

Diagnosis, patogenesitas dan pemeriksaan *Campylobacter jejuni*

Diagnosis, pathogenicity and examination of Campylobacter jejuni

Conny Riana Tjampakasari^{1)*} & Siti Kusmaryeni²⁾

1)Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Indonesia
2) Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas, Indonesia

*Corresponding author: connyrianat@yahoo.com

ABSTRAK

Campylobacteriosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri bergenusa *Campylobacter*, terutama spesies *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*). Bakteri ini bersifat Gram negatif, berukuran sangat kecil, berbentuk batang bergelombang, tipis, beberapa berbentuk spiral. *C. jejuni* tidak membentuk spora, katalase positif, dapat mereduksi nitrat dan sangat motil dengan flagel yang terdapat pada satu atau dua ujung tubuhnya. Pertumbuhannya bersifat mikroaerofilik, dapat tumbuh optimal dengan kadar oksigen rendah. Pada media pertumbuhan, semua *Campylobacter* sp tumbuh dengan baik pada pH 5,5-8,0. Koloni tampak bulat, halus dan cembung. *Campylobacteriosis* bersifat zoonosis yaitu dapat menular dari hewan ke manusia. Bakteri yang masuk ke dalam tubuh manusia memproduksi toksin, *Cytolytic Distending Toxin* (CDT) yang merupakan salah satu faktor patogenitas. Manifestasi klinik yang ditimbulkan berupa diare, kadang-kadang sampai berdarah, sakit pada bagian perut, demam, mual dan muntah. Pada manusia dan hewan banyak kasus tidak menunjukkan gejala. Pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis pasti infeksi oleh *Campylobacteriosis* sangat diperlukan. Berdasarkan hal tersebut, tujuan penulisan artikel ini adalah mengaitkan diagnosis dan patogenesis *Campylobacteriosis* dengan pemeriksaan mikrobiologi. Pemeriksaan mikrobiologi yang dapat dilakukan adalah mikroskopis, kultur dan non kultur. Saat ini teknik non kultur yang dikembangkan antara lain, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Epidemiological typing system* dan serologi.

Kata Kunci: *C. jejuni*, diagnosis, patogenitas, pemeriksaan mikrobiologi

ABSTRACT

Campylobacteriosis is an infection disease caused by bacteria from *Campylobacter* genus, especially *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) species. This Gram-negative bacteria has very small size, rod-shaped, thin and some are spiral shaped. *C. jejuni* does not have spore, catalase positive, nitrat reductase, and highly motile with flagella located at one or two ends of its body. It's growth is microaerophilic, grow optimally with low oxygen levels. In the growth media, all *Campylobacter* sp grew well at pH 5.5-8.0. Colonies appear round, smooth and convex. *Campylobacteriosis* is zoonotic, which mean it can be transmitted from animals to humans. Bacteria that enter the human body produce a toxin, *Cytolytic Distending Toxin* (CDT), which is one of the pathogenic factors. Clinical manifestations caused diarrhea, sometimes to bloody, abdominal pain, fever, nausea and vomiting. In humans and animals, most cases are asymptomatic. Laboratory tests to support a definite diagnosis of infection by *Campylobacteriosis* are necessary. Based on this, the purpose of writing this article is to link the diagnosis and pathogenesis of *Campylobacteriosis* with microbiological examination. Microbiological examinations that can be done are microscopic, culture and non-culture. Currently, non-culture techniques being developed include *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Epidemiological typing system* and serology.

Keywords: *C. jejuni*, diagnosis, microbiological examination, pathogenicity.

PENDAHULUAN

Campylobacteriosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri bergenusa Campylobacter terutama spesies *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*). Insiden *Campylobacteriosis* yang disebabkan oleh *C. Jenjuni* menjadi perhatian, karena adanya peningkatan kasus tiap tahun. Gejala yang muncul ketika terinfeksi *C. jejuni* diantaranya diare yang pada beberapa kasus sampai berdarah, sakit pada bagian perut, demam, mual dan muntah. Gejala-gejala tersebut biasanya mulai terlihat dalam 2-5 hari setelah proses infeksi, namun banyak kasus infeksi pada manusia dan hewan tidak menunjukkan adanya gejala (Missouri Departement of Health and Senior Services, 2006).

Faktor transmisi dan ketahanan tubuh menjadi faktor yang mempengaruhi infeksi *C. Jejuni*. Sebagian besar kasus *Campylobacteriosis* pada manusia bersifat sporadik. Transmisi bakteri ini biasanya disebabkan oleh konsumsi *raw milk*, air minum, memakan daging unggas dan daging ternak yang kurang matang atau kontak langsung dengan anjing atau kucing yang terkena diare (Mahendra, 2017). Jumlah bakteri yang masuk ke dalam tubuh manusia yang dapat menimbulkan infeksi berkisar antara 500 - 10.000 sel bakteri (Maud *et al.*, 2018). Dosis infeksi pada anak-anak lebih rendah daripada orang dewasa.

Patogenisitas *C. jejuni* meliputi kemotaksis dan motilitas flagela yang berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi di dinding epitel usus (Mahendra, 2017). Faktor patogenisitas lain dari *C. Jenjuni* yaitu adhesi, produksi toksin, invasi dan mekanisme virulensi lainnya. Motilitas tidak hanya dibutuhkan untuk mencapai situs penempelan tetapi juga dibutuhkan untuk penetrasi ke dalam sel-sel usus. Pelekatan *C. jejuni* ke permukaan epitel merupakan hal yang penting untuk kolonisasi dan berperan meningkatkan konsentrasi lokal produk sekresi bakteri.

Setelah terjadi kolonisasi, invasi diikuti dengan penempelan yang disertai dengan penetrasi ke dalam sel dan diakhiri dengan produksi toksin sebagai faktor yang penting untuk patogenesis (Kenlyn *et al.*, 2017).

Sekali kolonisasi terjadi maka akan menimbulkan invasi terhadap sel inang, memproduksi toksin, menyebabkan inflamasi dan sekresi aktif sehingga mengakibatkan gangguan epitel berupa kebocoran cairan serosal. Masa inkubasi *Campylobacteriosis* pada manusia umumnya 2 – 5 hari, yaitu ketika kuman mengalami multiplikasi dalam usus dan mencapai jumlah 10^6 – 10^9 per gram feses. Untuk terjadinya infeksi hanya diperlukan sekitar 800 *C. jejuni*. Bakteri ini menghasilkan enterotoksin yang mirip dengan penyakit kolera dan toksin *Escherichia coli* (*E.coli*) (Olayinka & Beth, 2008).

Gejala yang ditimbulkan *Campylobacteriosis* serupa dengan yang ditimbulkan oleh infeksi *E. coli*, oleh karena itu maka perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk menunjang diagnosis penyakit ini. Diagnosis ditegakkan berdasarkan gejala penyakit, keluhan dan tanda yang ditimbulkan. Hasil pemeriksaan laboratorium dapat menunjang atau menyingkirkan kemungkinan lain dari penyakit yang menyebabkan gejala tersebut. Hingga saat ini pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan diantaranya adalah pemeriksaan kimia klinik, hematologi, imunologi, mikrobiologi, patologi, sitologi dan serologi.

Campylobacteriosis

Campylobacteriosis bersifat zoonosis yaitu dapat menular dari hewan ke manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan bakteremia terutama pada penderita diabetes dan kanker (Masniari *et al.*, 2005). Hampir semua jenis *Campylobacter sp.* tergolong katalase positif yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia maupun hewan ternak. Dari semua jenis *Campylobacter*, *C. jejuni* diduga 80-90%

sebagai penyebab utama infeksi *Campylobacteriosis* (Jan et al., 2001; Lan et al, 2003).

Campylobacter Jejuni menyerang berbagai jenis hewan diantaranya kucing, anjing, sapi, kambing, ferret, mink, unggas, hewan laboratorium dan manusia. Bakteri ini secara alami ada dalam saluran pencernaan ayam. Infeksi pada ayam dapat terjadi dalam beberapa cara yaitu infeksi *day of chick* (DOC) dari ayam dewasa, kontaminasi pakan dan kontaminasi air (Kazuhiro and Yasuharu, 2014). *C. jejuni* pada ternak ayam terdapat di dalam sel epitel dan sel monokuler dari lamina propria yang dapat menyebabkan kerusakan *jejenum* dan *ileum*. Pada umumnya, *Campylobacter* pada ternak unggas (ayam, kalkun) bersifat subklinis ditandai dengan menurunnya produksi telur secara drastis, kurus, kering, layu dan pial bersisik (*scaly combs*), tidak berdaya dan penyendir. Dalam pemeriksaan histopatologik ditemukan perdarahan dan daerah-daerah nekrotik dalam jaringan hati, asites dan hidroperikardium, ginjal pucat dan membesar. *C. jejuni* tidak menyebabkan penyakit klinis pada hewan dewasa kecuali untuk kasus-kasus sporadis abortus pada ruminansia. Kasus yang sangat jarang terjadi adalah hepatitis pada burung unta (Dharmojono, 2001).

Ayam pada peternakan yang terinfeksi dapat menyebabkan kontaminasi pada daging yang dihasilkan. Proses penyiapan daging ayam yang meliputi proses penyembelihan, pendinginan, proses penyimpanan dan proses pemasakan sangat memengaruhi kualitas daging ayam yang dihasilkan. Daging ayam merupakan sumber kontaminasi yang terbanyak penyebab penularan pada manusia (Gillespie et al., 2005). Kontaminasi feses ke daging selama pemrosesan dianggap menjadi sumber utama penyakit. Pada manusia, infeksi ekstraintestinal termasuk bakteremia dapat terjadi (Dharmojono, 2001).

Setiap orang dapat terinfeksi *C. jejuni* namun anak-anak dibawah 5 tahun dan orang dewasa (15-29 tahun) lebih rentan terinfeksi

dibanding kelompok umur lain. Bakteri ini menyebabkan diare berlendir kadang mengandung darah serta lekosit fekal. Diare berdarah disebabkan oleh sifat invasif bakteri yang masuk ke usus halus dan mengeluarkan toksin yang merusak mukosa usus (Knudsen et al., 2006). Bakteri ini menghasilkan toksin *cytotoxic* yang memiliki kesamaan imunologi dengan toksin kolera. Toksin ini bertanggung jawab atas diare yang berhubungan dengan edema submukosa (Zhang, 2006). Gejala lain yang sering menyertai adalah demam, sakit perut, mual, sakit kepala dan nyeri otot. Gejala infeksi pada umumnya terjadi 2-5 hari setelah mengkonsumsi makanan yang tercemar. Sakit dirasakan selama 7-10 hari dengan kemungkinan kekambuhan sekitar 25% kasus (Gillespie et al., 2005).

Mekanisme patogenik *Campylobacteriosis* belum sepenuhnya dipahami, namun beberapa faktor virulensi *C. jejuni* berperan penting dalam proses infeksi, diantaranya kemampuan motilitas, kemotaksis dan produksi toksin. Kemampuan motilitas memiliki peran yang sangat penting dalam virulensi karena diperlukan untuk menembus lapisan dinding usus. Ketika kemampuan motilitas bakteri hilang, maka infeksi yang terjadi juga hilang (James & Chad, 2020). *C. jejuni* mampu memproduksi beberapa toksin, utamanya enterotoksin dan sitotoksin akan tetapi peran toksin tersebut dalam menimbulkan penyakit belum dapat dipahami (Masniari et al., 2005).

Campylobacter jejuni (C. jejuni)

Campylobacter sp. pada awalnya dikelompokkan ke dalam genus *Vibrio* karena bentuknya yang bergelombang dan seperti spiral. Pada awal 1970, mikroba ini dimasukkan dalam genus *Campylobacter sp* (Doyle & Beuchat, 2007). Hal ini didasarkan atas ditemukannya fakta bahwa *Campylobacter sp.* tidak dapat memfermentasikan karbohidrat selayaknya bakteri vibrio lainnya dan *Campylobacter* mengandung basa guanin dan sitosin pada DNA-nya (Kusumaningrum et al.,

2004). Genus ini termasuk ke dalam famili *Campylobacteraceae*, terdiri dari 14 spesies, dan beberapa diantaranya patogen bagi manusia.

Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Epsilonproteobacteria
Ordo	: Campylobacterales
Famili	: <i>Campylobacteraceae</i>
Genus	: <i>Campylobacter</i>
Spesies	: <i>Campylobacter jejuni</i>

Karakteristik morfologi *C. jejuni* adalah bakteri Gram negatif berukuran sangat kecil (lebar 0,2 - 0,5 μm , panjang 0,5 - 5 μm), berbentuk batang bergelombang, tipis, beberapa berbentuk zig-zag atau spiral. Sel yang sudah tua atau *injured* akan mengalami penurunan motilitas dan terjadi perubahan bentuk menjadi bulat. Bakteri ini tidak membentuk spora, katalase positif, dapat mereduksi nitrat dan sangat motil dengan flagel yang terdapat pada satu atau dua ujung tubuhnya namun 20% bakteri ini non-motil. *C. jejuni* tidak memfermentasi karbohidrat sehingga energi diperoleh dari asam amino atau dari komponen-komponen intermediet pada siklus asam trikarboksilat (Gillespie *et al.*, 2005).

Sifat biakan merupakan hal terpenting dalam isolasi dan identifikasi. Bakteri ini bersifat mikroaerofilik, dapat tumbuh optimal dengan kadar oksigen rendah. Komposisi gas atmosfer untuk pertumbuhan *C. jejuni* yaitu 5% O₂, 10% CO₂, dan 85% N₂. Bakteri ini relatif rentan serta sensitif terhadap stres lingkungan seperti kadar oksigen 21%, pengeringan, pemanasan, disinfektan dan kondisi asam (Knudsen *et al.*, 2006). Bakteri ini memiliki pertumbuhan yang lambat sehingga memerlukan antibiotika dalam media kultur untuk mencegah mikroflora lainnya tumbuh lebih cepat, sehingga dapat mengalahkan pertumbuhan *Campylobacter* sendiri (Epps *et al.*, 2012).

Banyak media yang telah dikembangkan untuk isolasi bakteri *C. jejuni* dengan tingkat

keberhasilan yang beragam. Salah satu media yang diketahui mempunyai tingkat keberhasilan yang cukup tinggi untuk isolasi bakteri tersebut adalah media selektif Preston. Media ini dipilih karena cocok untuk isolasi dari semua tipe spesimen baik dari manusia, mamalia, ayam dan juga dari lingkungan (Hermans *et al.*, 2012).

Pada media pertumbuhan, semua *Campylobacter* sp. tumbuh dengan baik pada pH 5,5-8,0 dan keberadaan NaCl 1,75%. Nilai pH optimum untuk pertumbuhan berkisar 6,5-7,5. *C. jejuni* dapat tumbuh pada suhu 37 °C dan dapat tumbuh lebih baik pada suhu 42 °C dalam suasana mikroaerofilik. Inkubasi pada suhu 42°C akan menghambat pertumbuhan banyak mikrob lainnya, sehingga akan memudahkan identifikasi (Hermans *et al.*, 2012). Identifikasi pada medium padat agar Skirrow atau agar lainnya yang mengandung darah, diperoleh karakteristik koloni bakteri ini sedikit merah muda, bulat, cembung, halus dan mengkilat dengan tepi biasa (Lynch *et al.*, 2009). Identifikasi pada medium agar Preston dapat dijumpai karakteristik *Campylobacter* dengan koloni halus, cembung, mengkilat, berwarna putih keabu-abuan dan non hemolitik (Nachamkin, 2000).

Pada umumnya *Campylobacter* sp. tidak dapat bertahan sebaik bakteri patogen lain seperti *Salmonella* sp. tetapi bakteri ini dapat bertahan lama dalam makanan yang disimpan pada suhu rendah (Nachamkin, 2000). Pada karkas ayam, *Campylobacter* dapat bertahan hidup namun tidak mampu bereplikasi. *C. jejuni* dapat bertahan hidup 2-4 minggu dalam kondisi lembab dan kondisi sedikit oksigen dengan suhu 4°C. Bakteri ini juga bisa bertahan 2-5 bulan pada suhu -20°C tetapi hanya beberapa hari pada suhu kamar. Tekanan lingkungan, seperti paparan udara, pengeringan, pH rendah, pemanasan, pembekuan, dan penyimpanan berkepanjangan akan merusak sel dan menghambat pemulihan untuk tingkat yang lebih besar daripada kebanyakan bakteri (BAM, 2001).

PATOGENESIS *C. jejuni*

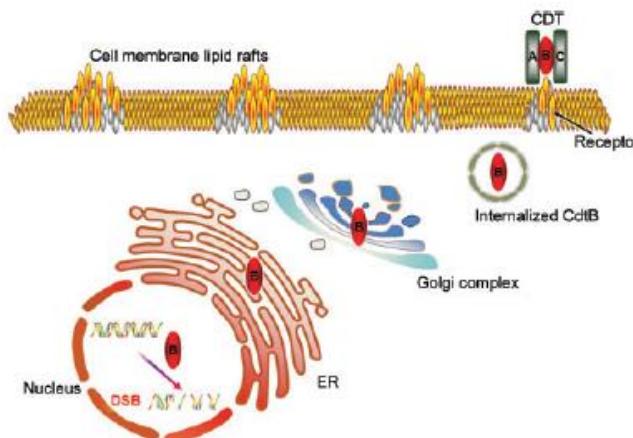
C. jejuni yang masuk ke dalam tubuh manusia akan memproduksi toksin yang merupakan salah satu faktor patogenitas. Toksin yang dihasilkan oleh *C. jejuni* adalah *Cytotoxic Lethal Distending Toxin* (CDT) (Doyle *et al.*, 2007). CDT termasuk ke dalam tipe eksotoksin, yaitu toksin yang diproduksi di dalam sel bakteri sebagai bagian dari proses pertumbuhan dan metabolisme serta disekresikan oleh bakteri tersebut ke dalam media tempat bakteri tersebut tumbuh (Zhang, 2008).

Eksotoksin merupakan suatu protein yang secara enzimatis cukup berbahaya walaupun dalam jumlah yang sedikit. Selain itu, eksotoksin mudah terlarut dalam cairan tubuh, sehingga akan mudah untuk masuk dan berdifusi ke dalam darah serta cepat bertransportasi ke dalam sel-sel pada jaringan tubuh. Secara umum, eksotoksin bekerja dengan menghancurkan bagian tertentu dari sel inang atau dengan menghambat fungsi metabolismik tubuh. Eksotoksin memiliki sifat yang spesifik pada jaringan tubuh tertentu, seperti CDT yang dihasilkan oleh *C. jejuni* bekerja pada sel epitel usus. Eksotoksin terbagi atas 3 tipe berdasarkan pada struktur dan fungsinya yaitu A-B toksin, *membrane-disrupting toxin*, dan superantigen (Zhang, 2008).

CDT pada *C. jejuni* termasuk toksin tipe A-B atau disebut juga toksin tipe III. Produksi

CDT bergantung pada ekspresi 3 gen yaitu *cdtA*, *cdtB* dan *cdtC*. Toksin ini memiliki struktur terbagi atas dua bagian yaitu bagian A dan B yang keduanya merupakan polipeptida. Bagian A merupakan komponen aktif yang biasanya merupakan enzim dan bagian B merupakan komponen “binding” (Zhang, 2008). CDT yang diproduksi oleh *C. jejuni* memiliki bagian B yang terdiri dari *CdtA* dan *CdtC* sebagai komponen “binding”. *CdtA* dan *CdtC* berikatan dengan lipid membran sel (CDT bersifat hidrofobik) karena terdapat reseptor pada membran sel berupa glikolipid atau glikoprotein sehingga memungkinkan terjadi perlekatan. *CdtB* yang merupakan bagian A sebagai komponen aktif selanjutnya masuk ke dalam sel. *CdtB* ini dilapisi oleh *clathrin-coated pit*, sehingga memudahkan transportasi menuju ke dalam nukleus melalui badan golgi dan retikulum endoplasma (Kusumaningrum *et al.*, 2004).

Aktivitas spesifik CDT menyebabkan kegagalan pada aktivasi CDC2 dan memblok siklus sel pada fase G2. CDC2 merupakan cyclin dependent kinase A-1, yang juga dikenal sebagai *cell division control* (Epps *et al.*, 2013). Hingga saat ini, target langsung dari CDT belum dapat teridentifikasi tetapi pengaruh utama dari CDT adalah memblok siklus sel pada fase G2, dimana CDT menyebabkan kerusakan *checkpoint* pada siklus sel fase G2 akibatnya siklus sel terganggu (James & Chad, 2020).

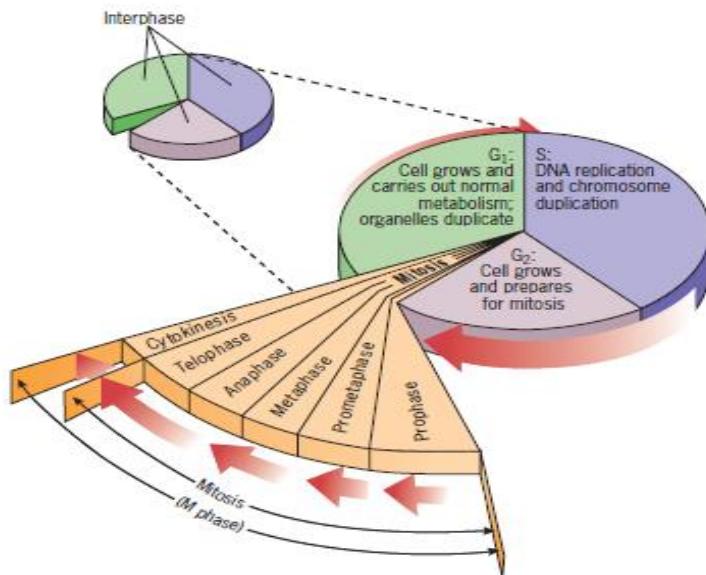


Gambar 1. Proses masuk CDT ke dalam sel epitel usus (Hermans *et al.*, 2012).

Setiap tahap dalam siklus sel (Gambar 2) dikontrol oleh regulator siklus sel yaitu *cyclin* (terdiri atas *cyclin D, E, A, dan B*), *Cyclin Dependent Kinase* (*Cdk*) terdiri atas *Cdk4, Cdk6, Cdk2, dan Cdk1 = CDC2*, dan *Cdk Inhibitor (CKI)*. Siklus sel dimulai dari masuknya sel dari fase G₀ ke fase G₁ karena adanya stimulus dari faktor pertumbuhan. Pada fase awal G₁, *Cdk4* dan *Cdk 6* diaktifkan oleh *CycD*. Kompleks *Cdk4-Cdk6* dan *CycD* akan menginisiasi fosforilasi protein retinoblastoma (pRb) sehingga fungsi histon deasetilasi yang menjaga kekompakan struktur kromatin terganggu. Hal ini menyebabkan struktur DNA menjadi longgar dan faktor transkripsi (p53) yang semula diikat oleh pRb lepas dan transkripsi dari E2F responsive genes yang dibutuhkan dalam progresi siklus sel ke fase S aktif.

Pada fase transisi dari G₁ ke S, *Cdk2* aktif dengan berikatan dengan *CycE*. Kompleks tersebut melanjutkan fosforilasi pRb

(hiperfosforilasi) sehingga proses transkripsi yang dipacu oleh E2F tetap aktif dan *restriction point* yang ada di batas fase G_{1/S} dapat terlampaui. Pada saat inilah *CycA* ditranskripsi. Ketika siklus sel akan memasuki fase S, *CycE* akan didegradasi dan *Cdk2* yang dibebaskan akan mengikat *CycA*. Pada akhir fase S, *CycA* akan melepas *Cdk2* dan mengikat *Cdk1 (CDC2)* yang meregulasi transisi sel dari S ke G₂. Kompleks *CycA-Cdk1* akan memfasilitasi kondensasi kromatin yang dibutuhkan untuk penggandaan sel. Pada fase G₂, sel juga memiliki kesempatan untuk melakukan mekanisme repair apabila terjadi kesalahan sintesis DNA. Memasuki fase mitosis, *CycA* akan didegradasi dan akan terjadi peningkatan ekspresi *CycB* yang akan berikatan dengan *Cdk1*. Kompleks *Cdk1-CycB* secara aktif memacu mitosis. Kompleks ini berperan penting dalam control rearrangement mikrotubul selama mitosis (Hermans *et al.*, 2012).



Gambar 2. Siklus Sel (Hermans *et al.*, 2012).

Berdasarkan proses siklus sel tersebut, CDT yang dihasilkan oleh *C. jejuni* menyebabkan tidak aktifnya CDC2 atau *Cdk1* sehingga tidak dapat berikatan dengan *CycA* dan tidak dapat membentuk kompleks *Cdk1-CycA* akibatnya siklus sel terhenti di fase G₂.

Oleh karena itu terjadi kematian sel dan kerusakan sel pada bagian sel epitel di mukosa usus. Kerusakan mukosa usus ini menyebabkan gangguan absorpsi dan sekresi abnormal (Doyle & Beuchat, 2007).

PEMERIKSAAN LABORATORIUM

Pemeriksaan laboratorium dapat dilakukan menggunakan spesimen feses yang mengandung darah, nanah dan lendir. Jika pemeriksaan tidak langsung dilakukan apabila spesimen memenuhi syarat, spesimen dapat disimpan dengan cara didinginkan dalam lemari es hingga 24 jam sebelum dikultur karena organisme tersebut tahan terhadap suhu dingin (Nachamkin, 2000).

1. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis adalah teknik sederhana dan murah. Metode ini merupakan awal dari pemeriksaan dan perlu dilakukan identifikasi atau pemeriksaan lanjutan. Ada dua teknik pemeriksaan mikroskopis yang dapat dilakukan untuk mengamati *C. Jejuni* yaitu:

1) Pemeriksaan Langsung

Pemeriksaan langsung digunakan untuk mengamati pergerakan, dan pembelahan secara biner, mengamati bentuk dan ukuran sel yang alami, yang pada saat mengalami fiksasi panas serta selama proses pewarnaan mengakibatkan beberapa perubahan. Cara yang paling baik adalah dengan membuat sediaan tetesan gantung (Nachamkin, 2000).

2) Pewarnaan Gram *C. Jejuni*

Pewarnaan bakteri bertujuan untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya.

Terdapat beberapa teknik pewarnaan bakteri, namun yang paling sering digunakan adalah pewarnaan Gram, merupakan metode pewarnaan yang paling umum digunakan untuk mewarnai sel bakteri (BAM, 2001)

Spesimen dibuat apusan pada gelas objek dan diwarnai zat pewarna Gram yang berisi zat Gentian Violet, Lugol, Alkohol 96%, dan Safranin. Bakteri Gram-negatif berwarna merah karena kehilangan zat pewarna Gentian violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sejak diberi zat pewarna tandingannya yaitu dengan zat safranin akan tampak berwarna merah, berbentuk lengkung, S dan berbentuk batang (Nachamkin, 2000; BAM, 2001).



Gambar 3. *Campylobacter jejuni* dengan pewarnaan Gram (BAM, 2001).

2. Biakan atau Kultur

Sifat biakan merupakan hal terpenting dalam isolasi dan identifikasi *C. jejuni*. Diperlukan perbenihan selektif dan inkubasi harus dilakukan dalam tekanan atmosfer dengan O₂ yang lebih rendah (5% O₂) dengan lebih banyak CO₂ (10% CO₂). Suatu cara mudah untuk mendapatkan lingkungan inkubasi ini adalah dengan menempatkan lempeng pada tabung inkubasi anaerob tanpa katalis dan memberi gas dengan pembangkit gas atau penukaran gas. Semua *Campylobacter* dapat tumbuh pada suhu 37°C, sedangkan spesies *Campylobacter* termofilik seperti *C. jejuni*, *C. lari*, dan *C. coli* dapat tumbuh dengan baik pada 42°C (National Standard Method, 2007).

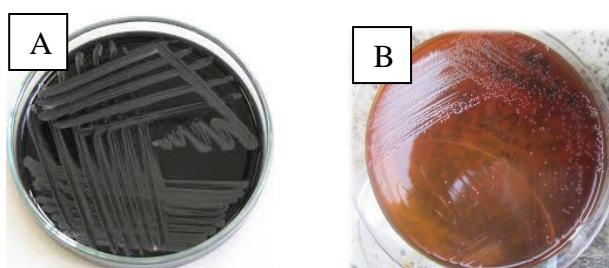
Beberapa perbenihan selektif yang banyak digunakan adalah pbenihan Skirrow dan Campy BAP. Perbenihan Skirrow menggunakan gabungan vankomisin, polimiksin B, dan trimetoprin, sedangkan perbenihan Campy BAP

menyertakan sefalotin. Kedua perbenihan tersebut digunakan untuk isolasi *C. jejuni* pada suhu 42°C. Jika diinkubasi dilakukan pada suhu 36-37°C, perbenihan Skirrow dapat membantu isolasi *Campylobacter* lainnya, tetapi perbenihan Campy BAP tidak, karena banyak *Campylobacter* peka terhadap sefalotin. Koloni yang terbentuk cenderung tidak berwarna atau abu-abu. Koloni ini berair, meluas atau bulat dan konveks. Kedua tipe koloni ini dapat muncul pada sebuah pelat agar (Nachamkin & Blaser, 2000).

Campylobacter umumnya tidak dapat bertahan sebaik kuman patogen lain seperti *Salmonella*, tetapi kuman ini dapat bertahan lama dalam makanan yang disimpan pada suhu rendah. Kultur kemudian diinkubasi selama 48-72 jam. Koloni akan tumbuh bulat, meninggi, tembus sinar tetapi tidak transparan dan kadang-kadang bersifat mukoid. Bakteri dapat diidentifikasi dengan serangkaian uji

biokimia yang saat ini telah ada (McClure & Blackburn, 2003).

Media agar untuk isolasi *C. jejuni* dari bahan pangan diformulasikan dari kebutuhan ilmu mikrobiologi klinik. Media selektif ini dikembangkan untuk memulihkan mikroba yang diambil dari penderita radang usus, dan kemudian digunakan untuk mengisolasi *C. jejuni* dari bahan pangan. Beberapa media selektif yang banyak digunakan adalah Skirrow media, mCCDA (*Modified Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base*), CBPA (*Columbia Blood Preston Agar*), media Karmali agar (*Campylobacter Agar Base- Suplemen Karmali*), CAT (*Cefoperazone Amphotericin Teichoplanin*), Campy-BAP dan Butzler media. Selain itu juga digunakan media selektif berupa Cefoperazone deoxycholate agar, arang medium selektif berbasis dan semi-padat darah bebas motilitas media (Gambar 4) (Baron, 1998).



Gambar 4. Pertumbuhan *Campylobacter jejuni* pada media: A. mCCDA, B. CBPA (*Columbia Blood Preston Agar*) (Baron, 1998).

3. Metode Non-Kultur

Uji komersial untuk membantu mengidentifikasi *Campylobacter* spesies di tingkat genus telah tersedia. Dua tes imunologis (ID Campy [Integrated Diagnostics Baltimore, Md.] dan Campysides [BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Md]) dapat mendeteksi *C. jejuni* dan *E. coli* tetapi tidak dapat membedakannya. Pengujian penyelidikan komersial diarahkan terhadap RNA *Campylobacter* (Accuprobe [Gen-Probe Inc, San Diego, California]) untuk mendeteksi *C.*

jejuni subsp. *jejuni*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. coli* dan *C. lari*. Metode ini sangat sensitif namun lintas hibridisasi dengan *C. hyoilealis* telah ditemukan untuk beberapa isolat (Baron, 1998).

1) Polymerase Chain Reaction (PCR)

Isolasi dan identifikasi secara konvensional membutuhkan waktu yang lebih lama serta membutuhkan tenaga teknis yang terampil. Teknik *Polymerase chain reaction* (PCR) dipakai sebagai salah satu metode uji alternatif karena hasilnya cepat, akurat, spesifik dan sensitif. Penggunaan primer yang spesifik

pada gen tertentu menjadikan uji PCR mempunyai tingkat spesifitas dan sensitifitas yang tinggi sehingga hasil diagnosa menjadi lebih akurat terhadap suatu antigen tertentu yang dalam hal ini adalah *Campylobacter jejuni* (Katzav *et al.*, 2008; Manal, 2017; Moore *et al.*, 2001).

2) Epidemiological Typing System

Phenotype typing system telah dikembangkan untuk mempelajari epidemiologi infeksi *Campylobacter*. Serotype berdasarkan antigen-O (Lipopolisakarida) dan serotype berdasarkan antigen termolabil telah tersedia untuk *C. jejuni* dan *C. coli*. *Genotype typing system*, seperti *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE), *ribotyping*, dan PCR ini tersedia untuk fasilitas penelitian dan referensi namun bukan untuk rutinitas laboratorium (Nakari, 2011).

3) Serologi

Tes serologi berguna untuk mengevaluasi epidemiologi infeksi *Campylobacter*. Kadar Imunoglobulin G (IgG), IgM, dan IgA peningkatan serum dalam respon infeksi dapat diukur dengan metode ini. Kadar IgA dalam serum dan feses meningkat selama beberapa minggu infeksi kemudian turun dengan cepat. Tes antibodi serum bervariasi dalam sensitivitas dan spesifitas untuk mendeteksi infeksi *Campylobacter* (Friedman *et al.*, 2000; Mishu, 2001).

4. Uji Kepekaan *Campylobacter*

Metode yang digunakan untuk uji kepekaan *Campylobacter* adalah menggunakan agar Mueller-Hinton yang dilengkapi dengan 5% darah kuda atau domba, diinkubasi selama 16-18 jam dalam kondisi mikroaerob. Penelitian menunjukkan bahwa metode ini lebih baik dibandingkan dengan metode pengenceran ataupun Etest (Mishu, 2001). Penelitian Noel *et al.*, (2020) membuktikan kejadian *Campylobacter* pada hewan dan manusia dengan tingkat resistensi

yang tinggi terhadap beberapa antibiotik. Hal ini menekankan perlunya memperkuat standar protokol surveilans standar ketahanan antimikroba multisektoral nasional dan regional untuk menekan *Campylobacteriosis* dan peningkatan resistensi antimikroba (Noel *et al.*, 2020). Salah satu cara pengendalian tersebut adalah dengan melakukan uji kepekaan untuk menentukan antibiotik yang tepat untuk panatalaksanaan.

KESIMPULAN

Campylobacteriosis merupakan penyakit infeksi terutama disebabkan oleh bakteri bergenus *Campylobacter* terutama *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*). Penyakit ini bersifat zoonosis yaitu dapat menular dari hewan ke manusia. *Cytolytic Distending Toxin* (CDT) yang dihasilkan bakteri ini merupakan salah satu faktor patogenitas. Diagnosis penyakit berdasarkan atas gejala, keluhan dan tanda yang ditimbulkan. Pemeriksaan laboratorium penting dilakukan agar dapat mendiagnosis infeksi oleh *C. jejuni*. Hasil pemeriksaan laboratorium dapat dijadikan acuan dalam menyingkirkan kandindat beberapa penyakit sehingga diagnosis pasti dapat ditegakkan. Adapun pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk diagnosis *Campylobacteriosis* meliputi pemeriksaan langsung dari spesimen secara mikroskopik, kultur dan non kultur yang meliputi pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Epidemiological typing system* dan serologi. Uji kepekaan dilakukan untuk menentukan antibiotik yang tepat sebagai tata laksana kepada pasien.

DAFTAR PUSTAKA

- BAM [Bacteriological Analytical Manual]. (2001). Chapter 7: *Campylobacter*. [Internet]. Available at <http://www.cfan.fda.gov/~ebam/bam.html> [diakses pada 22 April 2020]
- Baron, E.J. (1998). Processing and interpretation of bacterial fecal cultures.

- In H. D. Isenberg (ed), Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press.
- Blackburn, C. & McClure, P.J. (eds). Foodborne Pathogens Hazards, Risk Analysis and Control. Cambridge, England : Woodhead Publishing Limited.
- Dharmojono. (2001). Limabelas penyakit menular dari binatang ke manusia. Jakarta: Milenia Populer.
- Doyle, M.P. & Beuchat, L.R. (2007). Food Microbiology: Fundamental and Frontiers Third Edition. Washington DC:ASM Press.
- Epps, S.V.R., Harvey, R.B., Hume, M.E., Philips, T.D., Anderson, R.C. & Nisbet, D.J. (2013). Foodborne *Campylobacter*: Infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 10: 6292–6304.
- Friedman, C.R., Neimann, J., Wegener, H.C. & Tauxe, R.V. (2000). Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations," in *Campylobacter*, I Nachamkin and MJ Blaser (Eds), 2nd eds. Washington DC: ASM Press.
- Gillespie, Stephen, H, & Peter, M.H. (2005). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Hermans, D.G., Rasschaert, F.P., Messens, W., Heyndrickx, M., Marel, A., Deun, K.V., Immerseel, F.V. & Haesebrouck, F. (2012). Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Vector-Borne and Zoonotic Disease.* 12(2): 89–98.
- James, G.C. & Chad, T.W. (2020). Microbiology a Laboratory Manual. Global ed. State University of New York. San Francisco: Pearson Higher.
- Jan, M.H., Carlos, A & Tony, T. (2001). *Campylobacter*. Bacteriological Analytical Manual. USA: Food and Drugs Administration.
- Katzav, M., Isohanni, P., Lund, M., Hakkinen, M. & Lyhs, U. (2008). PCR Assay for Detection of *Campylobacter* in Marinated and nonmarinated Poultry Products. *Food Microbiol.* 25: 908-14.
- Kazuhiro, K. & Yasuharu, T. (2014). Rapid diagnosis of *Campylobacter jejuni* by stool Gram stain examination. *BMJ Case Rep.* doi:10.1136/bcr-2013-202876.
- Kenlyn, E.P. , Yu-Chen, C., Gerald, E.D., Ali, A.A., Sanjay, D., Emad, M. Ibrahim & Hussni, O.M. (2017). Cytolethal Distending Toxin in *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Isolated from Food Animals and Gastroenteritis Cases in Qatar. *Global Journal of Health Science,* 9 (10);34-43.
- Knudsen, K.N., Bang, D.D., Andresen, L.O. & Madsen, M. (2006). *Campylobacter* Strain of Human and Chicken Origin are Invasive in Chicken after oral Challenge. *Avian Dis.* 50: 10- 14
- Kusumaningrum, H.D., E.D. van Asselt, Beumer, R.R. & Zwietering MH. (2004). A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surface. *Journal of Food Protection.* 67(9): 1892-1903
- Hu, L. & Dennis, J.K. (2003) *Campylobacter* spesies. In : Miliotis MD and JF Bier (eds). Internasional Handbook of Foodborne Pathogens. New York : Marcel Dekker Inc.
- Lynch, M.F., Tauxe, R.V. & Hedberg, C.W. (2009.) The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. *Epidemiology Infection.* 137: 307–15.
- Mahendra, P. (2017). *Campylobacter jejuni*: An Emerging Foodborne Pathogen of Global Significance. *Pal, J Exp Food Chem.* 3:3.
- Manal, H.G. (2017). Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Chicken Meat Marketed In Baghdad Province. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 4(6): 1-11.

- Masniari, P., Susan, M.N., Iyep, K. & Andriani. (2005). Patogenesis *Campylobacter* terhadap hewan dan manusia. Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. p.82-90
- Maud, C., Yu-Mei, C., Kelvin, M., James, A., John, K., Judy, B., Gemma, C., Jonathan, R., Sarah, O., Nicola, W., Eric, M.E., Barbara, H. (2018). *Campylobacter*, a zoonotic pathogen of global importance: Prevalence and risk factors in the fast-evolving chicken meat system of Nairobi, Kenya. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 13:1-18.
- McClure, P. & Blackburn, C. (2003). *Campylobacter* and *Arcobacter*. In Mishu Allos. 2001. *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issues and Trends Ban. *Food Safety*. 32; 1201-6
- Missouri Departement of Health and Senior Services. (2006). *Campylobacteriosis*. Division of Community and Public Manual.
- Moore, J., Caldwell, P. & Millar, B. (2001). Molecular detection of *Campylobacter* spp. In drinking, recreational and environmental water supplies. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 204: 185- 9.
- Nachamkin, I. & Blaser, J.B. (2000). *Campylobacter*. 2nd Edition. Washington DC: ASM Press.
- Nachamkin, I. (2000). *Campylobacter* and *Arcobacter*. In Murray, P..R, Baro, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. & Yolken, R.H. (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press.
- Nakari, U.M. (2011). Identification and Epidemiological Typing of *Campylobacter* Strain Isolated From Patients in Finland. Finland; University of Helsinki.
- National Standard Method. (2007). *Identification of Campylobacter Species*. National Public Health Service of Wales.
- Noel, G., Leonard, E.G.M., Matee, Dieudonne, M. & Erick, V.G.K. (2020). Prevalence, risk factors, and antimicrobial resistance profiles of thermophilic *Campylobacter* species in humans and animals in Sub-Saharan Africa: a systematic review. *International Journal of Microbiology* : 2092478
- Zhang, Q. (2008). *Campylobacteriosis* In: Disease of the poultry. 12 ed, Blackwell publishing professional. USA: IOWA.