

Infection, Immunology and Infertility Series

BOOK TWO:
**Infeksi Spermatozoa
dan Karakteristik
*Staphylococcus aureus***

Part Three:
Peran Infeksi Pada Genitalia
Pria Terhadap Fertilitas

Part Four:
Karakterisasi Molekulerer Faktor Virulensi
dan Peranannya pada Patogenesis Infeksi
Staphylococcus aureus

Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik *Staphylococcus aureus*

Penulis : Muhammad Anas

Editor : Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK(K), dr. Hidayat Suyuti,
PhD.,SpM Prof.Dr.dr.TeguhWahju Sardjono, DTMH.M.Sc, SpParK

Tata Letak : Nurhidayatullah.r

Design cover : Riki Dwi Safawi



UM Surabaya

Hak Cipta Penerbit UMSurabaya Publishing

Jl Sutorejo No 59 Surabaya 60113

Telp : (031) 3811966, 3811967

Faks : (031) 3813096

Website : <http://www.p3i.um-surabaya.ac.id>

Email : p3iurnsurabaya@gmail.com

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

UNDANG- UNDANG NOMOR 28 TAHUN 2014 TENTANG HAK CIPTA

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak/atau tanpa ijin pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi pencipta yang meliputi Penerjemah dan Pengadaptasian Ciptaan untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)
2. Setiap Orang yang dengan tanap hak dan/atau tanpa ijin Pencipta atau pemgang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta yang meliputi Penerbitan, Penggandaan dalam segala bentuknya, dan pendistribusian Ciptaan untuk Penggunaan Secara Komersial, dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah)
3. Setiap Orang yang memnuhi unsue sebagaimana dimaksud pada poin kedua diatas yang dilakukan dalam bentuk Pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah)

Muhammad Anas

Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik *Staphylococcus aureus*

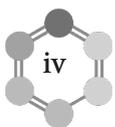
Surabaya: UMSurabaya Publishing, 2018

Ukuran Buku : 16,5 X 24,5 cm , x. 22 mm + 221. halaman

ISBN : 978-602-5786-08-2

Infection, Immunology and Infertility Series

Book One	Infertilitas dan Immunologi Vaginitis
	Part 1 : Overview Infertilitas Part 2 : Vulvovaginitis: Etiopathogenesis dan Tinjauan Immunologi Infeksi
Book Two	Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik Staphylococcus aureus
	Part 3: Peranan Infeksi pada Spermatozoa Terhadap Fertilitas Part 4: Karakterisasi Molekuler faktor Virulensi dan peranannya pada patogenesis infeksi Staphylococcus aureus
Book Three	Metode Pengukuran Respon Imun dan Aplikasi dalam Infertilitas
	Part 5: Metode Pengukuran yang Diperlukan untuk Menilai Respon Immunologis. Part 6: Respon Imun yang Terjadi akibat Infeksi Staphylococcus aureus pada Genitalia Wanita terhadap Spermatozoa



Kata Pengantar Rektor UM Surabaya

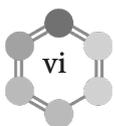
Alhamdulillah, kita panjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT berkat karunia Nya telah diterbitkan buku baru berupa buku seri untuk disiplin ilmu kedokteran khususnya dalam bidang obstetri dan ginekologi yang berisi tentang *infection, immunology, and infertility* series ilmu dan teknologi. Buku ini menjelaskan tentang bahaya merawat kesehatan alat kelamin.

Sebelum bergabung menjadi dosen tetap di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya, saya mengenal Anas sejak menjadi mahasiswa, tetapi lebih sering berkomunikasi setelah kami berdua menjadi direktur Rumah Sakit Muhammadiyah di tempat yang berbeda, dari sinilah saya mengenal jauh lebih dekat dengan beliau. Meski pada kesehariannya berkuat di bidang management rumah sakit dan praktek sebagai spesialis kebidanan dan kandungan, tetapi beliau juga haus untuk meningkatkan wawasan keilmuannya terutama yang sesuai bidang yang digelutinya, beberapa kali beliau mencoba melakukan penelitian yang terkait masalah infertility, yang pada akhirnya setelah mengikuti beberapa saran dari sejawat lainnya, dr. Anas melanjutkan studi S3 nya di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yang tentunya hal tersebut juga semakin mengasah kemampuan keilmuannya, dr. Anas dan juga kemampuan menulisnya yang dibuktikan dengan diterbitkannya sebuah buku kedokteran karya beliau dengan judul *Vulvovaginitis : Etiopatogenesis dan Tinjauan Imunologi Infeksi* yang akan menjadi kontribusinya di dunia ilmu kedokteran.

Harapannya buku dapat menjadi salah satu referensi dan rujukan penelitian selanjutnya. Selain itu, dapat membantu para dosen dan mahasiswa kedokteran, keperawatan dan kebidanan untuk memperkaya dan meningkatkan wawasan keilmuannya yang terkait dengan infeksi, imunologi, dan infertiliti dengan problematikanya.

Surabaya, Juli 2018
Rektor UM Surabaya

Dr. dr. Sukadiono, MM



Kata Pengantar Dekan FK UM Surabaya

Bismillahirrahmanirrahim
Assalamu'alaikum wr. wb.

Alhamdulillah, Segala puji dan syukur kita panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya, sehingga Dr.dr.Muhammad Anas Sp.OG dapat menyelesaikan penulisan buku ke-2 dengan judul Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik *Staphylococcus aureus*. Kami selaku pihak Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya dan seluruh civitas akademika menyambut dengan gembira atas terbitnya Buku Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik *Staphylococcus aureus* karya Dr.dr.Muhammad Anas Sp.OG

Apresiasi yang besar dan ucapan terima kasih kami berikan kepada Dr.dr.Muhammad Anas Sp.OG selaku Peneliti dan Akademisi yang ditengah kesibukannya sebagai Dokter dalam melayani masyarakat dapat merampungkan suatu karya yang tidak hanya berguna bagi kemajuan ilmu Kedokteran namun juga membangun kemaslahatan bagi umat.

Sebagai ilmu yang senantiasa berkembang, Infeksi, Imunologi, dan Infertilitas memiliki banyak bahan kajian yang secara keilmuan masih banyak belum tergali. Masing-masing memiliki kompleksitas dan kekhasan tersendiri. Seiring perkembangan zaman, dengan berkembangnya kemutakhiran teknologi, ketiganya pun berkembang dengan pesat baik dari segi keilmuan maupun terapannya di masyarakat. Menghubungkan ketiganya, khususnya di bidang Ilmu Kebidanan dan Penyakit Kandungan, menjadi suatu tantangan tersendiri.

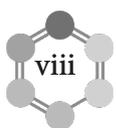
Melalui buku ini penulis mencoba mengkaji tiga hal tersebut melalui disiplin ilmu yang menjadi latar belakang profesional penulis. Hasilnya pun sungguh membuka wacana dan menginspirasi kita semua, terutama bagi Akademisi dan juga Mahasiswa. Pesan untuk senantiasa memiliki semangat untuk meneliti dan menulis, terutama dalam bidang Ilmu Kedokteran, tertuang melalui karya Dr.dr. Muhammad Anas Sp.OG ini.

Penerbitan buku ini tentu melalui proses yang panjang. Semoga dengan terbitnya buku ini memberi kebaikan bagi kemajuan Ilmu Kedokteran dan tentunya bagi umat sehingga menjadi amal yang tidak pernah habis bagi penulis.

Wassalamu'alaikum wr wb

Surabaya, Juli 2018
Dekan FK Universitas Muhammadiyah Surabaya

dr. H.M.Jusuf Wibisono, Sp.P(K) FCCP



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim
Assalamu'alaikum wr wb.

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan kepada saya sehingga buku *Infection, Immunology and Infertility Series* yang terdiri dari tiga buku dan tiap buku terdapat dua judul yang akan diterbitkan, mulai dari *part one berisi book one dan book two; part two berisi book three dan book four; serta part three berisi book five dan book six*. Shalawat serta salam saya persembahkan ke haribaan nabi dan rasul Muhammad SAW.

Rangkaian buku ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, H. Mu'asan (alm) dan Hj Siti Fatimah. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kebaikan di dunia dan akhirat.

Saya sampaikan terima kasih yang banyak kepada istriku tercinta Ummu Hanifah, SE atas kelonggaran waktu yang disediakan sehingga naskah ini terselesaikan. Kepada putra putri kami, Rudin, Ilham, Jamil, Ghazi dan 'Aisyah yang senantiasa memberikan semangat yang selalu terbaharui.

Saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada Prof. Dr. dr. Sumarno Reto Prawiro, DMM, SpMK (K) yang senantiasa mengarahkan penulisan naskah buku ini. Juga saya sampaikan terima kasih banyak kepada dr. Hidayat Suyuti, PhD., SpM, Dr. dr. Siti Candra Windubaktiani, SpOG (K) dan Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTMH., M.Sc, SpParK yang senantiasa memberikan evaluasi dan koreksi terhadap naskah yang saya susun.

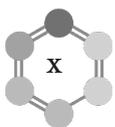
Kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, saya sampaikan banyak terima kasih atas bantuannya sehingga buku ini dapat diterbitkan.

Saran perbaikan senantiasa saya harapkan demi lebih sempurnanya naskah buku ini di masa mendatang.

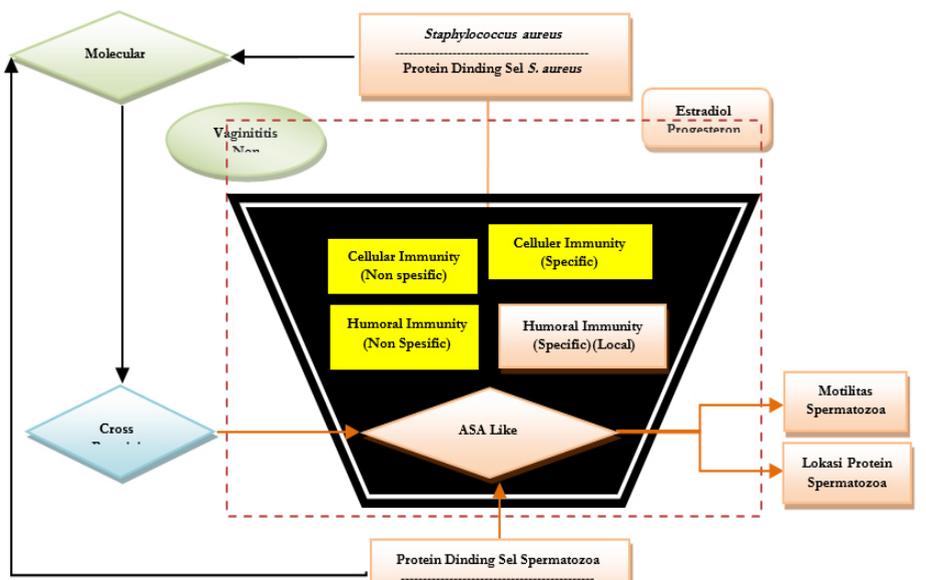
Billahi taufik wal hidayah. Wassalamu'alaikum wr wb.

Surabaya, Juli 2018
Penulis,

Muhammad Anas



PETA KONSEP



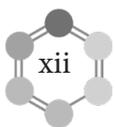
Vaginitis non spesifik / vagnosisi bakterial merupakan penyakit kelamin wanita yang disebabkan oleh polimikrobal dengan dominasi *Lactobacillus spp* yang berkurang. *Staphylococcus spp* merupakan sebagian diantara mikroba yang ikut berperan pada vaginosis bakterial. Khususnya *Staphylococcus aureus* yang paling patogen pada manusia diantara *Staphylococcus spp*.

Pasangan suami istri bila melakukan hubungan badan maka istrinya akan terpapar dengan spermatozoa yang merupakan benda asing. Pada tubuh istri akan terjadi reaksi imunologi karena paparan benda asing dari suaminya yang meliputi reaksi imun bawaan dan reaksi imun adaptif yang berupa reaksi imun seluler maupun reaksi imun humoral. Pada reaksi imun humoral adaptif akan terbentuk antibodi terhadap spermatozoa yang biasa disebut antibodi antisperma / antisperm antibody (ASA). Antibodi antispermatozoa



selalu akan terbentuk setiap kali terjadi paparan spermatozoa suami pada istri. Sehingga jumlahnya semakin lama akan semakin banyak. Pada level tertentu maka antibodi antisperma ini akan menghalangi proses fertilisasi dengan adanya reaksi antara antibodi antisperma dengan spermatozoa dan terjadi reaksi aglutinasi sehingga fungsi dari spermatozoa terganggu khususnya motilitasnya. Karena adanya hambatan motilitas spermatozoa tersebut maka pasangan tersebut menjadi infertil. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab infeksi vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial pada wanita. Dinding sel *Staphylococcus aureus* memiliki kesamaan molekul proteinnya dengan dinding sel spermatozoa yang dikenal sebagai molecular mimicry. Sehingga wanita yang menderita vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial yang salah satu penyebabnya adalah *Staphylococcus aureus* dapat memicu timbulnya substrat yang menyerupai antibodi antisperma (ASA like substance). Oleh karenanya wanita dengan infeksi vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial akan memperbesar kemungkinan untuk menjadi infertil akibat reaksi silang (*cross reactivity*) yang ditimbulkan oleh adanya kesamaan molekul dinding sel antara spermatozoa dengan *Staphylococcus aureus*.

Vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial merupakan penyakit kelamin wanita yang disebabkan oleh polimikrobial dengan dominasi *Lactobacillus spp* yang berkurang. Dengan adanya infeksi pada alat kelamin wanita khususnya di daerah vagina dan servik uteri maka penjamu akan merespon keberadaan bakteri pada daerah tersebut dengan respon imun bawaan maupun respon imun adaptif. Respon imun bawaan meliputi barier epitel, mukus, peptida antimikroba, komplemen dan sel imun seperti netrofil, makrofag dan sel NK. Respon imun adaptif merupakan kelanjutan dari respon imun bawaan melalui APC seperti sel epitel, sel dendrit dan makrofag, serta adanya MHC baik kelas I maupun kelas II. Dengan efektor berupa sel Th1, sel Th2, sel Th17 maupun sel Treg serta sel B atau sel plasma yang memproduksi imunoglobulin / antibodi sirkulasi maupun sekretori. Respon imun yang akan diteliti pada penelitian ini adalah respon imun adaptif humoral lokal yang berupa s-IgA yang disekresikan pada lumen servik uteri terhadap bakteri yang terdeteksi pada infeksi vagina wanita pasangan infertil. Serta dilakukan tes kepekaan antibiotika terhadap bakteri yang terdeteksi pada infeksi vagina wanita pasangan infertil tersebut. Variabel yang akan diteliti diberikan ditandai dengan kotak berwarna putih.



Ringkasan Book One

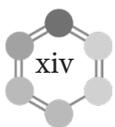
Overview Infertilitas

Pasangan Infertil adalah pasangan yang telah kawin dan hidup harmonis serta telah berusaha selama satu tahun tanpa menggunakan kontrasepsi tetapi belum hamil. Pasangan Infertil dibedakan menjadi 2 macam yaitu infertil primer dan infertil sekunder. Angka prevalensi pasangan infertil di dunia bervariasi antara 10 - 40%. Di Indonesia 17%, Jawa Timur 26%, Surabaya 25% dan Malang 18%. Besaran angka infertil primer dan sekunder tergantung kondisi daerah masing - masing sesuai dengan faktor penyebab yang menyertainya.

Faktor penyebab infertilitas dibedakan menjadi faktor penyebab pria dan wanita. Faktor penyebab dari pihak pria berkontribusi kurang lebih 40 %, selebihnya dari faktor wanita. Kelainan dari pihak pria terbanyak varikokel kemudian kelainan pada analisis spermanya, sedangkan dari pihak istri terbanyak kelainan tuba falopii dan peritoneum. Penyebab idiopatik kurang lebih 10-30%, diduga banyak berkaitan dengan kelainan imunologis dan berkaitan dengan infeksi sebelumnya. Faktor penyebab infertilitas dapat dicegah bila penyebabnya berasal dari luar khususnya infeksi. Pencegahan infeksi dapat dilakukan dengan cara mencegah seks pranikah, penanganan abortus dan persalinan secara aseptis.

Pemeriksaan dan pengobatan pasangan infertil berkembang pesat karena perkembangan teknologi kedokteran. Intervensi yang dilakukan pada pasangan infertil mulai pengobatan medisinal sampai dengan pemakaian teknologi reproduksi berbantu. Prognosisnya sangat bergantung pada usia pasangan wanita dan faktor - faktor lain yang mengikuti seperti gaya hidup, kondisi lingkungan, kondisi sosiokultural dan juga pemakaian obat-obatan tertentu.

Kata Kunci : pasangan infertil, faktor penyebab, idiopatik, infeksi, pemeriksaan, pengobatan, prognosis



Ringkasan Book Two

Vulvovaginitis : Etiopatogenesis dan Tinjauan Imunologi Infeksi

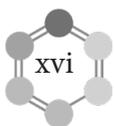
Populasi flora normal yang dominan di vagina adalah *Lactobacilli spp.* Ketika jumlah *Lactobacilli spp* berkurang, maka populasi *Gardnerella vaginalis* dan bakteri anaerob lain (*Mobiluncus species*, *Mycoplasma hominis*, dan *peptostreptococcus species*) akan meningkat. Kondisi tersebut menyebabkan naiknya pH vagina dan menimbulkan vaginosis bakterial. Jadi etiologi vaginosis bakterial adalah multi mikroba dengan *Gardnerella vaginalis* yang hampir selalu muncul. *Staphylococcus aureus* termasuk salah satu bakteri yang ikut berperan serta pada terjadinya vaginosis bakterial, dengan kontribusi sebesar 3,05% (4,36% dari 70%).

Faktor risiko vaginosis bakterial meliputi : umur, aktifitas seksual, status hormonal, higiene yang jelek, status imunologi, penyakit kulit yang mendasari, kehamilan, penggunaan IUD, pemakaian douche, pakaian ketat, pemakaian sabun dan deterjen berparfum, spray kewanitaan, obat kontrasepsi, pengobatan pada vagina, antibiotik, STD serta stres. pH vagina yang normal sekitar 3,8-4,2. Pada pH ini pertumbuhan organisme patogen terhambat. Gangguan pH vagina dapat mempengaruhi keseimbangan flora normal vagina, dan berakibat pertumbuhan yang pesat dari organisme patogen. Patogenesis vaginosis bakterial melibatkan perubahan lingkungan vagina yang mengakibatkan perubahan komposisi flora normal vagina sehingga mikroba patogen tumbuh melalui docking, anchoring, proliferasi dan invasi maka terjadilah infeksi.

Respon imun saluran reproduksi wanita meliputi respon imun bawaan dan respon imun adaptif baik respon imun seluler maupun respon imun humoral. Pada respon imun bawaan melibatkan epitel mukosa vagina, flora normal, mukus, sitokin, protein antimikroba, sel dendritik, granulosit, makrofag dan sel NK. Respon imun adaptif humoral dimediasi oleh sel B yang berdiferensiasi

menjadi sel plasma dan menghasilkan imunoglobulin meliputi IgM, IgG dan yang terutama pada saluran genital wanita adalah sIgA. Sedangkan respon imun adaptif seluler terdiri dari sel T CD4+ maupun sel T CD8+.

Kata Kunci : vaginitis non spesifik, flora normal, pH, faktor resiko, patogenesis, respon imun bawaan, respon imun adaptif, seluler, humoral.



Peranan Infeksi pada Genitalia Pria Terhadap Fertilitas

Muhammad Anas

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah (UMSurabaya) Surabaya

ABSTRAK

Testis merupakan tempat produksi spermatozoa, yang produksinya dimulai sejak akil balik. Spermatozoa ini dikenal sebagai benda asing oleh tubuh. Oleh karena itu spermatozoa perlu dilindungi agar tidak diserang sel imun, dengan keberadaan sawar darah testis dan testosteron.

Spermatozoa dapat dihambat fungsinya oleh antibodi antisperma. Pembentukan antibodi antisperma melibatkan obstruksi kronis yang menyebabkan peningkatan tekanan intraduktus sehingga terjadi distensi epididimis dan pembentukan granuloma spermatozoa. Spermatozoa yang terhambat dihancurkan dan diabsorpsi. Tempat terbentuk antibodi antisperma berada di epididimis, tetapi bila sudah terjadi autoimunisasi maka tempat pembentukannya bisa di level yang lain seperti vesikula seminalis dan prostat.

Infeksi saluran reproduksi pria, dapat menjadi perantara pembentukan antibodi antisperma melalui empat mekanisme diantaranya : 1) Obstruksi saluran reproduksi pria karena perubahan inflamasi dan pasca inflamasi, 2) Robeknya sawar darah testis karena radang lokal, 3) Penurunan faktor imunomodulator seluler maupun humoral pada semen yang mencegah autoimunisasi dan 4) Reaksi silang antigen mikroba dengan antigen sperma.

Keberadaan antibodi antisperma mengganggu fertilitas melalui hambatan motilitas spermatozoa yang menyebabkan perjalanannya menuju saluran reproduksi wanita terganggu. Sebagai akibatnya spermatozoa tidak dapat melakukan pembuahan pada oosit sehingga tidak terbentuk zigot dan embrio.

Kata Kunci : infeksi, genitalia pria, antibodi antisperma, fertilitas, zigot

The Role of Infection of Male Reproductive Tract to Fertility

Muhammad Anas

Medical Faculty of UM Surabaya

ABSTRACT

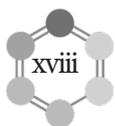
Testis is the site of spermatozoa production starts in adolescence. Spermatozoa is recognized as non self, so it needs protection from immune surveillance by blood testis barrier and testosterone.

The sperm function can inhibited by antisperm antibody that appears from chronic obstruction of male reproductive tract. It cause increase in intraductal pressure so that distension of epididymis occur and create granuloma of spermatozoa. Obstructed spermatozoa is degraded and absorbed. The sites of antisperm antibody production is at epididymis, but if autoimmunization occurred so the site of production can be at other level of male genital tract i.e. seminal vesicle and prostate.

Infection of male reproductive tract mediate production of antisperm antibody by 4 mechanism like : 1) obstruction of male reproductive tract cause inflammation and postinflammation difference, 2) tear of blood testis barrier cause of local inflammation, 3) decrease of selluler and humoral immunomodulator factor at seminal plasma that protect autoimmunization of sperm, and 4) cross reactivity of microbial antigen with sperm antigen.

The effect of antisperm antibody to fertility is disturbance of sperm motility which cause failure in travelling female reproductive tract. And the consequence spermatozoa can not fertilize oocyt so zygot and embryo not created.

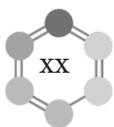
Key word : infection, male reproductive tract, antisperm antibody, fertility, zygot



DAFTAR ISI

Halaman Judul	I
Kata Pengantar	Ii
Kerangka Konsep	Iv
Ringkasan Book One	Vi
Ringkasan Book Two	Vii
Abstrak	Viii
Abstact	Ix
Daftar Isi	X
Daftar Tabel	Xii
Daftar Gambar	Xii
Daftar Singakatan dan Istilah	Xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan	2
1.3. Tujuan	2
1.4. Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Anatomi Genitalia Pria	3
2.2. Histologi Genitalia Pria (Testis).....	3
2.3. Fisiologi Genitalia Pria.....	4
2.3.1. Pembentukan Spermatozoa : Spermatogenesis	6
2.3.2. Perubahan Spermatid : Spermogenesis	7

2.4. Distribusi Mediator Imun Pada Genitalia Pria.....	8
2.5. Immune Privilage	9
2.6. Antigen Spermatozoa.....	11
2.6.1. Permukaan Spermatozoa.....	11
2.6.2. Proteomik Spermatozoa Manusia	12
2.7. Antibodi Antisperma	13
2.7.1. Prevalensi Antibodi Antisperma.....	13
2.7.2. Pembentukan Antibodi Antisperma.....	14
2.7.3. Infeksi MRT sebagai Penyebab Pembentukan ASA..	15
2.7.3.1. Infeksi MRT oleh <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.7.4. Tempat Pembentukan ASA	20
2.7.5. Keberadaan ASA pada Cairan Biologis Pria	21
2.7.5.1. ASA dalam Serum	21
2.7.5.2. ASA dalam Semen.....	22
2.8. Pengaruh ASA terhadap Fungsi Spermatozoa.....	22
2.8.1. Aglutinasi Spermatozoa.....	22
2.8.2. Apoptosis Spermatozoa	23
2.8.3. Motilitas Spermatozoa	24
2.8.4. Kualitas Semen.....	25
2.9. Pengaruh ASA terhadap Fertilitas	25
BAB III PEMBAHASAN	27
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	30
3.1. Kesimpulan.....	30
3.2. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31



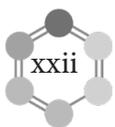
DAFTAR Tabel Dan Gambar

Daftar Tabel

Tabel 2.6.2	Defined Antigens of Naturally Occuring Human ASA	13
Tabel 2.7.2	Suggested Risk Factors for ASA Formation	15
Tabel 2.7.4	Suggested Risk Factor and Sites of ASA production in the MRT	20
Tabel 2.7.5.2	Konsentrasi Macam -macam Protein dalam Semen	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Anatomi Testis	3
Gambar 2.2.	Histologi Testis dan Pembentukan Spermatozoa	4
Gambar 2.3.1	Perubahan Permukaan Spermatozoa dimungkinkan karena modifikasi somatik pada lumen saluran kelamin laki-laki dan wanita	7
Gambar 2.4.1	Soluble Mediators of Innate Immunity in the Human Male	8
Gambar 2.4.2	Mediators of Adaptive Immunity in the Human Male	9
Gambar 2.5	Hipotesis model Immune Privilage Testis	10
Gambar 2.6.1	Spermatozoa	12



DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

<i>ABP</i>	: <i>Androgen binding protein</i>
<i>ADCC</i>	: <i>Antibody dependent cell cytotoxicity</i>
<i>ASA</i>	: <i>Antisperm antibody</i>
<i>BEB</i>	: <i>Blood epididimis barrier</i>
<i>BV</i>	: <i>Blood vessel</i>
<i>CATSPER1</i>	: <i>Cation channel protein</i>
<i>CBAVD</i>	: <i>Congenital bilateral absence of the vas deferens</i>
<i>CBP</i>	: <i>Chronic bacterial prostatitis</i>
<i>CD9</i>	: <i>Cluster differensiation 9</i>
<i>CP</i>	: <i>Chronic Prostatitis</i>
<i>CPPS</i>	: <i>Chronic Pelvic Pain Syndrome</i>
<i>DC</i>	: <i>Dendritik cell</i>
<i>ELISA</i>	: <i>Enzym link immunosorbent assay</i>
<i>ESWBC</i>	: <i>Eleveted Seminal White Blood Cells</i>
<i>FSH</i>	: <i>Follicle stimulating hormone</i>
<i>GC</i>	: <i>Germinal cell</i>
<i>GPI</i>	: <i>Glycosylphosphatidylinositol</i>
<i>HD5</i>	: <i>Human Defensin 5</i>
<i>HLA</i>	: <i>Human Leucosit Antigen</i>
<i>HSP</i>	: <i>Heat shock protein</i>
<i>IBT</i>	: <i>Immunobead binding test</i>
<i>IEL</i>	: <i>Intraepithelial lymphosit</i>
<i>JAMs</i>	: <i>Junctional adhesion molecules</i>
<i>LC</i>	: <i>Leydig cell</i>
<i>LgC</i>	: <i>Langhan cell</i>
<i>LH</i>	: <i>Luteinizing hormone</i>
<i>mAb</i>	: <i>Monoklonal antibody</i>

MAR	: <i>Mixed antiglobulin reaction test</i>
MC	: <i>Mast cell</i>
MRT	: <i>Male Reproductive Tract</i>
MUC	: <i>Mucins Gene</i>
MΦ	: <i>Macrophage</i>
PC	: <i>Plasma cell</i>
pIgR	: <i>polymeric Ig receptor</i>
PSA	: <i>Prostate specific antigen</i>
PTC	: <i>Peritubular cell</i>
Rb	: <i>Residual body</i>
RIA	: <i>Radioimmuno assay</i>
SAA	: <i>Sperm agglutination activity</i>
SAGA-1	: <i>Sperm agglutination antigen-1</i>
SC	: <i>Sertoli cell</i>
SDT	: <i>Sawar Darah Testis</i>
SIF	: <i>Sperm immobilization factor</i>
SLPI	: <i>Secretory leucocyte protease inhibitor</i>
STD	: <i>Sexual transmitted disease</i>
TESE	: <i>Testicular sperm extraction</i>
VV	: <i>Vasovasostomy</i>

1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kejadian infertilitas cukup besar dan bervariasi antara 10-30% (Kamel, 2010; Philippov, et al., 1998; Omoaregha, *et al.*, 2011; Jarow, *et al.*, 2010; Rabiou, *et al.*, 2010). Penelitian di Poli Urologi RSCM Jakarta didapatkan infertilitas idiopatik sebesar 27,8 % (Seno, et al., 2011). Fijak, *et al.* (2009) menulis bahwa infertilitas idiopatik kejadiannya sebesar 31 % dan penyebab yang berhubungan adalah kelainan imunologi.

Dengan meningkatnya *epidemi sexual transmitted disease* (STD) yang berhubungan dengan peningkatan resiko infertilitas selanjutnya, ada 3 juta kasus baru infeksi klamidia dan 650 ribu infeksi gonorea di Amerika Serikat setiap tahunnya (Speroff & Fritz, 2011). Kejadian infertilitas sekunder lebih tinggi dibandingkan infertilitas primer, hal ini disebabkan tingginya kejadian STD, intervensi medis yang tidak higienis khususnya saat persalinan dan induksi abortus (Dhont, *et al.*, 2011).

Pengaruh infeksi pada saluran reproduksi baik pria maupun wanita akan berkontribusi terhadap terjadinya infertilitas di kemudian hari. Kejadian ini berkaitan dengan terbentuknya *antisperm antibody* (ASA) yang akan mengganggu pengangkutan spermatozoa menuju oosit. Dengan tidak sampainya spermatozoa di tempat oosit berada yaitu di tuba fallopii bagian distal maka pembuahan tidak terlaksana sehingga kehamilan tidak akan terjadi. Oleh karenanya maka kita perlu mengidentifikasi protein-protein yang terdapat pada spermatozoa.

Salah satu kuman penyebab infeksi pada saluran genital adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari servik uteri wanita infertil dapat menyebabkan imobilisasi spermatozoa manusia secara *in vitro*. Komponen aktif tersebut berada di ekstraseluler berupa protein yang disebut sperm immobilization factor (SIF) dengan berat molekul 20 kDa (Prabha, et al., 2009). Sunihapsari (2002) menunjukkan bahwa protein

membran *spermatozoa* tidak dikenali oleh antibodi *Staphy.* koagulase negatif isolat vagina. Kultur sekret vagina yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSSA Malang selama 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 didapatkan angka kejadian *Staphylococcus* sebesar 30,5% dengan *Staphy. aureus* sebesar 4,2% dan *Staphy.* koagulase negatif sebesar 26,3% (WHONET, 2012).

Pada karya tulis ini pembahasan difokuskan mengenai infeksi pada genitalia pria khususnya *Staphy. aureus*, pembentukan antibodi antisperma dan akibat yang ditimbulkan oleh antibodi antisperma terhadap kesuburan.

1.2. Permasalahan

Berdasarkan kajian latar belakang di atas maka muncul permasalahan sebagai berikut :

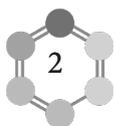
1. Bagaimana proses pembentukan antibodi antisperma ?
2. Bagaimana peranan infeksi genitalia pria karena *Staphy. aureus* terhadap pembentukan antibodi antisperma ?
3. Apa saja akibat keberadaan antibodi antisperma terhadap fertilitas ?

1.3. Tujuan

1. Untuk mendapatkan gambaran tentang proses pembentukan antibodi antisperma
2. Untuk mendapatkan gambaran peranan infeksi genitalia pria karena *Staphy. aureus* terhadap pembentukan antibodi antisperma
3. Untuk mendapatkan gambaran tentang akibat keberadaan antibodi antisperma terhadap fertilitas

1.4. Manfaat

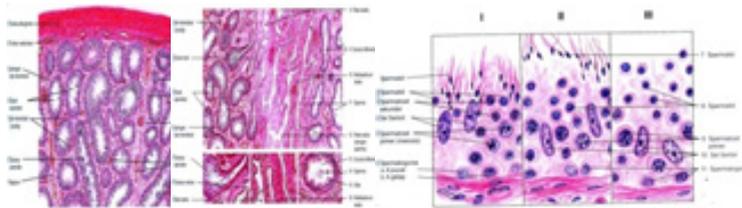
1. Mengetahui proses pembentukan antibodi antisperma
2. Mengetahui peranan infeksi genitalia pria karena *Staphy. aureus* terhadap pembentukan antibodi antisperma
3. Mengetahui akibat keberadaan antibodi antisperma terhadap fertilitas



2.2. Histologi Testis

Kapsul jaringan ikat tebal, yaitu tunika albuginea, mengelilingi setiap testis. Di posterior, tunika albuginea menebal dan meluas ke dalam setiap testis untuk membentuk mediastinum testis. Septum jaringan ikat tipis memanjang dari mediastinum testis dan membagi setiap testis ke dalam sekitar 250 kompartemen atau lobulus testis, masing-masing mengandung satu sampai empat tubuli seminiferi contorti. Setiap tubulus seminifer dilapisi oleh epitel germinal berlapis, mengandung sel spermatogenik yang berproliferasi dan sel penunjang atau sel Sertoli yang tidak berproliferasi. Di tubuli seminiferi, sel spermatogenik membelah, menjadi matang, dan berubah menjadi spermatozoa (Eroschenko, 2010).

Setiap tubulus seminifer dikelilingi oleh fibroblas, sel mirip-otot, saraf, pembuluh darah, dan pembuluh limfe. Selain itu, di antara tubuli seminiferi terdapat kelompok sel epiteloid, sel interstisial (Leydig). Sel ini adalah sel penghasil steroid yang membentuk hormon seks pria testosteron (Eroschenko, 2010).



Gambar 2.2. Histologi testis dan pembentukan Spermatozoa
Disadur dari Eroschenko, 2010

2.3. Fisiologi Testis

Testis merupakan tempat terjadinya spermatogenesis dan produksi steroid seks pada pria. Epididimis merupakan tempat terjadinya maturasi akhir spermatozoa (Heffner dan Schust, 2008; Gadella, 2009; Eroschenko, 2010). Testosteron adalah hormon esensial untuk perkembangan dan pemeliharaan karakteristik seks pria dan fungsi normal kelenjar reproduksi tambahan. **Spermatogenesis** yang normal bergantung pada kerja *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) yang dihasilkan oleh *gonadotrof* di *adenohipofisis* kelenjar pituitaria. LH berikatan dengan reseptor di sel interstitial (*Leydig*) dan merangsang sel tersebut untuk mensintesis hormon testosteron. FSH merangsang sel Sertoli untuk mensintesis dan melepaskan

androgen binding protein (ABP) ke dalam tubuli seminiferi. ABP berikatan dengan testosteron dan meningkatkan konsentrasinya di tubuli seminiferi, selanjutnya merangsang spermatogenesis. Selain itu, struktur dan fungsi kelenjar reproduksi tambahan, serta perkembangan dan pemeliharaan karakteristik seks sekunder pria bergantung pada kadar testosteron yang sesuai. Hormon inhibin, juga disekresi oleh sel Sertoli, memiliki efek inhibitorik pada kelenjar pituitaria dan menghambat pembentukan FSH lebih lanjut. Pria pascapubertas terus-menerus mengalami gametogenesis dan produksi testosteron Sementara wanita pascapubertas mengalami periode siklis. Tidak adanya periode siklis pada pria terjadi karena androgen tidak menggunakan mekanisme umpan balik positif pada pelepasan gonadotropin (Sutovsky and Manandhar, 2006; Heffner and Schust, 2008; Gadella, 2009; Eroschenko, 2010; Weinbauer, et al., 2010).

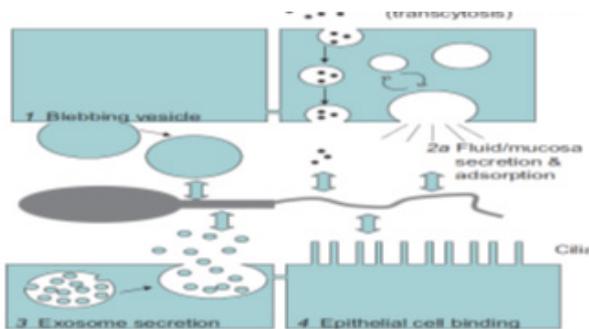
Ductuli Efferentes. Motilitas silia di ductuli efferentes menciptakan suatu arus yang membantu pengangkutan cairan dan spermatozoa dari tubuli seminiferi ke ductus epididymidis. Selain itu, kontraktilitas serat otot polos yang mengelilingi tubuli ini juga ikut membantu pengangkutan spermatozoa. Sel-sel kuboid tanpa silia yang juga melapisi ductuli efferentes mengabsorpsi sebagian besar cairan testis yang terbentuk di tubuli seminiferi oleh sel Sertoli. *Duktus Epididimis* yang sangat berkelok - kelok adalah tempat penimbunan, penyimpanan, dan pematangan spermatozoa. Ketika spermatozoa masuk ke epididimis, spermatozoa non motil dan tidak mampu membuahi oosit. Sekitar seminggu kemudian dalam perjalanan melintasi duktus epididimis, spermatozoa memperoleh motilitas. *Epitheliocytus stereociliatus* (principal cell) di duktus epididimis dilapisi oleh mikrovili yang bercabang dan panjang, atau stereosilia, yang terus menerus mengabsorpsi cairan testis yang tidak diabsorpsi di ductuli efferents selama mengalirnya spermatozoa dari testis. *Epitheliocytus stereociliatus* di epididimis juga memfagosit corpus residuale (residual body) yang belum disingkirkan oleh sel Sertoli di tubuli seminiferi, dan juga sel spermatozoa yang abnormal atau mengalami degenerasi. Sel ini juga menghasilkan glikoprotein yang menghambat kapasitas atau kemampuan Spermatozoa melakukan pembuahan hingga spermatozoa berada di dalam saluran reproduksi wanita (Sutovsky and Manandhar, 2006; Gadella, 2009; Eroschenko, 2010; Weinbauer, et al., 2010).

Produk sekretorik dari vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretra bercampur dengan spermatozoa dan membentuk Semen. Semen menyediakan media transpor dan nutrisi bagi Spermatozoa. Semen juga menetralkan keasaman uretra pria dan vagina, dan mengaktifkan spermatozoa setelah ejakulasi. Vesikula seminalis menghasilkan cairan kental kekuningan yang mengandung konsentrasi tinggi zat kimiawi pengaktif Spermatozoa, misalnya fruktosa, komponen karbohidrat utama pada Semen. Fruktosa dimetabolisasi oleh spermatozoa dan berfungsi sebagai sumber energi utama untuk motilitas spermatozoa. Vesikula seminalis paling banyak menghasilkan cairan yang terdapat di Semen. Kelenjar prostat menghasilkan cairan encer, sedikit asam, kaya asam sitrat, fosfatase asam, amilase, dan antigen spesifik prostat (prostate specific antigen, PSA). Enzim fibrinolisin di dalam cairan mencairkan Semen yang mengental setelah ejakulasi. Glandula bulbourethralis menghasilkan sekret kental, jernih, mirip mukus, yang dikeluarkan selama rangsangan erotik, dan berfungsi sebagai pelumas untuk uretra penis. Selama ejakulasi, sekret kelenjar bulbouretra mendahului komponen Semen lainnya (Gadella, 2009; Eroschenko, 2010).

2.3.1. Pembentukan Spermatozoa: Spermatogenesis

Spermatogenesis dapat dibagi menjadi tiga fase: (i) proliferasi mitosis untuk menghasilkan sel dalam jumlah banyak; (ii) pembelahan meiosis untuk menghasilkan perbedaan genetik; dan (iii) pematangan. Fase pematangan meliputi remodelling morfologi sel untuk memfasilitasi perpindahan serta penembusan spermatozoa ke oosit dalam saluran reproduksi wanita. Spermatogonium primitif tetap dorman sampai pubertas. Saat pubertas, sel ini diaktivasi dan dipelihara dalam lingkaran mitosis pada membran basal tubulus seminiferus. Dalam tempat penyimpanan sel stem dapat membentuk kelompok sel yang secara morfologi benrbeda, disebut spermatogonium A (A). Setiap spermatogonium A mengalami beberapa kali mitosis membentuk suatu klon sel germinal. Pada mitosis yang terakhir, sel disebut spermatogonium B (B) dan setelah pembelahan terakhir disebut spermatosit primer (Ps). Spermatosit primer mengalami dua kali pembelahan meiosis. Pembelahan ini menjadikan kromosom sel anak jumlahnya menjadi separoh. Sel yang mengalami tahap pertama pembelahan meiosis memiliki perbedaan khas pada morfologi inti yang dibagi menjadi tahap khusus [istirahat/resting (R), leptoten (L), zigoten (Z), pakiten dan diploten (Di)]. Pembelahan meiosis pertama menghasilkan spermatosit sekunder (II) dan pembelahan kedua

menghasilkan spermatid haploid awal (S). Spermatid mengalami remodelling sitoplasma, terjadi perkembangan ekor, bagian tengah mitokondria dan akrosom. Hampir semua sitoplasma spermatid dikeluarkan. Tersisa hanya beberapa droplet, disebut badan residu (residual body, Rb). Badan residu ini akan dibuang di epididimis selama pematangan akhir spermatozoa. Seperti yang tampak pada gambar dibawah (Sutovsky and Manandhar, 2006; Heffner and Schust, 2008; Gadella, 2009; Eroschenko, 2010). Pada manusia, proses ini membutuhkan waktu 64 ± 4 hari. Setelah pematangan, spermatosit bergerak maju sepanjang lumen tubulus seminiferus (Sutovsky and Manandhar, 2006; Heffner and Schust, 2008; Gadella, 2009; Weinbauer, et al., 2010).



Gambar 2.3.1 Perubahan permukaan spermatozoa dimungkinkan karena modifikasi somatik pada lumen saluran kelamin laki-laki dan wanita. Interaksi yang memungkinkan dari komponen saluran kelamin pria dan wanita dengan permukaan Spermatozoa: (1) Dari epitel yang beragam pada saluran kelamin laki-laki dan perempuan blebbing vesikel berisi sitosol yang dilepaskan ke cairan kelamin. Vesikel tersebut berinteraksi dan bertukar komponen dengan permukaan Spermatozoa. (2a) Komponen serum dapat dilepaskan ke dalam cairan kelamin dengan transcytosis. Menariknya partikel lipoprotein dapat menginvasi sekeliling Spermatozoa dan memfasilitasi pertukaran partikel dengan permukaan Spermatozoa. (2b) Cairan fase sekresi dan adsorpsi baik cairan atau mukosa secara langsung mempengaruhi ECM Spermatozoa. (3) Sekresi apocrine exosomes diduga mempengaruhi permukaan Spermatozoa dan fungsi Spermatozoa. Menariknya exosomes dapat memberikan tetraspanins pada Spermatozoa, sekelompok protein membran yang terlibat dalam penarikan protein ke dalam kompleks protein. Penambahan CD9 ke permukaan Spermatozoa oleh partikel membran terjadi meskipun Spermatozoa telah mencapai ruang perivitellin. (4) Spermatozoa berinteraksi dengan sel epitel bersilia teramati pada saluran telur, dan mungkin memiliki peran fisiologis selama kapasitas in situ. Ada kemungkinan bahwa interaksi tersebut penting untuk remodeling permukaan Spermatozoa dan untuk fisiologi Spermatozoa. Disadur dari Gadella, 2009.

2.3.2. Perubahan Spermatid : Spermiogenesis

Spermiogenesis adalah suatu proses morfologik kompleks yang mengubah spermatid bulat menjadi sel spermatozoa yang memanjang. Selama spermiogenesis, ukuran dan bentuk spermatid berubah, dan kromatin nukleus memadat. Pada fase *golgi*, terjadi akumulasi granula halus di aparatus golgi spermatid dan membentuk *granulum acrosomaticum* di dalam vesicula acrosomatica terbungkus membran. Selama fase akrosomal, vesicula acrosomatica dan granulum acrosomaticum menyebar di inti spermatid yang memadat di ujung anterior spermatid berupa akrosom. Akrosom berfungsi sebagai suatu jenis khusus lisosom dan mengandung beberapa enzim hidrolitik, misalnya hialuronidase dan protease dengan aktivitas mirip tripsin, yang membantu spermatozoa dalam menembus sel (korona radiata) dan membran (zona pelusida) yang mengelilingi oosit yang berovulasi. Selama fase maturasi (pematangan), membran plasma bergeser ke posterior dari nukleus untuk menutupi flagellum (ekor spermatozoa) yang sedang tumbuh. Mitokondria bermigrasi dan membentuk selubung yang rapat di sekitar pars intermedia flagellum. Fase pematangan akhir ditandai oleh terlepasnya kelebihan atau sisa sitoplasma spermatid dan pelepasan sel spermatozoa ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sel Sertoli kemudian memfagositosis sisa sitoplasma tersebut (Sutovsky and Manandhar, 2006; Eroschenko, 2010). Sel spermatozoa matang terdiri dari kepala dan akrosom yang mengelilingi bagian anterior nukleus, leher, pars intermedia yang ditandai oleh adanya selubung mitokondria padat, dan bagian utama atau pars principalis (Heffner and Schust, 2008; Eroschenko, 2010; Weinbauer, et al., 2010).

2.4. Distribusi Mediator Imun Pada Genitalia Pria



Gambar 2.4.1. Soluble mediators of innate immunity in the human male
Disadur dari Anderson, 2008 dengan modifikasi

	Cellular			Humoral	
	T	B	IgC	PC	pIgR
*Patchy					
Testis	±	++	-	-	-
Rete Testis	+	++	-	-	++
Efferent Duct	+	++	-	-	++
Epididymis	++	+++	-	-	++
Vas Deferens	++	+++	-	-	++
Seminal Vesicles	++	+++	-	-	++
Prostate	++	+++	-	+	+
Bulbourethral Glands	++	++	?	?	?
Penile Urethra	+++	+++	-	++	++
Fossa Navicularis	++	+	++	+	-
Foreskin	+	+	++	-	-

Gambar 2.4.2 Mediators of adaptive immunity in the human male.
Disadur dari Anderson, 2008 dengan modifikasi

Limfosit T biasanya tidak terdeteksi pada testis manusia yang sehat tetapi terlihat pada rete testis, epididimis, vas deferens, dan uretra, dengan sel T CD8+ mendominasi dalam lapisan sel epitel. *Mayoritas intraepithelial lymphosit (IEL)* pada uretra adalah positif untuk integrin $\alpha E\beta 7$ (*mucosal associated antigen*). Limfosit T telah diklon dari air mani manusia dan sekret uretra serta memiliki fungsi sebagai sel Tcytolytic dan sel Thelper. Makrofag sangat banyak jumlahnya di saluran urogenital manusia dan primata

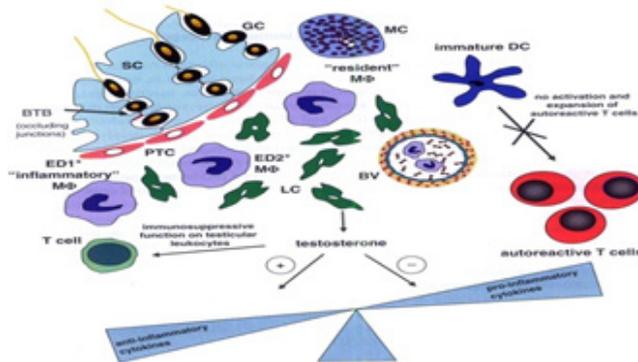
dalam interstitium testis, epididimis, jaringan epitel dan ikat dari excurrent duct dan kelenjar aksesori, serta dalam penis uretra. Makrofag testis secara

aktif mengeluarkan berbagai sitokin yang berimplikasi pada fungsi endokrin dari sel Leydig serta spermiogenesis. Berbeda dengan saluran urogenital wanita bagian bawah, sel Langerhans jarang terdeteksi pada uretra penis tetapi berlimpah di epitel kulup dan fossa navicularis (Anderson, 2008).

2.5. Immune privilege

Immune privilege merupakan adaptasi evolusioner untuk melindungi jaringan rentan dengan kapasitas terbatas untuk regenerasi, sehingga menghindari hilangnya fungsi. Untuk testis ini berarti menjaga kemampuan reproduksi. Meskipun memiliki status immune privilege, testis mampu melakukan respon inflamasi normal, sebagaimana dibuktikan oleh respon yang efektif terhadap infeksi virus dan bakteri. Dalam keadaan patologis, ketidakseimbangan antara toleransi pada bagian eferen terhadap respon imun testis dapat menyebabkan pembentukan autoantibodi antisperma, autoimun epididymo orchitis pada manusia (Fijak, et al., 2009; Weinbauer, et al., 2010).

Sitoplasma sel-sel Sertoli yang berdekatan disatukan oleh zona occludens (tight junction) terdiri berbagai membran protein integral, yang mengandung sejumlah komponen seperti junctional adhesion molecules (JAMs) dan claudin 1 dan 2 bersama dengan claudin 3 - 5, claudin 7 - 8, dan occludin, membentuk Sawar Darah Testis (SDT) yang membagi setiap tubulus seminiferus menjadi compartmentum basale terdiri dari spermatogonium, leptotene dan spermatocytes zygotene; serta compartmentum adluminal dengan meiosis pachyten dan spermatocytes sekunder, spermatid haploid, dan spermatozoa, yang semua tonjolan sitoplasma ditelan oleh sel Sertoli. SDT ini penting untuk memisahkan spermatogonia dari semua tahapan spermatogenesis berikutnya di compartmentum adluminal (produksi harian: 150×10^6 spermatozoa tikus). Sel spermatogenik yang lebih tua dapat dikenali oleh tubuh sebagai benda asing yang muncul pertama kali selama masa toleransi sampai dengan pubertas dan menimbulkan respons imun. SDT melindungi sel-sel ini dari sistem imun dengan membatasi lewatnya antigen membran dari spermatozoa yang sedang berkembang ke dalam aliran darah. Karena itu, SDT mencegah respons autoimun terhadap spermatozoa sendiri, pembentukan antibodi, dan akhirnya induksi sterilitas. SDT juga mencegah zat berbahaya dalam darah masuk ke epitel germinal yang sedang berkembang (Keck, et al., 1998; Manyonda, 2006; Heffner and Schust, 2008; Fijak, et al., 2009; Eroschenko, 2010; Weinbauer, et al., 2010).



Gambar 2.5. Hipotesis model immune privilege testis. Sawar Darah Testis (SDT) menghubungkan antar Sertoli cell (SC) dan mengsegregasikan mayoritas neoantigen yang diekspresikan germinal cell (GC) saat meiosis dan pasca meiotis dari sistem imun testis. Pada ruang interstitial, makrofag (MΦ) tipe "residen" ED2+ dengan regulasi imun dan fungsi trofiknya merupakan sub populasi terbesar dari leukosit, sedangkan makrofag (MΦ) tipe "inflamasi" ED1+ jauh lebih kecil jumlahnya. Kemungkinan besar dendritic cell (DC) testis yang normal menghambat aktivasi dan ekspansi klon limfosit T autoreaktif. Konsentrasi testosteron pada cairan interstitial testis disintesis Leydig cell (LC) sekitar 8-10 kali lebih tinggi dibanding di serum. Data terbaru menunjukkan peran yang semakin penting yaitu fungsi immunosupresif androgen dalam menghambat fungsi leukosit dan mengurangi ekspresi sitokin proinflamasi. BV, blood vessel; PTC, peritubular cell; MC, mast cell. Disadur dari Fijak, et al., 2009.

Proposisi yang mendukung penemuan bahwa autoantigen germinal cell (GC) yang ada pada kompartemen basal pada spermatogonium dan spermatisit awal yang tidak dilindungi oleh SDT. Selain itu, SDT tidak lengkap di rete testis, lokasi di mana jumlah besar spermatozoa dengan molekul permukaan yang baru diadaptasi melintas menuju epididimis, sehingga merupakan daerah sangat rentan untuk terbentuknya orkitis autoimun. Selanjutnya, Head dan Billingham menunjukkan kelangsungan hidup yang lama dari allografts yang ditempatkan di bawah kapsul organ pada interstitium testis. Oleh karena itu, mekanisme lain, selain pemisahan fisik, harus ada untuk mempertahankan immune privilege testis, yang memerlukan perlindungan yang lebih kuat dari lingkungan toleransi dari testis (Fijak, et al., 2009; Weinbauer, et al., 2010).

Selain dikenal efek anabolik dan spermatogenik, androgen juga berperan dalam downregulasi sitokin proinflamasi. Inkubasi monosit, makrofag, dan

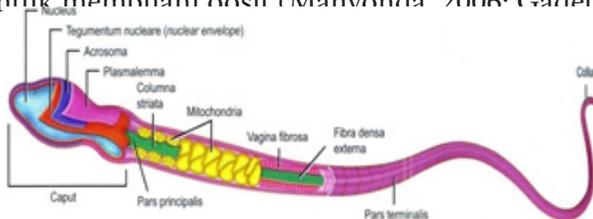
beberapa jenis sel nonimmune manusia dengan testosteron, menyebabkan penekanan molekul adhesi dan sitokin (IL-1, IL-6, TNF α) serta meningkatkan produksi sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Testosteron juga terlibat pada apoptosis sel T (Manyonda, 2006; Fijak, et al., 2009; Weinbauer, et al., 2010).

Konsentrasi testosteron lokal yang tinggi, karakteristik pada testis, tampaknya memainkan peran penting dalam immune privilege testis. Namun, cara yang tepat di mana testosteron mempengaruhi fungsi antiinflamasi pada lekosit testis belum diketahui. Yang diduga adalah hal itu muncul kemungkinan karena androgen mengerahkan fungsi immunosupresif pada lekosit testis melalui jalur nongenomic atau tidak langsung dengan mengatur keseimbangan antara ekspresi sitokin pro dan antiinflamasi pada sel Sertoli, sel Leydig dan sel peritubular (PTC) (Manyonda, 2006; Fijak, et al., 2009). Fijak, et al. (2011) dari hasil penelitiannya menyatakan bahwa substitusi testosteron mempunyai efek protektif dan modulasi imun pada patogenesis orkitis autoimun eksperimental dan diduga bahwa androgen sebagai faktor baru pada differensiasi sel T regulator.

2.6. Antigen Spermatozoa

2.6.1. Permukaan Spermatozoa

Subdomain kepala spermatozoa memiliki diversifikasi fungsi pada proses yang terlibat dalam pembuahan. Daerah apikal kepala spermatozoa secara khusus mengenali dan mengikat zona pelusida (matriks ekstraseluler oosit) Sementara area yang lebih luas dari permukaan kepala spermatozoa (domain praequator) terlibat dalam reaksi akrosom, melepaskan komponen akrosom yang diperlukan untuk penetrasi zona. Segmen equator kepala spermatozoa tetap utuh setelah reaksi akrosom dan merupakan daerah khusus yang mengenali dan berfusi dengan oolemma (membran plasma sel telur) untuk membuahhi oosit (Manyonda, 2006; Gadella, 2009).



Gambar 2.6.1. Spermatozoa
Disadur dari Heffner and Schust, 2008

2.6.2. Proteomik Spermatozoa Manusia

Keterbatasan khusus pada spermatozoa manusia yang perlu dipertimbangkan ketika mempelajari proteomik permukaan spermatozoa adalah : (Gadella, 2009).

1. Manusia menghasilkan Semen dengan kandungan spermatozoa abnormal cukup tinggi (belum matang, deteriorasi, atau penyimpangan morfologi).
2. Untuk isolasi permukaan spermatozoa yang benar diperlukan sejumlah besar sel spermatozoa.
3. Genomik dan proteomik spesies manusia lebih menarik dibandingkan hewan domestik.

Tabel dibawah ini menunjukkan beberapa antigen dan lokasinya yang sudah dilakukan identifikasi.

Table 2.6.2 Defined antigens of naturally occurring human ASA

Antigen	Localisation	Effect of ASA
YWK-II mAb	Equatorial sector of the human sperm head	Agglutination
hSMP-1	Acrosome	Agglutination
Calpastatin	Acrosome region, tail	Agglutination
YLP(12), a 50±5 kDa membrane protein	Sperm surface	Agglutination
Caspase-3	Sperm surface	Apoptosis
HSP 70	Sperm surface	Apoptosis
Human CD52 antigen	Sperm surface, inserted into the sperm membrane during the epididymal passage	Inhibition of motility
1.8- and 2.8 kb mRNAs highly and specifically expressed	Tails of permeabilized human sperm	Inhibition of motility
FSA-1	Sperm surface	Inhibition of acrosome reaction
SPRASA	Acrosome region	Inhibition of acrosome reaction
Calpastatin	Plasma membrane and the outer acrosomal membrane of sperm	Inhibition of acrosome reaction
Protein P36	Acrosome-reacted sperm	Inhibition of acrosome reaction
hSMP-1	Acrosome	Inhibition of acrosome reaction
FASA-57	Acrosome of non acrosome-reacted sperm, equatorial region after acrosome reaction	Inhibition of acrosome reaction
Sperm protein 17 (Sp17), highly conserved	Testis, head and tail of ejaculated Spermatozoa	Inhibition of acrosome reaction

PH-20, a glycerolphosphatidyl-inositol-linked hyaluronidas	Sperm surface	Inhibition of zona binding
55-kDa protein of Spermatozoa	Apical edge of the head in capacitated sperm	Inhibition of zona binding
Ag IF10		Inhibition of zona binding
Fertilization antigen 1 (FA-1)	Specifically reacted with zona protein 3 (ZP3)	Inhibition of zona binding
hSMP-1	Sperm surface	Inhibition of zona binding
hSMP-1, PubMed locus U12978	Acrosome	Inhibition of zona binding
Human nuclear autoantigenic sperm protein (NASP)	Vasectomized men develop ASA to NASP	Unknown
SP-10, a highly conserved intra acrosomal sperm protein	Sperm surface after acrosomal reaction	Inhibition of sperm-oocyte fusion
YLP(12)	Sperm surface	Inhibition of zona binding
Acrin-1	Acrosomal	Inhibition of acrosome reaction

Disadur dari Krause, 2009b.

2.7. Antibodi Antisperma

2.7.1. Prevalensi Antibodi Antisperm

Prevalensi ASA (*Antisperm Antibody*) yang variabel telah dilaporkan dan besarnya tergantung pada spesifitas dan sensitivitas tes yang digunakan untuk deteksi dan skrining pada populasi. Pada studi epidemiologi, serum *sperm agglutination activity* (SAA) berkisar 8,1-30,3% pada pria infertil yang tidak diseleksi, tetapi titer yang rendah dilaporkan 10% pada kontrol. Ketika kriteria ketat digunakan (yaitu, keberadaan aktifitas imobilisasi Spermatozoa selain titer SAA yang tinggi), prevalensi ASA pada pria infertil 4,6-5,7%. Tes direct (MAR atau IBT) memberikan hasil positif (> 10 atau > 20%) pada 7,6-12,9% pasien infertil yang tidak diseleksi, tetapi hasil yang sangat positif (> 50%) pada 5-6% (Francavilla and Barbonetti, 2009). Manyonda (2006) menulis prevalensi ASA pada pria infertil sekitar 6-11%. Meskipun prevalensi ASA yang lebih tinggi telah dilaporkan dalam beberapa kondisi klinis, terutama pada obstruksi saluran kelamin dan infeksi genitourinari, khususnya Chlamydia trachomatis, hanya pada vasektomi asosiasi ini sudah tetap dengan prevalensi ASA 33-74%, dan persistensinya 38-60% setelah vasovasostomy yang berhasil (Francavilla and Barbonetti, 2009).

Beberapa laporan menunjukkan 50-100% pria yang menjalani vasektomi

kemudian memiliki serum ASA yang positif dan prevalensi ASA di Semen pria ini sangat tinggi (70-100%). Ini tidak berarti bahwa hanya karena obstruksi pada saluran mani saja yang dapat memicu pembentukan ASA. Bronson dkk. menunjukkan bahwa ASA terdeteksi setelah masa pubertas pada laki-laki dengan cystic fibrosis dan aplasia bilateral bawaan dari vas deferens (CBAVD) (Marconi dan Weidner, 2009).

2.7.2. Pembentukan Antibodi Antisperma

Tiga fakta penting tentang ASA : Pertama, vasektomi diikuti *vasovasostomy* (VV) merupakan kondisi klinis dengan titer ASA yang tinggi. Kedua, ASA pada sirkulasi tidak memainkan peranan penting dan tidak menunjukkan pengaruh negatif terhadap prognosis kesuburan pria yang terkena. Sebaliknya, ASA lokal menunjukkan efek negatif terhadap motilitas spermatozoa, dan kemampuan melewati cairan kelamin perempuan dan atau fusi gamet, yang merupakan kunci pokok fekundasi. Ketiga, kurangnya metode standar dan cut poin yang tetap untuk mendeteksi ASA pada Semen (Marconi and Weidner, 2009).

Intervensi bedah pada epididimis dan vas deferens yang menyebabkan obstruksi merupakan satu-satunya kondisi yang diterima secara luas, dalam peningkatan ASA yang hampir permanen (Tennakoon, *et al.*, 2011). Setelah vasektomi, distensi epididimis dan pembentukan granuloma spermatozoa disebabkan oleh peningkatan tekanan intraluminal. Pada banyak spesies, spermatozoa yang terhambat dihancurkan oleh makrofag intraluminal dan produk degradasinya diserap epitel epididimis. Imunitas humoral terhadap antigen spermatozoa setelah vasektomi merupakan akibat lanjutan dari kombinasi kebocoran antigen spermatozoa khususnya yang terjadi di epididimis dan peningkatan kronis tekanan intraluminal (Manyonda, 2006; Marconi and Weidner, 2009; Sarda, *et al.*, 2011; Sarda, *et al.*, 2012). Produksi ASA terjadi secara gradual dan lambat. Pada model tikus pembentukan IgM ASA dalam 2 minggu setelah vasektomi, menurun dalam 4-8 minggu dan diikuti peningkatan IgG ASA dalam 8-12 minggu (Marconi dan Weidner, 2009).

Mekanisme immuno-toleransi seluler juga terlibat dalam produksi ASA pasien VV, seperti yang ditunjukkan oleh Witkin dan Goldstein yang menunjukkan berkurang konsentrasi limfosit T supresor dalam air mani laki-laki jika dibandingkan dengan vasa tidak terganggu (Manyonda, 2006; Marconi and Weidner, 2009).

Pada tabel di bawah ini merupakan kondisi yang berhubungan dengan kemungkinan pembentukan antibodi antisperma.

Tabel 2.7.2 Suggested Risk Factors for ASA Formation

Chronic obstruction of the Male Reproductive Tract (MRT)

Congenital

Congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD)

Mullerian prostatic cysts

Acquired

Vasectomy

Iatrogenic obstruction of the epididymis and / or vas deferens

Implammation and / or infection of the male reproductive tract

Vaicocele

Cryptorchidism

Testicular trauma

Testicular torsion

Testicular surgery

Testicular sperm extraction (TESE)

Testicular biopsy

Organ-sparing surgery for testicular tumors

Homosexuality

Disadur dari Marconi and Weidner, 2009; Manyonda, 2006.

2.7.3. Infeksi MRT sebagai Penyebab Pembentukan ASA

Infeksi *Male Reproductive Tract* (MRT) menjadi faktor risiko pembentukan ASA melalui 4 mekanisme utama : 1) Obstruksi MRT karena perubahan inflamasi dan pasca inflamasi, 2) Robeknya sawar darah testis (SDT) karena peradangan lokal, 3) Penurunan faktor imunomodulator (seluler dan humoral) yang ada dalam Semen yang biasanya mencegah autoimunisasi spermatozoa (Marconi dan Weidner, 2009), dan 4) Reaksi silang antara antigen mikroorganisma yang bertanggung jawab pada infeksi MRT (seperti, *Chlamydia trachomatis*) dan antigen Spermatozoa (Getts, and Miller, 2010; Delogu, et al., 2011; Sarda, et al., 2011; Sarda, et al., 2012).

Terdapat kontroversi data pada hubungan antara infeksi MRT dengan ASA. Pada studi kasus pertama 79 pasien infertil dengan penyakit infeksi MRT, hasil perbandingan dua tes untuk deteksi ASA pada Semen, mixed antiglobulin reaction (MAR) test dan immunobead binding test (IBT), menunjukkan tidak ada peran yang jelas pada infertilitas pria. Pada studi kasus kedua 365 pasien dengan infeksi MRT, seperti chronic bacterial prostatitis (CBP), inflammatory Chronic Prostatitis/ Chronic Pelvic Pain Syndrome (CP/CPPS), noninflammatory CPPS, chronic urethritis, dan chronic epididymitis, tidak ditemukan hubungan antara pembentukan ASA dengan penyakit ini (Marconi, et al., 2009). Berbeda dengan hasilnya, Witkin dan Toth, menggunakan ELISA melaporkan kejadian 48% ASA pada Semen pria dengan riwayat urethritis dan CBP. Jarow dkk., menemukan hubungan positif antara CP/CPP dengan ASA menggunakan uji aglutinasi gel pada serum. Jumlah serial klinis yang berhubungan dengan deteksi ASA yang signifikan pada Semen pria dengan infeksi MRT masih sedikit; tes yang digunakan untuk deteksi ASA dan nilai cut poin positif untuk metode yang berbeda bervariasi antar studi yang berbeda . Semua faktor ini dapat menjelaskan fakta bahwa hubungan antara dua kondisi masih diperdebatkan (Marconi dan Weidner, 2009).

Inflamasi yang menginduksi robekan segmen distal epitel duktus epididimis atau duktus eferen dapat terjadi pada infeksi MRT yang dapat merusak SDT. Hal ini akan mengaktifkan pertahanan imunologi dan menginduksi produksi ASA. Karena tidak ada penanda yang sensitif untuk gangguan SDT dan blood epididimis barrier (BEB), sehingga tidak mungkin untuk mengevaluasi apakah kejadian ini benar-benar terjadi pada pasien dengan infeksi MRT atau sampai sejauh mana kemungkinannya (Marconi and Weidner, 2009; Sarda, et al., 2011; Sarda, et al., 2012).

Sejalan dengan teori ini, Munoz dan Witkin mempostulasikan bahwa, infeksi asimtomatik *Chlamydia trachomatis* yang tidak terdeteksi dari MRT dapat menginduksi aktivasi limfosit T $\gamma\delta$ lokal yang diyakini sebagai garis pertahanan imunologis pertama terhadap infeksi pada permukaan mukosa. Setelah diaktifkan, ini akan bereaksi dengan antigen spermatozoa yang tidak memerlukan presentasi oleh MHC kelas I atau II (Manyonda, 2006), menghasilkan amplifikasi lebih lanjut dan aktivasi limfosit T $\gamma\delta$ serta peningkatan ekspresi sitokin. Hal ini pada gilirannya akan mengaktifkan limfosit T $\gamma\delta$ pada saluran kelamin dan menyebabkan induksi respon autoimun untuk Spermatozoa (Marconi dan Weidner, 2009).

Dari sudut patofisiologi, tidak adanya konfirmasi hubungan antara infeksi MRT dan pembentukan ASA bergantung pada kenyataan bahwa keempat mekanisme yang disebutkan terdahulu, dimana penyakit ini merupakan faktor risiko untuk pembentukan ASA, bukan merupakan temuan yang selalu ada pada pasien dengan kondisi ini. Meskipun infeksi akut dan kronis MRT telah diklaim sebagai faktor risiko obstruksi parsial dan total MRT, laporan lebih lanjut telah menunjukkan bahwa hubungan antara dua kondisi tersebut, terkecuali TB epididimis, adalah lemah. Terutama, untuk CP/CPPS jarang ditemukan adanya obstruksi, kejadiannya kurang dari 10% (Marconi dan Weidner, 2009).

Keberadaan lekosit pada Semen masih dipertanyakan, apakah bisa menunjukkan tingkat kerusakan; namun yang diketahui bahwa tingkat lekosit Semen pada pasien dengan infeksi MRT sangat variabel, peran yang tepat dan maknanya tidak jelas. Apalagi jika hal ini terjadi, telah ditemukan hubungan antara kehadiran ASA dan elevasi parameter inflamasi dalam Semen, seperti lekosit dan elastase. Terkait dengan fakta bahwa gangguan dari barier epitel darah adalah peristiwa yang masih dipertanyakan dalam penyakit yang disebutkan, ada fakta penting bahwa kerusakan barier saja tidak cukup untuk memicu pembentukan ASA. Temuan ini dijelaskan oleh Komori dkk dan Leonhartsberger dkk, pasien yang menjalani TESE dan tindakan bedah pada tumor testis, terjadi kerusakan SDT, tetapi tidak ada peningkatan risiko pembentukan ASA (Keck, et al., 1998; Marconi and Weidner, 2009).

Gangguan integritas SDT telah diamati selama peradangan, infeksi, dan trauma yang menyebabkan lepasnya GC. Pada peradangan testis lokal dan sistemik didapatkan peningkatan kadar TNF α dan TGF β , yang mengganggu

susunan tight junctions pada kultur SC dengan medownregulasi ekspresi occludin. Meskipun tight junction mampu mengisolasi meiosis dan pasca meiosis germinal cell (GC) dari antibodi dan lekosit, sekarang SDT saja dipercaya tidak dapat menjelaskan semua manifestasi dari immune privilege testis (Fijak, et al., 2009).

Meskipun keberadaan sel darah putih pada Semen tetap menjadi bahan perdebatan, beberapa penulis telah menyarankan bahwa sel-sel tersebut penting dalam modulasi respon ASA, dalam arti bahwa peran dominasi limfosit supresor atas limfosit helper untuk mencegah pembentukan ASA. Beberapa laporan mendukung gagasan bahwa infeksi MRT tidak hanya tidak mempengaruhi migrasi granulosit ke MRT tetapi juga aktivasi limfosit B dan limfosit T helper, modulasi dominasi fisiologis limfosit T supresor terhadap limfosit T helper. Produksi sitokin lokal pada epitel epididimis menjadi faktor penting untuk merekrut limfosit ke dalam cairan seminal (Marconi dan Weidner, 2009).

Namun, seperti yang disebutkan sebelumnya beberapa penulis telah melaporkan tidak ada hubungan antara keberadaan ASA dan jumlah lekosit pada Semen, menunjukkan bahwa meskipun kedua fakta kelainan tersebut merupakan manifestasi dari respon imunologi tetapi mereka tidak saling terkait. Selain itu, Barratt dkk., melaporkan bahwa pada pria dengan ASA dominasi limfosit T helper atas limfosit T supresor sangat jarang (Marconi dan Weidner, 2009).

Orkitis dapat terjadi dengan adanya infeksi pada saluran genito urinaria dan sebagai manifestasi dari penyakit menular seksual seperti Gonore atau Chlamydia trachomatis. Patogen uretra, yaitu Escherichia coli menyebabkan epididymoorkitis bakterial. Penyebab paling umum dari orkitis adalah virus mumps (Keck, et al., 1998; Fijak, et al., 2009; Sartorius and Handlesman, 2010; Hahné, et al., 2012). Nieschlag, et al. (2010) serta Sartorius and Handlesman (2010) menulis penyebab orkitis virus diantaranya adalah virus Mumps, virus Coxsackie, virus LCM (lymphocytic choriomeningitis), virus Marburg, virus group B Arbo, virus Dengue, virus Varicella-Zoster. Sedangkan orkitis bakteri diantaranya Gonococci, Chlamydia, Pneumococci, Samonella, Syphilis, Tuberculosis, Leprosy.

Karena kesamaannya, reaksi silang antara antigen membran Spermatozoa dengan Chlamydia trachomatis diusulkan sebagai teori untuk menjelaskan hubungan antara infeksi MRT dengan pembentukan ASA

yang masih dipertanyakan. Respon imun terhadap stress proteins (yaitu, heat shock protein, HSP penting pada mamalia dan bacterial stress protein) sangat bereaksi silang. Telah dikemukakan bahwa antibodi terhadap epitop Chlamydia HSP60 yang diawetkan dapat bereaksi silang dengan HSP60 manusia dan menginisiasi respon autoimun. Namun, data klinis gagal untuk mendeteksi hubungan antara infeksi Chlamydia dan adanya ASA pada Semen (Neuer, et al., 2000; Bohring, et al., 2001; Kruse, et al., 2002; Marconi dan Weidner, 2009; Getts, and Miller, 2010; Delogu, et al., 2011).

2.7.3.1. Infeksi MRT oleh *Staphylococcus aureus*

Tingkat bakteriospermia sebesar 15%, terdiri dari 22 spesies bakteri. Empat spesies paling umum sebesar 90% dari isolat bakteri: *E. fecalis* (56%), *E. coli* (16%), *Streptococcus* Grup B (13%) dan *S. aureus* (5%). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa bakteriospermia dan ESWBC (Eleveted Seminal White Blood Cells) lazim pada pria dengan infertilitas, namun bakteriospermia tidak berhubungan dengan ESWBC secara statistik. Sementara keduanya berkaitan dengan parameter air mani yang berkurang, ESWBC berkaitan dengan kerusakan yang lebih serius pada parameter air mani (Domes, T., et al., 2011). Sedangkan Ekhaise, F.O. and Richard, F.R. (2008) mendapatkan tiga isolat bakteri yang diisolasi dari sampel air mani, *S. aureus* 7 (77,8%) ditemukan paling dominan, isolat lainnya *Escherichia coli* 1 (11,1%) dan *Citrobacter* spp. Motilitas spermatozoa tercatat menjadi 20%, 10% dan 45% untuk *S. aureus*, *Escherichia coli* dan *Citrobacter* spp. dibanding motilitas spermatozoa dari sampel normal 50% atau lebih. Keberadaan dan pengaruh mikroorganisme sangat besar dalam air mani membuktikan bahwa mikroorganisme memainkan peran penting pada infertilitas pria..

Efek dari keberadaan bakteri pada saluran kelamin kuda dan pengaruh gentamisin dalam pengencer air mani terhadap fungsi spermatozoa pada semen kuda jantan yang didinginkan. Semen yang didapatkan dari kuda jantan yang sehat dan diproses dengan pengencer berbasis susu dengan atau tanpa gentamisin (1g/l). Ditambahkan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus equi subsp. equi*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis* atau medium kultur saja (kontrol). Disimpulkan bahwa bakteri tertentu memiliki efek yang merusak pada kualitas semen selama penyimpanan di tempat yang dingin. Efek ini tidak berkurang dengan penambahan gentamisin. Gentamisin

menurunkan fungsi spermatozoa pada air mani dalam penyimpanan yang dingin bila diperpanjang waktunya (Aurich, C. and Spergser, J., 2007).

Pengaruh *S. aureus* pada serviks perempuan terhadap motilitas sperma dan aglutinasi secara *in vitro*. Sampel spermatozoa yang motil dikoinkubasi selama 4 jam dengan *S. aureus* hidup. Setelah 30 menit campuran ejakulat dengan bakteri hidup, terdapat penurunan motilitas dan penggumpalan spermatozoa. Tidak ada aglutinasi dan imobilisasi oleh bakteri yang mati karena panas, lizozim atau antibiotik. Liu et al. (2002) mempelajari mikroorganisme uropathogenic lain menemukan penurunan signifikan pada motilitas spermatozoa ketika dikoinkubasi dengan *S. aureus*. Ohri dan Prabha, (2005) mengatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu flora yang dominan pada pria infertil dan bisa ada pada serviks perempuan yang dapat melumpuhkan spermatozoa (Kaur, S., et al., 2010.).

2.7.4. Tempat Pembentukan ASA

Faktor risiko utama untuk konfirmasi pembentukan ASA adalah obstruksi kronis MRT, terutama setelah vasektomi. Pada pasien dengan obstruksi kronis MRT, tempat produksi yang paling mungkin dari ASA adalah epididimis (Sarda, Pandey, Bhalla, Gupta, Khurana, 2011; Sarda, Pandey, Bhalla, Sarda, and Chaturvedi, 2012), namun, setelah reaksi imun dipicu dan produksi ASA sistemik dimulai, imunoglobulin dapat masuk MRT pada level lainnya, yaitu vesikula seminalis dan prostat (Manyonda, 2006; Marconi dan Weidner, 2009).

Hipotesis yang mengatakan bahwa infeksi MRT berhubungan dengan pembentukan ASA karena alasan anatomis, epididimis menjadi tempat paling mungkin untuk pembentukan ASA. Namun, kelenjar prostat adalah tempat lain di mana respon imun lokal dapat diinduksi, karena cairan prostat telah diidentifikasi mengandung antibodi IgA spesifik terhadap *Escherichia Coli* dengan spermatozoa. Beberapa penulis berpendapat bahwa infeksi MRT pada beberapa pria dapat mengganggu penutupan seluruh saluran prostat saat ejakulasi, sehingga kebocoran spermatozoa ke dalam kelenjar prostat akan menginduksi respon imun (Marconi dan Weidner, 2009).

Pada homoseksualitas sebagai faktor risiko pembentukan ASA, dengan mempertimbangkan bukti klinis dan studi penelitian dasar, tampaknya sangat mungkin bahwa tempat produksi utama ASA berada pada mukosa gastro intestinal bagian distal (Marconi dan Weidner, 2009).

Pada tabel di bawah ditampilkan faktor resiko dan tempat pembentukan antibodi antisperma pada saluran genitalia pria.

Table 2.7.4 Suggested risk factors and sites of ASA production in the MRT

<u>Risk factor</u>	<u>Status</u>	<u>Most probable site of first immunization and ASA production</u>
<i>Chronic obstruction of the MRT</i>	<i>Confirmed risk factor</i>	<i>Epididymis</i>
<i>Inflammation/infection of the MRT</i>	<i>Not confirmed</i>	<i>Epididymis/Prostate</i>
<i>Varicocele</i>	<i>Not confirmed</i>	<i>Testis</i>
<i>Cryptorchidism</i>	<i>Not confirmed</i>	<i>Testis</i>
<i>Testicular trauma</i>	<i>No risk factor (more evidence is needed)</i>	-
<i>Testicular torsion</i>	<i>No risk factor (more evidence is needed)</i>	-
<i>Testicular surgery</i>	<i>No risk factor (more evidence is needed)</i>	-
<i>Testicular tumors</i>	<i>Not confirmed</i>	<i>Testis</i>
<i>Homosexuality</i>	<i>Not confirmed</i>	<i>Gastrointestinal mucosa</i>

Disadur dari Marconi and Weidner, 2009; Manyonda, 2006.

2.7.5. Keberadaan ASA pada Cairan Biologis Pria

2.7.5.1. ASA dalam Serum

Antisperm Antibody (ASA) dapat terbentuk dalam serum darah pria dan wanita. Dengan meningkatkan pengetahuan tentang antigen serumpun dari ASA dan relevansi biologis mereka menjadi jelas bahwa ASA dalam serum tidak ada konsekuensi untuk kontak dengan antigen spermatozoa, tetapi mereka sebagai isoantibodi yang indenpenden. Terutama antibodi pada serum wanita, seperti antibodi yang mengimobilisasi Spermatozoa, antibodi terhadap sistem proacrosin / acrosin, dan antibodi terhadap fertilization antigen-1 atau YLP12. Juga antibodi yang terdeteksi pada anak pria kriptorkismus merupakan isoantibodie (Krause, 2009).

Hipotesis lain induksi ASA didasarkan pada reaksi silang antara antigen spermatozoa dengan antigen eksogen (Delogu, et al., 2011). Nugrahani (2002) dan Sunihapsari (2002) dari hasil penelitiannya mendapatkan reaksi silang antara spermatozoa dengan protein membran *Staphylococcus* sp. Antigenisitas antigen eksogen telah terbentuk antara spermatozoa dan *Escherichia coli*, *Streptokokus*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, dan *Ureaplasma urealyticum*. Juga korelasi ASA dan antibodi terhadap *Chlamydia trachomatis*. Pada *Chlamydia trachomatis*, antibodi hanya terdeteksi dalam serum pasien dengan infeksi *C. trachomatis* genital, tidak pada mereka dengan infeksi *C. trachomatis* mata. Tampaknya kemungkinan pembentukan ASA adalah hasil proses inflamasi pada kelamin oleh *C. trachomatis*, dan tidak terjadi reaksi silang antara spermatozoa dengan antigen *C. trachomatis* di lokasi lain (Krause, 2009a; Sartorius and Handlesman, 2010).

2.7.5.2. ASA dalam Semen

Penentu utama konsentrasi imunoglobulin dalam Semen adalah peradangan, dimana peradangan akut meningkatkan konsentrasi pada tingkat yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan peradangan kronis. Hasil yang sama juga dijelaskan oleh Marconi dkk., yang termasuk penentuan ASA dalam Semen dan tidak menemukan perbedaan nilai ini antara pria sehat dan pria dengan radang (Krause, 2009a).

Tabel 2.7.5.2 Konsentrasi macam-macam Protein dalam Semen

	<i>Healthy Men</i>	<i>Acute Prostatitis</i>	<i>Chronic Prostatitis</i>
<i>Albumin</i>	0.59	4.7	1.6
<i>Haptoglobin</i>	0	0.14	0.001
<i>Transferrin</i>	0.04	0.28	0.11
<i>α-1 Antitrypsin</i>	0.08	0.22	0.12
<i>α-2 Macroglobulin</i>	0	0.12	0.007
<i>IgG</i>	0.21	2.4	0.49
<i>IgA</i>	0.02	0.35	0.13

Disadur dari Krause, 2009a.

Pria yang mengekspresikan ASA pada Semen biasanya memiliki ASA juga dalam serum darahnya. Andreou dkk., menunjukkan hubungan yang erat antara konsentrasi ASA yang menempel spermatozoa (direct MAR test) dan ASA terlarut dalam plasma serum dan plasma seminal (indirect MAR test). Untuk IgG, korelasi ditemukan antara ASA pada plasma seminal dengan ASA dalam serum. Vujsic dkk., tidak menemukan korelasi antara konsentrasi ASA dalam cairan biologis yang berbeda (Krause, 2009a).

2.8. Pengaruh ASA terhadap Fungsi Spermatozoa

Antisperm Antibody (ASA) mempengaruhi fungsi spermatozoa ketika terikat padanya (Manyonda, 2006; Sarda, *et al.*, 2012). Secara umum, antibodi dapat mempengaruhi fungsi sel dengan cara yang berbeda : (Krause, 2009a).

1. Mekanisme yang relevan adalah penghambatan fungsi protein, meliputi antigen serumpun (epitop).
2. Aktivasi komplemen kurang penting. Pengaktifan ASA melalui komplemen tidak efektif karena dalam Semen mengandung inhibitor komplemen. Spermatozoa dilindungi dari serangan komplemen oleh CD46, protein utama pengatur komplemen, yang terdapat pada membran bagian dalam akrosom.
3. Antibodi dapat mengaktifkan sel efektor aksesori (fagosit) atau sel NK setelah mengikat fragmen Fc-Ig. Fagosit yang merusak spermatozoa (spermiphage) merupakan konstituen normal dari sel seminal. Walaupun kurang aktifitasnya, mereka akan menghancurkan spermatozoa yang terikat ASA daripada mengeliminasi spermatozoa melalui apoptosis.

2.8.1. Aglutinasi Spermatozoa

Koide dkk. melakukan penyelidikan pertama dari antigen serumpun yang terikat pada aglutinasi spermatozoa karena ASA. ASA diperoleh dari serum darah wanita kurang subur atau antibodi monoklonal (mAb) yang dibuat pada tikus dan aktif terhadap protein permukaan spermatozoa manusia. Di antara antigen yang diidentifikasi adalah sebagai berikut (Krause, 2009b) :

1. YWK-II mAb dikenal sebagai antigen serumpun dengan massa molekul (BM) antara 60 dan 72 kDa, imunitasnya terlokalisasi di bagian equator kepala spermatozoa manusia. cDNA dari antigen YWK-II telah dipetakan di kromosom lokus 11q24-25; polipeptida tersebut merupakan famili protein APP. Protein dari famili ini juga ditemukan pada plak penyakit Alzheimer, dan karena itu, juga dinamakan sebagai APLP2.

2. rSMP-B, komponen ekor spermatozoa dengan BM 72 kDa, dikenali oleh ASA dari serum wanita kurang subur. Gennya hanya diekspresikan pada spermatid. Analog pada manusia (hSMP-1) dikodekan oleh gen HSD-1, yang terletak pada kromosom 9 manusia, di daerah p12-p13.
3. Calpastatin, protein 17,5 kDa, terlokalisir di daerah akrosom dan sedikit di ekor. cDNA terdiri dari 758 bp memiliki homologi 99,7% dengan coding gen calpastatin. Gen tersebut ditranskripsi hanya di spermatid. Calpastatin mengikat calpain, Ca-dependent sistein endopeptidase.
4. Sebuah protein 75-kDa ditemukan tanpa homologi dari urutan nukleotida dengan DNA lainnya.

Sebuah mAb A36 tikus menginduksi aglutinasi spermatozoa yang kusut dan luas. mAb A36 dari antigen permukaan spermatozoa serumpun adalah protein GPI/NLK-like yang terlibat dalam aglutinasi spermatozoa (Krause, 2009b).

2.8.2. Apoptosis Spermatozoa

Beberapa protein dari jalur sinyal transduksi apoptosis ada pada permukaan spermatozoa, misalnya, eksternalisasi phosphatidylserin, CD95 dan beberapa caspase. Shaman and Ward (2006) menulis marker apoptosis pada spermatozoa diantaranya terdapat reseptor Fas. Secara khusus, kriopreservasi spermatozoa menginduksi mekanisme apoptosis. Juga kerusakan spermatozoa sebagai akibat co-inkubasi dengan LPS *C. trachomatis* memicu mekanisme apoptosis yang dimediasi caspase (Krause, 2009b).

2.8.3. Motilitas Spermatozoa

Imobilisasi spermatozoa oleh ASA adalah fitur khusus dan ditunjukkan secara eksklusif pada sera wanita kurang subur. ASA muncul untuk mengaktifkan sistem komplemen; kemunculannya sering dikaitkan dengan gangguan penetrasi lendir serviks. Dalam studi Tsuji dkk. adanya antibodi yang mengimobilisasi spermatozoa terkait dengan tipe HLA-DRB1*0901 dan HLA-DQB1*0303. Asosiasi ini menjelaskan tingginya prevalensi antibodi yang mengimobilisasi spermatozoa pada orang Jepang (Krause, 2009b).

Neilson dkk. menggunakan serum dari laki-laki infertil dengan titer ASA yang tinggi untuk mengidentifikasi antigen baru pada spermatozoa manusia dengan skrining perpustakaan yang diekspresi oleh testis. Gen

manusia mengkodekan 1,8 dan 2,8 kb mRNA disajikan cukup banyak pada testis. Urutan asam amino yang disimpulkan dari full-length cDNA mengungkapkan homologi dengan produk dari *Chlamydomonas reinhardtii* lokus PF16, yang mengkode protein pada pasangan sentral dari axoneme flagellar. Antibodi meningkat terhadap urutan peptida yang terletak pada protein ekor spermatozoa manusia. Li et al. (2006) mendapatkan cation channel protein (CATSPER1) yang diekspresi pada spermatid dan spermatozoa. mRNA dari protein ini juga ada pada sel tersebut. Aplikasi antibodi pada CATSPER1 mampu menghambat motilitas secara total dan progresinya. Mekanisme inhibisi ini tetap tidak jelas sampai sekarang (Krause, 2009b).

Pada penelitian Domes, et al., (2011) didapatkan bahwa bakteriospermia dan ESWBC lazim pada pria dengan infertilitas, namun bakteriospermia tidak berhubungan dengan ESWBC secara statistik. Sementara keduanya berkaitan dengan parameter semen yang berkurang, ESWBC berkaitan dengan kerusakan yang lebih berat pada parameter air mani. Empat spesies paling umum merupakan 90% dari isolat bakteri: *E. fecalis* (56%), *E. coli* (16%), *Streptococcus* Grup B (13%) dan *S. aureus* (5%). Tingkat ESWBC adalah 19% dan tidak ada korelasi antara bakteriospermia dengan ESWBC (ESWBC 18% terkait dengan bakteriospermia dibandingkan ESWBC 19% tidak terkait dengan bakteriospermia, $p \leq 0,383$). Ada perbedaan signifikan pada motilitas spermatozoa (24,5 vs 25,5%, $p \leq 0.045$) dan DNA fragmentation indeks (DFI) (24,9 vs 22,6%, $p \leq 0.024$) pada kelompok bakteriospermia versus tidak ada bakteriospermia. ESWBC dikaitkan dengan kerusakan yang lebih berat pada parameter semen, termasuk konsentrasi spermatozoa (20,6 vs 55,9 x10⁶/cc, $p \leq 0.001$), motilitas (21,5 vs 26,8%, $p \leq 0.001$), morfologi normal (12,2 vs 17,4 %, $p \leq 0.001$) dan DFI (26,7 vs 22,2%, $p \leq 0.001$) dengan tidak ada kerusakan tambahan diidentifikasi dengan bakteriospermia dan ESWBC secara bersama. Tidak ada isolat bakteri tertentu mempengaruhi setiap parameter air mani lebih dari yang lain.

2.8.4. Kualitas Semen

Aglutinasi spermatozoa adalah satu-satunya perubahan yang tetap berkaitan dengan adanya ASA. Namun, aglutinasi spermatozoa merupakan fenomena yang bergantung waktu, jarang melibatkan sejumlah besar spermatozoa motil segera setelah pencairan, bahkan ketika semua spermatozoa yang diejakulasikan dilapisi antibodi. Oleh karena itu, aglutinasi spermatozoa meskipun sangat diduga karena autoimunisasi, tidak menunjukkan mekanisme penting dari gangguan antibodi dengan kesuburan dalam banyak kasus. Selain aglutinasi spermatozoa ada sedikit bukti yang menunjukkan hubungan sebab akibat antara ASA dan kelainan parameter Semen. Sebenarnya, adanya efek pada motilitas / vitalitas spermatozoa melibatkan cedera spermatozoa yang dimediasi oleh komplemen, tetapi dicegah oleh aktivitas antikomplemen pada Semen manusia (Manyonda, 2006; Francavilla dan Barbonetti, 2009).

Level ASA manusia pertama kali dilaporkan tahun 1969 ketika Fjallbrandt menunjukkan antibodi yang diperoleh baik dari pasien infertil atau dari kelinci yang diimunisasi mampu menghasilkan aglutinasi dan memblokir penetrasi spermatozoa manusia pada lendir serviks perempuan (in vitro). Prinsip aglutinasi spermatozoa tergantung pada spesifisitas antibodi spermatozoa terhadap antigen permukaan kepala spermatozoa, midpiece, ekor atau ujung ekor (Manyonda, 2006; Gallova, 2009).

2.9. Pengaruh ASA terhadap Fertilitas

Mekanisme penurunan kesuburan oleh ASA, terbatas pada permukaan antigen yang memiliki makna fisiopatologis dan klinis dalam imunologi infertilitas pria, karena antigen subsuperfisial tidak dapat dipaparkan pada antibodi oleh sel-sel yang hidup di sepanjang saluran kelamin pria (Francavilla dan Barbonetti, 2009). Tanda paling berharga untuk prognosis infertilitas adalah aktifitas ASA lokal (dalam Semen pria dan lendir serviks saat ovulasi, endometrium, peritoneal, dan cairan folikel wanita). Pengalaman yang terjadi menunjukkan perempuan subur mampu menghasilkan respon imun lokal untuk spermatozoa lebih sering dan lebih awal dibanding serum. Reaksi sistemik dari aktivitas ASA terbukti di kemudian hari dan ASA terdeteksi di lendir serviks saat ovulasi dan serum (Gallova, 2009).

Umumnya, titer ASA yang tinggi dapat memblokir tahap awal proses reproduksi. Pasien infertil dengan penyebab imunologis cenderung susah untuk hamil karena ASA tidak hanya mengganggu migrasi spermatozoa,

tetapi juga menghambat proses fertilisasi pada berbagai tahap, dan menunjukkan efek negatif pada perkembangan embrio sejak awal. ASA dapat mempengaruhi mekanisme transportasi spermatozoa dalam saluran kelamin wanita, dapat mengubah kapasitas spermatozoa atau reaksi akrosom, dapat mengganggu pemuahan sel telur, atau memiliki efek post fertilization pada zigot dan embrio preimplantasi (Manyonda, 2006; Gallova, 2009).

Antibodi aglutinasi spermatozoa jauh lebih sering berbentuk IgG dan IgA pada plasma seminal dan IgG serta IgM dan IgE dalam serum. Imunitas sekretori memainkan peran penting dalam infertilitas pria. Perubahan imunologi pada Semen disebabkan oleh reaksi inflamasi lokal dan ditandai terutama oleh ASA atau protein mani pada level patologis pada peradangan fase akut yang dapat mengurangi fungsi spermatozoa (Gallova, 2009).

Mekanisme berikutnya gangguan pemuahan oleh ASA melalui ADCC sitotoksitas tergantung sel yang diperantarai antibodi mengganggu proses kapasitas (perubahan biokimia kalsium dan struktural serta reaksi akrosom yang terpapar enzim seperti acrosin, proteinase seperti trypsin, dan hyaluronidase yang kontak dengan membran plasma telur). Interaksi spermatozoa-telur dapat dipengaruhi oleh serangan ASA, yang mengubah kemampuan fertilisasi dengan mempengaruhi kemampuan spermatozoa berikatan dengan zona pelusida, serta ke membran plasma telur. Ditemukan bahwa antibodi IgA spermatozoa lebih menghambat dibanding IgG (Manyonda, 2006; Gallova, 2009).

Collins et al., menemukan pria dengan positif ASA membutuhkan waktu lebih lama untuk terjadi kehamilan dan konsentrasi spermatozoanya lebih rendah secara signifikan. Penulis menduga bukan ASA sendirian yang menjadi penyebab subfertilitas, tetapi ASA karena konsekuensi kesalahan pada spermatogenesis. Dengan analisis hazard proporsional, status antibodi pada satu pasangan bukan merupakan prediktor independen yang signifikan untuk sampai terjadinya kehamilan (Krause, 2009a).

III

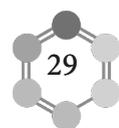
PEMBAHASAN

Keberadaan antisperm antibody pada cairan tubuh merupakan respon imun tubuh terhadap antigen dari spermatogonium, spermatosit, spermatid, spermatozoa, atau antigen eksternal yang serupa dengan antigen spermatozoa. ASA yang terbentuk pada gilirannya akan mempengaruhi fertilitas seseorang terhadap pasangannya. Sehingga pasangan tersebut mengalami kesulitan untuk mendapatkan kehamilan sampai dengan mendapatkan seorang keturunan.

Antigen yang terdeteksi pada spermatozoa terdapat pada seluruh permukaan spermatozoa mulai dari kepala, midpiece dan ekor; bahkan beberapa antigen dibawah permukaan spermatozoa juga terdeteksi. Untuk antigen di bawah permukaan spermatozoa tidak dapat dikenali oleh antisperm antibody secara langsung karena lokasinya. Beberapa antigen di bawah permukaan dapat dikenali karena adanya modifikasi permukaan spermatozoa khususnya di daerah kepala spermatozoa bagian apikal dan equator karena penutupnya terlepas saat terjadi reaksi akrosom.

Faktor resiko yang diduga menjadi pemicu terbentuknya ASA adalah chronic obstruction of the male reproductive tract, congenital bilateral absence of the vas deferens, mullerian prostatic cysts, vasectomy, Iatrogenic obstruction of the epididymis and / or vas deferens, Inflammation and / or infection of the male reproductive tract, varicocele, cryptorchidism, testicular trauma, testicular torsion, testicular surgery, testicular sperm extraction, testicular biopsy, organ sparing surgery for testicular tumors dan homosexuality. Dari serangkaian faktor resiko tersebut yang sudah tetap adalah pembuntuan kronis karena vasektomi karena hasilnya pemeriksaan ASAnya konsisten, sebelum dilakukan repair dan sesudah dilakukan repair.

Terbentuknya ASA dipostulasikan karena adanya kerusakan pada sawar darah testis. Sehingga antigen dari Spermatozoa terpapar pada mediator imun



yang ada pada sirkulasi. Kejadian tersebut yang dipercaya sebagai penyebabnya. Hal tersebut saat ini dirasakan kurang mengena karena pada saat pelepasan spermatozoa dari testis menuju epididimis melalui rete testis, sawar darah testis sudah tidak menutupi area tersebut. Antigen dari spermatozoa yang baru terbentuk tersebut menjadi terpapar pada mediator imun sirkulasi, tetapi tidak semua individu memproduksi ASA berkaitan dengan kejadian tersebut. Oleh karena diduga ada faktor lain yang ikut berperan terhadap keistimewaan spermatozoa terhadap reaksi imun. Faktor tersebut adalah androgen yang diproduksi oleh sel Leidig yang berupa testosteron ikut berperan pada regulasi immune privilege dari spermatozoa.

Untuk infeksi masih terjadi kontroversi tentang penetapannya sebagai penyebab yang tetap karena konsistensinya masih kurang dengan pengecualian infeksi tuberkulosa pada epididimis. Kemungkinan yang terjadi pada infeksi – infeksi yang lain pembuntuan saluran reproduksinya parsial. Berkaitan dengan adanya reaksi silang karena kesamaan epitop antara agen infeksi spermatozoa sudah teramati pada beberapa infeksi khususnya infeksi *Chlamydia trachomatis*. Pada reaksi silang dengan antigen eksogen (infeksi) ini, ASA yang diproduksi mempunyai kekhususan berkaitan dengan lokasi infeksinya. Jadi tidak semua infeksi dengan agen penyebab yang sama di tempat yang berbeda akan memberikan respon imun yang serupa.

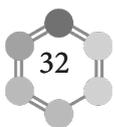
Infeksi *Staphy. aureus* pada saluran reproduksi pria sampai dengan saat ini lebih berkaitan dengan adanya bakteri tersebut pada semen. Yang berakibat penurunan kualitas semen dan spermatozoa yang ada didalamnya terutama jumlah dan motilitasnya. Penelitian tentang pengaruh secretory IgA berkaitan dengan adanya infeksi *Staphy. aureus* pada saluran reproduksi pria belum terdapat pembahasan hanya sebatas bakteriospermia dan terdapatnya peningkatan lekosit pada semen yang diduga sebagai suatu tanda adanya robekan sawar darah testis atau epididimis.

Antisperm antibody merupakan hasil dari reaksi imun adaptif yang berupa imunoglobulin yang diproduksi oleh sel plasma. Penelitian yang sudah dilakukan berkaitan dengan pembentukan ASA karena infeksi pada saluran genital pria didapatkan bahwa tempat produksi ASA berada di epididimis, prostat, vesikula seminalis dan terakhir testis; walaupun yang dianggap paling tetap berada di epididimis. Hal ini sangat berbeda dengan distribusi mediator imun pada genitalia pria dimana distribusi sel plasma yang terbanyak berada di uretra daerah penis, beberapa di daerah fossa navicularis dan prostat.

Demikian juga halnya bila dikaitkan kemungkinan produksi IgA karena pIgR sebagian besar berada di daerah uretra penis, beberapa di daerah prostat dan sedikit di daerah vesikula seminalis, vas deferens, epididimis, duktus efferen dan rete testis.

Level ASA pada cairan tubuh manusia seperti yang dilaporkan pada penelitian-penelitian terdahulu sangat bervariasi besaran prevalensinya. Hal ini terjadi karena media tes yang dipergunakan pada penelitian-penelitian tersebut bervariasi basisnya. Beberapa tes kuantitatif yang digunakan diantaranya seperti yang ditulis oleh Agarwal and Said (2009) adalah : (a) *sperm extract assays seperti immunodiffusion atau immunoelectrophoresis*; (b) *fixed sperm assays seperti immunofluorescence, mixed antiglobulin tests, ELISA, dan RIA*; (c) *live sperm assays seperti macroagglutination, microagglutination, cytotoxicity, atau sperm/cervical mucus interaction tests*.

Keberadaan ASA pada cairan tubuh manusia tidak serta merta akan menghambat proses transportasi spermatozoa pada saluran genital pria dan juga pada saluran genital wanita untuk melakukan pembuahan pada oosit yang letaknya berada pada ujung proksimal dari saluran genital wanita. ASA yang terbentuk pada cairan plasma seminal kebanyakan berupa IgA dan IgG, dimana IgGnya berasal dari imbibisi cairan serum. Sedangkan ASA yang terbentuk pada serum berupa IgM, IgG dan IgE. Sebagaimana kita ketahui bahwa spermatozoa dalam perjalanannya dari saluran reproduksi pria menuju saluran reproduksi wanita, jalur yang dilewati adalah jalur ekstraseluler atau jalur luminal sehingga antibodi atau imunoglobulin yang akan dapat mempengaruhi fungsi spermatozoa tersebut adalah antibodi intraluminal dalam hal ini IgA dan IgG yang berasal dari imbibisi cairan serum. Sehingga IgA akan sangat berperan dalam penghambatan transportasi spermatozoa untuk melakukan pembuahan (fertilisasi) pada oosit sehingga terbentuk zigot



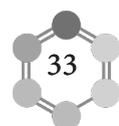
IV

KESIMPULAN DAN SARAN

dan embrio

4.1. Kesimpulan

1. Proses pembentukan antibodi antisperma : obstruksi kronis menyebabkan peningkatan tekanan intraluminal sehingga terjadi distensi epididimis dan pembentukan granuloma spermatozoa. Spermatozoa yang terhambat dihancurkan oleh makrofag intraluminal dan produk degradasinya diserap epitel epididimis dan terpicunya reaksi imunitas humoral. Produksi ASA terjadi secara gradual dan lambat. Mekanisme immuno-toleransi seluler juga terlibat dalam produksi ASA dengan berkurang konsentrasi limfosit T supresor dalam air mani laki-laki.
2. Peranan infeksi genitalia pria terhadap pembentukan antibodi antisperma melalui beberapa cara diantaranya : 1) Obstruksi MRT karena perubahan yang terjadi selama inflamasi dan pasca inflamasi, 2) Robeknya sawar darah testis (SDT) karena adanya peradangan lokal, 3) Penurunan faktor imunomodulator baik seluler maupun humoral yang ada dalam Semen yang biasanya dapat mencegah autoimunitasi spermatozoa, dan 4) Reaksi silang antara antigen mikroorganisma yang bertanggung jawab pada infeksi MRT dengan antigen spermatozoa. Infeksi Staphy. aureus pada saluran reproduksi pria belum terdapat penelitaian tentang pembentukan *secretory* IgA, hanya sebatas bakterioseprmia dan kenaikan lekosit semen.
3. Akibat keberadaan antibodi antisperma terhadap fertilitas : mengganggu migrasi spermatozoa, menghambat proses fertilisasi pada berbagai tahap, dan menunjukkan efek negatif pada perkembangan embrio sejak awal. ASA dapat mempengaruhi mekanisme transportasi spermatozoa dalam saluran kelamin wanita, dapat mengubah kapasitas spermatozoa atau reaksi akrosom, dapat mengganggu pembuahan sel telur, atau memiliki



efek post fertilization pada zigot dan embrio preimplantasi

4.2. Saran

Agar didapatkan gambaran yang menyeluruh berkaitan dengan hambatan fertilisasi oleh ASA, maka perlu dikaji lebih lanjut pengaruh ASA pada saluran reproduksi wanita. Dan untuk mendapatkan hasil pengukuran antisperma antibody dengan kuantifikasi yang tepat, semestinya digunakan alat ukur yang sesuai dengan sensitifitas dan spesifitas yang tinggi.

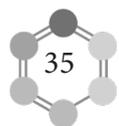
Infection, Immunology and Infertility Series
Book Two

Park Four

**Karakterisasi Molekuler Faktor Virulensi
dan Peranannya pada Patogenesis infeksi
Staphylococcus aureus**

Penulis :

Muhammad Anas



Infection, Immunology and Infertility Series

Book One

Park 1 : Overview Infertilitas

Park 2 : Vulvovaginitis: Etiopathogenesis dan Tinjauan Immunologi Infeksi

Book Two

Park 3 : Peranan Infeksi pada Spermatozoa Terhadap Fertilitas

Park 4 : Karakterisasi Molekuler faktor Virulensi dan peranannya pada patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus*

Book Three

Park 5 : Metode Pengukuran yang Diperlukan untuk Menilai Respon Immunologis.

Park 6 : Respon Imun yang Terjadi akibat Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Genitalia Wanita terhadap Spermatozoa

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum wr wb.

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan kepada saya sehingga buku Infection, Immunology and Infertility Series yang terdiri dari tiga buku dan tiap buku terdapat dua judul yang akan diterbitkan, mulai dari part one berisi book one dan book two; part two berisi book three dan book four; serta part three berisi book five dan book six. Shalawat serta salam saya persembahkan ke haribaan nabi dan rasul Muhammad SAW.

Rangkaian buku ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, H. Mu'asan (alm) dan Hj Siti Fatimah. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kebaikan di dunia dan akhirat.

Saya sampaikan terima kasih yang banyak kepada istriku tercinta Ummu Hanifah, SE atas kelonggaran waktu yang disediakan sehingga naskah ini terselesaikan. Kepada putra putri kami, Rudin, Ilham, Jamil, Ghozi dan 'Aisyah yang senantiasa memberikan semangat yang selalu terbaharui.

Saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada Prof. Dr. dr. Sumarno Reto Prawiro, DMM, SpMK (K) yang senantiasa mengarahkan penulisan naskah buku ini. Juga saya sampaikan terima kasih banyak kepada dr. Hidayat Suyuti, PhD., SpM, Dr. dr. Siti Candra Windubaktiani, SpOG (K) dan Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTMH., M.Sc, SpParK yang senantiasa memberikan evaluasi dan koreksi terhadap naskah yang saya susun.

Kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, saya sampaikan banyak terima kasih atas bantuannya sehingga buku ini dapat diterbitkan.

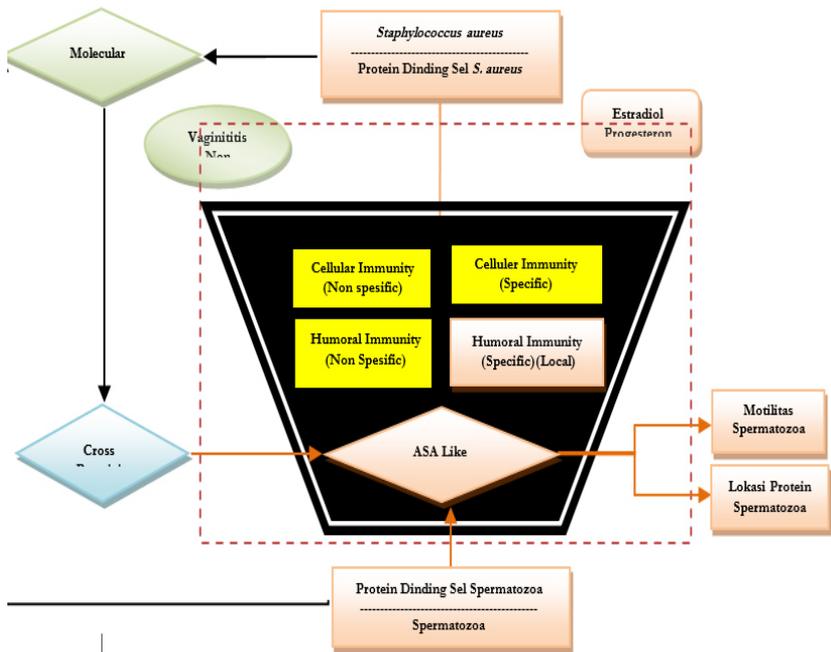
Saran perbaikan senantiasa saya harapkan demi lebih sempurnanya naskah buku ini di masa mendatang.

Billahi taufik wal hidayah. Wassalamu'alaikum wr wb.

Surabaya, Juni 2017

Penulis,

PETA KONSEP



Vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial merupakan penyakit kelamin wanita yang disebabkan oleh polimikrobal dengan dominasi *Lactobacillus* spp yang berkurang. *Staphylococcus* spp merupakan sebagian diantara mikroba yang ikut berperan pada vaginosis bakterial. Khususnya *Staphylococcus aureus* yang paling patogen pada manusia diantara *Staphylococcus* spp.

Pasangan suami istri bila melakukan hubungan badan maka istrinya akan terpapar dengan spermatozoa yang merupakan benda asing. Pada tubuh istri akan terjadi reaksi imunologi karena paparan benda asing dari suaminya yang meliputi reaksi imun bawaan dan reaksi imun adaptif yang berupa reaksi imun

seluler maupun reaksi imun humoral. Pada reaksi imun humoral adaptif akan terbentuk antibodi terhadap spermatozoa yang biasa disebut antibodi antisperma / antisperm antibody (ASA). Antibodi antispermatozoa selalu akan terbentuk setiap kali terjadi paparan spermatozoa suami pada istri. Sehingga jumlahnya semakin lama akan semakin banyak. Pada level tertentu maka antibodi antisperma ini akan menghalangi proses fertilisasi dengan adanya reaksi antara antibodi antisperma dengan spermatozoa dan terjadi reaksi aglutinasi sehingga fungsi dari spermatozoa terganggu khususnya motilitasnya. Karena adanya hambatan motilitas spermatozoa tersebut maka pasangan tersebut menjadi infertil. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab infeksi vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial pada wanita. Dinding sel *Staphylococcus aureus* memiliki kesamaan molekul proteinnya dengan dinding sel spermatozoa yang dikenal sebagai molecular mimicry. Sehingga wanita yang menderita vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial yang salah satu penyebabnya adalah *Staphylococcus aureus* dapat memicu timbulnya substrat yang menyerupai antibodi antisperma (ASA like substance). Oleh karenanya wanita dengan infeksi vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial akan memperbesar kemungkinan untuk menjadi infertil akibat reaksi silang (cross reactivity) yang ditimbulkan oleh adanya kesamaan molekul dinding sel antara spermatozoa dengan *Staphylococcus aureus*.

Vaginitis non spesifik / vaginosis bakterial merupakan penyakit kelamin wanita yang disebabkan oleh polimikrobial dengan dominasi *Lactobacillus* spp yang berkurang. Dengan adanya infeksi pada alat kelamin wanita khususnya di daerah vagina dan servik uteri maka penjamu akan merespon keberadaan bakteri pada daerah tersebut dengan respon imun bawaan maupun respon imun adaptif. Respon imun bawaan meliputi barier epitel, mukus, peptida antimikroba, komplemen dan sel imun seperti netrofil, makrofag dan sel NK. Respon imun adaptif merupakan kelanjutan dari respon imun bawaan melalui APC seperti sel epitel, sel dendrit dan makrofag, serta adanya MHC baik kelas I maupun kelas II. Dengan efektor berupa sel Th1, sel Th2, sel Th17 maupun sel Treg serta sel B atau sel plasma yang memproduksi imunoglobulin / antibodi sirkulasi maupun sekretori. Respon imun yang akan diteliti pada penelitian ini adalah respon imun adaptif humoral lokal yang berupa s-IgA yang disekresikan pada lumen servik uteri terhadap bakteri yang terdeteksi pada infeksi vagina wanita pasangan infertil. Serta dilakukan tes kepekaan antibiotika terhadap bakteri yang terdeteksi pada infeksi vagina wanita pasangan infertil tersebut. Variabel yang akan diteliti diberikan ditandai

Ringkasan Book One

Part one

Overview Infertilitas

Pasangan Infertil adalah pasangan yang telah kawin dan hidup harmonis serta telah berusaha selama satu tahun tanpa menggunakan kontrasepsi tetapi belum hamil. Pasangan Infertil dibedakan menjadi 2 macam yaitu infertil primer dan infertil sekunder. Angka prevalensi pasangan infertil di dunia bervariasi antara 10 - 40%. Di Indonesia 17%, Jawa Timur 26%, Surabaya 25% dan Malang 18%. Besaran angka infertil primer dan sekunder tergantung kondisi daerah masing - masing sesuai dengan faktor penyebab yang menyertainya.

Faktor penyebab infertilitas dibedakan menjadi faktor penyebab pria dan wanita. Faktor penyebab dari pihak pria berkontribusi kurang lebih 40 %, selebihnya dari faktor wanita. Kelainan dari pihak pria terbanyak varikokel kemudian kelainan pada analisis spermanya, sedangkan dari pihak istri terbanyak kelainan tuba falopii dan peritoneum. Penyebab idiopatik kurang lebih 10-30%, diduga banyak berkaitan dengan kelainan imunologis dan berkaitan dengan infeksi sebelumnya. Faktor penyebab infertilitas dapat dicegah bila penyebabnya berasal dari luar khususnya infeksi. Pencegahan infeksi dapat dilakukan dengan cara mencegah seks pranikah, penanganan abortus dan persalinan secara aseptis.

Pemeriksaan dan pengobatan pasangan infertil berkembang pesat karena perkembangan teknologi kedokteran. Intervensi yang dilakukan pada pasangan infertil mulai pengobatan medisinal sampai dengan pemakaian teknologi reproduksi berbantu. Prognosisnya sangat bergantung pada usia pasangan wanita dan faktor - faktor lain yang mengikuti seperti gaya hidup, kondisi lingkungan, kondisi sosiokultural dan juga pemakaian obat-obatan tertentu.

Kata Kunci: pasangan infertil, faktor penyebab, idiopatik, infeksi, pemeriksaan, pengobatan, prognosis

Ringkasan Book Two

part Two

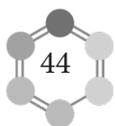
Vulvovaginitis : Etiopatogenesis dan Tinjauan Imunologi Infeksi

Populasi flora normal yang dominan di vagina adalah *Lactobacilli* spp. Ketika jumlah *Lactobacilli* spp berkurang, maka populasi *Gardnerella vaginalis* dan bakteri anaerob lain (*Mobiluncus* species, *Mycoplasma hominis*, dan *peptostreptococcus* species) akan meningkat. Kondisi tersebut menyebabkan naiknya pH vagina dan menimbulkan vaginosis bakterial. Jadi etiologi vaginosis bakterial adalah multi mikroba dengan *Gardnerella vaginalis* yang hampir selalu muncul. *Staphylococcus aureus* termasuk salah satu bakteri yang ikut berperan serta pada terjadinya vaginosis bakterial, dengan kontribusi sebesar 3,05% (4,36% dari 70%).

Faktor risiko vaginosis bakterial meliputi : umur, aktifitas seksual, status hormonal, higiene yang jelek, status imunologi, penyakit kulit yang mendasari, kehamilan, penggunaan IUD, pemakaian douche, pakaian ketat, pemakaian sabun dan deterjen berparfum, spray kewanitaan, obat kontrasepsi, pengobatan pada vagina, antibiotik, STD serta stres. pH vagina yang normal sekitar 3,8-4,2. Pada pH ini pertumbuhan organisme patogen terhambat. Gangguan pH vagina dapat mempengaruhi keseimbangan flora normal vagina, dan berakibat pertumbuhan yang pesat dari organisme patogen. Patogenesis vaginosis bakterial melibatkan perubahan lingkungan vagina yang mengakibatkan perubahan komposisi flora normal vagina sehingga mikroba patogen tumbuh melalui docking, anchoring, proliferasi dan invasi maka terjadilah infeksi.

Respon imun saluran reproduksi wanita meliputi respon imun bawaan dan respon imun adaptif baik respon imun seluler maupun respon imun humoral. Pada respon imun bawaan melibatkan epitel mukosa vagina, flora normal, mukus, sitokin, protein antimikroba, sel dendritik, granulosit, makrofag dan sel NK. Respon imun adaptif humoral dimediasi oleh sel B yang berdiferensiasi menjadi sel plasma dan menghasilkan imunoglobulin meliputi IgM, IgG dan yang terutama pada saluran genital wanita adalah sIgA. Sedangkan respon imun adaptif seluler terdiri dari sel T CD4+ maupun sel T CD8+.

Kata Kunci: vaginitis non spesifik, flora normal, pH, faktor resiko, patogenesis,



Ringkasan Book Two

part three

Peranan Infeksi pada Genitalia Pria Terhadap Fertilitas

Proses pembentukan antibodi antisperma (ASA) diperantarai oleh obstruksi kronis pada saluran genitalia pria yang menyebabkan peningkatan tekanan intraluminal sehingga terjadi distensi epididimis dan pembentukan granuloma spermatozoa. Spermatozoa yang terhambat dihancurkan oleh makrofag intraluminal dan produk degradasinya diserap epitel epididimis dan memicu reaksi imun seluler maupun humoral. Produksi ASA terjadi secara bertahap dan lambat. Mekanisme imunotoleransi seluler juga terlibat pada produksi ASA dengan berkurangnya konsentrasi limfosit T supresor dalam semen pria.

Infeksi genitalia pria memicu pembentukan ASA melalui beberapa cara sebagai berikut : 1) Obstruksi MRT karena perubahan yang terjadi selama inflamasi dan pasca inflamasi, 2) Robeknya sawar darah testis (SDT) karena peradangan lokal, 3) Penurunan faktor imunomodulator baik seluler maupun humoral dalam semen yang biasanya dapat mencegah autoimunisasi spermatozoa, dan 4) Reaksi silang antara antigen mikroorganisma yang bertanggung jawab pada infeksi MRT dengan antigen spermatozoa. Penelitian khusus tentang pembentukan sIgA terhadap iInfeksi *S. aureus* pada saluran reproduksi pria belum didapatkan. Penelitian yang ada berkaitan dengan *S. aureus* hanya sebatas bakterioseprmia dan kenaikan lekosit semen.

Keberadaan ASA pada saluran genitalia pria akan menyebabkan gangguan migrasi spermatozoa, menghambat proses fertilisasi pada berbagai tahap, dan menunjukkan efek negatif pada perkembangan embrio sejak awal. Antibodi antisperma dapat mempengaruhi mekanisme transportasi spermatozoa dalam saluran genitalia wanita, mengubah kapasitas spermatozoa atau reaksi akrosom, mengganggu pembuahan sel telur, atau memiliki efek pasca fertilisasi pada zigot dan embrio preimplantasi. Sehingga kehamilan tidak terjadi atau terjadi gangguan pertumbuhan embrio sejak awal yang mengakibatkan keguguran, sebagai hasil akhir terjadinya infertilitas.

Kata Kunci: infeksi, genitalia, pria, fertilitas, antibodi antisperma, sawar darah

Karakterisasi Molekuler Faktor Virulensi dan Peranannya pada Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus*

*Muhammad Anas**,

*Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah (UMSurabaya) Surabaya**

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan normal flora pada hidung, kulit dan selaput mukosa manusia. Ia termasuk kuman gram(+) membentuk koloni warna kuning emas, tidak bergerak, facultative anaerobe, memfermentasi glukosa dan manitol, katalase dan kogulase (+). Dinding *S. aureus* terbentuk dari peptidoglikan, teichoic acid dan lipoteichoic acid. Teichoic acid terikat kovalen dengan peptidoglikan, sedangkan lipoteichoic acid menancap pada membran sitoplasma. Protein permukaan, lipoprotein, diangkut lewat membran bakteri, ditempatkan pada dinding sel bakteri. *S. aureus* umumnya dianggap sebagai patogen ekstraseluler, tetapi dapat diinternalisasi.

Faktor virulensi *S. aureus* meliputi : a) komponen struktur, b) komponen yang disekresi dibedakan dua macam : toksin dan enzymes, dan c) regulasi genetik. Peranan faktor virulensi terhadap patogenesisnya melalui 2 cara : Invasi dan toksigenesis. Spesifisitas perlekatan bakteri dipengaruhi : tissue tropism, species specificity dan genetic specificity within a species. Sedangkan invasi *S. aureus* meliputi tahapan internalisasi, persistensi dan pertumbuhan intraseluler, menghindari phagosom, menginduksi kematian sel hospes, mengatasi autophagi dan kompetisi besi.

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus*, virulensi, patogenesis

Molecular Characterisation of Virulens Factor and The Role in Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infection

*Muhammad Anas**,

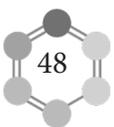
Medical Faculty of UM Surabaya ABSTRACT

ABSTRAK

Staphylococcus aureus is normal flora at human nose, skin, mucous membrane. Gram positive bacteria with gold yellow colony, non motile, facultative anaerobe, glucose and mannitol fermentation, catalase and cogulase (+). *Staphy. aureus* wall consist of peptidoglycan, teichoic acid and lipoteichoic acid. Teichoic acid bind covalently with peptidoglycan, whereas lipoteichoic acid anchoring to cytoplasm membrane. Surface protein, lipoprotein, carries by bacterial membrane, then laies at bacterial wall. *Staphy. aureus* recognized as extracellular bacteria , but it can be internalized.

Virulence factors of *Staphy. aureus* consist of a) structural component, b) secreted componet that differentiated to 2 type : toxin and enzyme, and c) genetic regulation. The role of virulence factors to pathogenesis *Staphy. aureus* views in 2 ways: Invasion and toksigenesis. Specificity of bacterial attachment influenced : tissue tropism, species specificity and genetic specificity within a species. While the invasion of *Staphy. aureus* include stages of internalization, intracellular persistence and growth, avoiding phagosom, induces cell death hospes, overcoming autophagi and iron competition.

Key word : *Staphylococcus aureus*, virulence, pathogenesis



DAFTAR ISI

Halaman Judul	I
Kata Pengantar	ii
Kerangka Konsep	iv
Ringkasan Book One	vi
Ringkasan Book Two	vii
Ringkasan Book Three.....	viii
Abstrak	ix
Abstact	x
Daftar Isi	xi
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Singakatan dan Istilah	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.2. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan	2
1.3. Tujuan	2
1.4. Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Staphylococcus aureus	3
2.1.1. Karakteristik umum	3
2.1.2. Morfologi Staphylococcus aureus	3
2.1.2.1. Ciri – ciri organisme	3
2.1.2.2. Dinding sel Staphylococcus aureus	4
2.2. Faktor virulensi Staphylococcus aureus.....	5
2.2.1. Komponen struktur.....	6
2.2.2. Toksin.....	7
2.2.3. Enzim	8
2.2.4. Regulasi Genetik.....	8

2.3. Patogenesis Staphylococcus aureus	10
2.3.1. Internalisasi Staphylococcus aureus oleh sel hospes.....	11
2.3.2. Persistensi dan pertumbuhan Staphylococcus aureus intraseluler.....	13
2.3.3. Staphylococcus aureus menghindari dari Phagosom	15
2.3.4. Staphylococcus aureus menginduksi kematian sel hospes	18
2.3.5. Staphylococcus aureus mengatasi autophagy	20
2.3.6. Kompetisi besi oleh Staphylococcus aureus dan hospes.....	20
BAB III PEMBAHASAN	22
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	28
3.1. Kesimpulan.....	28
3.2. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Karakteristik fenotip penting dari <i>Staphylococcus aureus</i>	4
Tabel 2.2	The SarA protein family (N315 genome)	9

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1	Pembungkus sel <i>Staphylococcus aureus</i>	4
Gambar 2.1.2	The Lipoprotein biogenesis pathway in <i>Staphy. aureus</i>	5
Gambar 2.2.1	Struktur <i>Staphylococcus aureus</i>	8
Gambar 2.2.2	Regulasi faktor virulensi <i>Staphy. aureus</i> oleh SarA	10
Gambar 2.3.1	Peta perjalanan <i>Staphy. aureus</i> intracellular	13
Gambar 2.3.2	Model phagosomal escape <i>Staphy. aureus</i> dengan aksi sinergi dari δ -toxin dan β -toxin	17
Gambar 2.3.6	<i>Staphylococcus aureus</i> menggunakan iron-regulated surface determinant (Isd) untuk menangkap besi dari hemoglobin	21
Gambar 3.	Switching klas IgA di Usus	26

DAFTAR SINGKATAN

<i>ATF-2</i>	: <i>activating transcription factor 2</i>
<i>ADAM10</i>	: <i>a disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein</i>
<i>APAF-1</i>	: <i>apoptosis-activating factor-1</i>
<i>APO-1/Fas</i>	: <i>apoptosis antigen 1</i>
<i>ASC</i>	: <i>apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-associated recruitment domain</i>
<i>AtI</i>	: <i>autolysin</i>
<i>Bcl-2</i>	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
<i>CD95</i>	: <i>cluster of differensiation 95</i>
<i>CFT-1</i>	: <i>airway epithelial cells which are derived from a patient with cystic fibrosis carrying the most common CFTR mutation, DF508</i>
<i>CFTR</i>	: <i>CF transmembrane conductance regulator</i>
<i>CHiPs</i>	: <i>chemotaxis inhibitor protein</i>
<i>ClfA, ClfB</i>	: <i>clumping factor A and B</i>
<i>ClpXP protease</i>	: <i>probably directly regulate proteolysis of dps during exponential phase</i>
<i>Cna</i>	: <i>collagen binding proteins</i>
<i>CytC</i>	: <i>sitokrom C</i>
<i>DIC</i>	: <i>disseminated intravascular coagulation</i>
<i>Eap</i>	: <i>extra cellular adherence protein</i>
<i>ECM</i>	: <i>matriks ekstraselular</i>
<i>Elk-1</i>	: <i>member of ETS oncogene family</i>
<i>ERK</i>	: <i>extracellular signal-regulated kinases</i>
<i>ETA, ETB</i>	: <i>eksfoliative toxins</i>
<i>FAK</i>	: <i>focal adhesion kinase</i>
<i>Fc IgG</i>	: <i>fragment crystallizable Immunoglobulin G</i>

FnbpA, FnbpB : fibronectin binding proteins A and B
GFP : green-fluorescent protein
Hla : α -hemolysin
hMDM : human monocyte-derived macrophages
HOCl : asam hipoklorit
Hsc70 : heat shock protein cognate 70
Hsp60 : heat shock protein 60
HUVEC : human umbilical vein endothelial cells
IsdA : iron-regulated surface determinant A
JNK : c-JunN-terminal kinase
CFT1-LCSFN : CF airway cell line engineered to express the wild-type CF gene
DTH : Delayed Type Hypersensitivity
Lgt : phosphatidyl glycerol diacylglyceryl transferase
LLO : listeriolysin O
Lnt : N-acyltransferase
Lpp : Lipoprotein
Lsp : Lpp spesifik signal tipe II peptidase
LTA : (lipo-) teichoic acids
MAC-T : mammary epithelial cell line
Map : MHC class II analog protein
MAPK : mitogen-activated protein kinase
MOI : multiplicity of infection
MRSA : methicillin resistant *Staphylococcus aureus*
MSCRAMM : microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules

MyD88 : Myeloid Differentiation Factor 88
NF κ B : Nuclear Factor Kappa B
NLRP3 : NOD-like receptor protein3
NOD : Nucleotide Oligomerization Domain
ORFs : Open reading frames
PCD : programmed cell death (apoptosis)
PFT : pore-forming toxin
PGN : Peptidoglycan
PI3K : phosphoinositide 3-kinase
pIgA : Polimer Immunoglobulin A
Pls : plasmin sensitive protein

<i>PMN</i>	: <i>Polimorfonuklear</i>
<i>PPD</i>	: <i>Purified Protein Derivative</i>
<i>PRR</i>	: <i>pattern recognition receptors</i>
<i>PSMs</i>	: <i>phenol-soluble modulins</i>
<i>PVL</i>	: <i>Panton Valentine Leukocidin</i>
<i>SarA</i>	: <i>staphylococcal accessory regulator A</i>
<i>SCIn</i>	: <i>Staphylococcal complement inhibitor</i>
<i>SCVs</i>	: <i>small colony variants</i>
<i>SdrD</i>	: <i>serine aspartic acid repeat proteins</i>
<i>Sec</i>	: <i>general secretory pathway</i>
<i>SIF</i>	: <i>sperm immobilization factor</i>
<i>sIgA</i>	: <i>secretory IgA</i>
<i>SpA</i>	: <i>protein A</i>
<i>STD</i>	: <i>sexual transmitted diseases</i>
<i>Tat</i>	: <i>twin arginine protein transport pathway</i>
<i>TCRS</i>	: <i>two component regulatory systems</i>
<i>THP-1</i>	: <i>human acute monocytic leukemia cell line</i>
<i>TLR</i>	: <i>toll-like receptor</i>
<i>TNFR1</i>	: <i>tumor necrosis factor α 1</i>
<i>TSST-1</i>	: <i>toxic shock syndrome toxin-1</i>
<i>WTA</i>	: <i>wall teichoic acid</i>

I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) adalah satu diantara kuman penyebab vulvovaginitis. Vulvovaginitis adalah kondisi ginekologis yang paling sering dijumpai para praktisi di pelayanan primer pada wanita (Latif, 2012). Kejadian vulvovaginitis berkaitan erat dengan kejadian sexual transmitted diseases (STD). Tingginya kejadian STD, intervensi medis yang tidak higienis khususnya saat persalinan dan induksi abortus menyebabkan kejadian infertilitas sekunder lebih tinggi dibandingkan infertilitas primer (Dhont, et al., 2011).

Staphylococcus aureus yang diisolasi dari servik uteri wanita infertil dapat menyebabkan imobilisasi spermatozoa manusia secara *in vitro*. Komponen aktif tersebut berada di ekstraseluler dan berupa protein yang disebut sperm immobilization factor (SIF) dengan berat molekul 20 kDa (Prabha, et al., 2009). Prabha, et al., (2011) mengatakan berat molekulnya 57 kDa. Ratri (2008) mendapatkan 37kDa. Sunihapsari (2002) menunjukkan bahwa protein membran spermatozoa tidak dikenali oleh antibodi *Staphylococcus* koagulasi negatif isolat vagina. Kultur sekret vagina yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSSA Malang selama 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 didapatkan angka kejadian *Staphylococcus* sebesar 30,5% dengan *S. aureus* sebesar 4,2% dan *Staphylococcus* koagulase negatif sebesar 26,3% (WHONET, 2012).

Staphylococcus aureus umumnya dianggap sebagai patogen ekstraseluler, tetapi dapat diinternalisasi oleh berbagai tipe sel *in vitro* (misalnya fibroblas, osteoblas, keratinosit dan endotel) serta pada model binatang (endotel dan osteoblasts) (Bartlett and Hulten, 2010). Faktor virulensi *S. aureus* berupa : komponen struktural, protein yang menempel di permukaan bakteri, protein yang disekresikan bakteri dan regulasi genetik (Lowy, 1998; Shrestha, 2012). Faktor virulensi tersebut berperan pada patogenesis infeksi yang disebabkan

S. aureus. Patogenesis infeksi *S. aureus* merupakan proses yang kompleks melibatkan bermacam-macam komponen ekstraseluler dan dinding sel yang ekspresinya terkoordinir pada tahapan yang berbeda selama infeksi. Ekspresi adhesin dinding sel, terjadi selama inisiasi kolonisasi sementara produksi toksin berkaitan dengan penyebaran ke jaringan terjadi pada fase akhir infeksi (Lowy, 1998; Cheung, et al., 2008; Bartlett and Hulten, 2010).

Karya tulis ini akan membahas faktor virulensi *S. aureus* serta patogenesis infeksi yang disebabkan karena keberadaan di sel atau jaringan hospes.

1.2. Permasalahan

Berdasarkan kajian latar belakang tersebut maka terdapat permasalahan berikut:

1. Apa yang menjadi faktor virulensi *Staphylococcus aureus* ?
2. Bagaimana peranan faktor virulensi *Staphylococcus aureus* terhadap patogenesis dari infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* ?

1.3. Tujuan

1. Untuk mendapatkan gambaran faktor virulensi *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mendapatkan gambaran peranan faktor virulensi *Staphylococcus aureus* terhadap patogenesisnya.

1.4. Manfaat

1. Mengetahui faktor virulensi yang dimiliki oleh *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui kontribusi faktor virulensi *Staphylococcus aureus* terhadap patogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

2

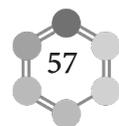
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Karakteristik umum

Staphylococcus sp. merupakan bakteri yang tersebar luas di alam, terutama ditemukan di kulit, lapisan kelenjar, membran mukosa dari mamalia dan burung. Insiden ditemukannya *S. aureus* di kulit sebesar 5-25%, di hidung dan nasofaring 20-85%, di orofaring 35-40%, di mulut 10-35%, di usus besar 30-50%, dan di vagina 5-15%. Genus *Staphylococcus* sekitar memiliki 20 spesies. Tiga spesies yang terpenting secara klinis adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), dan *Staphylococcus saprophyticus* (*S. saprophyticus*). Meskipun demikian, hanya *S. aureus* dan *S. epidermidis* yang memiliki interaksi secara signifikan dengan manusia (Johnson, et al. 2011; Todar, 2016).

Staphylococcus aureus umumnya dianggap sebagai patogen ekstraseluler, tetapi dapat diinternalisasi oleh berbagai tipe sel in vitro (misalnya fibroblas, osteoblas, keratinosit dan sel endotel) dan pada sel binatang (sel endotel dan osteoblas). Proses ini penting dalam penyebaran infeksi sistemik, menghindari tekanan antibiotik dan sistem kekebalan hospes. Data percobaan in vitro dan hewan model menunjukkan sifat kronis dan berulang pada endokarditis dan osteomielitis, keadaan ini dapat disebabkan oleh bakteri intraseluler. *S. aureus* yang diinternalisasi telah dijelaskan pada infeksi kronis dan berulang pada manusia (Bartlett and Hulten, 2010). *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit yang dimediasi toksin seperti sindrom syok toksik. Selain itu, *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi lokal jinak seperti furunkulosis. Jika pertahanan imun lokal bawaan dengan limfosit polimorfonuklear (PMN) tidak cukup, *S. aureus* dapat menyebarluaskan dan akhirnya menyebabkan penyakit organ parah seperti osteomyelitis dan menyebabkan infeksi yang mengancam nyawa seperti endokarditis dan sepsis (Schmaler, 2010; Johnson, et al., 2011).



2.1.2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

2.1.2.1. Ciri-ciri organisme

Staphylococcus sp. merupakan sel berbentuk bulat (spheres) atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm (rata-rata 0,8 μm). Hasil pewarnaan dari perbenihan padat memperlihatkan susunan bakteri bergerombol seperti buah anggur, sedangkan yang berasal dari perbenihan cair bisa terlihat bentukan kuman yang lepas sendiri-sendiri, berpasangan, atau rantai pendek. *Staphylococcus* sp. tersusun menggerombol karena *Staphylococcus* membelah menurut 2 sumbu panjang (Johnson, et al, 2011; Todar, 2016).

Table 2.1. Karakteristik fenotip penting dari *Staphylococcus aureus*

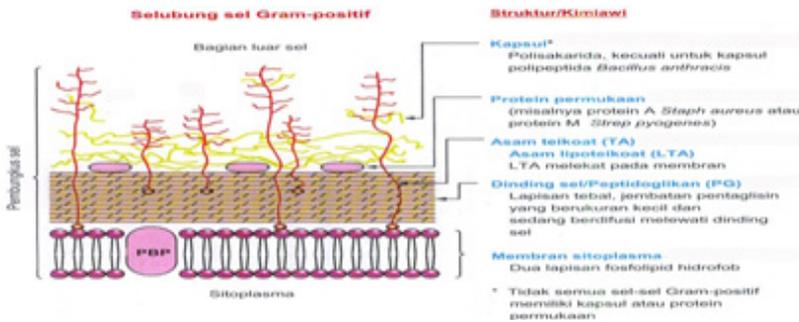
1	Gram-positive, cluster-forming coccus
2	nonmotile, nonsporeforming facultative anaerobe
3	fermentation of glucose produces mainly lactic acid
4	ferments mannitol (distinguishes from <i>S. epidermidis</i>)
5	catalase positive
6	coagulase positive
7	golden yellow colony on agar
8	normal flora of humans found on nasal passages, skin and mucous membranes

Disadur dari Todar, 2016

2.1.2.2. Dinding sel *Staphylococcus aureus*

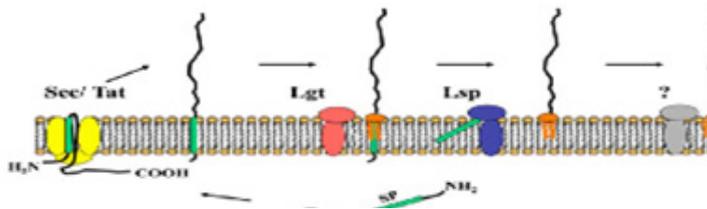
Integritas struktural dan bentuk *S. aureus* dikelola oleh dinding sel. Konstituen utama dari dinding sel adalah peptidoglycan (PGN). Peptidoglycan merupakan polimer terbuat dari mucopeptides disintesis sebagai rantai pentapeptide dihubungkan dengan disakarida yang tersusun dari asam N-acetylmuramic dan N-asetilglukosamin. Lapisan PGN mengandung molekul yang berbeda-beda termasuk lipoteichoic acids (LTA) dan protein yang terikat secara kovalen dan non kovalen. Dinding teichoic acid dan LTA terdiri dari polimer glycerolphosphate. Dinding teichoic acid terikat secara kovalen dengan PGN, sedangkan LTA menancap pada lapisan luar membran sitoplasma dengan glikolipid. Protein permukaan diangkut

melalui membran bakteri dan dimodifikasi lebih lanjut untuk ditempatkan pada dinding sel atau ditancapkan pada membran bakteri yang dikenal sebagai lipoprotein (Lpp) (Schmaler, 2010; Johnson, et al, 2011).



Gambar 2.1.1. Pembungkus sel *Staphylococcus aureus*
Disadur dari Johnson, et al, 2011

Jalur biogenesis Lpp pada *S. aureus* disekresikan melalui general secretory (Sec) (Bartlett and Hulten, 2010) or twin arginine protein transport (Tat) pathway. Prekursor Lpp diekspor dengan motif L-3-[A/S/T]-2-[G/A]-1-C+1 (lipobox) dengan penambahan residu sistein yang diperlukan untuk lipidasi. Phosphatidyl glycerol diacylglyceryl transferase (Lgt) menambahkan bagian diacylglyceryl ke sistein melalui thioether linkage dan Lpp spesifik signal tipe II peptidase (Lsp) memotong signal peptida membentuk pra-Lpp. Langkah pematangan akhir pada bakteri Gram-negatif, N-acyltransferase (Lnt) menempelkan asam lemak ketiga pada sistein yang dimodifikasi lipidnya menghasilkan triacylated Lpp matang. Terdapat satu grup diidentifikasi sebagai diacylated Lpp pada *S. aureus*, karena kecacatan gen *lnt* homolog. Kurokawa dkk (2009) menemukan triacylated Lpp, mereka beranggapan bahwa acyltransferase lain memodifikasi diacylated Lpp lebih lanjut pada *S. aureus* (Schmaler, 20



Gambar 2.1.2 The Lipoprotein biogenesis pathway in *S. aureus*. Lpp dijabarkan dengan motif baku (lipobox) dan sinyal peptida N-terminal (hijau). Prekursor-Lpp ditranslokasikan melalui membran oleh Sistem Sec atau Tat (kuning). Phosphatidyl glycerol diacylglycerol transferase (Lgt, merah) berikatan kovalen dengan grup diasilgliserol ke sistein dalam lipobox, dan Lipoprotein-specific type II signal peptidase (Lsp, biru) memotong sinyal peptida. Acyltransferase (? , abu-abu) menambahkan lipid tambahan untuk sistein di *S. aureus*.

Disadur dari Schmalzer, 2010.

Protein prekursor dengan beragam fungsi perlu diangkut ke tujuan sel yang benar saat menjalani perubahan struktural. Sifat tertentu dari protein yang disintesis akan menentukan lokasi akhirnya. Sebagai contoh, sinyal retensi dinding sel menghasilkan ikatan kovalen protein dinding sel, sementara domain spanning transmembran mengarah ke penyisipan protein ke dalam sel membran. Jika sifat ini tidak ada, protein tersebut akan disekresikan ke ruang ekstraseluler seperti pada kasus enterotoksin dan hemolysin (Bartlett and Hulten, 2010).

2.2. Faktor virulensi *Staphylococcus aureus*

Faktor virulensi *S. aureus* berupa : a. Komponen struktural, b. Protein yang menempel di permukaan bakteri, c. Protein yang disekresikan oleh bakteri dan d. Regulasi gen. (Lowy, 1998; Johnson, et al, 2011; Shrestha, 2012) Faktor virulensi yang berkontribusi pada patogenesis *S. aureus* dan yang menginduksi toksin pembentuk pori (α -hemolisin, Panton Valentine leukocidin), superantigens (enterotoksin, toxic shock syndrome toxin-1), inhibitor fagositosis (kapsul polisakarida, protein A), dan molekul penghindaran imunitas (protein penghambatan chemotaxis, staphylokinase, aureolysin) (Bartlett and Hulten, 2010; Johnson, et al., 2011; Todar, 2016).

2.2.1. Komponen struktur :

1. Kapsul :

Staphylococcus aureus memproduksi mikro kapsul dengan 11 tipe. Pada manusia 75% mikro kapsul yang dibentuk bertipe 5 dan 8. Mikro kapsul tipe 5 berkaitan dengan MRSA (Methicillin Resistant *S. aureus*). (Lowy, 1998). Kapsul *S. aureus* dapat menghambat kemotaksis dan fagositosis, menghambat proliferasi sel mononuklear, memfasilitasi perlekatan pada benda asing (Johnson, et al., 2011; Shrestha, 2012).

2. Peptidoglycan :

Lima puluh persen dinding sel *S. aureus* terbentuk dari peptidoglycan. Peptidoglycan tersusun atas subunit polisakarida N-acetylglucosamine dan N-acetylmuramic acid dengan 1,4- β linkage. PGN mempunyai aktifitas menyerupai endotoksin, stimulasi pelepasan sitokin oleh makrofag, aktivasi komplemen dan agregasi trombosit. Pada strain tertentu juga dapat menyebabkan DIC (disseminated intravascular coagulation) (Lowy, 1998). PGN memicu produksi IL-1 (pirogen endogen dengan aktifitas mirip endotoksin) dan antibodi opsonisasi oleh monosit, kemoatraktan lekosit (Shrestha, 2012).

3. Protein Permukaan :

Sebagian besar protein permukaan *Staphylococcus* mempunyai ciri struktur tertentu. Ciri ini diantaranya adalah sekuens sinyal sekretori pada N terminal, yaitu asam amino bermuatan positif yang memanjang sampai sitoplasma, domain spanning pada membran hidrofobik, dan regio anchoring pada dinding sel, semuanya terdapat pada karboksil terminal. Ligan binding domain pada N terminal yang terekspos pada permukaan sel bakteri menjadikan protein ini sebagai adhesin (Lowy, 1998).

Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (MSCRAMM) terlibat dalam perlekatan *S. aureus* ke sel hospes atau matriks ekstraseluler sebagai langkah awal terjadinya infeksi (Lowy, 1998; Bartlett and Hulten, 2010). MSCRAMM memiliki sinyal pemilahan dinding sel bermotif LPXTG berikatan kovalen dengan dinding sel PGN yang dilakukan oleh sortase A (Bartlett and Hulten, 2010; Todar, 2016; Edwards, et al., 2012). MSCRAMM diidentifikasi kemampuannya untuk mengikat protein matriks ekstraseluler seperti

fibrinogen (ClfA, ClfB), fibronektin (FnbpA, FnbpB), dan kolagen (Cna). (Smeltzer, 2000; Bartlett and Hulten, 2010; Geoghegan, et al., 2010), Sdr, EbpS, dan Map (Smeltzer, 2000), laminin dan fibronektin (Todar, 2016), Eap, SasG, Pls, IsdA, SdrC, dan SdrD (Bartlett and Hulten, 2010; Sinha and Fraunholz, 2010).

Protein A merupakan protein permukaan berikatan kovalen dengan lapisan PGN, menghambat antibodi yang memperantarai clearance melalui ikatan dengan reseptor Fc IgG1, IgG2 dan IgG4, bersifat kemoatraktan terhadap lekosit, dan anti komplemen (Lowy, 1998; Shrestha, 2012). Faktor permukaan yang menghambat ingesti pada proses fagositosis atau penyamaran imunologis, antara lain kapsul, protein A, koagulase dan clumping factor (Johnson, et al., 2011; Todar, 2016).

2.2.2. Toksin:

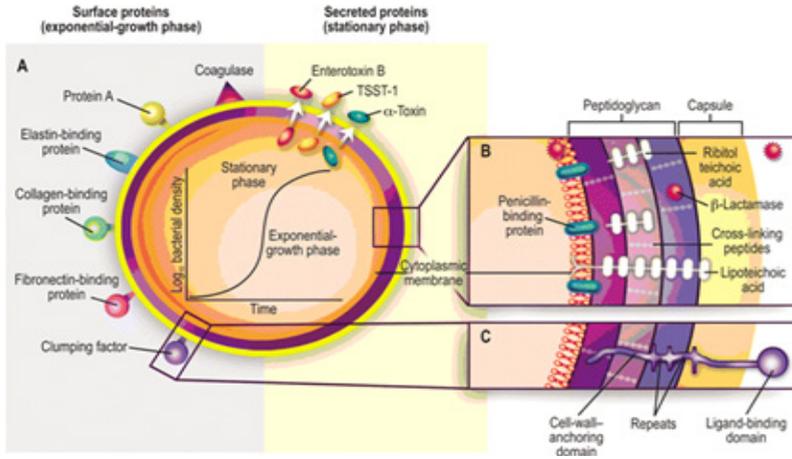
Staphylococcus memproduksi toksin yang tergolong dalam eksotoksin, diantaranya adalah :

1. Eksotoksin, seperti a. Enterotoksin (A-F) yang menyebabkan staphylococcal food poisoning, dan b. Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) menyebabkan kebocoran atau kerusakan selular dari sel endotel (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016).
2. Leukocidin (P-V) yang dapat membunuh lekosit PMN dan makrofag, secara epidemiologis berhubungan dengan severe cutaneous infection (Lowy, 1998; Lowy, F.D., 2011; Shrestha, 2012; Fraunholz, M. and Sinha, B., 2012; Todar, 2016).
3. Hemolisin (α , β , γ , dan δ) berfungsi untuk melisiskan eritrosit (Shrestha, 2012; Todar, 2016).
4. Eksfoliative toksins (ETA, ETB) dapat menyebabkan eritema dan menyisihkan stratum corneum yang menyebabkan separasi dan lepasnya sebagian besar lapisan superficial dari epidermis seperti staphylococcal scalded skin syndrome (Lowy, 1998; Kato, et al., 2011; Lowy, F.D., 2011; Shrestha, 2012; Todar, 2016).
5. Sitotoksin, merupakan α -toksin, menyebabkan pembentukan pori-pori dan menginduksi proinflamatori pada sel mamalia (Lowy, 1998; Johnson, et al, 2011).

2.2.3. Enzim :

Staphylococcus memproduksi banyak enzim. Enzim yang diproduksi S. aureus sebagian besar dipergunakan sebagai invasin yang dibutuhkan untuk melakukan invasi ke dalam jaringan hospes dan penyebaran infeksi. Enzim-enzim tersebut seperti di bawah ini :

1. Katalase berfungsi sebagai katalis hidrogen peroksida (Shrestha, 2012; Todar, 2016)
2. Koagulase merupakan aktifator protrombin yang merubah fibrinogen menjadi fibrin sehingga terjadi pembekuan darah (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016)
3. Hyaluronidase akan melakukan hidrolisa asam hyaluronik jaringan dan mempermudah penyebaran Staphylococcus (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016).
4. Fibrinolysin berguna untuk mencairkan bekuan fibrin yang terbentuk (Shrestha, 2012)
5. Kinases (Staphylokinase) mengaktifasi plasminogen menjadi plasmin yang digunakan untuk mencerna fibrin dan memecah bekuan darah (Todar, 2016).
6. Lipase perannya pada patogenesis belum jelas ditunjukkan secara langsung atau tidak langsung tetapi diduga berkaitan dengan nutrisi dan metabolisme bakteri (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016)
7. Nuclease perannya pada patogenesis belum jelas ditunjukkan secara langsung atau tidak langsung tetapi diduga berkaitan dengan nutrisi dan metabolisme bakteri (Shrestha, 2012; Todar, 2016)
8. Penicillinase berfungsi untuk mendegradasi β -lactam sehingga bakteri tetap hidup (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016)
9. Phosphatase yang diproduksi S. aureus berkorelasi dengan sensitivitasnya terhadap β -lactam (Cannon and Hawn, 1963; Shrestha, 2012)
10. Protease perannya pada patogenesis belum jelas ditunjukkan secara langsung atau tidak langsung tetapi diduga berkaitan dengan nutrisi dan metabolisme bakteri (Lowy, 1998; Shrestha, 2012; Todar, 2016)



Gambar 2.2.1. Struktur *Staphylococcus aureus*. Gambar di atas merupakan gambar *S. aureus* dengan bagian-bagian pembungkus sel, protein permukaan dan protein yang disekresikan, dilengkapi kurva pertumbuhan bakteri. Pada panel A, sebelah kiri, menunjukkan protein permukaan dan protein yang disekresikan. Sintesa dari protein-protein ini tergantung pada fase pertumbuhan *S. aureus*, seperti yang tampak pada grafik, dan dikontrol oleh gen regulator *agr*. Protein permukaan disintesa selama fase pertumbuhan eksponensial sedangkan protein yang disekresikan disintesa saat memasuki fase pertumbuhan stasioner. Panels B, kanan atas, menunjukkan irisan melintang pembungkus sel. Panel C, kanan bawah, menunjukkan protein permukaan yang mempunyai struktur sama terhadap clumping factor, termasuk segmen asam amino yang berulang. Disadur dari Lowy, 1998.

2.2.4. Regulasi Genetik

Koordinasi ekspresi faktor virulensi *S. aureus* dikontrol oleh elemen global regulator termasuk : 1) Two Component Regulatory Systems (TCRS) dan 2) SarA protein family seperti pada tabel 2.2. SarA meningkatkan ekspresi toksin α , β dan δ pasca eksponensial secara langsung atau tidak langsung melalui upregulasi *agr*. Pada *S. aureus*, lokus *agr* merupakan TCRS yang bertindak sebagai molecular switch untuk menghidupkan transkripsi gen toksin sambil menekan sintesis protein dinding sel selama fase pasca eksponensial (Lowy, 1998; Cheung, et al., 2008).

Berdasarkan struktur SarA, SarR, SarS dan MgrA, ada lima kemungkinan mekanisme regulasi :

1. Oxidation sensing mechanism untuk residu sistein yang ditujukan untuk

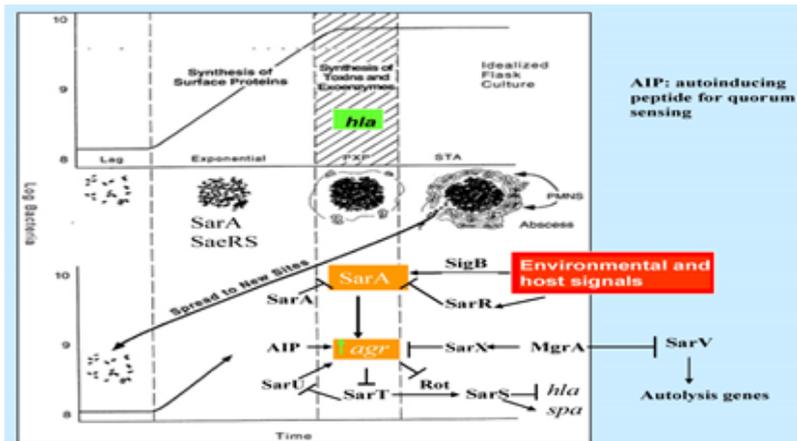
- MgrA;
2. Mengikat target DNA (seperti, dengan SarR) untuk memfasilitasi kontak DNA dengan protein regulator;
 3. Pembentukan 3 dimer SarA untuk menutup promoter DNA, menghasilkan konfigurasi tertutup yang tidak ditranskripsi (seperti menekan SarA);
 4. Pembentukan heterodimer, menyerupai SarS, dengan keluarga Sar yang kompatibel (seperti SarA dan SarR) yang akan mempengaruhi fungsi homodimer;
 5. Competitive displacement dari satu homolog dengan lainnya, seperti penggantian SarR oleh SarA dari promoter agr (Cheung, et al., 2008).
- Tabel 2.2. The SarA protein family (N315 genome)*

Gene symbol	Protein subfamily	Putative function
SarA	single domain (124 residues)	Active genes via agr and agr independent pathways
SarR	single domain (115 residues)	A negative regulator of sarA nad positive activator of agr (Cheung et al., 2004)
SarS	two domain (250 residues)	An activator protein A synthesis (Tegmark et al., 2000)
SarT	single domain (118 residues)	An activator of sarS and a repressor of alpha hemolysin synthesis (Cheung et al., 2004)
SarU	two domain (247 residues)	A positive regulator of agr (Cheung et al., 2004)
Rot	single domain (133 residues)	A repressor of toxin synthesis, opposite to agr (Said Salim et al., 2003)
SarX	single domain (141 residues)	A negative regulator of agr repressed by MgrA (Manna and Cheung, 2006a)
MgrA	MarR homolog (147 residues)	A regulator of autolysis and agr (also called Rat or NorR) (Truong Bolduc et al., 2003)
SarZ	MarR homolog (148 residues)	A positive regulator of hla (Kaito et al., 2006)
SarV	single domain (116 residues)	A regulator of autolysis repressed SarA and MgrA (Manna et al., 2004)
SarY	two domain (247 residues)	Function unknown

Disadur dari Cheung, et al., 2008 dengan modifikasi

Keberhasilan *S. aureus* dalam melakukan infeksi dikaitkan dengan regulator protein, keluarga protein SarA, yang digunakan untuk merespon perubahan microenvironmentnya. Studi struktural menunjukkan bahwa SarA, SarR, SarS, MgrA dan semua anggota keluarga protein ini merupakan winged helix proteins dengan variasi kecil. Studi mutagenesis SarA mempunyai motif the winged helix yang penting untuk mengikat DNA dan fungsinya (Cheung, et al., 2008).

SarS mengaktifasi transkripsi *spa* dan menekan *hla*. *sarS* ditekan oleh *agr* dan *mgrA* dan diaktifasi oleh ClpXP protease. Aktifasi *sarT* mengupregulasi *sarS*, merepresi *hla* dan mengaktifasi *spa*. *sarU* ditekan SarT, didownmodulasi *agr*. Sebab *sarU* aktivator ekspresi *agr*. Rot merepresi sintesa toksin dan upregulasi sintesa protein dinding sel. Molekul *agr* RNAlIIII berinteraksi dengan *rot* mRNA menghambat translasi Rot (Queck, et al., 2008). MgrA aktifator ekspresi *sarX*. SarX merepresi *agr*, sehingga berimplikasi dengan tambahan regulatory loop dimana *mgrA* dapat memodulasi ekspresi *agr*. MgrA mengupregulasi eksoprotein dan downregulasi protein permukaan. Efek MgrA pada autolysis dimediasi oleh *sarV* yang merupakan positive regulator dari beberapa enzim autolytic. SarZ mampu merestorasi hemolisis mutan *S. aureus cvfA* yang ekspresi *hlnya* rusak. Ekspresi *sarV* rendah atau tidak terdeteksi pada pertumbuhan *in vitro* tetapi meningkat signifikan pada mutan *mgrA* dan *sarA*, konsisten dengan represi *sarV* oleh *mgrA* dan *sarA*. Mutan *sarV* lebih resisten terhadap detergen atau lisis dinding sel yang dimediasi antibiotik. *sarV* merupakan bagian dari jalur umum yang mana *mgrA* dan *sarA* mengontrol autolysis pada *S. aureus* (Cheung, et al., 2008).

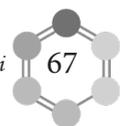


Gambar 2.2.2. Regulasi faktor virulensi *S. aureus* oleh SarA. Biasanya, sintesis adhesin permukaan sel sebagai fibronectin binding protein A (FnbA) selama fase eksponensial bertepatan dengan ekspresi SarA dan SaeRS. Selama transisi dari fase eksponensial ke pasca eksponensial, sintesa protein dinding sel terganggu dan produksi toksin ekstraseluler dimulai. Transisi ini bertepatan dengan ekspresi maksimal SarA dan mengaktifasi agr. Ekspresi SarA ditekan oleh SarA dan SarR. SigB, faktor transkripsi yang diinduksi oleh stres, juga mengaktifkan salah satu promotor SarA (promotor P3). Di sisi lain, agr dikendalikan oleh SarA, peptida yang mengautoinduksi quorum sensing, TCRS lainnya, MgrA, SarX dan SarU. Aktivasi agr mengakibatkan up-regulasi sistem TCRS yang lain yaitu SaeRS dan mendown-regulasi protein homolog SarA yaitu Rot. Ini akhirnya akan merepresi dua produk gen SarT dan SarS. SarT adalah aktifator SarS, yang merupakan represor produksi toksin alfa dan aktifator sintesis protein A, sehingga dapat menjelaskan peningkatan produksi α -toksin dan represi protein A pada saat aktivasi agr. Aktivasi agr juga mengakibatkan amplifikasi sinyal asli dengan mengaktifkan SarU, regulator positif dari agr. Disadur dari Cheung, 2008.

2.3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Patogenisitas adalah kemampuan menyebabkan penyakit pada organisme. Mikroba mengekspresikan patogenisitas melalui virulensinya. Faktor penentu virulensi patogen adalah salah satu dari sifat struktural, biokimia atau genetik. Dua cara utama patogenitas bakteri yang mendasari timbulnya penyakit (Todar, 2016) adalah :

1. Invasi adalah kemampuan untuk memasuki jaringan. Hal ini mencakup mekanisme kolonisasi (perlekatan dan multiplikasi awal), produksi zat ekstraselular yang memfasilitasi invasi (invasin) dan kemampuan untuk mengatasi mekanisme pertahanan hospes.



2. Toksigenesis adalah kemampuan menghasilkan toksin. Bakteri menghasilkan dua jenis toksin, eksotoksin dan endotoksin. Beberapa toksin bakteri dapat beraktifitas di lokasi kolonisasi dan berperan dalam invasi

Hubungan antara hospes – patogen adalah dinamis, karena masing-masing dapat memodifikasi aktifitas dan fungsi dari yang lainnya. Hasil hubungan tersebut tergantung pada virulensi patogen dan resistensi atau kerentanan hospes, terutama efektivitas mekanisme pertahanan hospes. Beberapa pengamatan membuktikan secara tidak langsung, spesifisitas perlekatan bakteri ke sel atau jaringan hospes (Fraunholz and Sinha, 2012; Todar, 2016), sebagai berikut :

1. Tissue tropism : bakteri tertentu diketahui memiliki preferensi yang jelas terhadap jaringan tertentu.
2. Species specificity : bakteri patogen tertentu hanya menginfeksi spesies hewan tertentu.
3. Genetic specificity within a species : strain atau ras tertentu dalam suatu spesies secara genetik kebal terhadap patogen.

Patogenesis *S. aureus* merupakan proses yang kompleks melibatkan bermacam-macam komponen ekstraseluler dan dinding sel yang ekspresinya terkoordinir pada tahapan yang berbeda selama infeksi. Ekspresi adhesin dinding sel, termasuk protein A, fibrinogen dan fibronectin binding proteins, collagen binding proteins yang termasuk dalam MSCRAMM, terjadi selama inisiasi kolonisasi sementara produksi toksin berkaitan dengan penyebaran ke jaringan (seperti hemolisins, toksin, lipase, proteases dan lain-lain) pada fase akhir infeksi (Lowy, 1998; Cheung, et al., 2008; Bartlett and Hulten, 2010; Geoghegan, et al., 2010).

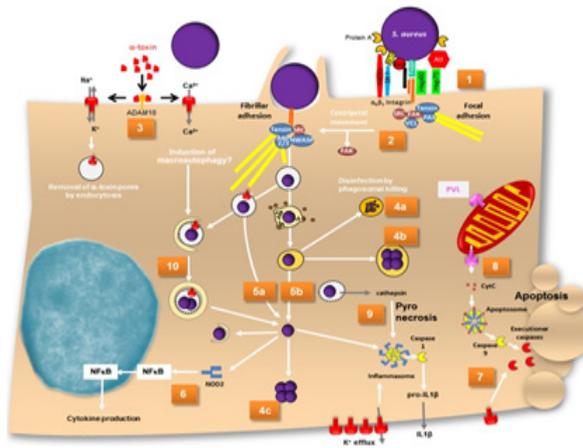
2.3.1. Internalisasi *S. aureus* oleh sel hospes

Invasi *S. aureus* pada fagosit non profesional menggunakan mekanisme yang disebut dengan mekanisme zipper. Adhesin utama *Staphylococcus* untuk fagosit non profesional (sel epitel, sel endotel, fibroblas, osteoblas, dan keratinosit) adalah Fibronectin (Fn) binding proteins A and B (FnBPA, FnBPB). Pada gambar 2.3.1. Item 1) fibronectin-menjembatani FnBP dengan integrin $\alpha 5\beta 1$ pada permukaan sel hospes untuk menginduksi uptake tipe zipper (Bartlett and Hulten, 2010). FnBP juga mengikat secara langsung heat shock protein 60 (Hsp60) manusia pada permukaan sel. Invasi melalui FnBP independen teramati pada *S. aureus* Newman, yang menghasilkan FnBP

dengan C-terminal terpotong dan tidak terikat kovalen ke dinding sel *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa galur Newman diinternalisasi oleh sel epitel dan fibroblas yang dimediasi extra cellular adherence protein (Eap) dimana reseptor selulernya masih belum teridentifikasi (Sinha and Fraunholz, 2010; Edwards, et al., 2012; Fraunholz and Sinha, 2012).

Autolysin *Staphylococcus* (Atl) berfungsi sebagai adhesin / invasin dengan reseptor seluler heat shock protein cognate (Hsc70). Wall teichoic acid (WTA) penting untuk kolonisasi hidung dengan reseptor scavenger. Clumping factor B (ClfB) dapat mengikat sitokeratin pada matriks ekstraselular (ECM) sel hospes, dan protein A *Staphylococcus* berinteraksi langsung dengan reseptor tumor necrosis factor α 1 (TNFR1). Sejauh mana internalisasi patogen yang dimediasi oleh WTA, ClfB, protein A, dan molekul lain dalam berinteraksi dengan ECM sel hospes tidak diketahui. Karena FnBP berkontribusi terhadap perlekatan endotelium dengan *S. aureus* in vivo, kita mengasumsikan bahwa invasi *Staphylococcus* pada epitel atau endotelium sesuai dengan infeksi alami. Interaksi FnBP dengan ECM-Fn dimediasi oleh struktur tandem β zipper melalui pengikatan beberapa molekul fibronektin dengan perubahan modul berulang pada FnBP tunggal. Akibatnya FnBP / Fn mengisolasi integrin $\alpha 5\beta 1$ pada permukaan sel hospes. Sebagai hasil klustering reseptor memunculkan sinyal remodelling sitoskeletal. Remodelling dimulai pada fokal adhesi, yang berubah menjadi adhesi fibrillar dengan hilangnya focal adhesion kinase (FAK), paxillin, dan vinculin. Remodelling ini disertai dengan gerakan sentripetal *S. aureus* pada permukaan sel hospes. Pembentukan ekor komet aktin yang berulang dibawah penempelan *Staphylococcus* dan pembentukan cangkir aktin tanpa internalisasi *Staphylococcus* ditafsirkan sebagai penundaan fagositosis (Sinha and Fraunholz, 2010; Edwards, et al., 2012; Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 2). Sinyal invasi lebih lanjut melibatkan src kinase. Extracellular signal-regulated kinases (ERK) dan c-JunN-terminal kinase (JNK) tetapi bukan mitogen-activated protein kinase (MAPK) p38 diperlukan dalam osteoblas, sedangkan pada sel Hep-2 p38 MAPK harus diupregulasi sepanjang ERK. Selanjutnya, fosforilasi faktor transkripsi c-Jun, tapi bukan dari Elk-1 atau ATF-2, ditunjukkan selama invasi osteoblas. Pada endotel sapi jalur phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-Akt aktif selama internalisasi *S. aureus*. Akhirnya, *S. aureus* diendositoses sel profesional sebagaimana sel non profesional di mana patogen mengalami berbagai nasib intraseluler (Schmaler, 2010; Fraunholz and Sinha, 2012; Abbas, et al., 2012).



Gambar 2.3.1. Peta perjalanan *S. aureus* intracelular (1) $\alpha 5\beta 1$ integrins are sequestered by FnBP-dependent fibronectin cross-linking at focal adhesions. (2) Pergerakan sentripetal dan hilangnya FAK menyebabkan pembentukan fibrillar adhesions, serta membentuk phagocytic cups dan endocytosis bakteri. (3) Pembentukan α -toxin pores di membran plasma dari sel hospes yang tergantung pada ADAM10. α -Toxin pores permeabel terhadap kation. Ca^{2+} dilaporkan dapat menginduksi macroautophagy. (4a) Disinfeksi bakteri oleh phago lysosom atau (4b) survive dan tumbuh dalam endosom atau (4c) di sitoplasma setelah phagosomal escape. (5a) Phagosomal escape dapat dimediasi oleh α -toxin pada sel cystic fibrosis dan (5b) juga dengan kombinasi phenol soluble modulins dan phospholipases. (6) Cytoplasmic *S. aureus* peptidoglycan dikenali oleh NOD2, yang mengaktifasi NF κ B dan memproduksi cytokine. (7) Mode kematian sel yang diinduksi oleh *S. aureus* belum sepenuhnya dipahami. Sementara caspase-independent cell death eksis, α -toxin mampu menginduksi apoptosis ekstrinsik. Alpha-toxin dapat menginduksi potassium efflux caspase 2 yang menyebabkan membran luar mitokondria menjadi permeabel. (8) PVL dapat membuat membran luar mitokondria menjadi permeabel sehingga melepaskan cytochrome c dan menginduksi apoptosome pada jalur Bax-independent dari apoptosis intrinsik. Caspase 9 selanjutnya mengaktifasi executioner caspases. (9) Pelepasan Cathepsin dari phagosomes yang permeabel mengaktifasi inflammasome. Aktifasi caspase 1 menyebabkan maturasi IL1 β dan inflammatory pyro necrotic cell death. (10) Toxin-permeabilized endocytic vesicles menjadi target autophagy. Selama autophagy an isolation membrane menelan endosomes yang bocor atau bakteri yang terletak di sitoplasma. Dalam autophagosomes tersebut bakteri bereplikasi dan eventually escape the organelle ultimately leading to host cell death. ADAM, a metalloprotease and disintegrin; ARP2/3, actin-related protein 2 and 3; Atl, autolysin; CytC, cytochrome c; Eap, extracellular adherence protein; FAK, focal adhesion kinase; FnBP, fibronectin-binding protein; HSP, heat shock protein; IL, interleukin; NF κ B, nuclear factor κ B; NWASP, neural Wiskott–Aldrich syndrome protein; PAX, paxillin; SR, scavenger receptor; VCL, vinculin; WTA, wall teichoic acid. Disadur dari Fraunholz and Sinha, 2012.

2.3.2. Persistensi dan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* intraseluler

Staphylococcus aureus menghasilkan hemolisin yang berbeda-beda. Mayoritas strain *S. aureus* pada mastitis sapi mempunyai fenotip β -toksin sphingomyelinase yang positif, sedangkan strain *S. aureus* yang diisolasi dari kasus septisemia atau karier hidung manusia hanya sebagian kecil saja yang mempunyai fenotip β -toksin positif. Tampaknya ada hambatan selektif terhadap strain *S. aureus* yang berkolonisasi pada manusia untuk memperoleh fage yang dapat memproduksi β -toksin. Hal ini kemungkinan karena diproduksi Staphylococcal complement inhibitor (SCIn) dan chemotaxis inhibitor protein (CHIPs). β -Toksin secara selektif membunuh monosit dan menghancurkan trombosit, tapi hampir tidak berpengaruh terhadap jenis sel yang lainnya. Demikian pula, kebanyakan sel manusia juga kurang sensitif terhadap α -toksin pembentuk pori, sedangkan sel leukosit manusia dan sel dari spesies mamalia lainnya sangat rentan. α -Toksin ini melekat pada dinding sel hospes diperantarai dengan reseptor Metalloprotease ADAM10 (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 3. Spesifisitas α -toksin yang berbeda-beda tercermin pada perbedaan ekspresi ADAM10 pada tiap sel atau karena kemampuan endositosis sel hospes yang berbeda untuk melepaskan α -toksin. Ketahanan *S. aureus* dalam sel hospes sangat tergantung pada multiplicity of infection (MOI) dan fase pertumbuhan bakteri. Pemudaran fluoresensi green fluorescent protein (GFP) yang diekspresikan *S. aureus* menunjukkan adanya degradasi bakteri dalam neutrofil polimorfonuklear (PMN) (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 4a. Hilangnya fluoresensi terlihat pada setiap strain *S. aureus*, termasuk strain nosocomial dan community associated MRSA. Ketika *S. aureus* pada fase berkembang pesat, bakteri lebih rentan terhadap pemudaran GFP. Hal ini menunjukkan bakteri lebih mudah didisinfeksi. Disinfeksi bakteri terutama tergantung pada asam hipoklorit (HOCl). Pengasaman dan pencernaan phagosome terhadap *S. aureus* dalam fagosit profesional diperlukan untuk respon MyD88-dependent toll-like receptor (TLR-MyDD) (Miller, et al., 2006; Abbas, et al., 2012). Tidak semua bakteri didisinfeksi oleh phagolisosom. *S. aureus* dapat bertahan lama dalam sel fagosit atau sel endotel. Ketahanan ini sering dikaitkan dengan *S. aureus* small colony variants (SCVs). Karena SCVs menyajikan fenotip ketenangan metabolik, non hemolitik, non pigmented yang dikarakterisasi oleh

hemebiosynthetic auxotrophiesin pathway atau fosforilasi oksidatif seperti transkriptome dan proteome. SCVs umumnya terdapat mutasi pada lokus regulator gen aksesori (*agr*), sehingga gagal menghasilkan quorumsensing yang mengendalikan faktor virulensi. SCVs tumbuh lambat dan lebih tahan terhadap berbagai antibiotik. SCVs berdinding sel tebal dan mengup-regulasi sigma faktor σ_B , yang memungkinkan *S. aureus* mengatasi berbagai tekanan lingkungan. Karenanya *S. aureus* dapat bertahan *in vivo* pada infeksi manusia dan berfungsi sebagai sumber potensial infeksi berulang. SCVs *S. aureus* dapat bertahan hidup dan tumbuh dalam phagosome sel hospes (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 4b. Penggantian gen *rsbU* pada strain laboratorium dapat memulihkan aktivitas sigma faktor σ_B yang menyebabkan *S. aureus* dapat tumbuh intraseluler dalam phagosome fagosit THP-1. Berkebalikan dengan laporan tersebut, *Staphylococcus* dapat bertumbuh setelah translokasi patogen ke sitoplasma sel hospes (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 4c : *S. aureus* strain Newman mampu melakukan phagosomal escape dan menetap dalam human monocyte-derived macrophages (hMDM) yang menyebabkan lisisnya sel hospes pada hari ke 5. Para penulis menyatakan bahwa kelangsungan hidup dalam fagosit merupakan rute penyebaran infeksi *Staphylococcus*. Hal ini diperkuat dengan identifikasi efek sitoprotektif pada makrofag setelah memfagositosis *S. aureus*. Dengan demikian, up-regulasi faktor antiapoptosis terhadap infeksi *Staphylococcus* bertanggung jawab terhadap perpanjangan umur fagosit. Studi tersebut menunjukkan bahwa *S. aureus* mungkin menembus jaringan lebih dalam dan menyebar ke tempat yang lain dalam fagosit “Trojan horse”. Kelangsungan hidup *S. aureus* dalam PMN tergantung pada regulator aksesori *Sar1*, yang penting bagi kelangsungan hidup *S. aureus* dalam vakuola besar, sedangkan strain *Sar-* yang terlokalisasi disebut “vakuola ketat”. Vakuola serupa juga dapat diamati pada fagosit non profesional (Fraunholz and Sinha, 2012).

2.3.3. *Staphylococcus aureus* menghindari dari Phagosome

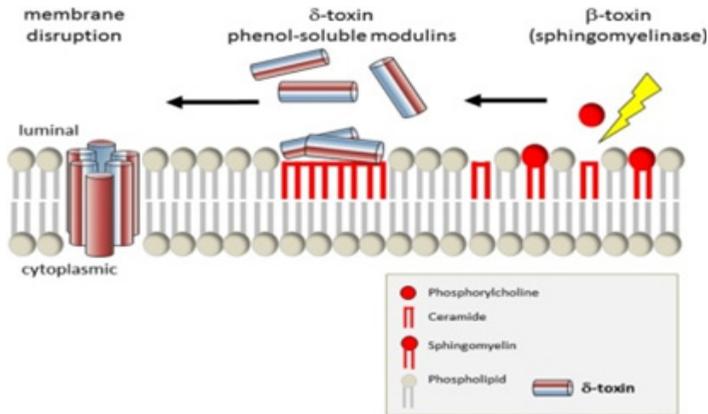
Bakteri patogen yang difagositosis menghindari penghancuran lisosom dengan melakukan disintegrasi membran organel untuk bertranslokasi ke sitoplasma sel hospes. *Listeria monocytogenes* memakai pore-forming toxin

(PFT) listeriolysin O (LLO) dan phospholipase dan Grup A Streptococci menggunakan PFT streptolysin O. *S. aureus* menghindarkan diri dari phagosome awalnya pada isolat MAC-T, bahwa bakteri diinternalisasi melalui mekanisme pseudopodia kemudian menghindarkan diri ke sitoplasma melalui lisis membran endosom dan menginduksi apoptosis pada fagosit non profesional (Bayles, et al., 1998). Kerusakan fungsi membran oleh α -toksin *Staphylococcus* diduga berupa pembentukan pori pada membran phagosome (Abbas, et al., 2012; Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 5a. Dalam CFT-1, translokasi *S. aureus* ke sitoplasma dengan perantaraan α -toksin dan bakteri bereplikasi dalam sitoplasma. Namun, sel line LCSFN yang dilengkapi dengan CF transmembrane conductance regulator (CFTR) tipe wild membuat α -toksin tidak berpengaruh. Selanjutnya, baik strain dengan ekspresi α -toksin berlebihan atau strain laboratorium yang diinduksi untuk mengekspresikan α -toksin tidak mampu melepaskan *Staphylococcus* ke sitoplasma sel hospes. *S. aureus* galur laboratorium RN4220 yang non sitotoksik dengan ekspresi peptida δ -toksin mampu menghindarkan diri dengan tingkat yang sama dengan heterologous yang mengekspresikan LLO. δ -Toksin dikodekan oleh efektor agr RNAIII dan ditranslasikan 1h setelah transkripsi RNAIII. Ia mampu melisis protoplas bakteri, lisosom, lipid spherule, mitokondria, dan eritrosit in vitro yang tidak tergantung suhu. Aktifitas dan modus aksinya sebanding dengan deterjen non ionik. δ -Toksin dikodekan oleh RNAIII, efektor agr, dan merupakan respon langsung terhadap keterbatasan ruang pada phagosome (Schmaler, 2010; Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 5b. Gangguan membran oleh δ -toksin tergantung pada keberadaan β -toksin sphingomyelinase, yang memecah sphingomyelin (SM) menjadi fosforilkolin dan gugus ceramide. δ -Toksin terikat erat pada fosfolipid bermuatan negatif, terikat kuat pada domain likuid yang kacau dan terikat lemah pada kolesterol serta domain likuid sphingomyelin. Dalam satu model, β -toksin membelah SM menjadi ceramide, yang cenderung menumpuk di membran microdomain. Domain kaya ceramid yang hidrofobik merupakan daerah penggabungan δ -toksin sebagai target permeabilisasi membran (Gambar 2.3.2). *S. aureus* USA300 LAC capak untuk menghindarkan diri namun belum menyandi fungsi β -toksin karena lysogeny β -converting fage. Dengan demikian ada faktor alternatif yang bertindak pada phagosomal escape, seperti berbagai lipase yang dikode

genom *Staphylococcus* atau phenol-soluble modulins (PSMs) (Edwards, et al., 2012). Alternatifnya, profage mungkin hilang selama terpapar spesies oksigen reaktif dalam phagosom, dan kemudian berkontribusi untuk menghindarkan diri dari phagosom. Mekanisme yang sama digunakan oleh *Streptococcus pneumoniae*, yang menghasilkan hidrogen peroksida dengan demikian lisis *S. aureus* dengan cara aktivasi profage jarak jauh (Fraunholz and Sinha, 2012).



Gambar 2.3.2. Model phagosomal escape *S. aureus* dengan aksi sinergi dari δ -toxin dan β -toxin. Setelah pembelahan sphingomyelin menjadi ceramide dan phosphocholine, δ -toxin dapat berinteraksi lebih efisien dengan outer leaflet dari membran plasma eukaryotic. δ -Toxin berakumulasi menghasilkan membran ceramide hydrophobic domains dan menyebabkan permeabilisasi target membran. Disadur dari Fraunholz and Sinha, 2012.

PSMs dibagi menjadi dua operon PSM α dan PSM β . Operon PSM α terdiri dari empat open reading frames (ORFs) dengan sekitar 20AA. PSM β mengkodekan dua ORFs, yaitu sekitar 40 AA panjangnya. Ekspresi PSM β ditunjukkan pada phagosomal escape. Seperti δ -toksin, PSM α dan PSM β ekspresinya tergantung agr. Jika sistem agr *Staphylococcus* diinduksi maka quorum sensing system dan diffusion sensing system diaktifkan pada sel tunggal. δ -Toksin dan PSMs diproduksi pada phagosom dan dengan demikian jumlah *Staphylococcus* walaupun sedikit saat diendositosis harus mampu memanfaatkan toksin untuk menghindari penghancuran oleh lisosom (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pola molekul patogen yang terdapat pada sitoplasma sel hospes dapat terdeteksi oleh NOD1 dan NOD2, yang mendeteksi asam γ -D-glutamil-diaminopimelic dan dipeptida muramyl dari bakteri Gram-negatif dan

Gram-positif. Ikatan dengan PGN menyebabkan perubahan konformasi protein NOD yang memulai perekrutan ubiquitin ligase dan kinase sehingga menyebabkan translokasi inti dari NF κ B dan protein aktivator 1 serta ekspresi gen inflamasi. Infeksi *S. aureus* membuat NOD2 mengeluarkan sinyal untuk memproduksi sitokin (Schmaler, 2010; Fraunholz and Sinha, 2012; Abbas, et al., 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 6. Tikus dengan NOD2-- menunjukkan respon inflamasi tertunda dan gangguan disinfeksi bakteri setelah infeksi dengan *S. aureus*. α -Toksin memfasilitasi pengenalan yang tergantung NOD2 terhadap muramyl dipeptida, kemungkinan dengan mempengaruhi integritas phagosom (Fraunholz and Sinha, 2012).

Pengamatan bahwa *S. aureus* dapat bertranslokasi ke sitoplasma sel hospes dan tumbuh tanpa kematian sel segera. Hal ini menggambarkan bahwa phagosomal escape tidak identik dengan sitotoksitas. Dengan demikian, hubungan antara phagosomal escape dan kematian sel hospes masih perlu diperjelas (Fraunholz and Sinha, 2012).

2.3.4. *Staphylococcus aureus* menginduksi kematian sel hospes

Pembagian kematian sel hospes menjadi programmed cell death (PCD; apoptosis) dan accidental cell death atau nekrosis telah lama digunakan setelah teridentifikasi berbagai macam mekanisme kematian sel. Ketika strain *S. aureus* virulen ditambahkan pada kultur jaringan sel hospes, kematian sel hospes terutama melalui mekanisme apoptosis (Abbas, et al., 2012; Fraunholz and Sinha, 2012). Pada gambar 2.3.1. Item 7. α -Toksin dapat menginduksi kematian leukosit, baik apoptosis atau nekrosis. Leukosit sensitif terhadap α -toksin, dalam dosis rendah menginduksi apoptosis disertai penurunan potensial transmembran mitokondria. Caspase2 bertindak sebagai inisiator caspase selama kematian sel fagosit non profesional, yang diinduksi oleh effluk kalium akibat toksin pembentuk pori seperti α -toksin dan aerolysin. Sebaliknya, toksin dosis tinggi menginduksi kematian sel nekrotik. Sel endotel manusia peka terhadap α -toksin sebanding dengan jumlah sel *S. aureus* dengan fenotip hemolitik dan invasif mampu menginduksi kematian sel apoptosis. Hal ini menunjukkan mekanisme kematian sel diaktifkan dari lokasi intraseluler (Fraunholz and Sinha, 2012). Faktor virulensi yang dibutuhkan *S. aureus* untuk menginduksi apoptosis sel endotel tergantung pada agr dan stres respon sigma faktor σ B, tetapi independen terhadap SarA, meskipun terdapat kontradiksi terhadap keterlibatan SarA (Fraunholz and Sinha, 2012).

Fage yang mengkode Panton Valentine Leukocidin (PVL) terutama menghancurkan leukosit yang spesifik terhadap PMN manusia dan kelinci. Pada PMN, PVL memicu kematian sel melalui caspase-9/3 *in vitro*. Para penulis mengidentifikasi lokalisasi toksin PVL di mitokondria, dengan jalan mitokondria diisolasi dan dibuat permeabel dengan PVL untuk faktor proapoptotic seperti sitokrom c (CytC), yang menunjukkan bahwa PVL mampu membuat lubang pada membran luar mitokondria dan memicu jalur Bax-independent mitokondria untuk apoptosis sel hospes (Lowy, 2011; Fraunholz and Sinha, 2012).

Pada gambar 2.3.1. Item 8. Jalur intrinsik apoptosis melepaskan CytC dari mitokondria yang rusak mengaktifasi apoptosis-activating factor-1 (APAF-1). Oligomerisasi CytC / APAF-1 mengaktifasi procaspase9. Caspase9 mengaktifkan efektor caspase yang menyebabkan membran blebbing dan fragmentasi DNA. Demikian pula, α -toksin dapat mengaktifkan caspase melalui jalur kematian intrinsik secara independen melalui sinyal reseptor kematian (CD95/Fas/APO-1). Sel Jurkat yang overekspresi Bcl-2 terlindung dari kematian sel akibat α -toksin meskipun hasil terakhir menunjukkan bahwa fungsi Bcl-2 pada autophagi bertanggung jawab atas fenomena tersebut (Fraunholz and Sinha, 2012; Abbas, et al., 2012). PGN memicu apoptosis trombosit dengan ditandai upregulasi integrin α IIb β 3, depolarisasi mitokondria, aktifasi caspase-3 dan kerusakan membran sel (Towhid, et al., 2012).

Menariknya, *S. aureus* dapat mengerahkan respon antiapoptosis sel hospes. Patogen menekan staurosporine yang menginduksi apoptosis pada hMDM meskipun tanda awal apoptosis tampak, seperti fosfatidilserin pada leaflet luar membran plasma, menurunkan membran potensial mitokondria, pelepasan CytC, dan aktivasi caspase-3. Infeksi *S. aureus* mengupregulasi ekspresi membran potensial mitokondria dengan kuat yang menstabilkan gen Bcl-2 dan Mcl-1 (Fraunholz and Sinha, 2012). *Staphylococcus aureus* yang dimatikan dengan pemanasan mampu menekan apoptosis sel hospes tetapi produk *Staphylococcus* seperti asam lipoteichoic atau PGN mengaktifkan makrofag melalui sensor PRR intraseluler seperti NOD (Schmaler, 2010; Fraunholz and Sinha, 2012).

Disamping itu *S. aureus* juga dapat menginduksi pyronecrosis. Pada gambar 2.3.1. Item 9. Caspase-1 diaktifkan sebagai bagian dari inflammasome, yang terdiri dari NOD-like receptor protein3 (NLRP3) dan

protein adaptor, apoptosis associated speck like protein containing a caspase associated recruitment domain (ASC). *S. aureus* dapat berfungsi sebagai stimulus NLRP3, walaupun identitas sinyal molekuler yang merangsang belum diketahui. Permeabilisasi lisosom merupakan salah satu prinsip aktivasi NLRP3, karena pelepasan protease lisosom cathepsin B ke sitoplasma dapat mengaktifasi NLRP3 (Schmaler, 2010; Abbas, et al., 2012). Hemolisin α , β , dan γ merupakan aktifator penting inflammasome NLRP3. Toksin α dan γ pembentuk pori membuat pori pada membran sehingga terjadi pelepasan cathepsin dan aktivasi inflammasome. α -Toksin diketahui dapat membuat pori pada membran plasma untuk ion kalium, selanjutnya effluk kalium mengaktifkan inflammasome. β -Toksin juga terlibat dalam phagosomal escape dan beraktifitas pada pelepasan cathepsin (Fraunholz and Sinha, 2012).

2.3.5. *Staphylococcus aureus* mengatasi autophagi

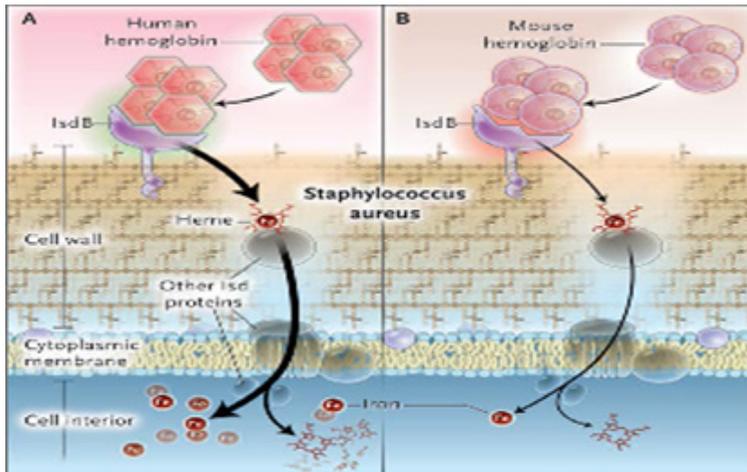
Autophagi mengasingkan isi sitoplasma melalui isolasi membran. Pencaplokan muatan dalam bentuk phagophore membentuk vesikel autophagi dengan membran ganda yang akhirnya menyatu dengan lisosom membentuk autolisosom. Autophagi berfungsi untuk mendegradasi organel atau self digesting selama kondisi nutrisi yang terbatas seperti kelaparan dan sebagai mekanisme pertahanan hidup seluler. Selama infeksi bakteri autophagi membuang vesikula bocor atau bakteri intraseluler, bakteri patogen menemukan beberapa cara untuk mengalahkan autophagi (Fraunholz and Sinha, 2012).

Staphylococcus aureus menghambat fusi lisosom dan phagosom dengan membuat pori pada HeLa phagosom menggunakan toksin. Phagosom yang bocor menjadi target autophagi dan dalam autophagosom *S. aureus* bereplikasi. Akhirnya bakteri menghindarkan diri dari kurungan intraselulernya ke sitoplasma sel hospes dengan mekanisme yang tergantung agr (Fraunholz and Sinha, 2012). Pada gambar 2.3.1. Item 9. Akhirnya, kematian sel hospes diinduksi secara independen dari aktivasi kaskade caspase namun terhalang oleh overekspresi antiautophagi Bcl-2. Induksi autophagi dengan rapamycin mengakibatkan peningkatan jumlah unit pembentuk koloni yang pulih, sedangkan inhibisi dengan Wortmann mengurangi koloni yang pulih dari lingkungan intraseluler. Induksi autophagi oleh *S. aureus* menghasilkan vakuolisasi sitoplasma sel hospes (“Swiss cheese phenotype”). *S. aureus* yang

kekurangan agr gagal menginduksi autophagi menyebabkan pematangan phagosom yang mengandung bakteri diikuti degradasi patogen oleh lisosom. α -Toksin mampu membuat pori pada membran untuk Ca^{2+} , penginduksi autophagi dan autophagi menangkap phagosom yang bocor karena α -toksin pada sel indung telur hamster Cina. Sedangkan observasi terakhir, kontras dengan penemuan bahwa α -toksin tidak cukup membuat pori pada HeLa phagosom (Fraunholz and Sinha, 2012).

2.3.6. Kompetisi besi oleh *S. aureus* dan hospes

Ketersediaan besi diatur secara efisien dalam hospes, yang menyimpan besi dalam sel atau dengan protein untuk menghindari kerusakan karena potensi oksidatif tinggi dari besi. Kebanyakan besi dalam tubuh manusia terikat sebagai hemoglobin. Besi untuk sintesis hemoglobin didaur ulang melalui fagositosis eritrosit oleh makrofag di limpa dan hati. Besi daur ulang diekspor melalui ferroportin, diikatkan dengan transferin dalam sirkulasi darah, dan disampaikan ke sumsum tulang untuk hematopoiesis. Oleh karena itu, jumlah besi bebas sangat rendah dalam serum (10^{-24} M). Tantangan *S. aureus* mendapatkan jumlah besi yang cukup (10^{-6} M) untuk mempertahankan fungsi katalitik enzim penting terutama yang terlibat dalam rantai pernapasan (Schmaler, 2010).



Gambar 2.3.6. *Staphylococcus aureus* menggunakan iron-regulated surface determinant (Isd) untuk menangkap besi dari hemoglobin.
Disadur dari Lowy, 2011

Staphylococcus aureus menghindari keterbatasan besi di hospes dengan mengikat pelepasan besi dari siderophores dan menyerapnya serta penyerapan langsung dari heme dengan transporter penyerapan besi ABC. Semua sistem penyerapan memiliki karakteristik umum dari transporter ABC, suatu permease untuk translokasi melalui membran, dengan energi yang disediakan ATPase di sitoplasma. Transporter ini dikendalikan oleh regulator penyerapan besi, yang merepresi transkripsi gen dengan keberadaan besi. Sensor lain dari besi intraseluler adalah akonitase, yang memodulasi translasi mRNA pada kondisi besi yang terbatas. *S. aureus* yang menginvasi mendapatkan akses yang besar ke besi dengan melisis eritrosit. Ketersediaan zat besi yang rendah dalam hospes diketahui meningkatkan sistem penyerapan zat besi dan sitotoksin seperti hemolisin pada *S. aureus*. Hospes segera merespon dengan mekanisme pertahanan antimikroba termasuk peningkatan ekspresi reseptor transferin di sel hati dan limpa untuk menyimpan besi dan melepaskan lipocalin untuk mengikat siderophores. Sitokin inflamasi (misalnya IL-6) menginduksi pelepasan hepcidin, yang menurunkan ferroportin, pengeksport zat besi dari sel ke serum. Hal ini menyebabkan pengurangan besi bebas dan bersamaan dengan erythropoiesis menyebabkan kondisi besi yang terbatas pada hospes (Schmaler, 2010). Dengan demikian, hospes mempertahankan kadar zat besi pada konsentrasi yang membatasi pertumbuhan *S. aureus*. Oleh karena

itu, pengenalan PRR misalnya Lpp oleh TLR2 merupakan keterbatasan *S. aureus* yang membuat sel hospes dan mekanisme pertahanan antimikroba diaktifkan dan besi diasingkan dalam hospes. Di sisi lain, *S. aureus* membutuhkan Lpp untuk mengimpor besi dari heme, siderophores, dan molekul yang mengandung besi (Schmaler, 2010; Lowy, 2011).

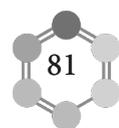
III

PEMBAHASAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kokkus gram positif, dulu dikenal sebagai bakteri aerob ekstraseluler. Kini, *S. aureus* termasuk juga dalam kelompok bakteri fakultatif anaerob. Hal ini disebabkan karena *S. aureus* dapat diinternalisasi oleh fagosit dan bertahan hidup di dalamnya. Faktor virulensi *S. aureus* terdiri dari komponen struktural, komponen yang disekresikan baik berupa toksin maupun enzim serta komponen genetik (Todar, 2016). Dengan berjalannya waktu dan semakin banyaknya penelitian yang dilakukan sampai saat ini faktor virulensi *S. aureus* yang diketahui semakin banyak jumlah dan macamnya.

Fibronektin merupakan adhesin utama untuk internalisasi *S. aureus*. Fibronektin digunakan pada jalur dependen dengan reseptor selulernya yang telah teridentifikasi seperti FnBP, Hsp60, Hsc70 dan yang lainnya, sedangkan pada jalur independen adhesin yang digunakan *S. aureus* adalah extra cellular adherence protein (Eap) dimana reseptor selulernya masih belum teridentifikasi. Metoda internalisasi yang digunakan sel hospes terhadap *S. aureus* dengan adhesin fibronektin maupun Eap adalah metode internalisasi β -zipper. Sedangkan untuk adhesin WTA, ClfB, protein A dalam berinteraksi dengan ECM hospes masih belum diketahui (Fraunholz and Sinha, 2012).

α -Toksik dikatakan sebagai toksin yang dapat membentuk pori di membran sel. α -Toksik *S. aureus* dikatakan tidak cukup untuk membuat pori pada membran HeLa phagosom. β -Toksik dan δ -toksik merupakan toksin yang membantu *S. aureus* untuk melepaskan diri dari phagosom. Namun ketidakberadaan β -toksik pada strain *S. aureus* tertentu tidak menghalangi proses penghindaran dari phagosom. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat faktor lain yang ikut berperan dalam proses penghindaran dari phagosom yaitu PSM baik PSM β maupun PSM α khususnya PSM α 3. Terdapat beberapa pendapat berkaitan dengan persistensi *S. aureus* dalam fagosit. Satu pendapat mengatakan bahwa *S. aureus* dapat bertahan dan tumbuh



dalam phagolisosom. Tetapi pendapat yang lain mengatakan bahwa *S. aureus* hanya dapat tumbuh setelah melakukan translokasi ke sitoplasma sel hospes (Fraunholz and Sinha, 2012).

Staphylococcus aureus dapat melakukan translokasi ke sitoplasma sel hospes dan tumbuh tanpa kematian sel segera. Hal ini menggambarkan bahwa phagosomal escape tidak identik dengan sitotoksitas. Dengan demikian, hubungan antara phagosomal escape dan kematian sel hospes masih perlu penjelasan lebih lanjut. *S. aureus* dapat menginduksi pyronekrosis pada sel hospes. Terdapat molekul yang dihasilkan *S. aureus* hingga saat ini belum diketahui identitasnya, dapat bertindak sebagai stimulus NLRP3 yang menginduksi inflamosome (Fraunholz and Sinha, 2012). Penderita polimorfisme Q705K/C10X menunjukkan leukositosis dan menampilkan apoptosis spontan yang tertunda (anti-apoptosis) setelah diinduksi mikroba. Western blotting menunjukkan tingkat dan fosforilasi Akt dan Mcl-1 yang meningkat pada neutrofil. Makrofag menghasilkan TNF lebih rendah yang menunjukkan gangguan clearance response. Secara keseluruhan, pasien menampilkan gangguan turnover dan clearance apoptosis neutrofil, yang menunjukkan disregulasi respon imun bawaan (Blomgran, et al., 2012). Infeksi *S. aureus* USA300 menunjukkan penyimpangan proinflamasi dengan aktifasi pyroptosis pada keratinosit manusia. Nekrosis keratinosit dimediasi oleh calpains, Ca²⁺-dependent protease intraseluler yang merupakan inhibitor endogen calpastatin, sebagai target dari caspase 1 yang diinduksi oleh hla (Soong, et al., 2012).

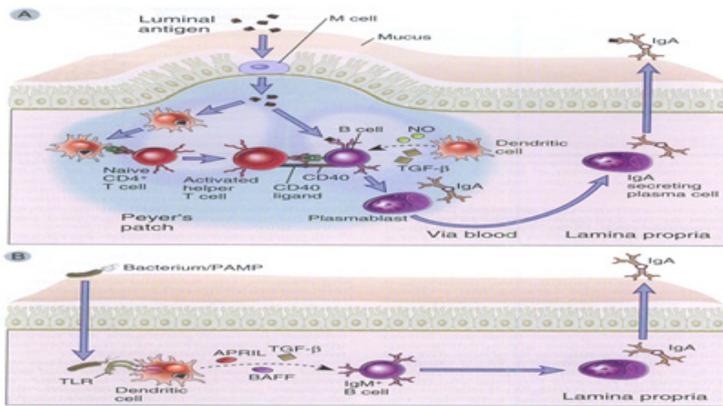
Untuk mengetahui patogenesis *S. aureus* dalam mediasi induksi sitokin yang diregulasi gen *saeR/S* digunakan model tikus. Infeksi *S. aureus* yang invasif menyebabkan produksi sitokin pro-inflamasi lokal dan sistemik, termasuk tumor necrosis factor α (TNF- α), interferon γ (IFN- γ), interleukin (IL)-6 dan IL-2. Sebaliknya, tikus yang terinfeksi dengan mutan yang dihapus *saeR/S* isogenicnya menunjukkan penurunan sitokin pro-inflamasi. Selain itu, faktor yang disekresikan dipengaruhi oleh *saeR/S* menimbulkan sitokin pro-inflamasi *ex vivo* pada darah manusia. Studi tersebut menunjukkan produksi IFN yang dimediasi *saeR/S* selama infeksi kulit dan subkutan yang invasif. Hasil penelitiannya juga menunjukkan peran penting untuk *saeR/S* dalam mempromosikan kelangsungan hidup bakteri dan meningkatkan angka kematian sel hospes selama infeksi *S. aureus* pada kasus peritonitis (Watkins, et al., 2011).

Keberadaan *S. aureus* pada saluran reproduksi wanita yang sebagai mikroba patogen menyebabkan sel hospes melakukan reaksi untuk melindungi diri dengan melakukan respon imunologis. Baik respon imun bawaan maupun yang adaptif. Pada respon imun bawaan begitu *S. aureus* masuk vagina maka ia sudah dihadapkan dengan epitel mukosa vagina, epitel serviks, serta flora normal vagina; kesemuanya diikuti dengan produk yang disekresikannya (Jin, et al., 2004). Komplemen, sel imun nonspesifik -seperti granulosit, makrofag dan sel NK, serta produknya- juga ikut berperan pada respon imun awal. Bila terjadi kegagalan pada proses pertahanan awal ini maka *S. aureus* akan dihadapkan dengan pertahanan lini kedua yaitu imunitas adaptif yang berhubungan sel B maupun sel T. Sel B karena *S. aureus* merupakan mikroba patogen ekstraseluler sehingga diperlukan keberadaan imunoglobulin baik IgM, IgG maupun IgA serta sel Th1, Th2 dan Th17. Akan tetapi *S. aureus* bisa melakukan penghindaran terhadap sel efektor dengan cara bersembunyi di dalam sel hospes (proses internalisasi) baik di dalam fagosom maupun sitoplasma maka diperlukan juga keberadaan makrofag, sel NK dan sel T sitotoksik (Anderson, 2008; Baratawidjaja dan Rengganis, 2009; Subowo, 2009; Schmalzer, 2010; Abbas, et al., 2012; Todar, 2016).

Limfosit T yang ditemukan pada mukosa vagina secara fenotip berbeda dengan yang berada di perifer. Studi pada tikus mendapatkan hasil bahwa meskipun sel T dengan α/β T-cell receptor (TCR+) ada dalam jumlah besar pada mukosa vagina tikus, persentase sel T dengan γ/δ TCR+ lebih besar secara signifikan dibanding pada perifer. Sebagai tambahan, analisis limfosit dari jaringan vagina hanya mendapatkan sedikit sel CD8+, yang mengakibatkan rasio sel CD4/CD8 yang tinggi. Hasil pengamatan ini menyiratkan distribusi yang berbeda atau migrasi limfosit dalam mukosa vagina (Fidel & Sobel, 1996; Todar, 2016).

Antibodi merupakan komponen imun protektif adaptif humoral utama terhadap bakteri ekstraseluler seperti *S. aureus* yang berfungsi menyingkirkan mikroba dan menetralkan toksin. Sel Th2 mengeluarkan sitokin yang merangsang sel B, aktifasi makrofag dan inflamasi (Schmalzer, 2010). IgA menonjol dalam cairan eksternal dikarenakan banyak limfosit B yang berada dalam jaringan mukosa. Sekresi IgA secara selektif didahului dengan pembentukan polimer (pIgA) dengan ikatan sulfida. pIgA dalam plasmasit sangat menentukan berhasilnya pengikatan dengan reseptor Ig pada membran sel epitel. Transportasi IgA memerlukan endositosis yang

bergerak ke puncak sel kemudian eksositosis dimer IgA yang dinamakan sIgA (secretory IgA). sIgA dalam lumen akan mengikat bakteri sehingga dapat mengurangi mobilitasnya dengan akibat mencegah pembentukan koloni pada permukaan epitel mukosa (Murtiastutik, 2008; Subowo, 2009). Perubahan IgG menjadi IgA dapat melalui dua jalur yang berbeda. Jalur sel T dependen yang melibatkan aktivasi sel Th2 yang diperkuat oleh TGF- β dan NO akan menghasilkan sIgA dengan afinitas tinggi. Sedangkan jalur sel T independen yang hanya melibatkan sel DC yang diperkuat oleh TGF- β , APRIL dan BAFF akan menghasilkan sIgA dengan afinitas yang rendah (Abbas, et al., 2012).



Gambar 3. Switching klas IgA di Usus. Switching klas IgA di usus terjadi melalui mekanisme sel T dependen dan sel T independen. A. Switching klas IgA sel T dependen. DC di subepitelial dome dari peyer's patch menangkap antigen bakteri melalui Sel M yang bermigrasi ke zona interfolikuler kemudian dipresentasikan ke sel T CD4+ naif. Sel T yang teraktivasi berdifereiasi menjadi sel T helper dan membuat ikatan dengan sel B IgM+IgG+ yang memakan dan memroses antigen bakteri. Switching klas sel B ke IgA distimulasi oleh sel T CD40L dengan sel B CD40 bersama dengan TGF- β . Switching klas IgA diperkuat oleh NO yang diproduksi sel DC yang mengupregulasi reseptor TGF- β pada sel B. Jalur sel T dependen ini menghasilkan antibodi IgA dengan afinitas tinggi terhadap patogen dan toksinnya. B. Switching klas IgA sel T independen melibatkan sel DC untuk mengaktifasi sel B IgM+IgG+ termasuk sel B B-1. Sel DC yang teraktivasi melalui TLR mensekresikan faktor yang mempengaruhi switching klas IgA, termasuk APRIL, BAFF dan TGF- β . Sel DC juga memproduksi IL-6 dan asam retinoik. Jalur sel T independen ini menghasilkan antibodi IgA dengan afinitas rendah terhadap patogen intestinal. Dikutip dari Abbas, et al., 2012

Staphylococcus aureus juga dapat bertahan dalam fagosom maupun dalam sitosol, sehingga dapat dikatakan bahwa *S. aureus* mempunyai sifat seperti bakteri intraseluler. Proteksi utama terhadap bakteri intraselular pada respons imun spesifik berupa imunitas selular. Imunitas selular terdiri atas 2 tipe reaksi, yaitu sel CD4+ Th1 (T helper 1) yang mengaktifkan makrofag (DTH, Delayed Type Hypersensitivity) memproduksi IFN- γ serta sel CD87CTL, yang memacu penghancuran mikroba dan lisis sel terinfeksi. Aktifasi makrofag sebagai respon terhadap mikroba intraselular dapat membentuk granuloma serta menimbulkan kerusakan jaringan seperti pada DTH terhadap protein PPD (Purified Protein Derivative) *M. tuberculosis*. Sel T CD4+ dan CD8+ bekerja sama membentuk pertahanan pada mikroba (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Bakteri intraselular setelah dimakan makrofag dapat hidup di fagosom kemudian masuk sitoplasma. Sel T CD4+ memberikan respon pada antigen MHCII asal bakteri intravesikular, dan memproduksi IFN- γ untuk mengaktifkan makrofag guna menghancurkan mikroba di fagosom. Sel T CD4+ naif berdiferensiasi menjadi sel Th1 mengaktifkan fagosit untuk membunuh mikroba dan sel Th2 (T helper 2) yang mencegah aktivasi makrofag. Sel T CD8+ merespon molekul MHC kelas I yang mengikat antigen sitosol serta membunuh sel terinfeksi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Staphylococcus aureus juga dapat bertahan dalam fagosom maupun dalam sitosol, sehingga dapat dikatakan bahwa *S. aureus* mempunyai sifat seperti bakteri intraseluler. Proteksi utama terhadap bakteri intraselular pada respons imun spesifik berupa imunitas selular. Imunitas selular terdiri atas 2 tipe reaksi, yaitu sel CD4+ Th1 (T helper 1) yang mengaktifkan makrofag (DTH, Delayed Type Hypersensitivity) memproduksi IFN- γ serta sel CD87CTL, yang memacu penghancuran mikroba dan lisis sel terinfeksi. Aktifasi makrofag sebagai respon terhadap mikroba intraselular dapat membentuk granuloma serta menimbulkan kerusakan jaringan seperti pada DTH terhadap protein PPD (Purified Protein Derivative) *M. tuberculosis*. Sel T CD4+ dan CD8+ bekerja sama membentuk pertahanan pada mikroba (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Bakteri intraselular setelah dimakan makrofag dapat hidup di fagosom kemudian masuk sitoplasma. Sel T CD4+ memberikan respon pada antigen MHCII asal bakteri intravesikular, dan memproduksi IFN- γ untuk mengaktifkan makrofag guna menghancurkan mikroba di fagosom. Sel

T CD4+ naif berdiferensiasi menjadi sel Th1 mengaktifkan fagosit untuk mem-bunuh mikroba dan sel Th2 (T helper 2) yang mencegah aktivasi makrofag. Sel T CD8+ merespon molekul MHC klas I yang mengikat antigen sitosol serta membunuh sel terinfeksi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pillai, S., 2012. Cellular and Molecular Immunology. 7rd Ed. International Edition. Elsevier. United States.

Anderson, D.J., 2008. 'Genitourinary Immune Defense'. Sexually Transmitted Diseases. 4th Ed. McGraw Hill. United States. p. 271- 319.

Baratawidjaja, K.G., dan Rengganis, I., 2009. 'Imunologi Infeksi'. Immunologi Dasar, Edisi ke-8 Cetakan ke-2. Balai Penerbit FKUI, Jakarta. hal : 399-450.

Bartlett, A.H, and Hulten, K.G., 2010. 'Staphylococcus aureus Pathogenesis Secretion Systems, Adhesins, and Invasins'. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29: 860-861)

Bayles, K.W., Wesson, C.A., Liou,L.E., Fox, L.K., Bohach, G.A., and Trumble, W.R., 1998. Intracellular Staphylococcus aureus Escapes the Endosome and Induces Apoptosis in Epithelial Cells *Infect. Immun.* 1998, 66(1):336.

Blomgran, R., Brodin, V.P., Verma, D., Bergstrom, I., Soderkvist, P., Sjowall, C., Eriksson, P., Lerm, M., Stendahl, O., Sarndahl E., 2012. Common Genetic Variations in the NALP3 Inflammasome Are Associated with Delayed Apoptosis of Human Neutrophils. *PLoS ONE* 7(3): e31326.

Cannon, F.D. and Hawn, C.V.Z., 1963. Phosphatase Activity of Staphylococcus aureus : Correlation of Enzyme Production with Resistance to Penicillin and Phage Pattern. *J. Bacteriol.* 1963 (86): 1052-1056.

Cheung, A.L., Bayer, A.S., Zhang, G., Gresham, H., and Xiong, Y.Q., 2004.

Mini Riview Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. FEMS Immunology and Medical Microbiology (40) : 1-9

Cheung, A.L., Nishina, K.A., Pous, M.P.T., and Tamber, S., 2008. The SarA protein family of *Staphylococcus aureus* Int J Biochem Cell Biol. 2008; 40(3): 355–361.

Dhont, N., Luchters, S., Muvunyi, C., Vyankandondera, J., De Naeyer, L., Temmerman, M., and van de Wijgert, J., 2011. ‘The risk factor profile of women with secondary infertility : an unmatched case-control study in Kigali, Rwanda’, BMC Women’s Health, 2011; 11:32.

Edwards, A.M., Massey, R.C., and Clarke, S.R., 2012. Molecular mechanisms of *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal colonization Molecular Oral Microbiology 27 (2012) 1–10.

Fidel, P.L. and Sobel, J.D., 1996. ‘Immunopathogenesis of recurrent vulvo-vaginal candidiasis’. Clin. Microbiol. Rev., 9(3) : 335-348.

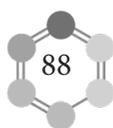
Fraunholz, M. and Sinha, B., 2012. Intracellular *Staphylococcus aureus* : live-in and let die Front Cell Infect Microbiol. 2012; 2: 43. Published online 2012 April 24

Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Smeds, E., Liang, X., Hook, M., and Foster, T.J., 2010. Molecular Characterization of the Interaction of Staphylococcal Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules (MSCRAMM) ClfA and Fbl with Fibrinogen. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 285 (9) : 6208–6216

Jin, T., Bokarewa, M., Foster, T., Mitchell, J., Higgins, J., and Tarkowski, A., 2004. *Staphylococcus aureus* Resists Human Defensins by Production of Staphylokinase, a Novel Bacterial Evasion Mechanism. The Journal of Immunology, 172: 1169–1176.

Johnson, A.G., Ziegler, R.J., and Hawley, L., 2011. Surjawidjaja, J.E. (Penterjemah) Essensial Mikrobiologi dan Immunologi Edisi kelima. Binarupa Aksara Tangerang. Hal

Kato, F., Kadomoto, N., Iwamoto, Y., Bunai, K., Komatsuzawa, H., and Sugai, M., 2011. Regulatory Mechanism for Exfoliative Toxin Production in *Staphylococcus aureus*. INFECTION AND IMMUNITY p. 1660–1670



Latif, O.M.S., 2012. Vulvovaginitis. <http://emedicine.medscape.com/article/270872-overview#showall> Diakses tanggal 12 Pebruari 2012.

Lowy, F.D., 1998. Staphylococcus aureus Infections The New England Journal of Medicine, August 20, 1998; Volume 339 Number 8; 520-532

Lowy, F.D., 2011. How Staphylococcus aureus Adapts to Its Host n engl j med (2011): 364;21, 1987-1990

Miller, L.S., O'Connell, R.M., Gutierrez, M.A., Pietras, E.M., Shahangian, A., Gross, C.E., Thirumala, A., Cheung, A.L., Cheng, G., and Modlin, R.L., 2006. MyD88 Mediates Neutrophil Recruitment Initiated by IL-1R but Not TLR2 Activation in Immunity against Staphylococcus aureus. Immunity 2006 : 24, 79–91.

Prabha V, Chaudhary N and Kaur S, 2011. 'Molecular Mimicry Between Spermatozoa and Bacteria', THE JOURNAL OF UROLOGY, 186: 2442-2447

Prabha V., Gupta, T., Kaur, S., Kaur, N., Kala, S., Singh, A., 2009. 'Isolation of a spermatozoal immobilization factor from Staphylococcus aureus filtrates', Can. J. Microbiol. 55: 874–878.

Queck, S.Y., Lee, M.J., Villaruz, A.E., Bach, T.H.L., Khan, B.A., Sturdevant, D.E., Ricklefs, S.M., Li, M., and Otto, M., 2008. RNAIII-independent target gene control by the agr quorum-sensing system: insight into the evolution of virulence regulation in Staphylococcus aureus Mol Cell. 2008 October 10; 32(1): 150–158)

Ratri, D. R., 2008. 'Identifikasi Protein Adhesin Staphylococcus Isolat Vagina yang Memperantarai Perlekatan pada Spermatozoa.' Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Schmaler, M., 2010. 'Staphylococcus aureus lipoproteins-TLR2-mediated activation of innate and adaptive immunity.' Inauguraldissertation. Universität Basel.

Shrestha, S., 2012. Staphylococcus aureus : Lab Diagnosis and Diseases <http://medchrome.com/mbbs-exams/Staphylococcus-aureus-lab-diagnosis-and-diseases/> diakses tgl 2/10/2012 jam 22.03

Sinha, B., and Fraunholz, M., 2010. Staphylococcus aureus host cell invasion and post-invasion events International Journal of Medical Microbiology 300 (2010) 170-175

Smeltzer, M.S., 2000. 'Characterization of Staphylococcal Adhesins for Adherence to Host Tissue' In: Handbook of Bacterial Adhesion. Humana Press. Totawa NJ.

Soong, G., Chun, J., Parker, D., dan Pangeran, A., 2012 Staphylococcus aureus activation of caspase 1/calpain signaling mediates invasion through human keratinocytes J Infect Dis (2012) 205 (10) : 1.571-1.579. Abstrac

Subowo, 2009. 'Respon Imun Pada Permukaan Tubuh'. Imunobiologi. Edisi 2. CV Sagung Seto. p. 329-342.

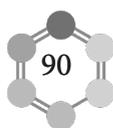
Sunihapsari, C., 2002. 'Protein Membran Sel Spermatozoa yang Mengenali Protein Permukaan Staphylococcus'. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Todar, K., 2016. Todar's Online Textbook of Bacteriology. P 1-8. <http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis.html> diunduh tgl 21 Maret 2012

Towhid, S.T., Nega, M., Schmidt, E.M., Schmid, E., Albrecht, T., Münzer, P., Borst, O., Götz, F., Lang F., 2012. Stimulation of platelet apoptosis by peptidoglycan from Staphylococcus aureus113. Apoptosis September 2012, Volume 17, Issue 9, pp 998-1008

Watkins, RL., Pallister, KB., Voyich, JM., 2011. The SaeR/S Gene Regulatory System Induces a Pro-Inflammatory Cytokine Response during Staphylococcus aureus Infection. PloS ONE 6(5): e19939. May 13, 2011

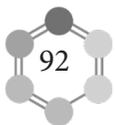
WHONET, 2012. Laporan Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSSA Malang tahun 2007, 2008, 2009 dan 2010. Diambil pada tanggal 10 Pebruari 2012.



Indeks

ABP
Androgen binding protein
ADCC
Antibody dependent cell cytotoxicity
ASA
Antisperm antibody
BEB
Blood epididimis barrier
BV
Blood vessel
CATSPER1
Cation channel protein
CBAVD
Congenital bilateral absence of the vas deferens
CBP
Chronic bacterial prostatitis
CD9
Cluster differensiation 9
CP
Chronic Prostatitis
CPPS
Chronic Pelvic Pain Syndrome
DC
Dendritik cell
ELISA
Enzym link immunosorbent assay
ESWBC
Eleveted Seminal White Blood Cells
FSH
Follicle stimulating hormone

GC
Germinal cell
GPI
Glycosylphosphatidylinositol
HD5
Human Defensin 5
HLA
Human Leucosit Antigen
HSP
Heat shock protein
IBT
Immunobead binding test
IEL
Intraepithelial lymphosit
JAMs
Junctional adhesion molecules
Leydig cell
LC
LgC
Langhan cell
LH
Luteinizing hormone
mAb
Monoklonal antibody
MAR
Mixed antiglobulin reaction test
MC
Mast cell
MRT
Male Reproductive Tract
MΦ
Macrophage
MUC
Mucins Gene
PC
Plasma cell
pIgR
polymeric Ig receptor
PSA
Prostate specific antigen



PTC
Peritubular cell
Rb
Residual body
RIA
Radioimmuno assay
SAA
Sperm agglutination activity
SAGA-1
Sperm agglutination antigen-1
SC
Sertoli cell
SDT
Sawar Darah Testis
SIF
Sperm immobilization factor
SLPI
Secretory leucocyte protease inhibitor
STD
Sexual transmitted disease
TESE
Testicular sperm extraction
VV
Vasovasostomy
ATF-2
activating transcription factor 2
ADAM10
a disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10
APAF-1
apoptosis-activating factor-1
APO-1/Fas
apoptosis antigen 1
ASC
apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-associated recruitment domain
AtI
Autolysin
Bcl-2
B-cell lymphoma 2
CD95

cluster of differentiation 95

CFT-1

airway epithelial cells which are derived from a patient with cystic fibrosis carrying the most common CFTR mutation, DF508

CFTR

CF transmembrane conductance regulator

CHIPs

chemotaxis inhibitor protein

ClfA

ClfB

clumping factor A

clumping factor B

ClpXP protease

probably directly regulate proteolysis of dps during exponential phase

Cna

collagen binding proteins

CytC

sitokrom C

DIC

disseminated intravascular coagulation

Eap

extra cellular adherence protein

ECM

matriks ekstraselular

Elk-1

member of ETS oncogene family

ERK

extracellular signal-regulated kinases

ETA

ETB

eksfoliative toxins A

eksfoliative toxins B

FAK

focal adhesion kinase

Fc IgG

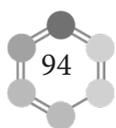
fragment crystallizable Immunoglobulin G

FnbpA

FnbpB

fibronectin binding proteins A

fibronectin binding proteins B

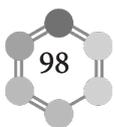


GFP
green-fluorescent protein
Hla
 α -hemolysin
hMDM
human monocyte-derived macrophages
HOCl
asam hipoklorit
Hsc70
heat shock protein cognate 70
Hsp60
heat shock protein 60
HUVEC
human umbilical vein endothelial cells
IsdA
iron-regulated surface determinant A
JNK
c-JunN-terminal kinase
CFT1-LCSFN
CF airway cell line engineered to express the wild-type CF gene
DTH
Delayed Type Hypersensitivity
Lgt
phosphatidyl glycerol diacylglyceryl transferase
LLO
listeriolysin O
Lnt
N-acyltransferase
Lpp
Lipoprotein
Lsp
Lpp spesifik signal tipe II peptidase
LTA
(lipo-) teichoic acids
MAC-T
mammary epithelial cell line
Map
MHC class II analog protein
MAPK
mitogen-activated protein kinase

MOI
multiplicity of infection
MRSA
methicillin resistant Staphylococcus aureus
MSCRAMM
microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
MyD88
Myeloid Differentiation Factor 88
NFκB
Nuclear Factor Kappa B
NLRP3
NOD-like receptor protein3
NOD
Nucleotide Oligomerization Domain
ORFs
Open reading frames
PCD
programed cell death (apoptosis)
PFT
pore-forming toxin
PGN
Peptidoglycan
PI3K
phosphoinositide 3-kinase
pIgA
Polimer Immunoglobulin A
Pls
plasmin sensitive protein
PMN
Polimorfonuklear
PPD
Purified Protein Derivative
PRR
pattern recognition receptors
PSMs
phenol-soluble modulins
PVL
Panton Valentine Leukocidin
SarA
staphylococcal accessory regulator A

SCIn
Staphylococcal complement inhibitor
SCVs
small colony variants
SdrD
serine aspartic acid repeat proteins
Sec
general secretory pathway
SIF
sperm immobilization factor
sIgA
secretory IgA
SpA
protein A
STD
sexual transmitted diseases

Tat
twin arginine protein transport pathway
TCRS
two component regulatory systems
THP-1
human acute monocytic leukemia cell line
TLR
toll-like receptor
TNFR1
tumor necrosis factor α 1
TSST-1
toxic shock syndrome toxin-1
WTA
wall teichoic acid



Profil Penulis



Muhammad Anas, putra kedua dari tujuh bersaudara dari Abah H. Mu;asan (alm) dan Ibu Hj. Siti Fatimah, lahir di Dusun Jatisari Desa Jatirenggo Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan pada hari Ahad tanggal 05 Maret 1967. Pendidikan Sekolah Dasar ditempuh di Desa Kalimalang Kentong Glagah Lamongan dan Madrasah Ibtidaiyyah di Desa Wangen Glagah Lamongan tamat tahun 1980. Pendidikan Menengah Pertama dijalani di SMP Negeri 1 Kota Lamongan

lulus tahun 1983. Pendidikan Menengah Atas diselesaikan di kota yang sama Kota Lamongan di SMPP Lamongan yang kemudian berganti nama menjadi SMA Negeri 2 Lamongan pada tahun 1986. Selanjutnya hijrah ke Surabaya untuk melanjutkan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, tamat pada tahun 1992. Sembari menyelesaikan pendidikan kedokteran, di waktu senggangnya dijalannya dengan menjadi guru bidang studi fisika di SMP Bina Bangsa Siwalankerto Wonocolo Surabaya dan di SMP Bina Bangsa 2 Krembangan Jaya Surabaya serta guru bidang studi biologi di SMA Bina Bangsa Surabaya. Setelah menamatkan pendidikan kedokteran kemudian melaksanakan tugas sebagai dokter PTT di Desa Sambutan Kecamatan Samarinda Ilir Kotamadya Samarida Propinsi Kalimantan Timur sekaligus sebagai Dokter Perusahaan di perusahaan kayu PT. TYSP Palaran Samarinda sampai tahun 1997. Pada tahun 1998 menjalani pendidikan sebagai peserta didik PPDS1 di Departemen Obstetri Ginekologi RS Dr Sutomo / Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan lulus pada tahun 2002. Setelah menyelesaikan pendidikan spesialis, mengabdikan diri di RSI Hasanah Muhammadiyah Mojokerto dan menjadi dosen part time pada beberapa Akademi dan Sekolah Tinggi (Akademi Kebidanan YARSI Surabaya, Poltekes

Majapahit Mojokerto, Stikes Majapahit Mojokerto, Akademi Keperawatan PPNI Mojokerto, Akademi Keperawatan Dian Husada Mojokerto, Akademi Kebidanan Sitti Khadijah Wonoayu Sidoarjo). Pada tahun 2012 menempuh pendidikan Diploma Imunologi di Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan pada tahun 2016 menyelesaikan pendidikan Doktorat di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sambil menjalani pendidikan doktorat ikut mempersiapkan pendirian Fakultas Kedokteran UMSurabaya dan menjadi dosen di sana.