikarenakan sekelompok bakteri ini memiliki asam mikolat pada dinding selnya, sehingga kelompok bakteri ini disebut sebagai bakteri tahan asam. Kelompok bakteri ini sangat buruk dalam menyerap warna menggunakan pewarnaan gram. Contoh bakteri tahan asam ialah dari genus *Mycobacterium*, yakni *Mycobacterium tuberculosis*, merupakan agen penyebab terjadinya infeksi tuberkulosis (TBC) dan *Nocardia spp.* (Bailey dan Scott's. 2014 Purwono dkk. 2015).

Pada dasarnya ada dua metode pewarnaan BTA yaitu, metode *Ziehl-Neelsen* atau sering disebut dengan *hot method*, dimana pada teknik ini menggunakan metode pemanasan yang bertujuan agar zat pewarna utama, carbol fuchsin, semakin mudah masuk kedalam sel bakteri. Metode yang lain disebut *Kinyoun method*, pada teknik ini penggunaan unsur panas digantikan dengan agen pembasah (Tergitol®) dengan tujuan mengurangi tegangan antara dinding sel bakteri dan zat pewarna, sehingga zat pewarna utama, carbol fuchsin, pada akhirnya bisa masuk kedalam sel bakteri. Metode kedua ini juga sering disebut dengan *cold method* (Cappuccino dan Welsh. 2020).

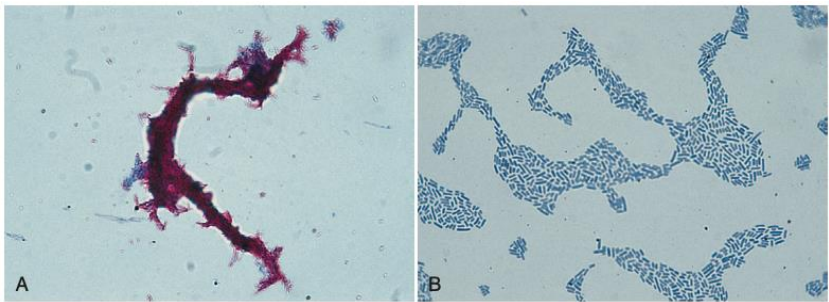
Prosedur awal yang dilakukan ialah hapusan mikobakteria pada *object-glass* yang sudah terfiksasi, apabila menggunakan metode *Ziehl-Neelsen* segera tambahkan zat pewarna carbol fuchsin dan dikukus (*steam*) diatas gelas

kimia yang berisi air mendidih selama 5 menit dan jangan biarkan zat warna menguap, apabila dengan *Kinyoun method*, tambahkan zat pewarna carbol fuchsin dan Tergitol dan diamkan selama 5-10 menit (Gambar 2.4). Tahapan selanjutnya baik metode *Ziehl-Neelsen* atau *Kinyoun* sama yaitu bilas dengan air mengalir dan tambahkan dengan agen dekolorisasi yaitu asam alkohol (3% HCL + 95% alkohol). Sebelum ditambahkan zat pewarna *methylene blue*, sisa asam alkohol sebelumnya dicuci dengan air mengalir. Setelah 1 - 2 menit pemberian zat pewarna *methylene blue*, cuci kembali menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan tisu.



Gambar 2.4. Prosedur Pewarnaan Bakteri Tahan Asam (BTA)
(Sumber: Cappuccino dan Welsh, 2020)

Kelompok bakteri tahan asam akan memperlihatkan warna merah dari carbol fuchsin sedangkan yang bukan dan selain bakteri tahan asam akan memperlihatkan warna biru. Hal ini disebabkan pada bakteri tahan zat warna carbol fuchsin larut dalam lapisan *wax* (asam mikolat) sehingga kebal terhadap agen dekolorisasi, sedangkan yang bukan bakteri tahan asam akan mudah menyerap warna biru dari *methylene blue* dikarenakan tidak adanya lapisan *wax* (asam mikolat) sebagai penghalang agen dekolorisasi (Gambar 2.2.1.4).



Gambar 2.5. A. Basil BTA-Positif, B. Basil BTA-Negatif
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.2.2 Pengamatan Mikroskop

Pengamatan dengan mikroskop merupakan metode yang paling umum dikerjakan di laboratorium mikrobiologi. Dikarenakan ukurannya yang sangat kecil, dengan adanya mikroskop identifikasi morfologi bakteri menjadi lebih mudah. Jenis bahan yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri dengan mikroskop biasanya dapat langsung menggunakan bahan yang berasal spesimen klinis atau dapat juga menggunakan koloni bakteri yang tumbuh pada media agar (Bailey dan Scott's. 2014).

Ada empat jenis mikroskop yang sering digunakan dalam pemeriksaan mikrobiologi diantaranya; mikroskop cahaya (*Brightfield microscopy*), mikroskop fluoresen, mikroskop lapangan gelap (*Darkfield microscopy*), dan mikroskop elektron. Keempat mikroskop tersebut mempunyai fungsi yang berbeda dalam mengidentifikasi mikroorganisme (Tabel 2.1). Mikroskop

cahaya dan mikroskop fluoresen sering digunakan pada pemeriksaan mikrobiologi klinik, sedang mikroskop lapangan gelap dan mikroskop elektron paling sering digunakan untuk keperluan riset mikrobiologi (Bailey dan Scott's. 2014).

Pengamatan dibawah mikroskop baik menggunakan spesimen klinis berupa *swab* langsung atau menggunakan koloni bakteri setelah dilakukan pewarnaan gram ataupun pewarnaan BTA ialah menggunakan pembesaran 100x untuk mengidentifikasi adanya sel darah putih, sel epitel, debris atau organisme lain seperti jamur atau parasit. Setelah itu dilanjutkan pada pembesaran 1000x dengan menambahkan minyak imersi pada *object-glass*. Pada pembesaran 1000x ini perlu dievaluasi morfologi bakteri baik itu berupa warna, bentuk, dan susunan bakteri. Hal ini dimaksudkan untuk memudahkan mengelompokkan bakteri tersebut kedalam kelompok gram positif, gram negatif atau kelompok bakteri tahan asam (Bailey dan Scott's. 2014).

Tabel 2.1. Jenis Mikroskop pada Pemeriksaan Mikrobiologi +, umum; ±, terbatas; -, jarang,

Organisme	Mikroskop Cahaya	Mikroskop Fluoresen	Mikroskop Lapangan Gelap	Mikroskop Elektron
Bakteri	+	+	±	-
Fungi	+	+	-	-
Parasit	+	+	-	±
Virus	-	+	-	±

Sumber: Bailey dan Scott's. 2014

2.3 Pengamatan Koloni Bakteri pada Media Kultur

Pewarnaan dan pengamatan di bawah mikroskop memberikan informasi awal baik itu tentang kelompok bakteri yang terlibat, morfologi bentuk dan susunan bakteri, namun untuk dapat mengidentifikasi dan mengkarakterisasi dengan pasti, bakteri tersebut perlu ditumbuhkan pada sebuah media. Proses penumbuhan suatu mikroorganisme yang diambil dari tempat terjadinya infeksi (*in vivo*) dan ditumbuhkan pada lingkungan

buatan di laboratorium, berupa media kultur (*in vitro*) sering disebut dengan kultivasi/pembudidayaan. Biasanya setelah ditumbuhkan dalam media kultur, populasi bakteri akan lebih mudah diamati secara makroskopis tanpa menggunakan mikroskop (Bailey dan Scott's. 2014).

Sangat tidak mudah bagi suatu organisme untuk menyesuaikan diri dari yang awalnya melakukan metabolisme secara *in vivo* pada inangnya kemudian bertransisi pada lingkungan laboratorium. Keberhasilan suatu organisme untuk dapat tumbuh pada lingkungan laboratorium buatan (*in vitro*) sangat bergantung pada keadaan lingkungan tempat tumbuh dan cakupan nutrisi yang sesuai. Umumnya, kebutuhan nutrisi yang diperlukan oleh bakteri berupa gas, air, berbagai ion, nitrogen, sumber karbon, dan energi. Untuk sumber karbon dan energi biasanya didapat dari karbohidrat seperti gula/turunannya dan protein. Pada lingkungan *in vitro*, nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri biasanya sudah terkandung didalam media kultur bakteri. Berbeda jenis bakteri berbeda pula kebutuhan nutrisi dan media kultur yang digunakan. Beberapa jenis bakteri memerlukan kebutuhan nutrisi yang cenderung kompleks sehingga memerlukan media kultur yang berbeda untuk pertumbuhannya, bakteri jenis ini biasanya disebut bakteri yang rewel (*fastidious bacteria*). Sedangkan kebalikannya adalah *non-fastidious bacteria*, jenis bakteri ini dapat tumbuh menggunakan media kultur dengan kandungan nutrisi mendasar pada umumnya (Bailey dan Scott's. 2014).

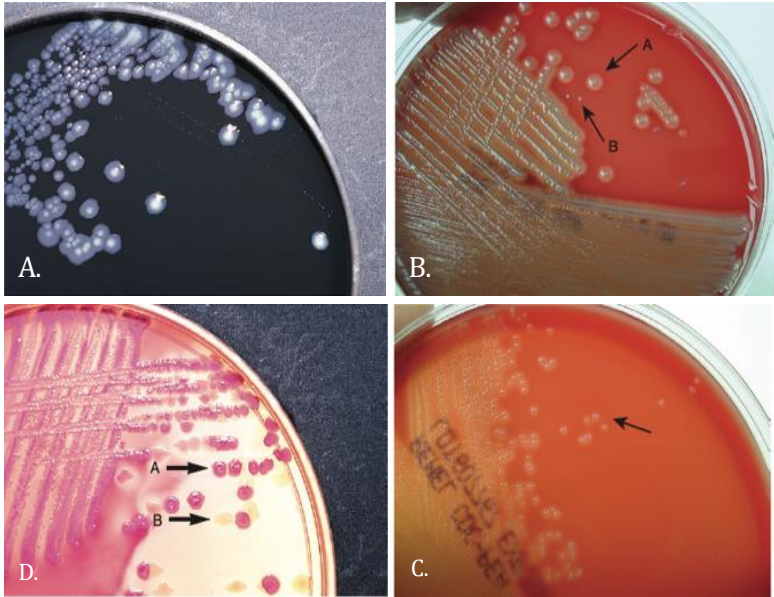
2.3.1 Klasifikasi Media

Dalam mendiagnosis kultur bakteri dikenal empat jenis media kultur yaitu, media pengayaan (*enrichment media*), media nutrisi, media selektif, dan media diferensial. Media pengayaan mengandung nutrisi yang spesifik diperlukan oleh bakteri patogen tertentu sehingga jenis media ini bisa meningkatkan pertumbuhan dari patogen tersebut. Contoh media pengayaan ialah, *buffered charcoal-yeast extract agar* (BCYE), dimana media jenis ini menyediakan kandungan nutrisi spesifik berupa l-cysteine untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri *Legionella pneumophila*, agen

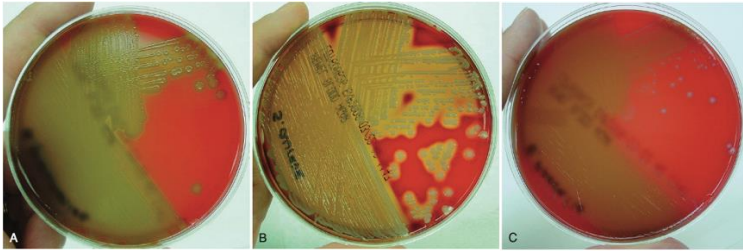
penyebab *Legionnaires' Disease*, tanpa menghambat pertumbuhan bakteri lainnya (Gambar 2.6 (A)). Selain media pengayaan padat, media pengayaan cair juga digunakan pada pengambilan spesimen dari cairan tubuh steril, jaringan, abses yang dalam pada pasien dengan antibiotik ketika tidak ditemukan koloni bakteri yang tumbuh pada media agar padat. Contoh media pengayaan cair adalah thioglycollate untuk bakteri anaerob, *LIM broth* untuk *group B streptococci*, dan *GN broth* untuk *enteric gram-negative*. Media nutrisi atau media suportif mengandung nutrisi yang mensupport pertumbuhan bakteri tanpa mengkhususkan satu organisme saja yang tumbuh, sering digunakan untuk non-fastidious bacteria. Contoh media nutrisi ialah, *triptic soy agar*, *blood sheep agar*, *chocolate agar* dan *nutrient agar* untuk bakteri atau *Sabouraud's dextrose agar* untuk jamur. Media selektif mengandung satu atau lebih bahan kimia yang dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri kecuali bakteri yang diinginkan. Adapaun bahan penghambat yang ditambahkan pada media nutrisi biasanya berupa pewarna, garam empedu, alkohol, senyawa asam, dan antibiotik. Contoh media selektif adalah, phenylethyl alcohol agar (PEA), dimana media jenis ini akan menghambat pertumbuhan batang gram negatif aerobik dan anaerobik fakultatif serta memungkinkan bakteri kokus gram positif untuk tumbuh (Gambar 2.6 (B,C)). Media diferensial biasanya menggunakan beberapa faktor yang memungkinkan koloni suatu jenis bakteri menunjukkan karakteristik metabolik tertentu yang dapat membedakannya dari koloni bakteri lain yang tumbuh pada media kultur yang sama. Contoh media diferensial yang umum digunakan ialah agar MacConkey, dapat membedakan antara gram negatif yang dapat dan tidak dapat memfermentasi gula laktosa (Gambar 2.6(D)) (Bailey dan Scott's. 2014, Murray, dkk. 2007).

Beberapa jenis media mempunyai lebih dari satu fungsi. Misalnya, agar MacConkey merupakan media diferensial tetapi disisi lain juga merupakan media selektif, karena tidak mengijinkan bakteri gram positif untuk tumbuh. Contoh lainnya adalah *sheep blood agar* disatu sisi merupakan media nutrisi karena memungkinkan banyak organisme untuk tumbuh tetapi juga berfungsi sebagai media diferensial, karena kemampuannya dapat

membedakan pola hemolitik pada berbagai jenis bakteri (Gambar 2.7)(Murray, dkk. 2007; Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.6. A. *Legionella pneumophila* pada media pengaya BCYE, **B.** *E. coli* (panah A) dan *Enterococcus spp.* (panah B) pada media *non-selective Sheep Blood Agar*, **C.** *Enterococcus spp.* pada media selektif PEA, **D.** Batang gram negatif yang memfermentasi laktosa berwarna ungu tua (panah A) dan batang gram negatif yang tidak memfermentasi laktosa berwarna merah muda atau tidak berwarna pada media diferensial MacConkey
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.7. Pertumbuhan bakteri pada media diferensial *Sheep Blood Agar*. **A.** *Streptococcus pneumoniae* menunjukkan kehijauan disekitar koloni (α -hemolisis), **B.** *Staphylococcus aureus* menunjukkan jernih disekitar koloni (β -hemolisis), **C.** *Enterococcus faecalis* tidak menunjukkan adanya hemolisis (γ -hemolisis).

(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.3.2 Pemilihan Media Kultur pada Pemeriksaan Rutin Bakteriologi

Tentu saja banyak sekali jenis media kultur baik padat dan cair yang tersedia, namun penting sekali dalam memilih jenis media kultur yang sesuai dengan sumber pengambilan spesimen dalam pemeriksaan rutin untuk menegakkan diagnosis laboratorium bakteriologi. Pemilihan jenis media dari spesimen biasanya didasarkan pada organisme yang paling mungkin terlibat dalam proses penyakit. Contohnya saja, spesimen dari cairan otak atau LCS (*Liquor Cerebro Spinalis*), patogen yang paling mungkin menyebabkan meningitis ialah, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus grup B*, dan pemilihan media tentu saja yang harus mendukung pertumbuhan patogen tersebut, pada kasus ini minimal bisa dipilih media darah dan agar coklat. Pun begitu halnya dengan spesimen yang diambil dari sumber yang rentan terhadap kontaminasi flora normal, misalnya fistula ani (lubang pada permukaan kulit dekat anus yang berkaitan dengan rektum), media yang dapat dipilih ialah media selektif agar Columbia dengan tambahan antibiotik colistin dan *nalidixic acid* (CNA) yang akan

menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, sehingga bakteri gram positif akan tumbuh (Bailey dan Scott's. 2014).

1. *Brain-Heart Infusion* (BHI)

Merupakan media nutrisi dapat berupa agar padat atau media cair dan dengan atau tanpa ditambahkan darah. Media cair BHI sering digunakan untuk menentukan identifikasi bakteri dan kerentanan bakteri terhadap agen antimikroba (Bailey dan Scott's. 2014).

2. Agar Coklat

Patogen yang memerlukan media nutrisi ini untuk pertumbuhannya ialah *Neisseria gonorrhoeae*, agen penyebab penyakit gonore, dan *Haemophilus spp.*, agen penyebab infeksi saluran pernapasan bawah dan infeksi telinga tengah. Kedua patogen tersebut tidak dapat tumbuh pada media darah (Bailey dan Scott's. 2014).

3. *Columbia agar with Colistin and Nalidixic Acid* (CNA) with Blood

Media ini dapat membedakan koloni berdasarkan reaksi hemolisis yang dihasilkan. Selain itu, penambahan antibiotik colistin dan *nalidixic acid* pada media ini bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, sehingga hanya bakteri gram positif saja yang tumbuh. Colistin bekerja dengan cara menghancurkan membran sel dari bakteri gram negatif sedangkan *nalidixic acid* menghambat replikasi DNA pada bakteri gram negatif (Bailey dan Scott's. 2014).

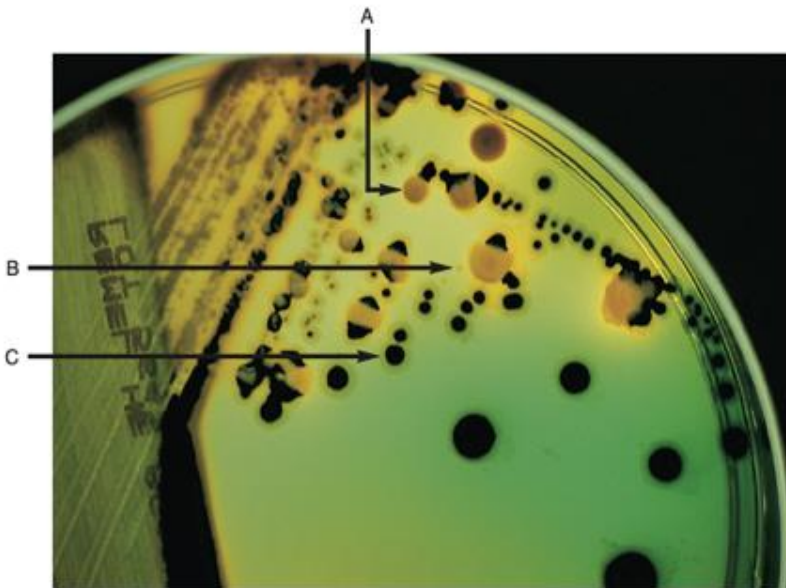
4. Gram-Negative (GN) Broth

Media cair selektif gram negatif ini biasanya digunakan untuk menumbuhkan patogen saluran cerna seperti *Salmonella spp.* dan *Shigella spp.* dimana spesimennya diambil dari tinja atau usapan dubur. Media cair ini mengandung natrium sitrat dan natrium desoksikolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Bailey dan Scott's. 2014).

5. Hektoen Enteric (HE) dan Salmonella-Shigella (SS) Agar

Media agar HE bekerja dengan memperlambat pertumbuhan bakteri batang gram negatif non patogen pada

saluran cerna, sehingga memungkinkan *Salmonella spp.* dan *Shigella spp.* untuk tumbuh. Media ini juga dapat membedakan antara bakteri patogen nonenteric, biasanya koloni akan tampak berwarna oranye salmon, karena hasil dari fermentasi laktosa, sedangkan *Salmonella spp.* dan *Shigella spp.* tidak memfermentasi laktosa sehingga koloni tetap berwarna biru-kehijauan. HE agar media juga membedakan *Salmonella spp.* dan *Shigella spp.* berdasarkan kemampuannya dalam menghasilkan H_2S , dimana *Salmonella spp.* pada media akan menunjukkan koloni berwarna hitam, yang mana mampu menghasilkan H_2S (Gambar 2.8). Media agar SS merupakan media selektif untuk pertumbuhan *Salmonella spp.* dan *Shigella spp.* (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.8. A. *E. coli* menunjukkan fermentasi laktosa pada media HE, B. *Shigella spp.* menunjukkan tidak memfermentasi laktosa pada media HE, C. *Salmonella spp.* menunjukkan menghasilkan H_2S pada media HE.
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

6. Agar MacConkey

Merupakan media selektif dan diferensial yang paling sering digunakan. Media ini bersifat selektif karena mengandung kristal violet untuk menghambat pertumbuhan dari jamur dan bakteri gram positif, sehingga hanya batang gram negatif yang tumbuh. Media ini juga bersifat diferensial karena mengandung *neutral red* sebagai pH indikator, apabila batang gram negatif mampu memfermentasi laktosa koloni akan tampak berwarna *pink* hingga merah, sebaliknya koloni *Shigella spp.* tidak berwarna atau translusen karena tidak memfermentasikan laktosa (Gambar 2.3.1.1(D)) (Bailey dan Scott's. 2014).

7. *Phenylethyl Alcohol (PEA) Agar*

Merupakan media selektif yang pada dasarnya adalah *sheep blood agar* yang dilengkapi dengan *phenylethyl alcohol* untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, sehingga kokus gram positif dapat tumbuh seperti enterokokus, streptokokus, dan stafilokokus. Meskipun media ini mengandung 5% darah, media ini tidak dapat digunakan dalam interpretasi reaksi hemolitik (Gambar 2.8(B,C)) (Bailey dan Scott's. 2014).

8. *Sheep Blood Agar*

Merupakan media nutrisi dikarenakan sebagian besar spesimen bakteriologi yang diinokulasikan pada media ini mendukung pertumbuhan semua bakteri kecuali bakteri yang signifikan secara klinis dan *fastidious*. Media ini juga berperan sebagai media diferensial, dikarenakan mampu membedakan pola hemolitik dari berbagai bakteri. Hal ini dikarenakan, beberapa bakteri mampu menghasilkan enzim yang dapat melisis sel darah merah pada agar. Pola hemolisis yang ditunjukkan pun berbeda oleh setiap bakteri seperti, hemolisis sel darah merah yang menyeluruh/komplit di sekitar koloni (β -hemolisis), hanya mampu melisis sebagian sel darah merah sehingga menghasilkan warna kehijauan disekitar koloni (α -hemolisis), atau sama sekali tidak mampu melakukan

hemolisis (γ -hemolisis) (Gambar 2.9) (Bailey dan Scott's. 2014).

9. *Modified Thayer-Martin (MTM)*

Merupakan media pengayaan (*enrichment*) dan media selektif untuk menumbuhkan bakteri *Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitidis* dari spesimen yang mengandung flora campuran. Dengan penambahan berbagai macam antibiotik membuat media ini menjadi selektif, contohnya, colistin yang menghambat pertumbuhan gram negatif lainnya, vankomisin menghambat pertumbuhan gram positif, trimethoprim menghambat *Proteus spp.*, dan nistatin untuk menghambat pertumbuhan jamur. Versi modifikasi dari media ini adalah, nistatin digantikan dengan ansamycin serta dosis vankomisin yang ditingkatkan (Bailey dan Scott's. 2014).

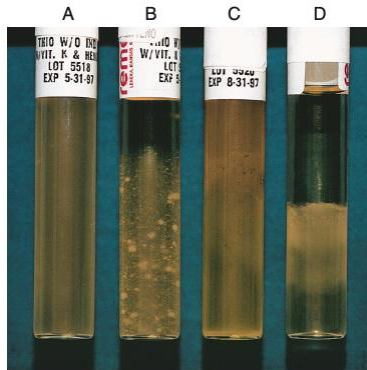
10. *Thioglycollate Broth*

Merupakan media pengayaan (*enrichment*) cair dimana *thioglycollate acid* disini berfungsi sebagai agen reduksi yang menciptakan suasana anaerob pada dasar tabung, sehingga bakteri anaerob dapat tumbuh (Gambar 2.9) (Bailey dan Scott's. 2014).

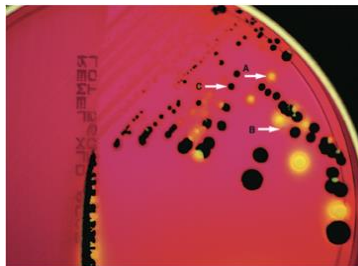
11. *Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) Agar*

Seperti pada media agar HE, agar XLD merupakan media yang bersifat selektif dimana akan menghambat pertumbuhan batang gram negatif yang bukan patogen enterik dan menghambat pertumbuhan gram positif. Sedangkan indikator merah fenol mengindikasikan terjadinya fermentasi terhadap kandungan karbohidrat (laktosa, xilosa dan sukrosa). Pada *Shigella spp.* tidak memfermentasi karbohidrat tersebut, sehingga warna koloni akan tetap tetap tidak mengalami perubahan warna (warna merah). Walaupun *Salmonella spp.* memfermentasi xilosa, warna koloninya juga tidak berubah dikarenakan oleh dekarboksilasi lisin, di lain hal koloni *Salmonella spp.* sering memperlihatkan bagian tengah berwarna hitam diman hal ini disebabkan oleh karena *Salmonella spp.* menghasilkan H_2S . Beberapa organisme nonpatogen yang

memfermentasi satu atau lebih gula biasanya akan menunjukkan koloni yang berwarna kuning (Gambar 2.9) (Bailey dan Scott's. 2014).



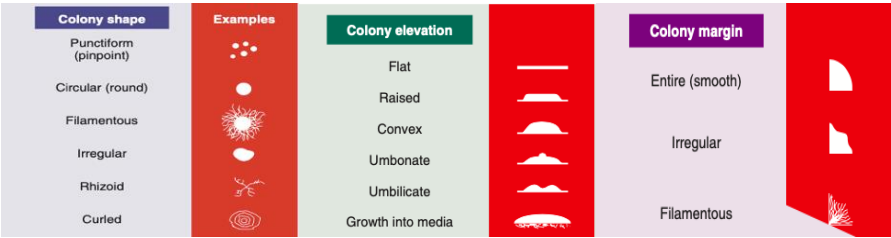
Gambar 2.9. Pertumbuhan berbagai bakteri pada thioglycollate broth. **A.** Batang gram negatif fakultatif anaerob (dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen), menunjukkan bakteri tumbuh menyebar dan merata dikeseluruhan media cair, **B.** Kokus gram positif, menunjukkan flokulasi atau gumpalan, **C.** Bakteri aerob mutlak (memerlukan oksigen untuk tumbuh), *Pseudomonas spp.*, menunjukkan kecenderungan tumbuh ke permukaan media, **D.** Bakteri anaerob mutlak (tidak dapat tumbuh jika terdapat oksigen) menunjukkan bakteri tumbuh pada dasar media. (Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.10. Pertumbuhan berbagai bakteri pada XLD agar. **A.** Bakteri batang gram negatif memfermentasikan laktosa (*Escherichia coli*, panah A), **B.** Bakteri tidak memfermentasi laktosa (*Shigella spp.*, panah B), **C.** Bakteri menghasilkan H₂S (*Salmonella spp.*, panah C). (Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.3.3 Pengamatan Karakteristik koloni

Mengamati karakteristik koloni yang tumbuh pada suatu media pertumbuhan merupakan satu hal yang penting dalam mengidentifikasi suatu bakteri. Keakuratan dalam pengamatan karakteristik koloni ini akan menentukan keberhasilan atau kegagalan prosedur identifikasi ditapan selanjutnya. Adapun beberapa kriteria yang sering digunakan untuk mengkarakterisasi pertumbuhan bakteri pada media pertumbuhan ialah; 1) ukuran koloni (dalam ukuran milimeter (mm), beberapa istilah dalam ukuran koloni, *pinpoint*, kecil, sedang dan besar) ; 2) pigmentasi koloni; 3) bentuk koloni (meliputi bentuk, ketinggian, dan batas koloni) (Gambar 2.11); 4) penampakan permukaan koloni (berkilau/*glistening*, buram/*opaque*, kusam/*dull*, kering/*dry*, dan transparan) ; 5) perubahan dari media agar akibat pertumbuhan bakteri (misalnya, pola hemolitik pada agar darah, perubahan warna indikator pH, atau lubang pada permukaan agar) ; dan 6) Bau (biasanya bakteri tertentu menghasilkan bau berbeda yang dapat membantu dalam identifikasi awal) (Bailey dan Scott's. 2014, Kshikhundo dkk. 2014).



Gambar 2.11. Ciri morfologi koloni dan istilah deskriptif untuk koloni bakteri.
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.4 Pemeriksaan Biokimia

Setelah mengamati secara mikroskopik dan makroskopik melalui pertumbuhan koloni bakteri pada agar, identifikasi jenis bakteri tidak berhenti sampai disini. Perlu dilakukan pemeriksaan lain seperti uji biokimia yang meliputi, uji enzim-enzim yang terlibat

dalam metabolisme bakteri, uji jenis metabolisme yang digunakan oleh bakteri dan beberapa jenis uji lainnya.

2.4.1 Uji enzim bakteri

Uji enzim ini dimaksudkan untuk mengetahui keberadaan satu enzim spesifik (enzim tunggal) atau beberapa jenis enzim yang berbeda dalam suatu jalur metabolisme. Ada beberapa jenis pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan keberadaan enzim tunggal. Biasanya pemeriksaan enzim tunggal ini memberikan hasil yang cepat dan mudah dilakukan. Hasil dari uji enzim tunggal ini memainkan peran kunci dalam menentukan langkah identifikasi selanjutnya. Adapun beberapa jenis uji enzim tunggal disini yaitu uji katalase, uji koagulase, uji mikrodase, uji LAP, uji oksidase, uji indol, uji urease, dan uji PYR (Bailey dan Scott's. 2014)

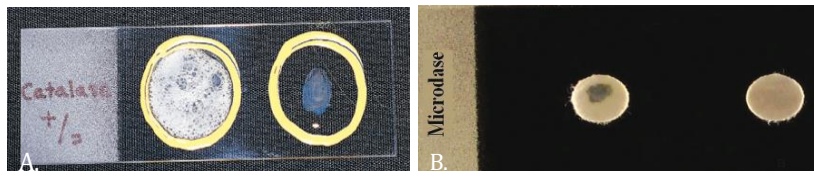
Uji Katalase

Uji ini bertujuan untuk membedakan spesies bakteri dengan katalase positif, *micrococcus* dan *staphylococcus* dengan spesies bakteri katalase negatif, streptokokus. Spesies bakteri mikrokokus dan *staphylococcus* mampu mengubah hasil metabolisme yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) yang dikarenakan kedua jenis bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Keberadaan enzim ini pada pemeriksaan dapat dilihat dengan terbentuknya *bubble*/gelembung ketika koloni bakteri direaksikan dengan 30% hidrogen peroksida pada *slide test* (Gambar 2.12 A) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Koagulase

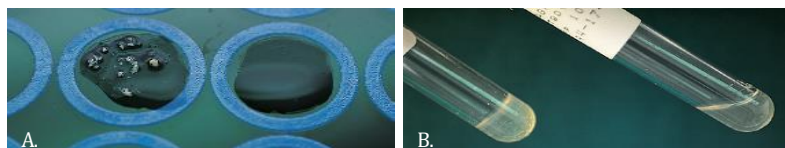
Uji ini membedakan antara *staphylococcus* koagulase positif, *Staphylococcus aureus* dengan spesies *staphylococcus* koagulase negatif. *S. aureus* memiliki 2 bentuk koagulase, koagulase terikat (*bound coagulase/clumping factor*) dan koagulase bebas (*free coagulase*). Pada uji koagulase terikat akan terbentuk gumpalan (*clump*) ketika koloni bakteri *S. aureus* disuspensikan dengan plasma (Gambar 2.13 A). Uji koagulase bebas juga menunjukkan hasil yang sejalan, dimana ketika *S. aureus* diinkubasikan bersama dengan plasma akan membentuk gumpalan (*clot*) melalui aktivasi

dari plasma *coagulase-reacting factor* (CRF) yang membentuk CRF kompleks yang berikatan dengan fibrinogen (Gambar 2.13 B) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.12. A. Uji katalase menunjukkan katalase positif (kiri) dan katalase negatif (kanan), **B.** Uji mikrodase menunjukkan mikrodase positif (kiri) dan mikrodase negatif (kanan).

(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.13. Uji Koagulase A. Uji koagulase terikat menunjukkan koagulase positif (kiri) dan koagulase negatif (kanan), **B.** Uji koagulase bebas menunjukkan koagulase positif (kiri) dan koagulase negatif (kanan)

(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Mikrodase

Uji ini digunakan untuk membedakan bakteri kokus katalase positif, mikrokokus dari stafilocokus. Prinsip dari uji ini ialah mendeteksi enzim oksidase. Adapun uji ini memiliki keterbatasan yaitu, akan memberikan hasil positif pada mikrokokus, namun memberikan hasil negatif pada staphylococcus kecuali *S. sciuri*, *S. lentus* dan *S. vitulus* (Gambar 2.12B) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Leucine Aminopeptidase (LAP)

Uji LAP digunakan untuk identifikasi presumtif dari bakteri kokus katalase negatif. Prinsip dari uji ini untuk mendeteksi adanya enzim *leucine aminopeptidase*. Dengan menggunakan *leucine-beta-*

naphthylamide-impregnated disk, substrat pada disk akan terhidrolisis oleh enzim dan menghasilkan warna merah setelah ditambahkan dengan *cinnamaldehyde* (Gambar 2.4.1.3 A) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.14. A. Uji LAP menunjukkan LAP positif (kiri) dan LAP negatif (kanan), **B.** Uji oksidase menunjukkan oksidase positif (kiri) dan koagulasi negatif (kanan)
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

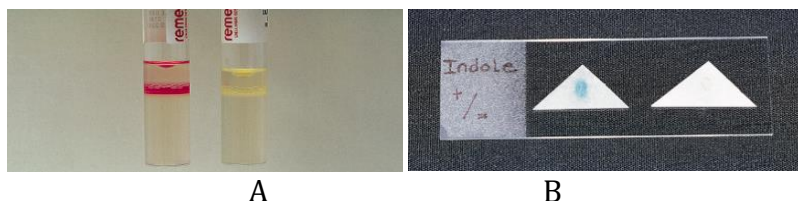
Uji Oksidase

Uji ini menentukan adanya aktivitas dari enzim *cytochrome oxidase* untuk mengidentifikasi organisme Enterobacteriaceae oksidase-negatif yang membedakannya dengan kelompok bakteri gram negatif batang lainnya. Uji ini menggunakan substrat *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*. Enzim *cytochrome oxidase* akan mengoksidasi substrat dan akan terjadi perubahan warna menjadi ungu gelap pada koloni bakteri yang diujikan (Gambar 2.14 B) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Indol

Uji ini digunakan untuk mengidentifikasi organisme penghasil enzim triptofanase. Enzim ini akan menghidrolisis triptofan dan membentuk senyawa piruvat, amonia dan indol. Ketika organisme penghasil enzim ini ditambahkan reagen Kovac (*dimethylamine-benzaldehyde and hydrochloride*) pada media kultur cair akan menghasilkan warna merah. Uji indol juga dapat dilakukan dengan uji spot indol. Yang membedakan disini ialah menggunakan kertas saring yang ditetesi dengan 1% *paradimethylaminocinnamaldehyde* kemudian ditambahkan dengan koloni pada plat agar, dimana positif indol bakteri akan menunjukan

perubahan warna menjadi biru. Uji indol akan memberikan hasil positif pada *Escherichia coli* dan negatif pada *Klebsiella pneumoniae* (Gambar 2.15) (Bailey dan Scott's. 2014).



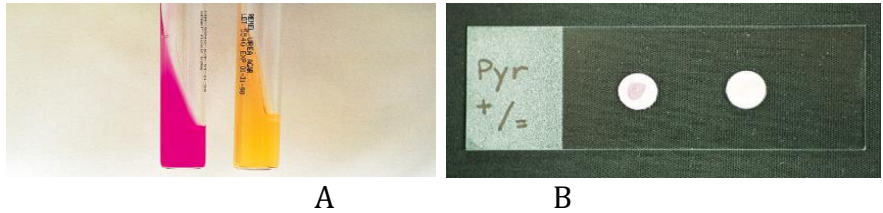
Gambar 2.15. Uji Indol **A.** Uji tabung indol menunjukkan indol positif (kiri) dan indol negatif (kanan), **B.** Uji spot indol menunjukkan indol positif (kiri) dan indol negatif (kanan) (Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Urease

Uji ini digunakan untuk mendeteksi bakteri penghasil enzim urease, *Proteus sp.* Enzim ini akan menghidrolisis urea menjadi amonia dan CO₂ sehingga akan mengubah warna medium urea agar miring menjadi warna *pink* (terjadi perubahan pH menjadi 8.1). Hasil positif kuat ketika perubahan warna *pink* pada medium agar terjadi dalam 24 jam, positif lemah memerlukan waktu beberapa hari untuk mampu merubah warna medium menjadi *pink*, sedangkan hasil negatif ketika tidak ditemukan terjadinya perubahan warna pada media agar (tetap dalam kondisi asam) (Gambar 2.15 A) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji *L*-Pyrrolidonyl Arylamidase (PYR)

Merupakan uji presumtif untuk membedakan antara streptokokus grup A (*S. pyogenes*) dan enterokokus dengan mendeteksi keberadaan enzim *L*-pyrrolidonyl arylamidase. Enzim ini akan menghidrolisis substrat *L*-pyrrolidonyl- β -naphthylamide sehingga menghasilkan β -naphthylamine. β -naphthylamine dapat dideteksi dengan menggunakan reagen N,N-methylaminocinnamaldehyde yang akan menghasilkan presipitat berwarna merah cerah (Gambar 2.16 B) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.16. A. Uji urease menunjukkan urease positif (kiri) dan urease negatif (kanan), **B.** Uji PYR menunjukkan PYR positif (kiri) dan PYR negatif (kanan)
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji o-Nitrophenyl- β -D-Galactopyranoside (ONPG)

Uji ini bertujuan untuk mendeteksi adanya enzim β -galaktosidase dimana enzim ini akan menghidrolisis substrat OPNG menjadi orthonitrophenol yang akan terlihat berwarna kuning. Uji ini membedakan antara kelompok Enterobacteriaceae yang mampu memfermentasi laktosa dan tidak. Uji OPNG positif biasanya pada *Shigella sonnei* dan OPNG negatif pada *Salmonella typhimurium* (Gambar 2.4.1.6 A) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Hidrolisis Hipurat

Uji ini merupakan uji identifikasi presumtif untuk mendeteksi adanya enzim *hippuricase*. Enzim ini akan menghidrolisis asam hipurat sehingga menghasilkan glisin dan asam benzoat. Glisin akan mengalami deaminasi oleh agen oksidasi *ninhydrin* dengan menghasilkan produk akhir berupa perubahan warna menjadi ungu. Hasil positif palsu apabila reagen *ninhydrin* diinkubasikan melebihi 30 menit (Gambar 2.17 B) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.17. A. Uji OPNG menunjukkan OPNG positif (kiri) dan OPNG negatif (kanan), **B.** Uji hidrolisis hipurat menunjukkan hasil positif (kiri) dan hasil negatif (kanan)
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.4.2 Uji metabolisme bakteri

Pada uji metabolisme bakteri ini meliputi ; uji oksidasi dan fermentasi karbohidrat (uji *TSI*, uji OF, uji Mrvp); uji degradasi asam amino (uji LIA, uji dekarboksilasi Moeller, dan uji eskulin) ; dan uji penggunaan substrat tunggal (uji sitrat, uji asetat, dan uji piruvat).

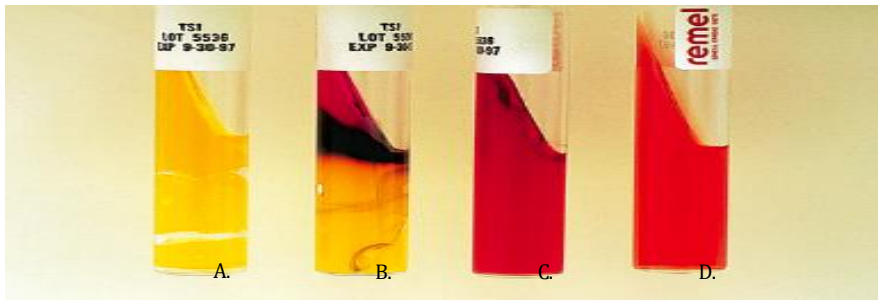
Uji *Triple Iron Sugar (TSI)*

Uji *TSI* digunakan untuk mengetahui apakah bakteri gram negatif batang mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa serta kemampuan untuk membentuk hidrogen sulfida (H_2S). Biasanya uji ini membedakan kelompok *Enterobacteriaceae* dari kelompok bakteri gram negatif batang lainnya. Uji ini menggunakan agar miring dengan *phenol red* sebagai indikator asidifikasi. Asidifikasi yang diamati adalah pada agar miring dan agar yang berada pada dasar tabung, apabila terjadi asidifikasi agar akan berubah menjadi berwarna kuning diberi simbol 'A' dan sebaliknya dibaeri simbol 'K' apabila pH berubah menjadi alkali yang ditandai dengan perubahan warna agar menjadi merah. *Ferrous sulfate* merupakan indikator terbentuknya molekul H_2S pada suasana asam yang ditandai dengan agar yang berwarna hitam pada dasar tabung. Sedangkan untuk pembentukan gas CO_2 dan H_2 diindikasikan dengan terbentuknya *bubbles* atau *cracks* pada agar (Gambar 2.18) (Bailey dan Scott's. 2014).

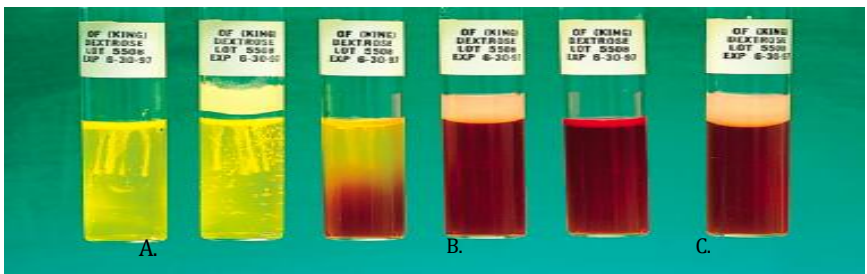
Uji Oksidasi-Fermentasi (OF)

Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah bakteri cenderung mengoksidasi atau memfermentasikan karbohidrat. Berbeda dengan uji *TSI* yang menguji apakah bakteri mampu memfermentasikan 3 jenis karbohidrat, pada uji OF ada 6 jenis karbohidrat yang diujikan seperti ; glukosa, xilosa, manitol, laktosa, sukrosa dan maltosa. Uji OF menggunakan 2 tabung, tabung pertama tanpa ditambahkan minyak (aerob), sedangkan tabung kedua ditambahkan minyak untuk menciptakan lingkungan anaerob. Apabila pada kedua tabung terjadi asidifikasi yang ditandai dengan perubahan warna agar menjadi kuning dipastikan kelompok bakteri merupakan kelompok *fermenter*, contohnya *E. coli*. Apabila asidifikasi terjadi hanya pada tabung yang tidak ditambahkan

minyak (aerob) sedangkan tabung yang lain tidak, ini mengindikasikan bakteri ini tergolong kedalam kelompok *oxidizer*, contohnya *P. aeruginosa*. Jika tidak terjadi asidifikasi ataupun reaksi pada kedua tabung, kelompok bakteri ini tergolong kedalam *non-glucose utiliser*, contohnya *Bacillus subtilis* (Gambar 2.18) (Bailey dan Scott's. 2014).



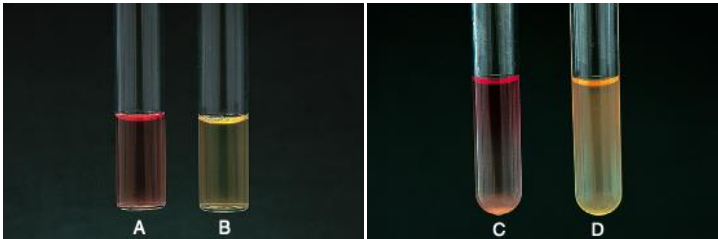
Gambar 2.18. Uji TSI **A.** Asidifikasi pada agar miring dan agar dasar tabung (A/A), gas positif, dan H₂S negatif, **B.** Alkali pada agar miring dan asidifikasi pada agar dasar tabung (K/A), gas negatif, H₂S positif, **C.** Alkali pada agar miring dan agar dasar tabung (K/K), gas negatif, H₂S negatif, **D.** Kontrol
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.19. Uji OF **A.** Fermenter, **B.** Oxidizer, **C.** Non-glucose utiliser
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji MRVP

Uji ini merupakan gabungan antara uji *methyl red* (MR) dan uji Voges-Proskauer (VP), dimana uji ini bertujuan untuk membedakan anggota dari keluarga Enterobacteriaceae. Pada uji ini akan diidentifikasi kemampuan suatu organisme dalam menghasilkan dan mempertahankan asam sebagai produk dari fermentasi glukosa. Pada uji MR, *methyl red* yang ditambahkan setelah inkubasi digunakan sebagai indikator, apabila terbentuk asam akan berubah menjadi warna merah (Gambar 2.20 A, B). Sedangkan Uji VP digunakan untuk mengidentifikasi kemampuan suatu organisme mengubah produk asam menjadi *acetoin* dan 2,3-butanediol. Organisme yang menggunakan jalur VP akan menghasilkan jumlah asam yang lebih kecil sehingga pada saat ditambahkan *methyl red* tidak terjadi perubahan warna dan ketika ditambahkan dengan alpha-naphthol dan potasium hidroksida secara bergantian akan menunjukkan perubahan warna menjadi merah kompleks yang merupakan hasil positif pada uji VP (Gambar 2.20 C, D). *E. coli* akan memberikan hasil MR positif dan VP negatif, sedangkan *Enterobacter aerogenes* akan memberikan hasil MR negatif dan VP positif (Bailey dan Scott's. 2014).

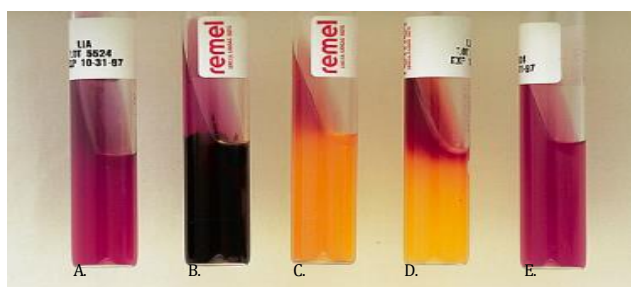


Gambar 2.20. A. Uji MR positif, B. Uji MR negatif, C. Uji VP positif, D. Uji VP negatif
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Lysine Iron Agar (LIA)

Uji ini untuk membedakan bakteri gram negatif batang berdasarkan dekarboksilasi atau deaminasi dari lisin dan pembentukan molekul H_2S . Pada tabung agar miring bersifat aerobik untuk melihat adanya reaksi deaminasi sedangkan pada agar dasar tabung bersifat anaerob untuk melihat reaksi

dekarboksilasi. Ketika terjadi fermentasi glukosa, agar dasar tabung akan berubah menjadi kuning, apabila bakteri memiliki enzim dekarboksilase, agar dasar tabung akan berubah kembali menjadi berwarna ungu (alkali). Hal ini disebabkan oleh senyawa *cadaverine* yang dibentuk oleh dekarboksilase. Namun jika bakteri tidak memiliki enzim dekarboksilase, agar dasar tabung akan tetap berwarna kuning (asam). Jika terjadi deaminasi oksidatif lisin, maka agar miring akan berubah warna dari ungu menjadi merah burgundi. Untuk melihat terbentuknya molekul H₂S, dapat diamati perubahan warna hitam pada media agar (Gambar 2.21) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.21. Uji LIA **A.** Alkali pada agar miring dan agar dasar tabung (K/K) pada *E. coli*, **B.** Alkali pada agar miring dan agar dasar tabung (K/K), H₂S positif pada *Citrobacter freundii* dan *Salmonella typhimurium*, **C.** Alkali pada agar miring, asidifikasi pada agar dasar tabung (K/A), **D.** Merah burgundi pada agar miring dan asidifikasi pada agar dasar tabung (R/A) pada *Proteus mirabilis*, **E.** Kontrol

(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

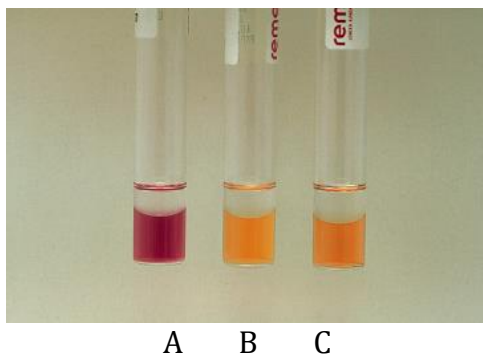
Uji Dekarboksilasi Moeller

Uji ini untuk membedakan *Enterobacteriaceae* penghasil dekarboksilase dengan bakteri gram negatif batang. Uji ini menggunakan tiga jenis asam amino (arginin, lisin, dan ornitin) yang ditambahkan ke masing-masing tabung media. Uji dekarboksilase positif dapat dilihat pada masing-masing tabung dengan perubahan warna medium dari oranye menjadi ungu. Uji dekarboksilase positif pada medium arginin, lisin dan ornitin ialah *Enterobacter cloacae*,

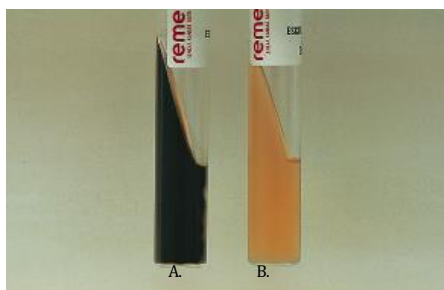
Klebsiella pneumoniae, *Enterobacter aoregenes* secara berurutan (Gambar 2.22) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Hidrolisis Eskulin

Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah bakteri mampu menghidrolisis eskulin glikosida. Adapun eskulin akan dihidrolisis menjadi eskuletin dan akan bereaksi dengan Fe^{3+} dan membentuk presipitat berwarna hitam. Uji ini biasanya berguna untuk mengidentifikasi dan membedakan *Enterobacteriaceae* (Gambar 2.23) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.22. Uji Dekarboksilase Moeller **A.** Uji dekarboksilase positif, **B.** Uji dekarboksilase negatif, **C.** Kontrol
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)



Gambar 2.23. Uji Hidrolisis Eskulin **A.** Uji hidrolisis eskulin positif, **B.** Kontrol
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Sitrat

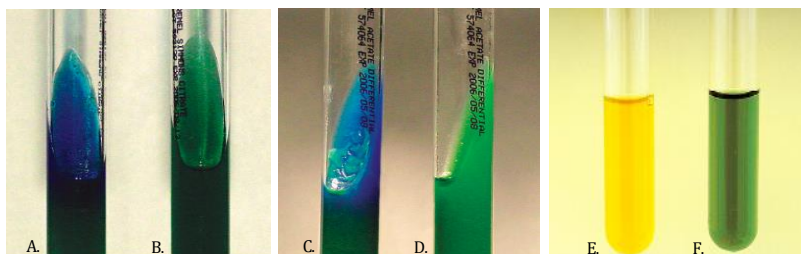
Uji ini untuk membedakan *Enterobacteriaceae* dari bakteri gram negatif batang. Prinsip uji ini ialah mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam menggunakan sumber energi karbon tunggal (sodium sitrat) dan sumber energi nitrogen tunggal (garam amonia). Bakteri yang mampu menggunakan sitrat akan merubah medium dari hijau menjadi biru. Uji sitrat merupakan serangkaian uji yang dilakukan bersamaan dengan uji indol, uji *methyl red*, dan uji Voges-Proskauer yang biasanya disebut dengan IMViC (Gambar 2.24 A,B) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Asetat

Uji ini untuk mengetahui kemampuan suatu organisme dalam menggunakan asetat sebagai sumber energi karbon tunggal, biasanya organisme jenis ini akan dapat tumbuh pada media sodium asetat dan mengubah pH menjadi alkali (dari hijau menjadi biru) Biasanya digunakan untuk membedakan *Shigella sp.* dengan *E. coli* (Gambar 2.24 C,D) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Piruvat

Uji ini untuk membedakan anatara *Enterococcus faecalis* dan *Enterococcus faecium* dalam menggunakan piruvat. Dimana piruvat akan ditambahkan kedalam medium cair, apabila bakteri menggunakan senyawa piruvat, indikataor *bromthymol blue* akan berubah dari warna biru menjadi warna kuning, contohnya pada *Enterococcus faecalis*. Berbanding terbalik dengan *Enterococcus faecium* yang memberikan hasil negatif (Gambar 2.24 E,F) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.24. A. Uji sitrat positif pada *Enterobacter aerogenes*, B. Uji sitrat negatif pada *E. coli*, C. Uji asetat positif pada *E. coli*, D. Uji asetat negatif pada *Shigella sonnei*, E. Uji piruvat positif pada *Enterococcus faecalis*, F. Uji piruvat negatif pada *Enterococcus faecium*
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.4.3 Uji penting lainnya

Uji Optochin

Uji ini untuk membedakan *Streptococcus pneumoniae* dengan anggota kelompok α -*streptococcus* lainnya. Optochin merupakan antibiotik yang akan melisiskan *S. pneumoniae*, menunjukkan sensitif terhadap optochin sedangkan anggota kelompok α -*streptococcus* lainnya akan resisten terhadap optochin, menunjukkan hasil negatif (Gambar 2.25 A,B) (Bailey dan Scott's. 2014).

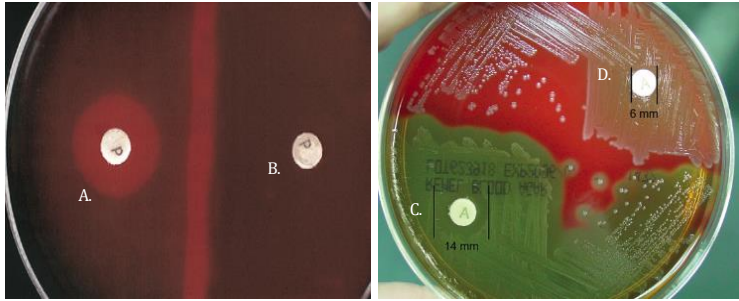
Uji Bacitracin

Uji ini untuk membedakan *Streptococcus pyogenes* dengan anggota kelompok β -*streptococcus* lainnya. Bacitracin merupakan antibiotik yang akan menghambat sintesis dinding sel bakteri *S. pyogenes*, menunjukkan sensitif terhadap bacitracin sedangkan anggota kelompok β -*streptococcus* lainnya akan resisten terhadap bacitracin, menunjukkan hasil negatif (Gambar 2.25 C,D) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji Motilitas

Uji ini digunakan untuk mengidentifikasi apakah bakteri enterik mapu melakukan pergerakan (motil). Uji ini biasanya menusukkan inokulum pada media agar tabung. Pergerakan bakteri

biasanya akan terlihat dengan terbentuknya zona yang menyebar menjauhi garis inokulasi (Gambar 2.26 A,B) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.25. **A.** Uji optochin positif (ditemukan adanya zona hambat pertumbuhan (halo) pada *S. pneumoniae*), **B.** Uji optochin negatif (tidak ditemukan zona hambat (halo) pada kelompok α -*streptococcus*), **C.** Uji bacitracin positif (ditemukan adanya zona hambat pertumbuhan (halo) pada *S. pyogenes*), **D.** Uji bacitracin negatif (tidak ditemukan zona hambat (halo) pada kelompok β -*streptococcus*)

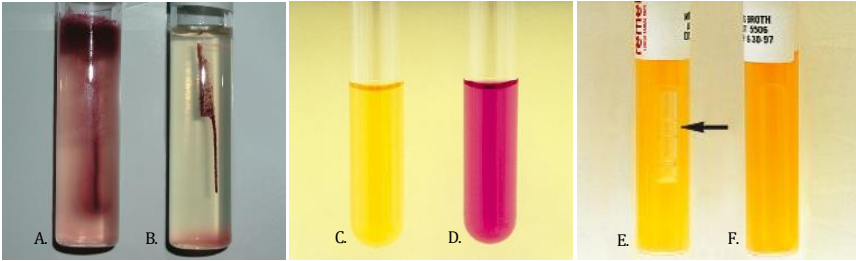
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Toleransi Garam

Uji ini untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri untuk tumbuh dalam konsentrasi garam yang tinggi. Biasanya uji ini digunakan untuk membedakan *enterococci* (positif) dimana media akan menjadi keruh dan berubah dari ungu menjadi kuning sedangkan *nonenterococci* (negatif) tidak terjadi kekeruhan pada media dan media tetap berwarna ungu (Gambar 2.26 C,D) (Bailey dan Scott's. 2014).

Uji MRS

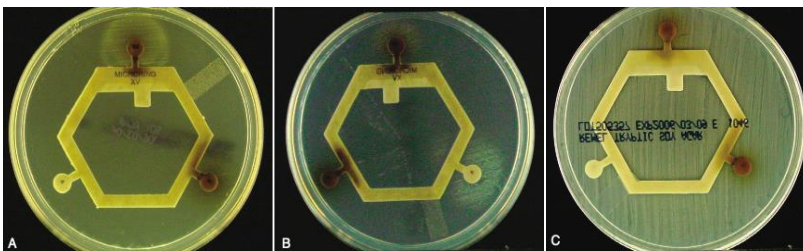
Uji ini digunakan untuk menentukan apakah bakteri mampu membentuk gas saat fermentasi glukosa. Uji media cair MRS ini biasanya digunakan untuk pertumbuhan *Lactobacillus spp.* karena mampu menghasilkan gas (Gambar 2.26 E,F) (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.26. A. Uji motilitas positif pada *E. coli*, B. Uji motilitas negatif pada *S. aureus*, C. Uji toleransi garam positif pada *Enterococcus faecalis*, D. Uji toleransi garam negatif pada *Streptococcus bovis*, E. Uji MRS positif pada *Lactobacillus lactis*, F. Uji MRS negatif pada *E. coli*
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Uji Faktor X dan V

Uji faktor X dan V ini digunakan untuk membedakan anggota dari *Haemophilus spp.* Beberapa anggota dari *Haemophilus spp.* memerlukan faktor X (*hemin*) saja, faktor V (*nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD)) saja, atau kombinasi kedua faktor tersebut. Pada *H. influenzae* akan terbentuk halo disekitar disk XV, tidak ditemukan halo disekitar disk X ataupun disk V. Pada *H. parainfluenzae* akan terbentuk halo disekitar disk XV dan disk V. Dan *H. ducreyi* akan membentuk halo pada disk XV dan disk X (Gambar 2.27.) (Bailey dan Scott's. 2014).

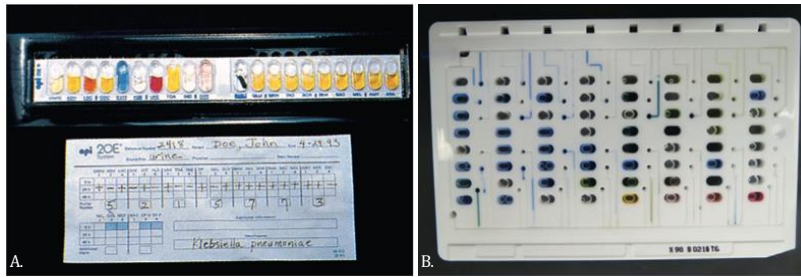


Gambar 2.27. A. Positif ditemukan halo pada disk XV saja, B. Positif ditemukan halo pada disk XV dan disk V, C. Negatif, tidak ditemukan halo pada sekitar disk XV, disk V maupun disk X.
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.4.4 Sistem identifikasi komersial

Sistem identifikasi yang tersedia secara komersial sebagian besar telah menggantikan kompilasi media uji konvensional dan substrat yang disiapkan sendiri untuk identifikasi bakteri. Penggantian ini terjadi karena desain sistem komersial yang terus berkembang untuk memaksimalkan kecepatan dan mengoptimalkan kenyamanan dalam pengerjaannya. Dengan meningkatnya beban kerja di laboratorium, metodologi konvensional kesulitan dalam bersaing dengan keunggulan kenyamanan dan basis data terkini yang ditawarkan oleh sistem komersial (Bailey dan Scott's. 2014).

Sistem komersial dapat dikelompokkan menjadi otomatis atau manual. Beberapa sistem multites komersial yang paling sederhana terdiri dari format konvensional yang dapat diinokulasi satu kali untuk menghasilkan lebih dari satu hasil. Dengan menggabungkan reaktan, misalnya, satu substrat dapat digunakan untuk menentukan hasil indol dan nitrat; hasil indol dan motilitas; motilitas, indol, dan *ornithine decarboxylase*; atau kombinasi lainnya. Atau dapat juga berupa uji konvensional yang dirakit dalam volume yang lebih kecil dan dikemas sehingga dapat diinokulasi dengan mudah dengan satu manipulasi, bukan beberapa manipulasi. Salah satu contoh sistem komersial dengan pendekatan manual adalah dengan mengeringkan substrat dalam *cupula* plastik yang disusun secara seri pada strip dimana suspensi organisme uji ditempatkan (Gambar 2.28A). Sedangkan salah satu contoh pendekatan otomatis ialah penggunaan “kartu” yang jauh lebih kecil dibandingkan menggunakan *microtiter trays* atau strip *cupule* (Gambar 2.28 B). Kartu yang digunakan disini berisi substrat kering dalam lubang kecil yang diresuspensi pada saat inokulasi (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.28. A. Panel tes biokimia (API ; bioMerieux, Inc., Hazelwood, MO), B. Kartu Vitek (API ; bioMerieux, Inc., Hazelwood, MO).
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.5 Pemeriksaan Molekuler

Pada pemeriksaan sebelumnya lebih banyak membahas pada jenis pemeriksaan secara fenotipe. Seiring berkembangnya jaman, dalam dua dekade terakhir ini pemeriksaan molekuler sangat berkembang secara cepat sehingga mampu menjawab permasalahan-permasalahan ataupun keterbatasan dari pemeriksaan fenotipe. Adapun dalam pengaplikasiannya pemeriksaan molekuler ini dapat bersifat kualitatif dan kuantitatif. Pemeriksaan mikrobiologi secara molekuler ini lebih menitik beratkan pada pemeriksaan terhadap materi genetik dari suatu organisme yaitu asam nukleat. Metode pemeriksaan molekuler yang akan dibahas ialah metode hibridisasi, metode amplifikasi, metode pengurutan basa nukleotida (*sequencing*), dan metode enzim restriksi pada asam nukleat (Bailey dan Scott's. 2014; Mahon, dkk. 2011)

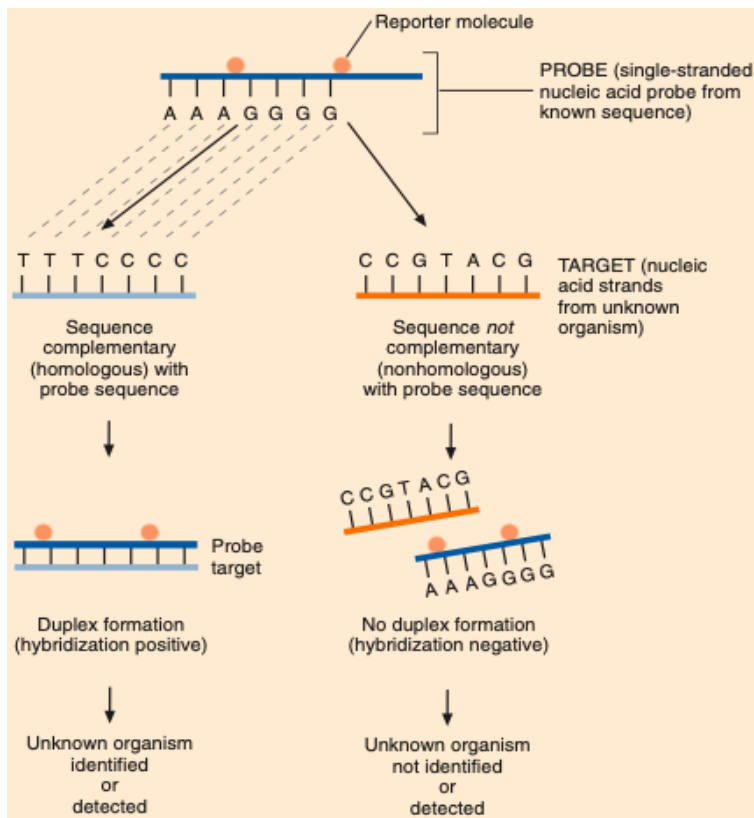
2.5.1 Metode hibridisasi

Metode ini memerlukan deteksi dan identifikasi dari dua untai asam nukleat ; satu untai disebut *probe* yang biasanya berasal dari susunan asam nukleat yang organismenya diketahui, dan satu untai lagi disebut target yang berasal dari susunan asam nukleat yang tidak diketahui organismenya. Kedua untai ini akan berikatan secara spesifik satu sama lain sesuai susunan basa komplementarinya sehingga membentuk molekul untai ganda yang

disebut dupleks atau hibrid. Ikatan *duplex* ini didasarkan atas stuktur hidrofobik dan ikatan hidrogen dari basa nukleotida, dimana basa adenin (A) selalu berikatan dengan basa thymine (T), dengan ikatan 2 molekul hidrogen, sedangkan basa guanine (G) selalu berikatan dengan cytosine (C), dengan ikatan 3 molekul hidrogen. Hibridisasi dinyatakan positif apabila terbentuk ikatan duplek antara untai *probe* dan untai target yang berarti organisme yang tidak diketahui (untai target) sama dengan sekuens organisme yang diketahui (untai *probe*). Jika tidak terjadi ikatan antara untai *probe* dan untai target digolongkan kedalam hibridisasi negatif. Adapun komponen asam nukleat untai tunggal yang biasa digunakan untuk hibridisasi ialah DNA atau RNA. Uji hibridisasi dapat dibedakan menjadi uji hibridisasi dengan amplifikasi atau tanpa amplifikasi. Uji hibridisasi tanpa amplifikasi memiliki tiga langkah utama yaitu ; persiapan sampel uji (asam nukleat), hibridisasi, dan deteksi sinyal. Untuk uji hibridisasi dengan amplifikasi biasanya ditambahkan step amplifikasi target sebelum step hibridisasi. Adapun langkah-langkah dasar dalam uji hibridisasi ; 1) produksi dan pelabelan untai tunggal *probe* ; 2) produksi untai tunggal target ; 3) pencampuran dan hibridisasi target dan *probe* ; 4) deteksi hibridisasi (Gambar 2.29) (Bailey dan Scott's. 2014).

Produksi dan pelabelan untai tunggal *probe*

Yang terpenting pada tahap ini adalah mendesain sekuens dari *probe*. Pemilihan dan desai dari *probe* tergantung dari tujuan penggunaan. Apabila tujuannya untuk mendeteksi bakteri gram positif, *probe* yang dipilih atau didesain haruslah spesifik berkomplimentari hanya dengan bakteri gram positif saja tidak dengan bakteri gram negatif. Untuk semua uji hibridisasi wajib mempunyai suatu molekul untuk mendeteksi atau mengukur reaksi hibridisasi yang disebut dengan reporter, dimana reporter ini akan melekat pada untai *probe*. Beberapa jenis reporter yang sering digunakan ialah label radioaktif, biotin-avidin, digoxigenin, fluoresen ataupun *chemiluminescent* (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.29. Prinsip hibridisasi asam nukleat
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Produksi untai tunggal target

Untuk mendapatkan asam nukleat untai tunggal pada organisme target, diperlukan tahap ekstraksi asam nukleat. Proses ekstraksi ini dapat melibatkan enzim dan atau secara kimia sehingga akan didapatkan tingkat kemurnian asam nukleat yang tinggi. Jika target adalah DNA, maka harus dilakukan denaturasi terlebih dahulu untuk memisahkan untai ganda menjadi untai tunggal, sehingga untai tunggal target nantinya dapat berkomplementari dengan untai tunggal *probe* (Bailey dan Scott's. 2014).

Pencampuran dan hibridisasi target dan *probe*

Terjadinya ikatan antara *probe* dan target bergantung pada homologi urutan basa antara dua untai asam nukleat *probe* dan target. Selain itu juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dimana *probe* dan target akan berikatan. Kondisi lingkungan ini menentukan ketatnya (*stringency*) suatu reaksi hibridisasi. Derajat keketatan akan menentukan hasil dari suatu hibridisasi. Semakin tinggi derajat keketatan maka semakin tinggi juga terjadi ikatan komplementari antara asam nukleat untai tunggal *probe* dan target yang menunjukkan hibridisasi positif. Derajat keketatan hibridisasi yang tinggi dipengaruhi oleh konsentrasi garam yang tinggi pada bufer hibridisasi, suhu yang tinggi, dan konsentrasi agen destabilisasi (formamide atau urea) yang tinggi (Bailey dan Scott's. 2014).

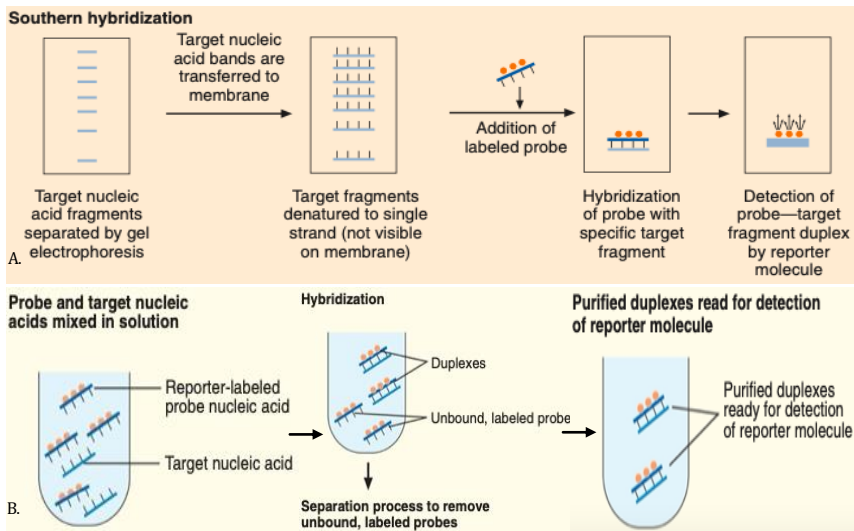
Deteksi hibridisasi

Untuk dapat mendeteksi hibridisasi biasanya bergantung pada jenis reporter yang digunakan. Jika menggunakan reporter yang berupa label radioaktif biasanya divisualisasikan setelah campuran reaksi (*probe*, reporter dan target) dipaparkan pada film radiografi, menggunakan metode autoradiografi. Sedangkan untuk reporter yang bersifat non-radioaktif biasanya dideteksi dengan menggunakan spektrofotometer, fluorometer, atau luminometer (Bailey dan Scott's. 2014).

Format hibridisasi

Reaksi hibridisasi dapat terjadi pada medium pendukung padat, insitu dan dalam larutan. Reaksi hibridisasi pada medium pendukung padat yang biasanya dikenal dengan teknik *blotting*, dimana target asam nukleat ditransfer dan diimobilisasi ke medium padat berupa membran yang berbahan nitroselulosa ataupun nilon. Biasanya media padat membran diberi perlakuan awal untuk mengurangi ikatan *probe* yang tidak spesifik kepada membran. *Southern blot* dan *Northern blot* merupakan contoh reaksi hibridisasi yang menggunakan medium pendukung padat berupa membran. *Southern blot* digunakan untuk mendeteksi molekul DNA sedangkan *Northern blot* digunakan untuk mendeteksi molekul

RNA. Selain itu tidak seperti pada teknik *Southern blotting*, teknik *Northern blotting* tidak menggunakan enzim restriksi. Hal ini dikarenakan molekul RNA terlalu kecil untuk terseparasi pada elektroforesis gel (Gambar 2.5.1.2 A). Berbeda dengan *Southern* dan *Northern blotting*, reaksi hibridisasi in situ menggunakan medium berupa sel atau jaringan yang sudah ditempelkan pada parafin. Pada reaksi hibridisasi dalam larutan, untai tunggal target dan *probe* ditempatkan pada suatu campuran larutan reaksi sehingga akan terbentuk dupleks. Biasanya sebelum dupleks terdeteksi, penting memisahkan hibrid yang dilabeli *probe* dengan label *probe* yang tidak berikatan dengan hibrid menggunakan enzim *S1 nuclease* (Gambar 2.30. B) (Mahon, dkk. 2011; Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.30. A. Reaksi hibridisasi pada medium pendukung padat, *Southern blotting*, **B.** Reaksi hibridisasi dalam larutan (Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.5.2 Metode amplifikasi

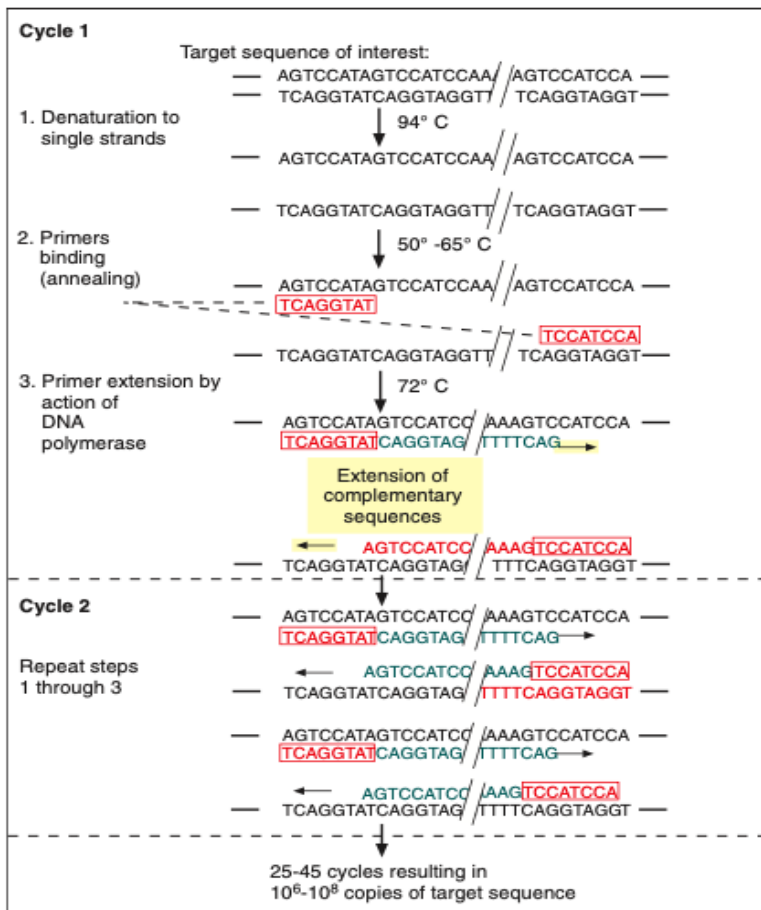
Metode hibridisasi sangat spesifik untuk mendeteksi dan mengidentifikasi organisme. Namun sensitifitasnya masih sangat terbatas. Hal ini dikarenakan, jika asam nukleat target tidak mencukupi akan memberikan hasil negatif palsu, sehingga metode

hibridisasi ini biasanya memerlukan kultur organisme terlebih dahulu untuk memenuhi kecukupan asam nukleat dari target. Sedangkan metode amplifikasi tidak memerlukan penumbuhan organisme terlebih dahulu sehingga dapat mengurangi waktu pemeriksaan serta mempertahankan spesifisitas dan sensitifitas yang tinggi. Metode amplifikasi ini dibagi menjadi dua yaitu ; berbasiskan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan tidak berbasiskan PCR (Bailey dan Scott's. 2014).

Berbasis PCR

PCR merupakan suatu metode amplifikasi satu salinan DNA target menjadi produk asam nukleat dalam jumlah eksponensial selama 25 hingga 45 siklus reaksi. Dalam satu siklus PCR terdiri dari 3 tahapan : 1) denaturasi dari DNA target, pada tahapan ini DNA untai ganda akan memisah menjadi untai tunggal melalui pemanasan pada suhu diatas 90°C. Biasanya papa protokol PCR menggunakan suhu 94°C atau 95°C. Sedangkan waktu yang diperlukan untuk melakukan denaturasi adalah bervariasi, namun 1-30 detik adalah waktu yang paling sering digunakan, 2) penempelan primer (*primer annealing*) pada sekuens target, proses dimana primer oligonukleotida menempel pada setiap untai tunggal DNA yang telah mengalami denaturasi sebelumnya. Adapun untuk rentang suhu aneealing biasanya bervariasi dari rentang 45°C sampai 65°C dan ditentukan dengan rumus $\{T_m = (2 \times (A+T) + 4 \times (G+C))\}$, 3) pemanjangan primer (*primer extension*), dalam tahap pemanjangan sekuens ini menggunakan enzim *Taq* DNA polymerase dimana enzim ini akan bekerja dengan menambahkan deoxynucleotides (dNTPs) pada rentang suhu 68°C sampai 72°C dengan waktu 1 sampai 2 menit (Gambar 2.31)(Mahon, dkk. 2011). Dalam reaksi PCR memerlukan beberapa komponen diantaranya : 1) DNA *template* (target), berhasilnya suatu PCR dipengaruhi oleh konsentrasi dan kualitas dari DNA *template*. DNA *template* didapatkan melalui proses ekstraksi/isolasi asam nukleat dari sampel. Saat ini tersedia secara komersial berbagai jenis kit ekstrasi untuk berbagai macam sumber sampel, baik itu sampel klinis ataupun sampel dari lingkungan. Adapun konsentrasi DNA yang biasa digunakan dalam proses PCR adalah 0.1 – 1 µg. Perlu

diperhatikan, semakin banyak DNA yang digunakan akan meningkatkan risiko dihasilkannya produk PCR yang tidak spesifik, 2) *Taq* DNA polymerase, merupakan enzim *thermostable* yang diisolasi dari *thermophilic bacteria*, 3) magnesium, biasanya Mg^{2+} dalam bentuk $MgCl_2$ diperlukan agar *Taq* DNA polymerase berfungsi dengan baik. Adapun rentang $MgCl_2$ yang digunakan sebagai komponen PCR ialah 1 sampai 2 mM, 4) bufer, hampir sama fungsinya dengan $MgCl_2$ yaitu meningkatkan fungsi dari *Taq* DNA polymerase. Adapun bufer yang biasa digunakan ialah Tris HCl dan Garam KCl dengan pH 8.3, 5) deoxynucleotides (dNTPs), biasanya ditambahkan ke ujung 3' dari primer anneal oleh *Taq* DNA polymerase saat proses pemanjangan sekuens/ekstensi. Konsentrasi final dari dNTPs yang digunakan biasanya 200 μM , dan 6) *thermocycler*, merupakan alat yang sangat penting dalam proses amplifikasi/PCR (Mahon, dkk. 2011).

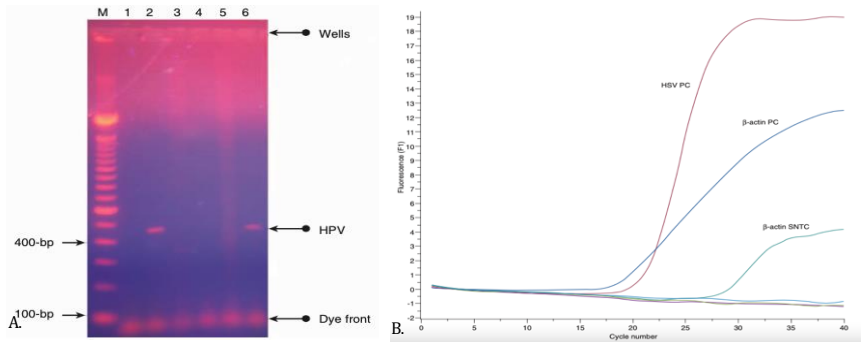


Gambar 2.31. Pada siklus pertama DNA untai ganda akan menjadi untai tunggal setelah melalui proses denaturasi, dilanjutkan dengan penempelan primer pada masing-masing *template* sekuens target kemudian masuk ke tahap penambahan deoksinukleotida dengan bantuan enzim *Taq* DNA polymerase sehingga pada akhirnya akan terbentuk dua untai ganda DNA yang baru. Di siklus kedua kedua untai ganda DNA yang baru kembali mengalami proses yang sama seperti pada siklus pertama, yang mana setelah siklus ke-25 sampai siklus ke-30 akan dihasilkan paling sedikit 10^7 kopi target DNA.
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Produk PCR (amplikon) merupakan produk amplifikasi PCR yang spesifik dan mengandung target dari asam nukleat yang diinginkan. Ada beberapa cara digunakan untuk menganalisis amplikon, salah satunya dengan menggunakan gel elektroforesis, biasanya jenis analisis ini bersifat kualitatif karena yang dinilai hanya ada tidaknya pita (*band*) dari amplikon yang kita inginkan (Gambar 2.32 A). Elektroforesis merupakan teknik untuk memisahkan makromolekul seperti asam nukleat dan protein berdasarkan ukuran, muatan, dan bentuknya. Baik DNA maupun RNA mempunyai muatan negatif sehingga saat elektroforesis terjadi akan memaksa molekul untuk berpindah dari kutub listrik negatif ke kutub listrik positif. Asam nukleat dengan berat molekul yang lebih besar akan berpindah berpindah lebih lambat melalui matriks agarosa dibanding dengan asam nukleat yang berat molekulnya lebih rendah. Adapun untuk fragmen asam nukleat yang melebihi 1000 bp biasanya menggunakan persentase gel agarosa yang rendah yaitu 0.8% - 1%, sedangkan fragmen asam nukleat yang lebih pendek (<1000 bp) lebih baik menggunakan persentase gel agarosa 1.5% - 2%. Untuk dapat melihat perpindahan DNA atau RNA pada matriks agarosa diperlukan suatu pewarna agar dapat terlihat melalui lampu UV. Pewarna yang digunakan dapat berupa etidium bromida, bersifat mutagenik atau dengan *SYBR green*, bersifat lebih aman dibanding etidium bromida. Untuk mengetahui ukuran target amplikon yang diinginkan dapat dibandingkan dengan menggunakan *ladder*. Adapun rentang waktu yang digunakan dalam sekali menjalankan elektroforesis ialah 1 sampai dengan 2 jam (Mahon, dkk. 2011).

Metode lain yang dapat digunakan untuk menganalisis produk PCR ialah metode kuantitatif dengan *real time* PCR. Berbeda dengan PCR konvensional, pada *realtime* PCR, amplikon DNA atau RNA yang diuji akan terakumulasi pada setiap siklus dengan demikian hasil dapat diamati secara cepat dan langsung walaupun pengujian sedang berlangsung. Pada teknik ini tidak menggunakan gel agarosa sehingga dapat meminimalisir limbah berbahaya dalam laboratorium. Kelebihan lain dari metode *real time* ini ialah, untuk melakukan analisis tidak diperlukan membuka *tube* sehingga risiko terjaidnya kontaminasi akan lebih kecil. Untuk menganalisis hasil

PCR pada metode *real time* ialah dengan mengukur peningkatan fluoresensi reporter seiring dengan akumulasi dari produk PCR yang dipresentasikan dalam bentuk grafik dengan sumbu Y sebagai intensitas fluoresensi dan sumbu X merujuk kepada jumlah siklus PCR. Sehingga menggunakan (Gambar 2.32 B) (Mahon, dkk. 2011, Thermo Fisher Scientific. 2012).



Gambar 2.32. A. Analisis produk PCR yang diwarnai dengan ethidium bromida menunjukkan perpindahan amplicon pada gel agarosa yang divisualisasikan menggunakan lampu UV. **B.** Analisis *real time* PCR pada virus herpes simpleks (HSV) dinilai dari peningkatan fluoresensi reporter seiring dengan akumulasi dari produk PCR yang dipresentasikan dalam bentuk grafik dengan sumbu Y sebagai intensitas fluoresensi dan sumbu X merujuk kepada jumlah siklus. Dapat dilihat terbentuk fluoresen *peaks* pada kontrol positif dari HSV (HSV PC) dan *internal control* β -actin (terdapat pada semua manusia). Sedangkan untuk sampel *non-template control* pada HSV dan β -actin tidak menunjukkan adanya fluoresen *peaks*.

(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Ada banyak turunan PCR yang telah dikembangkan untuk berbagai jenis kebutuhan selain *real time* PCR. Beberapa contoh turunan metode PCR yang sudah dipublikasikan di literatur seperti multipleks PCR, *nested* PCR, *reverse transcription*-PCR (RT-PCR), dan *digital* PCR (dPCR). Multipleks PCR merupakan metode yang memasukkan lebih dari satu pasangan primer ke dalam satu reaksi

mix PCR. Contohnya ialah, multipleks PCR untuk mendeteksi genotipe kapsul dari *S. pneumoniae* dengan memasukkan beberapa pasang primer genotipe kapsul dari *S. pneumoniae* kedalam satu reaksi *mix* PCR. Kesulitan yang sering dihadapi oleh peneliti ketika melakukan multipleks PCR ialah ketika melakukan optimasi terhadap kondisi PCR dikarenakan menggunakan berbagai pasang primer. *Nested* PCR merupakan salah satu metode yang menggunakan dua set primer secara berurutan, dimana set primer pertama digunakan untuk mengamplifikasi sekuens target, sedangkan set primer kedua digunakan untuk mengamplifikasi ampikon yang didapatkan dari set pertama. *Reverse transcription-PCR* (RT-PCR) biasanya digunakan untuk mengamplifikasi sekuens target yang berupa RNA, seperti HIV. Pada RT-PCR ini menggunakan enzim *reverse transcriptase* agar dapat menghasilkan DNA dari RNA target yang memerlukan waktu kurang lebih 30 menit. Setelah dididapatkannya DNA, PCR dilanjutkan dengan PCR konvensional. Digital PCR merupakan metode *real time* baru yang merupakan modifikasi dari PCR konvensional, dimana dengan metode ini dapat mendeteksi patogen yang terdapat dalam jumlah yang sangat rendah dalam sampel biologis (Bailey dan Scott's. 2014).

Tidak berbasis PCR

Selain teknik yang berbasis molekuler ada beberapa teknik spesifik yang mampu mendeteksi agen infeksius tetapi tidak berbasis pada PCR. Metode jenis ini ada yang bersifat mengamplifikasi sinyal (amplifikasi *probe*) yang digunakan untuk mendeteksi asam nukleat dari target dan ada yang bersifat langsung mengamplifikasi target asam nukleat (amplifikasi isothermal) tanpa PCR. Pada amplifikasi *probe* produk amplifikasi tidak lagi mengandung sekuens dari target asam nukleat melainkan mengandung sekuens yang ada dalam primer atau *probe* awal yang digunakan untuk reaksi amplifikasi. Beberapa contoh amplifikasi *probe* ialah, *branched DNA* (bDNA), *invader assays*, *signal-mediated amplification of RNA* (SMART), dan *hybrid capture*. Contoh amplifikasi isothermal seperti, 1) *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), metode ini menggunakan empat primer yang dalam prosesnya menggunakan suhu yang konstan yang

digabungkan dengan reaksi perpindahan untai. 2) *nucleic acid sequence-based amplification* (NASBA), dan 3) *transcription mediated amplification* (TMA). Kedua jenis amplifikasi isothermal ini, NASBA dan TMA digunakan untuk mengamplifikasi RNA sehingga diperlukan enzim *reverse transcriptase* agar dapat menyalin RNA target ke dalam *complementary DNA* (cDNA) (Bailey dan Scott's. 2014).

2.5.3 Metode identifikasi tipe *strain*

Teknik standar pada laboratorium mikrobiologi klinis masih belum dapat membedakan tipe dan jenis *strain* satu sama lain, sehingga berkembanglah teknik identifikasi tipe *strain*. Adapun teknik ini digunakan untuk membandingkan *strain* lokal dalam menentukan apakah wabah lokal yang terjadi disebabkan oleh satu jenis *strain* atau beberapa jenis *strain*. Adapun metode identifikasi tipe *strain* ini dibedakan menjadi metode identifikasi *strain* tanpa menggunakan amplifikasi dan metode dengan menggunakan amplifikasi. Untuk metode identifikasi *strain* tanpa menggunakan amplifikasi diantaranya 1) *southern blotting*, pada metode ini DNA kromosom di digesti menggunakan enzim restriksi dan fragmen yang dihasilkan dipisahkan menggunakan gel elektroforesis. Fragmen-fragmen ini kemudian ditransfer dari gel agarosa ke membran nilon atau nitroselulosa dan *probe* yang sudah diberi label digunakan untuk mengidentifikasi target spesifik., 2) *plasmid profile analysis*, dimana *strain* tertentu dengan profil plasmid akan unik dari *strain* lain yang memiliki profil plasmid lain. Jika isolat berbeda memiliki profil plasmid yang sama kemungkinan besar *strain* dari kedua isolat tersebut identik., 3) *restriction enzyme analysis of chromosomal DNA*, teknik ini sama dengan *southern blotting*., 4) *pulsed field electrophoresis gel* (PFGE), merupakan metode yang paling dikenal dalam investigasi epidemiologi. DNA kromosom yang sudah di digesti akan menghasilkan fragmen DNA yang besar sehingga sulit memisahkannya menggunakan gel elektroforesis yang konvensional. Dalam metode ini fragmen dipisahkan menggunakan gel agarosa dengan persentase rendah dan titik leleh rendah oleh medan listrik bersudut yang secara berkala mengubah orientasi sehingga fragmen DNA yang besar dapat terpisah.

Sedangkan contoh untuk metode identifikasi *strain* yang menggunakan amplifikasi diantaranya, 1) *random amplified polymorphic DNA* (RAPD), merupakan metode *finger print* DNA sederhana yang mampu memberikan resolusi dan kemampuan diskriminasi yang tinggi. Dimana pada metode ini menggunakan lebih dari satu primer yang pendek (tidak lebih dari 10 oligonukleotida) dan primer-primer ini tidak mempunyai target spesifik sehingga pada saat gel elektroforesis akan memperlihatkan fragmen dengan panjang yang bervariasi. Biasanya suatu *strain* akan mempunyai pola fragmentasi yang berbeda dengan *strain* lainnya., dan 2) *multilocus sequencing typing* (MLST), dimana metode ini digunakan untuk mengidentifikasi alel dengan menentukan sekuens interna dari *housekeeping genes*. Biasanya beberapa lokus yang telah dipilih mempresentasikan regio interna dari *housekeeping genes* yang berbeda, kemudian akan dilanjutkan dengan PCR untuk mengamplifikasi DNA pada setiap lokus menggunakan primer yang *conserve* terhadap *housekeeping genes*. Setelah dihasilkan amplikon akan dilanjutkan dengan *sequencing* dan diberikan nomor unik berdasarkan sekuens tersebut. Sehingga *strain* dari suatu spesies tertentu dapat dibandingkan nantinya menggunakan lokus yang sama (Mahon, dkk. 2011).

2.5.4 Metode sequencing dan DNA microarray

Dengan berkembangnya teknik deteksi asam nukleat dari yang bersifat konvensional hingga yang menggunakan teknologi otomatis sangat membantu dalam mengidentifikasi jenis dan tipe dari suatu organisme. Terlebih lagi akhi-akhir ini penggunaan metode *sequencing* sudah sangat berkembang, semakin banyak laboratorium klinis yang mulai menggunakan prosedur *sequencing* DNA untuk mengidentifikasi mikroba dari sampel klinis. *Sequencing* merupakan metode pengurutan basa nukleotida dalam satu fragmen DNA sehingga akan didapatkan urutan (sekuens) dari fragmen DNA tersebut. Sekuens dari fragmen DNA ini nantinya akan dibandingkan dengan sekuens yang sudah dikenali yang ada pada *data base* menggunakan suatu *software* (Mahon, dkk. 2011, Struthers, K. 2017) Sedangkan metode DNA *microarray* merupakan metode dengan mengelompokkan molekul DNA pada

tingkat mikron dan melekatkannya pada suatu mekanisme pendukung yang bersifat solid, seperti *silicon chips*, kaca, ataupun plastik. DNA *microarray* dapat mengevaluasi ekspresi gen dari seluruh organisme atau dari beberapa organisme. Selain itu DNA *microarray* juga sering digunakan untuk menganalisis tingkat transkripsi gen selama kondisi penyakit tertentu, menentukan mutasi, mengidentifikasi patogen dan gen baru, memantau respon dari suatu pengobatan, dan dapat menentukan tempat berikatannya suatu faktor transkripsi (Mahon, dkk. 2011).

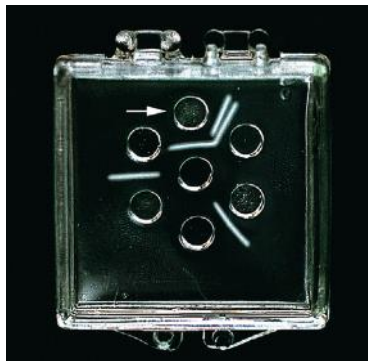
2.6 Pemeriksaan Imunokimia

Dalam mendeteksi agen penyebab infeksi dengan menggunakan metode kultur dan uji biokimia masih mempunyai beberapa tantangan diantaranya, tidak semua organisme dapat tumbuh pada media kultur buatan sebut saja contohnya *Treponema pallidum*, agen penyebab sifilis. Maka diperlukan suatu metode untuk dapat mendeteksi organisme tersebut tanpa harus mengkulturkannya terlebih dahulu, yaitu dengan mendeteksi langsung produk yang dihasilkan dari agen tersebut pada spesimen klinis melalui metode imunokimia. Adapun metode imunokimia ini menggunakan antigen ataupun antibodi untuk mendeteksi mikroorganisme penyebab infeksi. Antigen sendiri merupakan suatu protein atau karbohidrat dengan berat molekul yang besar yang dikenal sebagai benda asing oleh sel-sel imun tubuh. Sedangkan antibodi merupakan molekul protein yang dihasilkan oleh sel imun tubuh, yaitu sel plasma sebagai respon dari suatu mekanisme pertahanan tubuh terhadap antigen. Ada dua jenis antibodi yang sering digunakan dalam imunodiagnosis yaitu, antibodi poliklonal dan antibodi monoklonal. Antibodi poliklonal biasanya didapatkan dengan menginfeksi hewan seperti kelinci, sapi, dan domba dengan agen infeksius sehingga akan menghasilkan antibodi yang mempunyai banyak variasi pada tempat berikatannya antigen. Sedangkan antibodi monoklonal didapatkan dari *cell line* yang abadi (*immortal cell line*) dengan spesifisitas yang tinggi dibandingkan dengan antibodi poliklonal. Berdasarkan prinsip pengerjaannya, metode imunokimia ini dikelompokkan menjadi empat yaitu; 1) uji presipitat, 2) uji aglutinasi partikel, 3) uji

imunofluoresens, dan 4) *enzyme immunoassays* (Bailey dan Scott's. 2014).

2.6.1 Uji presipitasi

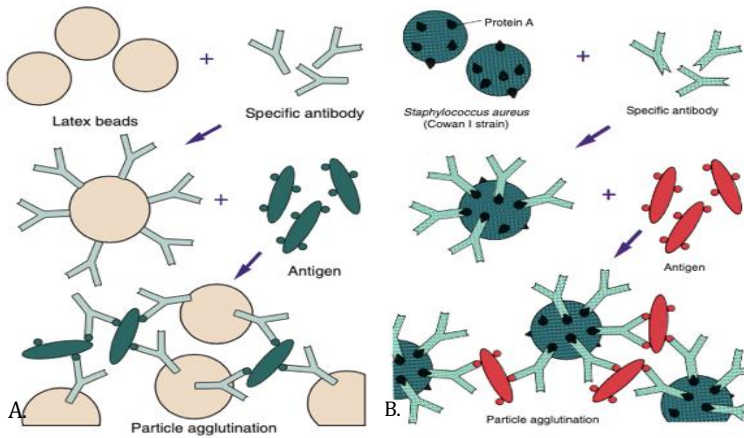
Uji ini merupakan uji klasik untuk mendeteksi adanya suatu antigen dalam larutan, sering disebut dengan metode *Ouchterlany*, metode presipitasi imunodifusi ganda. Metode presipitasi imunodifusi ganda ini biasanya sering digunakan untuk mendeteksi jamur. Dalam praktiknya dibuat sejumlah 7 lubang melingkar dalam gel agarosa. Spesimen dari pasien yang mengandung antigen ditempatkan di lubang melingkar yang ditengah sedangkan untuk lubang lingkaran 1, 3, dan 5 diisi antisera dari 3 jenis jamur dan lubang lingkaran 2, 4, dan 6 diisi antigen yang sesuai dengan antisera jamur di lubang lingkaran 1, 3, dan 5. Setelah diinkubasi selama 18 - 24 jam akan terbentuk presipitat berupa pita diantara lubang antisera dan antigen, dimana pita ini merupakan pita kontrol. Apabila terbentuk pita baru yang memanjang dan melengkung melewati antara lubang lingkaran spesimen pasien dengan lubang lingkaran antisera mengindikasikan kemungkinan spesimen pasien tersebut teridentifikasi sebagai jamur yang sesuai dengan antisera dari jamur tersebut (Gambar 2.33). Metode ini sudah tidak digunakan secara rutin lagi di dalam laboratorium dikarenakan menghabiskan banyak waktu (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.33. Sistem investigasi exo-antigen (Immuno-Mycologics, Inc., Norman, Okla.)
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

2.6.2 Uji aglutinasi partikel

Uji aglutinasi partikel ini dibedakan menjadi uji aglutinasi lateks, dan uji koaglutinasi. Prinsip uji aglutinasi lateks ialah memerlukan butiran lateks (polistiren) dengan ukuran 0.8 μm atau lebih sehingga memudahkan visualisasi saat terjadi aglutinasi. Sebagian besar antibodi akan berikatan pada permukaan butiran lateks sehingga spesimen klinis yang mengandung antigen akan semakin banyak membentuk agregat ikatan silang dengan antibodi pada permukaan butiran lateks (Gambar 2.34 A). Uji aglutinasi lateks ini paling sering dikerjakan untuk mendeteksi antigen *Cryptococcus neoformans* dari cairan otak ataupun dari serum. Uji aglutinasi lateks ini pun semakin berkembang untuk mendeteksi berbagai macam organisme seperti, toksin A dan B pada *Clostridium difficile*, rotavirus, *E. coli* 0157:H7, dan Streptokokus grup B, *Streptococcus agalactiae* (Brown, dkk. 2012) . Sedangkan pada uji koaglutinasi, prinsipnya hampir sama dengan uji aglutinasi lateks hanya saja butiran lateks disini digantikan dengan suatu partikel yaitu *S. aureus* (strain Cowan I) yang telah dimatikan dimana partikel ini mengandung sejumlah besar protein pengikat antibodi, protein A, pada dinding selnya (Gambar 2.34 B). Adapun beberapa bentuk komersial dari uji koaglutinasi ini sudah banyak digunakan dalam mendeteksi grup Lancefield pada Streptokokus yaitu A, B, C, D, E, F, G, dan N; *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria meningitidis*; *Haemophilus influenzae* tipe A sampai F dari sampel kultur. Reaksi pada uji koaglutinasi sangat spesifik tapi tidak sensitif uji aglutinasi lateks, sehingga uji koaglutinasi biasanya tidak digunakan untuk deteksi antigen langsung (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.34. A. Uji aglutinasi lateks, B. Uji koaglutinasi
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

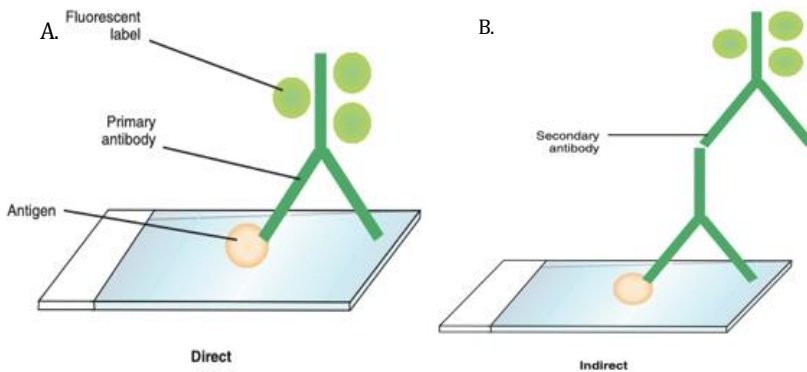
2.6.3 Uji imunofluoresens

Uji imunofluoresens biasanya digunakan untuk mendeteksi antigen pada bakteri ataupun virus. Pada uji ini antigen yang berasal dari spesimen diimobilisasi dan difiksasi pada *object glass* dengan formalin, metanol, etanol atau aseton. Kemudian antibodi monoklonal atau poliklonal yang sudah dikonjugasi/ditempelkan dengan warna fluoresens ditambahkan pada spesimen. Setelah melalui proses inkubasi, pencucian balik/*counterstaining* (pewarnaan terhadap latar belakang menggunakan warna fluoresens yang tidak spesifik seperti *rhodamin* atau *Evan's blue*) *object glass* diamati menggunakan mikroskop fluoresens. Warna fluoresens yang paling sering digunakan ialah *fluorescein isothiocyanate* (FITC). Berdasarkan fluoresens antibodinya uji ini dibedakan menjadi *direct fluorescent antibody* (DFA) dan *indirect fluorescent antibody* (IFA). Pada teknik DFA, FITC biasanya sudah terkonjugasi langsung dengan spesifik antibodi (Gambar 2.35 A), sedangkan pada teknik IFA, FITC tidak terkonjugasi langsung dengan spesifik antibodi tetapi terkonjugasi dengan antibodi kedua terhadap kompleks antigen dengan antibodi spesifik. Dengan kata lain teknik IFA ini sering disebut dengan teknik *two-step/sandwich* (Gambar 2.35 B). Walaupun teknik DFA dalam pengerjaannya lebih

cepat karena tidak perlu menambahkan antibodi kedua, tetapi dari segi sensitifitas, teknik IFA dinilai lebih sensitif. Pada spesimen klinis, uji imunofluoresens ini biasanya digunakan untuk mendeteksi sel-sel yang terinfeksi dengan *Bordetella pertussis*, *T. pallidum*, *L. pneumophila*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Pneumocystis*, *Trichomonas spp.*, *herpes simplex virus (HSV)*, *cytomegalovirus*, *varicella-zoster virus*, *RSV*, *adenovirus*, *influenza virus*, dan *parainfluenza virus* (Bailey dan Scott's. 2014).

2.6.4 Enzyme immunoassays (EIA)

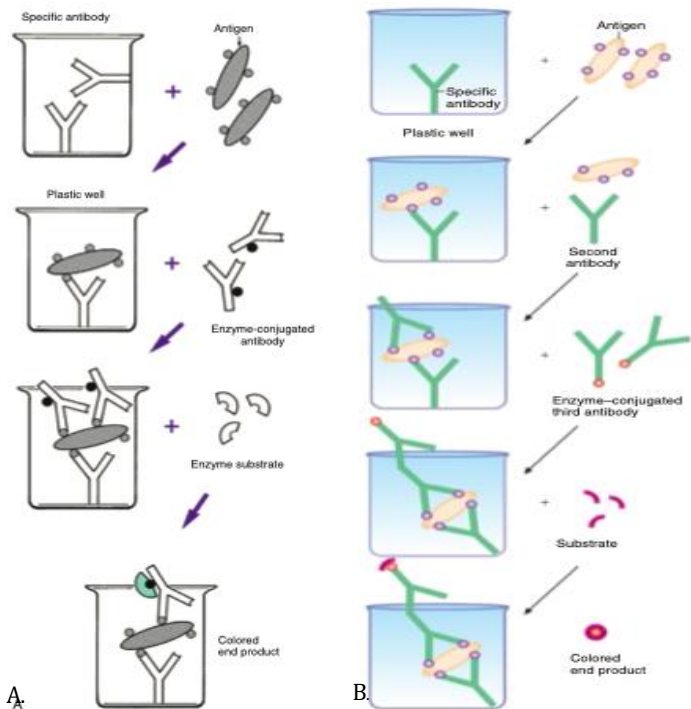
Uji ini biasanya juga dikenal dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Prinsip dasar uji ELISA ialah antibodi yang terikat pada enzim. Walaupun antibodi berikatan dengan enzim, tempat pengikatan antibodi tetap bebas bereaksi dengan antigen spesifiknya. Adapun penggunaan enzim sebagai label ini mempunyai beberapa keuntungan. Pertama, enzim dapat mengkatalisis banyak molekul substrat, memperkuat reaksi dan meningkatkan deteksi. Kedua, antibodi yang terkonjugasi enzim bersifat stabil dan dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Ketiga, dengan pembentukan produk akhir berwarna sehingga memungkinkan pengamatan langsung terhadap reaksi atau pembacaan melalui spektrofotometri otomatis. Penggunaan antibodi monoklonal akan lebih dapat meningkatkan spesifisitas dari uji ELISA. Untuk dapat mendeteksi suatu agen infeksius, uji ELISA ini memerlukan antibodi yang melekat erat pada suatu matriks padat seperti bagian dalam lubang mikrodilusi *tray*, atau dengan butir (*beads*) metal, sehingga sering disebut dengan *solid-phase immunosorbent assays* (SPIA).



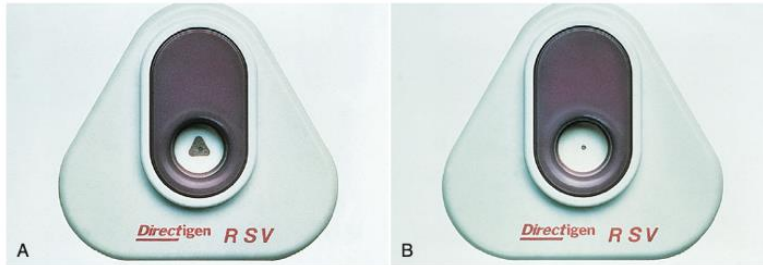
Gambar 2.35. A. direct fluorescent antibody (DFA), B. indirect fluorescent antibody (IFA)
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Pada uji SPIA ini dapat dibedakan menjadi *direct*-SPIA dan *indirect*-SPIA. Pada *direct*-SPIA, kompleks antigen antibodi akan terbentuk ketika spesimen yang mengandung antigen ditambahkan kedalam antibodi yang sudah terfiksasi pada matriks padat. Antigen yang tidak berikatan akan terbuang saat tahap pencucian, kemudian ketika antibodi yang berlabel enzim (alkali fosfatase atau *horseradish peroxidase*) ditambahkan, maka akan terbentuk ikatan *sandwich* terhadap kompleks antigen antibodi sebelumnya. Setelah pencucian yang kedua, antibodi berlabel enzim yang tidak membentuk ikatan *sandwich* akan terbuang. Dilanjutkan dengan penambahan substrat enzim yang menyebabkan terjadinya perubahan warna dan akhir dari reaksi uji *direct*-SPIA (Gambar 2.36 A). Sedangkan pada uji *indirect*-SPIA, saat penambahan antibodi kedua (antibodi tidak berlabelkan enzim) sehingga antibodi yang tidak berlabel enzim inilah yang akan berikatan dengan kompleks antigen antibodi. Kemudian baru akan dilanjutkan dengan penambahan antibodi ketiga yaitu yang berlabelkan enzim. Untuk langkah selanjutnya mengikuti langkah dari *direct*-SPIA (Gambar 2.36 B). Adapun baik uji *direct*-SPIA ataupun *indirect*-SPIA digunakan sebagai alat diagnosis yang penting pada hepatitis Bs (*surface*) dan hepatitis Be (*early*) antigen serta protein p24 dari HIV. Untuk meningkatkan kecepatan dan sensitivitas suatu reaksi ELISA maka penggunaan media seperti nitroselulosa, nilon dan membran

jenis lainnya banyak dikembangkan atau sering disebut dengan *membrane-bound* SPIA. Pada *membrane-bound* SPIA, suatu bahan penyerap (absorben) yang berada di bawah membran akan menarik reaktan cair melalui membran dan membantu memisahkan komponen yang tidak bereaksi dari kompleks antigen-antibodi yang terikat pada membran (Gambar 2.37). Teknik *membrane-bound* SPIA ini telah digunakan untuk *respiratory syncytial virus* (RSV), *Streptokokus hemolisis* grup A dengan spesimen dari *swab* tenggorokan, dan antigen *Streptokokus* grup B dengan spesimen berasal dari sekret vagina (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.36. A. direct-solid phase immunosorbent assays (SPIA), B. indirect-solid phase immunosorbent assays (SPIA).
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

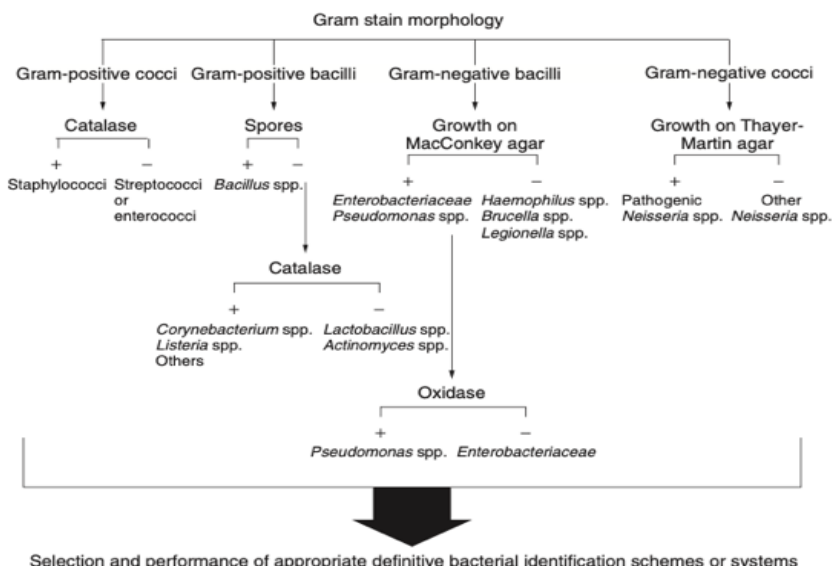


Gambar 2.37. Kit komersial *membrane-bound SPIA* untuk *respiratory syncytial virus* (RSV) **A.** Hasil positif, **B.** Hasil negatif.
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

Dapat disimpulkan untuk mengidentifikasi jenis bakteri dapat dilakukan dengan dua jenis pendekatan, baik itu menggunakan pendekatan secara fenotipe, pendekatan secara genotipe ataupun menggabungkan kedua jenis pendekatan ini. Pendekatan secara fenotipe biasanya mengacu pada pengamatan karakteristik fisik ataupun metabolik bakteri. Pendekatan fenotipe ini meliputi; 1) pemeriksaan mikroskopik melalui pewarnaan dengan pengamatan morfologi bakteri dibawah mikroskop, 2) pemeriksaan makroskopik melalui pengamatan pertumbuhan bakteri pada media kultur (bentuk koloni, bau dan warna), dan 3) pemeriksaan secara biokimia yang meliputi lingkungan dan nutrisi untuk tumbuh serta kemampuan metabolisme bakteri. Pada pendekatan genotipe biasanya lebih melibatkan karakterisasi dari beberapa bagian genom bakteri menggunakan teknik molekuler untuk menganalisis DNA ataupun RNA. Lebih seringnya teknik molekuler ini melibatkan pendeteksian keberadaan suatu gen target. Pendekatan genotipe ini bersifat lebih spesifik dan lebih sensitif dibandingkan dengan pendekatan secara fenotipe (Bailey dan Scott's. 2014).

Sering dengan perkembangan teknologi, tantangan dalam hal menentukan agen penyebab infeksi juga semakin besar, terlebih lagi spesies baru dari organisme penyebab infeksi masih terus bertambah pun juga dengan spesies yang sudah ada banyak yang mengalami perubahan karakteristik. Karena alasan inilah, skema/alur dan strategi identifikasi agen penyebab infeksi (Gambar

2.38) yang sudah ada harus terus ditinjau dan diperbaharui. Dan tidak menutup kemungkinan kedepannya akan dikembangkan suatu alat yang dapat menggabungkan metode fenotipe, molekuler dan kimia kedalam satu sistem otomatis yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dalam hal identifikasi bakteri nantinya (Bailey dan Scott's. 2014).



Gambar 2.38. Skema/alur identifikasi bakteri (tidak berlaku untuk bakteri anaerob).
(Sumber: Bailey dan Scott's. 2014)

DAFTAR PUSTAKA

- Bailey & Scott (2014) *General Principles in Clinical Microbiology*. 13th edn, *Diagnostic Microbiology*. 13th edn. South Dakota: Elsevier.
- Braga, P. A. C. *et al.* (2013) 'Bacterial identification: From the agar plate to the mass spectrometer', *RSC Advances*, 3(4), pp. 994–1008.
- Brown, A. and Smith, H. (2012) *Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology*. 13th edn. New York: Mc Graw Hill.
- Cappuccino, J. G. and Welsh, C. (2020) *Microbiology A laboratory Manual*. 12th edn. USA: Pearson.
- Mahon, C. R. Lehman, D. C. and Manuselis, M. (2019) *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th edn. Missouri: Elsevier.
- Janda, J. M. and Abbott, S. L. (2002) 'Bacterial identification for publication: When is enough enough?', *Journal of Clinical Microbiology*, 40(6), pp. 1887–1891.
- Kshikhundo, R. and Itumhelo, S. (2016) 'Bacterial species identification', *World News of Natural Sciences*, 3, pp. 26–38. Available at: www.worldnewsnaturalsciences.com.
- Murray, P. R. Baron, E. J. Jorgensen, J. H. *et al.* (2007) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th edn. Washington, D.C.: ASM Press.
- Purwono, P. B. and Debora, K. (2015) *Pemeriksaan Mikrobiologi Pada Penyakit Infeksi*. 1st edn. Surabaya: Sagung Seto. Available at: https://digilib.uui.ac.id/index.php?p=show_detail&id=4988.
- Struthers, K. (2017) *Clinical Microbiology*. 2nd edn. USA: CRC Press.
- Thermo Fisher Scientific. (2012) *Real-Time PCR Hand-Book*. 1st edn. Thermo Fisher Scientific Inc.

BAB 3

STERILISASI DAN DESINFEKSI

Oleh Hendri Satria Kamal uyun

3.1 Sterilisasi

Ratusan tahun yang lalu, orang-orang Arab menemukan bahwa luka bakar dengan logam panas dapat mencegah infeksi, namun mereka yang tertular akan mengalami luka permanen. Pada tahun 1537, ahli bedah Perancis Ambroise Paré mengobati luka tembak dengan perban yang dibasahi kuning telur dan terpentin. Terpentin bertindak sebagai semacam pembakar kimia, dan kuning telur menyediakan enzim lisozim, yang memiliki efek antibakteri (Agus *et al.*, 1993).

Pengawasan terhadap mikroorganisme penyebab penyakit telah menjadi pemikiran para ahli semenjak penyakit mulai dikenal. Berbagai macam substansi telah dicoba untuk memilih cara yang paling tepat untuk menghilangkan cemaran mikroorganisme terhadap benda baik hidup atau benda mati (Agus *et al.*, 1993).

Selain itu untuk Mengkaji berbagai jenis mikroorganisme dalam sebuah kultur murni, para mikrobiolog membutuhkan keberadaan alat penunjang yang dapat menghasilkan kultur murni berupa seperangkat peralatan laboratorium yang steril (Suriawira Unus, 2005)

Dalam mikrobiologi, sterilisasi adalah proses menghilangkan semua jenis organisme, dalam hal ini mikroorganisme, yang ada pada suatu benda. Proses ini melibatkan penerapan zat aktif biosidal atau proses fisik yang bertujuan membunuh atau menghilangkan mikroorganisme (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Istilah lain yang umum dikenal adalah disinfeksi yaitu merupakan proses pembunuhan atau penghilangan mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit. Agen disinfeksi adalah disinfektan yang biasanya merupakan zat kimiawi dan digunakan untuk objek-objek pada benda mati atau objek tak hidup (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Sanitasi berhubungan erat dengan disinfeksi. Pada proses sanitasi populasi mikroorganisme direduksi sampai mencapai level atau tingkatan yang dianggap aman oleh standar kesehatan masyarakat (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Antisepsis merupakan pencegahan infeksi dengan cara menginaktivasi atau membunuh mikroorganisme dengan menggunakan zat kimia (Pratiwi T Sylvia, 2008)

Mikroorganisme merespons secara berbeda terhadap metode sterilisasi tertentu. Endospora bakteri tahan terhadap panas, radiasi, dan bahan pembersih. Virus yang tidak berselubung tahan terhadap pelarut organik dan deterjen. Efisiensi metode sterilisasi dan efektivitas agen mikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor berikut (Pratiwi T Sylvia, 2008).

1. Ukuran Populasi

Populasi mikroorganisme yang besar membutuhkan waktu lebih lama untuk mati dibandingkan populasi mikroorganisme yang kecil (Pratiwi T Sylvia, 2008).

2. Komposisi Populasi

Bentuk endospora bakteri lebih resisten dibandingkan bentuk vegetatifnya (Pratiwi T Sylvia, 2008)

3. Konsentrasi/intensitas agen antimikroba

Semakin tinggi konsentrasi agen antimikroba, semakin banyak mikroorganisme yang dapat dibunuh. Pada titik tertentu, meningkatkan konsentrasi tidak lagi meningkatkan jumlah pembunuhan bakteri. Beberapa antimikroba sebenarnya lebih efektif pada konsentrasi yang lebih rendah. Misalnya etanol 70% lebih efektif dibandingkan etanol 95% (Pratiwi T Sylvia, 2008).

4. Lama paparan

Semakin lama paparan populasi mikroorganisme terpapar agen antimikroba, semakin banyak mikroorganisme yang mati (Pratiwi T Sylvia, 2008)

5. Temperatur

Peningkatan temperatur dapat meningkatkan aktivitas agen antimikroba (Pratiwi T Sylvia, 2008)

6. Lingkungan sekitar

Kondisi lingkungan sekitar dapat menghalangi ataupun mempercepat destruksi. Untuk dapat mematikan mikroorganisme (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Ada dua metode sterilisasi: sterilisasi fisik dan sterilisasi kimia. Sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan kimia, sedangkan sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan menggunakan panas kering atau lembab, radiasi, filtrasi, dan lain-lain (Pratiwi T Sylvia, 2008).

3.2 Metode sterilisasi Fisik

3.2.1 Sterilisasi Pemijaran

Sterilisasi pemijaran dilakukan dengan cara memanaskan peralatan di atas api Bunsen hingga memijar. Bertujuan untuk mencegah kontaminasi, metode ini kerap digunakan untuk mensterilkan mulut tabung reaksi, tepi cawan petri, ujung pinset, serta ujung jarum ose. Saat mensterilkan peralatan dengan metode ini harus mampu menahan panas serta tidak gampang rusak jika terkena api yang membara.

3.2.2 Metode panas kering

Metode panas kering membunuh organisme dengan mengoksidasi komponen seluler dan mengubah sifat enzim. Cara ini tidak dapat digunakan untuk bahan seperti karet atau plastik, yang memerlukan waktu sterilisasi kering sekitar 2 hingga 3 jam, dan memiliki daya penetrasi yang rendah. Metode sterilisasi kering ini tidak memerlukan air sehingga tidak ada uap air yang membasahi peralatan atau bahan yang disterilkan (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Sterilisasi kering merupakan metode sterilisasi menggunakan udara panas dengan melibatkan alat berupa oven. Umumnya metode sterilisasi ini digunakan untuk mensterilisasi Barang-barang berikut ini dapat disterilkan dengan oven:

1. Peralatan gelas (seperti cawan petri, gelas ukur, beaker glass, pipet, dan tabung reaksi)
2. Bubuk (seperti pati, seng oksida, dan sulfadiazin)
3. Bahan yang mengandung minyak
4. Peralatan logam (seperti pisau bedah, gunting, dan pisau)



Gambar 3.1. Oven Sterilisasi Metode panas kering
Sumber (Wulandari *et al.*, 2022).

3.2.3 Sterilisasi panas basah

Uap air panas bertekanan tinggi digunakan dalam prosedur sterilisasi ini. Alat yang digunakan dalam proses sterilisasi ini adalah autoklaf. Dua faktor yang membuat uap air bertekanan lebih unggul untuk sterilisasi adalah tekanan dan uap panas. Panas dari uap panas diperkirakan lebih efektif dibandingkan panas dari oven dalam memanaskan seluruh permukaan alat, dan partikel uap air bertekanan cukup untuk membunuh spora bakteri (Najmah *et al.*, 2024).

Sterilisasi panas basah, yang melibatkan perebusan dalam air mendidih pada suhu 100°C selama 10 menit, efektif melawan sel vegetatif dan spora eukariotik, tetapi tidak efektif melawan endospora bakteri. Derajat sterilisasi panas lembab di bawah 100°C tergantung pada suhu dan waktu sterilisasi. Sterilisasi panas lembab digunakan pada suhu antara 60 dan 80 °C untuk bahan peka panas dalam industri makanan, dan untuk susu pada suhu 63 °C selama 30 menit atau 720 °C selama 15 menit. Sedangkan alat dan cairan disterilkan dengan cara dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 hingga 10 menit (Pratiwi T Sylvia, 2008).



Gambar 3.2. Autoklaf
Sumber (Murtius, 2018)

Sterilisasi panas lembab pada suhu diatas 100 °C dilakukan dengan menggunakan uap yaitu autoklaf, alat berupa pressure cooker yang dilengkapi pengatur tekanan. Prinsip sterilisasi autoklaf adalah pemadatan terjadi lebih cepat pada kondisi basah dibandingkan pada kondisi kering. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf ini membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi protein dalam enzim di membran selnya. (Pratiwi T Sylvia, 2008)

Peralatan laboratorium yang dapat disterilisasi menggunakan metode ini adalah sebagai berikut (Wulandari *et al.*, 2022).

1. Peralatan yang terbuat dari plastik berkualitas baik seperti polypropylene, polymethylpentene, polyallomer, Tefzel, Polytetrafluoroetheylene (PTFE), dan Teflon FEP.
2. Peralatan yang terbuat dari kaca seperti botol kultur, gelas beker, dan pipet.

Filtrasi

Filtrasi adalah metode utama yang digunakan di laboratorium untuk mensterilkan zat yang tidak tahan panas (tidak stabil), seperti darah, serum, larutan gula, dan antibiotik yang digunakan dalam media kultur.

Kegunaan filtrasi meliputi:

1. Larutan yang tidak tahan panas digunakan untuk sterilisasi obat-obatan, larutan oftalmik, media kultur, minyak, antibiotik, dan larutan tidak tahan panas lainnya
2. Untuk isolasi bakteriofag dan toksin bakteri.
3. Isolasi sejumlah kecil mikroorganisme dalam sampel cair.
4. Memekatkan bakteri dalam cairan menggunakan filter cakram yang dapat mengkonsentrasikan bakteri dari cairan. Misalnya pengujian sampel air untuk *Vibrio cholerae* dan *Salmonella typhi*.
5. Isolasi virus agar mendapatkan filtrat bebas bakteri dengan menggunakan ukuran pori filter yang sangat kecil.

3.3 Metode Sterilisasi kimia

Metode Sterilisasi dilakukan untuk bahan-bahan yang mudah rusak bisa sterilisasi pada suhu tinggi contohnya bahan yang terbuat dari plastik. Kekuatan agen antimikroba kimiawi diklasifikasi atas dasar efisiensinya dalam membunuh mikroorganisme. Seluruh germisida diklasifikasikan sebagai kategori tingkat tinggi karena efektif terhadap seluruh bentuk kehidupan termasuk endospora bakteri (Pratiwi T Sylvia, 2008).

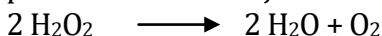
1. Fenol

Fenol untuk pertama kali digunakan pertama kali di lister dalam ruang bedah sebagai germicide untuk mencegah timbulnya infeksi pasca bedah.

Fenol digunakan secara luas sebagai desinfektan. Golongan fenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba mampu membunuh bakteri tapi tidak mampu membunuh spora. Efektif pada konsentrasi 2-5% dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri serta aktif pada pH asam (Pratiwi T Sylvia, 2008).

2. Peroksida

Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan antiseptik yang efektif dan nontoksik. Hidrogen peroksida tidak stabil apabila dipanaskan akan menjadi air dan oksigen (Pratiwi T Sylvia, 2008).



Kehadiran ion logam yang banyak terdapat di sitoplasma menghasilkan oksigen dan juga radikal superoksida (O_2^-) yang menonaktifkan enzim penting mikroorganisme. (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Terdapat bukti bahwa hidrogen peroksida dengan konsentrasi 10% bersifat virusid dan sporasid. Larutan hidrogen peroksida 3% biasanya dipakai untuk mencuci luka karena kuman kuman anerob sangat sensitif terhadap oksigen.

3. Deterjen

Merupakan senyawa organik yang karena struktur dapat berkaitan dengan air dan dengan molekul-molekul organik nonpolar. Molekul deterjen memiliki satu ujung hidrofilik yang dapat bercampur dengan air. Oleh karenanya molekul ini adalah senyawa organik yang, karena strukturnya, dapat berhubungan dengan air dan molekul organik non-polar. Molekul deterjen memiliki ujung hidrofilik yang memungkinkannya bercampur dengan air. Oleh karena itu, molekul deterjen menempel pada permukaan organik dengan ujung hidrofilik menghadap air.

4. Logam-logam berat

Logam berat memiliki efek antibakteri karena dapat menembus enzim dan protein penting lainnya di dalam sel. Logam berat yang umum digunakan adalah Hg, Ag, As, Zn, dan Cu. Efek antibakterinya juga biasa disebut sebagai efek oligodinamik.

Hg

$HgCl_2$ merupakan disinfektan yang sangat populer, namun kini dianggap usang dan tidak berguna karena dapat diinaktivasi oleh zat organik.

Ag

Pada konsentrasi 1% $AgNO_3$ biasa dipergunakan untuk mencegah kemungkinan terjadi infeksi gonokokus pada mata bayi yang baru lahir. Untuk selama beberapa tahun, Penggunaan $AgNO_3$ telah diganti dengan penisilin.

As

Arsen pernah terkenal sebagai obat pertama untuk sifilis, dan kini masih dipergunakan dalam pengobatan infeksi oleh protozoa.

Zn

Dalam bentuk pasta, dipakai untuk mengobati infeksi karena kuman dan jamur.

5. Klorin

Klorin bebas memiliki warna khas (hijau) dan bau yang tajam. Sudah sejak lama klorin dikenal sebagai deodorant dan desinfektan yang sangat baik, dan dijadikan standar pengolahan air minum baik diseluruh lingkungan. Sayangnya kebanyakan senyawa klorin diinaktifkan oleh bahan-bahan organik dan beberapa katalisator logam.

Dikebanyakan rumah sakit dipakai untuk mendesinfeksi ruangan, permungkaan-serta ala-alat nonbedah (Agus *et al.*, 1993). Kombinasi klorin dengan kapur atau natrium dalam persentase tertentu menghasilkan desinfektan yang berguna dalam kehidupan sehari-hari, seperti membersihkan peralatan makan dan minum (Rahmawati, 2019).

6. Alkohol

Alkohol efektif membunuh bakteri dan fungi namun tidak dapat membunuh endospora. Mekanisme kerja alkohol adalah denaturasi protein mikroba dan pelarutan lipid dari membran mikroba, termasuk lipid virus. Dua senyawa alkohol yang umum digunakan adalah etanol dan isopropanol. Konsentrasi optimal etanol sebagai antiseptik adalah 70-80%. Etanol murni memiliki aktivitas antimikroba lebih rendah dibandingkan etanol yang terlarut dalam air. Hal ini disebabkan karena proses denaturasi protein diperlukan adanya air (Pratiwi T Sylvia, 2008).

Alkohol efektif membunuh bakteri dan jamur, namun tidak dapat membunuh endospora. Mekanisme kerja alkohol adalah denaturasi protein mikroba dan pelarutan lipid dari membran mikroba, termasuk lipid virus. Dua senyawa alkohol yang

umum digunakan adalah etanol dan isopropanol. Konsentrasi etanol yang optimal sebagai desinfektan adalah 70-80%. Etanol murni memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah dibandingkan etanol yang dilarutkan dalam air. Hal ini karena air diperlukan untuk proses denaturasi protein (Pratiwi T Sylvia, 2008).

7. Aldehid

Aldehid merupakan antimikroba yang paling efektif. Dua contoh aldehid adalah formaldehid dan glutaraldehid. Formaldehid konsentrasi 2% diketahui paling efektif. Formaldehid dan glutaraldehid menginaktivasi hampir semua jenis mikroorganisme. Perlakuan dengan aldehid dilakukan minimal 30 menit (Pratiwi T Sylvia, 2008)

Aldehid bersifat mutagenik dan karsinogenik. Aldehid menginaktivasi protein dengan membentuk ikatan kovalen dengan beberapa gugus organik fungsional pada protein yaitu NH_2 , OH, COOH dan SH. Gas formaldehid sebagai desinfektan lebih banyak dijumpai sebagai formalin (Pratiwi T Sylvia, 2008).

8. Etilen Oksida

Merupakan bahan kimia yang digunakan untuk sterilisasi ruang tertutup. Mekanisme aksinya adalah dengan mendenaturasi protein mikroorganisme. Etilen oksida mungkin memiliki efek bakterisidal dan sporasidal. Etilen oksida juga biasa digunakan untuk mensterilkan peralatan rumah sakit karena dapat mensterilkan peralatan dan ruangan tanpa mengeluarkan panas. Kerugiannya adalah memiliki residu beracun, memerlukan peralatan khusus untuk digunakan, dan bersifat karsinogenik.

Untuk menjamin sterilisasi bahan-bahan, diperlukan pemaparan selama semalam terhadap Etilen Oksida 12% pada suhu 60°C . Konsentrasi maksimum Etilen Oksida yang diperbolehkan terhadap manusia adalah 50mg/L (Agus *et al.*, 1993).

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, S. *et al.* (1993) *Mikrobiologi Kedokteran*. 1st edn. Jakarta: Binarupa Aksara Publisher.
- Murtius, W.S. (2018) 'Modul Praktek Dasar Mikrobiologi', *Universitas Andalas. Padang, Sumatera Barat*, pp. 1–44. Available at: repo.unand.ac.id.
- Najmah *et al.* (2024) *Pengantar Mikrobiologi*. 1st edn, *Zeitschrift für Krebsforschung*. 1st edn. Purbalingga: PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF01620495>.
- Pratiwi T Sylvia (2008) *Mikrobiologi Farmasi*. 1st edn. Jakarta: Erlangga.
- Rahmawati, D. (2019) *Mikrobiologi Farmasi Dasar-Dasar Mikrobiologi untuk mahasiswa Farmasi*. 1st edn. Pustaka Baru.
- Wulandari, S. *et al.* (2022) 'Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan', *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), p. 16. Available at: <https://doi.org/10.22146/a.77010>.

BAB 4

IMUNOLOGI

Oleh Lukman Harun

4.1 Pendahuluan

Kesehatan adalah keadaan seseorang yang sehat, baik secara intelektual maupun sosial, dan bukan sekedar terbebas dari infeksi untuk memberdayakan mereka untuk melanjutkan kehidupan yang bermanfaat. Upaya kesejahteraan adalah bentuk-bentuk latihan atau serangkaian latihan yang dilakukan dengan cara yang terkoordinasi dan terkendali untuk menjaga dan bekerja secara adil dan seimbang dengan kesejahteraan umum, baik sebagai promotif, preventif, remedial, rehabilitatif, dan juga paliatif oleh pemerintah pusat, daerah, pemerintah atau mungkin daerah setempat (UU Kesejahteraan, 2023)

Manusia diciptakan sebagai makhluk yang sempurna. Salah satu wujud kesempurnaan manusia adalah memiliki anatomi, fisiologi dan sistem imunologi yang luar biasa menakjubkan. Didalam tubuh manusia terdapat banyak sekali molekul, sel, organ dan sistem tubuh yang terintegrasi satu sama lain yang bekerja saling berinteraksi. Salah satunya adalah kemampuan tubuh dalam mempertahankan diri dari antigen asing baik itu self dan non self seperti virus, bakteri, parasit, jamur dan kelainan yang terjadi pada self. Tanpa kehadiran dari sistem imunologi maka manusia akan mudah terserang penyakit berupa infeksi, peradangan, bahkan kanker. (Ermawan 2023)

Imunitas dikenal juga sebagai pertahanan tubuh untuk melawan berbagai macam antigen atau serangan dari patogen yang dianggap berbahaya bagi tubuh akan tetapi juga beberapa yang dianggap berbahaya dari dalam tubuh termasuk zat yang dianggap tidak menular yang bisa menjadi ancaman bagi tubuh seperti Alergi yang juga bisa dikenal dengan hypersensitivitas dengan beberapa tingkatan, tumor dan kanker yang terjadi akibat adanya pembelahan sel yang abnormal, bahkan terjadinya aotoimun yang mana sistem

kekebalan tubuh menyerang self yang seharusnya dijaga oleh sistem imun. (Abbas. 2019)

Imunitas adalah perlindungan terhadap penyakit dan lebih spesifik lagi perlindungan terhadap infeksi. Sel dan molekul yang bertanggungjawab atas imunitas disebut sistem imun dan respon komponennya secara bersama dan terkoordinasi disebut respon imun. Kemudian terungkap bahwa substansi asing non infeksius dapat juga menyebabkan respons imun dan mekanisme yang biasanya melindungi seseorang terhadap infeksi dan berfungsi menyingkirkan substansi asing. Pada keadaan tertentu dapat merusak jaringan dan penyakit. (Budiana. 2013)

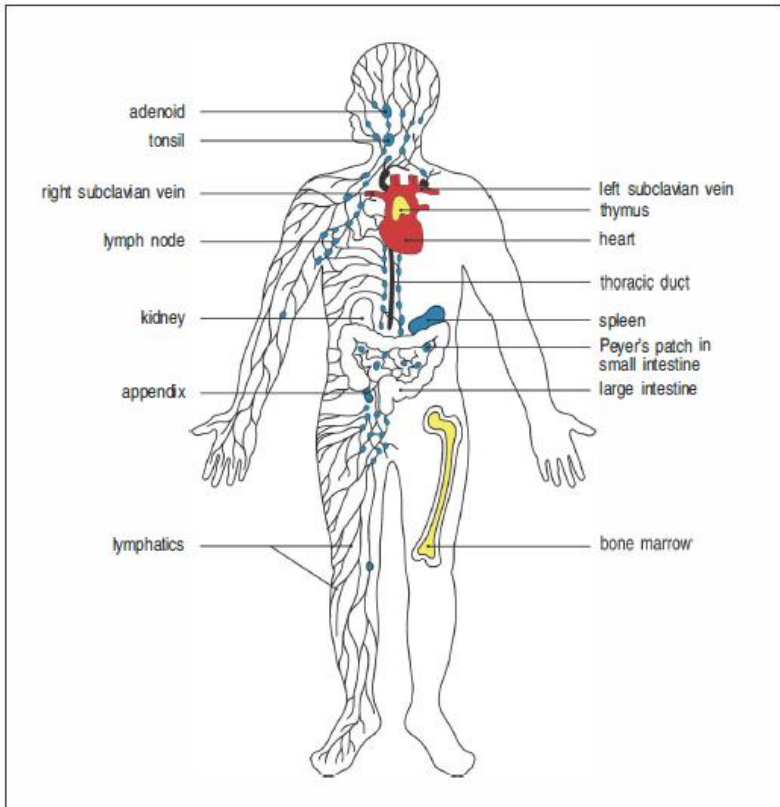
Respon imun adalah reaksi terhadap komponen mikroba maupun makromolekul seperti protein dan polisakarida, dan zat kimia yang dikenal sebagai asing, tanpa melihat konsekuensi fisiologis atau patologis dari reaksi tersebut. Jadi imunologi adalah ilmu yang mempelajari respons imun dalam arti luas mempelajari peristiwa seluler dan molekuler yang terjadi setelah tubuh terpapar mikroba atau makromolekul asing dalam perkembangan imunologi selanjutnya, ternyata bahwa imunologi tidak saja tentang infeksi tetapi sudah meluas hingga meliputi sistem dan organ tubuh.

Imunologi adalah ilmu eksperimental dimana penjelasan tentang fenomena imunologi didasarkan atas observasi eksperimental dan kesimpulan-kesimpulan yang dihasilkannya. Kemajuan dalam teknik kultur sel, metode kombinasi kultur DNA, dan biokimia protein telah merubah imunologi dari ilmu deskriptif menjadi suatu ilmu dimana fenomena imunologik yang sangat beragam dapat dihubungkan satu dengan yang lainnya dan dijelaskan mengenai pengetahuan tentang struktur dan biokimia komponen-komponen yang terlibat dalam sistem imun.

4.2 Sistem Imunitas Tubuh

Lingkungan sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur dan patogen maupun mikroba seperti Virus, Bakteri, Jamur, Parasit dan protozoa yang bisa saja dapat menyebabkan penyakit atau infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi yang terjadi bisa saja berjalan dengan singkat atau sakit yang lama tergantung dari sistem imun yang dimiliki seseorang. Apabila infeksi berjalan singkat

biasanya tidak terjadi kerusakan yang parah pada tubuh seseorang, itu disebabkan karena adanya respons imun untuk melindungi dalam tubuhnya.



Gambar 4.1. Sistem Imunitas Tubuh
(Sumber: Murphy K. 2018)

Bone marrow (sum-sum tulang) adalah tempat diproduksi sel imunitas salah satunya adalah limfosit yang diproduksi dari sel induk di sumsum tulang kemudian melakukan diferensiasi di limfoid kemudian melakukan migrasi ke timus melalui aliran darah, kemudian menuju ke kelenjar getah bening, limfa, limfoid kemudian ke mukosa dan usus buntu karena itu adalah tempat aktivasi limfosit oleh antigen kemudian melalui aliran darah dan organ untuk menemukan antigen.

Respon imun sangat tergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal antigen yang ada pada patogen atau mikroorganisme kemudian melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen. Proses pengenalan antigen sangat penting dalam fungsi sistem imun karena limfosit harus mengenal semua antigen pada mikroorganisme atau patogen dan pada saat yang sama juga harus mengabaikan molekul self atau tubuh sendiri. Oleh sebab itu limfosit dituntut harus mengenal yang mana molekul asing dan membedakan molekul diri sendiri atau self.

Sistem imun yang terpapar mikroorganisme, patogen atau zat yang dianggap asing akan memiliki dua jenis respons imun yang mungkin terjadi, yaitu respon imun nonspesifik atau bawaan dan respon imun yang didapat atau spesifik. Respon imun bawaan umumnya akan melakukan perlawanan dengan cara yang sama kepada setiap antigen asing yang masuk, berbeda dengan sistem imun adaptif atau didapat, respon imun yang terjadi adalah perlawanan antigen asing dengan cara mengenal antigen asing untuk melakukan perlawanan dengan cara yang spesifik.

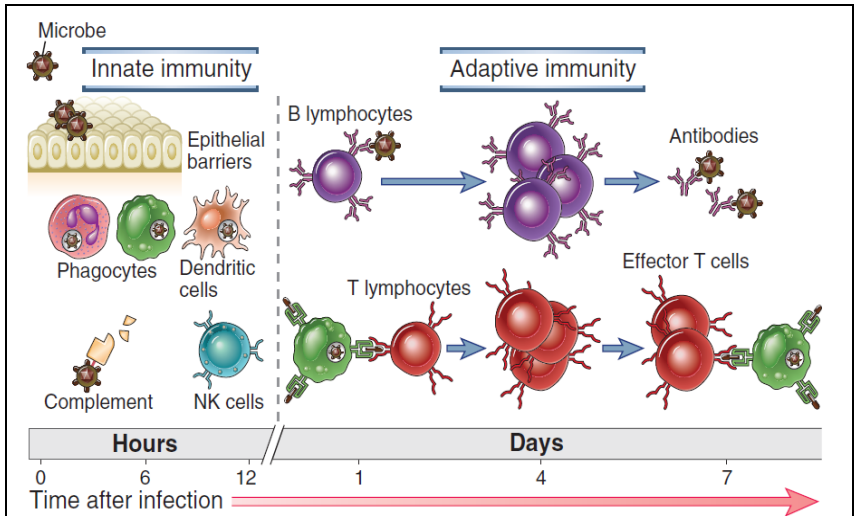
4.2.1 Immunologi Alamiah (Innate)

Imunitas adalah kekebalan terhadap penyakit, terutama penyakit infeksi. Imun sistem adalah semua hal yang berperan dalam proses imun seperti sel, protein, antibody dan sitokin/kemokin. Fungsi utama sistem imun adalah pertahanan terhadap infeksi mikroba, walaupun substansi non infeksius juga dapat meningkatkan kerja sistem imun. Respon imun adalah proses pertahanan tubuh terhadap semua bahan asing, yang terdiri dari sistem imun non spesifik dan spesifik

Imunitas non spesifik merupakan respon awal terhadap mikroba untuk mencegah, mengontrol dan mengeliminasi terjadinya infeksi pada host, merangsang terjadinya imunitas spesifik untuk mengoptimalkan efektifitas kerja dan hanya bereaksi terhadap mikroba, bahan-bahan akibat kerusakan sel (heat shock protein) dan memberikan respon yang sama untuk infeksi yang berulang.

Komponen-komponen utama sistem imun bawaan atau nonspesifik adalah pertahanan fisik, kimi, epitel, molekuler, humoral dan seluler. Dimana setiap pertahanan alamiah memiliki peran

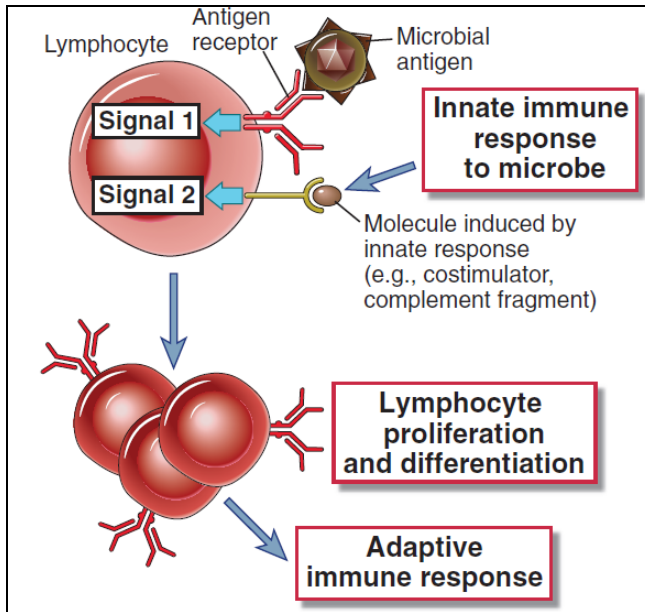
masing-masing dalam mempertahankan tubuh dengan sistem imunitas nonspesifik dalam melawan antigen asing akan memiliki respons imun yang sama terhadap antigen asing.



Gambar 4.2. Innate Immunity
(Sumber: Abbas.A.K. 2019)

Sistem imun yang melindungi tubuh terhadap mikroba penyerang dan benda-benda yang ada di dalam lingkungan salah satunya adalah innate immunity atau imunitas alamiah yang sudah ada sejak lahir dan melindungi neonatus dari mikroba patogen. Siklus hidup mikroba menentukan sifat respon imun terhadapnya.

Imunitas alamiah merupakan mekanisme pertahanan filogenetik yang dirancang untuk segera mengenali, melisiskan atau memfagosis mikroba patogen dan memberi sinyal keberadaannya kepada inang. Sistem imun alamiah mengenali pola mikroba yang tersebar luas melintasi genus, bukan mengenali determinan antigen sendiri-sendiri. Imunitas alamiah tidak memerlukan paparan sebelumnya kepada mikroba penyerang dan tidak diubah oleh pertemuan dengan mikroba ini sebelumnya. Imunitas alamiah ditampilkan dalam beberapa menit sampai beberapa jam menjadikannya respons pertama inang terhadap patogen mikroba.



Gambar 4.3. Immune Response to Microba
(Sumber: Abbas.A.K. 2019)

Untuk mendapatkan Fagositosis sel fagosit harus berada dalam jarak dekat dengan partikel bakteri atau partikel tersebut harus melekat pada permukaan fagosit maka fagosit harus bergerak menuju sasaran. Hal ini bisa terjadi karena dilepaskannya zat atau mediator yang disebut kemotaktik yang berasal dari bakteri maupun yang dilepaskan oleh neutropil atau makrofag yang sebelumnya telah berada di lokasi bakteri.

Mekanisme efektor yang digunakan sistem imunitas alamiah atau innate immunity adalah untuk mengeliminasi penyerang asing dengan fagositosis seringkali sama dengan yang dipergunakan untuk melakukan eliminasi. Banyak respons yang dianggap sebagai bagian dari sistem imun alamiah juga berperan sentral pada respons inflamasi terhadap trauma jaringan.

Mekanisme imunitas alamiah pada fisik dan kimia memberikan beberapa diantara pertahanan alamiah garis terdepan dengan cara melakukan pemecahan perlekatan, masuknya, atau hidupnya mikroba di dalam jaringan lokal dengan cara tidak spesifik. Epitel kulit dan selaput lendir menjadi penghalang fisik,

Pergerakan muskuler epitel paru dan peristaltik saluran cerna menggerakkan mikroba dan benda asing lain melintasi permukaan selaput lendir dan keluar dari tubuh. pH rendah dan kandungan asam lemak tinggi pada kulit menghambat pertumbuhan mikroba. pH rendah lambung merusak struktur penting mikroba dan membatasi kehidupan mikroba.

Tabel 4.1. Characteristics Innate Immunity

	Innate	Adaptive
Characteristics		
Specificity	For molecules shared by groups of related microbes and molecules produced by damaged host cells	For microbial and nonmicrobial antigens
Diversity	Limited; germline encoded	Very large; receptors are produced by somatic recombination of gene segments
Memory	None	Yes
Nonreactivity to self	Yes	Yes
Components		
Cellular and chemical barriers	Skin, mucosal epithelia; antimicrobial molecules	Lymphocytes in epithelia; antibodies secreted at epithelial surfaces
Blood proteins	Complement, others	Antibodies
Cells	Phagocytes (macrophages, neutrophils), natural killer cells	Lymphocytes

Sumber: Abbas. A.K 2019

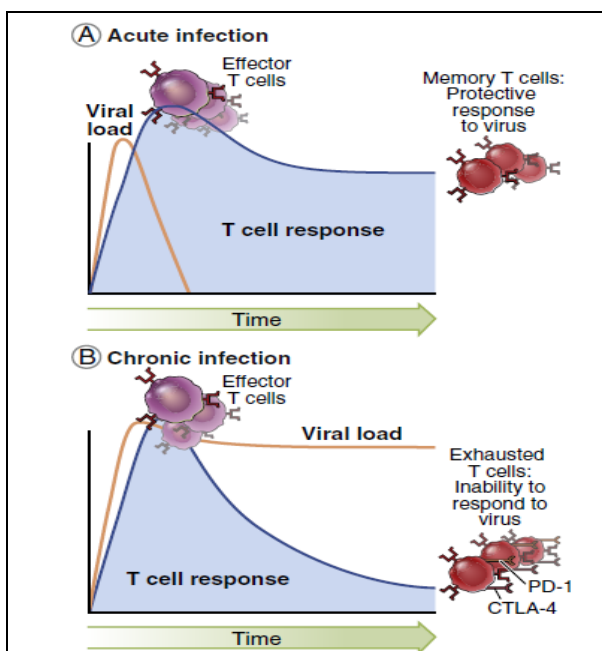
Epitel dan selaput lendir mencegah penetrasi mikroba dan mengikat faktor imun terlarut pada molekul antibodi. Berbagai protein pengikat zat besi pada laktoferin bersaing dengan mikroba untuk mendapat zat besi ekstraselular.

Pola molekuler terkait patogen PAMP dikenal oleh sel-sel imunalamiah dan mediator terlarut, PAMP seringkali berupa struktur permukaan yang sangat berperan atau gugus kimiawi yang memiliki susunan spesial untuk molekul gula yang tidak tampak pada sel inang. PAMP pada filogenik mempertahankan struktur yang penting untuk kehidupan mikroorganisme. Reseptor sel inang yang mampu mengorganisasi kembali PAMP di pertahankan filogenetiknya, pada keluarga reseptor mirip Toll (TLR, Toll like receptor ialah contoh penting molekul inang spesifik PAMP yang secara filogenetik dipertahankan.

4.2.2 Imunitas Didapat (Adaptive)

Sistem imun adaptive atau spesifik adalah suatu sistem yang dapat mengenali substansi asing yang masiuk kedalam tubuh dan dapat memacu perkembangan respon imun yang spesifik terhadap substansi tersebut. Sistem imun spesifik disebut adaptive karena yang berperan adalah Limfosit B dan Limfosit T. adaptive immunity adalah respons imun lapis kedua.

Respons imun adaptive selular yaitu imunitas yang dimediasi oleh sel T limfosit. Mekanisme ini ditunjukkan untuk antigen asing yang menginfeksi sehingga akan ditempel oleh antibody. Limfosit T kemudian akan menginduksi fagositosis dan lisis sel yang terinfeksi. Pada imunitas humeral akan dimediasi oleh molekul yang ada dalam darah yaitu antibodi, antibodi dihasilkan dari Limfosit B dengan menghancutrkan antigen asing yang berada diluar sel. Limfosit B akan mengenali antigen asing kemudian memproduksi antibodi, kemudian akan menempel pada molekul antigen di permukaan mikroorganisme.



Gambar 4.4. T cell response
(Sumber: Abbas.A.K. 2019)

Sistem imun adaptive atau didapat memiliki kemampuan luar biasa untuk mengenali hampir setiap struktur antigen, tetapi karena reseptor setiap struktur antigen dibentuk secara random ia dapat berikatan dengan antigen tanpa melihat asal usul antigen apakah antigen itu berasal dari bakteri atau mikroorganisme atau dari dirinya sendiri.

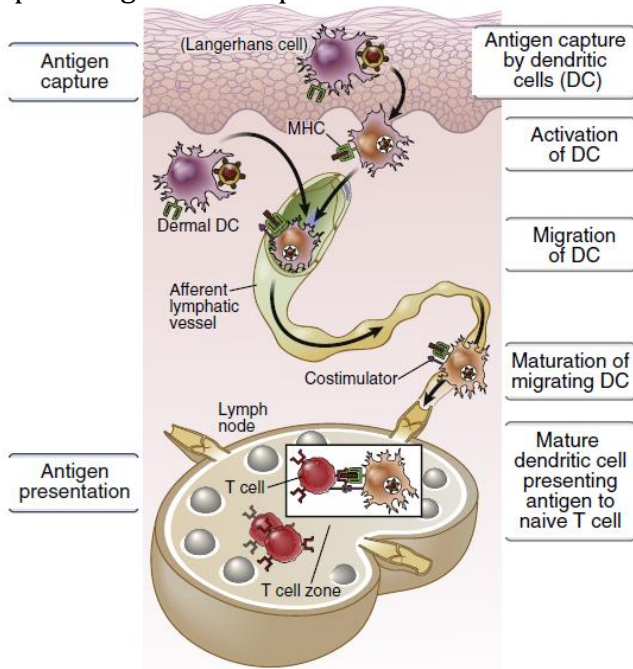
1. **Spesifisitas** ini berarti bahwa respon yang timbul terhadap antigen atau polisakarida yang berbeda tidak sama. Bagian dari antigen tersebut yang dikenal oleh limfosit disebut determinan antigen atau epitop. Spesifikasi ini terjadi karena masing-masing limfosit mengekspresikan reseptor yang mampu membedakan struktur antigen satu dengan lain walaupun perbedaan itu sangat kecil.
2. **Deversitas** jumlah total spesifitas limfosit terhadap antigen dalam satu individu yang disebut lymphocyte repertoire, sangat besar. Hal ini dimungkinkan karena lifosit memiliki reseptor terhadap antigen dengan struktur yang berbeda-beda tergantung dari antigen yang dikenalnya.
3. **Memory** Limfosit memiliki kemampuan mengingat antigen yang pernah dijumpainya dan memberikan respon yang lebih elektif pada perjumpaan berikutnya, walaupun antigen pada kontak pertama dapat dimusnahkan pada sel-sel imun kemudian mengadakan involusi, namun respon primer tersebut sempat mengakibatkan terbentuknya klon limfosit atau kelompok sel yang disebut memory cells yang dapat mengenali antigen berikutnya.
4. **Spesialisasi** sistem imun memberikan respon yang berbeda dan dengan cara yang berbeda terhadap berbagai mikroba yang berlainan. Imunitas selular dan humeral dapat dibangkitkan oleh mikroba pada berbagai stadium infeksi. Antibody dan limfosit dapat dibentuk berbeda tergantung jenis mikroba yang merangsangnya.
5. **Self limitation** Semua respons imun akan mereda dalam waktu tertentu setelah rangsangan antigen. Hal ini dimungkinkan karena antigen yang merangsang telah disingkirkan dan adanya

regulasi umpan balik dalam sistem yang menyebabkan respons imun terhenti.

6. **Membedakan Self dan non self** sistem imun menunjukkan toleransi pada antigen tubuh sendiri. Hal ini karena limfosit memiliki reseptor terhadap antigen tubuh sendiri pada saat dilakukan seleksi pada timus, hal ini akan terjadi pada keadaan sistem imun yang normal

4.3 Antigen dan Antibodi

Antigen adalah substansi yang dapat dikenal dan diikat dengan baik oleh sistem imun antigen dapat berasal dari mikroorganisme baik itu virus, bakteri, jamur dan parasit. Atau molekul asing bagi tubuh. Tidak setiap bagian dari antigen secara langsung berikatan dengan molekul reseptor seperti antibodi yang dikenal dengan epitop. Haptein adalah molekul organik kecil yang dapat mengikat bagian reseptor antigen. Meskipun molekul ini kecil tetapi dapat menginduksi respon imun sendiri.

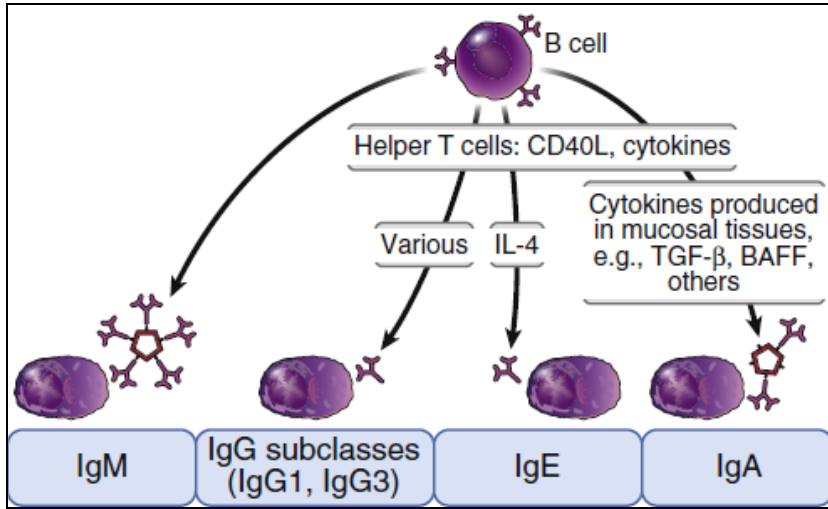


Gambar 4.5. T Antigen
(Sumber: Abbas.A.K. 2019)

Antigen presenting Cells adalah sel assesoris yang berfungsi mempresentasikan antigen terhadap limfosit agar respon imun berhasil dengan baik. Banyak antigen yang harus di telan dan diproses secara intraseluler kemudian dipresentasikan ke permukaan agar dikenali oleh limfosit. Macam antigen tersebut antara lain sel kanker, virus, sedang antigen yang berupa protein akan diproses dan dipresentasikan menjadi peptide. Jenis sel yang dapat bertindak sebagai APC antara lain macrofag, sel dendrite, sel B dan sel langerhans.

Didalam tubuh mempunyai sistem marker glikoprotein yang dikode oleh gen yang dikenal dengan *Histocompatibility Complex* atau MHC molekul ini melekat pada permukaan membran sel terutama pada sel assesoris. Sifat MHC adalah polimorpisme terdapat pada semua individu dan pada orang kembar mempunyai kombinasi protein MHC yang sama. Protein tersebut sangat berperan pada komunikasi antar sel dan respon imun dalam tubuh. Termasuk merespon tipe antigen.

Antibodi adalah protein imunoglobulin yang disekresi oleh sel B yang teraktifasi oleh antigen. Antigen merupakan biomolekul yang tersusun atas protein dan dibentuk sebagai trespon terhadap keberadaan benda asing yaitu antigen. Setiap kali ada antigen yang masuk ke dalam tubuh diperlukan 10-14 hari untuk membentuk antibodi. Antibodi dihasilkan oleh alimfosit B. Antibodi digunakan untuk menetralkan atau menghancurkan antigen yang masuk kedalam tubuh.



Gambar 4.6. T Antibodi
(Sumber: Abbas.A.K. 2019)

Antibodi disebut juga imunoglobulin (Ig) atau serum protein globulin, karena berfungsi untuk melindungi tubuh lewat proses kekebalan (immune). Ada lima macam imunoglobulin, yaitu IgG, IgM, IgA, IgD, dan IgE.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2019). *Basic Immunology: Basic Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Boediana Kresno S. (2013). *Imunologi: Doagnosis dan prosedur laboratorium*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta
- Fauziah, P. N., Mainassy, M. C., Ode, I., Affandi, R. I., Cesa, F. Y., Umar, F., ... & Setiyabudi, L. (2023). *Imunologi*. Penerbit Widina.
- Ermawan.B (2023). *Asuhan Keperawatan pada pasien dengan gangguan Sistem Imunologi*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta
- Hasdianah. 2014. *Imunologi diagnosis dan teknik biologi molekuler*. Nuha Medika. Yogyakarta
- Murphy, K., & Weaver, C. (2018). *Janeway immunologie*. Springer-Verlag.
- Parmely.J.Machael. 2013. *Medical Notes Imuologi Klinik*. Karisma Publisng. Jakarta
- Rantam A. Fedik. *Metode imunologi*. Airlangga University Press. Surabaya
- Rifa'i, M. (2013). *Imunologi dan Alergi Hipersensitif: Imunologi untuk Biologi Kedokteran*. Universitas Brawijaya Press.

BAB 5

RESPON IMUN PADA INFEKSI VIRUS

Oleh Anggraini Putri Utami

5.1 Pendahuluan

Organisme multiseluler memiliki kemampuan luar biasa untuk melawan mikroorganisme berbahaya dan melindungi diri dari serangan biologis eksternal. Kemampuan ini dikenal sebagai imunitas. Sistem imun bagaikan benteng pertahanan yang tangguh, bekerja dengan cerdas untuk mengenali dan menghancurkan patogen seperti virus, bakteri, jamur, dan parasit yang berpotensi dapat menyebabkan penyakit.

Sistem imun adalah sistem jaringan dan komponen seluler (sel imun, kelenjar getah bening, dan jaringan mukosa) yang diatur dengan ketat dan kompleks, serta komponen humoral (antibodi, protein antimikroba, dan protein komplemen). Semua ini berevolusi untuk bekerja bersama-sama melindungi kita dari penyakit infeksi. Sistem imun juga dapat dibagi menjadi imunitas bawaan dan imunitas adaptif

Imunitas dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu bawaan dan adaptif. Sistem kekebalan bawaan dan adaptif berevolusi dengan tugas berbeda untuk mengendalikan infeksi. Melalui pengenalan asam nukleat virus, protein virus, atau kerusakan jaringan, kekebalan bawaan dipicu selama fase awal infeksi virus. (Tan, Koh and Bertoletti, 2015). Imunitas bawaan adalah respons cepat yang tidak spesifik yang membantu tubuh mencegah infeksi dari patogen yang belum pernah ditemui sebelumnya, sebelum respons antibodi berkembang. Imunitas adaptif adalah respons yang lebih lambat dan lebih spesifik terhadap patogen (sel B/sel T) (Herbert and Panagiotou, 2022).

Neutrofil, eosinofil, basofil, dan sel mast jaringan juga berperan dalam respon terhadap reaksi yang diperantarai imun. Antibodi dan sistem komplemen merupakan bagian humoral dari

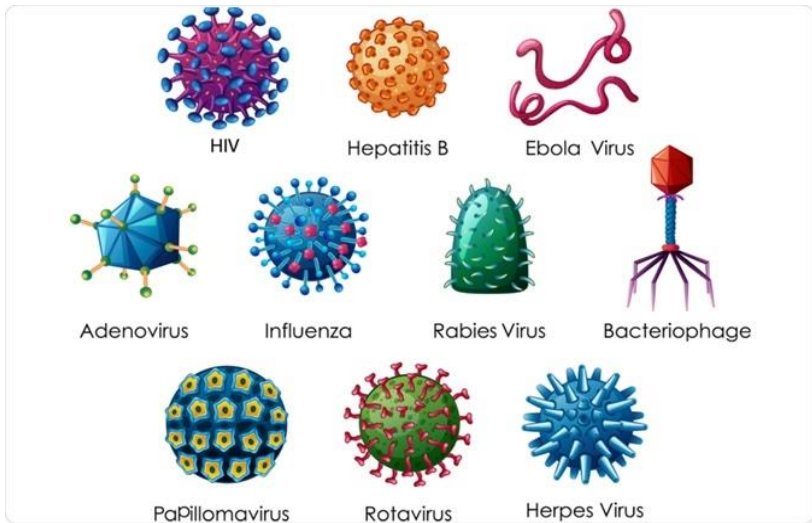
respon imun. (Streeck, Suscovich and Alter, 2016). Pada bab ini akan membahas bagaimana respon imun terhadap infeksi virus.

5.2 Virus dan Jalur Infeksi

Virus merupakan entitas biologis yang mampu melakukan multiplikasi dengan bantuan sel dan penyebaran antar sel dan organisme. Multiplikasi dan penyebaran virus umumnya merupakan proses siklus. Partikel virus yang bersifat infeksius (virion) memasukkan genomnya ke dalam sel inang, virion baru terbentuk di dalam sel dan dilepaskan, dan selanjutnya dapat menginfeksi sel inang lainnya. Siklus infeksi ini sering disebut sebagai siklus kehidupan virus. Karena banyak efek yang ditimbulkan oleh infeksi virus pada makhluk hidup, virus seringkali hanya dianggap sebagai patogen penyebab penyakit dan penderitaan manusia, kerugian ekonomi, dan masalah sosial. (Blanco, 2013).

Virus sebagai parasit intraseluler obligat membutuhkan inang untuk bereplikasi dan mempermudah penyebarannya ke inang lain. Pada manusia, infeksi virus jarang mematikan, meskipun sangat merusak sel individu. Kematian terjadi biasanya dikarenakan virus dengan spesies tertentu (seperti Ebola atau *Human Immunodeficiency Virus* atau HIV), ketika virus mengalami perubahan antigenik besar seperti misalnya virus influenza, atau ketika kekebalan inang terganggu. HIV merupakan salah satu contoh paling dramatis dari virus eksotis yang membunuh inangnya. Virus HIV membunuh secara perlahan, memiliki waktu yang lama untuk menyebar ke inang baru yang nantinya virus akan bertahan hidup dan menetap dalam tubuh mamalia (Yewdell, Pierson and Bennink, 2022).

Menurut *National Geographic Society* virus umumnya memiliki dua bentuk: batang atau bola. Namun, bakteriofag (virus yang menginfeksi bakteri) memiliki bentuk yang unik, dengan kepala berstruktur geometris dan serabut ekor yang seperti filamen. Terlepas dari bentuknya, semua virus terdiri dari materi genetik (DNA atau RNA) dan memiliki lapisan protein luar yang dikenal sebagai kapsid.



Gambar 5.1. Berbagai macam bentuk virus
(Sumber : *GraphicsRF.com / Shutterstock.com*)

Kulit adalah organ tubuh terbesar dan merupakan pelindung fisik yang sangat kuat, sehingga banyak patogen kesulitan menembusnya. Selain sebagai penghalang fisik, kulit juga tidak ramah bagi banyak patogen karena mengandung peptida antimikroba yang dapat membunuh patogen (Handfield, Kwock and MacLeod, 2018). Kulit juga ditutupi oleh flora kulit komensal yang membantu penyembuhan luka dan menghambat pertumbuhan mikroba lainnya (Robinson and Pfeiffer, 2014). Meskipun kulit merupakan pertahanan utama tubuh, namun ada beberapa virus seperti Human Papilloma Virus (HPV) dan Herpes Simplex Virus (HSV), dapat menembusnya untuk masuk ke dalam tubuh. Virus-virus ini memerlukan luka, sekecil apapun, sebagai celah untuk menginfeksi tubuh (Herbert and Panagiotou, 2022)

Virus lain melewati lapisan pelindung kulit dengan cara ditularkan melalui vektor, yang sekali lagi menembus lapisan kulit. Beberapa contoh vektor umum seperti nyamuk, kutu, pinjal, dan lalat pasir. Nyamuk merupakan vektor umum yang membantu penularan banyak virus pada manusia, seperti virus Zika, Demam Berdarah (DENV), Demam Kuning (YFV), dan Chikungunya (Herbert and Panagiotou, 2022).

Permukaan mukosa merupakan jalur utama bagi virus dan patogen lainnya untuk masuk ke dalam tubuh Bomsel dan Alfsen, 2003). Permukaan mukosa meliputi termasuk mulut, hidung, mata, saluran pernapasan, saluran pencernaan, saluran kemih, dan saluran reproduksi. Saluran pernapasan dan saluran pencernaan merupakan tempat utama masuknya virus. Semua tempat ini memiliki persenjataan berupa agen antimikroba, tipe sel spesialis, antibodi mukosa (terutama IgA sekretoris), dan beberapa memiliki kondisi yang tidak ramah (pH rendah). Selain itu, tempat-tempat ini dihuni oleh berbagai sel imun yang berpatroli di titik masuk ini untuk mencegah invasi dan infeksi patogen.

Salah satu contoh nyata bahwa virus dapat memanipulasi tempat-tempat mukosa untuk membantu infeksi dan penularan terlihat pada infeksi epitel pernapasan. Saluran pernapasan dilapisi oleh tipe sel khusus yaitu sel epitel bersilia dan sel goblet. Kedua sel ini penting untuk fungsi normal dari eskalator mukosiliar (Tam et al., 2011). Sel-sel epitel saluran napas yang memiliki rambut halus (AEC) melapisi sebagian besar permukaan pernapasan dan bergerak bergoyang secara teratur ke arah yang sama untuk mendorong lendir keluar dari saluran udara. Lendir ini, yang dihasilkan oleh sel goblet, melapisi permukaan epitel dan menjebak patogen serta partikel lain yang terhirup, yang kemudian dibuang dari saluran udara oleh AEC bersilia. (Jeffery, 1983).

Gangguan fungsi sel-sel ini dan eskalator mukosiliar, seperti yang terlihat pada kondisi seperti fibrosis kistik dan diskinesia silier primer, menyebabkan infeksi saluran pernapasan kronis dan kerusakan paru-paru. Gangguan fungsi sel-sel dan eskalator mukosiliar, seperti pada fibrosis kistik dan diskinesia silier primer, dapat memicu infeksi saluran pernapasan berkepanjangan dan kerusakan paru-paru (Wijers et al., 2017)

Kerusakan jaringan yang disebabkan oleh sistem imun terjadi pada hampir semua infeksi virus. Hal ini diawali dengan perekrutan dan aktivasi sel inflamasi, terutama makrofag dan pada beberapa infeksi neutrofil. Sel-sel ini kemudian melepaskan berbagai molekul yang menyebabkan kerusakan atau disfungsi jaringan. Molekul tersebut termasuk sitokin sitotoksik, protein kationik, mediator lipid, metaloproteinase, dan komponen ledakan

oksigen. Spesies oksigen reaktif yang terakumulasi di mitokondria dapat semakin memperparah kerusakan jaringan. Sistem imun bawaan dan adaptif turut berperan dalam memediasi kerusakan jaringan (Rouse and Sehwat, 2010).

5.3 Sistem Imunitas Bawaan

Pada sistem imunitas bawaan, ketika suatu virus masuk ke dalam tubuh, maka sistem imun bawaan tubuh kita akan mengenali dan melawan virus tersebut. Langkah pertama virus masuk adalah dengan melewati penghalang fisik seperti kulit dan juga permukaan mukosa (Herbert and Panagiotou, 2022). Ketika virus berhasil menembus penghalang fisik, mereka akan dideteksi oleh beberapa komponen sistem kekebalan bawaan seperti sel epitel yang melapisi permukaan tubuh, sel imun patroli yang merupakan sel darah putih seperti neutrofil dan makrofag berpatroli di dalam tubuh mencari patogen. Sel imun patroli memiliki reseptor yang dapat mengenali molekul yang terkait dengan virus, seperti RNA atau DNA virus. Komponen sistem kekebalan bawaan lainnya adalah antibodi, yang merupakan protein yang dihasilkan oleh sel imun untuk melawan patogen tertentu. Antibodi dapat menempel pada virus dan menandainya untuk dihancurkan oleh sel imun lainnya. Saat virus sudah dikenali, maka sistem imunitas bawaan akan melakukan serangan untuk menghancurkan virus tersebut. Serangan ini melibatkan berbagai sel dan molekul, termasuk sel fagosit, sel pembunuh alami, dan sistem komplemen.

Virus beserta perantara replikasinya dapat dikenali oleh beberapa reseptor imun bawaan yang diekspresikan di permukaan sel inang atau di dalam sel. Banyak jenis reseptor imun bawaan yang dapat berperan dalam respon imun, tetapi pada infeksi virus, yang paling banyak dipelajari adalah *Toll-like Receptor* (TLR), *Retinoic acid-Inducible Gene I* (RIG-I; juga dikenal sebagai DDX58), dan *NOD Like Receptor* (NLR). Infeksi virus biasanya mengaktifkan TLR endosomal (TLR3, TLR7, TLR8, dan TLR9) yang mengenali asam nukleat virus dan perantara RNA untai ganda (Rouse and Sehwat, 2010).

5.3.1 Pattern Recognition Receptor

Pattern Recognition Receptor (PRR) merupakan komponen kunci dari sistem imun bawaan. Reseptor ini terdapat pada permukaan sel dari berbagai jenis sel seperti sel imun, sel epitel, sel endotel, dan lain lain, reseptor ini mengenali komponen yang dimiliki oleh banyak patogen yang tidak terdapat pada inang, sehingga dapat membedakan dan mengenali diri (Takeuchi and Akira, 2010)

Molekul-molekul ini dikenal sebagai *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs). PAMP meliputi hal-hal seperti lipopolisakarida (LPS), flagelin, peptidoglikan, yang terdapat pada permukaan berbagai patogen bakteri. PAMP juga mengenali materi genetik dari beberapa virus (dsRNA/ssRNA), dan komponen universal lain yang dimiliki oleh mikroorganisme lain (jamur, parasit) (Takeuchi and Akira, 2010). Kemampuan mengenali patogen yang berbeda bergantung pada PRR yang dimiliki sel, dan dengan demikian menentukan respon imun selanjutnya. Patogen akan sering mengaktifkan beberapa PRR yang memungkinkan komunikasi antar reseptor dan respon imun yang lebih kuat.

PRR memiliki lokasi yang berbeda-beda di dalam sel. Ada yang terletak di membran plasma dan berfungsi untuk mengenali patogen ekstraseluler. Jenis PRR ini banyak ditemukan pada sel imun dan epitel. Selain itu, ada juga PRR yang berada di dalam sel dan berfungsi untuk mengenali patogen intraseluler, seperti virus. PRR intraseluler ini dapat terikat membran dan ditemukan di dalam membran endosom atau bebas di dalam sitoplasma. Jenis PRR ini banyak ditemukan di semua jenis sel (Chan and Gack, 2016). PRR memiliki 4 kelompok utama yaitu *Toll-like Receptor* (TLR) merupakan yang paling banyak dipelajari, *C-type lectin receptors* (CLR), reseptor mirip *Retinoic acid inducible gene-I* (RIG-1) (RLR) dan *Nucleotide-binding oligomerisation domain-like receptors* (NLR).

5.3.2 Toll-like Receptor

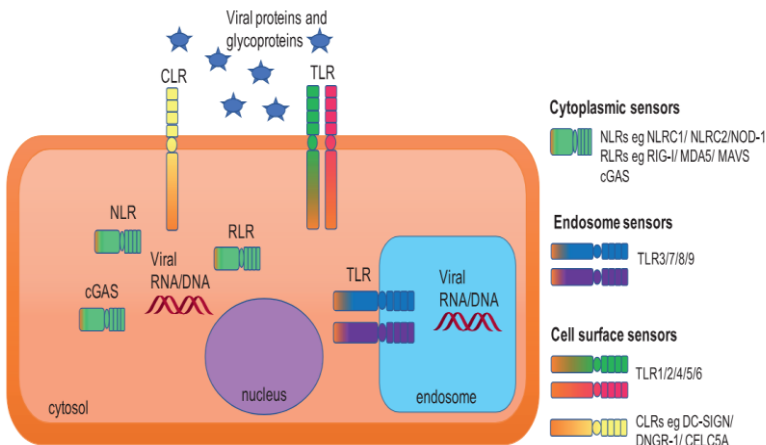
Toll-like Receptor (TLR) adalah protein yang terikat pada permukaan sel atau membran endosom, diekspresikan oleh berbagai sel termasuk sel dendritik (DC), makrofag, limfosit, dan sel

parenkim. Ekspresi TLR sebagian besar dapat diinduksi pada sebagian besar jenis sel (Kopp and Å, 2003). Manusia memiliki 10 reseptor fungsional TLR, dimana TLR 1, 2, 4, 5, 6, dan 10 ditemukan di membran plasma, sedangkan TLR 3, 7, 8, dan 9 berada di membran endosom dimana akan mengenali patogen intraseluler.

Molekul sinyal terdiri dari domain ekstraseluler yang mengenali *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMP) dan domain intraseluler yang memiliki kemampuan pensinyalan sel, dikenal sebagai domain *Toll Interleukin Receptor* (TIR). TLR yang terdapat di dalam endosom memiliki domain pensinyalan yang berada di dalam sitoplasma sel dan domain pengenalan PAMP yang berada di dalam endosom. TLR 3, 7, dan 8 adalah TLR utama yang mendeteksi keberadaan materi genetik virus. TLR3 mengenali dsRNA (double-stranded RNA), dan TLR 7, 8 mengenali ssRNA (single-stranded RNA), yang dapat berupa komposisi genom virus atau produk yang dihasilkan selama replikasi virus (Yewdell, Pierson and Bennink, 2022)

Selain mengenali materi genetik virus, protein virus juga telah terbukti mengaktifkan sejumlah TLR (Toll-like Receptor) yang terekspos pada permukaan sel. Hal ini juga berlaku untuk protein non-struktural (NSP) 1 dari DENV, dan glikoprotein permukaan dari EBOV, yang keduanya juga secara langsung mengaktifkan TLR4 (Modhiran *et al.*, 2017) Contoh protein virus yang secara langsung mengaktifkan TLR2 termasuk protein hemagglutinin campak dan NSP4 rotavirus (Ge *et al.*, 2013).

Gambar 5.2 menunjukkan lokasi reseptor pengenalan pola (PRR) Skema TLR. Terdapat dua jenis TLR yaitu TLR membran plasma yang mendeteksi patogen ekstraseluler dan TLR endosom yang mendeteksi patogen intraseluler. Kedua jenis TLR memiliki domain pengenalan patogen di luar sel (untuk TLR membran plasma) atau di dalam endosom (untuk TLR endosom), dan domain pensinyalan terminal-C di sitoplasma. Selain TLR, CLR juga terdapat di membran plasma dan mengenali patogen ekstraseluler. PRR lainnya, yaitu NLR, RLR, dan cGAS, terdapat di sitoplasma sel dan mengenali patogen.



Gambar 5.2. Pengenalan pola (PRR) Skema TLR

5.3.3 C-type Lectin Receptors

C-type lectin receptors (CLR) berperan dalam imunitas antivirus dan pensinyalan hilir, reseptor ini merupakan tipe PRR yang mengenali struktur karbohidrat melalui domain pengenalan karbohidratnya yang terdapat pada glikoprotein permukaan patogen seperti mannosa, glukosa, dan fukosa. Mannosa menjadi salah satu yang sering dikenali pada patogen virus. Contoh dari reseptor ini yang mengenali patogen virus termasuk DC-SIGN, yang mengenali mannosa pada *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) dan *Influenza A Virus* (IAV) (Yu *et al.*, 2017)

Mekanisme pensinyalan yang terjadi setelah aktivasi CLR bervariasi dan kompleks, tergantung pada jenis CLR yang diaktifkan. Jalur pensinyalan CLR ini juga dapat berinteraksi dengan jalur pensinyalan TLR, sehingga menambah kompleksitasnya. Ciri khas aktivasi CLR adalah aktivasi jalur pensinyalan IFN dan NF- κ B, serupa dengan aktivasi TLR. CLR umumnya ditemukan pada sel profesional antigen presenting cells (APC). Oleh karena itu, antigen virus yang ditangkap oleh CLR diinternalisasi dan diproses oleh APC untuk kemudian dipresentasikan ke sel T melalui molekul major histocompatibility complex (MHC) kelas II ini terjadi dikarenakan antigen virus berasal dari luar sel. Sel T yang mengenali antigen yang dipresentasikan pada MHC kelas II adalah sel T helper CD4+ (Yewdell, Pierson and Bennink, 2022).

Meskipun aktivasi PRR jenis ini berperan penting dalam memicu respon imun antivirus seperti yang dijelaskan oleh (Long *et al.*, 2013) beberapa virus justru telah beradaptasi untuk mengelak reseptor ini. Bahkan, virus-virus tersebut dapat memanfaatkan PRR untuk membantu proses infeksi dan penyebarannya. Contohnya adalah HIV, EBOV, dan Hepatitis C Virus (HCV).

5.3.4 *Retinoic acid Inducible gene-I (RIG-1) like Receptors (RLRs)*

RLR merupakan jenis reseptor PRR yang mengandung helicase RNA kotak DExD/H, merupakan reseptor penting dalam sel inti untuk mendeteksi virus RNA. Pada mamalia, terdapat tiga anggota RLR: RIG-I (DDX58), MDA5 (IFIH1), dan LGP2 (DHX58) ((Chen, Zou and Nie, 2017). Ketiga protein ini memiliki peran penting dalam mengenali virus RNA di dalam sel (Kell and Gale, 2015)

Saat tidak ada infeksi virus, protein RLR berperan sebagai penjaga, mengawasi pola molekul virus (PAMP). Protein ini selalu ada di dalam sel, meskipun dalam jumlah sedikit. Baik RIG-I dan MDA5 memiliki bagian ujung-C (CARD) yang berfungsi mengaktifkan dan merekrut caspase, protein yang memicu respons imun. Ketika protein RLR mengenali RNA virus, strukturnya berubah dan memicu serangkaian sinyal. Sinyal ini kemudian memicu pembentukan kompleks dengan protein MAVS di mitokondria. Hal ini mengarah pada produksi interferon tipe III dan gen lain yang distimulasi interferon (ISG) yang membantu melawan virus. (Loo and Gale, 2011)

Reseptor ini terbukti berperan penting dalam mengenali infeksi oleh sejumlah virus penting seperti virus influenza A (IAV), virus hepatitis C (HCV), virus hepatitis B (HBV), virus West Nile (WNV), picornavirus, dan lain-lain (Chan and Gack, 2016)

5.3.5 *Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (NLRs)*

NLR merupakan reseptor pengenalan pola (PRR) yang diekspresikan di dalam sitosol. NLR terus-menerus memantau lingkungan sitosol untuk mencari tanda-tanda infeksi, molekul yang

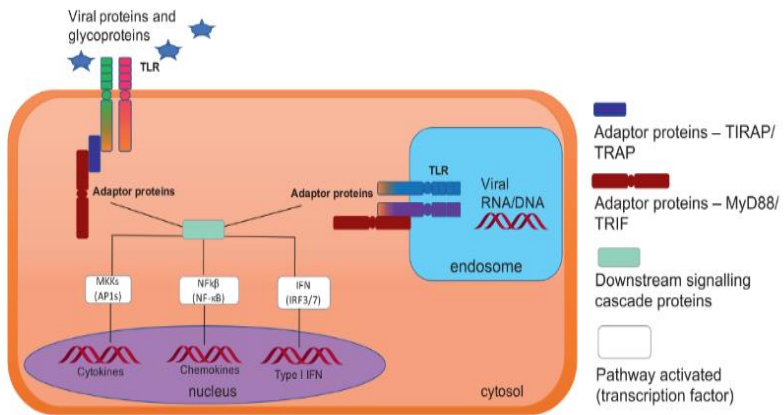
dapat memengaruhi keseimbangan sel seperti racun atau bahkan ketidakseimbangan dalam proses metabolisme. Ada 22 NLR dengan protein pengikat nukleotida domain oligomerisasi (NOD) 1/NOD-2 dan NOD-, LRR-, dan domain pirin-3 (NLRP3) yang paling terkarakterisasi dengan baik. Reseptor ini mendeteksi berbagai macam stimulus termasuk RNA dan DNA virus. NLR mengandung beberapa domain, domain inti NLR seperti NLRC1 dan NLRC2, memiliki peran penting dalam aktivasi mitogen-activated protein kinase (MAPK) yang menghasilkan interferon tipe I (Anand *et al.*, 2011).

Reseptor tertentu dapat memicu aktivasi inflammasome (protein pertahanan tubuh) dan caspase melalui NLRP1, NLRP3, dan NLRC4. Aktivasi ini menghasilkan pemecahan pro-IL-1 β dan pro-IL-18 (Malireddi *et al.*, 2010) yang memicu piroptosis (kematian sel) melalui caspase 1. Penelitian menunjukkan bahwa virus RNA, seperti virus influenza dan rotavirus, dapat memicu aktivasi inflammasome NLRP3 dan caspase-1 pada makrofag tikus.

5.3.6 Sensor DNA Sitoplasma dan Jalur Persinyalan Downstream / Hilir

Sensor DNA sitoplasma, seperti cGAS, STING, dan IFI16, berperan penting dalam mendeteksi infeksi virus DNA dan RNA (termasuk HIV) dengan mengenali DNA virus di sitoplasma. Mekanisme ini memicu respons imun melalui aktivasi jalur IFN dan NF- κ B. Sensor ini tidak membedakan DNA virus dan sel inang, namun lokasinya di sitoplasma membedakannya dari DNA sel inang yang berada di inti.

Pada Gambar 5.3 menunjukkan bahwa PRR mendeteksi patogen dan mengaktifkan respon imun. TLR, sebagai contoh, mengikat protein adaptor (TIRAP/TRIF/MyD88) dan memicu kaskade pensinyalan. Kaskade ini mengaktifkan protein lain dan akhirnya faktor transkripsi (NF- κ B, AP1, IRF3/7). Faktor transkripsi ini masuk ke nukleus dan mengaktifkan gen (sitokin, kemokin, interferon). Mekanisme ini mirip pada PRR lain, namun protein adaptor dan kaskade pensinyalan, serta jalur yang diaktifkan, bisa berbeda.



Gambar 5.3. Jalur Utama Persinyalan *Pattern recognition receptors* (PRRs)

(Sumber : (Herbert and Panagiotou, 2022))

a. Jalur Interferon (IFN)

Interferon (IFN) adalah protein penting dalam sistem kekebalan tubuh yang melawan virus. Ada tiga jenis IFN: tipe I, II, dan III. IFN tipe I dan III diproduksi sebagai respons terhadap infeksi virus dan membantu membatasi replikasi virus, meningkatkan kelangsungan hidup sel, dan mendorong respons imun adaptif. IFN tipe I terdiri dari 17 sitokin, tipe II terdiri dari 1 sitokin, dan IFN tipe III terdiri dari 4 sitokin. Aktivasi IFN dikontrol secara ketat karena efeknya yang luas pada tubuh. IFN tipe I bekerja pada sebagian besar sel berinti, sedangkan IFN tipe III bekerja terutama pada sel epitel.

b. Jalur NK-K β

Jalur NK-K β merupakan salah satu dari 3 jalur utama dalam sistem kekebalan tubuh yang aktif saat mendeteksi patogen. Jalur ini melibatkan 5 protein (NF- κ B1, NF- κ B2, RelA, RelB, dan c-Rel) yang memicu produksi gen untuk sitokin, kemokin, dan inflammasom. Faktor transkripsi NF- κ B biasanya tidak aktif karena terikat protein penghambat di sitoplasma. Ketika jalur NF- κ B aktif, protein penghambat ini didegradasi,

sehingga NF- κ B berpindah ke nukleus dan mengaktifkan gen yang dikendalikannya (Liu *et al.*, 2017).

c. Jalur Mitogen-activated protein kinase (MAPK)

Merupakan jalur akhir yang diaktivasi oleh PRR, terdiri dari kinase serin/treonin yang terkonservasi. Diaktifkan oleh berbagai stimulus, termasuk komponen virus, jalur ini memicu fosforilasi MAP kinase hulu dan mengatur berbagai fungsi seluler seperti diferensiasi, proliferasi, dan kelangsungan hidup (DuShane and Maginnis, 2019)

Sistem imun saling terkait dan banyak jenis sel yang berperan dalam respon imun antivirus. beberapa sel merupakan mekanisme kunci dalam pemberantasan virus. Sel lain dari respon imun bawaan, seperti fagosit profesional, makrofag, dan sel dendritik, juga penting dalam respon imun antivirus. Terutama sel dendritik, yang menjembatani lengan bawaan dan adaptif dari respon imun.

5.3.7 Sel Imunitas Bawaan dalam Respon Antivirus

Sistem imun saling terkait dan banyak jenis sel yang berperan dalam respon imun antivirus. beberapa sel merupakan mekanisme kunci dalam pemberantasan virus. Sel lain dari respon imun bawaan, seperti fagosit profesional, makrofag, dan sel dendritik, juga penting dalam respon imun antivirus. Terutama sel dendritik, yang menjembatani lengan bawaan dan adaptif dari respon imun.

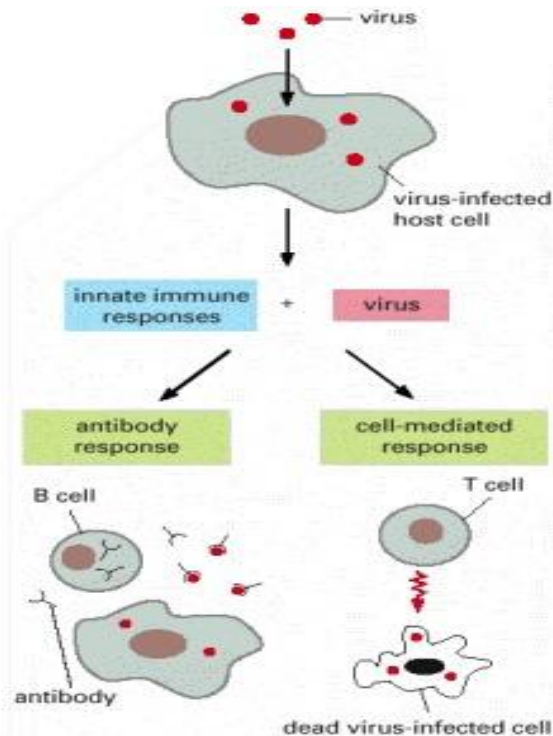
Respon Imunitas bawaan dalam respon antivirus mekanismenya adalah yang pertama saat virus mencoba masuk akan ada penghalang fisik seperti kulit, selaput lendir yang akan mencegah agar virus tidak masuk kedalam tubuh. Apabila virus sudah masuk maka akan ada peristiwa fagositosis dimana sel fagosit seperti makrofag dan neutrofil menelan dan mencerna virus, menghancurkan mereka dalam prosesnya. Kemudian virus ditandai, dilisiskan, dan fagositosisnya ditingkatkan oleh sistem komplemen, yang merupakan sekelompok protein yang bekerja sama. Interferon, protein yang diproduksi oleh sel yang terinfeksi virus dan sel

imunitas lainnya, menghambat replikasi virus dan meningkatkan aktivitas antivirus sel-sel imunitas lainnya. Sel pembunuh alami (NK) akan mengenali dan membunuh sel yang terinfeksi virus tanpa perlu diaktivasi oleh antigen spesifik.

5.4 Sistem Imunitas Adaptif

Berbeda dengan respon imunitas bawaan, sistem imunitas adaptif sangat spesifik untuk patogen tertentu yang menginduksinya. Respon dari imunitas adaptif juga dapat memberikan perlindungan jangka panjang. Contohnya pada seseorang yang sembuh dari campak, mereka akan terlindungi seumur hidup dari campak oleh, meskipun tidak terhadap virus umum lainnya, seperti yang menyebabkan gondongan atau cacar air.

Respon sistem imunitas adaptif dilakukan oleh sel darah putih yang disebut limfosit. Ada dua jenis utama respon tersebut, yaitu respon antibodi dan respon imun yang diperantarai sel. Masing-masing jenis dikontrol oleh jenis limfosit yang berbeda, yaitu sel B dan sel T. Pada respon antibodi, sel B menghasilkan protein khusus yang disebut antibodi. Antibodi ini beredar dalam darah dan cairan tubuh lainnya, mencari dan menempel pada zat asing yang memicu produksinya (antigen). Antibodi melumpuhkan virus dan racun bakteri dengan menghalangi kemampuannya menyerang sel tubuh. Selain itu, antibodi juga menandai patogen untuk dihancurkan oleh sel fagosit dari sistem kekebalan bawaan.



Gambar 5.4. Respon Sistem Imunitas Adaptif
(Sumber : Molecular Biology of the Cell. 4th edition, 2002)

5.4.1 Sel B dan Antibodi

Sel B, terutama sel B plasma, menghasilkan antibodi yang penting untuk melawan virus. Antibodi ini adalah dasar vaksin dan efektif terhadap banyak virus seperti campak, cacar, dan COVID-19. Sel B juga dapat membentuk memori jangka panjang, sehingga tubuh dapat melawan virus yang sama dengan cepat di kemudian hari. Namun, pada beberapa virus seperti SARS-CoV-2 dan RSV, kekebalan tubuh dari antibodi bisa singkat, memungkinkan infeksi ulang. Selain menghasilkan antibodi, sel B juga memiliki fungsi lain, seperti memproduksi zat yang mengatur respon imun sel lain dan menampilkan antigen ke sel T untuk membantu melawan virus(Yewdell, Pierson and Bennink, 2022)

5.4.2 Sel T

Sel T sitotoksik (CTL) juga dikenal dengan limfosit sel T (CD8+), merupakan bagian penting dari sistem kekebalan tubuh yang melawan sel yang terinfeksi virus. Sel T ini mengenali target melalui reseptor khusus pada permukaannya dan membunuh sel yang terinfeksi menggunakan dua cara yaitu pelepasan granula sitotoksik dimana Sel T melepaskan granula yang mengandung perforin dan granzim, yang membuat lubang pada membran sel target dan membunuhnya, dan dengan jalur Fas/FasL dimana Sel T mengaktifkan sinyal "bunuh diri" pada sel target, yang memicu kematian sel secara terprogram.

Sel T CD4+ paling sering dikaitkan dengan sel T helper (Th). Merupakan jenis sel T penolong (Th) yang mengenali antigen pada sel imun melalui reseptor TCR (Sant and McMichael, 2012). Sel T CD4+ adalah bagian penting dari sistem imunitas adaptif. Mereka mengenali antigen (bahan asing) yang disajikan oleh sel lain dan kemudian mengaktifkan berbagai jenis sel kekebalan untuk melawan infeksi. Sel T CD4+ naif, ketika bertemu antigen, dapat berkembang menjadi berbagai jenis sel T efektor, masing-masing dengan fungsi spesifik (Raphael *et al.*, 2015)

5.4.3 Natural killer T

Sel ini memiliki sifat bawaan seperti sel NK dan dapat merespons dengan cepat terhadap antigen yang belum pernah ditemui sebelumnya. Sel NKT mengandung TCR [Reseptor Sel T] invarián yang mengenali antigen lipid yang disajikan dalam molekul mirip MHC kelas I (CD1d). Setelah diaktifkan, sel NKT dapat menghasilkan berbagai macam sitokin dan kemokin yang memengaruhi sel lain dari sistem imun (mirip dengan sel T helper)(Paget *et al.*, 2012)

5.5 Virus Melawan Sistem Imunitas

Sistem imunitas tubuh memiliki mekanisme antivirus untuk mencegah infeksi virus dan mengenali serta menghancurkan sel yang terinfeksi virus, tetapi virus telah mengembangkan cara untuk menghindari deteksi oleh sistem kekebalan dalam beberapa cara berbeda. Beberapa di antaranya adalah :

5.5.1 Interferensi Presentasi Antigen Virus pada Molekul MHC Kelas I

Sel T Sitotoksik (CTL) berperan penting dalam melawan infeksi virus. Mereka mengenali dan membunuh sel yang terinfeksi dengan cara mendeteksi fragmen protein virus yang terikat pada molekul MHC kelas I di permukaan sel. Strategi umum yang digunakan virus untuk menghindari mekanisme pembunuhan CTL adalah dengan mengganggu presentasi antigen pada molekul MHC kelas I. Ini dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, tetapi terutama melalui gangguan terhadap prosesing antigen dalam sel yang terinfeksi, atau dengan mengurangi jumlah molekul MHC pada permukaan sel target.

Cara virus mengganggu prosesing antigen di dalam sel target, yang pada akhirnya menyebabkan berkurangnya presentasi peptida virus ke CTL adalah dengan:

1. Memproduksi protein yang resisten terhadap pencernaan antigen oleh proteasom. Protein harus terlebih dahulu dicerna di dalam sel target oleh protease agar peptida pendek dapat dimuat ke molekul MHC kelas I.
2. Beberapa virus juga mengganggu protein Transporter associated with Antigen Processing (TAP), yang mengangkut antigen peptida ke dalam retikulum endoplasma untuk dimuat ke molekul MHC kelas I. contohnya adalah kasus untuk virus Herpes Simplex (HSV)

5.5.2 Penghindaran Antibodi dengan Variasi Antigen

Variasi antigen adalah mekanisme kunci yang digunakan oleh berbagai macam virus patogen untuk menghindari sistem imun adaptif (pengenalan antibodi). Hal ini terutama dimanfaatkan oleh virus RNA genom pernapasan, seperti virus Influenza, virus corona, dan RV Virus RNA mudah bermutasi karena enzim pembuat genomnya (RNA polimerase) tidak memiliki fungsi "proofreading" (kecuali virus corona). Mutasi ini terjadi selama replikasi dan dapat menguntungkan virus, seperti meningkatkan kemampuan menempel pada sel, replikasi, penularan, atau menghindari antibodi. (Harvey et al., 2021).

5.5.3 Perubahan Sinyal PRR dan Respon IFN

Banyak virus telah beradaptasi untuk melemahkan jalur sinyal PRR untuk menghindari aktivasi jalur pensinyalan kunci. Pelemahan ini terjadi melalui dua cara, yaitu dengan mencegah aktivasi PRR atau memblokir kaskade pensinyalan hilir. Contohnya pada virus Vaccinia yang melemahkan pensinyalan melalui protein A46R miliknya, yang mengandung domain TIR (Yewdell, Pierson and Bennink, 2022)

IFN tipe I dan tipe III, merupakan peran kunci dalam respon imun antivirus. Oleh karena itu, banyak virus telah berevolusi dengan cara-cara untuk menghindari respon imun kunci ini. Contohnya pada EBOV memiliki beberapa mekanisme yang memungkinkannya menghindari respon IFN inang. (Yewdell, Pierson and Bennink, 2022)

5.5.4 Bersembunyi di Sel Imun dan Latensi Virus

Beberapa virus juga mampu memodulasi sistem kekebalan melalui infeksi, penghancuran, dan modulasi kekebalan fungsi sel. Contoh paling menonjol dari hal ini adalah HIV. Fenomena ini mungkin disebabkan oleh virus yang memiliki tropisme sel yang luas, seperti halnya reseptor inangnya diekspresikan pada banyak jenis sel yang berbeda, Hal ini mungkin karena virus memiliki jangkauan sel yang luas (reseptornya ada di banyak jenis sel) atau karena virus memang menargetkan sel kekebalan.

Cara lain virus menghindari sistem kekebalan tubuh adalah dengan tinggal di dalam tubuh inang dalam bentuk laten. Merupakan ciri umum dari virus herpes yang setelah infeksi awal menjadi tidak aktif secara transkripsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, P. K. *et al.* (2011) 'TLR2 and RIP2 pathways mediate autophagy of *Listeria monocytogenes* via extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation', *Journal of Biological Chemistry*, 286(50), pp. 42981–42991. doi: 10.1074/jbc.M111.310599.
- Blanco, E. (2013) *Structure and Physics of Viruses*. doi: 10.1007/978-94-007-6552-8.
- Chan, Y. K. and Gack, M. U. (2016) 'Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing', *Nature Reviews Microbiology*, 14(6), pp. 360–373. doi: 10.1038/nrmicro.2016.45.
- Chen, S. N., Zou, P. F. and Nie, P. (2017) 'Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs) in fish: current knowledge and future perspectives', *Immunology*, 151(1), pp. 16–25. doi: 10.1111/imm.12714.
- DuShane, J. K. and Maginnis, M. S. (2019) 'Human DNA virus exploitation of the MAPK-ERK cascade', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14). doi: 10.3390/ijms20143427.
- Ge, Y. *et al.* (2013) 'Rotavirus NSP4 Triggers Secretion of Proinflammatory Cytokines from Macrophages via Toll-Like Receptor 2', *Journal of Virology*, 87(20), pp. 11160–11167. doi: 10.1128/jvi.03099-12.
- Handfield, C., Kwock, J. and MacLeod, A. S. (2018) 'Innate Antiviral Immunity in the Skin', *Trends in Immunology*, 39(4), pp. 328–340. doi: 10.1016/j.it.2018.02.003.
- Herbert, J. A. and Panagiotou, S. (2022) 'Immune Response to Viruses', *Encyclopedia of Infection and Immunity*, 1(January), pp. 429–444. doi: 10.1016/B978-0-12-818731-9.00235-4.
- Kell, A. M. and Gale, M. (2015) 'RIG-I in RNA virus recognition', *Virology*, 479–480, pp. 110–121. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.017.
- Kopp, E. and Å, R. M. (2003) 'Recognition of microbial infection by Toll-like receptors', pp. 396–401. doi: 10.1016/S0952-7915(03)00080-3.
- Liu, T. *et al.* (2017) 'NF-κB signaling in inflammation', *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(April). doi:

10.1038/sigtrans.2017.23.

- Long, K. M. *et al.* (2013) 'Dendritic Cell Immunoreceptor Regulates Chikungunya Virus Pathogenesis in Mice', *Journal of Virology*, 87(10), pp. 5697–5706. doi: 10.1128/jvi.01611-12.
- Loo, Y. M. and Gale, M. (2011) 'Immune Signaling by RIG-I-like Receptors', *Immunity*, 34(5), pp. 680–692. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.003.
- Malireddi, R. K. S. *et al.* (2010) 'Cutting Edge: Proteolytic Inactivation of Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 by the Nlrp3 and Nlrc4 Inflammasomes', *The Journal of Immunology*, 185(6), pp. 3127–3130. doi: 10.4049/jimmunol.1001512.
- Modhiran, N. *et al.* (2017) 'Dengue virus NS1 protein activates immune cells via TLR4 but not TLR2 or TLR6', *Immunology and Cell Biology*, 95(5), pp. 491–495. doi: 10.1038/icb.2017.5.
- Paget, C. *et al.* (2012) 'Interleukin-22 is produced by invariant natural killer T lymphocytes during influenza A virus infection: Potential role in protection against lung epithelial damages', *Journal of Biological Chemistry*, 287(12), pp. 8816–8829. doi: 10.1074/jbc.M111.304758.
- Raphael, I. *et al.* (2015) 'T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases', *Cytokine*, 74(1), pp. 5–17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011.
- Robinson, C. M. and Pfeiffer, J. K. (2014) 'Viruses and the Microbiota', *Annual Review of Virology*, 1(1), pp. 55–69. doi: 10.1146/annurev-virology-031413-085550.
- Rouse, B. T. and Sehrawat, S. (2010) 'Immunity and immunopathology to viruses: What decides the outcome?', *Nature Reviews Immunology*, 10(7), pp. 514–526. doi: 10.1038/nri2802.
- Sant, A. J. and McMichael, A. (2012) 'Revealing the role of CD4+ T cells in viral immunity', *Journal of Experimental Medicine*, 209(8), pp. 1391–1395. doi: 10.1084/jem.20121517.
- Streeck, H., Suscovich, T. J. and Alter, G. (2016) 'Immune responses to viral infection', *Clinical Virology*, pp. 321–350. doi: 10.1128/9781555819439.ch16.
- Takeuchi, O. and Akira, S. (2010) 'Pattern Recognition Receptors and

- Inflammation', *Cell*, 140(6), pp. 805–820. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022.
- Tan, A., Koh, S. and Bertoletti, A. (2015) 'Immune response in hepatitis B virus infection', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(8), pp. 1–18. doi: 10.1101/cshperspect.a021428.
- Yewdell, J. W., Pierson, T. C. and Bennink, J. R. (2022) 'Immune responses to viruses', *Clinical Virology: Third Edition*, (January), pp. 295–332. doi: 10.1128/9781555815981.ch14.
- Yu, L. *et al.* (2017) 'High doses of recombinant mannan-binding lectin inhibit the binding of influenza A(H1N1)pdm09 virus with cells expressing DC-SIGN', *Apmis*, 125(7), pp. 655–664. doi: 10.1111/apm.12695.

BAB 6

VIROLOGI

Oleh Menik Kasiyati

6.1 Pendahuluan

Virologi adalah ilmu yang mempelajari tentang virus, cara virus berkembang biak, dan bagaimana mekanisme virus dapat menyebabkan penyakit. Virologi adalah bagian dari biologi—ilmu yang mempelajari kehidupan—karena virus tidak dianggap hidup. Untuk memahami mengapa virus tidak hidup, kita harus meninjau kembali ciri-ciri makhluk hidup yang diterima secara umum. Sesuatu diklasifikasikan dalam kategori hidup apabila suatu organisme tersebut harus memenuhi beberapa kriteria:

1. Ia harus mempunyai genom, atau materi genetik.
2. Ia harus mampu melakukan aktivitas metabolisme, artinya dapat melakukan reaksi biokimia termasuk mengubah bahan mentah dari lingkungan menjadi energi yang dapat digunakan.
3. Ia harus mampu bereproduksi dan tumbuh.
4. Harus mampu mengimbangi perubahan lingkungan luar untuk menjaga homeostatis.
5. Populasi organisme hidup juga mampu beradaptasi dengan lingkungannya melalui evolusi.

Setiap virus mempunyai materi genetik atau genom yang lengkap, meskipun virus sedikit berbeda karena, tidak seperti organisme hidup yang hanya memiliki genom DNA, virus dapat memiliki genom yang terdiri dari DNA atau RNA, bergantung pada virusnya. Banyak virus juga memiliki tingkat mutasi tinggi yang mengarah pada evolusi virus.

Virus tidak melakukan aktivitas metabolismenya sendiri. Metabolisme mengacu pada serangkaian reaksi biokimia kolektif yang terjadi di dalam sel. Reaksi biokimia yang memecah zat untuk menghasilkan energi terus-menerus terjadi di dalam setiap sel

organisme hidup. Energi ini digunakan di bagian lain sel untuk ribuan reaksi lain yang diperlukan untuk kelangsungan hidup sel. Virus tidak dapat melakukan reaksi metabolisme ini diluar sel. Homeostasis adalah kondisi internal stabil yang ditunjukkan oleh organisme hidup. Sebagai partikel inert, virus tidak mampu mengimbangi perubahan lingkungan yang terjadi disekitarnya (Louten, 2022).

Virus adalah kompleks yang terdiri dari protein dan genom RNA atau DNA. Virus tidak memiliki struktur seluler dan proses metabolisme independen. Virus mereplikasi hanya dengan memanfaatkan sel hidup berdasarkan informasi dalam genom virus. Virus adalah partikel menular otonom yang sangat berbeda dari mikroorganisme lain dalam beberapa karakteristik: virus tidak memiliki struktur seluler, hanya terdiri dari protein dan asam nukleat (DNA atau RNA). Mereka tidak memiliki sistem metabolisme sendiri, namun bergantung pada mekanisme sintetik sel inang yang hidup, dimana virus mengeksploitasi metabolisme sel normal dengan mengirimkan informasi genetiknya sendiri, yaitu asam nukleat, ke dalam sel inang. Sel inang menerima asam nukleat dan mulai menghasilkan komponen virus baru sesuai dengan informasi genetik yang dikandungnya (Kayser *et al.*, 2005).

6.2 Klasifikasi Virus

6.2.1 Klasifikasi Virus oleh Komite Internasional Taksonomi Virus (ICTV)

Spesies adalah kelompok virus monofiletik yang karakteristiknya dapat dikenali dari spesies lain berdasarkan sejumlah kriteria, berdasarkan revisi definisi spesies ICTV yang mulai berlaku pada Juli 2013. Persyaratan ini mencakup struktur kapsid, keberadaan selubung, program ekspresi gen untuk proteinnya, kisaran inang organisme, patogenisitasnya, dan, yang paling penting, kesamaan rangkaian genetik dan hubungan evolusionernya. Pada awal tahun 1970-an, sebuah organisasi yang disebut Komite Internasional Taksonomi Virus mulai mengembangkan serta menerapkan pedoman untuk memberi nama dan mengelompokkan virus. Pengklasifikasian virus dimulai dari tingkat dunia adalah sebagai berikut. dunia(-viria), Sub dunia (-

vira), Kingdom (-virae) Subkingdom (-virites), Filum (-viricota), subfilum (-viricotina), Kelas (-viricetes), Sub kelas (-viricetidae), Ordo (-virales), Subordo (-virineae), Famili (-viridae), Subfamili (-virinae), Genus (-virus), Subgenus (-virus) and Species.

6.2.2 Klasifikasi Virus Berbasis Struktur

Beberapa kelompok virus yang menginfeksi inang dari berbagai domain kehidupan ditemukan memiliki susunan dan struktur virion yang serupa. Contohnya termasuk virus tecti bakteri, adenovirus eukariota, dan Caudovirales prokariota serta virus herpes eukariota. Ada rekomendasi agar hubungan struktural antar virus digunakan sebagai landasan untuk menetapkan pengelompokan tingkat tinggi - garis keturunan virus berbasis struktur yang dapat melengkapi skema klasifikasi ICTV tahun 2010. Dengan memanfaatkan hubungan yang ditemukan pada lipatan protein, ICTV secara bertahap menambahkan sejumlah besar pengelompokan tingkat yang lebih tinggi.

6.2.3 Klasifikasi Baltimore

Pengklasifikasian ini berdasarkan pada kombinasi asam nukleatnya (DNA atau RNA), Untai (untai tunggal atau ganda), sense, dan mekanisme reproduksi, virus dibagi menjadi satu dari tujuh jenis. Kelompok-kelompok ini diidentifikasi dengan angka Romawi dan diberi nama sesuai dengan nama ilmuwan Baltimore D. Terdapat 7 kelompok virus :

1. virus dsDNA (misalnya virus Adeno, virus Herpes, virus Pox).
2. virus ssDNA (+) merasakan DNA (misalnya virus Parvo).
3. virus dsRNA (misalnya virus Reo).
4. (+) virus ssRNA (+) RNA indera (misalnya virus Picorna, virus Toga).
5. (-) virus ssRNA dan (-) virus RNA indra (misalnya virus Orthomyxo, virus Rhabdo).
6. virus ssRNA-RT (+) merasakan RNA dengan perantara DNA dalam siklus hidup (misalnya virus Retro).
7. virus dsDNA-RT (misalnya virus Hepadna).

6.2.4 Klasifikasi Virus Berdasarkan Materi Genetik

Virus terdiri dari materi genetik, baik DNA atau RNA, yang dilapisi protein. Mereka dikategorikan sebagai virus DNA dan virus RNA. Asam nukleat mungkin berbentuk lingkaran, linier, tersegmentasi, atau tidak tersegmentasi. Bisa juga beruntai tunggal atau ganda. Berdasarkan materi genetiknya virus dibagi menjadi 3 kelompok

1. Virus DNA
2. Virus RNA
3. Virus *Reverse Transcribing*

6.2.5 Klasifikasi Virus Berdasarkan Keberadaan Selubung

Beberapa partikel virus dikelilingi oleh selubung, yaitu membran yang mengandung lipid. Membran ini diketahui disintesis oleh sel inang yang terinfeksi, atau inangnya secara umum, melalui prosedur "*budding off*". Virus yang baru disintesis "diselubungi" atau dilindungi dalam lapisan luar yang terdiri dari fragmen membran plasma sel yang sangat kecil pada saat proses pertunasan. Berdasarkan adanya selubung virus dibagi menjadi 2 yaitu Virus dengan selubung dan virus tidak berselubung.

6.2.6 Klasifikasi Virus Berdasarkan Struktur Kapsid dan Bentuk Virus

Setiap virus memiliki kapsid protein untuk melindungi nukleatnya genom asam dari lingkungan yang keras. Bentuk virus mungkin sederhana atau kompleks. Bentuk virus mungkin heliks atau silinder, polihedral (ikosahedral dan prolate), bola, atau rumit. Simetri geometris kapsid membantu menjaga virus tetap stabil dan terstruktur dengan baik. Virus heliks; virus ini memiliki struktur seperti batang atau berserabut pada kapsidnya.

6.2.7 Klasifikasi Virus Berdasarkan Simetri Struktural

Untuk merakit dirinya, kapsid virus menggunakan salah satu dari dua jenis simetri utama: simetri ikosahedral, di mana subunit protein membentuk cangkang simetris di atas inti yang mengandung asam nukleat, dan simetri heliks, di mana subunit protein dan asam nukleat berada. tersusun dalam heliks.

1. Virus ikosahedral atau simetri kubik adalah poligon dengan 12 simpul (sudut), 20 sisi (sisi), dan 30 sisi. Setiap sisinya adalah segitiga yang sisi-sisinya sama panjang. Virus adeno, virus picorna, virus papova, virus herpes, dll. Adalah beberapa contoh virus patogen manusia yang memiliki kapsid ikosahedral yang paling stabil.
2. Virus dengan simetri spiral atau heliks. Kapsomer dan asam nukleat bergabung membentuk struktur yang menyerupai struktur heliks dan tabung spiral. Ini adalah virus pola dasar dengan simetri heliks. Contohnya adalah virus paramyxovirus, virus orthomyxovirus.
3. virus simetri radial, seperti bakteriofag.
4. Simetri kompleks: beberapa virus memiliki tingkat kompleksitas yang lebih tinggi karena mereka terdiri dari banyak kapsomer yang berbeda (Bimrew and Abera, 2023).

6.3 Struktur Virus

Semua virus mengandung protein dan asam nukleat dengan setidaknya 50%, dan dalam beberapa kasus hingga 90%, massanya adalah protein. Sepintas tampak bahwa ada banyak cara di mana protein dapat disusun mengelilingi asam nukleat. Namun, virus hanya menggunakan desain dalam jumlah terbatas. Keterbatasan jangkauan struktur disebabkan oleh pembatasan yang disebabkan oleh pertimbangan efisiensi dan stabilitas.

6.3.1 Partikel Virus Dibangun Dari Subunit

Protein memiliki elemen struktur sekunder yang teratur dalam bentuk heliks α dan struktur β , struktur tersier protein tidak simetris. Hal ini merupakan konsekuensi dari ikatan hidrogen, jembatan disulfida, dan intrusi prolin pada struktur sekunder. Virus harus mengandung lebih dari satu protein dari pertimbangan potensi pengkodean molekul asam nukleat.

6.3.2 Struktur Virus Filamentous Dan Nukleoprotein

Salah satu cara paling sederhana menyusun simetris nonsimetris komponennya adalah dengan menempatkannya mengelilingi keliling lingkaran hingga membentuk cakram. Hal ini

memberikan struktur dua dimensi. Jika sejumlah besar disk ditumpuk satu sama lain, hasilnya adalah struktur “cakram bertumpuk”. Dengan demikian struktur tiga dimensi yang simetris dapat dihasilkan dari komponen yang tidak simetris seperti protein dan masih menyisakan ruang untuk asam nukleat. Pemeriksaan mikrograf elektron virus yang dipublikasikan mengungkapkan bahwa beberapa di antaranya memiliki struktur tubular. Salah satu virus tersebut adalah tobamovirus, virus mosaik tembakau (TMV).

Semua virus berfilamen yang diteliti sejauh ini berbentuk heliks, bukan silindris, dan penyisipan asam nukleat mungkin menjadi faktor yang mengatur susunan ini. Susunan heliks menawarkan stabilitas yang cukup besar karena adanya subunit. Jumlah ini lebih besar dibandingkan dengan silinder yang tidak mempunyai hubungan sepanjang sumbu panjangnya. Banyak struktur nukleoprotein di dalam virus yang diselimuti dibuat dengan cara yang sama.

6.3.3 Struktur Partikel Virus Isometrik

Cara kedua untuk membangun partikel simetris adalah dengan menyusun subunit sebanyak mungkin di sekitar simpul atau permukaan suatu objek dengan simetri kubik, misalnya. tetrahedron, kubus, oktahedron, dodecahedron (dibangun dari 12 segi lima beraturan), atau ikosahedron (dibangun dari 20 segitiga sama sisi). menunjukkan kemungkinan susunan benda-benda yang mukanya berbentuk segitiga dan persegi. Mengalikan jumlah minimum subunit per muka dengan jumlah muka akan menghasilkan jumlah subunit terkecil yang dapat disusun mengelilingi suatu objek. Jumlah minimum subunit ditentukan oleh unsur simetri permukaannya, yaitu permukaan persegi akan memiliki empat subunit, permukaan segitiga akan memiliki tiga subunit, dan seterusnya. Untuk tetrahedron jumlah subunit terkecilnya adalah 12, untuk kubus atau oktahedron sebanyak 24 subunit, dan untuk dodecahedron atau ikosahedron sebanyak 60 subunit.

6.3.4 Partikel Virus Tersembunyi (Terikat Membran).

Meskipun tampak kompleks, virus ini memiliki struktur isometrik atau heliks konvensional yang dikelilingi oleh membran – lapisan ganda lipid setebal 4 nm yang mengandung protein. Contohnya mencakup banyak virus hewan yang lebih besar, namun hanya sedikit virus tumbuhan dan bakteri. Secara tradisional virus ini dibedakan dari virus nukleokapsid melalui perlakuan dengan deterjen atau pelarut organik, yang mengganggu membran dan menghancurkan daya infeksi. Oleh karena itu, virus ini terkadang disebut sebagai “virus yang peka terhadap eter”. Selubung, yang berasal dari membran sel inang, diperoleh virus yang bertunas dari membran sel, tetapi sebagian besar tidak mengandung protein sel.

6.3.5 Partikel Virus Dengan Morfologi Kepala-Ekor

Prinsip arsitektur kepala-ekor unik untuk virus bakteri, banyak virus bakteri memiliki morfologi lain. Terdapat variasi besar pada tema struktur kepala-ekor dan bakteriofag dapat dibagi lagi menjadi bakteriofag yang berekor pendek, berekor nonkontraktil panjang, dan berekor kontraktil kompleks. Sejumlah struktur lain, seperti pelat dasar, kerah, dan lain-lain, mungkin ada. Meskipun strukturnya kompleks, prinsip-prinsip desain yang terlibat dalam fag kepala-ekor identik dengan yang diuraikan sebelumnya untuk virus dengan arsitektur yang lebih sederhana. Kepala biasanya mempunyai simetri ikosahedral, sedangkan ekor biasanya mempunyai simetri heliks. Semua struktur lainnya, pelat dasar, kerah, dll., juga memiliki simetri tertentu. Evolusi struktur rumit ini mungkin berhubungan dengan cara virus bakteri ini menginfeksi sel yang rentan. Singkatnya, fag menempel pada bakteri melalui ekornya, secara enzimatik melisiskan lubang di dinding sel dan memasukkan DNA-nya, yang dikemas rapat ke dalam kepala fag, ke dalam sel menggunakan ekor sebagai saluran (Philpott, 1958).

6.3.7 Struktur virus

Partikel virus menular harus dilepaskan dari sel inang untuk menginfeksi sel dan individu lain. Baik dsDNA, ssDNA, dsRNA, atau ssRNA, genom asam nukleat virus harus dilindungi dalam prosesnya. Di lingkungan ekstraseluler, virus akan terpapar enzim

yang dapat memecah atau mendegradasi asam nukleat. Tekanan fisik, seperti aliran udara atau cairan, juga dapat merusak untaian asam nukleat menjadi beberapa bagian. Selain itu, genom virus rentan terhadap kerusakan akibat radiasi ultraviolet atau radioaktivitas, sama seperti DNA kita. Jika genom asam nukleat virus rusak, maka virus tersebut tidak akan mampu menghasilkan keturunan virion.

Untuk melindungi asam nukleat yang rapuh dari lingkungan yang keras ini, virus mengelilingi asam nukleatnya dengan cangkang protein, yang disebut kapsid, dari bahasa Latin *capsa*, yang berarti “kotak.” Kapsid terdiri dari satu atau lebih protein yang berulang-ulang untuk dibuat seluruh kapsid, sama seperti banyak lapisan yang menyatu membentuk dinding. Dikombinasikan dengan ukurannya yang kecil, kapsid secara fisik sangat sulit untuk dibuka dan cukup melindungi asam nukleat di dalamnya. Bersama-sama, asam nukleat dan kapsid membentuk nukleokapsid virion.

Kebanyakan virus juga memiliki selubung yang mengelilingi kapsid. Selubung adalah membran lipid yang berasal dari salah satu membran sel, paling sering membran plasma, meskipun selubung juga dapat berasal dari retikulum endoplasma sel, kompleks Golgi, atau bahkan membran inti, tergantung pada virusnya. Virus ini seringkali memiliki protein yang disebut protein matriks yang berfungsi menghubungkan selubung dengan kapsid di dalamnya. Virus yang tidak mempunyai selubung dikenal sebagai virus tidak berselubung.

1. Struktur Kapsid Heliks

Setiap virus memiliki kapsid protein untuk melindungi genom asam nukleatnya dari lingkungan yang keras. Kapsid virus umumnya hadir dalam dua bentuk: heliks dan ikosahedral. Heliks (jamak: heliks) adalah bentuk spiral yang melengkung secara silindris pada suatu sumbu. Ini juga merupakan struktur biologis yang umum: banyak protein memiliki bagian dengan bentuk heliks, dan DNA adalah heliks ganda nukleotida. Dalam badan virus heliks, asam nukleat virus bergulung menjadi bentuk heliks dan protein kapsid melingkari bagian dalam atau luar asam nukleat, membentuk struktur tabung panjang atau seperti batang. Asam nukleat dan kapsid

membentuk nukleokapsid. Faktanya, protein yang mengelilingi asam nukleat sering disebut protein nukleokapsid. Begitu berada di dalam sel, nukleokapsid heliks terlepas dan asam nukleat dapat diakses.

2. Struktur Kapsid Icosahedral

Dari dua struktur kapsid utama, ikosahedron jauh lebih umum dibandingkan arsitektur heliks. Dibandingkan dengan virus heliks yang protein kapsidnya berputar mengelilingi asam nukleat, genom virus ikosahedral dikemas seluruhnya dalam struktur ikosahedral. kapsid yang berfungsi sebagai cangkang protein. Awalnya virus-virus ini dianggap berbentuk bola, namun kemajuan dalam mikroskop elektron dan kristalografi sinar-X telah mengungkapkan bahwa virus-virus ini sebenarnya berstruktur ikosahedral.

3. Struktur Virus yang Kompleks

Kebanyakan virus dapat dikategorikan memiliki struktur heliks atau ikosahedral. Namun, beberapa virus memiliki arsitektur kompleks yang tidak sepenuhnya mengikuti bentuk heliks atau ikosahedral sederhana. Poxvirus, geminivirus, dan banyak bakteriofag adalah contohnya virus dengan struktur kompleks. Poxvirus, termasuk virus penyebab cacar atau cacar sapi, berbentuk partikel besar berbentuk oval atau batu bata dengan panjang 200 hingga 400 nm. Di dalam virion kompleks, inti berbentuk halter membungkus DNA virus dan dikelilingi oleh dua “badan lateral”, yang fungsinya saat ini tidak diketahui. Virus gemini juga menunjukkan struktur yang kompleks. Seperti namanya, virus yang menginfeksi tanaman ini terdiri dari dua kepala ikosahedral yang disatukan. Bakteriofag, juga dikenal sebagai virus bakteri, adalah virus yang menginfeksi dan bereplikasi di dalam bakteri. Banyak bakteriofag mempunyai struktur kompleks, seperti bakteriofag P2, yang mempunyai kepala cosahedral, mengandung asam nukleat, melekat pada selubung ekor berbentuk silinder yang

memfasilitasi pengikatan bakteriofag ke sel bakteri (Louten, 2022).

6.4 Komposisi Virus

1. Protein Virus

Protein struktural virus mempunyai beberapa fungsi penting. Tujuan utamanya adalah untuk memfasilitasi transfer asam nukleat virus dari satu sel inang ke sel inang lainnya. Fungsinya untuk melindungi genom virus terhadap inaktivasi oleh nuklease, berpartisipasi dalam penempelan partikel virus ke sel yang rentan, dan memberikan simetri struktural partikel virus. Protein ini menentukan karakteristik antigenik virus. Respon imun protektif inang ditujukan terhadap faktor penentu antigenik dari protein atau glikoprotein yang terpapar pada permukaan partikel virus. Beberapa protein permukaan mungkin juga menunjukkan aktivitas spesifik (misalnya, hemagglutinin virus influenza mengaglutinasi sel darah merah).

2. Asam Nukleat

Virus mengandung satu jenis asam nukleat—DNA atau RNA—yang mengkode informasi genetik yang diperlukan untuk replikasi virus. Genomnya mungkin beruntai tunggal atau ganda, melingkar atau linier, dan tersegmentasi atau tidak tersegmentasi. Jenis asam nukleat, polaritasnya, dan ukurannya merupakan karakteristik utama yang digunakan untuk mengklasifikasikan virus ke dalam famili (lihat Tabel 29-1). Ukuran genom DNA virus berkisar antara 3,2 kbp (hepadnaviruses) hingga 375 kbp (poxviruses). Ukuran genom RNA virus berkisar antara 4 kb (picobirnaviruses) hingga 32 kb (coronaviruses). Semua kelompok virus DNA utama pada Tabel 29-1 mempunyai genom yang berupa molekul DNA tunggal dan memiliki konfigurasi linier atau melingkar. RNA virus ada dalam beberapa bentuk. Th RNA mungkin berupa molekul linier tunggal (misalnya, picornavirus). Untuk virus lain (misalnya orthomyxovirus), genomnya terdiri dari beberapa segmen.

3. Selubung Lemak Virus

Sejumlah virus berbeda mengandung selubung lipid sebagai bagian dari strukturnya. Lipid diperoleh ketika nukleokapsid virus bertunas melalui membran sel selama pematangan. Pertunasan hanya terjadi di tempat di mana protein spesifik virus telah dimasukkan ke dalam membran sel inang. Proses pertunasan sangat bervariasi tergantung pada strategi replikasi virus dan struktur nukleokapsid.

4. Glikoprotein Virus

Selubung virus mengandung glikoprotein. Berbeda dengan lipid pada membran virus, yang berasal dari sel inang, glikoprotein selubung merupakan kode virus. Namun, gula yang ditambahkan ke glikoprotein virus biasanya mencerminkan sel inang tempat virus tersebut ditumbuhkan. Glikoprotein permukaan virus yang diselimuti menempelkan partikel virus ke sel target melalui interaksi dengan reseptor seluler. Mereka juga sering terlibat dalam tahap fusi membran infeksi. Glikoprotein juga merupakan antigen virus yang penting. Karena posisinya di permukaan luar virion, mereka sering terlibat dalam interaksi partikel virus dengan antibodi penetralisir. Glikosilasi ekstensif pada protein permukaan virus dapat mencegah netralisasi efektif partikel virus melalui antibodi tertentu. Struktur tiga dimensi dari daerah beberapa glikoprotein virus yang terpapar secara eksternal telah ditentukan dengan kristalografi sinar-X. Studi tersebut memberikan wawasan tentang struktur antigenik dan aktivitas fungsional glikoprotein virus (Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2016).

6.5 Replikasi Virus

Suatu virus harus menjalani proses replikasi untuk menghasilkan virion infeksius baru yang mampu menginfeksi sel lain di tubuh atau inang berikutnya. Setelah masuk ke dalam tubuh, virus melakukan kontak fisik dan melintasi membran plasma sel target. Di dalam sel, ia melepaskan dan mereplikasi genomnya sambil memfasilitasi pembuatan proteinnya oleh ribosom inang. Partikel virus dirakit dari molekul biologis yang baru disintesis dan menjadi

virion menular. Akhirnya, virion dilepaskan dari sel untuk melanjutkan proses infeksi.

Tujuh tahap replikasi virus dikategorikan sebagai berikut:

1. Penempelan
2. Penetrasi
3. Membuka lapisan
4. Replikasi
5. Majelis
6. Pematangan
7. Lepaskan

Semua virus harus melakukan tujuh tahap untuk membuat virion baru. Beberapa tahapan mungkin terjadi secara bersamaan dengan tahapan lainnya, atau beberapa tahapan mungkin terjadi secara tidak berurutan, tergantung pada virusnya (Louten, 2022).

DAFTAR PUSTAKA

- Bimrew, S. and Abera, M. (2023) 'Review on Classification and Nomenclature of Viruses', *American Journal of Life Sciences*, (May), pp. 10–23. Available at: <https://doi.org/10.11648/j.ajls.20231102.11>.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, E. (2016) *Medical Microbiology*. United States: Mc Graw - Hill Education.
- Kayser, F.H. *et al.* (2005) *Basic Principles General Aspects of Medical Microbiology*.
- Louten, J. (2022) *Essential Human Virology*. second Edi. United Kingdom: Akademik Press.
- Philpott, O.S. (1958) *Modern virology*, *Rocky Mountain medical journal*.

BAB 7

JENIS SAMPEL

Oleh Sari Niswatul Muthi'ah

7.1 Pendahuluan

Mikroorganisme adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis. Beberapa contoh mikroorganisme adalah bakteri, jamur, virus, protista, dan parasit. Parasit merupakan bagian dari kelompok besar mikroorganisme yang hidup sebagai inang pada organisme hidup lainnya.

Organisme ini berinteraksi dengan organisme hidup lainnya seperti manusia dan hewan. Kebanyakan mikroorganisme tidak berbahaya, namun ada pula yang menyebabkan penyakit. Kehadiran parasit sangat merugikan manusia dan hewan karena dapat menimbulkan penyakit pada inangnya sehingga harus sangat berhati-hati.

Oleh karena itu, pemeriksaan mikrobiologi laboratorium perlu dilakukan dengan tujuan untuk memudahkan diagnosis penyakit yang tidak mempunyai gejala klinis yang khas. Parasit yang tidak memiliki gejala spesifik memerlukan pengujian (Yunus *et al.*, 2022).

Pengujian dilakukan dengan mengambil sampel dari tubuh manusia. Sampel yang diuji mungkin saja menunjukkan adanya infeksi mikroba yang masuk ke dalam tubuh, sehingga sampel yang diuji harus sesuai, mulai dari jenis sampel, cara pelabelannya, cara pengumpulannya, dan cara penyimpanannya. Jika sampel yang dikumpulkan rusak dan organisme penyebab tidak dapat diisolasi, hal ini dapat mengakibatkan perawatan pasien yang tidak tepat (Ridhwan *et al.*, 2023).

7.2 Jenis Sampel

Jenis sampel yang digunakan tergantung pada jenis pengujian yang dilakukan di laboratorium. Biasanya, sampel yang

diminta memerlukan spesifikasi sampel berdasarkan lokasi infeksi (Ridhwan *et al.*, 2023). Mendeteksi mikroorganisme dalam sampel yang diuji bergantung pada teknik pengujian, dan mengidentifikasi jenis mikroorganisme memerlukan keterampilan pengenalan morfologi (Yunus *et al.*, 2022).

7.2.1 Jenis Sampel Pemeriksaan Bakteri

Pengujian bakteri dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri penyebab infeksi pada individu. Pengujian dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis sampel. Di bawah ini adalah jenis sampel yang digunakan untuk menguji bakteri di laboratorium :

1. Darah

Infeksi darah masih menjadi kekhawatiran bagi petugas kesehatan karena infeksi ini menyebabkan penyakit yang mengancam jiwa dengan angka kematian berkisar antara 30-40% (De Plato *et al.*, 2019). Oleh karena itu, dilakukan pengujian kultur darah (Gambar 7.1) untuk mendeteksi mikroorganisme seperti bakteri di dalam darah. Beberapa bakteri yang menginfeksi darah adalah *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, dan *Alcaligenes faecalis* (Raudah and Damayanti, 2022). Sebelum mengambil sampel darah, kulit disekitar area pengambilan darah harus didisinfeksi terlebih dahulu. Selain itu, sampel pengujian diberi label yang jelas agar data pasien tidak tertukar atau hilang.



Gambar 7.1. Kultur darah pada media agar
(Sumber : <https://pantirapih.or.id/rspr/pemeriksaan-kultur-darah-dengan-alat-otomatis/>)

2. Feses

Pemeriksaan mikrobiologi feses bertujuan untuk mendeteksi mikroorganisme yang dianggap sebagai penyebab suatu penyakit tertentu (Sudibya, 2019). Feses yang akan diperiksa harus segar untuk mendapatkan diagnosis yang akurat. Selain itu, sebelum pengujian dilakukan di laboratorium, sampel feses harus dilindungi dari kontaminan untuk menjaga keasliannya. Feses yang terkumpul disimpan dalam wadah yang bersih dan tertutup rapat (Gambar 7.2b). Feses yang diuji juga harus diberi label yang jelas, termasuk identitas pasien (Hamid, 2017).



(a)

(b)

Gambar 7.2. (a). Bentuk wadah feses, (b). Sampel feses
(Sumber : (a). <https://e-katalog.lkpp.go.id/katalog/produk/detail/61402539>,
(b). <https://www.alodokter.com/kultur-feses>)

3. Sputum

Pemeriksaan umum untuk mendiagnosis bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah pemeriksaan mikroskopis sampel sputum (Arbaina, Sartika and Rahmah, 2022). Sputum merupakan cairan yang keluar dari paru-paru dan trakea melalui mulut. Sebelum melakukan pemeriksaan, petugas laboratorium harus memeriksa sputum. Sputum yang berkualitas mengandung banyak partikel atau agak kental, terdapat nanah berwarna kuning kehijauan, serta pada lendir terdapat bekas darah dan nanah (Budiharjo and Purjanto, 2016).

4. Urine

Pemeriksaan sampel urine (Gambar 7.3) dilakukan apabila seseorang diduga terinfeksi bakteri penyebab penyakit saluran kemih (Ridhwan *et al.*, 2023). Urinalisis yang paling baik adalah urin segar yang diuji dalam waktu kurang dari 1 jam setelah dikeluarkan, dan analisis sebaiknya segera dilakukan dalam waktu maksimal tidak lebih dari 4 jam karena jeda waktu antara pengambilan sampel urin dan analisis urin akan mengurangi validitas hasil. Selain itu, menunda tes urine akan mengakibatkan peningkatan jumlah bakteri (Aziza *et al.*, 2024).



Gambar 7.3. Sampel urine

(Sumber :

https://id.m.wikipedia.org/wiki/Berkas:Urine_sample.JPG)

7.2.2 Jenis Sampel Pemeriksaan Parasit

Infeksi parasit adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme yang hidup sebagai parasit pada organisme hidup lain sebagai inangnya. Berikut beberapa jenis sampel parasit yang dapat diperiksa jika seseorang diduga mengidap penyakit parasit, yaitu :

1. Feses

Pemeriksaan feses dilakukan jika seseorang diduga terinfeksi parasit usus. Infeksi parasit usus merupakan penyakit yang dapat menyebabkan gangguan penyerapan nutrisi dari sistem pencernaan dan penurunan nafsu makan. Infeksi parasit disebabkan oleh cacingan dan protozoa.

Cacing seperti *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* dan cacing tambang. Lalu ada protozoa usus seperti *Entamoeba histolytica* dan *Giardia lamblia* (Suparyati, 2020).

2. Darah

Sampel darah untuk pengujian parasit diambil jika seseorang diduga terinfeksi parasit penyebab penyakit kaki gajah. Filariasis atau penyakit kaki gajah merupakan sekelompok penyakit menular yang disebabkan oleh penyakit filariasis yang ditularkan melalui berbagai jenis nyamuk. Tiga spesies filariasis diketahui menyebabkan filariasis: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori* (Pahlepi, Santoso and Putra, 2014).

3. Kerokan kulit

Penyakit kulit merupakan permasalahan yang mengganggu aktivitas dan kualitas hidup setiap individu (Ghiffari *et al.*, 2020). Kudis, juga dikenal sebagai scabies adalah penyakit kulit menular yang disebabkan oleh spesies tungau *Sarcoptes scabiei* hominis (Hermawan *et al.*, 2023). Oleh karena itu, kerokan kulit (Gambar 7.4) merupakan salah satu hal yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis penyakit kudis.



Gambar 7.4. Teknik kerokan kulit

(Sumber : <https://www.alomedika.com/tindakan-medis/kulit-dan-jaringan-lunak/apusan-dan-kerokan-kulit>)

4. Sekret vagina

Trichomonas adalah infeksi vagina yang disebabkan oleh bakteri *Trichomonas vaginalis*. Penyakit ini merupakan infeksi non-virus yang dapat menular secara seksual dan non-seksual (Manuputty and Tentua, 2022). Pengujian kondisi ini memerlukan pengambilan sampel cairan vagina atau swab vagina (Gambar 7.5).



Gambar 7.5. Alat Swab Vagina

(Sumber :

<https://rrmclab.testcatalog.org/show/LAB17610>)

7.2.3 Jenis Sampel Pemeriksaan Jamur

Infeksi jamur atau kandidiasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Diagnosis kandidiasis ditentukan berdasarkan gejala klinis yang dialami individu. Sampel yang diperiksa untuk kandida tergantung pada kelainan yang terjadi, dapat berupa sampel kulit atau kuku, dahak atau sputum, sekret bronkus, urine, feses, mulut, telinga, vagina, darah atau jaringan. Sampel yang diperoleh harus ditempatkan dalam wadah steril untuk menghindari kontaminasi (Mutiawati, 2016).

Pengujian jamur kandida dapat dilakukan dengan melakukan uji langsung atau basah dan uji kultur. Pengujian sederhana yang dapat dilakukan untuk mendapatkan hasil yang singkat adalah dengan melakukan uji mikroskopis untuk mencari keberadaan bentuk ragi pada *Candida albicans* (Arya, 2020).

Selain kandidiasis, *Tinea unguium* merupakan infeksi jamur yang disebabkan oleh jamur Dermatophyta, seperti *Trichophyton rubrum* dan *Trichophyton mentagrophytes*. Jamur ini menyerang lempeng kuku, khususnya kuku kaki petani. Pemeriksaan dilakukan dengan mengambil sampel kerokan kuku kaki. Cara sederhana yang digunakan untuk pengujian adalah dengan menggunakan mikroskop dan cairan KOH 20%. Pengujian kultur juga dilakukan untuk lebih mengkonfirmasi hasil pengujian (Latifah and Sulistiawan, 2019).

7.2.4 Jenis Sampel Pemeriksaan Virus

Sampel virus yang dapat digunakan sebagai uji diagnostik menurut Yanti, Ismida and Sarah (2020), adalah:

1. Sampel saluran pernafasan atas yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus Covid-19 adalah sampel nasofaring dan orofaring.
2. Sampel saluran pernafasan bagian bawah yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus Covid-19 adalah sputum (jika ada sputum), aspirasi endotrakeal, atau *broncho-aleolar lavage* (BAL).
3. Sampel lain yang bisa digunakan untuk mendeteksi virus Covid-19 adalah darah dan feses.
4. Pengujian virus HIV dapat menggunakan sampel limfosit, karena di dalam limfosit terdapat sel yang berperan penting dalam menjaga imunitas tubuh. Oleh karena itu, sampel tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus pada sistem kekebalan tubuh (Amran and Al Qarni, 2019).

Sampel virus yang telah diambil harus dikirim ke laboratorium sesegera mungkin. Jika sampel tidak dapat mencapai laboratorium dalam waktu 72 jam, sampel harus

dibekukan pada suhu -80°C dan dikirim dengan *dry ice* untuk menghindari kerusakan pada sampel.

Virus Covid-19 merupakan salah satu contoh virus yang menyerang organ pernapasan dan organ tubuh manusia lainnya seperti jantung, ginjal, dan hati. Virus ini dapat menular jika melakukan kontak fisik dengan orang yang terinfeksi. Menurut Agustina and Fajrunni'mah (2020), beberapa metode pengujian diagnostik bertujuan untuk mendeteksi keberadaan virus Covid-19 (Gambar 7.6), yaitu:

1. Metode *ReverseTranscription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Metode ini mendeteksi RNA virus (Antigen) dengan menggunakan sampel Swab orofaring/nasofaring, sputum, cairan BAL. Waktu proses pemeriksaan memakan waktu 2-3 jam. Pengerjaan sampel memerlukan peralatan dan ruang laboratorium khusus karena resiko penularan atau paparan virus sangat tinggi. Oleh karena itu, biaya yang diperlukan untuk pemeriksaan dengan metode ini terbilang cukup tinggi.

2. Metode *Rapid Test Antibody* atau *Lateral flow assay* (LFA).

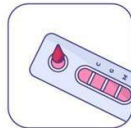
Metode ini mendeteksi antibodi (IgM, IgG) dengan menggunakan sampel serum/plasma dan *whole blood*. Waktu proses pemeriksaan memakan waktu 15-20 menit. Pengolahan sampel tidak memerlukan peralatan serta ruangan khusus dan dapat dilakukan di fasilitas masyarakat seperti stasiun, sekolah dan pasar, sehingga pemeriksaan metode ini biayanya lebih murah dibandingkan dengan metode RT-PCR.

RAPID TEST

Prosedur:



Pengambilan sampel darah



Memasukkan ke alat uji



Meneteskan cairan ke sampel

PCR TEST/SWAB

Prosedur:



Mengusap ke bagian belakang hidung dan tenggorokan



Memasukkan sampel ke dalam tabung



Uji lab sampel

Gambar 7.6. Perbedaan Metode RT-PCR dan *Rapid Test Antibody*

(Sumber: <https://genecraftlabs.com/perbedaan-pcr-dan-rapid-test/>)

Metode RT-PCR diakui oleh para ilmuwan dan staf medis sebagai teknik yang efektif dan cocok untuk mendeteksi infeksi yang sedang berlangsung, sehingga membantu staf medis membedakan pasien yang terinfeksi dan tidak terinfeksi. Sedangkan metode *Rapid Test Antibody* tidak dianjurkan oleh WHO karena cara ini dapat bereaksi silang dengan patogen lain seperti virus Corona yang menyerang orang lain sehingga memberikan hasil positif palsu. Pengujian menggunakan metode ini tidak disarankan untuk diagnosis klinis karena hasilnya tidak dapat dipastikan (Yanti, Ismida and Sarah, 2020).

7.3 Penanganan Sampel

7.3.1 Teknik Pengambilan Sampel

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengambilan sampel adalah: Sebelum mengambil sampel, lindungi diri Anda terlebih dahulu dengan menggunakan pakaian khusus untuk mencegah penyebaran infeksi. Selanjutnya sampel yang akan diuji ditempatkan pada wadah

bersih yang terlindung dari kontaminan untuk menjaga keasliannya. Sampel harus diuji sesegera mungkin untuk menghindari fenomena yang tidak diinginkan, seperti hasil yang tidak akurat karena penundaan pengujian. Selain itu, sampel pengujian harus diberi label yang memuat informasi yang jelas, antara lain nama pasien, jenis sampel, tanggal pemeriksaan, dan informasi mengenai data pasien.

7.3.2 Sampel yang Tidak Dapat digunakan

Contoh kriteria sampel yang tidak dapat diterima menurut Ekawati (2018), adalah sebagai berikut:

1. Informasi pada label tidak cocok
2. Sampel dalam keadaan bocor/tumpah
3. Pengiriman sampel lebih dari 2 jam setelah pengambilan dan tidak diberi pengawet
4. Sampel dibawa dengan suhu yang tidak sesuai
5. Jumlah sampel tidak cukup untuk diuji
6. Sampel yang diterima dalam keadaan kering

7.3.3 Penyimpanan dan Pengawetan Sampel

Sampel yang tidak segera diuji harus disimpan dan diawetkan terlebih dahulu. Penyimpanan sampel dilakukan dengan banyak cara, antara lain penyimpanan pada suhu lemari es 4°C, penyimpanan pada suhu kamar 22°C, penyimpanan pada suhu tubuh 37°C dan penyimpanan pada suhu beku -20°C, -70 °C atau -80 °C tergantung media pengangkut yang digunakan dan agen penular yang akan diuji (Ekawati, 2018). Pengawet sampel digunakan untuk mencegah sampel rusak dan menjaga integritasnya. Pengawet seperti asam borat biasa digunakan dalam sampel urine atau formalin buffer digunakan sebagai pengawet dalam sampel feses dan pengujian parasit (Ekawati, 2018).

7.3.4 Pengiriman Sampel

Sampel yang diambil harus segera dikirim ke laboratorium 30 menit setelah pengambilan. Semua wadah sampel harus dalam kondisi baik untuk pengawetan sampel.

Banyak mikroorganisme yang sensitif terhadap kondisi lingkungan, seperti keberadaan oksigen, perubahan suhu atau perubahan pH. Demikian pula, untuk bahan pengawet dengan pengujian tertunda, penting untuk memastikan kelangsungan hidup mikroorganisme yang ada dalam sampel (Ekawati, 2018). *Cool box* adalah contoh untuk meletakkan sampel selama pengiriman (Gambar 7.7).



Gambar 7.7. Cool box

(Sumber: <https://www.entech.co.th/product/biosafety-transport-box/>)

7.3.5 Metode Pemeriksaan Sampel

Metode pemeriksaan sampel dalam bidang mikrobiologi klinik meliputi (Sudibya, 2019):

1. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan dan tanpa pengecatan.
2. Penanaman dalam media agar dengan tujuan memperoleh isolat murni. Media yang digunakan ada dua macam yaitu media umum dan khusus.
3. Uji kepekaan, bertujuan untuk mendapatkan obat yang sesuai untuk mengatasi mikroorganisme tertentu.
4. Uji imunologis.
5. Pengujian mikrobiologi molekuler menggunakan PCR untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang ada pada penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, A. S. and Fajrunni'mah, R. (2020) 'Perbandingan Metode RT-PCR dan Tes Rapid Antibodi untuk Deteksi COVID-19', *Jurnal Kesehatan Manarang*, 6(Khusus), pp. 47–54. doi: 10.33490/jkm.v6ikhusus.317.
- Amran, P. and Al Qarni, A. W. (2019) 'Analisis Jumlah Pemeriksaan Limfosit pada Penderita Human Immunodeficiency Virus (Hiv)', *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 10(1), pp. 28–34. doi: 10.32382/mak.v10i1.982.
- Arbaina, I., Sartika, F. and Rahmah, W. N. (2022) 'Pengaruh Lama Penanganan Sampel Sputum Tuberkulosis Terhadap Pemeriksaan Mikroskopis Bakteri Basil Tahan Asam', *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 5(1), pp. 365–370. doi: 10.33084/bjmlt.v5i1.4440.
- Arya, S. (2020) 'Kesesuaian Pemeriksaan Jamur Antara Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS) dan KOH pada Flour Albus Ibu Hamil di RSUD dr Soetomo Surabaya', *Jurnal Ilmiah Kesehatan (Journal of Health Sciences)*, 13(1), pp. 34–38. doi: 10.33086/jhs.v13i01.1342.
- Aziza, V. *et al.* (2024) 'Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Urine pada Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) Terhadap Jumlah Bakteri', *Medical Scope Journal*, 7(1), pp. 64–73. doi: 10.35790/msj.v7i1.55142.
- Budiharjo, T. and Purjanto, K. A. (2016) 'Pengaruh Penanganan Sputum Terhadap Kualitas Sputum Penderita TBC Secara Mikroskopis Bakteri Tahan Asam', *Jurnal Riset Kesehatan*, 5(1), pp. 40–44. Available at: <http://ejournal.poltekkes-smg.ac.id/ojs/index.php/jrk>.
- Ekawati, E. R. (2018) *Bakteriologi: Mikroorganisme Penyebab Infeksi*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish Grup Penerbitan CV Budi Utama.
- Ghiffari, A. *et al.* (2020) 'Pemeriksaan Mikroskopis Keluhan Kulit pada Santri Pesantren Khazanah Kebajikan Kota Palembang', *Jurnal Pengabdian Masyarakat: Humanity and Medicine*, 1(1), pp. 25–34. doi: 10.32539/Hummed.V1i1.24.

- Hamid, P. H. (2017) 'Metode Diagnosa Parasit Veteriner'. Yogyakarta: Penerbit Deepublish Grup Penerbitan CV Budi Utama, pp. 1–154.
- Hermawan, R. A. *et al.* (2023) 'Pemeriksaan Mikroskopis Scabies (*Sarcoptes scabiei*) dengan Metode Kerokan Kulit Pada Santri di Pondok Pesantren', *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 4(2), pp. 134–139. doi: 10.56399/jst.v4i2.147.
- Latifah, I. and Sulistiawan, N. (2019) 'Identifikasi Jamur Dermatophyta Penyebab Tinea Unguim pada Kuku Kaki Petani Kelapa Sawit Berdasarkan Penggunaan Alas Kaki di Desa Pauh Menang Kecamatan Pamenang Kabupaten Merangin, Jambi', *Anakes: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 5(2), pp. 189–197. doi: 10.37012/anakes.v5i2.347.
- Manuputty, A. G. and Tentua, V. (2022) 'Trikomoniasis pada Remaja', *Molucca Medica*, 15(1), pp. 21–28. doi: 10.30598/molmed.2022.v15.i1.21.
- Mutiawati, V. K. (2016) 'Pemeriksaan Mikrobiologi pada *Candida Albicans*', *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 16(1), pp. 53–63.
- Pahlepi, R. I., Santoso, S. and Putra, D. E. (2014) 'Survei Darah Jari Filariasis di Desa Batumarta X Kec. Madang Suku III Kabupaten Ogan Komering Ulu (Oku) Timur, Sumatera Selatan Tahun 2012', *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 24(3), pp. 117–122.
- De Plato, F. *et al.* (2019) 'Collection, Transport and Storage Procedures for Blood Culture Specimens in Adult Patients: Recommendations from a Board of Italian Experts', *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 57(11), pp. 1680–1689. doi: 10.1515/cclm-2018-1146.
- Raudah, S. and Damayanti, F. (2022) 'Pemeriksaan Kultur Darah dengan Menggunakan Alat Vitek 2 Compact Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdoel Wahab Sjahranie Samarinda', *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*, 2(1), pp. 8–16.
- Ridhwan, M. *et al.* (2023) *Mikrobiologi dan Parasitologi*, PT Global Eksekutif Teknologi. Edited by N. Sulung and T. P. Wahyuni. Padang, Sumatera Barat: PT Global Eksekutif Teknologi.

- Sudibya, A. (2019) 'Pemeriksaan Mikrobiologis Feses', *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 1, pp. 1–4.
- Suparyati, T. (2020) 'Identifikasi Parasit Usus dan Sel Darah pada Feses Balita Gizi Buruk di Mulyorejo Kecamatan Tirto Kabupaten Pekalongan', *Pena Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, 34(2), pp. 1–8. doi: 10.31941/jurnalpena.v34i2.1194.
- Yanti, B., Ismida, F. D. and Sarah, K. E. S. (2020) 'Perbedaan Uji Diagnostik Antigen, Antibodi, RT-PCR dan Tes Cepat Molekuler pada Coronavirus Disease 2019', *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 20(3), pp. 172–177. doi: 10.24815/jks.v20i3.18719.
- Yunus, R. *et al.* (2022) *Parasitologi Medik Dasar*. Edited by R. Yunus, M. Mubarak, and A. Arimaswati. Jawa Tengah: Eurika Media Aksara.

BAB 8

IDENTIFIKASI BAKTERI DAN PENGECATAN

Oleh Adriani

8.1 Pendahuluan

Bakteri termasuk mikroorganisme yang bersifat kosmopolit, artinya dapat hidup dimana saja. Bakteri dapat ditemukan di udara, air, tanah, pangan, saluran cerna manusia dan hewan, daerah bersuhu dingin bahkan daerah yang bersuhu ekstrim. Selama siklus hidupnya, bakteri menghasilkan metabolit sekunder dan toksin sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri ternyata memiliki peran penting bagi kehidupan manusia terutama dalam bidang kesehatan. Penelitian terdahulu berhasil menemukan bahwa metabolit sekunder bakteri memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antidiabetes, antioksidan, antihipertensi dan antikanker (Ayyash et al., 2018; Alang et al., 2020; Feng et al., 2020; Winarsih et al., 2022)

Toksin yang dihasilkan oleh bakteri dapat mengganggu kesehatan manusia. Sebagai contoh, bakteri *E coli* menghasilkan toksin shiga yang memicu terjadinya diare, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* menghasilkan enteroksin yang menyebabkan keracunan makanan dan *Mycobacterium tuberculosis* menghasilkan tuberculosis necrotizing toksin yang menyebabkan kerusakan pada paru-paru (tuberculosis). Selain itu keberadaan toksin bakteri pada bahan pangan menyebabkan penurunan kualitas dari segi rasa, tampilan, bau dan juga mempengaruhi masa penyimpanan dari pangan tersebut (Adriani, 2023). Dengan melihat dampak positif maupun negatif dari bakteri, penting dilakukan identifikasi bakteri yang terdapat di alam. Melalui identifikasi, bakteri dapat dikelompokkan menjadi bakteri yang bermanfaat ataukah bersifat patogen. Apabila bermanfaat maka dapat spesies bakteri tersebut dapat dijadikan sebagai sumber senyawa alternatif bagi kesehatan,

sebagai biopestisida, dan sebagai antimikroba. Namun jika bersifat patogen, maka identifikasi bakteri akan mempermudah penegakan diagnosis dan pengobatan suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

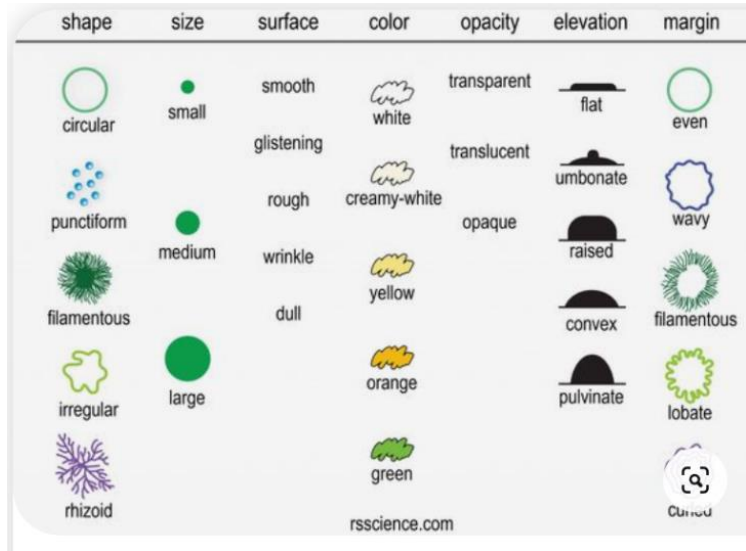
8.2 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dapat dilakukan melalui metode konvensional dan molekuler. Metode konvensional meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis serta uji biokimia. Metode molekuler dilakukan dengan cara analisis genetik DNA bakteri menggunakan PCR.

8.2.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis

Identifikasi morfologi bakteri dilakukan setelah isolat bakteri diinokulasi pada medium agar dan diinkubasi selama kurang lebih 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan agar selanjutnya diamati menggunakan mata biasa (tanpa alat bantu) untuk mendapatkan gambaran mengenai bentuk dan struktur morfologi sel bakteri. Pengamatan yang demikian dinamakan pengamatan makroskopis. Adapun pengamatan makroskopis terhadap koloni bakteri meliputi (Ulimas, 2023) :

1. Bentuk
Koloni bakteri memiliki bentuk yang beragam yaitu bulat (coccus), tidak beraturan, rhizoid, filamen atau lonjong.
2. Ukuran
Ukuran bakteri bervariasi, ada yang bentuknya seperti titik (punctiform), berukuran kecil, sedang maupun besar.
3. Warna
Bakteri ada yang memiliki pigmen sehingga koloninya berwarna. Adapun warna koloni yang dihasilkan adalah kuning, biru dan merah muda. Bakteri yang tidak menghasilkan pigmen memiliki koloni yang berwarna putih, putih susu dan krem.
4. Elevasi.
Elevasi koloni bakteri meliputi bentuk yang rata, raised, cembung, bentuk bantal (pulvinate) dan cembung pada bagian tengah (umbonate)



Gambar 8.1. Bentuk morfologi koloni bakteri

(Sumber:

<https://id.pinterest.com/pin/859202435150804824/>)

5. Tepi

Tepi koloni bakteri ada yang rata (*entire*), bergelombang (*undulate*), berlekuk (*lobate*), melengkung (*curled*), bergerigi (*rhizoid*, *serrate*), irregular, rhizoid, atau filamentous.

6. Tampilan koloni

Tampilan koloni meliputi koloni yang mengkilap, kusam ataupun berawan.

7. Tekstur

Tekstur koloni bakteri meliputi mukoid, bergetah, kental, kering atau rapuh.

8.2.2 Identifikasi bakteri secara mikroskopis

Identifikasi bakteri secara mikroskopis bertujuan untuk mengetahui bentuk sel bakteri menggunakan alat bantu mikroskop. Sebagaimana yang telah kita ketahui bersama, bahwa bakteri adalah organisme yang berukuran sangat kecil sehingga untuk mengamati selnya diperlukan mikroskop. Hal ini berbeda dengan pengamatan koloni bakteri yang tidak memerlukan mikroskop. Koloni bakteri

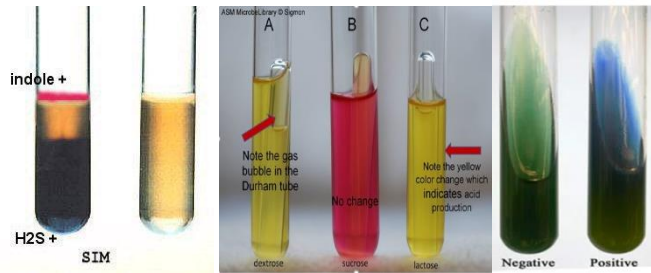
terdiri atas banyak sel yang bergabung membentuk satu kesatuan sehingga dapat diamati menggunakan mata biasa dan tanpa alat bantu. Tahap awal identifikasi bakteri secara mikroskopis adalah melakukan pewarnaan/pengecatan terhadap sel bakteri. Tujuan pewarnaan bakteri adalah untuk memudahkan pengamatan terhadap sel bakteri yang ditemukan. Adapun bentuk sel bakteri yang umum ditemukan ketika melakukan pengamatan mikroskopik adalah bentuk bulat (coccus), batang (basil) dan spiral (Adriani, 2023)

8.2.3 Identifikasi bakteri secara biokimia

Identifikasi bakteri secara biokimia bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologi atau karakter fisiologi bakteri berdasarkan reaksi biokimia. Uji biokimia berkaitan dengan kemampuan suatu bakteri melakukan metabolisme dan menghasilkan produk. Beberapa uji biokimia yang seringkali dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Uji *sulfide indole motility* (SIM)

Uji SIM dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memproduksi sulfur dan indol serta melihat motilitas bakteri. Isolat bakteri diinokulasi selama 24 jam pada medium SIM dan dilakukan pengamatan setelahnya. Apabila bakteri yang tumbuh pada medium SIM memproduksi sulfur maka akan terjadi perubahan warna medium dari kuning menjadi hitam. Bakteri yang menghasilkan indol ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada permukaan medium sesaat setelah ditetesi dengan reagen Kovac's. Bakteri dikategorikan bersifat motil apabila di sekitar bekas tusukan ose ditemukan koloni yang tumbuh menyebar. Hasil uji SIM diperlihatkan pada gambar 8.2.



Gambar 8.2. Interpretasi hasil dari Uji SIM (kiri), fermentasi karbohidrat (tengah) dan uji sitrat (kanan).

2. Uji fermentasi karbohidrat

Kemampuan bakteri untuk menghidrolisis karbohidrat dapat diamati melalui uji fermentasi karbohidrat. Dalam pengujian ini berbagai jenis karbohidrat dapat digunakan seperti glukosa, dextrose laktosa, maltosa, mannitol dan sukrosa. Beberapa jenis bakteri menghasilkan gas selama proses fermentasi. Oleh karena itu digunakan tabung durham dalam media untuk mengamati pembentukan gas yang terjadi. Media uji yang digunakan adalah nutrient broth (NB) yang telah diberi indikator pewarna berupa methyl red. Isolat bakteri uji diinkubasi selama 24 jam dalam media tersebut. Apabila media mengalami perubahan warna menjadi kuning berarti bakteri uji mampu melakukan fermentasi karbohidrat. (Gambar 8.2) Jika tidak terjadi perubahan warna maka bakteri uji tidak mampu memfermentasi karbohidrat. Apabila dalam tabung durham terdapat gelembung hal ini mengindikasikan bahwa dihasilkan gas selama proses fermentasi.

3. Uji sitrat

Uji sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber energi. Medium yang digunakan adalah sitrat agar, mengandung sitrat sebagai sumber karbon dan garam amonium inorganik ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) sebagai sumber nitrogen. Bakteri dapat tumbuh pada medium ini karena menghasilkan enzim sitrat permease yang mampu mengubah sitrat menjadi piruvat. Selanjutnya

piruvat memasuki tahapan respirasi untuk menghasilkan energi.

Apabila mampu memetabolisme sitrat, maka garam ammonium akan terurai membentuk amonia sehingga meningkatkan keasaman media. Perubahan Ph menyebabkan indikator bromtimol biru dalam media berubah warna dari hijau menjadi biru.

Hasil uji sitrat positif ditandai dengan pertumbuhan koloni bakteri pada permukaan media agar dan terjadi perubahan warna media menjadi biru (Gambar 8.2). Contoh bakteri yang memperlihatkan hasil positif terhadap uji sitrat adalah *Salmonella*, *Klebsiella* dan *Serratia*. Hasil negatif pada uji sitrat ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada permukaan media agar dan tidak ada perubahan warna pada media. Contoh bakteri yang negatif terhadap uji sitrat adalah *Escherichia coli*, *Shigella* dan *Yersenia*.

4. Uji oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mendeteksi keberadaan sitokrom oksidase yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim sitokrom oksidase akan mengkatalisis oksidasi sitokrom c. Bakteri yang menghasilkan enzim sitokrom c, sebagai bagian dari rantai pernafasannya, akan bersifat oksidase positif dan mengubah reagen menjadi ungu/biru. Dalam prosedur pengerjaan uji oksidase, digunakan reagen berupa oksidase kovac's atau indofenol oksidase. Kedua reagen tersebut mengandung pewarna redoks tetrametil-p-fenilena diamin. Bakteri penghasil sitokrom oksidase yang diberi reagen akan memberikan warna ungu/biru dalam waktu singkat (5-10 detik) yang menandakan hasil positif. Secara umum tes ini digunakan untuk identifikasi bakteri *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Alcaligenes*, *Vibrio* dan *Camphylobacter*.

5. Uji Voges Proskauer

Uji voges proskauer merupakan rangkaian dari uji indol metil voges proskauer citrate (IMVIC), yang bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri gram negatif, khususnya golongan

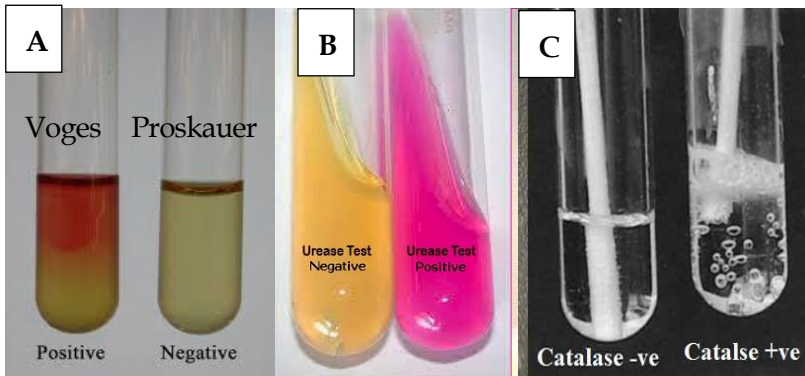
enterobacteria dan aktinobacteria berdasarkan jalur metabolismenya. Selain itu uji voges proskauer juga dilakukan guna melihat kemampuan bakteri menghasilkan asetoin sebagai produk akhir dari fermentasi glukosa. Asetoin akan teroksidasi menjadi diacetyl dengan penambahan KOH dan O₂. Diacetyl, dengan penambahan α -naftol, akan bereaksi dengan komponen guadinin dari pepton membentuk polimer yang berwarna merah muda hingga merah. Contoh bakteri yang positif terhadap uji voges proskauer adalah *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enteretica* dan *Enterobacter cloacae*.

6. Uji katalase

Uji katalase digunakan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* berdasarkan kemampuannya menghasilkan katalase. *Staphylococcus* mampu menghasilkan katalase sedangkan *Streptococcus* tidak menghasilkan katalase. Enzim katalase sendiri merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi O₂ dan H₂O. Pembentukan O₂ pada koloni isolat bakteri uji (usia 24 jam) ditandai dengan pembentukan gelembung pada koloni sesaat setelah ditambahkan dengan H₂O₂.

7. Uji urease

Uji urease digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam menguraikan urea melalui produksi enzim urease. Urea dalam hal ini digunakan sebagai sumber energi. Apabila urea mengalami hidrolisis akan membentuk amonia dan CO₂. Keberadaan amonia menyebabkan pH media menjadi basa sehingga terjadi perubahan warna media menjadi dari kuning menjadi merah muda dalam waktu 24 jam. Apabila bakteri uji tidak mampu menguraikan urea maka medium akan tetap berwarna kuning dan tidak mengalami perubahan warna.



Gambar 8.3. Interpretasi hasil uji voges proskauer (A), uji urease (B) dan uji katalase (C)
(Sumber: <http://www.googleimage.com>)

8.2.4 Identifikasi bakteri secara molekuler

Penggunaan polimerase chain reaction (PCR) saat ini telah menjadi metode standar dalam identifikasi bakteri secara molekuler. Hal ini disebabkan karena PCR memberikan hasil yang akurat yaitu mampu mendeteksi materi genetik organisme meskipun dalam jumlah yang sedikit. Kelebihan lainnya adalah PCR memberikan hasil yang spesifik dalam waktu yang singkat (Khairir, 2022; Noer 2022). Saat ini penggunaan PCR tidak hanya untuk identifikasi bakteri, namun juga untuk identifikasi penyakit genetik, penyakit infeksi, penentuan keragaman makhluk hidup dan mengetahui kehalalan dari suatu makanan (Fatchiyah, 2013; Dzikrina dkk, 2022).

Prinsip kerja PCR adalah perbanyakkan jumlah materi genetik (DNA/RNA) suatu sampel secara enzimatis dalam kondisi *in vitro*. Untuk identifikasi bakteri menggunakan PCR, diperlukan primer yang sifatnya spesifik guna mendeteksi ada tidaknya DNA target dalam genom bakteri uji. Jenis primer yang seringkali digunakan adalah primer 16S rRNA. Primer 16S dikodekan oleh gen 16S rRNA yang bersifat lestari. Dikatakan lestari karena gen 16S ini ditemukan hampir pada seluruh bakteri dan fungsinya tidak berubah dalam jangka waktu yang lama. Primer akan mengenali daerah yang lestari dan

mengamplifikasi daerah *hypervariable region* (gen pada bagian ujung sekuens DNA). Dengan demikian akan diperoleh urutan yang khas pada setiap bakteri.

Tahapan identifikasi bakteri secara molekuler yaitu:

1. Ekstraksi DNA bakteri uji.

Untuk mendapatkan DNA bakteri perlu dilakukan ekstraksi. Metode ekstraksi yang umum dilakukan saat ini adalah ekstraksi menggunakan kit extraction karena lebih praktis dan diperoleh hasil dalam waktu singkat dibandingkan dengan metode ekstraksi DNA konvensional. DNA hasil ekstraksi dikatakan murni apabila memiliki nilai 1,8-2,0 pada panjang gelombang 260/280 nm.

2. Amplifikasi DNA bakteri menggunakan PCR

Amplifikasi DNA bertujuan untuk memperbanyak jumlah DNA bakteri sehingga mempermudah visualisasi pada saat elektroforesis. Apabila hasil elektroforesis menyatakan bahwa sampel bakteri mengandung DNA, maka dilakukan tahap berikutnya yaitu sequencing.

3. Sequencing

Sequencing adalah proses penentuan urutan asam amino yang terdapat pada DNA. Menggunakan alat sequencing. Fragmen DNA yang telah selesai diurutkan selanjutnya dibandingkan dengan fragmen DNA dari spesies bakteri lain menggunakan *filogenetik tree*.

8.3 Pengecatan Bakteri

Pengecatan atau pewarnaan bakteri merupakan langkah penting dalam melakukan identifikasi bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak berwarna. Dengan melakukan pengecatan maka bakteri menjadi berwarna dan tampilannya di bawah mikroskop menjadi kontras dengan latar belakang. Hal ini menyebabkan bakteri lebih mudah diamati. Metode pengecatan bakteri yang umum dilakukan di laboratorium yaitu pengecatan sederhana, pewarnaan negatif, pewarnaan diferensial dan pewarnaan struktural (Jiwintarum, 2018).

8.3.1 Pengecatan sederhana

Pengecatan sederhana adalah pewarnaan bakteri menggunakan satu zat pewarna. Tujuan pengecatan sederhana adalah memberikan kontras antara bakteri dengan latar belakang sehingga bentuk bakteri tampak jelas terlihat. Jenis pewarna yang digunakan dapat berupa metilen blue, safranin, karbol fuksin, malacyt green atau krstal violet.

8.3.2 Pengecatan negatif

Pengecatan negatif adalah pewarnaan bakteri menggunakan pewarna asam berupa tinta cina, eosin maupun migrosin. Tujuan pengecatan negatif adalah mewarnai latar belakang bakteri sehingga bakteri tampak transparan (tembus pandang). Dengan melakukan pengecatan negatif maka bakteri yang sukar diwarnai akan terlihat dengan jelas, contohnya *Spirilla*.

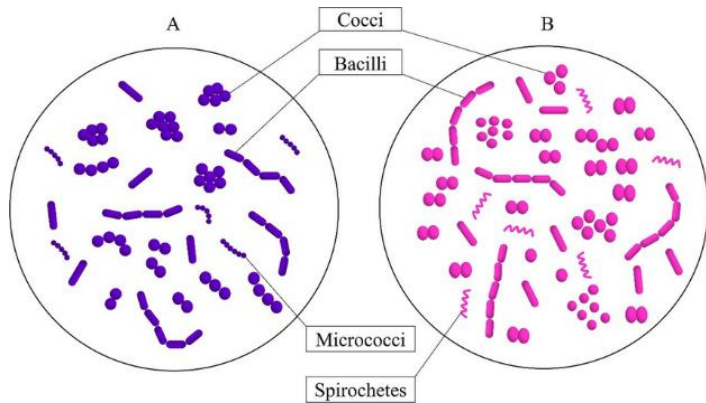
8.3.3 Pengecatan diferensial

Pengecatan diferensial adalah pewarnaan bakteri menggunakan lebih dari 1 zat pewarna. Tujuan pengecatan diferensial adalah membedakan berbagai jenis bakteri berdasarkan interaksinya dengan banyak warna dan struktur dinding selnya. Jenis pewarnaan diferensial yang paling sering digunakan adalah pewarnaan gram dan pewarnaan tahan asam.

1. Pengecatan Gram

Pengecatan gram merupakan salah satu tehnik pewarnaan yang paling penting dalam mikrobiologi. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh ahli bakteriologi Denmark, Hans Christian Gram pada tahun 1882. Tujuan pengecatan gram adalah membedakan antara bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif berdasarkan komponen dinding selnya. Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki kandungan peptidoglikan tinggi pada dinding selnya. Dengan demikian mampu menyerap zat warna kristal violet (cat utama) yang diberikan sehingga bakteri akan berwarna ungu atau biru. Berbeda dengan bakteri gram negatif, kandungan peptidoglikannya lebih sedikit sehingga tidak mampu menyerap kristal violet namun

mengikat safranin (cat penutup). Dengan demikian bakteri yang diamati akan berwarna merah.



Gambar 8.4. Hasil pewarnaan gram pada bakteri. Bakteri gram positif (kiri) dan bakteri gram negatif (kanan). Sumber: Seet et al., 2023

2. Pengecatan Tahan Asam

Metode pengecatan tahan asam atau Ziehl Neelsen bertujuan untuk membedakan bakteri tahan asam dengan bakteri yang tidak tahan asam. Umumnya metode ini digunakan untuk membedakan antara *Mycobacterium tuberculosis* dengan bakteri lainnya. Zat warna yang digunakan untuk mewarnai bakteri adalah karbol fuksin (warna merah) dan metilen blue (warna biru). *Mycobacterium* mampu menyerap karbol fuksin dan mempertahankannya meskipun telah dilunturkan dengan alkohol. Hal ini disebabkan karena dinding sel *Mycobacterium* mengandung lipid dan asam mikolat yang banyak sehingga mampu mempertahankan warna merah dari karbol fuchsin



Gambar 8.5. Interpretasi hasil pewarnaan basil tahan asam *Mycobacterium tuberculosis*. Sumber: <https://universe84a.com/acid-fast-stain-introduction/>

8.3.4 Pewarnaan khusus

Pewarnaan khusus ditujukan untuk mewarnai bagian tertentu dari bakteri seperti kapsul, spora dan flagela. Kapsul adalah lapisan lendir di luar sel bakteri yang berfungsi sebagai cadangan makanan, proteksi terhadap fagositosis dan dehidrasi. Kapsul pada bakteri tidak dapat mengikat zat warna, oleh karena itu diperlukan metode pengecatan tersendiri, salah satunya adalah metode Gins. Pada metode ini digunakan zat warna berupa nigrosin dan karbol fuksin. Setelah diwarnai bakteri akan berwarna merah karena menyerap karbol fuksin, kapsul tidak berwarna namun latar belakang berwarna agak kehitaman. Contoh bakteri yang memiliki kapsul adalah *Pneumococcus sp.*

Spora bakteri juga dapat diamati menggunakan metode pengecatan klein. Pada metode ini dilakukan pemanasan yang bertujuan agar karbol fuksin dapat menembus spora dan mewarnainya. Apabila pengecatan klein berhasil maka spora akan tampak berwarna biru sedangkan bakteri berwarna merah. Contoh bakteri yang memiliki spora adalah *Clostridium sp.*

Pewarnaan flagel bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya flagel pada dinding sel bakteri dan mengetahui jenis flagel yang ditemukan. Metode pewarnaan flagel yang umum digunakan adalah metode gray dan metode leifson. Adapun cat pewarna yang dipakai

adalah kristal violet sebagai cat utama dan asam tannak serta aluminium kalium sulfat sebagai larutan mordant (memperkuat ikatan antara zat warna dengan flagel). Hasil pewarnaan flagel akan menunjukkan warna biru tua atau ungu pada sel dan flagel bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani A., Alang H, Fatima S, Ismarti, Pratiwi ER, Arifuddin W, Albanna MZ., 2023. *Keamanan Pangan*. Penerbit Selembar Karya Pustaka, Kediri, Jawa Timur.
- Adriani, A., Pratiwi, E. R., Samsi, A. N., Muthmainnah, M., & Dagonala, U. 2023. *Edukasi Kesehatan: Pemanfaatan Bakteri Dalam Berbagai Aspek Kehidupan*. Setawar Abdimas, 2(1), 28-33.
- Alang, H., KUSNADI, J., & Ardyati, T. 2020. *Optimization and characterization of enterocin Enterococcus faecalis K2B1 isolated from Toraja's Belang Buffalo Milk, South Sulawesi, Indonesia*. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 21(3).
- Ayyash, M., Al-Dhaheri, A. S., Al Mahadin, S., Kizhakkayil, J., & Abushelaibi, A. 2018. *In vitro investigation of anticancer, antihypertensive, antidiabetic, and antioxidant activities of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk*. Journal of Dairy Science, 101(2), 900-911.
- Dzikrina, H., Sari, D. P., Faridah, N., Saidah, S. S., Alifah, S. A. N., & Kusumawaty, D. 2022. *Penanda DNA: uji halal pada makanan olahan daging menggunakan primer multiplex PCR (Polymerase Chain Reaction)*. Jurnal Bios Logos, 12(1), 1-8.
- Fatchiyah, 2013. Dasar Teknik Amplifikasi DNA. Brawijaya University. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/bbbb/>. (akses tanggal 2 juli 2024)
- Feng, T., & Wang, J. 2020. *Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review*. Gut microbes, 12(1), 1801944.
- Jiwintarum, Y., Rohmi, R., & Prayuda, I. D. P. M. 2018. DRAGON FRUIT (*Hylocereus polyrhizus*) AS NATURAL DYES STAINING FOR BACTERIA. *Jurnal Kesehatan Prima*, 10(2), 1726-1734.
- Khariri, K., Amalia, N., Nursofiah, S., Muna, F., Rukminiati, Y., & Mursinah, M. 2020. *Akankah Perkembangan Metode Deteksi Biomolekuler Era 4.0 Mampu Menggantikan Pemeriksaan Laboratorium Bakteri Secara Konvensional?*. In Seminar Nasional Riset Kedokteran (Vol. 1, No. 1).

- Noer, S. 2021. *Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA*. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1-6.
- Seet, W. T., Mat Afandi, M. A., Ishak, M. F., Hassan, M. N. F., Ahmat, N., Ng, M. H., & Maarof, M. 2023. *Quality management overview for the production of a tissue-engineered human skin substitute in Malaysia*. *Stem Cell Research & Therapy*, 14(1), 298.
- Winarsih, S., Noorhamdani, N., Ardyati, T., & Adriani, A. 2022. *Isolation and screening endophytic bacteria producing α -glucosidase inhibitor from Sanrego plant (*Lunasia amara Blanco*)*. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2513, No. 1). AIP Publishing.

BAB 9

PENGANTAR PARASITOLOGI

Oleh Qurrota Aýun

9.1 Pendahuluan

Parasit berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari dua suku kata, yaitu Para yang berarti 'sebelah' dan Situs yang berarti 'makanan'. Parasit merupakan organisme hidup yang mengambil makanan dan kebutuhan lainnya dari inangnya; inang (*host*) adalah organisme yang mendukung parasit. Parasit yang termasuk dalam parasitologi kedokteran adalah protozoa, cacing, dan beberapa arthropoda. Sumber utama infeksi parasit meliputi air minum, makanan, dan vektor artropoda (Bisen et al., 2012). Di negara Eropa dan Amerika Utara, penyakit parasit lebih jarang terjadi karena tingginya tingkat kesehatan di masyarakat tersebut. Namun, di negara-negara Afrika, Asia Timur, wilayah tropis, dan semenanjung India, prevalensi penyakit parasit tinggi karena rendahnya tingkat kesehatan.

Parasitologi merupakan salah satu cabang biologi yang mempelajari parasit, inangnya, dan hubungan di antara keduanya. Sebagai disiplin ilmu yang mencakup berbagai aspek biologi, ekologi, dan kesehatan, parasitologi memiliki peran penting dalam memahami dinamika interaksi biologis yang kompleks dan dampaknya terhadap kesehatan manusia, hewan, dan ekosistem. Infeksi parasit dapat disebabkan oleh cacing, protozoa mikroskopis, parasit kulit, dan lain sebagainya. Dalam pengantar ini, kita akan menjelajahi dasar-dasar parasitologi, termasuk klasifikasi parasit, jenis-jenis parasit, tipe inang, simbiosis, siklus hidup, transmisi parasit serta patogenesis parasitik. Pemahaman mendalam tentang parasitologi tidak hanya penting bagi ilmuwan dan praktisi kesehatan, tetapi juga bagi masyarakat umum dalam upaya pencegahan dan penanganan penyakit yang disebabkan oleh parasit.

9.2 Klasifikasi Parasit

Salah satu klasifikasi paling sederhana membagi parasit menjadi tiga kategori utama sebagai berikut (Ghorbani & Garedaghi, 2023):

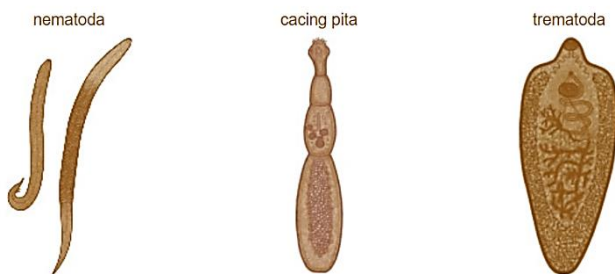
1. **Arthropoda:** tubuhnya tersegmentasi, berbentuk simetri bilateral, tersusun dari sejumlah besar sel tubuh (Metazoa), dengan jenis kelamin jantan dan betina terpisah satu sama lain. Kelompok artropoda meliputi krustasea (lobster, kepiting, udang karang,), arakhnida (laba-laba, kalajengking, kutu, tungau) dan serangga (semut, kumbang, rayap, lebah, jangkrik, kupu-kupu, kecoa, kutu, ngengat, lalat, dan nyamuk). Kebanyakan arthropoda parasit termasuk dalam 2 kelas utama: serangga berkaki 6, dan arakhnida berkaki 8 (O'Donoghue & Pryor, 2010) (Gambar 9.1).



Gambar 9.1. Dua kelas utama parasit arthropoda (O'Donoghue & Pryor, 2010)

2. **Cacing atau Helminthes:** tubuh tersusun dari banyak sel (Metazoa). Kata 'helminth' merupakan istilah umum untuk 'cacing', namun ada banyak jenis cacing yang berbeda. Perbedaan penggunaan awalan untuk menunjukkan jenisnya: *platy-helminths* untuk 'cacing pipih' dan *nemat-helminths* untuk 'cacing gelang'. Semua jenis cacing termasuk dalam Avertebrata, eukariotik, dan multiseluler dengan tubuh berbentuk tabung atau pipih yang simetri bilateral. Memiliki jaringan triploblastik (endoderm, mesoderm dan ektoderm). Namun, cacing pipih tidak

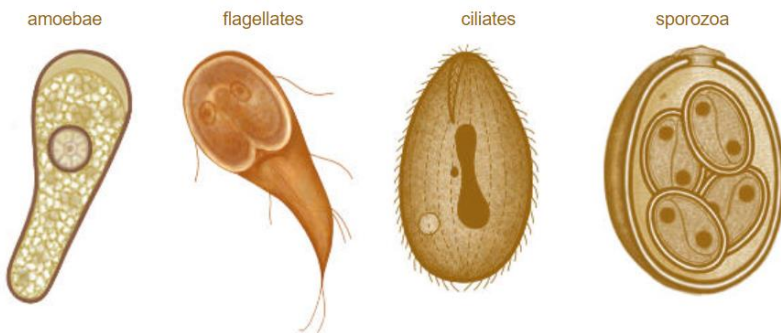
memiliki rongga tubuh (aselomata) sedangkan cacing gelang memiliki rongga tubuh yang tidak tertutup oleh mesoderm (pseudoselomata). Sebaliknya, Annelida tersegmentasi (seperti cacing tanah) dengan rongga tubuh yang tertutup oleh mesoderm (selomata) (O'Donoghue & Pryor, 2010). Tiga kelompok utama cacing parasit pada manusia termasuk didalamnya filum Nematelminthes (nematoda) dan filum Platyhelminthes (cacing pipih), yaitu Kelas dari Cestoda (cacing pita), dan Trematoda (cacing isap) (Gambar 9.2).



Gambar 9.2. Tiga kelompok utama cacing parasit (O'Donoghue & Pryor, 2010)

Nematoda (cacing gelang) mempunyai tubuh berbentuk tabung panjang, tipis, tidak bersegmen, mulut di bagian anterior dengan saluran pencernaan longitudinal. Nematoda mempunyai rongga tubuh yang berisi cairan (pseudocoelum). **Platyhelminthes** (cacing pipih) mempunyai penampang melintang yang pipih secara dorsoventral dan bersifat hermafrodit. **Cestoda** (cacing pita) mempunyai tubuh panjang seperti pita datar dengan satu organ penahan anterior (skoleks) dan banyak segmen, tidak mempunyai usus, semua nutrisi diserap oleh tegumen. Cestoda tidak mempunyai rongga tubuh (aselomata) dan berbentuk pipih untuk mempermudah perfusi ke semua jaringan dan bersifat hermafrodit. Sedangkan, **Trematoda** (cacing isap) memiliki tubuh pipih kecil seperti daun dengan pengisap mulut dan perut serta usus seperti

kantung buta. Trematoda tidak mempunyai rongga tubuh (aselomata), dan bagian dorsoventralnya rata dengan simetri bilateral dan memiliki gerakan meluncur atau merayap yang rumit di atas substrat menggunakan susunan otot 3-D yang kompak. Kebanyakan spesies bersifat hermafrodit (sistem reproduksi jantan dan betina dalam satu individu) meskipun beberapa cacing darah dewasa memiliki individu dewasa jantan dan betina yang terpisah. **Protozoa:** tubuhnya hanya tersusun dari satu sel dan semua tindakan biologis dilakukan oleh sel yang sama. protozoa parasit dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan cara gerak dan cara reproduksinya, diantaranya: flagellata, amoeba, sporozoa, dan ciliata (Gambar 9.3).



Gambar 9.3. Empat kelompok utama protozoa berdasarkan alat gerak dan sitoskeletal khusus (O'Donoghue & Pryor, 2010)

Flagellata mempunyai satu atau lebih flagela berbentuk cambuk dan membran bergelombang (Tripanosom). Termasuk flagellata usus, genitourinari (Giardia dan Trichomonas), flagellata darah dan jaringan (Trypanosoma dan Leishmania). **Amoeba** biasanya berbentuk ameboid dan menggunakan pseudopodia atau aliran protoplasma untuk bergerak, contoh: spesies Entamoeba, Naegleria, dan Acanthamoeba. **Ciliata** adalah protozoa kompleks dengan silia yang tersebar di seluruh tubuh dan setiap individu

memiliki dua jenis inti, contoh: *Balantidium coli*, suatu *ciliate* usus raksasa pada manusia dan babi. **Sporozoa** menjalani siklus hidup yang kompleks mencakup reproduksi seksual dan aseksual yang bergantian, contoh: parasit manusia *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Toxoplasma* dan *Plasmodium* semuanya merupakan parasit intraseluler (Jawetz et al., 2014).

9.3 Jenis-Jenis Parasit

Parasit merupakan organisme yang hidup dan menghisap makanan dari inang (*host*). Inang adalah organisme tempat parasit menempel. Ada berbagai jenis parasit yang dapat dikelompokkan berdasarkan beberapa kriteria, seperti habitat, ukuran, inang yang dihuni dan siklus hidupnya. Berikut adalah beberapa jenis utama parasit (Assafa et al., 2006):

9.3.1 Berdasarkan Habitat

1. Ektoparasit: organisme parasit yang hidup di permukaan luar inangnya. Umumnya dari serangga misalnya: kutu, caplak, tungau dll., dibagi menjadi:
 - a. Parasit permanen: yang ditemukan menempel terus menerus pada permukaan inang, seperti kutu dan caplak.
 - b. Parasit sementara: yang mengunjungi inangnya untuk mencari makan saja, contoh: nyamuk
2. Endoparasit: parasit yang hidup di dalam sistem dan jaringan tubuh inang, contoh: *Entamoeba histolytica*.

9.3.2 Berdasarkan Ukuran

1. Parasit multiseluler (makroskopis): parasit yang berukuran lebih besar dan dapat dilihat dengan mata telanjang, contoh; Cacing (nematoda, cestoda, acanthocephala) dan Arthropoda (serangga dan araknida)
2. Parasit uniseluler (mikroskopis): parasit yang berukuran sangat kecil, biasanya memerlukan mikroskop untuk melihatnya, contoh; Api complexa, Mikrosporidia, dan Ciliofora

9.3.3 Berdasarkan Inang yang Dihuni

1. Parasit monoksen, hanya dapat menginfeksi satu jenis inang. contoh: *Plasmodium falciparum* pada manusia.
2. Parasit heteroksen, dapat menginfeksi beberapa jenis inang, contoh: *Toxoplasma gondii* dapat menginfeksi manusia, kucing, dan hewan lainnya.

9.3.4 Berdasarkan Siklus Hidup

1. Parasit obligat: parasit ini sepenuhnya bergantung pada inangnya selama atau seluruh siklus hidupnya, contoh: *Plasmodium spp.*
2. Parasit fakultatif: organisme yang bersifat parasit dan non-parasit yang siklus hidupnya tidak sepenuhnya bergantung pada cara hidup yang bersifat parasit hidup, tetapi mampu beradaptasi jika ditempatkan pada inang, contoh: *Naegleria fowleri*
3. Parasit insidental: inang yang tidak disukai parasit dan menyebabkan infeksi kondisi yang tidak disengaja, contoh: *Hymenolepis diminuta* (cacing pita tikus).
4. Parasit eratik (tidak menentu): parasit yang berpindah ke organ yang biasanya tidak ditemukan, contoh: *E. histolytica* di hati atau paru-paru manusia
5. Parasit asidental: parasit kecil yang hidup bebas, dan secara kebetulan mendapat akses ke tubuh manusia dan tidak dapat menyelesaikan siklus hidupnya, contoh: larva *Drosophila sp.*

9.4 Tipe Inang

1. Inang definitif (*definitive host*); inang yang menjadi tempat tinggal parasit pada tahap dewasa atau di tempat parasit berada mengalami cara reproduksi seksual.
2. Inang perantara (*intermediate host*): menampung tahap larva parasit selama siklus aseksual, contoh: *Taenia solium* (cacing pita) dengan inang perantara manusia, sapi, babi. Dalam beberapa kasus, perkembangan larva selesai dalam dua inang perantara yang berbeda, disebut sebagai inang perantara pertama dan kedua.

3. Inang paratenik: inang yang berfungsi sebagai tempat perlindungan sementara dan sarana untuk mencapai ke parasit obligat, artinya tidak diperlukan untuk penyelesaian siklus hidup parasit. Contoh: udang air tawar untuk *Angiostrongylus cantonensis*
4. Inang pembawa (*carrier host*): inang yang membawa bagian dari siklus hidup parasit (misalnya telur atau larva). Bentuk parasit tidak berubah pada inang pembawa, dan hanya berpindah dari satu inang ke inang lainnya. Inang pembawa membuat parasit aman dari perubahan iklim. Contoh: kucing dan *T. gondii*.
5. *Reservoir host*: parasit tersebut bergantung pada inangnya untuk hidup di alam dan memanfaatkannya sebagai sumber infeksi dari waktu ke waktu, contoh: kelelawar dan virus rabies
6. Inang alami: inang yang secara alami terinfeksi spesies parasit tertentu, contoh: tikus dan *Yersinia pestis* (Pes)
7. Pejamu yang tidak disengaja: pejamu yang dalam keadaan normal tidak terinfeksi parasit.

9.5 Simbiosis

Setiap organisme yang menghabiskan sebagian atau seluruh siklus hidupnya berhubungan erat dengan organisme lain. Sehingga terjadi keseimbangan dinamis dalam interaksi organisme. Organisme dari spesies yang berbeda dianggap sebagai *Symbiont* (simbiote) dan hubungan tersebut dinamakan simbiosis (hubungan simbiosis) (Assafa et al., 2006). Ketika parasit menginfeksi inang, terjadilah simbiosis. Fungsi utama inang adalah meneruskan siklus hidup parasit. Hubungan yang baru terbentuk ini dapat berkembang menjadi komensalisme, mutualisme, atau parasitisme (Zeibig, 2013).

1. Komensalisme: hubungan simbiosis antara dua spesies organisme berbeda yang menguntungkan satu sama lain dan netral bagi satu sama lain yang lain
2. Mutualisme: hubungan simbiosis antara dua spesies organisme berbeda yang saling menguntungkan bagi keduanya

3. Parasitisme: hubungan simbiosis dimana satu organisme(inang) dirugikan melalui aktivitas parasit.

9.6 Siklus Hidup Parasit

Siklus hidup parasit bisa langsung (sederhana) atau tidak langsung (kompleks) (Sastry & Bhat, 2014).

1. Siklus hidup sederhana/Langsung: ketika suatu parasit hanya memerlukan satu inang untuk menyelesaikan perkembangannya, maka disebut siklus hidup langsung/sederhana (Tabel 9.1)

Tabel 9.1. Organisme yang mengalami siklus hidup langsung yang hanya membutuhkan satu inang (manusia)

Protozoa	Cacing (Helminth)
<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Trichomonas vaginalis</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Cryptosporidium parvum</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Isospora belli</i> <i>Microsporidia</i>	Cestoda <i>Hymenolepis nana</i> Nematoda <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Hookworm</i> <i>Enterobius spp.</i> <i>Trichuris trichiura</i> <i>Strongyloides spp.</i>

2. Siklus hidup kompleks/tidak langsung: Ketika suatu parasit memerlukan dua inang (satu inang definitif dan satu lagi inang perantara) untuk menyelesaikan perkembangannya, hal ini disebut sebagai siklus hidup tidak langsung/kompleks (Tabel 9.2). Beberapa cacing memerlukan tiga inang (satu inang definitif dan dua inang perantara) (Tabel 9.3). Siklus hidup parasit yang kompleks menyebabkan penyakit parah pada manusia dan ternak, seperti malaria, toksoplasmosis, *river blindness*, penyakit *Lyme*, schistosomiasis dan penyakit tidur (Auld & Tinsley, 2015).

Tabel 9.2. Organisme dengan siklus hidup tidak langsung/kompleks; memerlukan satu inang definitif dan satu inang perantara

Manusia bertindak sebagai inang definitif		
Parasit	Inang definitif	Inang perantara
<i>Leishmania</i> spp. <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Trypanosoma brucei</i> <i>Taenia solium</i> <i>Taenia saginata</i> <i>Hymenolepis diminuta</i> <i>Schistosoma</i> spp. <i>Trichinella spiralis</i> <i>Filarial</i> worms <i>Dracunculus medinensis</i>	Manusia	Lalat pasir (agas) Kutu <i>Reduviid</i> Lalat <i>Tsetse</i> Babi Hewan ternak Kutu tikus Siput Babi Nyamuk dan lalat <i>Cyclops</i>
Manusia bertindak sebagai inang perantara		
Parasit	Inang definitif	Inang perantara
<i>Plasmodium</i> spp. <i>Babesia</i> spp. <i>Sarcocystis lindemanni</i> <i>T. gondii</i> <i>Echinococcus granulosus</i> <i>T. solium</i> <i>(Cysticercosis)</i>	Anopheles betina Kutu Kucing dan anjing Kucing Anjing Manusia	Manusia

Tabel 9.3. Organisme dengan siklus hidup tidak langsung/kompleks; memerlukan satu inang definitif dan dua inang perantara

Parasit	Inang definitif	Inang perantara pertama	Inang perantara kedua
<i>Diphyllbothrium</i> spp.	Manusia	<i>Cyclops</i>	Ikan
<i>Fasciola hepatica</i>	Manusia	Siput	Tanaman air
<i>Fasciolopsis buski</i>	Manusia	Siput	Tanaman air

Parasit	Inang definitif	Inang perantara pertama	Inang perantara kedua
<i>Paragonimus</i> spp.	Manusia	Siput	Kepiting dan ikan
<i>Clonorchis</i> spp.	Manusia	Siput	Ikan
<i>Opisthorchis</i> spp.	Manusia	Siput	Ikan
<i>Gnathostoma spinigerum</i>	Kucing, anjing dan manusia	Cyclops	Ikan

9.7 Transmisi Parasit

Penularan parasit adalah proses penyebaran parasit dari satu organisme (inang) ke organisme lainnya, yang terkadang berbahaya. Cara transmisi parasit tergantung pada (Sastry & Bhat, 2014):

1. Sumber atau infeksi reservoir:
 - a. Manusia: infeksi yang ditularkan dari satu manusia yang terinfeksi ke manusia lainnya disebut antroponosis, contoh amoebiasis, enterobiasis, dll
 - b. Hewan: infeksi dapat ditularkan ke manusia secara langsung atau tidak langsung melalui vektor, misalnya *Echinococcosis* dari anjing dan toksoplasmosis dari kucing. Infeksi parasit yang menular dari hewan ke manusia disebut dengan zoonosis
 - c. Vektor: biasanya ditularkan arthropoda dari satu orang yang terinfeksi ke orang lainnya. Vektor dapat bersifat biologis atau mekanis. Serangga penghisap darah yang terinfeksi dapat menularkan parasit langsung ke dalam darah selama makanannya darah.
2. Mode transmisi.
 - a. Rute oral atau feco-oral: penularan infeksi melalui makanan, air atau sayuran yang terkontaminasi feces yang mengandung parasit fase infeksi, contoh: kista *E. histolytica*, dan sel telur *Ascaris lumbricoides*
 - b. Penetrasi kulit dan membran mukosa: infeksi ditularkan melalui kulit, contoh: larva filariform dari

Strongyloides stercoralis dan cacing tambang dapat menembus kulit jika berjalan tanpa alas kaki di atas tanah yang terkontaminasi tinja atau dengan masuknya parasit melalui serangga penghisap darah, contoh: Plasmodium, Leishmania dan *Wuchereria bancrofti*

- c. Kontak seksual: contoh *Trichomonas vaginalis* dan Entamoeba, Giardia dan Enterobius juga dapat ditularkan melalui kontak seksual di kalangan homoseksual
- d. Gigitan vektor: seperti: nyamuk Anopheles betina(malaria), Culex(filariasis), lalat pasir(leishmaniasis), kutu *Reduviid* (penyakit Chagas) dan lalat *Tsetse* (penyakit tidur Afrika)
- e. Penularan vertikal: Ibu menularkan parasit ke janin, contoh: *T. gondii*, *Plasmodium* spp. dan *T. cruzi*.
- f. Transfusi darah: contoh spesies Plasmodium, Babesia, Toksoplasma, Leishmania dan Trypanosoma
- g. Autoinfeksi: dapat ditularkan ke orang yang sama melalui tangan yang terkontaminasi, baik secara autoinfeksi eksternal maupun autoinfeksi internal. Contoh: *Cryptosporidium parvum*, *T. solium*, *Enterobius vermicularis*, *S. stercoralis* dan *H. Nana*.

9.8 Patogenesis dari Parasitik

Parasit dapat menyebabkan kerusakan pada manusia dengan berbagai cara seperti trauma mekanis, lesi, reaksi inflamasi, produksi enzim dan nekrosis litik, toxin, manifestasi alergi, neoplasia dan infeksi bakteri sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Assafa, D., Kibru, E., Nagesh, S., Gebreselassie, S., Deribe, F., Ali, J., & Jimma. (2006). *Medical Parasitology*. Ethiopian Public Health Initiative.
- Auld, S. K., & Tinsley, M. C. (2015). The Evolutionary Ecology of Complex Lifecycle Parasites: Linking Phenomena with Mechanisms. *Heredity*, 114(2), 125–132. <https://doi.org/10.1038/hdy.2014.84>
- Bisen, P. A., Debnath, M., & Prasad, G. B. K. S. (2012). *Microbes Concepts and Applications*. John Wiley & Sons, Inc.
- Ghorbani, A., & Garedaghi, Y. (2023). An Overview of The Science of Parasitology Simply for the General Public. *International Journal of Medical Parasitology and Epidemiology Sciences*, 4(1), 12–18. <https://doi.org/10.34172/ijmpes.2023.03>
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's. (2014). *Medical Microbiology* (K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, & T. Mietzner (eds.); 27 Edition). Mc Graw Hill.
- O'Donoghue, P., & Pryor, L. (2010). *PARA-SITE: An interactive multimedia electronic resource dedicated to parasitology*. Faculty of Science, The University of Queensland. <http://parasite.org.au/>
- Sastry, A. S., & Bhat, S. K. (2014). *Essentials of Medical Parasitology* (First Edit). Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
- Zeibig, E. A. G. (2013). *Clinical Parasitology. A Practical Approach* (Second Edi). Elsevier.

BAB 10

JENIS-JENIS PARASIT

Oleh Afifah Nur Shobah

10.1 Pendahuluan

Proses kehidupan dari berbagai makhluk hidup di muka bumi memiliki hubungan antar organisme baik itu yang menguntungkan maupun yang merugikan. Organisme yang merugikan organisme lain disebut dengan parasit. Organisme parasit dapat berupa mikroba maupun makroba. Ilmu yang mempelajari organisme yang hidup untuk sementara ataupun tetap di dalam atau pada permukaan organisme lain yang mengambil makanan sebagian atau seluruhnya dari organisme lain tersebut disebut dengan parasitologi.

Di Indonesia, umumnya infeksi parasit terjadi yaitu terutama di pedesaan, kota dan daerah dengan kondisi yang kumuh yang berada di kota besar. Terdapat lebih dari 22 spesies protozoa dan 32 spesies cacing telah dilaporkan menginfeksi populasi manusia Indonesia yang bersifat parasit. Spesies protozoa tersebut diantaranya yaitu terdapat 16 spesies protozoa usus, dan dapat ditemukan dalam sampel tinja contohnya yaitu *Entamoeba histolytica* dan *Giardia lamblia*.

Parasit protozoa selain itu juga dapat dijumpai dari darah dan jaringan. Parasit protozoa penyebab malaria adalah salah satu yang dijumpai. Spesies protozoa ini berasal dari kelas Sporozoa dan yang paling sering ditemui adalah jenis *Plasmodium falciparum* dan *P. vivax*. Sedangkan *P. malariae* dan *P. knowlesi* hanya mewakili sebagian kecil kasus di wilayah geografis tertentu. Di antara lebih dari 80 spesies nyamuk Anopheline, 16 telah dikonfirmasi ulang sebagai vektor di Indonesia. Protozoa pada jaringan dan darah yang lain, yaitu *Trichomonas vaginalis* dan *Toxoplasma gondii* juga banyak ditemukan sebagai parasit.

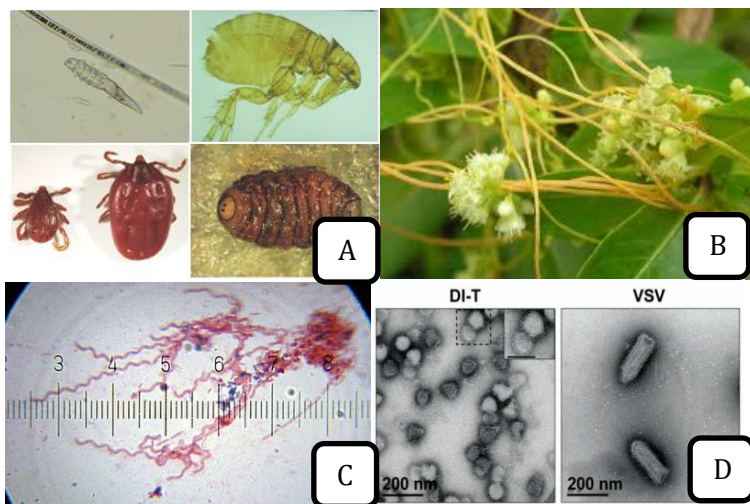
Parasit sebagai simbiosis parasitisme berkaitan dengan cara perolehan parasit untuk mendapatkan makanannya. Simbiosis

parasitisme merupakan bentuk dimana satu jenis organisme yang mendapatkan makanan dan keuntungan sedangkan yang lain dirugikan. Parasit obligat merupakan parasit yang tidak dapat hidup tanpa adanya hospes, sedangkan parasit fakultatif merupakan parasit yang dapat hidup walaupun tanpa hospes. Vektor merupakan suatu binatang yang dapat menularkan parasit manusia dan binatang. Terdapat dua macam vektor yaitu vektor biologi (contoh: nyamuk untuk plasmodium, virus dengue) dan vektor mekanik (kecoa dan lalat).

Selain itu terdapat beberapa istilah dalam parasitologi diantaranya ialah hospes, simbiose, vektor dan zoonosis. Hospes ialah organisme sebagai tempat dihinggapi parasit. Hospes dibagi menjadi tiga jenis. Pertama yaitu hospes definitive. Hospes definitive merupakan hospes dimana parasite di dalamnya berkembang biak secara seksual, contohnya ialah nyamuk *Anopheles* sebagai hospes *Plasmodium* sp. Kedua, hospes intermedier (perantara) merupakan hospes dimana parasite di dalamnya menjadi bentuk infeksi yang siap ditularkan kepada hospes/manusia yang lain. Manusia sebagai hospes perantara bagi *Plasmodium* sp. Sedangkan yang ketiga yaitu hospes reservoir ialah hospes yang dapat sebagai sumber infeksi bagi manusia.

10.2 Penggolongan Parasite

Berdasarkan jenisnya, parasit digolongkan menjadi tiga jenis yaitu zooparasit, fitoparasit dan spirochaeta & virus. Zooparasit merupakan jenis parasit yang bersumber dari binatang. Zooparasit dibagi menjadi 3 macam yaitu protozoa, metazoa (bersel banyak) dan arthropoda. Sedangkan fitoparasit yaitu parasit tumbuh-tumbuhan. Sedangkan parasit dari jenis yang lain yaitu spirochaeta dan virus.



Gambar 10.1. (A) Zooparasit; (B) Fitoparasit; (C) Spirochaeta; (D) Virus (Bhat, Cao and Yin, 2022)

10.2.1 Penggolongan Parasite Berdasarkan Tempat Hidup Parasite

Berdasarkan tempat hidupnya parasit digolongkan menjadi dua jenis yaitu endoparasit dan ektoparasit. Endoparasit merupakan parasite yang hidup di dalam tubuh hospes, misalnya di dalam darah, rongga tubuh, usus dan organ tubuh lain. Menurut (Putri *et al.*, 2019), endoparasit merupakan parasit yang hidup pada organ dalam tubuh seperti hati, limfa, otak, sistem pencernaan, sirkulasi darah, rongga perut, otot daging dan jaringan tubuh lainnya. Sedangkan ektoparasit merupakan parasite yang hidup di luar permukaan tubuh hospes, misalnya di kulit, rambut, rongga telinga luar.

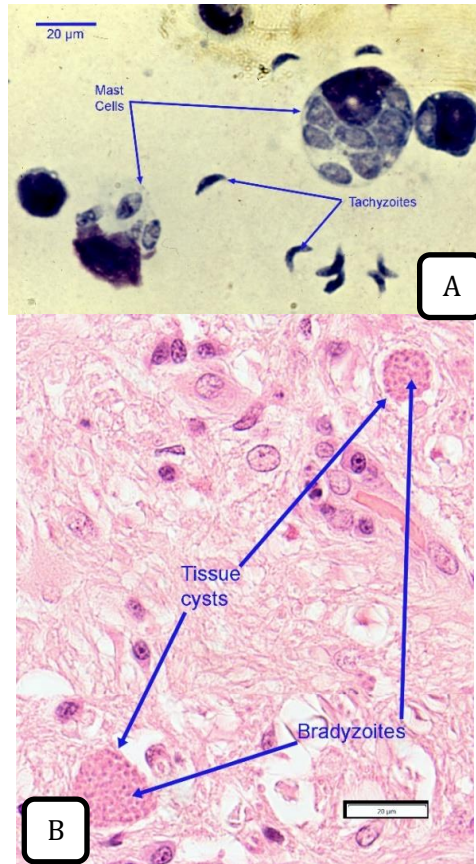
10.2.2 Penggolongan Parasite Berdasarkan Jenisnya

Berdasarkan jenisnya, penggolongan parasite dibedakan menjadi Protozoa, Helminthes, Fungi dan Arthropoda (Harmoko *et al.*, 2022).

1. PROTOZOA

Penggolongan parasite Protozoa dibagi menjadi 4 kelas yaitu Sporozoa, Rhizopoda, Flagellata/Mastighopora dan Cilliata.

- a. Sporozoa, merupakan jenis protozoa yang menjalankan reproduksi seksual dan aseksual pada siklus hidupnya. Contoh : Plasmodium (sporozoan darah) penyebab malaria, Toxoplasma (sporozoan jaringan) penyebab toxoplasmosis, dan Cyclospora (sporozoan usus). Dikenal ada 4 spesies plasmodium : *Plasmodium falciparum*, *P.malariae*, *P.vivax* dan *P.ovale*.

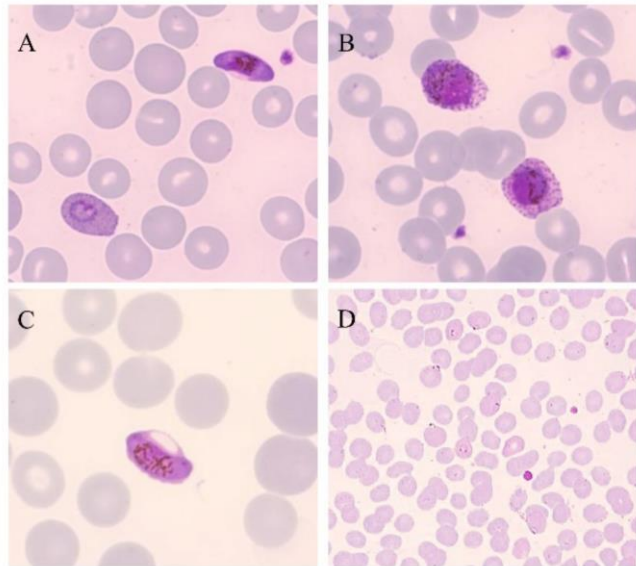


Gambar 10.2. Morfologi Toxoplasma gondii (A) Takizoit; (B) Bradizoit

(<https://wcvm.usask.ca/learnaboutparasites/parasites/toxoplasma-gondii.php>)

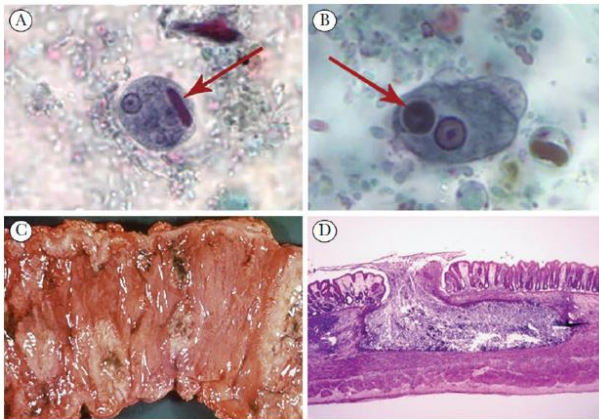
Toxoplasma adalah parasit yang tersebar luas dan menginfeksi banyak spesies hewan dan merupakan

ancaman bagi orang yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah. Penularan *Toxoplasma* dapat terjadi melalui konsumsi daging. *Toxoplasma gondii* dapat ditularkan melalui tiga tahap perkembangan (jalur infeksi): takizoit (bawaan), bradizoit di dalam kista jaringan (jalur yang ditularkan melalui daging), dan sporozoit di dalam ookista yang bersporulasi (jalur lingkungan). Ketiga tahap tersebut dapat menyebabkan infeksi paten pada inang definitif, kucing, dan infeksi jaringan pada inang perantara. Kucing yang terinfeksi sebagai inang definitif mampu mengeluarkan ookista dalam jumlah besar melalui kotorannya ke lingkungan. Penularan bawaan, dari ibu ke janin, juga terjadi pada berbagai host, termasuk manusia, domba, dan hewan pengerat. Rute penularan yang lebih jarang namun penting termasuk transplantasi organ dan transfusi darah (García *et al.*, 2021)



Gambar 10.3. Apusan sampel darah penderita malaria dengan pewarna Giemsa; (A) Gametosit *P. falciparum* dan trofozoit *P. ovale* , (B) Gametosit *P. ovale*; (C) Gametosit *P. falciparum*; (D) Trofozoit *P. falciparum* (Calderaro *et al.*, 2021)

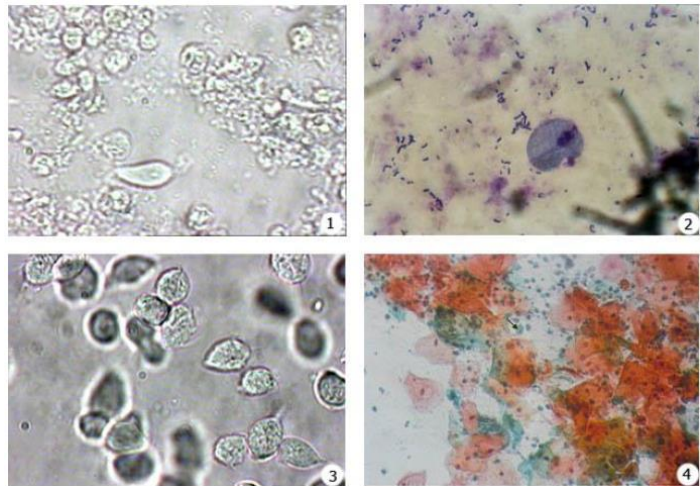
- b. Rhizopoda, merupakan protozoa yang bergerak menggunakan ameboid, pseudopodium atau aliran protoplasmic, hidup dan parasit di saluran pencernaan. Contoh : *Entamoeba histolytica* (pathogen penyebab disentri), *Entamoeba coli* (tidak merugikan manusia) Amebiasis disebabkan oleh infeksi pembentuk pseudopoda, parasit protozoa tidak berflagel *Entamoeba histolytica*. Amebiasis bisa tidak menunjukkan gejala atau dapat menyebabkan perkembangan infeksi parah dengan kolitis amuba dan abses hati amuba. Kolitis amuba adalah penyebab utama diare parah di seluruh dunia dan termasuk dalam 15 besar penyebab diare dalam 2 tahun pertama kehidupan pada anak-anak yang tinggal di negara berkembang dimana diare masih menjadi penyebab utama ketiga kematian, terhitung 9% dari seluruh kematian pada anak di bawah umur usia 5 tahun (Shirley *et al.*, 2018)



Gambar 10.4. *Entamoeba histolytica* dalam tinja dan gambaran patologis amebiasis usus; (A) Kista *E. histolytica* diwarnai dengan trikrom terdapat kromatoid (panah merah); (B) Trofozoit *E. histolytica* dengan eritrosit yang tertelan diwarnai dengan trikrom. Eritrosit yang tertelan tampak sebagai inklusi gelap (merah anak panah); (C) Jaringan usus dari pasien dengan kolitis amuba menunjukkan banyak ulkus; (D) Ulkus amebiasis berbentuk labu klasik (Shirley *et al.*, 2018)

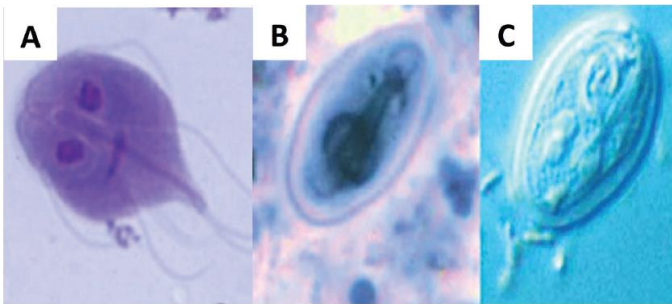
- c. Flagellata/Mastigophora, merupakan jenis protozoa yang memiliki flagel sebagai alat gerak. Flagel dapat berjumlah satu atau lebih, hidup di jaringan dan darah. Contoh : *Trichomonas vaginalis* (hidup di daerah vagina, menyebabkan infeksi keputihan), *Giardia lamblia* (flagelata usus), *Trypanosoma* dan *Leishmania* sp. (flagelata darah dan jaringan).

Trikomoniasis disebabkan oleh parasite *Trichomonas vaginalis* yang dapat menjadi penyebab dari penyakit yang berkaitan dengan saluran kemih dan sistem reproduksi pada pria dan wanita. Gejala trikomoniasis pada wanita antara lain gatal pada vulva, keluar cairan apek berwarna kuning kehijauan dari vagina dan sakit perut. Kasus trikomoniasis menyebabkan pH vagina menjadi lebih dari 4,5 (Karaman *et al.*, 2008)



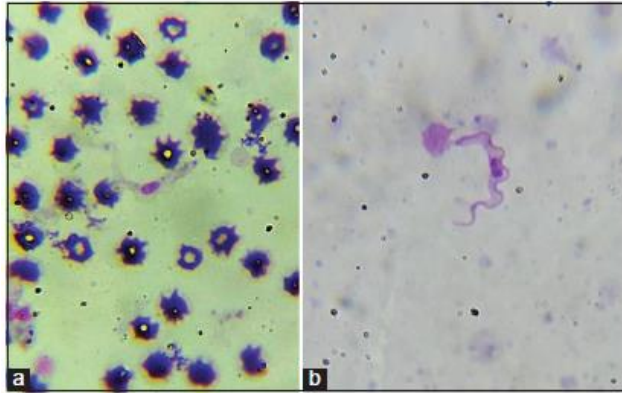
Gambar 10.5. Morfologi *T.vaginalis*; (1) *T.vaginalis* pada mikroskop langsung 400X; (2) *T.vaginalis* dalam Giemsa 1000X; (3) *T.vaginalis* dalam kultur (CPLM) 400X; (4) *T.vaginalis* pada pewarnaan PAPS 100X (Karaman *et al.*, 2008)

Giardiasis adalah infeksi usus yang disebabkan oleh *Giardia lamblia* yang merupakan protozoa eukariotik uniseluler. *G. lamblia* adalah protozoa parasit dari ordo Retortomonadida yang berganti-ganti antara trofozoit dan kista terbentuk dalam siklus hidupnya. Di bawah mikroskop cahaya, trofozoit tampak aktif berenang dan dengan ciri khas tetesan air mata (Gutiérrez, 2017)



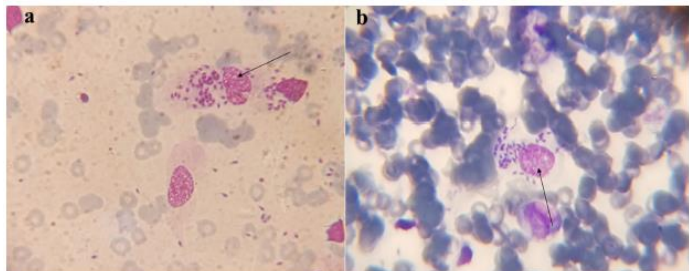
Gambar 10.6. Trofozoit *Giardia lamblia*; (A) Bentuk tetesan air mata, struktur binukleat, dan empat pasang flagella; (B) Kista bernoda; (C) kista tidak bernoda (Gutiérrez, 2017)

Surra merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* dan mempengaruhi beberapa inang vertebrata. Penyakit Surra menyebabkan kematian ternak, Surra memiliki gejala klinis yang tidak spesifik seperti anemia, anoreksia, penurunan berat badan, penurunan produksi ASI, dan reproduksi gangguan yang menimbulkan kerugian ekonomi (Setiawan *et al.*, 2021)



Gambar 10.7. Morfologi *Trypanosoma evansi*; (A) apusan darah; (B) pewarnaan Giemsa (Setiawan *et al.*, 2021)

Leishmaniasis adalah penyakit vektor menular yang disebabkan oleh parasit protozoa obligat intraseluler genus *Leishmania* dan ditularkan melalui gigitan lalat pasir betina *Phlebotomus* dan spesies *Lutzomyia*. Leishmaniasis tersebar luas endemik di Asia, Afrika, Amerika, dan wilayah Mediterania (Ahmad *et al.*, 2022)



Gambar 10.8. Morfologi *Leishmania* spp. (Ahmad *et al.*, 2022)

- d. Ciliata, merupakan protozoa bersilia atau yang memiliki bulu rambut. Contoh *Balantidium coli* (ciliata usus) dapat menyebabkan disentri.

Balantidium coli adalah parasit ciliata pada manusia. Penyebarannya mencakup distribusi di seluruh dunia. Prevalensi *B. coli* pada inang manusia bervariasi dari

0,02% hingga 1%. Pada manusia infeksi ini banyak ditemukan di daerah tropis dan subtropis wilayah dan negara berkembang, dengan kondisi lingkungan dan sanitasi yang buruk. Prevalensi *B.coli* yang lebih tinggi adalah dilaporkan di Amerika Latin, Filipina, Papua Nugini, dan Timur Tengah. Penularan *B. coli* melalui jalur feco-oral yang terjadi melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi dengan stadium kista. Infeksi dapat mempengaruhi usus besar dan menyebabkan disentri yang serius (Ponce-Gordo, Fonseca-Salamanca and Martínez-Díaz, 2011)



Gambar 10.9. Trofozoit *Balantidium coli* (Ponce-Gordo, Fonseca-Salamanca and Martínez-Díaz, 2011)

2. HELMINTHES dibagi menjadi Nematelminthes dan Plathelminthes

a. *Nematelminthes* (Cacing gelang)

Morfologi dari nematelminthes yaitu berbentuk panjang, bulat, terdapat rongga di tubuh dan tidak bersegmen. Nematelminthes (Nematoda), dibagi lagi menjadi 2 kelompok berdasarkan tempat hidup yaitu nematoda usus dan nematoda jaringan Selain itu pada Nematoda terdapat 2 jenis kelamin yaitu betina dan jantan

Contoh : nematoda usus meliputi *Ascaris lumbricoides* (cacing gelang), *Enterobius vermicularis* (cacing kremi), *Ancylostoma duodenale* dan *Necator americanus* (cacing tambang), nematoda usus dan jaringan meliputi *Strongyloides stercoralis* (cacing benang manusia), nematoda darah dan jaringan meliputi *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori* (penyakit filariasis limfatik).



Gambar 10.10. *Ascaris lumbricoides*
(<https://medlab.id/ascaris-lumbricoides/>)



Gambar 10.11. *Enterobius vermicularis*
(<https://medlab.id/oxyuris-vermicularis/>)



Gambar 10.12. *Necator americanus* (Zahabiun, Mahmoud Sadjjadi and Esfandiari, 2015)



Gambar 10.13. Mikrofilaria *Wuchereria bancrofti* dengan sedikit inflamasi sel (H&E,100x)(Narkhede, 2012)

b. Plathelminthes (cacing pipih)

Plathelminthes memiliki bentuk yang pipih dan Sebagian besar bersifat hermaphrodit. Plathelminthes dibagi menjadi 2 kelas yaitu Trematoda dan Cestoda.

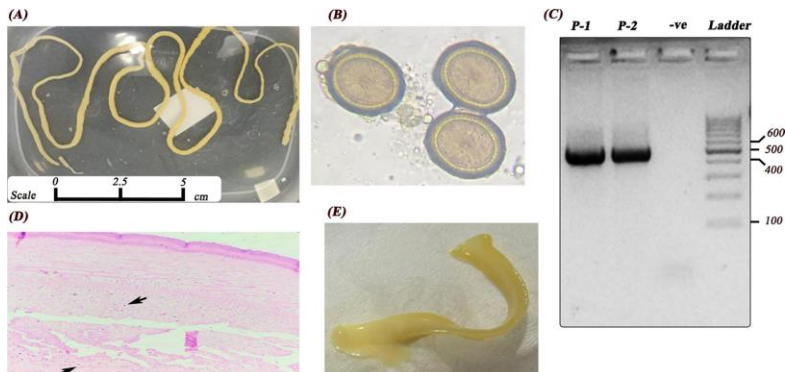
- 1) Trematoda (cacing daun) merupakan parasite dari golongan Plathelminthes yang bersifat hermaphrodit kecuali Skistosoma, menyerupai daun, bersegmen dan tidak memiliki rongga tubuh. Pembagian trematoda berdasarkan tempat dimana cacing tersebut hinggap/hidup, sehingga dikenal nama trematoda hati, trematoda usus, trematoda paru dan trematoda darah

Berkut ini merupakan contoh dari Trematoda :
Fasciola hepatica (hati), *Fasciola buski* (usus),
Schistosoma japonicum (darah).



Gambar 10.14. Cacing dewasa *Fasciola hepatica* yang diisolasi dari sapi yang terinfeksi; (A) hati sapi yang terinfeksi cacing dewasa *F. hepatica*.; (B) dan (C) Cacing dewasa *F. hepatica* diekstraksi dari hati sapi ternak yang terinfeksi (Alsulami *et al.*, 2022)

- 2) Cestoda (cacing pita) merupakan parasit dari Plathelminthes yang memiliki ciri tidak memiliki rongga tubuh, bersegmen, terdapat pengisap pada ujung kepalanya, bersifat hermaphrodit. Berikut ini contohnya yaitu *Taenia saginata* (cacing pita sapi) dan *Taenia solium* (cacing pita babi). Larva cacing disebut cysticercus dapat menginfeksi otot manusia hingga otak.



Gambar 10.15. Cacing pita *Taenia saginata*. (A) Cacing pita lengkap dari *T. saginata* diisolasi dari sampel tinja pasien laki-laki berusia 22 tahun 2; (B) Telur Taenia dari pemeriksaan sampel feses dalam keadaan basah preparat apusan (perbesaran 100x); (C) Amplifikasi gen mitokondria COX-1 (ukuran pita 491 bp); P-1 dan P-2 adalah sampel yang diamplifikasi dari pasien 1 dan pasien 2, masing-masing, – ve adalah kontrol negatif dan Ladder adalah penanda ukuran DNA 100 bp; (D) Penampang proglottid dikeluarkan dari pasien dan diambil dari sampel tinjanya, diwarnai dengan hematoksin dan eosin, sel berkapur (panah hitam); (E) Proglottid Taenia dikeluarkan dari sampel tinja (Asees *et al.*, 2024)

3. ARTHROPODA

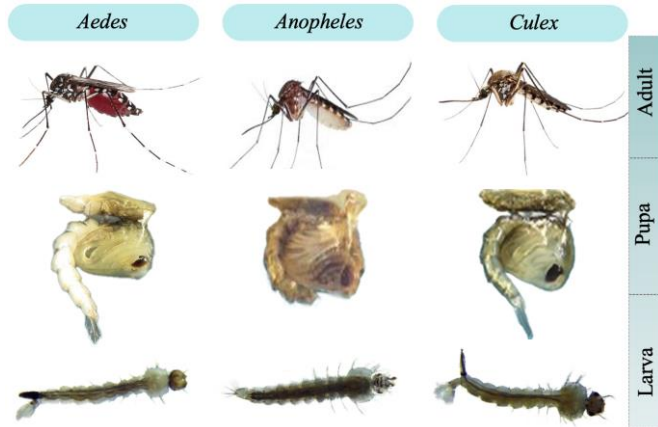
Arthropoda merupakan vector dan inang yang menyebarkan infeksi penyakit ke manusia. Arthropoda memiliki bentuk tubuh simetris bilateral, dilindungi oleh eksoskeleton dan tubuh memiliki segmen. Kelas Arthropoda yang dapat menularkan infeksi parasite yaitu Hexapoda (insekta) dikenal sebagai serangga, Arachnida dan Crustacea.

- a. Insekta, memiliki 3 pasang, mempunyai sayap 2 pasang. Contoh : *Musca domestica* (lalat rumah)



Gambar 10.16. *Musca domestica* (B Derrai, G Heath and Rademaker, 2010)

- b. Phthirus (kutu), nyamuk yang menjadi vector biologi yaitu : Anopheline (contoh *Anopheles sp.*) dan Culicinae (*Culex sp.*, *Mansonia sp.*, *Aedes sp.*)



Gambar 10.17. Nyamuk *Aedes*, *Anopheles*, dan *Culex* pada berbagai tahap kehidupan (Hossain *et al.*, 2022)

- c. Arachnida, memiliki 4 pasang kaki dan terdiri dari dua bagian. Contoh : *Sarcoptes scabiei* (tungau kudis), *Demodex folliculorum* (parasite folikel rambut)



Gambar 10.18. *Sarcoptes scabiei* (Li et al., 2023)

- d. Crustacea, memiliki dua bagian, seluruh tubuh memiliki ruas dan rangka luar keras. Contoh : *Cardisoma*, *Cyclops*, *Birgus* (ketam darat) dan udang air tawar dari ordo Crustacea

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S. *et al.* (2022) 'Knowledge, attitude, and practices towards cutaneous leishmaniasis in referral cases with cutaneous lesions: A cross-sectional survey in remote districts of southern Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan', *PLoS ONE*, 17(5 5). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268801>.
- Alsulami, M.N. *et al.* (2022) 'Identification and Genetic Characterization of *Fasciola hepatica* Isolated from Cattle in Jeddah, Saudi Arabia Based on Sequence Analysis of Mitochondrial (COI) Gene', *Infection and Drug Resistance*, 15, pp. 4877–4886. Available at: <https://doi.org/10.2147/IDR.S375671>.
- Asees, M. *et al.* (2024) 'Molecular diagnosis of *Taenia saginata* from two patients in Palestine: two case reports', *Journal of Medical Case Reports*, 18(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13256-024-04351-3>.
- B Derrai, J.G., G Heath, A.C. and Rademaker, M. (2010) *THE NEW ZEALAND MEDICAL JOURNAL Human myiasis in New Zealand: imported and indigenously-acquired cases; the species of concern and clinical aspects*, *Journal of the New Zealand Medical Association NZMJ*.
- Bhat, T., Cao, A. and Yin, J. (2022) 'Virus-like Particles: Measures and Biological Functions', *Viruses*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/v14020383>.
- Calderaro, A. *et al.* (2021) 'Malaria diagnosis in non-endemic settings: The european experience in the last 22 years', *Microorganisms*, 9(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112265>.
- García, G.Á. *et al.* (2021) 'Identification of oocyst-driven toxoplasma gondii infections in humans and animals through stage-specific serology— current status and future perspectives', *Microorganisms*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112346>.

- Gutiérrez, A.M.Q. (2017) 'Giardiasis Epidemiology', in *Current Topics in Giardiasis*. InTech. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.70338>.
- Harmoko, N.T. Wulansari, B. Rachmad, A. Irma, R.S. Seto, S.P. Djasfar, D. Luthfianto, Z. Fadhila. (2022). Buku Ajar Mikrobiologi dan Parasitologi. CV. Feniks Muda Sejahtera.
- Hossain, Md Shakhawat *et al.* (2022) 'Aedes Larva Detection Using Ensemble Learning to Prevent Dengue Endemic', *BioMedInformatics*, 2(3), pp. 405–423. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedinformatics2030026>.
- Karaman Ordu Üniversitesi, Ü. *et al.* (2008) *A comparison of cytological and parasitological methods in the diagnosis of Trichomonas vaginalis*, *Türkiye Parazitol Derg.* Available at: <https://www.researchgate.net/publication/23804434>.
- Li, M. *et al.* (2023) 'In Vitro Efficacy of Terpenes from Essential Oils against *Sarcoptes scabiei*', *Molecules*, 28(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28083361>.
- Narkhede, R. (2012) *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences/Volume1/ Issue4*.
- Ponce-Gordo, F., Fonseca-Salamanca, F. and Martínez-Díaz, R.A. (2011) 'Genetic Heterogeneity in Internal Transcribed Spacer Genes of *Balantidium coli* (Litostomatea, Ciliophora)', *Protist*, 162(5), pp. 774–794. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.protis.2011.06.008>.
- Putri, M., N.A. Fauziah, and V.H. Agustin. (2019) *IDENTIFIKASI ENDOPARASIT DAN EKTOPARASIT IKAN HIAS AIR TAWAR DI PASAR IKAN SASANA MINA MAGELANG*. Prosiding Seminar Nasional MIPA, Universitas Tidar.
- Setiawan, A. *et al.* (2021) 'Genetic and parasitological identification of *Trypanosoma evansi* infecting cattle in South Sulawesi, Indonesia', *Veterinary World*, 14(1), pp. 113–119. Available at: <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2021.113-119>.
- Shirley, D.A.T. *et al.* (2018) 'A review of the global burden, new diagnostics, and current Therapeutics for amebiasis', *Open Forum Infectious Diseases*, 5(7). Available at: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy161>.

Zahabiun, F., Mahmoud Sadjjadi, S. and Esfandiari, F. (2015)
*Development of a Double Glass Mounting Method Using
Formaldehyde Alcohol Azocarmine Lactophenol (FAAL) and
its Evaluation for Permanent Mounting of Small Nematodes.*
Available at: [https://www.researchgate.net/publication/
288991367](https://www.researchgate.net/publication/288991367).

BIODATA PENULIS



Yuyun Nisaul Khairillah, S.Si., M.Si

Dosen Program Studi Bioteknologi

Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat

Penulis lahir di Kepahiang, pada tanggal 09 Maret 1995. Penulis telah menyelesaikan pendidikan sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu (UNIB) pada tahun 2017. Kemudian penulis telah menyelesaikan pendidikan magister pada Program Studi Mikrobiologi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB) pada tahun 2021. Selama menempuh masa perkuliah penulis pernah menjadi asisten dosen, asisten riset, dan asisten praktikum beberapa mata kuliah seperti genetika populasi dan genetika manusia, Biokimia, Teknik Laboratorium, Mikologi Cendawan Endofit, Tropical Microbiology, dan Interaksi Mikrob dan Inang. Selain itu juga penulis terlibat dalam beberapa organisasi seperti Forum Mahasiswa Pascasarjana IPB (FORCA IPB), Himpunan Mahasiswa Muslim Pascasarjana IPB (HIMMPAS IPB), Generasi Saintis Islam Universitas Bengkulu (GSI UNIB), Himpunan Mahasiswa Biologi Abaka (HIMABIO-ABAKA UNIB), Masyarakat Bioinformatika dan Biodiversitas Indonesia (MABBI) dan Ikatan Program Studi Bioteknologi Indonesia (IPSBI).

Saat ini penulis bekerja sebagai Dosen di Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah

Kalimantan Barat pada September 2022 – sekarang. Penulis aktif mengikuti seminar, menulis, dan mempublikasi artikel pada jurnal nasional dan internasional bereputasi. Penulis juga telah melakukan riset terkait protein, protein lektin, senyawa aktif mikroorganisme, cendawan endofit, cendawan rhizosfer dan senyawa antibiotik bakteri mangrove, hingga sekarang.

Penulis dapat dihubungi melalui e-mail:

yuyunnisaulkhairillah@gmail.com

BIODATA PENULIS



dr. I Putu Bayu Mayura, S. Ked., Ph.D.

Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Penulis lahir di Denpasar tanggal 3 Agustus 1988. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana dan melanjutkan studi S3 pada bidang bakteriologi di Graduate School Of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Jepang. Penulis merupakan penerima beasiswa LPDP di tahun 2016 dan penerima beasiswa MEXT dari pemerintah Jepang pada tahun 2017 hingga tahun 2021. Penulis juga mengikuti pendidikan non gelar di Wurzburg University, Jerman di tahun 2016 dan Far Eastern Memorial Hospital, Taiwan pada Maret 2024.

BIODATA PENULIS



apt Hendri Satria kamal Uyun M.Farm

Dosen Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
(STIFARM) Padang

Penulis lahir di Tanjung Pinang tanggal 9 Agustus 1993. Penulis adalah dosen tetap pada bidang Biologi Farmasi STIFARM Padang. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi Pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang kemudian melanjutkan pendidikan Profesi Apoteker Di Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan melanjutkan Pendidikan S2 Di Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Mata kuliah yang diampu antara lain Botani Farmakognosi 1, Farmakognosi 2 dan Fitokimia. Penulis juga telah menerbitkan buku diantaranya adalah Farmakognosi, Ilmu bahan Makanan dan Ilmu pangan. Selama menjalankan tridarma perguruan tinggi dibidang penelitian, penulis berhasil mendapatkan hibah untuk Penelitian Dosen Pemula oleh Kemdikbudristek Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Direktorat Riset, Teknologi dan Pengabdian Kepada Masyarakat sebagai pemberi dana penelitian tahun 2023 dan 2024. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada STIFARM Padang atas dukungannya dalam penulisan dan penerbitan buku ini.

BIODATA PENULIS



Lukman Harun, S.Kep.,Ns., M.Imun.

Dosen Program Studi Keperawatan
Fakultas Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Banjarmasin

Penulis lahir di Kumai Hilir tanggal 27 Oktober 1985. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Keperawatan Fakultas Keperawatan dan Pascasarjana, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Keperawatan, Melanjtkan Profesi Ners dan melanjutkan S2 pada Jurusan Imunologi. Penulis menekuni bidang Imunologi, HIV/AIDS, Ilmu Biomedik Dasar, Mikrobiologi dan Parasitologi, Kesehatan Masyarakat, Keluarga dan Komunitas.

BIODATA PENULIS



Anggraini Putri Utami, S.Si., M.Si
Dosen Program Studi Bioteknologi
ITEKES Muhammadiyah Kalimantan Barat

Penulis lahir di Pontianak tanggal 9 April 1997. Penulis menyelesaikan pendidikan S-1 Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret pada tahun 2018 dan melanjutkan S-2 Bioteknologi di Institut Pertanian Bogor dan lulus pada tahun 2022. Penulis adalah dosen pada Program Studi Bioteknologi ITEKES Muhammadiyah Kalbar mata kuliah Biologi Sel. Buku ini merupakan buku kolaborasi pertama penulis.

BIODATA PENULIS



Sari Niswatul Muthi'ah, S.Si.

Penulis lahir di Jakarta, 28 September 2001. Penulis memperoleh gelar Sarjana Sains (S1) dari Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam As-Syafi'iyah, Jatiwaringin. Saat ini penulis berprofesi sebagai guru di salah satu pengajar SMP swasta di Jakarta. Penulis mempunyai pengalaman membantu dosen melakukan penelitian di bidang mikrobiologi dan pernah melaksanakan tugas akhir bidang mikrobiologi di laboratorium *Indonesian Culture Collection* (InaCC), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Penulis juga pernah mengikuti salah satu program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) pada kampus mengajar 2. Penulis telah mempublikasikan beberapa artikel penelitian di jurnal terakreditasi.

BIODATA PENULIS



Dr. Adriani S.Si.,M.Kes

Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran
Universitas Muslim Indonesia

Penulis lahir di Ujung Pandang 4 Juni 1984. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Sarjana Kedokteran Universitas Muslim Indonesia Makassar. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Biologi Fakultas MIPA, melanjutkan S2 pada Jurusan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya. Penulis menekuni bidang Menulis dan beberapa tulisan berhasil diterbitkan pada book chapter nasional dan jurnal terakreditasi nasional/internasional. Penulis dapat dihubungi pada alamat email adriani.adriani@umi.ac.id

BIODATA PENULIS



Qurrota Aýun M,Si.

Dosen Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam As-Syafi'iyah

Penulis merupakan Lulusan S-1 dari Program Studi Biologi Universitas Islam As-Syafi'iyah (UIA) dan lulusan S-2 pada Program studi Mikrobiologi Institut Pertanian Bogor (IPB). Saat ini, penulis bekerja sebagai dosen tetap pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam As-Syafi'iyah, Jatiwaringin. Bidang yang penulis tekuni adalah Mikrobiologi. Selain mengajar, penulis tergabung dalam tim Gugus penjaminan mutu Fakultas dan semenjak tahun 2022 hingga sekarang bertugas sebagai ketua Audit Mutu Internal (AMI) Universitas. Penulis pernah menjadi penerima hibah dari Kementerian Pendidikan Kebudayaan, Riset dan Teknologi melalui Pendanaan Penelitian Dosen Pemula (PDP) pada tahun 2021 dan 2022. Aktif menulis artikel di berbagai Jurnal ilmiah dan beberapa buku yang telah diterbitkan.

BIODATA PENULIS



Afifah Nur Shobah, S.Si., M.Sc.

Dosen Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang

Penulis lahir di Purwokerto tanggal 19 Januari 1989. Penulis adalah dosen tetap Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto pada tahun 2012 dan menyelesaikan S2 pada Program Magister Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta tahun 2014.