

**KARAKTERISASI *Neisseria gonorrhoeae*
PADA KELOMPOK RESIKO TINGGI DI KOTA JAYAPURA
DENGAN PENDEKATAN FENETIK**

Yusuf Kulle^{1*} dan Dirk Y. P. Runtuboi²

¹*Laboratorium Kesehatan Daerah Propinsi Papua*

²*PS. Biologi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Cenderawasih Jayapura*

Corresponding Authors : kulle.yusuf@yahoo.co.id

Abstract

Gonorrhea is a sexually transmitted infection caused by *N. gonorrhoeae*, with prevalence for the city of Jayapura in 2011 amounted to 32.4%. Character of the data required for the evaluation and development of diagnostic methods. This study aims to determine the presence of bacteria *N. gonorrhoeae* isolates and clinical phenotypic characters of high-risk groups in the city of Jayapura. This type of research is descriptive research with a laboratory experimental research design using cross-sectional methods. Research carried out by isolation, selection and identification and analysis of phenotypic characters. Phenotypic characters were analyzed as many as 84 characters. Results of isolation, selection and identification of 50 clinical isolates sampled high-risk groups Jayapura city region showed that 8 isolates (16%) were positive *N.gonorrhoeae* were divided into 2 clusters. Simple Matching similarity index value of coefficient (SSM) for 8 isolates the test more than 90%.

Key Words: Characterization, *Neisseria gonorrhoeae*, Fenetic

**Abstr
ak**

Gonore adalah penyakit infeksi menular seksual yang disebabkan oleh *N. gonorrhoeae*, dengan prevalensi untuk Kota Jayapura tahun 2011 adalah sebesar 32,4%. Diperlukan data karakter untuk evaluasi dan pengembangan metode diagnostik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri *N. gonorrhoeae* serta karakter fenotipik dari isolat klinik pada kelompok resiko tinggi di wilayah Kota Jayapura. Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian menggunakan metode *cross sectional*. Penelitian dilaksanakan dengan melakukan isolasi, seleksi dan indentifikasi serta analisis karakter fenotipik. Karakter fenotipik yang dianalisis sebanyak 84 karakter. Hasil isolasi, seleksi dan identifikasi terhadap 50 isolat sampel klinik pada kelompok resiko tinggi diwilayah Kota Jayapura menunjukkan bahwa 8 isolat (16%) adalah positif *N. gonorrhoeae* yangterbagi dalam 2 klaster. Nilai indeks similaritas Simple Matching Coeficient (SSM) untuk 8 isolat uji lebih dari 90%.

Kata Kunci: Karakterisasi, *Neisseria gonorrhoeae*, Fenetik

PENDAHULUAN

Gonore adalah salah satu penyakit Infeksi Menular Seksual (IMS) yang disebabkan oleh bakteri *Nisseria gonorrhoeae*. Menurut laporan *World Healty Organization* (WHO) angka penderita baru IMS pertahunnya adalah 350 juta penderita (WHO, 2006). Hasil Surveilans Terpadu Biologis dan Prilaku (STBP) (2011) pada wanita penjaja seks langsung (WPSL) dan wanita penjaja seks tidak langsung (WPSTL) menunjukkan bahwa dari 3.793 kejadian pada WPSL, ±1.434 (37,8%) diantaranya menderita gonore sedangkan pada WPSTL dari 3.149 kejadian, 589 (18,7%) diantaranya menderita gonore. Umumnya prevalensi gonore tersebar secara merata di setiap propinsi yang ada di Indonesia, termasuk di Papua. Data STBP (2011) di Kota Jayapura Tahun 2011 ditemukan kasus gonore 32,4% dari 248 kejadian pada wanita penjaja seks langsung dan 18,8% dari 249 kejadian pada wanita penjaja seks tidak langsung.

Tingginya kasus infeksi gonore, pendeknya masa inkubasi, tingginya tingkat karier asimtomatis, tidak ada imunitas protektif dan meningkatnya resistensi terhadap antibiotik serta perubahan perilaku seksual adalah beberapa faktor yang saling terkait dan perlu segera ditangani secara komprehensif.

N. gonorrhoea merupakan bakteri diplokokus gram negatif (DGN), anaerob fakultatif yang umumnya ditularkan melalui

kontak seksual dengan masa inkubasi 2 – 5 hari (Daili, 2009). Gonore lebih banyak mempengaruhi kesehatan wanita daripada pria. Hal ini disebabkan karena wanita lebih muda terinfeksi (50-65%) dibandingkan dengan pria (35%). Sebanyak 50-80% infeksi pada wanita bersifat asimptomatik. Komplikasi yang tergolong berat pada wanita antara lain salpingitis (radang saluran telur), penyakit radang panggul, kemandulan, kehamilan ektopik, nyeri panggul menahun dan yang berulang. Infeksi gonore pada ibu hamil dapat menyebabkan abortus spontan atau kelahiran prematur. Infeksi tersebut juga dapat ditularkan dari ibu kepada bayi pada saat melahirkan dan menyebabkan conjungtivitis pada bayi (Rosana, 1999).

Umumnya semua golongan umur rentan terinfeksi gonore, namun insiden tertinggi adalah kelompok dengan rentang usia 20 – 30 tahun pada laki - laki dan 16 – 24 tahun pada wanita (Hakim, 2009).

Untuk dapat mengendalikan IMS khususnya gonore, diperlukan adanya data karakter *N. gonorrhoeae*. Data karakter dapat diperoleh dengan melakukan karakterisasi terhadap bakteri *N. gonorrhoeae* salah satu cara diantaranya dengan pendekatan fenetik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 11 bulan yaitu bulan Mei 2013 sampai dengan bulan April 2014. Pengambilan sampel dilakukan di wilayah Kota Jayapura.

Metode Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian menggunakan metode *cross sectional*. Populasi adalah semua kelompok resiko tinggi yang berada di wilayah Kota Jayapura, sebagai pasien pada layanan Pusat Kesehatan Reproduksi Kota Jayapura, Poliklinik Penyakit Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Dok II Jayapura. Sampel adalah semua isolat *N. gonorrhoeae* yang diperoleh selama rentang waktu 3 bulan. Sumber sampel adalah duh tubuh kelompok resiko tinggi yang berada di wilayah Kota Jayapura, yang memenuhi kriteria inklusi. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *consecutive sampling*, dimana setiap pasien yang memenuhi kriteria inklusi dimasukkan dalam penelitian sampai kurun waktu tertentu sampai jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi. Penelitian ini terdiri dari tiga (3) tahapan yaitu: (1) isolasi (2) seleksi (3) identifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Koleksi Data

Data karakter fenotipik yang digunakan berasal dari 8 isolat dan 2 strain acuan yaitu *N. gonorrhoeae* ATCC 19424 dan *N. gonorrhoeae* ATCC 700825, dengan *operational taxonomical unit* (n=10) dan karakter fenotipik yang diujikan sebanyak 84 unit karakter uji (t). Unit karakter yang positif diberi skor 1 atau + (positif) sedangkan unit karakter yang negatif diberi skor 0 atau - (negatif). Data tersebut selanjutnya dimasukkan kedalam matriks $n \times t$.

Hasil isolasi, seleksi dan identifikasi terhadap 50 sampel menunjukkan 19 sampel positif DGN. Kesembilan belas sampel tersebut selanjutnya dilakukan uji konfirmasi kultur dimana 8 sampel diantaranya adalah positif *N. gonorrhoeae*. Karakteristik delapan isolat tersebut dianalisis secara fenetik (numerik) untuk menentukan tingkat similaritas antar kedelapan isolat tersebut dibandingkan dengan strain acuan.

2. Similaritas Fenotipik

Pendekatan fenetik adalah suatu kajian untuk melihat tingkat similaritas antara beberapa isolat. Karakter fenotipik dijadikan sebagai dasar dalam menentukan kluster.

Menurut Sneath dan Sokal (1973), pendekatan fenetik adalah suatu pendekatan kuantitatif mengenai kesamaan

atau kemiripan sifat antar golongan organisme serta penataan golongan-golongan tersebut melalui analisis kluster ke dalam kategori takson yang lebih tinggi atas dasar kesamaan tersebut.

Pada penelitian ini hasil karakteristik fenetik yang dianalisis berjumlah 84 karakter. Hasil pengklasifikasian strain *operational taxonomical unit* (OTU) didasarkan atas nilai indeks Similaritas Simple Matching coefficient (SSM). Analisis tersebut mengacu pada data dalam matriks $n \times t$ yang selanjutnya dianalisis secara kuantitatif menggunakan program komputer *Multivariate Statistical Package* (MVSP) *Versi 3.1* dan algoritma pengklasteran (Kovach, 2007) diperoleh :

IS	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
A	100									
B	94,0%	100								
C	94,0%	95,2%	100							
D	92,9%	94,0%	98,8%	100						
E	98,8%	94,0%	94,0%	95,2%	100					
F	92,9%	98,8%	96,4%	96,4%	92,9%	100				
G	94,0%	95,2%	97,6%	96,4%	94,0%	95,2%	100			
H	94,0%	95,2%	97,6%	96,4%	94,0%	94,0%	100%	100		
I	97,6%	94,1%	94,0%	95,2%	100%	92,9%	94,0%	94,0%	100	
J	94,0%	92,9%	97,6%	96,4%	94,1%	94,0%	97,6%	97,6%	94,0%	100

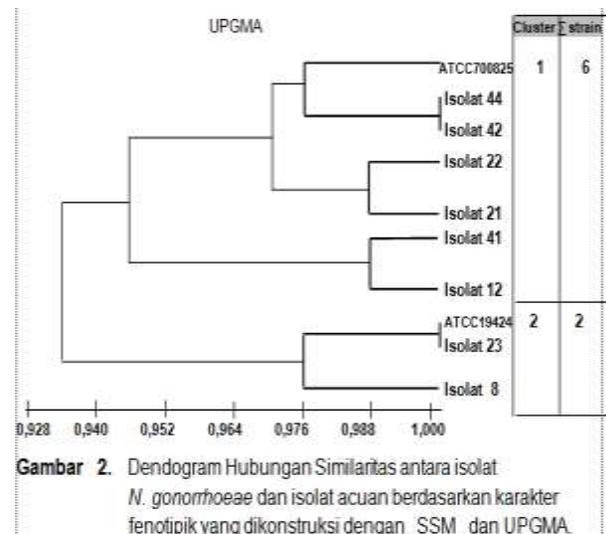
Gambar 1. Matriks Similaritas SSM : Hubungan similaritas 10 isolat berdasarkan karakter fenotipik

Keterangan :

IS : Indeks Similaritas

A : Isolot 8 F : Isolot 41
 B : Isolot 12 G : Isolot 42
 C : Isolot 21 H : Isolot 44
 D : Isolot 22 I : Isolot ATCC 54F
 E : Isolot 23 J : Isolot ATCC 19424

Konstruksi Dendrogram S_{SM}

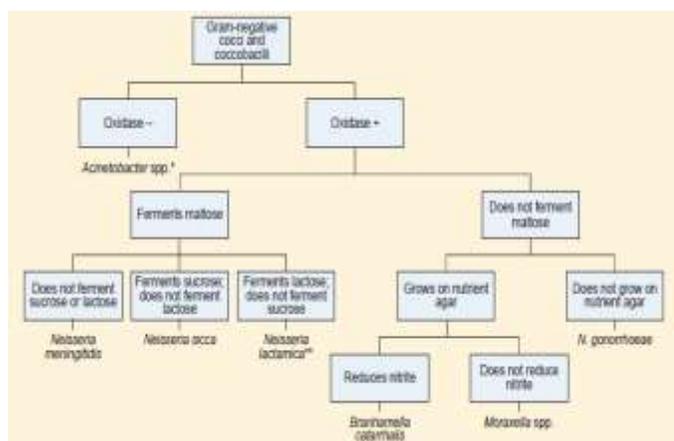


Gambar 2. Dendrogram Hubungan Similaritas antara isolat *N. gonorrhoeae* dan isolat acuan berdasarkan karakter fenotipik yang dikonstruksi dengan SSM dan UPGMA

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari pemeriksaan terhadap 50 sampel diperoleh 8 sampel positif melalui konfirmasi uji kultur pada media pertumbuhan Thayer Martin. *N. gonorrhoeae* merupakan bakteri kokus gram-negatif, diameter 0,6-1,0 μm , umumnya terlihat berpasangan atau diplokokus (Gambar 3), memiliki membran luar terdiri dari protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (LPS), tumbuh pada media yang mengandung hemoglobin, NAD, ekstrak ragi dan suplemen lain yang dibutuhkan. Biakan dikultur pada suhu 35 - 36⁰C dalam suasana penambahan 3 - 10% CO² (Willey et al, 2009). Menurut Jawetz, dkk (2007), karakteristik yang spesifik tersebut menyebabkan *N. gonorrhoe* dikategorikan sebagai suatu bakteri yang sangat peka terhadap keadaan lingkungan fisik atau kimiawi, sinar matahari, pengeringan, pemanasan, suhu rendah dan perubahan pH.

Susunan Sel									
Berpasangan (Diplokokus)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	±	-	-	-	-	-	-	-	-

Menurut Kathleen dan Barry (2012), beberapa karakter kunci yang membedakan bakteri *N. gonorrhoeae* dengan bakteri lainnya dari genus *Neisseria* adalah *N. gonorrhoeae* tidak memfermentasi maltose dan tidak tumbuh pada medium nutrisi agar (**Gambar 6**). Karakter fenetik kedelapan isolat seperti yang tampak pada **Tabel 2** dan **Lampiran 3**, menunjukkan bahwa kedelapan isolat memenuhi dua karakter tersebut selain karakter lainnya yang secara tegas memasukkan kedelapan isolat tersebut kedalam genus *Neisseria*.



Gambar 4. Skema Identifikasi untuk membedakan *N. gonorrhoeae* dengan genus *Neisseria* lainnya. Gambar diambil dari Kathleen dan Barry (2012) halaman 564.

Hasil konstruksi dendrogram atas dasar nilai indeks *Similaritas Simple Matching coefficient* (SSM) seperti yang ditampilkan pada **Gambar 1**, menunjukkan dua kluster taksa dengan indeks SSM >0,9 atau >90%. Kluster

pertama terdiri dari 6 isolat bakteri uji yaitu isolat 44, 42, 22, 21, 41 dan 12 serta satu isolat acuan yaitu *N. gonorrhoeae* ATCC700825 (FA1908), sedangkan kluster yang kedua terdiri dari dua isolat uji yaitu isolat 23 dan 28 serta satu isolat acuan yaitu *N. gonorrhoeae* ATCC19424 (H041).

Kedua strain *N. gonorrhoeae* yang digunakan sebagai acuan baik *N. gonorrhoeae* ATCC700825 maupun *N. gonorrhoeae* ATCC19424 (H041), merupakan patogen pada manusia dengan beberapa karakteristik yang sangat spesifik.

Menurut Hjelmevoll, et al, (2012) *N. gonorrhoeae* ATCC 700825 merupakan suatu strain yang telah mengembangkan sifat resistensi terhadap antibiotik generasi pertama seperti penisilin, tetrasiklin dan siprofloksasin. Walaupun dalam penelitian ini tidak dilakukan uji sensitivitas antibiotik namun berdasarkan analisis fenetik yang mengacu pada karakteristik biokimia dari dua bakteri acuan tersebut dengan kedelapan isolat positif kultur tersebut maka penggolongan dalam taksa dibagi dalam dua *cluster*. Enam isolat diantaranya yaitu isolat 44, 42, 22, 21, 41 dan 12, masuk dalam kluster *N. gonorrhoeae* ATCC 700825. Hasil uji biokimia pada beberapa parameter seperti Arginin arylamidase dan Tyrosine arylamidase keenam isolat menunjukkan karakter yang mirip dengan *N. gonorrhoeae*

ATCC 700825 selain karakter utama lainnya. Hasil penelitian ini mirip dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Unemo, et al.,(2005) bahwa perbedaan respon terhadap beberapa parameter tambahan dalam uji biokimia bisa saja terjadi antar strain dalam satu spesies bakteri. Hal ini dimungkinkan karena respon bakteri terhadap lingkungan eksternal yang berbeda-beda akan memengaruhi profil karakter biokimia bakteri tersebut.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa dua isolat lainnya yaitu isolat 8 dan isolat 23 masuk dalam cluster *N. gonorrhoeae* ATCC19424 (H041) dengan indeks smililaritas >0,9 atau >90%. Beberapa parameter biokimia yang khas antara lain sulfid dan ala-phe-pro-Arylamidase positif selain karakter biokimia utama lainnya yang menegaskan isolat tersebut sebagai spesies *N. gonorrhoeae*. Walaupun isolat 8 menunjukkan hasil negatif pada reaksi ala-phe-pro-Arylamidase namun kondisi ini bisa saja

dikarenakan karakter tersebut muncul sebagai respon terhadap lingkungan eksternal sebelumnya atau enzim tersebut diproduksi dalam jumlah yang relatif sedikit. Selain karakter biokimia seperti yang tampak pada **Lampiran 3.** Karakteristik lain dari klaster *N. gonorrhoeae* ATCC 19424 (H041) menurut Ohnisi et al., (2011) adalah kemampuannya untuk mengembangkan sifat resistensi terhadap antibiotik Ceftriaxon, Cefalosporin dan Cefixim. Strain ini telah dilaporkan keberadaannya satu dekade terakhir. Hasil analisis fenetik pada penelitian ini menunjukkan kedua isolat yaitu isolat 8 dan isolat 23 memiliki karakter yang mirip dengan *N. gonorrhoeae* ATCC 19424 (H041), walaupun masih perlu dilakukan tes sensitifitas antibiotik untuk melihat profil resistensi antibiotik dari kedua strain tersebut.

KESIMPULAN

Hasil isolasi, seleksi dan identifikasi terhadap 50 isolat sampel klinik pada kelompok resiko tinggi diwilayah Kota Jayapura menunjukkan bahwa 8 isolat (16%) adalah positif *N. gonorrhoeae* yang terbagi dalam 2 klaster yang berdasarkan nilai indeks similaritas Simple Matching Coeficient (SSM) memiliki derajat kemiripan diatas 90%.

UCAPAN

TERIMAKASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Tim Pembimbing yaitu Dr. Dirk Y. P. Runtuboi, M.Kes., selaku Pembimbing I dan dr. Lucky V. Waworuntu, Sp.KK., selaku Pembimbing II, yang telah memimbing dan menuntun penulis dalam penyelesaian penulisan artikel ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dr. Hesti Purikasari, selaku Kepala Pusat Kesehatan Reproduksi Kota Jayapura, atas bantuan izin sampling dan Dra. Sely, Apt., selaku Kepala Balai Laboratorium Kesehatan Jayapura, atas izin penggunaan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhi, J., 2010, *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, Edisi V, Cetakan V, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Agus, S., Aidilfiet C., Amin S., 2008, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Aprilyanto, V., Sembiring, L., 2013, *Petunjuk Praktikum Sistematika Mikrobial Untuk Mahasiswa S-2*, Program Pascasarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Bailey, Scott's, 2007, *Diagnostic Microbiology*, 12th edition, Mosby Inc., an affiliate of Elsevier Inc., Philadelphia, USA : xv, 1031 hlm.
- Bonang, G., Koeswardono E. S., 1987, *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*, Gramedia, Jakarta, 72 – 8.
- Cappucino, J. G., Sherman Natalie, 2013, *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, Terj. Dari *Microbiology : A Laboratory Manual*, oleh Miftahurrahmah Nur, Manurung July, Vidhayanti Henrita, Edisi 8, EGC-Jakarta : xx, 577 hlm. (+ hlm. L1-L21).
- Daili, S.F., 2009, Gonore, Dalam : Daili S.F., Makes W.I., Zubier F., Editor, *Infeksi Menular Seksual*, Edisi ke-4, Balai penerbit FKUI, Jakarta : 65-76.
- National Center for Infection Diseases : Central for Disease Control and Prevention, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, 2003, *Manual for The Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial*

- Pathogens of Public Health Importance in The Developing World.*
- Nilasari, H., Zubair F, Daili SF, 2008, *Pola Resistensi Neisseria gonorrhoeae Terhadap Berbagai Antibiotik Pada Wanita Resiko Tinggi*, Konas Perdoski, Palembang.
- Ohnishi M., Saika T., Hoshina S., Iwasaku K., Nakayama S., Watanabe H and Kitawaki J., 2011, *Ceftriaxone Resistant Neisseria gonorrhoeae, Japan*. Emergen Infectioous Disease. Vol 17. No.1, p.148-149.
- Puguh, S., 2004, *Sensitivitas Neisseria gonorrhoeae Terhadap Beberapa Antibiotika Pada Pekerja Seks Komersial dengan Servitis Gonore Dikabupaten Semarang*.
- Sastroasmoro, S., Ismael S., 1995, *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Sembiring, L., 2004, *Sistematika Mikrobial Sebagai Langkah Penyingkap Keanekaragaman Mikrobial Dalam Upaya Pelestarian dan Pemanfaatan Sumberdaya Hayati Mikrobial*, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta.
- Sneath, P. H. A. and Sokal R. R., 1973, *Numerical Taxonomy :The Principles and Practice of Numerical Classification*, San Francisco : Freeman.
- Sparling, P. F., 2008, *Biology of Neisseria gonorrhoeae*, Dalam : Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, Piot P, editor *Sexually Transmitted Diseases*, edisi ke-4, New York ; MacGraw-Hill : 608-26.
- Subakir dan Pamuja, 1990, *N. gonorrhoeae pada Faring*. Buletin Penelitian Kesehatan, 18 (1), Hal 22-27.
- Unemo M., Golparin D., Strydom A. and Eigentler A., 2011, *First Neisseria gonorrhoeae Strain with Resistance to Cefixime Causing Gonorrhoea Treatment Failure in Australia*. Euro Survelance, 26 (43): p, 1-3.
- Willey J. M., Linda S. M, Christopher J. W., (2009), *Prescott's Principles of Microbiology*. Published by McGraw – Hill, a business unit of The McGraw-Hill Companies, Inc., 1221 Avenue of the Americas, New York, NY 10020. p; 798-814.
- World Health Organisation, 2006, *Global Strategy for The Prevention and Control of Sexually Transmitted Infections : 2006–2015*, Geneva.