

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Landasan teori

##### 1. *Gut microbiome*

###### a. Definisi

*Microbiome* merupakan keseluruhan genom mikrobial yang berada pada tubuh manusia dan hewan (Dietert and Dietert, 2015). *Microbiome* pertama kali digunakan untuk menggambarkan komunitas ekologi mikroorganisme komensal baik patogen maupun non patogen yang berada dalam tubuh manusia (Janoff, 2017; Amon and Sanderson, 2017), namun saat ini digunakan secara luas pada hubungan mikrobial spesifik terhadap hospes atau lingkungan. *Microbiome* menurut Andreote, *et al.*, 2014 didefinisikan sebagai seperangkat gen hospes dan lingkungan mengenai taksonomi dan fungsi mikrobial. *Fungsi gut microbiome* sebagai sistem imunitas, nutrisi, dan perkembangan manusia (Hall *et al.*, 2017; Johnson *et al.*, 2017; Belkaid and Hand, 2015). *Microbiome* juga berperan dalam pengaturan proses biologis dan fisiologis tubuh (Dietert and Dietert, 2015).

*Gut microbiome* terdiri dari genom mikrobial yang berada pada usus termasuk bakteri, archaea, virus, dan jamur (Turnbaugh *et al.*, 2013). *Microbiome* mempunyai peran yang penting dalam kesehatan manusia (Cho and Blaser, 2017), hal ini menunjukkan bahwa perubahan komposisi *gut microbiome* terkait dengan penyakit diabetes, penyakit radang usus, obesitas, asma, rheumatoid arthritis, dan kerentanan terhadap infeksi (Scher and Abramson, 2012; Huang and Boushey, 2015). *National Institutes of Health* (NIH) telah mengidentifikasi filum *gut microbiome* yang dominan dari tubuh manusia adalah Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, dan Actinobacteria. Filum *gut microbiome* pada usus manusia didominasi oleh Firmicutes dan Bacteroidetes (Rinninella *et al.*, 2019, *The Human Microbiome*, 2012).

## **b. Faktor yang mempengaruhi *gut microbiome***

### **1) Usia**

Komposisi *microbiome* pada anak-anak berbeda dengan *microbiome* pada usia dewasa, pada usia dewasa komposisi dan keragaman *microbiome* menjadi stabil yang ditandai dengan adanya dominasi oleh tiga filum bakteri yaitu: Firmicutes (Lachnospiraceae dan Ruminococcaceae), Bacteroidetes (Bacteroidaceae, Prevotellaceae, dan Rikenellaceae), serta Actinobacteria (Bifidobacteriaceae) (Tidjani *et al.*, 2016). Komposisi dan keanekaragaman *gut microbiome* juga dipengaruhi oleh faktor genetika, lingkungan, diet, gaya hidup, dan fisiologi usus (Tidjani *et al.*, 2016). Pada usia lanjut (diatas 70 tahun) terjadi perubahan komposisi *gut microbiome* yang dapat menyebabkan perubahan sistem pencernaan dan penyerapan nutrisi serta penurunan sistem kekebalan. Perubahan komposisi *gut microbiome* ini ditunjukkan dari hasil penelitian oleh Odamaki *et al.*, 2016 yaitu dengan terjadinya penurunan jumlah bakteri *Bifidobacterium* sp dan terjadi peningkatan bakteri *Clostridium* sp dan *Proteobacteria*. *Bifidobacterium* sp berperan dalam stimulasi sistem kekebalan tubuh dan proses metabolisme (Odamaki *et al.*, 2016).

### **2) Antibiotik**

Antibiotik dapat mempengaruhi komposisi *gut microbiome* pada manusia berdasarkan kelas, dosis, periode paparan, aksi farmakologis, dan bakteri target dari antibiotik (Iizumi *et al.*, 2017). Setiap kelas antibiotik memiliki sifat dan sistem ekskresi yang berbeda, menghasilkan pola perubahan yang berbeda dalam komposisi *microbiome* (Iizumi *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Chang *et al.*, 2015 membuktikan bahwa efek amoxsilin dan azitromisin terhadap *gut microbiome* famili *Proteobacteria* (Chang *et al.*, 2015).

### **3) Urbanisasi**

Urbanisasi dapat meningkatkan komposisi *microbiome* manusia, dimana *microbiome* ini meningkatkan potensi penularan patogen dan mengurangi paparan *microbiome* lingkungan yang dengannya manusia hidup bersama (Blaser *et al.*, 2016).

#### 4) Tinggal dekat dengan hewan

Komunitas mikrobiome pada hewan berhubungan erat dengan manusia hal ini ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.*, 2013 tentang interaksi *microbiome* pada tinja, mulut, dan kulit pada anak dan anjing. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa kepemilikan anjing secara signifikan meningkatkan komposisi *microbiome* kulit pada orang dewasa yang tinggal bersama dengan hewan (Song *et al.*, 2013).

Kontak dekat manusia dengan hewan menyebabkan terjadinya transmisi *gut microbiome*. Penelitian lain menunjukkan bahwa orang yang berada pada tempat tinggal yang sama memiliki kesamaan. Penelitian menunjukkan bahwa interaksi anak di desa Kenya dengan kontak dekat dengan ternak menemukan bahwa meskipun jumlah terbesar *gut microbiome* adalah antara saudara kandung pada tempat tinggal yang sama yang sama, di rumah tangga tertentu ada bukti pembagian komponen *microbiome* antara anak-anak dan sapi di dekatnya (Mosites *et al.*, 2017).

#### c. Peranan *gut microbiome* di bidang kesehatan

Manusia merupakan inang dari *gut microbiome*, *gut microbiome* berhubungan dengan kesehatan manusia yang dapat mempengaruhi komposisi dan fungsi (Wang *et al.*, 2017; Truong *et al.*, 2017). Modulasi *microbiome* yang dipengaruhi oleh faktor luar (transplantasi tinja dan intervensi makanan) hal ini dapat dibuktikan dengan pendekatan terapeutik potensial dalam mengatasi permasalahan kesehatan (Larsen and Claassen, 2018). Spesies *microbiome* yang ditemukan dapat memberikan informasi dalam membantu memahami proses di tingkat sel tunggal dan komunitas. *Gut microbiome* pada kondisi normal berperan sebagai mediator pada sistem pencernaan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan dapat menghambat patogen masuk ke dalam tubuh manusia. Hubungan antara *microbiome* manusia dan kesehatan manusia sebagian besar masih belum diketahui dan belum diteliti. Namun, beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa berkurangnya keanekaragaman *microbiome* saluran pencernaan terkait dengan penyakit seperti eksim (Wang *et al.*, 2017), asma, penyakit radang (Birzele *et al.*, 2017), diabetes, obesitas (Karlsson *et al.*, 2013), alergi (Bisgaard

*et al.*, 2011), gangguan saluran pencernaan seperti penyakit radang usus (Ferreira *et al.*, 2014) dan IBS (*irritable bowel syndrome*) (Kennedy *et al.*, 2014).

Ketidakseimbangan *microbiome* (disbiosis) dipengaruhi oleh genetik, evolusi penyakit, kanker (Nagao *et al.*, 2016), kolitis (Kau *et al.*, 2012), kecemasan dan depresi (Lach *et al.*, 2018). Beberapa penelitian dilakukan untuk mengetahui peran penting *gut microbiome* dalam memodulasi respons imun yang berbeda, termasuk toleransi imun, melalui modulasi sel Treg (*T regulatory*) (Spanogiannopoulos *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Geuking *et al.*, 2013, menunjukkan bahwa peningkatan sel Treg dalam usus dipengaruhi oleh adanya peningkatan *short-chain fatty acids* (SCFA).

Interaksi antara tubuh manusia dan *gut microbiome* secara luas dapat mempengaruhi beberapa aspek kesehatan manusia (Qin *et al.*, 2010) yaitu: berkontribusi pada proses fisiologis (Vieira and Pagovic, 2015) dan menginduksi sinyal dalam sistem kekebalan tubuh pada inang dan lingkungan fisik yang berbeda. Dengan demikian identifikasi dan karakterisasi mikroba pada inang, fenotipe inang, jalur biokimia mikroba yang mempengaruhi inang dan *microbiome* juga berbeda (Weinstock, 2013). Salah satu bakteri yang merupakan komponen *gut microbiome* pada manusia mengandung enzim yang berfungsi untuk fermentasi karbohidrat yang tidak dapat dicerna (selulosa, hemiselulosa, pectin maupun oligosakarida). Produk akhir dari metabolisme dari fermentasi karbohidrat adalah *short-chain fatty acids* (SCFAs) yaitu: *acetate*, *butyrate* dan *propionate* yang berperan sebagai sumber energi untuk kolonisasi pada sel epitel usus. *Short-chain fatty acids* (SCFAs) berperan dalam mempertahankan integritas mukosa kolon, mencegah translokasi bakteri, dan menstimulasi proliferasi sel epitel usus (Salonen *et al.*, 2014; Liang *et al.*, 2018).

#### **d. Mekanisme pertahanan inang dan *gut microbiome***

*Gut microbiome* berperan juga sebagai pertahanan tubuh inang terhadap invasi patogen baik melalui efek antagonis mikrobial maupun pematangan sistem imun intestinal. Hasil metabolisme bakteri mempunyai efek sebagai anti *microbiome* dan dapat menghambat patogen pada inang dengan cara membentuk surfaktan (Buffie *et al.*, 2015). *Bacteroides thetaiotamicron* menginduksi ekspresi



angiogenin dengan aktivitas bakterisidal terhadap *gut microbiome*. *Lactobacillus* menstimulasi sel dendritik untuk mengaktifasi sel *Natural Killer* (NK) dan peranan *segmented filamentous bacteria* (SFB) terhadap induksi IgA intestinal, dan aktivasi limfosit intra epitelial serta induksi ekspresi pada sel epitel usus (Vieira and Pagovic, 2015; Yamashiro, 2018).

Mekanisme protektif merupakan efek infeksi atau inflamasi terhadap keseimbangan *gut microbiom* (bakteri dan virus). Infeksi enterik dapat terjadi karena adanya respon terhadap patogen atau karena pertumbuhan patologis dari *gut microbiome* dalam komunitas *microbiome* usus. Infeksi akan terjadi apabila agen dapat menembus sistem pertahanan tubuh dari inang, seperti imunitas mukosa atau resistensi kolonisasi oleh *gut microbiome* normal (Lloyd-Price *et al.*, 2016; Weisse *et al.*, 2017). Kolonisasi pada mukosa usus akibat dari bakteri patogen enterik menyebabkan respon inflamasi untuk mengendalikan paparan patogen, tetapi respon inflamasi tersebut dapat menurunkan viabilitas *gut microbiome*. Famili Enterobacteriaceae menyebabkan pengurangan jumlah total *microbiome* usus karena adanya efek yang diperantarai pada reaksi inflamasi (Hao and Lee, 2010).

#### e. **Komposisi *gut microbiome***

Komposisi *gut microbiome* pada manusia sangat kompleks dan mempunyai peran untuk berbagai proses metabolisme. *Gut microbiome* mempunyai peran utama yaitu sebagai sumber energi karbohidrat yang tidak dapat dicerna oleh usus bagian atas, hal ini karena *gut microbiome* dapat memfermentasi dan mengabsorpsi *short chain fatty acid* (SCFA). *Gut microbiome* juga berperan pada proses sintesis vitamin B dan vitamin K serta metabolisme *bile acids*, *sterol* dan *xenobiotic* (Cummings *et al.*, 2013). Komposisi *gut microbiome* dipengaruhi faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal adalah jumlah bakteri, kebiasaan makan dan minum, komposisi *gut microbiome*, terapi obat-obatan dan faktor diet. Faktor diet (olisakarida) dapat mempengaruhi komposisi spesies dan strain bakteri. *Oligosaccharide* yang ditambahkan pada formula bayi dapat menurunkan pH usus besar dan dapat meningkatkan populasi *Bifidobacteria* pada usus besar sehingga dapat ditemukan pada feses (Gibbons *et al.*, 2015).

Bakteri nonpatogen yang berada di usus besar dan melakukan kolonisasi akan membentuk mikro ekosistem untuk pertahanan tubuh terhadap infeksi.

*Microbiome* yang paling banyak ditemukan di usus adalah:

- 1) *Lactobacilli*: *L. acidophylus*, *L. casei*, *L. delbruckii subsp. Bulgaricus*, *L.reuter*, *L. brevis*, *L. celobiosus*, *L.curvatus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*.
- 2) Gram-positive cocci: *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, *Streptococcus salvarius subsp. Thermophylus*, *Enterococcus faecium*, *S.diaacetylactis*, *S. intermedius*.
- 3) *Bifidobacteria*: *B.bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. longum*, *B.thermophylum* (Truong *et al.*, 2017). *Bifidobacterium* merupakan komponen mikroflora yang penting dalam usus manusia dan hewan (Liang *et al.*, 2018).

f. **Taksonomi gut microbiome**

*Gut microbiome* terdiri dari beberapa spesies mikroorganisme bakteri, ragi, dan virus. Bakteri dapat diklasifikasikan menurut filum, kelas, ordo, famili, genera, dan spesies. Filum *gut microbiome* adalah Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, dan Verrucomicrobia (Laterza *et al.*, 2016; Arumugam *et al.*, 2011) dengan dua filum dominan yaitu Firmicutes dan Bacteroidetes yang mewakili 90% *gut microbiome*. Filum Firmicutes terdiri lebih dari 200 genera yaitu *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, dan *Ruminicoccus*. Mewakili genera *Clostridium* 95% dari filum *Firmicutes*. Bacteroidetes terdiri dari genus dominan seperti *Bacteroides* dan *Prevotella*. Filum *Actinobacteria* secara proporsional lebih sedikit melimpah dan terutama diwakili oleh genus *Bifidobacterium* (Arumugam *et al.*, 2011). Pada tabel 2.1 menunjukkan taksonomi *gut microbiome*.

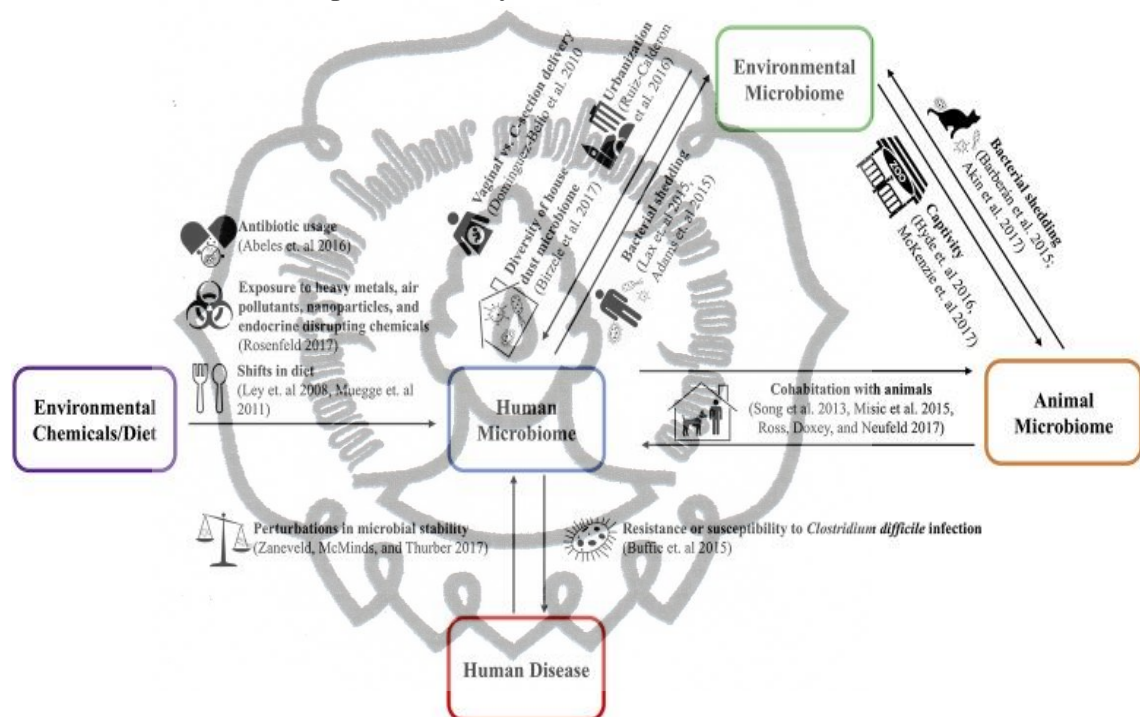
**Tabel 2.1. Taksonomi *gut microbiome* (Shin and Park, 2018)**

PHYLUM	CLASS	ORDO	FAMILY	GENUS
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>
	Coriobacteria	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	<i>Atopobium</i>
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Faecalibacterium</i>
				<i>Clostridium</i>
			Lachnospiraceae	<i>Roseburia</i>
	Negativitus	Veillonellales	Ruminococcaceae	<i>Ruminococcus</i>
			Veillonellaceae	<i>Dialister</i>
	Bacili	Lactobacillales	Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i>
			Enterococcaeae	<i>Enterococcus</i>
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Bacillales	<i>Staphylococcus</i>
			Sphingobacterium	<i>Sphingobacterium</i>
			Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i>
	Bacteroidia	Bacteroidales	Tannerellaceae	<i>Tannerella</i>
			Rikenellaceae	<i>Aliatipes</i>
			Prevotellaceae	<i>Prevotella</i>
	Gamma Proteobacteria	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>
Proteobacteria	Delta Proteobacteria	Desulfovibrionales		<i>Shigella</i>
			Desulfovibrionaceae	<i>Desulfovibrio</i>
	Epsilon Proteobacteria	Campylobacteriales	Helicobacteriaceae	<i>Bilophila</i>
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	<i>Helicobacter</i>
Verrucomicrobia	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiales	Akkermansia	<i>Fusobacterium</i>
				<i>Akkermansia</i>

#### g. *Gut microbiome* pada hewan dan manusia

Transmisi *gut microbiome* dari hewan ke manusia dapat melalui kontak langsung. Hal ini ditunjukkan pada penelitian pada pasangan yang tinggal bersamaan dengan hewan peliharaan memiliki keanekaragaman *microbiome* lebih besar dibandingkan orang yang tidak tinggal bersamaan atau tidak memiliki hewan peliharaan (Ross *et al.*, 2017). Penelitian lain juga menyatakan bahwa komposisi *microbiome* kulit antara manusia dan anjing yang tinggal bersama memiliki kesamaan. Selain itu pasangan suami isteri yang tinggal bersama dengan

anjing memiliki bakteri kulit dibanding orang yang tidak memiliki anjing (Song *et al.*, 2013). Begitu pula penelitian pada orang yang tinggal bersama dengan hewan peliharaan memiliki *microbiome* hidung dan kulit yang sama, hal ini menunjukkan adanya pengaruh hewan peliharaan berperan dalam transmisi mikroba (Misic *et al.*, 2015). Penelitian lain pada anak yang kontak langsung dengan ternak di Desa Kenya memiliki *microbiome* usus yang sama dengan saudara kandung di tempat tinggal yang sama, hal ini terbukti bahwa adanya transmisi *microbiome* sapi di sekitarnya (Mosites *et al.*, 2017).



Gambar 2.1. Hubungan ekologi antara kesehatan manusia, hewan dan lingkungan merupakan konsep *One Health* (Davis *et al.*, 2017; Trinh *et al.*, 2018)

Konsep *One Health* pada gambar 2.1 menunjukkan adanya hubungan ekologi antara kesehatan manusia, hewan dan lingkungan (Davis *et al.*, 2017; Trinh *et al.*, 2018) serta transmisi mikroba patogen dan non-patogenik (Song *et al.*, 2013; Hyde *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2015). Dalam hubungan *microbiome* antara lingkungan, kesehatan manusia dan hewan membutuhkan suatu pendekatan yang inovatif dan holistik untuk diagnosis, pengobatan, dan intervensi (Flandroy



*et al.*, 2018). *Microbiome* hewan dapat mempengaruhi kesehatan ternak, hewan peliharaan, vektor penyakit, dan spesies lain dalam suatu ekosistem. Hal ini ditunjukkan pada penelitian Niederwerder, 2017 dimana *microbiome* babi dapat mempengaruhi munculnya penyakit pernapasan (Niederwerder, 2017). *Microbiome* lingkungan dapat berasal dari tanah (Afshinnkoo *et al.*, 2016; Robertson *et al.*, 2013; Leung *et al.*, 2014), kamar kecil (Gibbons *et al.*, 2015), ruang kuliah atau gedung perkantoran (Gilbert *et al.*, 2010).

Paparan *microbiome* manusia dan hewan dapat dipengaruhi oleh mikrobia baik dari orang tua, orang lain, hewan, maupun lingkungan (Azad *et al.*, 2013; Tun *et al.*, 2017). *Microbiome* pada manusia juga dapat dipengaruhi oleh adanya kontak dengan hewan (Azad *et al.*, 2013; Tun *et al.*, 2017), konsumsi makanan, air dan inhalasi (O'Connor *et al.*, 2018; Birzele *et al.*, 2017). Efek paparan *microbiome* dimulai sejak awal kehidupan (Dominguez-bello *et al.*, 2010), perubahan komposisi *microbiome* pada awal kehidupan merupakan implikasi kesehatan yang digunakan dalam pengembangan sistem kekebalan tubuh dengan mempengaruhi kesehatan seperti rinitis alergi, asma, diabetes melitus, dan gastroenteritis (Neu and Rushing, 2011).

#### **h. Interaksi kimia dan patogen lingkungan dengan *microbiome* manusia**

Paparan bahan kimia di lingkungan dapat menyebabkan perubahan disbiosis untuk komposisi *gut microbiome* atau mengubah aktivitas metabolisme *microbiome* usus (Claus *et al.*, 2016). Relevansi kesehatan dan mekanisme interaksi semacam itu adalah bidang investigasi aktif (Patterson and Turnbaugh, 2015; Spanogiannopoulos *et al.*, 2017). Pengaruh antibiotik mengurangi keanekaragaman dan kelimpahan *microbiome* usus manusia secara signifikan (Abeles *et al.*, 2016). Mikroorganisme usus pada proses metabolisme xenobiotik dipengaruhi oleh enzim *azoreductases*, *nitroreductases*,  *$\beta$ -glucuronidases*, *sulfatases*, dan  *$\beta$ -lyases* (Claus *et al.*, 2016). Bakteri usus dapat memetabolisme berbagai bahan kimia lingkungan seperti pestisida hidrokarbon aromatik polisiklik, poliklorobifenil, turunan benzena, melamin, pemanis buatan, dan logam dan menjadi lebih toksis (Claus *et al.*, 2016). *Microbiome* usus juga dapat memodulasi respons terhadap racun di lingkungan, hal ini ditunjukkan salah satu

penelitian bahwa *microbiome* pernapasan pada tikus terhadap paparan ozon dapat memproduksi asam lemak rantai pendek sehingga dapat memodulasi respon proses respirasi (Cho *et al.*, 2018).

**i. Analisis hubungan antara *gut microbiome* manusia dan hewan**

Hubungan *gut microbiome* manusia dan hewan serta lingkungan dapat diketahui dengan memahami pengaruh timbal balik dari *microbiome* manusia, hewan, dan lingkungan dengan demikian dapat menimbulkan intervensi yang meningkatkan kesehatan manusia. Langkah awal dalam memahami hubungan *gut microbiome* ini adalah dengan mengkarakterisasi faktor yang mempengaruhi perubahan komunitas mikroba dan kesehatan manusia. Langkah berikutnya yaitu pengumpulan sampel dan ekstraksi DNA, sekuensing gen berdasarkan targetnya dan menyimpulkan *phylogenetic* dan analisis komposisi taksonomi *microbiota*. Gen yang ditargetkan secara umum meliputi gen 16S ribosomal RNA (16S rRNA) untuk studi bakteri dan archaea, ITS2 untuk studi jamur, atau gen 18S rRNA untuk parasit. Sebaliknya, fragmen metagenomik dan sekuens shotgun semua DNA mikroba yang tersedia, kemudian menganalisis sekuens tidak hanya spesies bakteri tetapi keberadaan gen (Thomas *et al.*, 2014; Jovel *et al.*, 2016).

Analisis gen 16S rRNA menggunakan metode *Next-Generation Sequencing* (NGS) dapat mengetahui komposisi *gut microbiome*. Pada usus besar orang dewasa yang sehat *microbiome* didominasi oleh Firmicutes Bacteroidetes, dan Actinobacteria dengan genus utamanya adalah *Bifidobacterium*. Sedangkan pada usus halus komposisi *microbiome* disusun oleh *Streptococcus*, *Clostridium* dan *Veilonella* (Zoetendal *et al.*, 2012; Leimena *et al.*, 2013).

**j. Analisis keanekaragaman *gut microbiome***

Analisis keanekaragaman *gut microbiome* dapat digunakan untuk mengetahui distribusi dan pola perubahan *microbiome*, dengan demikian metode kultur tidak dapat digunakan untuk analisis keanekaragaman maka diperlukan pendekatan molekuler. *Next Generation Sequencing* (NGS) terdiri dari 2 platform untuk melihat keanekaragaman *microbiome* yaitu 454 *Pyrosequencing* (Cummings *et al.*, 2013; Mandal *et al.*, 2015) dan *Illumina-based sequencing*

(Buffie *et al.*, 2015; Panek *et al.*, 2018; Pérez *et al.*, 2017). Penggunaan NGS dapat meningkatkan akurasi kompleksitas keanekaragaman suatu populasi mikroba sekaligus menghubungkan keanekaragaman komunitas mikroba dengan fungsi lingkungannya (Cao *et al.*, 2017; Kchouket *et al.*, 2017; Ladoukakis *et al.*, 2014; Panek *et al.*, 2018; Patel and Jain, 2012; Vincent *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2014).

#### k. Analisis interaksi inang dan *gut microbiome*

Analisis interaksi inang (manusia atau hewan) dengan mikrobia dapat dilakukan dengan identifikasi, klasifikasi, prediksi profil, dan mekanisme interaksi (Knight, 2011; Knights *et al.*, 2013; Quick *et al.*, 2013; Robertson *et al.*, 2013). Interaksi antara inang dan mikrobia dapat memprediksi perilaku keduanya (Van-Belleghem *et al.*, 2019). Pendekatan klasik dalam mempelajari interaksi antara inang dengan mikrobia adalah menggunakan teknik kultur, tetapi dengan teknik kultur hanya satu spesies mikrobia saja yang dapat teridentifikasi. Studi metagenomik mempelajari tentang interaksi inang dan mikroba yang dapat memberikan informasi tentang pengawasan patogen, bioteknologi, interaksi inang dan mikrobia, fungsional disbiosis, dan biologi evolusioner (Rosario and Breitbart, 2011). Studi metagenomik pada *microbiome* manusia bertujuan untuk mengetahui hubungan antara *microbiome* usus dan penyakit manusia seperti depresi (Lach *et al.*, 2018), rheumatoid arthritis (Jose *et al.*, 2012) dan diabetes (Devaraj and Hemarajata, 2014).

## 2. Next Generation Sequencing (NGS)

*Next Generation Sequencing* (NGS) merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi patogen secara genomik. Metode ini merupakan teknik sekuensing seluruh genom dari populasi mikroba. Teknik NGS memerlukan gen sebagai penanda yang mewakili identitas suatu genom. Karakteristik dari penanda adalah terjadi pada setiap anggota populasi, perbedaan terjadi pada anggota populasi yang memiliki genom berbeda dan perbedaan proporsional sesuai dengan jarak evolusi dari genom berbeda.

Metode sekuensing DNA yang pertama kali digunakan adalah Sanger (*Sanger dideoxy sequencing*). Metode ini bertujuan untuk reaksi sekuensing menggunakan DNA *template* dan primer spesifik. Panjang sekuen yang dihasilkan berkisar antara 1.000-1.200 pasang basa (bp) dan tidak melebihi 2.000bp (Slatko *et al.*, 2018). Generasi kedua pada teknologi sekuensing adalah *Next Generation Sequencing* (NGS), metode sekuensingnya adalah sekuensing shotgun (Tan *et al.*, 2019). *Next Generation Sequencing* (NGS) bertujuan untuk mendeskripsikan semua teknologi sekuensing selain teknologi sekuensing Sanger. Pada metode ini DNA *template* dipotong menggunakan enzim restriksi kemudian fragmen DNA diklon pada vektor sekuensing dan fragmen DNA setiap klon selanjutnya dilakukan sekuensing secara terpisah. Hasil sekuen lengkap dari fragmen DNA yang panjang dihasilkan dengan cara menjajarkan (*alignment*) dan menyambung (*assembly*) sekuen fragmen DNA berdasarkan bagian sekuen yang berkomplemen (*overlapping*), dengan demikian pemetaan genom manusia dapat diselesaikan.

Teknologi NGS dapat membaca DNA *template* secara random pada seluruh genom dengan cara membuat fragmen pendek, kemudian menyambungkannya dengan adapter yang bertujuan mempermudah pembacaan pada mesin NGS secara random selama proses sintesis DNA (Pereira *et al.*, 2020). Oleh karena itu teknologi NGS disebut sekuensing paralel secara masif. Panjang bacaan sekuen DNA yang dihasilkan oleh mesin NGS jauh lebih pendek dibandingkan bila menggunakan mesin sekuensing dengan metode Sanger. NGS menghasilkan panjang sekuen DNA antara 50-500 bp (Tan *et al.*, 2019). Karena sekuen yang dihasilkan dengan metode NGS lebih pendek, maka sekuensing setiap fragmen DNA harus dilakukan lebih dari sekali ukuran genome, hal ini dilakukan untuk menjaga akurasi data hasil sekuensing (Salipante *et al.*, 2014). Tiga teknologi NGS utama yang tersedia saat ini adalah Roche/454 pyrosequencing platform, *Illumina Solexa polymerase sequencing platform*, dan *ABI/SOLID ligase sequencing technology*. Jika dibandingkan dengan metode sekuensing Sanger, ketiga teknologi NGS ini menghasilkan data sekuen yang jauh lebih banyak dalam sekali menjalankan alat. Oleh karena itu alat ini dikenal dengan *high throughput sequencing platforms* (Zhang *et al.*, 2020). Prinsip dasar



ketiga alat NGS tersebut berbeda baik dalam menghasilkan data sekuen, kualitas data yang dihasilkan maupun biaya sekuensing. Alat Roche/454 menghasilkan data sekuen terpanjang, tetapi kuantitas data sekuennya terendah (*lowest throughput*). Jumlah sekuen basa yang dihasilkan Illumina/Solexa tertinggi (*highest throughput*), tetapi panjang bacaannya hanya sekitar 100 basa. Panjang bacaan yang dihasilkan ABI/SOLID terpendek, hanya sekitar 50 basa, tetapi tingkat kesalahan pembacaan DNA pada proses sekuensing (*error rate*) paling rendah (Zhang *et al.*, 2020).

Gen penanda yang paling sering digunakan dalam NGS adalah gen 16S rRNA (Yang *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2015; Laudadio *et al.*, 2018; Qin *et al.*, 2010; Salonen *et al.*, 2014). Analisis sekuen gen 16S rRNA dapat digunakan untuk mempelajari keanekaragaman *gut microbiome* dari berbagai lingkungan yang berbeda. Gen 16S rRNA memiliki 9 daerah hipervariabel (V1-V9) sebagai target amplifikasi dan identifikasi taksa. Dari 9 regio hipervariabel tersebut, regio V3-V4 dianggap paling optimal sebagai daerah target untuk mengidentifikasi spesies bakteri (Yang *et al.*, 2017). Karakterisasi keanekaragaman pembacaan sekuen gen 16S rRNA pada komunitas *microbiome* melalui beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu tahap pengelompokan hasil bacaan ke dalam unit taksonomi untuk membuat profil taksonomi. Profil taksonomi selanjutnya dinilai keanekaragamannya dengan menghitung *richness* (jumlah unit taksonomi yang ada) dan *evenness* atau *abundance* (jumlah dari masing-masing unit taksonomi yang berbeda) (Ansorge, 2016). Profil taksonomi umumnya menggunakan 2 pendekatan yang berbeda berdasarkan sekuen dari 16S rRNA masing-masing sampel. Metode pertama adalah dengan mencocokkan sekuens 16S rRNA sampel dengan basis data yang sudah disesuaikan dengan suatu hirarki taksonomi) (Liu *et al.*, 2012).

Pendekatan yang berdasarkan kemiripan sekuen digunakan untuk membentuk sebuah kluster (Schloss *et al.*, 2016). Persentase kemiripan yang ditetapkan untuk sebuah kluster berkisar antara 95%, 97% atau 99%. Semua hasil pembacaan yang berada dalam satu kluster dianggap sebagai satu unit taksonomi operasional (*Operational Taxonomic Unit/ OTU*). Analisis keanekaragaman



bertujuan untuk memahami stuktur dan perubahan pada komunitas. Keanekaragaman suatu komunitas diukur berdasarkan konsep spesies sebagai unit dasar dalam analisis. Ada dua macam keanekaragaman yaitu  $\alpha$ -diversity dan  $\beta$ -diversity. *Alpha-diversity* menunjukkan keanekaragaman dalam satu komunitas dan yang diukur adalah jumlah spesies (*richness*), proporsi relatif suatu spesies (*evenness*) atau kombinasi ke duanya. Sedangkan  $\beta$ -diversity menilai keanekaragaman antara dua atau lebih komunitas, dimana yang dihitung adalah jumlah spesies sama yang dibagi dalam komunitas tersebut. Keanekaragaman populasi diukur menggunakan pendekatan dengan metode yang berbasis pada konsep divergensi (*divergence-based diversity*) (Langille *et al.*, 2013). Metode tersebut didasarkan pada konsep keanekaragaman populasi akan meningkat bila unit penyusun populasi semakin divergen. Dengan demikian jika 2 populasi dianggap mirip artinya populasi tersebut berasal dari satu cabang filogenetik. Perhitungan tersebut terdapat beberapa faktor yaitu: apakah mengukur keanekaragaman dalam satu komunitas ( $\alpha$ -diversity) atau antar komunitas ( $\beta$ -diversity), apakah pengukuran bersifat kualitatif (mengukur ada atau tidaknya suatu taksa) ataukah bersifat kuantitatif menghitung (jumlah dari masing-masing taksa) serta apakah pengukuran bersifat spesies-based atau *divergence-based*.

Pada dasarnya semua metode pengukuran di atas dapat digunakan terhadap berbagai macam komunitas, meskipun beberapa di antaranya lebih sering diimplementasikan pada ekologi spesifik tertentu.  $\beta$ -diversity berbasis divergensi seringkali digunakan pada komunitas mikrobial untuk menentukan apakah komunitas tersebut berbeda secara bermakna. Sebaliknya pengukuran  $\alpha$ -diversity berbasis divergensi sangat jarang digunakan untuk menilai komunitas mikrobial (Gill *et al.*, 2011).

### 3. Zoonosis

#### a. Definisi zoonosis

*World Health Organization* (WHO) mendefinisikan zoonosis sebagai penyakit atau infeksi yang berpotensi menular secara alami antara hewan dan manusia (Klous *et al.*, 2016). Diperkirakan sekitar 61,3% dari seluruh kuman patogen yang menginfeksi manusia dan 75% infeksi yang baru muncul dikenali

sebagai zoonosis (Bordier and Roger, 2013; WHO, 2015). Dalam 20 tahun terakhir, 75% penyakit baru pada manusia terjadi akibat perpindahan patogen dari hewan ke manusia atau bersifat zoonotik; dan dari 1.415 mikroorganisme patogen pada manusia, 60% bersumber dari hewan (Klous *et al.*, 2016; Gill *et al.*, 2011).

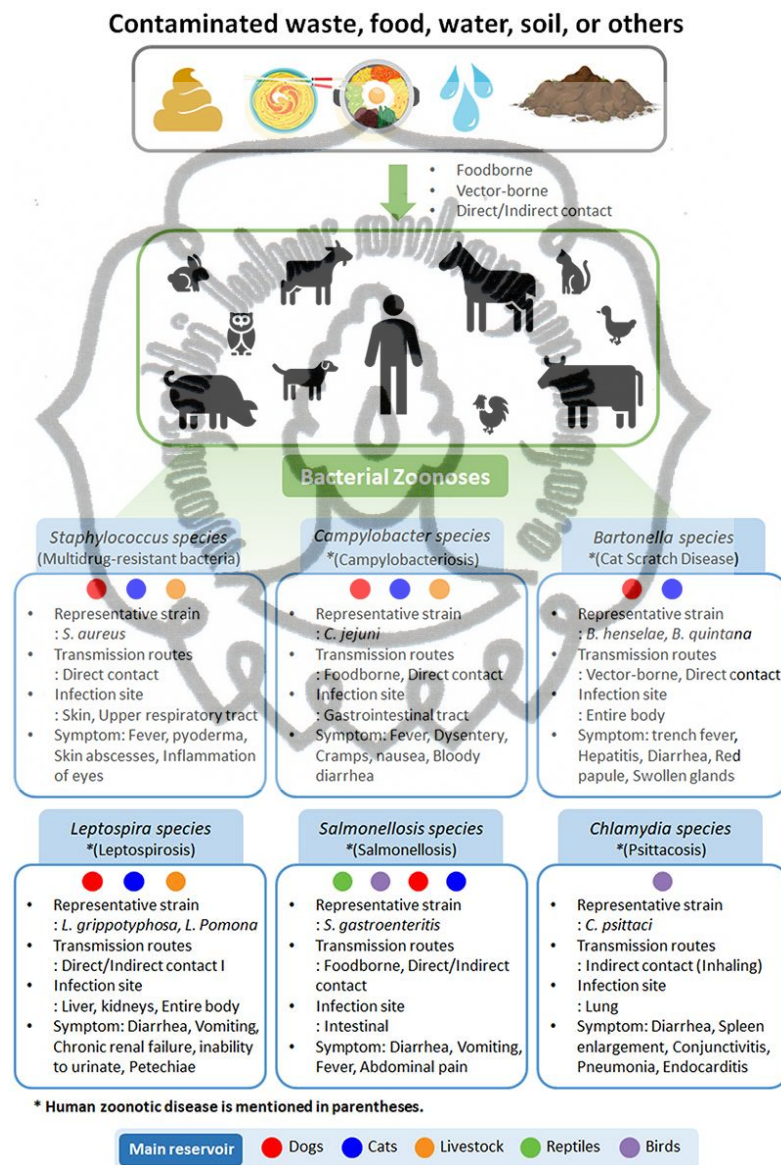
#### **b. Transmisi Zoonosis**

Zoonosis merupakan isu ekonomi dunia kesehatan yang sangat penting, hal ini ditunjukkan pada 60% dari penyakit menular pada manusia berasal dari hewan (Klous *et al.*, 2016; CDC, 2019; WHO, 2019), dan 75% nya adalah zoonosis yang meliputi bakteri, virus, jamur, agen protozoa, dan parasit (Hale *et al.*, 2012). Penularan langsung melalui jalur *fecal-oral* terjadi melalui kontak fisik dengan ternak, sedangkan penularan tidak langsung melalui jalur yang berhubungan dengan ternak, misalnya kendaraan yang mengangkut hewan, tanah dan udara sekitar tempat pemeliharaan hewan, lingkungan yang terkontaminasi, makanan, atau air yang mengalir disekitar kandang (LeJeune and Kersting, 2010).

Zoonosis dalam kondisi tertentu perlu dikendalikan karena dapat berpotensi menjadi wabah atau pandemik. Ancaman zoonosis di Indonesia maupun di dunia cenderung meningkat dan berimplikasi pada aspek sosial, ekonomi, keamanan dan kesejahteraan rakyat. Faktor yang berperan dalam kemunculan *emerging zoonoses* antara lain perubahan ekologi seperti yang disebabkan oleh pertanian, pembangunan dan perubahan iklim, perubahan demografis dan perilaku manusia, perdagangan dan perjalanan, teknologi dan industri, serta adaptasi dan perubahan mikroorganisme (Rabozzi *et al.*, 2012).

Ternak dalam kondisi sehat dapat membawa patogen di usus manusia dan dapat menyebabkan keluhan mual, muntah, diare, bahkan hingga kematian. Dengan demikian pencegahan zoonosis dari hewan ke manusia sangat diperlukan (Erdozain *et al.* 2015). Hewan yang terinfeksi mengeluarkan patogen dari saluran pencernaan ke feses (Baker *et al.* 2016). Penularan zoonosis pada ternak merupakan ancaman besar bagi kesehatan manusia, hidup dekat dengan ternak terutama pekerjaan yang memerlukan kontak dekat hewan hidup, sakit atau mati, juga melalui lingkungan atau setelah kontak secara singkat. Kontak dengan hewan ternak dapat menyebabkan penularan mikroorganisme melalui inhalasi, konsumsi,

konjungtiva, atau selama insiden seperti menggigit atau cedera lain yang ditimbulkan oleh hewan. Aerosol yang terkontaminasi mikroorganisme dari pernapasan atau sumber cairan juga dapat berperan penting dalam transmisi mikroorganisme ke manusia dan dari hewan ke manusia. Penularan penyakit zoonosis sangat berkaitan dengan keberadaan hewan atau beberapa jenis kontak dengan ternak (Klous *et al.*, 2016).



Gambar 2.2 Jenis bakteri patogen pada manusia dan hewan beserta rute penularan, lokasi infeksi, dan gejalanya pada reservoir anjing, kucing, ternak, reptil, dan burung (Shin and Park, 2018).

Kontak manusia dengan hewan merupakan perilaku yang dapat berisiko zoonosis, perilaku yang berisiko adalah memegang hewan terkontaminasi pathogen pada daerah mukosa wajah seperti hidung dan mulut, makan dan minum akan berisiko tertelannya patogen karena tidak cuci tangan (Conrad *et al.* 2015). Penularan juga dapat terjadi tanpa adanya kontak dengan hewan terinfeksi, namun melalui debu di lingkungan. Transmisi patogen dapat terjadi melalui kontak hewan peliharaan, pertanian atau hewan liar. Pasar yang menjual daging atau produk sampingan hewan liar berisiko tinggi karena banyaknya patogen baru dan belum terdokumentasi. Perilaku berisiko orang yang tinggal dekat dengan ternak diantaranya adalah menggigit kuku, kontak dengan tempat kotor, mengisap jari tangan, makan, tangan yang kotor atau sepatu yang dipakai selama berada di daerah hewan juga telah diidentifikasi sebagai faktor risiko infeksi zoonotik (Hoelzer *et al.* 2011; Conrad *et al.* 2015).

Transmisi patogen dapat terjadi melalui makanan atau air yang terkontaminasi dan penularan antar orang (*person to person*). Patogen dapat terbawa melalui makanan berasal dari daging yang kurang matang, makanan laut, susu yang tidak dipasteurisasi serta sayuran yang terkontaminasi patogen (Gambar 2.2) (Damborg *et al.*, 2016; Shin and Park, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hale *et al.*, 2012 menunjukkan bahwa adanya kontak langsung dengan ternak merupakan penyebab umum dari zoonosis melalui organ pernafasan, organ pencernaan, selaput lendir dan kulit. Patogen penyebab zoonosis yaitu *Campyobacter sp*, *Salmonella nontyphoidal*, *Cryptosporidium*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella sp* (Hale *et al.*, 2012). Patogen zoonosis dapat ditularkan melalui kontak dekat dengan hewan. Fomites dapat menularkan beberapa agen, dan kemungkinan jalur ini berkorelasi dengan persistensi organisme di lingkungan.

### **c. Infeksi Parasit**

#### **1. *Giardia sp***

*Giardia sp* dikenal sebagai parasit patogen sekitar tahun 70an setelah terjadinya wabah diare di beberapa negara. Umumnya parasit ini banyak mengkontaminasi air terutama apabila tingkat sanitasi rendah (Rodríguez-Morales



*et al.*, 2017). *Giardia* juga menyerang binatang liar (ReboredoFernández *et al.* 2017), anjing (Arroyo-Salgado *et al.* 2013), sapi (Fayer *et al.* 2012), kuda (Santín *et al.* 2013), kambing dan domba (Yin *et al.*, 2018; EligioGarcía *et al.* 2017). Kista *Giardia lamblia* berbentuk oval, ellipsoid, ukuran 8-19 µm, memiliki 2 inti, namun pada kista dewasa memiliki 4 inti. Trofozoit *Giardia lamblia* berbentuk buah pir, panjang 10-20 µm, memiliki 2 inti besar, disk pengisap digunakan untuk menempel pada epitel mukosa, *median body*, dan 8 flagela (CDC, 2017a).

*Giardia sp* termasuk kedalam genus protozoa berflagela dan mampu menginfeksi saluran pencernaan pada semua kelas vertebrata dan bersifat non-invasif. Parasit ini memiliki siklus hidup dan metabolisme yang sederhana sehingga dapat berkembang cepat dalam tubuh inang dan menginfeksi inang walaupun hanya dengan 10 kista per oral (Rodríguez-Morales *et al.*, 2017). *Giardia* merupakan protozoa gastrointestinal yang umumnya menyebabkan penyakit enterik pada berbagai spesies hewan dan manusia (Jin *et al.*, 2017; Junaidi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Yin *et al.*, 2018). Lebih dari 40 spesies hewan telah dilaporkan terinfeksi *G. duodenalis* di seluruh dunia (Ryan *et al.*, 2019). *Giardia* berkembang biak di dalam tubuh inang secara aseksual, pada permukaan saluran pencernaan dengan merusak vili usus, mengakibatkan diare cair yang bersifat akut atau kronis, malabsorpsi, penurunan berat badan, penurunan produksi susu, dehidrasi dan dapat berakhir kematian, terutama pada ternak muda (Einarsson *et al.*, 2016; Halliez and Buret, 2013).

Manifestasi yang ditimbulkan bervariasi, mulai dari asimtomatik hingga diare berat dan malabsorpsi. Pada fase akut, setelah 1-14 hari masa inkubasi, timbul gejala diare, sakit perut, mual, muntah, dan kembung. Pada kondisi kronis, timbul gejala berulang dan malabsorpsi (CDC, 2017a). Gejala klinis giardiasis adalah diare, dehidrasi, sakit perut, mual, muntah, dan penurunan berat badan (Squire and Ryan, 2017; Halliez and Buret, 2013).

Giardiasis yang disebabkan oleh *Giardia* juga telah diakui sebagai penyakit zoonosis penting untuk kesehatan masyarakat dan hewan (Einarsson *et al.*, 2016; Squire *et al.*, 2017). Delapan assemblage telah diidentifikasi di *G. duodenalis*, termasuk assemblage A – H (Ryan *et al.*, 2019). Struktur delapan



*assemblage* serupa, tetapi genotipe berbeda (Einarsson *et al.*, 2016). Di antara *assemblage* A-H, *assemblage* A dan B biasanya diidentifikasi pada berbagai mamalia, termasuk manusia (Wang *et al.*, 2018), sedangkan kumpulan sisanya terutama terjadi pada kelompok hewan yang relatif spesifik (Wang *et al.*, 2017).

## 2. *Cryptosporidium* sp

*Cryptosporidium* sp terdistribusi ke seluruh dunia, distribusi terjadi ketika oocyst *Cryptosporidium* sp dibuang ke permukaan air oleh manusia dan hewan (satwa liar, hewan peliharaan, dan ternak) melalui feses. Ookista yang diekskresikan dan dapat ditoleransi dengan disinfektan, pemutih encer, dan klorin. Penularan terjadi ketika inang terpapar dengan oocyst *Cryptosporidium* sp terutama melalui rute fecal-oral melalui makanan dan air yang terkontaminasi atau kontak langsung dengan feses hewan dan secara tidak langsung melalui kontaminasi silang. Diagnosis laboratorium infeksi *Cryptosporidium* sp biasanya menggunakan pewarnaan oocyst dan diperiksa di bawah mikroskop. Sebagian besar manusia dan hewan yang terinfeksi kuat tidak bergejala dan diare ringan, tetapi gejala kekerasan akan terjadi pada pejamu yang imunokomprominya. Strategi terbaik untuk mencegah dan mempersempit penyebaran penyakit ini adalah menjaga kebersihan diri yang baik pada manusia ditambah dengan pengurangan, pengendalian, atau penghapusan faktor risiko penyebab bagi hewan lain (Pumipuntu and Piratae, 2018).

*Cryptosporidiosis* pada ternak menjadi masalah yang signifikan bagi kesehatan hewan baik subklinis maupun klinis dan dapat mengalami kerugian ekonomi (Mamedova and Karanis, 2020) karena meningkatkan pelayanan veteriner dan biaya tenaga kerja, meningkatkan biaya perawatan kesehatan hewan, dan menurunkan pertumbuhan tingkat hewan dan kematian hewan yang parah. *Cryptosporidium* memiliki siklus hidup yang kompleks yang melibatkan replikasi seksual (meiosis) dan aseksual (mitosis) (Bouزيد *et al.*, 2013). Selain itu, memiliki banyak formasi morfologi yang harus diselesaikan dalam siklus hidupnya. Ookista dari manusia dan hewan melalui kotoran diekskresikan ke lingkungan. Setelah inang menelan ookista infeksi, eksistasi akan terjadi untuk melepaskan empat sporozoit. Sporozoit akan menyerang saluran pencernaan dan

berkembang menjadi merozoit, gamont, dan ookista. Ookista ada dalam dua bentuk: dinding tipis akan menginfeksi kembali di saluran pencernaan dan dinding tebal akan keluar ke lingkungan melalui feses. Siklus hidup dimulai dari oocyst bersporulasi yang dilepaskan oleh inang yang terinfeksi. Setelah itu, inang vertebrata mencerna ookista bersporulasi melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi, dan proses eksistasi akan terjadi untuk melepaskan 4 sporozoit infeksius. Perkembangan ini terjadi di saluran pencernaan yang dipicu oleh CO<sub>2</sub>, suhu 37° C, enzim pankreas, dan pH asam dari garam empedu (Krumkamp *et al.*, 2020).

### 3. *Entamoeba* spp

*Entamoeba* spp. secara morfologis identik dengan spesies *E. dispar*, *E. moshkovskii*, dan *E. bangladeshi*, umumnya tidak terkait dengan penyakit meskipun pada beberapa penelitian memiliki potensi patogen. Sementara spesies yang dibahas identik secara morfologis, *E. histolytica* dapat diamati dengan sel darah merah yang tertelan (eritrofagositosis); *E. dispar* kadang-kadang dapat terlihat dengan eritrosit yang tertelan juga, meskipun kapasitasnya untuk eritrofagositosis jauh lebih sedikit daripada *E. histolytica* (Ali, 2015; Heredia *et al.*, 2012).

Kista dapat bertahan hidup sehari-hari hingga berminggu-minggu di lingkungan luar dan tetap menular di lingkungan karena perlindungan yang diberikan oleh dindingnya. Trofozoit yang dikeluarkan melalui feses akan cepat hancur begitu berada di luar tubuh, dan jika tertelan tidak akan bertahan dari paparan lingkungan lambung. Distribusi geografis patogen *Entamoeba* spp terjadi di seluruh dunia dan sering ditemukan di air tawar yang terkontaminasi kotoran manusia. Mayoritas kasus amebiasis terjadi di negara berkembang, namun di negara industri juga tidak menutup kemungkinan dapat terinfeksi patogen *Entamoeba* spp.

*Entamoeba histolytica* merupakan parasit penyebab amebiasis, penyakit yang disebabkan oleh parasit ini sebagai penyebab yang utama kematian setelah malaria dan schistosomiasis. Selain menginfeksi manusia, *E. histolytica* juga menginfeksi hewan primata, anjing, dan kucing dengan proporsi (Junaidi *et al.*,

2020). *Entamoeba sp* dapat menyebabkan infeksi yang asimtomatik hingga disentri dengan gejala klinis nyeri perut, mual atau muntah, diare berat dengan feses lender darah serta demam. Ternak dapat membawa parasit dan menyebarkan parasit ke manusia. Dengan demikian mencuci tangan dengan benar dapat sangat mengurangi risiko. Zoonosis yang disebabkan oleh parasit, jenis gejala dan tandanya dapat berbeda tergantung dari parasit dan orangnya (Sánchez *et al.*, 2017).

#### 4. Cacing

Cacing yang penyebarannya dan penularannya melalui tanah yang telah terkontaminasi oleh telur yang berasal feses penderita yaitu *Soil transmitted helminthes* (STH). STH terdiri dari *roundworm* yaitu *Ascaris lumbricoides*, *whipworm* (*Trichuris trichiura*), serta *hookworm* yang terdiri dari *Necator americanus* dan *Ancylostoma duodenale*. Infeksi STH merupakan infeksi yang sering dikaitkan dengan kondisi sanitasi dan *hygiene* yang buruk di pemukiman dan komunitas. Hal ini sering ditemukan di negara subtropis dan tropis beriklim hangat dan lembab dengan tingkat kemiskinan dan kepadatan penduduk yang tinggi (WHO, 2019).

Habitat cacing dewasa *Ascaris lumbricoides* di rongga usus halus manusia akan menghasilkan telur yang dikeluarkan bersama feses dalam bentuk *unfertilized* dan *fertilized egg*. *Unfertilized egg* tidak berkembang menjadi bentuk infeksi, sedangkan di dalam telur yang dibuahi (*fertilized egg*) berkembang larva dalam 18 hari/beberapa minggu tergantung kondisi lingkungan (fase infeksi *Ascaris lumbricoides*). Telur infeksi tersebut tertelan manusia melalui makanan/minuman, telur akan menetas di usus halus menjadi larva dan akan menembus mukosa usus halus, masuk ke pembuluh darah, dan bersirkulasi ke paru-paru, kemudian larva yang berada di paru-paru selama 10-14 hari tersebut akan menembus saluran nafas atas, dibatukkan, dan ditelan kembali oleh manusia. Larva akan berkembang menjadi cacing dewasa dan dapat bertahan 1-2 tahun di rongga usus halus (CDC, 2019b).

Infeksi berat pada anak-anak dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan akibat gizi kurang. Cacing dewasa juga dapat menyebabkan sakit perut, obstruksi

usus yang lama-kelamaan dapat terjadi perforasi sehingga terjadi infeksi. Cacing yang bermigrasi dapat menyebabkan sumbatan pada saluran empedu, usus buntu, dan nasofaring (CDC, 2019b).

Telur *Ancylostoma duodenale* dan *Necator americanus* tidak dapat dibedakan secara mikroskopis. Keduanya bercangkang tipis, tidak bewarna, dan berukuran 60-75  $\mu\text{m}$  kali 35-40  $\mu\text{m}$ . Larva rhabditiformis keduanya memiliki panjang sekitar 250-300  $\mu\text{m}$ , lebar sekitar 15-20  $\mu\text{m}$ , kanal bukal panjang, dan primordium genital tidak mencolok. Larva filariform adalah bentuk infeksiif cacing tambang, keduanya memiliki panjang sekitar 500-700  $\mu\text{m}$ , ekor runcing berselubung, dan perbandingan panjang esophagus dan usus 1:2. Cacing dewasa jantan *Ancylostoma duodenale* panjangnya 8-12 mm dan betina 10-15 mm. Cacing dewasa jantan *Necator americanus* panjangnya 5-9 mm dan betina 9-11 mm. Cacing jantan terdapat bursa kopulatorik dengan dua spikula yang menyatu di ujung distal dan memiliki kapsul bukal dengan gigi tajam pada *Ancylostoma* atau *cutting plate* pada *Necator* (CDC, 2019e).

Habitat cacing dewasa *hookworm* di mukosa usus halus untuk menyerap darah inangnya dan dapat bertahan 1-2 tahun. Cacing dewasa betina kemudian bertelur dan keluar bersama feses manusia. Telur berkembang menjadi larva rhabditiformis dalam keadaan yang menguntungkan (lembab dan hangat) dalam 1-2 hari, kemudian akan berkembang menjadi larva filariformis yang merupakan fase infeksiif dan dapat bertahan selama 3-4 minggu dalam kondisi yang menguntungkan. Larva ini kemudian menginfeksi manusia melalui kulit telapak kaki manusia yang tidak memakai alas kaki saat berjalan di tanah yang terkontaminasi cacing ini. Larva kemudian bersirkulasi melalui pembuluh darah ke paru-paru, kemudian naik ke saluran nafas atas, dibatukkan, dan ditelan kembali. Larva berkembang menjadi cacing dewasa di usus halus dan menempel di dinding mukosa (CDC, 2019e).

Telur *Trichuris trichiura* berukuran 50-55  $\mu\text{m}$  kali 20-25  $\mu\text{m}$ , berbentuk seperti tong, bercangkang tebal, memiliki seperti “tombol” di setiap ujungnya, dan tidak berembrio saat di feses. Cacing dewasa jantan panjangnya 30-45 mm dengan ujung posterior melingkar, cacing dewasa betina panjangnya 35-50 mm

dengan ujung posteriornya lurus, dan keduanya ujung anteriornya panjang seperti cambuk. Habitat cacing dewasa berada di caecum, kolon ascenden, dan apendiks (CDC, 2017c).

Gejala yang muncul tampak sebagai sakit perut, mual, anoreksia, anemia defisiensi besi, darah pada feses, malnutrisi protein, urtikaria saat penetrasi larva filariform ke kulit manusia, pneumonia eosinofilik saat larva bermigrasi ke paru-paru, gangguan gastrointestinal dan eosinofilia (CDC, 2019e). Cacing dewasa *Trichuris trichiura* panjangnya hingga 4 cm, hidup di caecum dan kolon ascenden. Cacing dewasa betina bertelur setelah 60-70 hari setelah menginfeksi manusia dan bertahan selama 1 tahun. Telur tidak berembrio keluar bersama feses manusia, kemudian di tanah telur berkembang menjadi 2 sel dan seterusnya hingga menjadi telur berembrio. Telur kemudian menjadi fase infeksi dalam 15-30 hari dan masuk melalui makanan yang terkontaminasi, kemudian telur akan menetas di usus halus dan berubah menjadi larva, dan berkembang hingga menjadi cacing dewasa di usus besar (CDC, 2017c).

#### 5. *Blastocystis hominis*

Kista *Blastocystis hominis* bulat, berdinding tebal, dan berukuran 6-40µm. Kista ini memiliki 4 bentuk yaitu :

- i) vakuolar berbentuk bulat dengan vakuola tunggal dan besar, granuler berbentuk butiran-butiran kecil di sitoplasma dengan maksimal 4 inti (disebut dengan vakuola sentral).
- ii) multivakuolar dan avakuolar, vakuola kecil dengan 1-2 inti saja
- iii) amuboid, jarang ditemukan dengan pseudopodia yang sering melekat
- iv) kista, berdinding tebal dengan 1-2 inti pada vakuolanya, berukuran 10-15 µm (CDC, 2019c).

Kista *Blastocystis hominis* yang berdinding tebal menginfeksi manusia melalui fekal oral. Kista yang masuk ke dalam tubuh manusia dan berada di usus halus pecah membentuk vakuolar-vakuolar yang mengalami multiplikasi terus menerus. Hasil dari multiplikasi tersebut ada yang menjadi multivakuolar yang berkembang menjadi pre kista kemudian menjadi skizogoni dan menjadi kista berdinding tipis yang akan mengalami siklus mulai dari ruptur hingga terbentuk



kista berdinding tipis kembali di usus halus manusia (autoinfeksi). Hasil multiplikasi lain menghasilkan ameboid yang mengalami multiplikasi hingga berkembang menjadi pre kista, lalu menjadi skizogoni, dan menjadi kista berdinding tebal yang akan keluar bersama tinja (CDC, 2019c)

Manifestasi yang ditimbulkan berupa penyakit pada pencernaan seperti diare, nyeri perut, mual, muntah, serta dapat tidak bergejala (CDC, 2019c). Manusia terinfeksi *B. hominis* karena tertelan kista berdinding tebal yang berasal dari tinja penderita. Kemudian kista menginfeksi sel epitel usus lalu memperbanyak diri secara aseksual dan tumbuh menjadi bentuk vakuolar. Sebagian dari bentuk vakuolar akan berkembang menjadi multi vakuolar yang kemudian akan berkembang menjadi bentuk kista yang berdinding tipis yang berperan dalam siklus auto infeksi di dalam tubuh hospes. Bentuk vakuolar lainnya akan memperbanyak diri menjadi bentuk amuboid yang akan berkembang menjadi bentuk prakista yang kemudian dengan proses skizogoni akan tumbuh menjadi bentuk kista berdinding tebal yang keluar bersama tinja dan merupakan stadium infeksi pada penularan selanjutnya (Soedarto, 2011).

*Blastocystis* termasuk dalam filum Stramenopila, kelompok protozoa heterotrofik dan fotosintetik yang kompleks dan heterogen. Protista ini mendiami saluran pencernaan bagian bawah manusia dan ditemukan di seluruh belahan dunia. Adanya *Blastocystis* pada saluran gastrointestinal ini biasanya bersifat asimtomatik dan belum dapat dinyatakan apakah bersifat patogen atau non patogen (Yin *et al.*, 2010; Graham *et al.*, 2013).

*Blastocystis hominis* ditularkan melalui jalur fecal-oral melalui makanan atau air yang terkontaminasi; kista bertahan hidup di air hingga 19 hari pada suhu normal. *Blastocystis hominis* isolat mamalia pada manusia dan burung memiliki genotipenya yang identik. Dengan demikian, penularan zoonosis sangat mungkin terjadi, pada beberapa inang lain dapat dianggap patogen dan nonpatogen. Pencegahan akan melibatkan peningkatan kebersihan pribadi dan kondisi sanitasi (Frank, 2012).

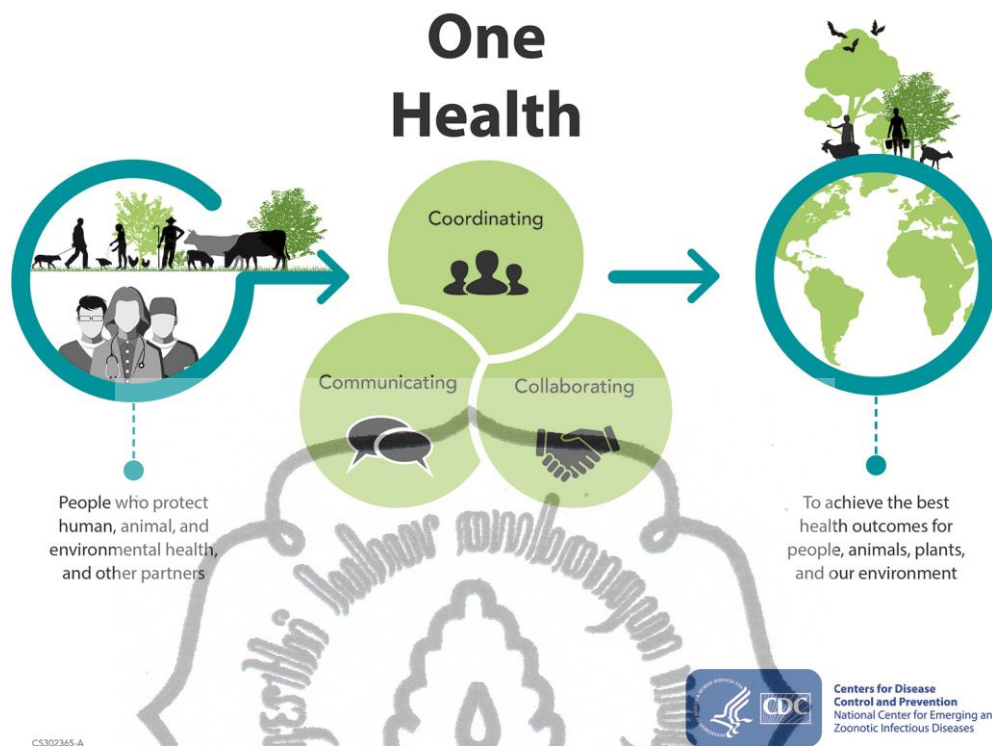
Gejala yang timbul akibat adanya infeksi *Blastocystis hominis* adalah sakit perut, diare, mual, anoreksia, kembung, dan perut kembung. Perbedaan nyata

dalam patogenisitas mungkin disebabkan oleh variabilitas genetik organisme. Namun demikian, keberadaan organisme ini dalam tinja menunjukkan bahwa individu tersebut terpapar makanan atau air yang terkontaminasi tinja. Gejala berlangsung selama 3 hingga 10 hari tetapi dapat bertahan selama berminggu-minggu hingga berbulan-bulan. Jumlah kasus karena patogen *B. hominis* lebih tinggi pada negara berkembang dibandingkan negara maju. Hal tersebut berhubungan dengan *hygiene* yang jelek, paparan dari hewan, dan konsumsi air minum yang terkontaminasi parasit (Nofita *et al.*, 2015; ElSafadi *et al.*, 2016).

#### **i) Konsep One Health**

*One Health* adalah suatu pendekatan bukan disiplin ilmu baru yang di tekankan sebagai *‘the collaborative effort of multiple diciplines--working locally, nationally, and globally—to attain optimal health for people, animal and the environment’*. Definisi lain *One Health* adalah mengaplikasikan keahlian dari transdisiplin secara efektif untuk meningkatkan kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan dalam penanganan zoonosis dan wabah penyakit zoonotik yang begitu kompleks baik yang meliputi pencegahan, surveilans dan merespon terhadap *outbreak* penyakit zoonotik. *One Health Initiative* mulai dibentuk bulan November 2009 oleh Komisi *One Health* ([www.onehealthcommission.org](http://www.onehealthcommission.org)) sebuah organisasi nirlaba nasional yang terdiri dari *National Institutes of Health* (NIH), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *Food and Drug Administration* (FDA), *Department of Agriculture* (USDA) dan institusi kesehatan dunia lain bersama dengan *Institute for Research Laboratory Animal* untuk mengetahui ketergantungan dari manusia, hewan, dan kesehatan ekosistem dan mengukur nilai potensial dari pendekatan *One Health* baik secara nasional dan internasional.

*One-Health* adalah pendekatan kolaboratif, multisektoral, dan transdisipliner yang bekerja di tingkat lokal, regional, nasional, dan global yang bertujuan mencapai hasil kesehatan yang optimal dengan mengenali keterkaitan antara manusia, hewan, tumbuhan, dan lingkungan (Gambar 2.3).



Gambar 2.3. Konsep *One-Health* (CDC,2020)

*One-Health* dengan pendekatan bahwa kesehatan manusia sangat erat hubungannya dengan kesehatan hewan dan lingkungan. Masalah *One Health* termasuk penyakit zoonosis, resistensi antimikroba, keamanan pangan dan ketahanan pangan, penyakit yang ditularkan melalui vektor, kontaminasi lingkungan, dan ancaman kesehatan lainnya yang dialami oleh manusia, hewan, dan lingkungan. Bahkan bidang penyakit kronis, kesehatan mental, cedera, kesehatan kerja, dan penyakit tidak menular dapat mendapatkan keuntungan dari pendekatan *One Health* yang melibatkan kolaborasi lintas disiplin dan sektor. Gambar 2.3 menunjukkan konsep *One Health*, konsep ini mencakup penegakan hukum, pembuat kebijakan, pertanian, komunitas, dan pemilik hewan peliharaan (CDC, 2020).

Konsep *One Health* (satu kesehatan, satu ilmu kedokteran, dan satu dunia) memiliki tujuan untuk mengurangi risiko dampak tinggi penyakit pada ekosistem hewan-manusia. Ini adalah sebuah pendekatan untuk menghadapi tantangan yang kompleks pada titik pertemuan antara hewan, manusia, dan kesehatan lingkungan

termasuk penyakit darurat pandemi, krisis pangan global, dan perubahan iklim; koordinasi yang terpadu dan diperluas bekerja pada berbagai sektor dan secara profesional untuk meningkatkan jangka panjang pada kesehatan dan kesejahteraan.

Pemahaman ahli fisika Yunani Hippocrates mengatakan bahwa udara, air dan tempat berperan penting pada kesehatan masyarakat menggambarkan bahwa faktor lingkungan dapat berdampak pada kesehatan manusia sehingga muncul dalam tulisan beliau bahwa konsep kesehatan masyarakat sangat tergantung kepada kesehatan lingkungan (Wilcox and Jessop, 2010). Konsep ini menekankan bahwa kesehatan manusia, kesehatan hewan dan kesehatan lingkungan adalah *interconnected*. Hal ini menunjukkan bahwa kerja yang terkoordinasi, kolaborasi, transdisiplin dan pendekatan lintas sektoral untuk menanggulangi potensi dan risiko yang ada yang bersumber dari hewan-manusia dan *interface* dengan *ecosystem*. Meskipun belakangan ini banyak definisi yang berkaitan dengan *One Health* akan tetapi pemahaman umum dari *One Health* adalah prinsip kerjasama/ kolaborasi lintas sektoral dalam penanganan zoonosis untuk kesehatan dan kesejahteraan manusia. Kolaborasi lintas sektoral, lintas departemen, lintas disiplin akan berpengaruh langsung ataupun tidak langsung pada egosektoral dan pembatas yang memisahkan dalam berfikir dan bekerja guna meningkatkan sinergi dan optimalisasi kerja sumber daya manusia untuk penanganan kesehatan.

*One Health* merupakan aktivitas global yang penting berdasarkan konsep bahwa kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan/ekosistem bersifat saling bergantung satu sama lain atau interdependen, dan tenaga profesional yang bekerja dalam area tersebut akan dapat memberikan pelayanan terbaik dengan saling berkolaborasi untuk mencapai pemahaman yang lebih baik mengenai semua faktor yang terlibat dalam penyebaran penyakit, kesehatan ekosistem, serta kemunculan patogen baru dan agen zoonotik, juga kontaminan dan toksin lingkungan yang dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas substansial, serta berdampak pada pertumbuhan sosioekonomik, termasuk pada negara berkembang.

Pendekatan *One Health* yang holistik untuk kolaborasi seluruh disiplin ilmu dan sektor, bekerja untuk mencapai kesehatan yang terbaik bagi manusia, hewan, dan lingkungan. Meskipun bukan konsep baru, pendekatan ini semakin banyak digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan, termasuk penyakit menular di negara berkembang, keamanan pangan dan lingkungan, serta penyakit kronis. *One Health* melibatkan *system thinking*, kemampuan untuk membangun tim multidisiplin yang sukses, dan kepemimpinan untuk mengkoordinasikan secara efektif dengan para pemangku kepentingan dari berbagai disiplin dan sector ([www.indohun.org](http://www.indohun.org)).

Konsep *One Health* menekankan hubungan ekologis antara manusia, hewan, dan kesehatan lingkungan. Pendekatan *One Health* pada *microbiome* digunakan untuk mempertimbangkan adanya transfer mikroba patogen dan non-patogen antara manusia, hewan, dan lingkungan Hidup. Transmisi tersebut berimplikasi pada hubungan *microbiome* untuk kesehatan manusia. Transfer mikrobiom dapat terjadi di rumah tangga serta tempat kerja. Paparan lingkungan dapat juga memodulasi respons mikrobioma manusia terhadap faktor lingkungan melalui efek pada fungsi metabolisme dan kekebalan tubuh. Pemahaman tersebut mengarah pada inovasi intervensi untuk mencegah dan mengelola berbagai kondisi kesehatan dan penyakit manusia (Trinh *et al.*, 2018).