

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

A. *Salmonella typhi*

Bakteri merupakan mikroorganisme berjenis sel tunggal prokariotik yang hidup secara bebas dan dapat ditemui dalam berbagai lingkungan seperti udara, tanah, debu, air, serta dapat berkoloni di dalam tubuh tumbuhan, hewan, atau manusia. Bakteri merupakan jenis mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bakteri adalah organisme dengan populasi terbesar dibandingkan makhluk hidup lainnya dan tersebar luas di seluruh dunia. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang mendiami beragam habitat, termasuk daratan, perairan, atmosfer, dan tempat-tempat ekstrem (Rini, dkk., 2020).

Bakteri terbagi menjadi dua jenis yaitu gram negatif dan gram positif. Bakteri yang masuk ke dalam kategori bakteri gram positif antara lain *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Clostridium*, *Actinobacteria*, dan *Listeria*. Sementara itu, bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif meliputi *Enterobacteriaceae* (seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*), *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, bakteri asam laktat, *Legionella*, *Cyanobacteria*, *Spirochaeta*, bakteri sulfur dan non-sulfur, serta *Alpha-proteobacteria* (Hendrayanti., 2021).

1. Klasifikasi bakteri *Salmonella typhi*

Klasifikasi pada bakteri *Salmonella typhi* yaitu sebagai berikut (Kasim,2020):

Kingdom : Bacteria, phylum Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales, Salmonella sp

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Species : e.g. S. enteric

2. Morfologi dan toksonomi *Salmonella typhi*

Salmonella adalah jenis bakteri berbentuk batang dengan sifat gram negatif yang dapat tumbuh baik dalam kondisi anaerob fakultatif. Ukurannya berkisar antara 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , dengan koloni yang biasanya memiliki diameter 2-4 mm. Bakteri ini dilengkapi dengan flagela peritrikal yang memberikan kemampuan pergerakan (motilitas) pada *Salmonella*. Flagela ini mengandung protein yang dikenal sebagai flagelin yang memicu respon kekebalan tubuh terhadap bakteri tersebut. *Salmonella* dapat tumbuh dengan mudah di dalam medium pertumbuhan yang sederhana, namun jarang sekali melakukan fermentasi terhadap laktosa dan sukrosa (Kuswiyanto, 2017).



Sumber : istock

Gambar 1. Bakteri *Salmonella typhi*

Taksonomi *Salmonella* sp., tergolong dalam kingdom *Bacteria*, divisi *Proteobacteria*, kelas *Gamma proteobacteria*, ordo *Enterobacteriales*, famili *Enterobacteriaceae*, genus *Salmonella*, dan termasuk dalam spesies *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella paratyphi* B, *Salmonella choleraesuis*, dan *Salmonella enteritidis*. Penyakit demam tifoid disebabkan oleh infeksi bakteri

Salmonella typhi, yang merupakan bakteri gram negatif, bersifat motil, dan tidak membentuk spora. Bakteri ini dapat bertahan hidup pada suhu tubuh manusia atau sedikit di bawahnya, namun mati pada suhu 70°C atau jika terpapar oleh antiseptik. (Kuswiyanto, 2017).

3. Patogenitas bakteri *Salmonella typhi*

Demam tifoid merupakan penyakit demam yang tiba-tiba disebabkan oleh bakteri *S. typhi*, yang hanya menyerang manusia. Bakteri ini menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh tinja seseorang yang menderita demam tifoid. Setelah masuk melalui mulut, bakteri tersebut menuju saluran pencernaan. Tubuh akan mencoba menghilangkan bakteri ini, tetapi jika jumlahnya cukup besar, bakteri tersebut akan mencapai usus halus dan merangsang sistem kekebalan tubuh, menyebabkan gejala demam, kelemahan, sakit kepala, hilangnya nafsu makan, sakit perut, masalah pencernaan, dan gejala lainnya. Bakteri kemudian menembus lapisan usus, berkembang biak di dalam jaringan ikat, dan masuk ke kelenjar getah bening di sekitar usus. Setelah itu, bakteri memasuki aliran darah, menyebabkan infeksi awal yang mungkin tidak menimbulkan gejala, kemudian menyebar ke organ lain seperti hati dan sumsum tulang. Hal ini diikuti oleh pelepasan bakteri dan toksin ke dalam darah, menyebabkan infeksi yang lebih parah. Bakteri yang kembali ke usus menyebabkan infeksi sekunder, dan sebagian bakteri dikeluarkan melalui tinja. (Imara, 2020).

4. Sifat fisiologi bakteri *Salmonella typhi*

Bakteri ini berkembang dalam lingkungan yang aerob dan anaerob fakultatif dengan rentang suhu antara 15°C hingga 41°C (dengan suhu optimal pertumbuhan pada 37,5°C) dan rentang pH pertumbuhan antara 6-8. Namun, pada suhu 56°C dan kondisi kering, bakteri ini tidak dapat bertahan hidup. Dalam air, *Salmonella* dapat bertahan hingga 4 minggu (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2012).

Salmonella mampu menghasilkan gas ketika tumbuh dalam media yang mengandung glukosa. Secara umum, bakteri ini mampu melakukan fermentasi dulsitol, namun tidak mampu memfermentasi laktosa. Selain itu, *Salmonella* mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, menghasilkan hidrogen sulfida, melakukan dekarboksilasi pada lisin dan ornitin, tidak menghasilkan indol, dan tidak memiliki aktivitas urease. (Sopandi, 2014).

B. Diagnosa *Salmonella typhi*

Untuk mengetahui keberadaan bakteri *Salmonella typhi* perlu dilakukan penegakan diagnosa laboratorium, diantaranya sebagai berikut:

1. Kultur Bakteri *Salmonella typhi*

Untuk memperbanyak bakteri *Salmonella typhi*, dapat menggunakan medium Mac Conkey (Sheikh, 2011). Media lain yang layak adalah *Eosin Methylene Blue* (EMB), serta deteksi dapat dilakukan menggunakan *medium Bismuth Sulfit Agar*. Media yang lebih spesifik seperti *Salmonella Shigella Agar* (SSA) juga tersedia. Media pembiakan yang disarankan adalah media empedu (Gall) dari sapi karena meningkatkan sensitivitas deteksi, hanya bakteri *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* yang dapat berkembang di media ini. Pada medium SSA, kehadiran *Salmonella typhi* ditandai dengan

pembentukan koloni hitam (black jet) karena produksi H₂S (Sucipta, 2015).

2. Pemeriksaan Serologis

Berbagai metode pemeriksaan serologis dapat digunakan, termasuk Widal Test, Tubex TF, ELISA, hingga SDS-PAGE Blotting. Pemeriksaan serologis umumnya bertujuan untuk mendeteksi antibodi (Ab) atau antigen (Ag) bakteri *Salmonella typhi*.

3. Pemeriksaan Molekuler

Pemeriksaan berbasis molekuler dapat dilakukan dengan mengamplifikasi gen spesifik yang telah diketahui, diakses melalui Gene Bank di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Genom lengkap dari *Salmonella typhi* telah dimasukkan ke dalam basis data dan dapat digunakan sesuai dengan target gen. Beberapa gen seperti 16sRNA, *viaB*, *hlyA*, dan *fliC* dari bakteri *Salmonella typhi* dapat digunakan sebagai primer identifikasi. (Liu, dkk., 2017).

C. Polymerase Chain Reaction (PCR)

1. Definisi

PCR adalah metode *in vitro* yang sangat efisien dan peka yang dapat diterapkan dalam berbagai bidang seperti biologi molekuler, diagnostik medis, genetika populasi, dan investigasi forensik. Teknik PCR ini berdasarkan pada penggandaan enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan sepasang primer oligonukleotida yang berkomplementer dengan daerah target DNA. Hal ini menghasilkan produksi jumlah besar fragmen DNA yang spesifik, dengan panjang dan urutan tertentu, meskipun dimulai dari jumlah template DNA yang sangat terbatas. Untuk memungkinkan perpasangan sekuens, suhu reaksi dikurangi, dan DNA polimerase

melakukan reaksi polimerisasi untuk membentuk DNA komplementer (Irianto, 2019).

Produk terpolimerisasi baru yang berasal dari setiap primer dapat berfungsi sebagai template untuk primer lain, sehingga setiap siklus dapat melipat gandakan jumlah fragmen DNA yang dibuat pada siklus sebelumnya. Amplifikasi segmen DNA dihasilkan oleh pengulangan siklus denaturasi, annealing primer pada sekuens komplementernya, dan pengembangan primer yang terannealing dengan polimerase DNA. Akumulasi eksponensial fragmen target spesifik lebih dari berjuta kali lipat dalam beberapa jam adalah hasil dari PCR ini. Selain itu, teknik ini dapat memperbanyak satu molekul target dalam campuran RNA dan DNA yang kompleks (Irianto, 2019).

Keunggulan PCR dianggap sangat tinggi. Ini disebabkan oleh spesifisitas, efisiensi, dan keakuratannya. Spesifisitas PCR terletak pada kemampuannya untuk mengamplifikasi target sehingga menghasilkan produk melalui serangkaian siklus. Tingkat keakuratan yang tinggi dikarenakan DNA polymerase mampu menghindari kesalahan pada amplifikasi produk. Salah satu permasalahan terkait penggunaan PCR adalah biaya yang masih dianggap tinggi (Yusuf, 2010).

2. Prinsip umum

Mekanisme amplifikasi PCR adalah sederhana tetapi elegan. primeroligonukleotida mula-mula didesain agar berkomplemen dengan ujung-ujung dari sekuens yang akan diamplifikasi. Kemudian primer tersebut dengan jumlah yang berlebih dicampur dengan DNA templat dan deoksiribonukleotida (dNTP) dalam bufer yang sesuai. setelah pemanasan untuk denaturasi untai awal dan pendinginan untuk memungkinkan primer annealing, selanjutnya oligonukleotida tersebut masing-masing akan berikatan dengan untai yang berbeda dari dua untai fragmen DNA target. primer-primer tersebut akan annealing pada posisi yang memungkinkan produk amplifikasi dari masing-masing untai DNA akan overlap

dengan dibatasi oleh sisi tempat annealing dari primer yang berlawanan (Kusnadi, dkk., 2020).

3. Tahap-tahap dalam *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Langkah-langkah penting yang dilakukan dalam proses PCR termasuk denaturasi, annealing, dan ekstensi. Annealing adalah tahap di mana primer menempel pada DNA template. Primer dapat berikatan dengan DNA template jika suhu optimal tercapai, sehingga suhu selama tahap annealing merupakan faktor penting dalam keberhasilan amplifikasi DNA menggunakan metode PCR. Suhu annealing yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan kegagalan amplifikasi DNA, sementara suhu annealing yang terlalu rendah dapat menyebabkan primer menempel pada lokasi yang tidak spesifik (Amanda, dkk., 2019).

D. Desain Primer

Desain primer adalah tahapan awal untuk amplifikasi DNA, sehingga dapat digunakan untuk menganalisis sampel menggunakan teknik PCR. Desain primer yang baik dilakukan secara *in silico*, yaitu dengan basis ilmu bioinformatika (Zahrani, dkk., 2022).

Primer yang baik memiliki panjang berkisar antara 18 hingga 30 pasangan basa. Primer yang terlalu pendek, yaitu kurang dari 18 pasangan basa, dapat mengurangi spesifisitas primer. Panjang primer yang terlalu pendek juga meningkatkan kemungkinan terjadinya mispriming, yang pada gilirannya dapat mengurangi spesifisitas dan efektivitas proses PCR. Oleh karena itu, pemilihan panjang primer yang tepat sangat penting untuk mencapai efektivitas dan efisiensi optimal dalam PCR. Primer yang lebih panjang dari 30 pasangan basa tidak memberikan peningkatan spesifisitas primer yang signifikan, namun dapat meningkatkan biaya perancangan primer. Komposisi primer perlu diperhatikan untuk menghindari rentetan nukleotida yang sama, yang dapat mengurangi spesifisitas dan

menyebabkan mispriming. Spesifisitas primer yang rendah dapat menyebabkan kegagalan dalam proses PCR. Persentase G+C pada primer sebaiknya sama atau lebih besar dari persentase G+C pada DNA target, karena primer dengan persentase G+C yang rendah mungkin tidak efektif dalam menempel pada tempat yang dituju. Pada ujung 3' primer, preferensi diberikan pada nukleotida G atau C daripada A atau T, karena A atau T cenderung kurang sesuai dan dapat mengurangi spesifisitas primer. Melting temperature (T_m) adalah suhu di mana 50% untai ganda DNA terpisah. Pemilihan T_m primer penting karena akan mempengaruhi suhu annealing dalam proses PCR. T_m primer berkaitan dengan komposisi dan panjang primer. (Hasibuan, dkk., 2015).

Suhu leleh primer dapat dihitung secara teoritis menggunakan rumus $[2(A+T) + 4(C+G)]$. Suhu leleh primer yang disarankan berkisar antara 50°C hingga 65°C. Interaksi antar primer seperti self-homology dan cross-homology harus dihindari. Keadaan mispriming juga perlu dihindari karena dapat mengurangi spesifisitas primer dan mengurangi konsentrasi primer yang digunakan selama proses, yang dapat memengaruhi efisiensi proses PCR. Nukleotida (dNTPs) adalah campuran yang terdiri dari dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat), dCTP (deoksisitidin trifosfat), dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). Nukleotida berperan sebagai blok pembangun DNA yang diperlukan dalam proses ekstensi. Nukleotida (dNTP) akan berikatan dengan gugus –OH pada ujung 3' dari primer dan membentuk untai baru yang melengkapi untai cetakan DNA. Konsentrasi optimal dNTPs untuk proses PCR perlu ditentukan (Hasibuan, dkk., 2015).