

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sepsis neonatorum merupakan masalah dalam bidang kesehatan anak karena insiden yang semakin meningkat setiap tahun dan sering berakhir dengan kematian. Secara global, setiap tahun terdapat 3 juta neonatus menderita sepsis (Fleischmann *et al.*, 2016). Insiden sepsis ini meningkat lebih dari dua kali lipat selama 10 tahun terakhir (Kumar *et al.*, 2011). Diketahui bahwa tiga dari setiap sepuluh kematian karena sepsis neonatorum disebabkan oleh patogen resisten (World Health Organization, 2018).

Insiden sepsis neonatal bervariasi dari 1 hingga 4 dalam 1000 kelahiran hidup di negara maju dan 10 hingga 50 dalam 1000 kelahiran hidup di negara berkembang. Tingkat kematian sepsis neonatorum tetap tinggi, terutama di negara berkembang (Kardana, 2011). Di Amerika Serikat diperkirakan 0,77 hingga 1 per 1.000 kelahiran hidup neonatus mengalami sepsis (Simonsen *et al.*, 2014). Di Mesir 357 neonatus didiagnosis sepsis dengan insiden 45,9% pada periode Maret 2011 hingga Agustus 2012, sedangkan di Kuala Terengganu di Malaysia terdapat 459 neonatus menderita sepsis pada periode 1 Januari 2007 hingga 31 Desember 2009 (Al-Ta'iar *et al.*, 2012; Shehab El-Din *et al.*, 2015).

Di RS Cipto Mangunkusumo Jakarta terdapat 102 kasus sepsis neonatorum dalam periode 6 bulan (Juniatuningsih *et al.*, 2016). Di RSUP Sanglah Denpasar terdapat 125 kasus pada tahun 2010 dan di RSUD Abdul Moeloek Bandar Lampung terdapat kejadian sepsis neonatorum sebanyak 30% pada tahun 2009 (Putra, 2016; Rukmono dan Zuraida, 2016). Secara keseluruhan, di Indonesia terdapat 94.050

kasus kematian neonatus karena sepsis dengan insiden 19 per 1000 lahir hidup (Wandita, 2017). Hal ini menyebabkan angka kematian bayi (AKB) di Indonesia masih cukup tinggi.

Menurut *The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock*, sepsis adalah disfungsi organ yang mengancam jiwa yang disebabkan oleh disregulasi respon tubuh terhadap infeksi (Singer *et al.*, 2016). Jika tidak dikenali lebih awal dan dikelola dengan segera maka sepsis dapat berlanjut menyebabkan syok septik, kegagalan multi organ, dan bahkan kematian. Hal ini merupakan komplikasi serius dari infeksi di semua negara, khususnya di negara berpendapatan rendah dan menengah, seperti Indonesia, yang merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas neonatus (Fleischmann *et al.*, 2016).

Ada 2 pola sepsis yang dapat terjadi selama bulan pertama kehidupan, yaitu sepsis neonatorum awitan dini (SNAD) dan sepsis neonatorum awitan lambat (SNAL). Sepsis awitan dini, timbul pada 72 jam pertama kehidupan, biasanya berkembang pesat dan melibatkan multiorgan. Ini sering dikaitkan dengan komplikasi saat persalinan, seperti ruptur prematur membran (PROM), onset persalinan prematur, korioamnionitis, dan demam maternal peripartum. Mayoritas bayi baru lahir yang terkena adalah bayi prematur atau bayi berat lahir rendah (BBLR), dan patogennya sering didapat selama proses kelahiran pervaginam. Angka kematian berkisar antara 5 hingga 50% (Singer *et al.*, 2016).

Sepsis neonatorum awitan lambat terjadi setelah lebih dari 3 hari kehidupan, kurang parah dan lebih jarang berkaitan dengan komplikasi saat persalinan. Mungkin memiliki patogen yang berasal dari saluran genital ibu, tetapi juga mungkin berasal dari kontak dengan operator manusia setelah lahir atau dengan

peralatan atau bahan yang terkontaminasi. Mortalitas biasanya jauh lebih rendah daripada sepsis onset dini. Bayi dengan BBLR yang tinggal lama di rumah sakit atau mendapat banyak intervensi invasif di NICU memiliki risiko yang lebih tinggi untuk menderita sepsis (Jiang *et al.*, 2004; Simonsen *et al.*, 2014; Shane, *et al.*, 2017).

Tanda klinis sepsis neonatorum sering kali tidak spesifik dan tidak dapat dibedakan dari berbagai gangguan tidak menular. Identifikasi awal septikemia sangat penting diketahui untuk hasil yang baik. Karena itu, secara klinis dan laboratorium pemeriksaan harus segera dimulai, dan terapi antimikroba harus dimulai sebelum hasil tes bakteriologis tersedia (Singer *et al.*, 2016). Meskipun mendapatkan terapi yang sama, masing-masing individu memberikan respon yang berbeda, ada yang mengalami kesembuhan dan ada juga yang tidak. Hal ini dipengaruhi oleh sistem imunitas individu, virulensi patogen, jumlah patogen, dan ketepatan waktu pemberian obat (Dahmer *et al.*, 2005).

Sepsis diakibatkan oleh invasi mikroba patogen berupa bakteri, virus, jamur maupun parasit. Invasi bakteri merupakan kasus terbanyak dari sepsis. Bakteri penyebab SNAD terbanyak yang ditemukan adalah *Group B Streptococcus* (GBS), *Staphylococcus Aureus*, dan *E Coli*. Sedangkan bakteri penyebab SNAL terbanyak yang ditemukan adalah *Pseudomonas Aeroginosa* dan *Klebsiella* (Stoll, 2011).

Respon inflamasi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif maupun gram positif hampir identik. Baik bakteri gram positif maupun negatif, keduanya akan memicu kaskade sepsis yang dimulai dengan aktivasi sistem koagulasi dan komplemen, pelepasan *tissue factor* (TF), aktivitas fibrinolisis, dan aktivasi makrofag (Setiati, 2009). Sesaat setelah inisiasi patogen ke dalam tubuh *host*,

terjadi aktivasi respon imun alami yang merupakan respon defensif yang melibatkan humoral dan komponen seluler. Respon imun alami diawali dengan pengenalan bakteri yang diperantarai oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) yang akan mendeteksi bakteri patogen melalui *pathogen associated molecular pattern* (PAMPs) maupun *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) dan melakukan fagositosis. (Viemann *et al.*, 2005). Pengenalan PAMP atau DAMP akan menyebabkan kaskade aktivasi/fosforilasi yang mengaktifasi *stereotyped inflammatory answer* (Chouster *et al.*, 2017).

Pattern recognition receptors dapat ditemukan pada makrofag, sel dendrit, sel endotel, limfosit B dan T. Beberapa molekul mediator primer yang merupakan kelompok PRRs diantaranya TLR (*Toll Like Receptors*), *opsonin receptor*, RLRs (*RIG-I Like Receptors*), NLRs (*NOD Like Receptors*) dan LBP (*LPS binding protein*). Bagian bakteri yang dideteksi oleh respon imun adalah lipopolisakarida (LPS) dari dinding sel bakteri gram negatif (Pazidis *et al.*, 2012).

Fagosit yang teraktivasi menghasilkan sitokin proinflamasi interleukin (IL)-1, IL-6, dan *tumor necrosis factor* (TNF) - α , yang bertanggung jawab atas respon sekunder, termasuk melepas IL-18, suatu sitokin yang menginduksi produksi interferon (IFN)- γ . Pelepasan sitokin inflamasi akan menstimulasi produksi sitokin lebih banyak yang pada gilirannya akan menyebabkan kerusakan sel dan organ. Pelepasan mediator ini bersama-sama dengan neutrofil teraktivasi, oksigen radikal, protease, trombosit teraktivasi, mediator primer dan sekunder akan menyebabkan kerusakan endotel dan kegagalan multiorgan (Chousterman *et al.*, 2017).

Respons proinflamasi yang intens yang terjadi pada sepsis diimbangi oleh beragam molekul *counter-regulatory* yang berupaya mengembalikan

keseimbangan imunologis. Sitokin antiinflamasi meliputi *soluble* TNF *receptors*, reseptor IL-1 antagonis, dan sitokin antiinflamasi seperti IL-10 (Van der Poll dan Van Deventer, 1999). Namun, pada neonatus seringkali *counter-regulatory* ini tidak berlangsung dengan baik sehingga mengakibatkan kematian (Esposito *et al.*, 2014).

Diagnosis sepsis neonatorum seringkali sulit dan terlambat ditegakkan karena kompleksitas penyakit. Kemajuan teknologi serta berkembangnya informasi yang diperoleh dari berbagai studi memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang patofisiologi sepsis. Peningkatan pemahaman patofisiologi sangat penting dalam upaya menentukan kriteria diagnosis yang dapat diandalkan dan valid untuk sepsis (Fleischmann *et al.*, 2016). Terdapat hipotesis bahwa faktor genetik berperan penting dalam kerentanan terhadap sepsis. Hipotesis ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Sorensen bahwa genetik mempunyai pengaruh yang kuat terhadap kematian akibat infeksi (Sørensen *et al.*, 1988).

Variasi genetik manusia atau polimorfisme gen didefinisikan sebagai alel yang secara umum paling tidak terjadi pada 1% populasi (Lin dan Albertson, 2004). Polimorfisme gen telah dipromosikan sebagai strategi untuk mengidentifikasi pasien yang memiliki kecenderungan untuk sepsis dan penyakit kritis lainnya. Diyakini bahwa kematian pasien dengan sepsis berat berkorelasi dengan marker respons inflamasi yang diekspresikan sebagai kadar sitokin inflamasi dalam darah (Watanabe *et al.*, 2010)

Penelitian mengenai pengaruh faktor genetik berupa polimorfisme Asp299Gly dan Thr399Ile gen TLR-4 yang berpengaruh pada sepsis neonatorum telah dilakukan oleh Rukmono pada tahun 2015. Dari penelitian ini didapatkan

hubungan antara polimorfisme Asp299Gly gen TLR-4 dengan kadar TNF- α dan IL-6 pada penderita sepsis neonatorum, serta tidak ditemukan adanya hubungan antara polimorfisme Thr399Ile gen TLR-4 dan IL-6 pada penderita sepsis neonatorum (Rukmono, 2015). Penelitian yang sama kemudian dilanjutkan oleh Mustarim pada tahun 2018 yang mengkaji hubungan polimorfisme gen *BPI*, *CD14*, *IL1 β* , dan *MMP16* dengan kejadian sepsis neonatorum. Didapatkan hasil bahwa hanya gen IL1 β rs1143643 yang bermakna secara statistik dengan sepsis neonatorum (Mustarim, 2019).

Neonatus memiliki sistem imunitas yang belum matang sehingga respon terhadap infeksi bakteri masih belum sempurna, terutama pada bayi berat badan lahir sangat rendah (BBLSR) atau prematur yang mengakibatkan neonatus memiliki risiko tinggi untuk mengalami sepsis bahkan sepsis berat. Identifikasi polimorfisme gen yang terlibat pada respon sel yang berkaitan dengan patogenesis sepsis dapat sangat membantu neonatus risiko tinggi. Hal ini bermanfaat untuk pengembangan alat diagnostik baru, rencana tatalaksana spesifik, serta dapat memprediksi prognosis lebih akurat (Esposito *et al.*, 2014).

Angka morbiditas dan mortalitas sepsis neonatorum pada saat ini masih belum menunjukkan penurunan yang signifikan di Indonesia. Oleh karena itu, diperlukan upaya secara berkesinambungan dalam rangka mencari solusi penanganan kejadian sepsis neonatorum. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan studi lebih lanjut terhadap aspek sistem imunitas terutama aspek genetik pada neonatus.

Bactericidal Permeability Increasing Protein (BPI) secara fungsional terkait dengan transfer lemak protein dengan afinitas tinggi untuk LPS dan terlokalisasi

pada kromosom manusia 20. Gen *BPI* memiliki panjang 31,5 kb (kilobase) dan terdiri dari 15 ekson (Michalek *et al.*, 2007). *BPI* dilepaskan ke sirkulasi oleh polimorfonuklear (PMN) yang teraktivasi. *BPI* menghambat proses biologis LPS dan mengubah permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat melakukan perusakan dari dalam bakteri. *BPI* bersifat sitotoksik untuk bakteri gram negatif (Lin dan Albertson, 2004). *BPI* adalah kerabat LBP yang paling dekat, dan memiliki kemampuan untuk mengikat *unmodified endotoxin aggregates* dengan afinitas yang jauh lebih tinggi dari yang dimiliki oleh LBP (Weiss, 2003). *BPI* dan senyawa turunan *BPI* telah terbukti memiliki aktivitas antiangiogenik. Selain itu, perlu diingat bahwa neonatus memiliki kadar *BPI* yang rendah dibanding manusia dewasa (Levy dan Elsbach, 2007).

BPI berikatan dengan lipid A yang berafinitas tinggi pada LPS. Lipid A adalah komponen lipid dari endotoksin yang bertanggung jawab atas toksisitas bakteri gram negatif dan merupakan bagian paling dalam dari LPS (*National Center for Biotechnology Information*, 2019). Polimorfisme pertukaran nukleotida yang umum pada gen *BPI* telah diidentifikasi sebelumnya melalui sekuensing ekson. Beberapa diantaranya adalah (*BPI* Taq) G545 → C mewakili *silent mutation* terlokalisasi di posisi ketiga dalam kodon Val182, (*BPI* 216) A645 → G sesuai dengan Lys216 → Glu pertukaran asam amino (Michalek *et al.*, 2007). Selanjutnya Esposito *et al.*, melakukan penelitian tentang *BPI* rs4358188, rs1341023, rs5743507, dan rs5743507 dengan hasil hanya *BPI* rs4358188-AG yang dikaitkan dengan penurunan kerentanan terhadap sepsis, sedangkan *BPI* rs1341023, rs5743507 dan rs2232578 tidak terlalu bermakna (Esposito *et al.*, 2014).

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang paling penting, memainkan peran penting dalam patogenesis respons inflamasi akut ini (reaksi fase akut) dan terlibat dalam peradangan sistematis. Gen *TNF- α* terletak di kromosom 6p21.3 yang membentang sekitar 3 kb dan mengandung empat ekson untuk menghasilkan protein transmembran tipe II asam amino 212 yang tersusun dalam homotrimer yang stabil. Selain itu, TNF- α memiliki beberapa peran pada imunopatologi manusia, mulai dari menghasilkan peradangan, proliferasi dan diferensiasi sel, tumorigenesis, dan replikasi virus hingga menginduksi kematian sel apoptosis. Dalam model klinis sepsis, pemberian TNF- α menyebabkan hipotensi, aktivasi kaskade koagulasi, dan disfungsi organ, mendukung perannya sebagai mediator fase akut (Phumeetham *et al* 2012). Hubungan antara TNF- α dan risiko sepsis masih belum pasti. Ada beberapa SNP gen *TNF- α* , termasuk rs1800629, rs361525, rs1800630, dan lainnya yang diduga berhubungan dengan sepsis neonatorum (Flori *et al.*, 2005).

Beberapa polimorfisme gen yang dianggap berkaitan dengan sepsis neonatorum dan belum pernah diteliti khususnya di Indonesia yaitu gen *Bactericidal Permeability Increasing Protein* (*BPI*) rs1341023 dan rs5743507 serta *Tumor Necrosis Factor Alpha* (*TNF- α*) rs361525, rs1800629.

Berdasarkan latar belakang seperti di atas maka penelitian ini dilakukan untuk mempelajari hubungan polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dan rs5743507 serta *TNF- α* rs361525 dan rs1800629 dengan sepsis neonatorum.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, dapat dirumuskan masalah dalam penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ada polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dan rs5743507 serta *TNF- α* rs361525 dan rs1800629 pada penderita sepsis neonatorum.
2. Apakah ada hubungan antara polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dengan kejadian sepsis neonatorum?
3. Apakah ada hubungan antara polimorfisme gen *BPI* rs5743507 dengan kejadian sepsis neonatorum?
4. Apakah ada hubungan antara polimorfisme gen *TNF- α* rs361525 dengan kejadian sepsis neonatorum?
5. Apakah ada hubungan antara polimorfisme gen *TNF- α* rs1800629 dengan kejadian sepsis neonatorum?
6. Diantara polimorfisme gen tersebut diatas, polimorfisme yang mana yang paling berperan dalam terjadinya sepsis neonatorum?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya hubungan antara polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dan rs5743507 serta *TNF- α* rs361525 dan rs1800629 dengan kejadian sepsis neonatorum.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dan rs5743507 serta *TNF- α* rs361525 dan rs1800629 pada penderita sepsis neonatorum.
2. Menganalisis hubungan polimorfisme gen *BPI* rs1341023 dengan kejadian sepsis neonatorum.
3. Menganalisis hubungan polimorfisme gen *BPI* rs5743507 dengan kejadian sepsis neonatorum.
4. Menganalisis hubungan polimorfisme gen *TNF- α* rs361525 dengan kejadian sepsis neonatorum.
5. Menganalisis hubungan polimorfisme gen *TNF- α* rs1800629 dengan kejadian sepsis neonatorum.
6. Mendapatkan polimorfisme gen yang paling berperan dalam terjadinya sepsis neonatorum.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu masyarakat dan klinisi untuk mengetahui faktor risiko berupa kerentanan neonatus dalam menderita sepsis pada tingkat genetik. Sehingga, diharapkan dapat dilakukan intervensi biomolekuler pada saat pemberian terapi kepada pasien sepsis neonatorum yang rentan.