

Pemeriksaan Laboratorium untuk Penunjang Diagnostik Demam Tifoid

Cut Murzalina

Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

ABSTRAK

Kata Kunci:

uji widal,
typhidot,
kultur,
Polimerase Chain
Reaction

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Penyakit ini bersifat endemis. Gejala yang timbul bervariasi, dari gejala klinis ringan sampai berat, dari asimtomatik hingga gambaran penyakit yang khas, yang dapat disertai dengan sejumlah komplikasi. Sebagian kasus demam tifoid dapat berakhir dengan kematian. Diagnosis dibuat berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang, termasuk pemeriksaan laboratorium. Dalam diagnosis demam tifoid, pemeriksaan laboratorium meliputi: pemeriksaan darah tepi, pemeriksaan serologis, kultur dengan cara isolasi kuman, dan pemeriksaan molekuler, seperti Polimerase Chain Reaction (PCR). Uji widal didasarkan pada pembentukan terhadap aglutinin O (dari tubuh kuman) dan aglutinin H (flagella kuman). Uji Tubex termasuk uji semikuantitatif kalorimetrik untuk deteksi antibodi terhadap *Salmonella typhi* 09. Sebaliknya, uji typhidot dimaksudkan untuk mendeteksi IgM dan IgG pada protein membran luar *Salmonella typhi*. Pada uji IgM dipstick, digunakan strip yang mengandung antigen lipopolisakarida *Salmonella typhi*. Pada isolasi dan biakan *Salmonella*, digunakan bahan pemeriksaan berupa: darah, urin, tinja, feses, dan sumsum tulang. Kultur darah dianggap sebagai metode standar untuk diagnosis bakteremia tetapi hanya mendeteksi 40-70% pasien demam tifoid. Yang menjadi baku emas dalam pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis demam tifoid adalah kultur aspirasi sumsum tulang, dengan sensitivitas lebih dari 80 persen. Pemeriksaan PCR dilakukan dengan mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagelin bakteri *Salmonella typhi*.

Korespondensi: cutmurzalina@unsyiah.ac.id (Cut Murzalina)

ABSTRACT

Keywords:

widal test,
typhidot,
culture,
polymerase chain
reaction

Typhoid fever is caused by Salmonella typhi. This disease is endemic. Symptoms that arise vary, from mild to severe clinical symptoms, from asymptomatic to typical disease features, which can be accompanied by a number of complications. Some cases of typhoid fever can end in death. The diagnosis is made based on clinical symptoms, physical examination and supporting examination, including laboratory examinations. In the diagnosis of typhoid fever, laboratory tests include: peripheral blood examination, serological examination, culture by means of germ isolation, and molecular examination, such as Polymerase Chain Reaction (PCR). The widal test is based on the formation of agglutinin O (from the germ body) and agglutinin H (flagella germ). The Tubex test includes a calorimetric semiquantitative test for the detection of antibodies to Salmonella typhi O9. In contrast, the typhidot test is intended to detect IgM and IgG on Salmonella typhi's outer membrane protein. In dipstick IgM test, strips containing Salmonella typhi lipopolysaccharide antigens are used. In isolation and culture of Salmonella, examination materials are used in the form of: blood, urine, feces and bone marrow. Blood culture is considered a standard method for the diagnosis of bacteremia but only detects 40-70% of typhoid fever patients. The gold standard in laboratory tests for the diagnosis of typhoid fever is bone marrow aspiration culture, with a sensitivity of more than 80 percent. PCR examination is done by detecting DNA (nucleic acid) flagelin gene Salmonella typhi bacteria.

PENDAHULUAN

Demam Tifoid bersifat endemik dan sporadik di Indonesia. Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* ini dapat ditemukan sepanjang tahun dengan insiden tertinggi pada anak-anak. Sumber penularan *S. typhi* ada dua, yaitu pasien dengan demam tifoid dan karier. Transmisi terjadi melalui air yang tercemar *Salmonella typhi* pada daerah endemik, sedangkan pada daerah non endemik, makanan yang tercemar karier merupakan sumber utama. Tifoid karier adalah seseorang yang kotorannya (feses atau urin) mengandung *S. typhi* setelah satu tahun pasca demam tifoid tanpa gejala klinis.^{1,2}

ETIOLOGI

Etiologi demam tifoid adalah *Salmonella typhi*.

Bakteri ini merupakan gram negatif, berflagela, bersifat anaerobik fakultatif, tidak berspora, berkemampuan untuk invasi, hidup dan berkembang biak di dalam sel kariotik. Di samping itu, bakteri ini mempunyai beberapa antigen, yaitu: antigen O, antigen H, antigen Vi dan Outer Membrane Protein terutama porin OMP. Antigen O merupakan somatik yang terletak di lapisan luar tubuh kuman. Struktur kimianya terdiri dari lipopolisakarida. Antigen ini tahan terhadap pemanasan 100°C selama 2–5 jam, alkohol dan asam yang encer.^{1,3}

Antigen H pada *Salmonella typhi* merupakan antigen yang terletak di flagela, fimbriae atau fili. Antigen ini berstruktur kimia protein. *Salmonella typhi* mempunyai antigen H phase-1 tunggal yang juga dimiliki beberapa *Salmonella* lain. Antigen ini tidak aktif pada pemanasan di atas suhu 60°C dan pada pemberian alkohol atau asam. Sebaliknya,

antigen Vi terletak di lapisan terluar *Salmonella typhi* (kapsul) yang melindungi kuman dari fagositosis dengan struktur kimia glikolipid, akan rusak bila dipanaskan selama 1 jam pada suhu 60°C, dengan pemberian asam dan fenol. Antigen ini digunakan untuk mengetahui adanya karier.^{3,4}

Antigen Outer Membrane Protein (OMP) *Salmonella typhi* merupakan bagian dinding sel yang terletak di luar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. OMP ini terdiri dari 2 bagian yaitu protein porin dan protein nonporin. Porin merupakan komponen utama OMP, terdiri atas protein OMP C, OMP D, OMP F dan merupakan saluran hidrofilik yang berfungsi untuk difusi solut dengan BM < 6000. Antigen OMP bersifat resisten terhadap proteolisis dan denaturasi pada suhu 85–100°C. Protein nonporin terdiri atas protein OMP A, protein a dan lipoprotein, bersifat sensitif terhadap protease, tetapi fungsinya masih belum diketahui dengan jelas. Beberapa peneliti menemukan antigen OMP S typhi yang sangat spesifik yaitu antigen protein 50 kDa/52 kDa.^{3,5}

PATOGENESIS DAN PATOFISIOLOGI

Salmonella typhi masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan air yang tercemar. Sebagian kuman dihancurkan oleh asam lambung dan sebagian masuk ke usus halus, mencapai jaringan limfoid plak peyeri di ileum terminalis yang hipertropi. *S. typhi* memiliki fimbria khusus yang dapat menempel ke lapisan epitel plak peyeri sehingga bakteri dapat difagositosis. Setelah menempel, bakteri memproduksi protein yang mengganggu lapisan brush border usus dan memaksa sel usus untuk membentuk kerutan membran yang akan melapisi bakteri dalam vesikel. Bakteri dalam vesikel akan menyeberang melewati sitoplasma sel usus dan dipresentasikan ke makrofag.^{2,3}

Setelah sampai kelenjar getah bening mesenterika, kuman kemudian masuk ke aliran darah melalui duktus torasikus sehingga terjadi bakteremia pertama yang asimtomatik. *S. typhi* juga bersarang dalam sistem retikuloendotelial terutama hati dan

limfa, dimana kuman meninggalkan sel fagosit, berkembang biak, dan masuk sirkulasi darah lagi, sehingga terjadi bakteremia kedua dengan gejala sistemik. *S. typhi* menghasilkan gejala endotoksin yang berperan dalam inflamasi lokal jaringan tempat kuman berkembang biak, merangsang pelepasan zat pirogen dan leukosit jaringan sehingga muncul demam dan gejala sistemik lain. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar plak peyeri. Apabila proses patologis semakin berkembang, perforasi dapat terjadi.^{1,2,3}

Salmonella typhi memiliki berbagai mekanisme sehingga dapat terhindar dari serangan sistem imun seperti polisakarida kapsul Vi, penggunaan makrofag sebagai kendaraan dan gen *Salmonella* pathogenicity island-2 (SPI-2).³

GAMBARAN KLINIS

Masa inkubasi demam tifoid berlangsung antara 10-14 hari.^{1,3} Gejala yang timbul bervariasi.³ (Wibisono 2014), dari gejala klinis ringan sampai berat, dari asimtomatik hingga gambaran gambaran penyakit yang khas, yang dapat disertai dengan sejumlah komplikasi. Sebagai kasus demam tifoid dapat berakhir dengan kematian.^{1,3}

Pada minggu pertama, muncul tanda infeksi akut seperti demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak nyaman di perut, batuk, dan epistaksis. Demam yang terjadi berpola seperti anak tangga dengan suhu makin tinggi dari hari ke hari, lebih rendah pada pagi hari dan tinggi pada sore hari.³

Pada minggu kedua, gejala menjadi lebih jelas dengan demam, bradikardi relatif, lidah tifoid (kotor di tengah, tepi dan ujung berwarna merah, disertai tremor), hepatomegali, splenomegali, meteorismus, gangguan kesadaran, dan yang lebih jarang berupa roseolae.^{2,3}

PEMERIKSAAN LABORATORIUM

Terdapat sejumlah pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk menunjang diagnosis demam tifoid. Pemeriksaan laboratorium tersebut meliputi:

pemeriksaan darah tepi, pemeriksaan serologis, kultur dengan cara isolasi kuman, dan pemeriksaan molekuler, seperti Polimerase Chain Reaction (PCR). Beberapa uji serologis yang dapat digunakan pada demam tifoid meliputi: (1) uji widal; tes anti *S. typhi* IgM (TUBEX); metode enzyme immunoassay (EIA); (4) metode enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) dan (5) pemeriksaan dipstik.⁴ Uji serologis digunakan untuk menegakkan diagnosis demam tifoid dengan mendeteksi antibodi spesifik terhadap komponen antigen *S. typhi* maupun antigen itu sendiri.^{3,5}

Pemeriksaan serologi berdasarkan deteksi antibodi telah digunakan sebagai alternatif kultur darah untuk diagnosis demam tifoid. Tes serologi yang paling banyak digunakan adalah uji widal yang mendeteksi antibodi aglutinasi terhadap antigen O dan H dari *Salmonella typhi*. Pemeriksaan widal berdasarkan peningkatan titer antibodi pada sampel serum ganda dengan jarak 10-14 hari. Namun beberapa peneliti menemukan bahwa seringkali didapatkan hasil positif palsu. Di daerah endemik, individu sehat normal mungkin mempunyai antibodi terhadap *Salmonella typhi* karena infeksi subklinis sebelumnya.^{2,6,7}

Pemeriksaan lain yang rutin dilakukan adalah uji widal dan kultur *Salmonella*. Sampai sekarang, kultur masih merupakan menjadi standar baku dalam penegakan diagnostik demam tifoid. Selain uji widal, terdapat beberapa metode pemeriksaan serologi lain yang dapat dilakukan dengan cepat dan mudah serta memiliki sensitivitas dan spesifitas lebih baik dari antara lain adalah pemeriksaan serologi IgM/IgG *Salmonella*.³ Sensitivitas dan spesifitas deteksi antigen spesifik *S. typhi* bergantung pada jenis antigen, jenis spesimen, teknik yang dipakai, jenis antibodi yang digunakan dalam uji (poliklonal atau monoklonal dan waktu pengambilan spesimen (stadium dini atau lanjut dalam perjalanan penyakit).^{3,5}

Pemeriksaan Darah Perifer

Pada pasien demam tifoid, dapat ditemukan berbagai gambaran dari pemeriksaan darah tepi. Gambaran tersebut, misalnya: anemia. Gambaran leukosit dengan jumlah yang dapat normal, menurun atau meningkat. Leukositosis dapat terjadi walaupun

tanpa disertai infeksi sekunder. Dapat ditemukan gambaran trombositopenia. Hitung jenis biasanya normal atau bergeser ke kiri. Mungkin didapatkan aneosinofilia dan limfositosis relatif, terutama pada fase lanjut. Laju endap darah tidak mempunyai nilai sensitivitas dan spesifitas untuk menentukan diagnosis demam tifoid. Demam tifoid dapat ditandai dengan leukopenia dan limfositosis.⁴

Uji Widal

Prinsip uji widal adalah memeriksa reaksi antara antibodi aglutinin dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagella (F) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi.⁴ Deteksi titer antibodi terhadap *S. typhi*, *S. paratyphi* yakni aglutinin O (dari tubuh kuman) dan aglutinin H (flagella kuman). Pembentukan aglutinin mulai terjadi pada akhir minggu pertama demam, puncak pada minggu keempat dan tetap tinggi dalam beberapa minggu dengan peningkatan aglutinin O terlebih dahulu baru diikuti aglutinin H. Titer antibodi O > 1/320 atau antibodi H > 1/640 menguatkan diagnosis pada gambaran klinis yang khas.^{3,5}

Uji widal dilakukan untuk deteksi antibodi terhadap kuman *Salmonella typhi*. Pada uji widal terjadi suatu reaksi aglutinasi antara antigen kuman *Salmonella typhi* dengan antibodi yang disebut aglutinin. Antigen yang digunakan pada uji widal adalah suspensi salmonella yang sudah dimatikan dan diolah di laboratorium.^{3,5} Maksud uji widal adalah untuk menentukan adanya aglutinin dalam serum penderita tersangka demam tifoid, yaitu: a) Aglutinin O (dari tubuh kuman), b) Aglutinin H (flagella kuman), dan c) Aglutinin Vi (simpai kuman). Dari ketiga aglutinin tersebut, hanya aglutinin O dan H yang digunakan untuk diagnosis demam Tifoid. Semakin tinggi titernya, semakin besar terinfeksi kuman ini.^{4,8}

Pembentukan aglutinin ini mulai terjadi pada akhir minggu pertama demam, kemudian meningkat secara cepat dan mencapai puncak pada minggu keempat, dan tetap tinggi selama beberapa minggu. Pada fase akut, mula-mula timbul aglutinin O, kemudian diikuti dengan aglutinin H. Pada orang yang telah sembuh,

aglutinin O masih tetap dijumpai setelah 4-6 bulan, sedangkan aglutinin H menetap lebih lama antara 9-12 bulan. Oleh karena itu, uji widal bukan untuk menentukan kesembuhan penyakit.^{3,5,9}

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi uji widal, yaitu: 1) Pengobatan dini dengan antibiotik, 2) gangguan pembentukan antibodi, dan pemberian kortikosteroid, 3) waktu pengambilan darah, 4) daerah endemik dan nonendemik, 5) riwayat vaksinasi, 6) rekasi ananestik, yaitu peningkatan titer aglutinin pada infeksi bukan demam tifoid akibat infeksi demam tifoid masa lalu atau vaksinasi, 7) Faktor teknik pemeriksaan antar laboratorium, akibat aglutinasi silang, dan strain *Salmonella* yang digunakan untuk suspensi antigen.⁴

Saat ini belum ada kesamaan pendapat mengenai titer aglutinin yang bermakna diagnostik untuk demam tifoid. Batas titer yang sering dipakai hanya kesepakatan saja. Hanya berlaku setempat dan batas ini bahkan dapat berbeda di berbagai laboratorium setempat (Widodo 2014).

Hasil review sistematis menunjukkan reabilitas pemeriksaan Widal relatif buruk. Sensitivitas rata-rata, spesifitas, NPV dan PPV uji Widal tetap di bawah 80%. Efisiensi uji widal dalam mendiagnosis demam tifoid tanpa tes konfirmasi lainnya tidak memiliki nilai diagnostik. Oleh karena itu, pemeriksaan widal tidak boleh digunakan sebagai alat diagnostik untuk menyingkirkan demam tifoid kecuali jika didukung oleh gambaran klinis invasif dan pemeriksaan konfirmasi lainnya.⁹

Tes ini memiliki sensitivitas dan spesifitas sedang. Hanya dapat negatif sampai 30% dari kasus demam tifoid dengan kultur. Hal ini mungkin disebabkan penggunaan antibiotika yang mempengaruhi respon antibodi. Selain itu, serotipe *salmonella* lain juga memiliki antigen O dan H, dan dapat mengalami cross-reactive epitop dengan enterobacteriaceae lain sehingga menyebabkan hasil positif palsu.^{2,4}

Uji Tubex

Uji Tubex merupakan uji semikuantitatif kolometrik untuk deteksi antibodi anti *Salmonella typhi* O9. Hasil positif menunjukkan infeksi *salmonellae* serogroup D dan tidak spesifik *S. typhi*. Infeksi *S.*

paratyphi menunjukkan hasil negatif. Sensitivitas 75-80% dan spesifitas 75-90 %.^{1,5} Tes ini dapat menjadi pemeriksaan yang ideal, yang dapat digunakan secara rutin karena cepat, mudah dan sederhana, khususnya di negara berkembang.³

Tes Anti *S. typhi* IgM merupakan tes aglutinasi kompetitif semi kuantitatif yang sederhana dan cepat (kurang lebih 2 menit) dengan menggunakan partikel yang berwarna untuk meningkatkan resolusi dan sensitifitas. Spesifitas ditingkatkan dengan menggunakan antigen O9 yang spesifik ditemukan pada *Salmonella* serogroup D dan tidak ditemukan pada organisme lain. Tes ini sangat akurat dalam diagnosis infeksi akut karena hanya mendeteksi adanya antibodi IgM dan tidak mendeteksi antibodi IgG dalam waktu beberapa menit. Hasil positif pada tes tes anti *S. typhi* IgM menunjukkan terjadinya infeksi *salmonella*, sedangkan infeksi yang disebabkan oleh serotipe lain seperti *S. paratyphi* A, akan memberikan hasil negatif.⁵

Uji Typhidot

Uji Typhidot dimaksudkan untuk mendeteksi IgM dan IgG pada protein membran luar (outer Membran Protein) *Salmonella typhi*. Hasil positif diperoleh 2-3 hari setelah infeksi dan spesifik mengidentifikasi IgM dan IgG terhadap *S. typhi*. Sensitivitas 98%, spesifitas 76,6% (Wibisono 2014). Metode Typhidot-M merupakan modifikasi dari metode typhidot telah dilakukan aktivasi dari IgG total sehingga menghilangkan pengikatan antigen terhadap IgM spesifik. Metode ini dapat menggantikan Uji Widal bila digunakan bersama dengan kultur untuk mendapatkan diagnosis yang cepat dan akurat.^{2,5,7}

Deteksi terhadap IgM menunjukkan fase awal infeksi pada demam tifoid fase akut, sedangkan deteksi terhadap IgM dan IgG menunjukkan infeksi pada fase pertengahan infeksi (Nasution 2010). Uji typhidot dapat mendeteksi antibodi IgM dan IgG yang terdapat pada protein membran luar *Salmonella typhi*. Hasil positif pada uji typhidot didapatkan 2-3 hari setelah infeksi dan dapat mengidentifikasi secara spesifik antibodi IgM dan IgG terhadap antigen *Salmonella typhi* seberat 50 kD, yang terdapat pada strip nitroselulosa.^{3,4}

Pada kasus reinfeksi, respon imun sekunder (IgG) teraktivasi secara berlebihan sehingga IgM sulit terdeteksi. IgG dapat bertahan sampai 2 tahun, sehingga pendeteksian IgG saja tidak dapat digunakan untuk membedakan antara infeksi akut dengan kasus reinfeksi atau konvalesen pada kasus infeksi primer. Untuk mengatasi masalah tersebut, uji ini kemudian dimodifikasi dengan menginaktivasi total IgG pada sampel serum. Uji ini, yang dikenal dengan typhidot-M, memungkinkan ikatan antara antigen dengan IgM spesifik yang ada pada serum pasien.^{3,9}

Hasil uji sensitivitas terhadap uji typhidot sebesar 98 persen. Sedangkan spesifitas sebesar 76,6% dan efisiensi uji sebesar 84%, sebagaimana penelitian yang dilaporkan oleh Gopalakrishnan. Pada penelitian lain, yang dilakukan oleh Oslen dkk, didapatkan sensitivitas dan spesifitas uji ini hampir sama dengan Uji Tubex yaitu 79% dan 89% dengan 78% dan 89%.^{3,7,9}

Uji IgM Dipstick

Uji IgM dipstick merupakan uji untuk mendeteksi secara khusus IgM spesifik menggunakan strip yang mengandung antigen lipopolisakarida *Salmonella typhi* dan anti IgM sebagai kontrol. Uji serologis dengan pemeriksaan dipstick dapat mendeteksi antibodi IgM spesifik terhadap antigen LPS *Salmonella typhi* ini dilakukan dengan menggunakan membran nitroselulosa yang mengandung antigen *Salmonella typhi* sebagai pita pendeteksi dan antibodi IgM anti-human immobilized sebagai reagen kontrol. Pemeriksaan ini menggunakan komponen yang sudah distabilkan, tidak memerlukan alat yang spesifik dan dapat digunakan di tempat yang tidak mempunyai fasilitas laboratorium yang lengkap. Antibodi yang spesifik umumnya hanya terlihat pada minggu pertama demam.⁵

Uji IgM Dipstick mendeteksi antibodi IgM spesifik terhadap *S. typhi* pada spesimen serum atau whole blood. Uji ini menggunakan strip yang mengandung antigen lipopolisakarida (LPS) *S. typhoid* dan IgM (sebagai kontrol), reagen deteksi yang mengandung antibodi anti IgM yang dilekati dengan lateks pewarna, cairan membasahi strip sebelum diinkubasi dengan reagen dan serum pasien, tabung uji Pemeriksaan

dimulai dengan inkubasi strip pada larutan campuran reagen deteksi dan serum, selama 3 jam pada suhu kamar. Setelah inkubasi, strip dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Secara semi kuantitatif, diberikan penilaian terhadap garis uji dengan membandingkannya dengan reference strip. Garis kontrol harus berwarna dengan baik. Sensitivitas 65-77% dan spesivitas 95-100%. Akurasi diperoleh bila pemeriksaan dilakukan 1 minggu setelah muncul gejala.^{3,5}

Isolasi dan Biakan

Isolasi *Salmonella typhi* merupakan metode gold standar untuk konfirmasi diagnosis demam tifoid. Pemeriksaan isolasi *Salmonella typhi* memerlukan mesin kultur darah otomatis yang mahal atau staf yang terlatih untuk metode manual.^{2,4} Bahan pemeriksaan untuk isolasi *Salmonella typhi* dapat dilakukan dengan sampel darah, urin, tinja dan sumsum tulang. Namun, pemeriksaan ini memerlukan waktu 2-5 hari, prosedurnya mahal dan memerlukan keahlian teknis yang khusus.⁵

Bakteri *Salmonella* yang bersifat aerobik dan fakultatif anaerobik, tumbuh dengan cepat pada media sederhana pada kisaran pH 6-8 dan suhu optimum 37°C. *Salmonella* dapat dikultur pada berbagai media padat; pada media selektif untuk isolasi primer (agar darah), agar selektif atau diferensial (misalnya: McConkey agar, Hektoen enteri agar) dan *enrichment broths* (misalnya: Selenite broth). *Salmonella typhi* menghasilkan koloni putih non-hemolitik yang halus pada agar darah, koloni polutan non laktosa halus di koloni pucat agar pada agar McConkey dan pada agar enterik Hektoen, *Salmonella* menghasilkan koloni hijau transparan dengan pusat hitam. Dalam pemeriksaan secara isolasi (kultur), *Salmonella* memperlihatkan hasil yang khas karena kemampuannya untuk memetabolisme sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan lisin sebagai sumber nitrogen, serta kemampuannya menghasilkan menghasilkan hidrogen sulfida.^{3,5,6}

Salmonella fermentasi glukosa, manitol dan maltosa, manitol dan maltosa, membentuk asam dan gas. Mereka tidak memfermentasi laktosa, sukrosa dan salisin (Nasution 2017). Identifikasi

kuman dilakukan dengan isolasi bakteri *Salmonella typhi* dalam biakan dalam darah, urin, feses, sumsum tulang, cairan duodenum atau dari rose spots (Nasution 2010). Berdasarkan patogenesis penyakit, bakteri *S. typhi* lebih mudah ditemukan dalam darah dan sumsum tulang pada awal penyakit. Pada tahap berikutnya lebih mudah di dalam urin dan feses.^{3,5,6}

Kultur Darah

Kultur darah umumnya dianggap sebagai metode standar untuk diagnosis bakteremia tetapi hanya mendeteksi 40-70% pasien demam tifoid. Kultur merupakan metode akurat untuk diagnosis demam tifoid dari sampel darah yang diambil pada awal penyakit. Tingkat deteksi kultur 65,9% untuk sampel darah tunggal yang diambil rata-rata 6 hari setelah onset demam. Mayoritas kultur positif pada 48 jam onset demam dan hampir semuanya positif lima hari.^{3,5}

Hasil biakan darah yang positif memastikan demam tifoid, akan tetapi hasil negatif tidak menyingkirkan demam tifoid. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa hal sebagai berikut: 1) telah mendapat terapi antibiotika. Bila pasien sebelum kultur telah mendapat terapi antibiotika, pertumbuhan kuman dalam media biakan terhambat dan hasil mungkin negatif.^{1,3,6} Pasien demam tifoid yang konsumsi antibiotik yang akan mengurangi kemungkinan pertumbuhan bakteri, karena antibiotik menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Namun, pada pasien yang tidak diobati dengan antibiotik, kultur positif pada 80% pasien atau lebih.^{3,5}; 2) Volume darah yang kurang (diperlukan kurang lebih 5 cc darah). Bila darah yang dibiak terlalu sedikit, hasil biakan bisa negatif. Darah yang diambil sebaiknya secara bedside langsung dimasukkan ke dalam media cair empedu (oxgall) untuk pertumbuhan kuman; 3) Riwayat vaksinasi. Vaksinasi dimasa lampau menimbulkan antibodi dalam darah pasien. Antibodi (aglutinin) ini dapat menekan bakteremia hingga biakan darah dapat negatif; 4) waktu pengambilan darah Setelah minggu pertama, pada saat aglutinin semakin meningkat.^{3,6}

Kultur darah kurang sensitif dibandingkan kultur sumsum tulang karena jumlah mikroorganisme darah

lebih sedikit dibandingkan sumsum tulang. Sensitivitas kultur darah lebih tinggi pada minggu pertama penyakit, kemudian berkurang dengan penggunaan antibiotik dan akan meningkat dengan penambahan volume pada kultur darah dan rasio darah pada broth.⁵

Kultur Sumsum Tulang

Kultur aspirasi sumsum tulang merupakan gold standar untuk diagnosis pasti demam tifoid. Kultur aspirasi sumsum tulang tepat untuk pasien yang sebelumnya telah diobati dan hasil kultur darah negatif. Kultur sumsum tulang memiliki sensitivitas tertinggi (>80%) dan relatif tidak terpengaruh oleh antibiotik. Peningkatan sensitivitas kultur sumsum tulang dibandingkan dengan kultur darah berkaitan dengan konsentrasi bakteri yang lebih tinggi pada sumsum tulang. Kultur sumsum tulang lebih sering positif pada pasien dengan penyakit berat dan rumit.^{2,4} Pada sisi lain, kultur sumsum tulang diketahui lebih sensitif, namun bersifat invasif sehingga tidak sesuai dilakukan secara rutin.⁷

Pemeriksaan PCR

Salah satu metode untuk mengidentifikasi *S. typhi* adalah pemeriksaan PCR (*Polimerase Chain Reaction*). Prinsip dari metode ini adalah dengan mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagelin bakteri *S. typhi* dalam darah dengan teknik hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA dengan cara polimerase chain reaction. Dalam pemeriksaan ini, yang diidentifikasi adalah antigen Vi yang spesifik untuk *S. typhi*.⁵

Studi di Papua Nugini menunjukkan bahwa PCR sebaiknya dilakukan bersama dengan kultur darah sebagai *gold standard* untuk evaluasi diagnosis demam tifoid. Kelebihan PCR adalah kemampuannya mendeteksi organisme viable pada pasien yang mendapatkan pengobatan antibiotik. Meskipun demikian, pemeriksaan ini belum memungkinkan dilakukan di negara berkembang dikarenakan kurangnya sumber daya.^{4,7}

Meskipun dipandang sebagai pemeriksaan yang sangat akurat, namun pemeriksaan ini tetap memiliki keterbatasan. Salah satu kekurangannya adalah adanya kontaminasi yang memberikan hasil positif

palsu bila teknik yang dilakukan tidak sesuai. Adanya bahan dalam spesimen yang dapat menghambat proses PCR (hemoglobin dan heparin dalam spesimen darah serta bilirubin dan garam empedu dalam spesimen klinis belum memberikan hasil yang memuaskan. Dengan demikian, penggunaan metode ini terbatas untuk penelitian dan belum digunakan secara luas pada daerah endemik demam tifoid.^{4,6,7}

KESIMPULAN

Demam tifoid merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Diagnosis terhadap penyakit ini dibuat berdasarkan gejala klinis` dan pemeriksaan penunjang, termasuk pemeriksaan laboratorium. Gejala klinis bervariasi, mulai dari gejala klinis ringan sampai berat, hingga gejala yang khas. an fisik dan pemeriksaa penunjang, termasuk pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium untuk penunjang diagnosis demam tifoid meliputi: pemeriksaan darah tepi, pemeriksaan serologis (uji widal, Tubex), kultur dengan cara isolasi kuman, dan pemeriksaan molekuler, seperti Polimerase Chain Reaction (PCR). Uji widal didasarkan pada pembentukan terhadap aglutinin O (dari tubuh kuman) dan aglutinin H (flagella kuman). Uji Tubex termasuk uji semikuantitatif kalorimetrik untuk deteksi antibodi terhdap *Salmonella typhi* 09. Sebaliknya, uji typhidot dimaksudkan untuk mendeteksi IgM dan IgG pada protein membran luar *Salmonella typhi*. Pada uji IgM dipstik, digunakan strip yang mengandung antigen lipopolisakarida *Salonella typhi*. Pada isolasi dan biakan *Salmonella*, digunakan bahan pemeriksaan berupa: darah, urin, tinja, feses, dan sumsum tulang. Yang menjadi baku emas dalam pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis demam tifoid adalah kultur aspirasi sumsum tulang, dengan sensitifitas lebih dari 80 persen. Pemeriksaan PCR dilakukan dengan mendeteksi DNA (asan nukleat) gen flagelin bakteri *Salmonella typhi*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wibisono E, Susilo A, Nainggolan L. Demam Tifoid. Dalam: Tanto C, Liwang F, Hanifati S, Pradipta E A. Kapita Selekta Kedokteran. Edisi ke-4. Jakarta: Media Aesculapius, 2014; 721-723
2. Bharmoria A, Shukla A, Sharma K. Typhoid Fever as a challenge for Devoloping countries and Exlusive diagnostik Approaches Availbale for the enteric Fever. *Int J Vaccine Res* 2017;2(2):1-16.
3. Widodo D. Demam Tifoid. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-6. Jakarta: Interna Publishing 2014; 549-558.
4. Nasution EA. Pemeriksaan Laboratorium Demam di Indonesia. *Forum Diagnosticum*. 2017; 6:1-11.
5. Nasution EA. Berbagai Pemeriksaan Diagnosis Demam Tifoid. *Informasi Laboratorium* 2010; 3: 1-5.
6. Bhattacharya P, Saha BK, Paul UK. Bandyopadhyay A. Blood Culture in Clinically Suspected Typhoid Fever. *Int J Sci Stud* 2017;4 (11):53-56.
7. Khanna A. Comparative Evaluation of Tubex TF (Inhibition Magnetic Binding Imunoassay) for Tifoif Fever in Endemic Area. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(11):DC14-DC17.
8. Thriemer K, Ley B, Menten J, Jacobs J, van den Ende J. A syteatic review and Meta-Analysis of the Performance of Two point of Care Thypoid Fever Tests, Tubex TF and Typhidot, in Endemic Countries. *Plos ONE* 2013;8(12)e81263.
9. Mengist H, Tilahun K. Diagnostik value of Widal test in the Diagnosis of Tiphoid Fever: A Sytematic Review. *J Med Micob Diagn*. 2017;06(01): 1-9