

**EVALUASI HASIL UJI WIDAL METODE SLIDE PADA
SAMPel SERUM DAN PLASMA PENDERITA DEMAM
TIFOID**

**ERLITA PUSPITA SARI
N121 05 064**



SKR-f10
SAR
e

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**EVALUASI HASIL UJI WIDAL METODE SLIDE PADA SAMPEL SERUM
DAN PLASMA PENDERITA DEMAM TIFOID**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk
mencapai gelar sarjana**

**ERLITA PUSPITA SARI
N121 05 064**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**EVALUASI HASIL UJI WIDAL METODE SLIDE PADA SAMPEL SERUM
DAN PLASMA PENDERITA DEMAM TIFOID**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk
mencapai gelar sarjana**

**ERLITA PUSPITA SARI
N121 05 064**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**EVALUASI HASIL UJI WIDAL PADA SAMPEL SERUM DAN PLASMA
PENDERITA DEMAM TIFOID**

ERLITA PUSPITA SARI

N121 05 064

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



**Prof. Dr.H. Tadjuddin Naid, MSc, Apt.
NIP. 194606141975031001**

Pembimbing Pertama,



**dr. Benny Rusli, SpPK,
NIP. 140 086 381**

Pembimbing Kedua,



**Dra. Elizabeth Yapari, Apt.
NIP.**

Pada tanggal Juni 2010

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur ke hadirat Allah Yang Maha Kuasa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penelitian dan penulisan karya akhir yang merupakan syarat untuk mencapai gelar sarjana pada program konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada: Prof. Dr.H. Tadjuddin Naid, MSc, Apt ; dr.Benny Rusli, SpPK ; dan Dra. Elizabeth Yapari, Apt sebagai pembimbing dan atas bimbingan dan arahnya dalam membantu dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.

Rasa terima kasih juga penulis haturkan kepada Prof.Elly Wahyudin sebagai Dekan Fakultas Farmasi, Drs.Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si, Apt sebagai ketua program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Fakultas Farmasi, Dra.Aliyah Putranto, MS, Apt sebagai sekretaris konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan Fakultas Farmasi, dosen-dosen Fakultas Farmasi beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih pada Direktur RSUD. Labuang Baji Makassar dan Kepala Instalasi Laboratorium RSUD. Labuang Baji beserta seluruh staf dan analisnya yang telah banyak membantu selama penelitian berlangsung.

Rasa hormat, penghargaan dan terima kasih yang tak terhingga penulis haturkan kepada ayahanda tersayang Dendrayanto dan ibunda tersayang Hj. Suri Alwi , adinda Analia Muspita Sari, adinda Zuhail. Kepada Suami tercinta Mulyadi S.Kep, ananda tersayang Alifa Alfadyahtul Hikmah dan Zhafira Az-Zahra dan seluruh keluarga atas doa restu, dukungan dan semangat yang ditanamkan dalam menuntut ilmu untuk senantiasa bertakwa kepada Allah SWT.

Terimakasih yang setinggi-tingginya kepada pihak-pihak yang membantu dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan karya ilmiah :

1. Kepada sahabat-sahabatku Lutfiah Dahlan, Hastuti Mahfud, A. Suryani, Putri Nurjannah, Yuni Ferawati Syachril, Enny Haryani F. Lambogo, Dian Sadriah, Tantiana Thamrin, Pratiwi Husain, Citra Sukmawati, dan Syahrul Mubarak atas kekompakan dan kebersamaannya selama ini.
2. Kepada Suamiku tercinta Mulyadi S.Kep, terimakasih atas kasih sayang, perhatian, motivasi dan semangatnya selama ini. Setia mendengar keluh kesahku selama studi, penelitian, dan penyusunan karya akhir ini.
3. Teman-teman seangkatan Serum'05 tanpa terkecuali yang selalu memberi dukungan dan support.
4. Kepada Adik-adik TLK Virus 06 dan Spoit 07, kakak-kakak D3 07.

Kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan moril maupun materil, tak lupa penulis sampaikan terima kasih.

Penulis menyadari sepenuhnya atas kekurangan dan keterbatasan mulai dari awal penelitian sampai penulisan karya akhir ini, untuk itu semua saran dan kritikan dalam penyempurnaannya akan penulis terima dengan segala kerendahan hati. Semoga karya akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan kiranya Allah SWT senantiasa memberkati dan melindungi setiap langkah dan pengabdian kita, Amin.

Akhirnya perkenankan penulis memohon maaf atas segala kekhilafan dan kesalahan selama pendidikan sampai selesainya karya akhir ini.

Makassar , Juni 2010

Erlita Puspita Sari

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang evaluasi hasil uji widal metode slide pada sampel serum dan plasma penderita demam tifoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan atau persamaan hasil dari uji widal metode slide dengan menggunakan sampel serum dan plasma. Penelitian ini dilakukan secara *cross sectional*. Pengamatan hasil dari uji widal metode slide didasarkan pada terjadinya aglutinasi pada pengenceran tertinggi yang menunjukkan titer antibodi dalam serum dan plasma pada masing-masing sampel. Data hasil penelitian diolah dan dianalisa dengan menggunakan uji statistik parametrik (uji t) untuk mengetahui signifikansi perbedaan hasil pemeriksaan yang diperoleh. Dari hasil analisa data diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan widal metode slide dengan menggunakan sampel serum dan plasma pada penderita demam tifoid.

ABSTRACT

A research has been done about the evaluation of widal test on serum and plasma samples from typhoid fever patients. The aim of this research is to investigated the differences or similarities of widal test results from the slide test method between using serum and plasma samples. This research using *cross sectional* method. The Observations of this widal test result is based on occurrence of agglutination in highest liquify that showed the titer of antibody in serum and plasma on each sample. The result of this research is processed and analyzed using parametric statistical test (t- test) to determine significances the differences of the results. The result show that there is no significances from the differences between using serum and plasma on thypoid fever patient.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tinjauan Umum <i>Salmonella sp</i>	4
II.2 Tinjauan Umum Demam Tifoid.....	7
II.2.1 Patogenesis dan Patologi Demam Tifoid	9
II.2.2 Manifestasi Klinik.....	12
II.3 Diagnosis Demam Tifoid.....	14
II.4 Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid ..	15
II.4.1 Pemeriksaan Darah Tepi.....	15
II.4.2 Identifikasi Kuman Melalui Isolasi/ Biakan.....	16
II.4.3 Tes Serologi.....	18

II.4.4 Pemeriksaan Kuman Secara Molekuler	31
II.5 Respon Immunologi	32
II.6 Tinjauan Umum Darah	34
II.7 Plasma dan Serum	34
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	38
III.1 Desain penelitian	38
III.2 Tempat dan waktu penelitian	38
III.3 Populasi penelitian.....	38
III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	38
III.5 Perkiraan Jumlah Sampel	39
III.6 Alat dan Bahan Penelitian	40
III.7 Prosedur Kerja	40
III.8 Cara Pengolahan Data dan Analisa Data..	44
III.9 Definisi Operasional.....	45
III.10 Alur Kerja	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	47
IV.1 Hasil Penelitian.....	47
IV.2 Pembahasan.....	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	52
V.1 Kesimpulan	52
V.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Pemisahan cairan darah menjadi plasma dan serum.....	36
2. Hasil pemeriksaan uji widal metode slide dengan menggunakan sampel plasma dan serum pada penderita demam tifoid di RSUD Labuang Baji Makassar.....	47
3. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan umur.....	48
4. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin.	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur anatomi famili <i>enterobacteriaceae</i>	7
2. Patogenesis Infeksi Demam Tifoid.....	10
3. Respon Imunitas Pada Demam Tifoid.....	12

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Hasil analisa data secara SPSS	56
2. Perhitungan uji statistik parametrik (uji t)	57
3. Tabel distribusi t	61
4. Gambar alat, bahan dan hasil penelitian	63

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
DNA	Deoxribonuleic Acid
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetate
EIA	Enzym Immunoassay
ELISA	Enzym Linked Immunosorbent Assay
Ig	Imunoglobulin
IL	Inter Leukin
LED	Laju Endap Darah
PCR	Polimerase Chain Reaction
WHO	World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang masih dijumpai secara luas di berbagai negara berkembang yang terutama terletak di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar higiene industri pengolahan makanan yang masih rendah.(1,2,3)

Besarnya angka pasti kasus demam tifoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini dikenal mempunyai gejala dengan spektrum klinis yang sangat luas. Data World Health Organization (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun.(4) Di Indonesia kasus ini tersebar secara merata di seluruh propinsi dengan insidensi di daerah pedesaan 358/100.000 penduduk/tahun dan di daerah perkotaan 760/100.000 penduduk/tahun atau sekitar 600.000 dan 1,5 juta kasus per tahun. Umur penderita yang terkena di Indonesia dilaporkan antara 3-19 tahun pada 91% kasus. (3,5,6)

Penegakan diagnosis demam tifoid saat ini dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium. Salah satu pemeriksaan yang sering

dilakukan adalah uji serologis (uji Widal, tes TUBEX, metode *enzyme immunoassay* (EIA)); metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).(7)

Metode pemeriksaan serologis imunologis ini dikatakan mempunyai nilai penting dalam proses diagnostik demam tifoid. Pemeriksaan serologis yang paling banyak digunakan dan diminta diberbagai laboratorium rumah sakit maupun laboratorium kesehatan adalah uji widal. (2)

Metode Widal merupakan pemeriksaan serologi yang ditujukan untuk mendeteksi adanya antibodi (didalam darah) terhadap antigen kuman *Salmonella typhi / paratyphi* (reagen).(8) Walaupun pemeriksaan widal ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang rendah namun sebagian besar laboratorium kesehatan dan laboratorium rumah sakit masih menggunakan tes widal untuk diagnosis demam tifoid karena hanya membutuhkan biaya yang kecil dan waktu yang singkat.

Teknik aglutinasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan uji hapusan (*slide test*) atau uji tabung (*tube test*). Uji hapusan dapat dilakukan secara cepat dan digunakan dalam prosedur penapisan sedangkan uji tabung membutuhkan teknik yang lebih rumit tetapi dapat digunakan untuk konfirmasi hasil dari uji hapusan.(9)

Pada penelitian ini akan digunakan sampel serum dan plasma. Serum merupakan komponen darah yang tidak mengandung fibrin yang diperoleh setelah fibrinogen dan faktor-faktor pembekuan dihilangkan dari plasma

sedangkan plasma merupakan komponen cair darah yang terdiri dari 91-92% air yang berperan sebagai medium transport, dan 8-9% zat padat. (10)

Pada pengerjaan uji widal di berbagai laboratorium kesehatan hanya digunakan sampel serum sehingga dalam penelitian uji widal metode slide ini, selain menggunakan sampel serum juga digunakan sampel plasma. Dimana tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui apakah sampel plasma juga dapat digunakan dalam uji widal dan adakah persamaan ataupun perbedaan hasil dari sampel serum dan plasma pada uji widal. Hal ini dilakukan karena plasma memiliki beberapa keuntungan dibanding menggunakan serum yaitu plasma dapat disuspensi kembali sehingga dapat digunakan pada pemeriksaan lain contohnya pemeriksaan leukosit, dan untuk memperoleh sampel plasma tidak lagi menggunakan sentrifus sehingga lebih efisien.

Manfaat penelitian ini adalah untuk membantu menetapkan diagnosis demam tifoid. Disamping itu diharapkan dapat menjadi bahan masukan pada instansi terkait dalam rangka diagnosis penyakit demam tifoid pada uji widal metode slide terutama dalam penggunaan sampel, dapat menambah informasi ilmiah dan diharapkan dapat dikembangkan bagi peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum *Salmonella* sp

Group *Salmonella* adalah bakteri-bakteri yang habitatnya (tempat hidupnya) terutama di dalam usus manusia atau binatang. Terdapat juga dalam Lumpur / air selokan dan air sungai. Oleh karena itu basil-basil *Salmonella* dapat diasingkan dari berbagai sumber specimen (manusia dan non-manusia). (11)

Ada lebih dari 2400 serotipe *Salmonella* termasuk lebih dari 1400 dalam DNA hibridisasi group I yang dapat menginfeksi manusia. Empat serotype *Salmonella* yang menyebabkan demam enterik dapat diidentifikasi dalam laboratorium yang terekomendasi dengan tes biokimia dan tes serologi. Serotipe ini harus secara rutin diidentifikasi untuk ketepatan klinisnya. Mereka sebagai berikut : *Salmonella paratyphi* A (serogroup A), *Salmonella paratyphi* B (serogroup B), *Salmonella choleraesuis* (serotipe C) dan *Salmonella typhi* (serotipe D). lebih dari 1400 *Salmonella* lain yang diisolasi dalam laboratorium klinis dikelompokkan menurut antigen O nya yaitu A, B, C₁, C₂, D dan E kecuali *Salmonella paratyphi* C juga bisa menjangkiti hewan. (11, 12, 13)

Salmonella adalah motil tidak membentuk spora, tidak berkapsul, batang gram – negatif dengan panjang 2-3 um diameter 0,4-0,6 um,

memiliki flagella. Kebanyakan strain meragi glukosa, manosa dan manitol untuk menghasilkan asam dan gas, tetapi mereka tidak meragi laktosa atau sukrosa. *Salmonella typhi* tidak menghasilkan gas. Organisme *Salmonella* tumbuh secara aerobik dan mampu tumbuh secara anaerobik fakultatif, mereka resisten terhadap banyak agen fisisk tetapi dapat dibunuh dengan pemanasan sampai 130°F (54°C) selama 1 jam atau 140°F (60°C) selama 15 menit. Mereka tetap dapat hidup pada suhu sekeliling atau suhu yang rendah selama beberapa hari dan dapat bertahan hidup selama berminggu-minggu dalam sampah, bahan makanan kering dan bahan kotoran. Dalam air bisa tahan selama 4 minggu. Hidup subur pada medium yang mengandung garam empedu, tahan terhadap zat warna hijau brilian dan senyawa natrium tetrionat dan natrium deoksikholat. Senyawa-senyawa ini menghambat pertumbuhan kuman koliform sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan di dalam media untuk isolasi kuman *Salmonella* dari tinja. *Salmonella choleraesuis* dipakai sebagai kontrol kuman terhadap preparat fenol. (14)

Seperti anggota lain *Enterobacteriaceae*, sejak tahun 1934 terminologi white-Kauffman telah di terima, *salmonella* memiliki struktur antigen berupa : antigen somatik O (lipopolisakarida), dinding sel stabil panas, tahan terhadap alkohol dan asam. Antibodi yang di bentuk terutama IgM, antigen H (flagel), pada *Salmonella* antigen ini di temukan

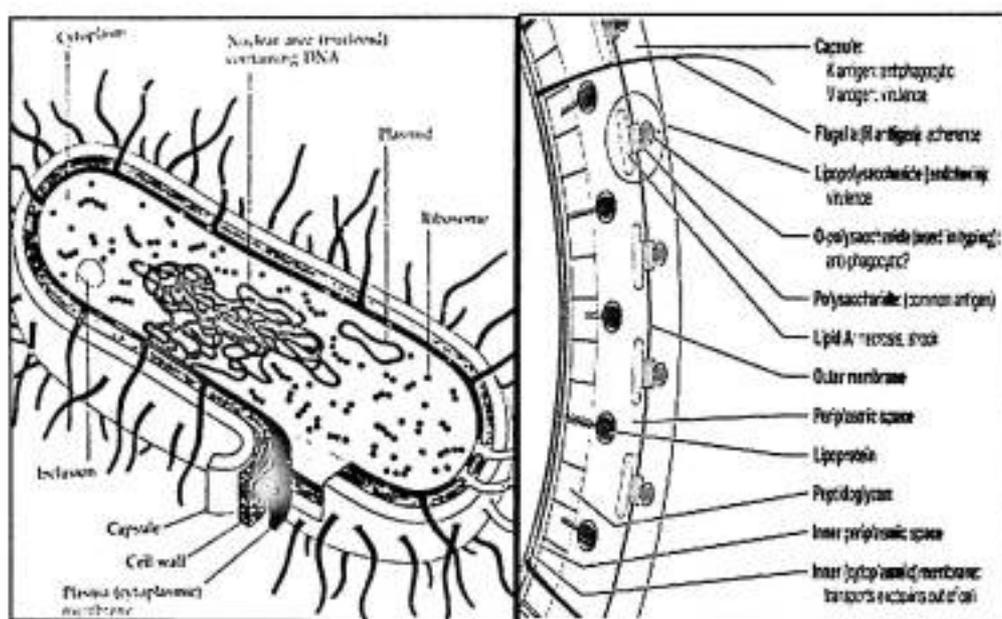
dalam 2 fase : Fase 1. Spesifik, Fase 2. tidak stabil. Antigen H rusak pada pemanasan di atas 60°C , alkohol dan asam. Antibodi yang dibentuk bersifat IgG. Antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat asam, terdapat pada bagian yang paling luar dari badan kuman. Dapat dirusak dengan pemanasan 60°C selama 1 jam, pada penambahan fenol dan asam, kuman yang mempunyai antigen Vi ternyata lebih virulen baik terhadap binatang maupun manusia. Antigen Vi juga menentukan kepekaan kuman terhadap bakteriofag dan dalam laboratorium sangat berguna untuk diagnosa cepat. Kuman *Salmonella typhi* yaitu dengan cara tes Aglutinasi slide dengan Vi antiserum. Antigen Vi jarang ditemukan pada strain *Salmonella paratyphi C*. (15, 16)

Skema klasifikasi didasarkan pada reaksi biokimia atau serologis. Teknologi molekuler telah memungkinkan klasifikasi pada tingkat gen. Hibridisasi DNA telah membuktikan bahwa organisme *Salmonella* sangat terkait secara genetik sebagai satu spesies dengan enam subkelompok. Kebanyakan isolat yang menyebabkan penyakit manusia atau binatang termasuk subkelompok I.

Klasifikasi *Salmonella* terdiri dari :

Kingdom	: Procaryotae
Divisio	: Scotabasteria
Class	: Bacteriae
Ordo	: Eubacteriales

Family : Enterobacteriaceae
 Genus : *Salmonella*
 Spesies : *Salmonella typhi* (15)



Gambar 1. Struktur anatomi famili *enterobacteriaceae* (1)

II.2 Tinjauan Umum Demam Tifoid

Tifoid berasal dari bahasa Yunani yang berarti *smoke*, karena terjadinya penguapan panas tubuh serta gangguan kesadaran disebabkan demam yang tinggi. Bretonneau (1813) melaporkan pertama kali tentang klinis dan anatomis, Cornwallis Hewett (1826) melaporkan perubahan patologisnya, Piere Louis (1829) memberikan nama *typhos* berasal dari bahasa Yunani yang berarti *asap/kabut*, karena umumnya penderita sering disertai gangguan kesadaran dari yang ringan sampai berat. A.Pfeifer berhasil pertama kali menemukan kuman *Salmonella sp*

dari feses penderita, kemudian dalam urine oleh Hueppe dan dalam darah oleh R.d Neuhausss. Pada waktu yang bersamaan Widal (1896) berhasil memperkenalkan diagnosis serologis demam tifoid. (17)

Demam tifoid atau demam enterik adalah sindrom klinis sistemik yang dihasilkan oleh organisme *Salmonella sp* tertentu. Terdapat dua sumber penularan dari bakteri penyebab demam tifoid yaitu pasien dengan demam tifoid dan yang lebih sering karier. Di Negara-negara berkembang, dapat terjadi transmisi water-borne yang merupakan transmisi yang terjadi melalui air yang tercemar bakteri *Salmonella typhi*, dan dapat juga terjadi transmisi food-borne yang merupakan transmisi yang terjadi melalui makanan yang terkontaminasi oleh karier dimana kontaminasi itu disebabkan oleh penanganan makanan yang tidak sehat. Contohnya sumber air untuk minum dan mencuci bahan makanan berasal dari air kali yang sekaligus berfungsi sebagai penampungan limbah atau kakus, bakteri tifoid yang lolos dari proses pemasakan dapat berada dalam minuman dan makanan, pencucian tangan yang kurang bersih setelah buang air, melalui air dan makanan yang tercemar. (13)

Tempat hidup *Salmonella typhi* adalah usus. Seseorang bisa menjadi sakit bila menelan organisme ini. Sebanyak 50% orang dewasa menjadi sakit bila menelan sebanyak 10^7 kuman. Dosis dibawah 10^5 tidak menimbulkan penyakit. (17)

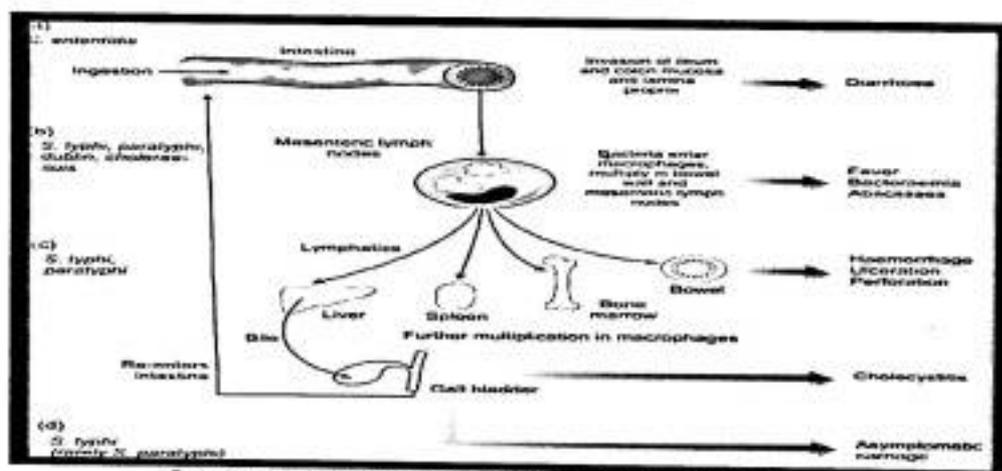
II.2.1 Patogenesis dan Patologi Demam Tifoid

Masuknya kuman *Salmonella thypi* ke dalam tubuh manusia terjadi melalui makanan yang sebagian. Sebagian kuman dimusnahkan dalam lambung, sebagian lolos masuk ke dalam usus dan selanjutnya berkembang biak. Bila respons imunitas humoral mukosa (IgA) usus kurang baik maka kuman akan menembus sel-sel epitel (terutama sel-M) biak dan difagosit terutama oleh makrofag. Kuman dapat hidup dan berkembang biak di dalam makrofag dan selanjutnya dibawa ke *plaque Peyer* ileum distal dan kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika. Selanjutnya melalui duktus torasikus kuman yang terdapat di dalam makrofag ini masuk ke dalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa. Di organ-organ ini kuman meninggalkan sel-sel fagosit dan kemudian berkembang biak di luar sel atau sinusoid dan selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi darah lagi dan mengakibatkan bakteremia yang kedua kalinya dengan disertai tanda-tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik (18).

Di dalam hati, kuman masuk ke dalam kantung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara "*intermittent*" ke dalam lumen usus. Sebagian kuman

dikeluarkan melalui feses dan sebagian masuk lagi kedalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali, berhubung makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang selanjutnya akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, instabilitas vaskular, gangguan mental dan koagulasi (18).

Di dalam *plaque Peyer* makrofag hiperaktif menimbulkan reaksi hiperlasia jaringan (*S.typhi* intra makrofag menginduksi reaksi hipersensitivitas tipe lambat, hiperplasia jaringan dan nekrosis organ). Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar *plaque Peyer* yang sedang mengalami nekrosis dan hiperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuklear di dinding usus.

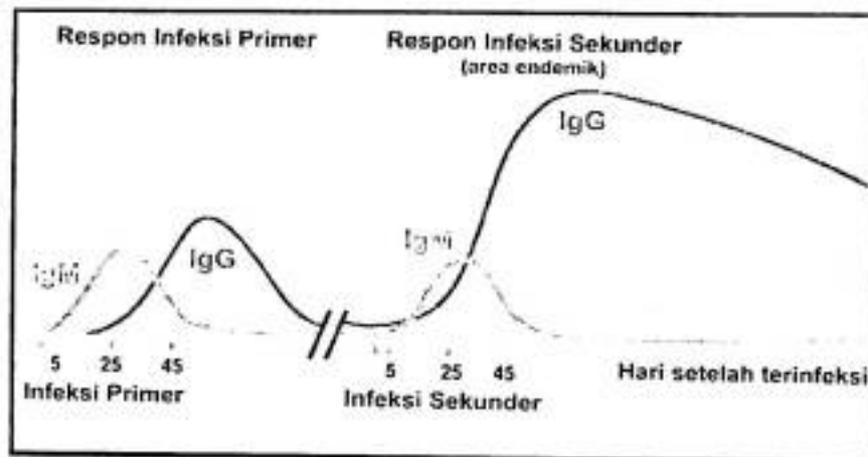


Gambar.2. Patogenesis Infeksi Demam Tifoid (19)

Proses patologi jaringan limfoid dapat berkembang hingga ke lapisan otot, serosa usus dan dapat mengakibatkan perforasi. Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi* dan endotoksinyang yang merangsang sintesis dan pelepasan zat pirogen oleh leukosit pada jaringan yang meradang. Selanjutnya zat pirogen yang beredar di darah mempengaruhi pusat termoregulator di hipotalamus yang mengakibatkan timbulnya gejala demam. Endotoksin akan menempel di reseptor sel endotel kapiler dengan akibat timbulnya komplikasi timbulnya seperti gangguan neuropsikiatrik, kardiovaskuler, pernapasan, dan gangguan organ lainnya. Peran endotoksin dalam patogenesis demam tifoid tidak jelas, hal tersebut terbukti dengan tidak terdeteksinya endotoksin dalam sirkulasi penderita melalui pemeriksaan. Diduga endotoksin dari *Salmonella typhi* menstimulasi makrofag di dalam hati, limpa, folikel limfoma usus halus dan kelenjar limfe mesentrika untuk memproduksi sitokin dan zat-zat lain. Produk dari makrofag inilah yang dapat menimbulkan nekrosis sel, sistem vaskular yang tidak stabil, demam, depresi sumsum tulang, kelainan pada darah dan juga menstimulasi sistem imunologis (17,20).

Pada demam tifoid terjadi respon humoral maupun seluler, baik ditingkat lokal (gastrointestinal) maupun sistematis. Akan tetapi, bagaimana mekanisme ini dalam menimbulkan kekebalan ataupun

eliminasi terhadap *Salmonella typhi* tidak diketahui dengan pasti. Diperkirakan bahwa imunitas selular lebih berperan (17).



Gambar.3. Respon Imunitas pada DT (19)

II.2.2 Manifestasi Klinik

Masa tunas demam tifoid berlangsung 10-14 hari. Gejala-gejala klinis yang timbul sangat bervariasi dari ringan sampai berat dan asimtomatik. Perbedaan ini tidak saja antara berbagai bagian dunia, tetapi juga di daerah yang sama dari waktu ke waktu. Selain itu, gambaran penyakit bervariasi dari penyakit ringan yang tidak terdiagnosis, sampai gambaran penyakit yang khas disertai komplikasi dan kematian. Hal ini menyebabkan bahwa seorang ahli yang sudah sangat berpengalaman pun dapat mengalami kesulitan untuk membuat diagnosis klinis demam tifoid (19,21).

Dalam minggu pertama, keluhan dan gejala serupa dan gejala serupa dengan penyakit infeksi akut pada umumnya, yaitu demam,

nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak enak di perut, batuk, dan epistaksis. Pada pemeriksaan fisik hanya didapatkan peningkatan suhu badan (22).

Dalam minggu kedua gejala-gejala menjadi lebih jelas berupa demam, bradikardia relatif, lidah tifoid (kotor di tengah, tepi dan ujung merah dan tremor), hepatomegali, splenomegali (perbesaran limpa karena demam tifoid harus dibedakan dengan pembesaran karena malari. Pembesaran limpa pada demam tifoid tidak diprogresif dengan konsistensi lebih lunak), metoroismus, gangguan mental berupa somnolen, stupor, koma, delirium, atau psikosis, roseolae jarang ditemukan pada orang Indonesia. Roseolae lebih sering terjadi pada akhir minggu pertama dan awal minggu kedua. Merupakan suatu nodul kecil sedikit menonjol dengan diameter 2-4 mm, berwarna merah pucat serta hilang pada penekanan. Roseola merupakan emboli kuman yang didalamnya mengandung kuman *Salmonella*, dan terutama didapatkan di daerah perut, dada, kadang-kadang di bokong, ataupun bagian fleksor lengan atas (17,20).

II.3 Diagnosis Demam Tifoid

Penegakan diagnosis demam tifoid didasarkan gejala-gejala dan hasil pemeriksaan fisik yang diperkuat oleh pemeriksaan laboratorium penunjang. Sampai saat ini masih dilakukan berbagai penelitian yang menggunakan berbagai metode diagnostik untuk mendapatkan metode terbaik dalam usaha penatalaksanaan penderita demam tifoid secara menyeluruh.

Diagnosis demam tifoid sukar untuk dapat ditegakkan hanya atas dasar beberapa gejala klinis saja, sebab gambaran klinis penyakit ini amat bervariasi dan umumnya tidak khas untuk demam tifoid. Atas dasar ini, peranan laboratorium dalam membantu menegakkan diagnosis demam tifoid amatlah penting. Sarana laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dalam garis besarnya dapat digolongkan dalam tiga kelompok :

- a. Isolasi kuman penyebabnya *Salmonella typhi* dari spesimen klinis seperti darah, sumsum tulang, urine, tinja, dan cairan duodenum.
- b. Imunoassai untuk melacak kenaikan kadar antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi* dan menentukan adanya antigen spesifik dari *Salmonella typhi*.
- c. Uji *Polimerase Chain Reaction* (PCR) untuk melacak DNA spesifik dari *Salmonella typhi*.

II.4 Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid

Pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dibagi dalam empat kelompok, yaitu :

1. Pemeriksaan darah tepi
2. Pemeriksaan bakteriologis dengan isolasi dan biakan kuman
3. Tes serologis, dan
4. Pemeriksaan kuman secara molekuler

II.4.1 Pemeriksaan Darah Tepi

Pada penderita demam tifoid bisa didapatkan anemia, jumlah leukosit normal, bisa menurun atau meningkat, mungkin didapatkan trombositopenia dan hitung jenis biasanya normal atau sedikit bergeser ke kiri, mungkin didapatkan aneosinofilia dan limfositosis relatif, terutama pada fase lanjut. Penelitian oleh beberapa ilmuwan mendapatkan bahwa hitung jumlah dan jenis leukosit serta laju endap darah tidak mempunyai nilai sensitivitas, spesifisitas dan nilai ramal yang cukup tinggi untuk dipakai dalam membedakan antara penderita demam tifoid atau bukan, akan tetapi adanya leukopenia dan limfositosis relatif menjadi dugaan kuat diagnosis demam tifoid.(3)

II.4.2 Identifikasi Kuman Melalui Isolasi / Biakan

Diagnosis pasti demam tifoid dapat ditegakkan bila ditemukan bakteri *S. typhi* dalam biakan dari darah, urine, feses, sumsum tulang, cairan duodenum atau dari rose spots. Berkaitan dengan patogenesis penyakit, maka bakteri akan lebih mudah ditemukan dalam darah dan sumsum tulang pada awal penyakit, sedangkan pada stadium berikutnya di dalam urine dan feses. (2)

Hasil biakan yang positif memastikan demam tifoid akan tetapi hasil negatif tidak menyingkirkan demam tifoid, karena hasilnya tergantung pada beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil biakan meliputi :

1. Jumlah darah yang diambil
2. Perbandingan volume darah dari media empedu; dan
3. Waktu pengambilan darah. (7)

Volume 10-15 mL dianjurkan untuk anak besar, sedangkan pada anak kecil dibutuhkan 2-4 mL. Sedangkan volume sumsum tulang yang dibutuhkan untuk kultur hanya sekitar 0.5-1 mL. Bakteri dalam sumsum tulang ini juga lebih sedikit dipengaruhi oleh antibiotika daripada bakteri dalam darah. Hal ini dapat menjelaskan teori bahwa kultur sumsum tulang lebih tinggi hasil positifnya bila dibandingkan dengan darah walaupun dengan volume sampel yang lebih sedikit dan sudah mendapatkan terapi antibiotika sebelumnya.

Media pembiakan yang direkomendasikan untuk *S.typhi* adalah media empedu (gall) dari sapi dimana dikatakan media Gall ini dapat meningkatkan positivitas hasil karena hanya *S. typhi* dan *S. paratyphi* yang dapat tumbuh pada media tersebut. (4)

Biakan darah terhadap *Salmonella* juga tergantung dari saat pengambilan pada perjalanan penyakit. Beberapa peneliti melaporkan biakan darah positif 40-80% atau 70-90% dari penderita pada minggu pertama sakit dan positif 10-50% pada akhir minggu ketiga. Sensitivitasnya akan menurun pada sampel penderita yang telah mendapatkan antibiotika dan meningkat sesuai dengan volume darah dan rasio darah dengan media kultur yang dipakai. Bakteri dalam feses ditemukan meningkat dari minggu pertama (10-15%) hingga minggu ketiga (75%) dan turun secara perlahan. Biakan urine positif setelah minggu pertama. Biakan sumsum tulang merupakan metode baku emas karena mempunyai sensitivitas paling tinggi dengan hasil positif didapat pada 80-95% kasus dan sering tetap positif selama perjalanan penyakit dan menghilang pada fase penyembuhan. Metode ini terutama bermanfaat untuk penderita yang sudah pernah mendapatkan terapi atau dengan kultur darah negatif sebelumnya. Prosedur terakhir ini sangat invasif sehingga tidak dipakai dalam praktek sehari-hari. Pada keadaan tertentu dapat dilakukan kultur pada spesimen empedu yang diambil

dari duodenum dan memberikan hasil yang cukup baik akan tetapi tidak digunakan secara luas karena adanya risiko aspirasi terutama pada anak. Salah satu penelitian pada anak menunjukkan bahwa sensitivitas kombinasi kultur darah dan duodenum hampir sama dengan kultur sumsum tulang. (9)

Kegagalan dalam isolasi/biakan dapat disebabkan oleh keterbatasan media yang digunakan, adanya penggunaan antibiotika, jumlah bakteri yang sangat minimal dalam darah, volume spesimen yang tidak mencukupi, dan waktu pengambilan spesimen yang tidak tepat. (4)

Walaupun spesifisitasnya tinggi, pemeriksaan kultur mempunyai sensitivitas yang rendah dan adanya kendala berupa lamanya waktu yang dibutuhkan (5-7 hari) serta peralatan yang lebih canggih untuk identifikasi bakteri sehingga tidak praktis dan tidak tepat untuk dipakai sebagai metode diagnosis baku dalam pelayanan penderita.(4)

II.4.3 Tes Serologi

Tes serologis digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dengan mendeteksi antibodi spesifik terhadap komponen antigen *S. typhi* maupun mendeteksi antigen itu sendiri. Volume darah yang diperlukan untuk uji serologis ini adalah

1-3 mL yang diinokulasikan ke dalam tabung tanpa antikoagulan (23).

Metode pemeriksaan serologis imunologis ini dikatakan mempunyai nilai penting dalam proses diagnostik demam tifoid. Akan tetapi masih didapatkan adanya variasi yang luas dalam sensitivitas dan spesifisitas pada deteksi antigen spesifik *S. typhi* oleh karena tergantung pada jenis antigen, jenis spesimen yang diperiksa, teknik yang dipakai untuk melacak antigen tersebut, jenis antibodi yang digunakan dalam uji (poliklonal atau monoklonal) dan waktu pengambilan spesimen (stadium dini atau lanjut dalam perjalanan penyakit) (23).

Uji Widal merupakan suatu metode serologi baku dan rutin digunakan sejak tahun 1896. Prinsip uji Widal adalah memeriksa reaksi antara antibodi aglutinin dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagela (H) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi. Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum (9).

Teknik aglutinasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan uji hapusan (slide test) atau uji tabung (tube test). Uji hapusan dapat dilakukan secara cepat dan digunakan dalam prosedur penapisan

sedangkan uji tabung membutuhkan teknik yang lebih rumit tetapi dapat digunakan untuk konfirmasi hasil dari uji hapusan (9).

Sampai saat ini tidak ada kepustakaan yang menyebutkan nilai titer widal yang absolute untuk memastikan diagnosa demam tifoid. Dari beberapa laporan yang ada tiap rumah sakit mempunyai nilai standar widal tersendiri, sehingga tes widal tersebut diharapkan mempunyai nilai diagnostik untuk membantu menegakkan diagnosa. Namun demikian perlu diketahui keterbatasan uji widal yang dilakukan secara tunggal di daerah endemis, yaitu uji widal mempunyai variasi yang luas, kesulitan menetapkan kadar agglutinin pada orang sehat, di daerah endemis paparan oleh *Salmonella typhi* terjadi berulang-ulang, reaksi silang dengan *Salmonella lain*, interpretasi hasil uji widal sulit ditetapkan. Nilai cutt off (batas nilai negatif) yang dipilih di suatu komunitas tertentu bergantung pada insiden demam tifoid dan tingkat vaksinasi di tempat tersebut. (17)

Antigen yang digunakan pada uji Widal adalah suspensi *Salmonella* yang sudah dimatikan dan di olah di laboratorium. Maksud uji Widal adalah untuk menentukan adanya agglutinin dalam serum pasien yang disangka menderita demam tifoid. Akibat infeksi oleh *Salmonella typhi*, pasien membuat antibody (aglutinin) yaitu : (24)

- a. Aglutinin O, yang dibuat karena rangsangan antigen O (berasal dari tubuh kuman).
- b. Aglutinin H, karena rangsangan antigen H (berasal dari flagella kuman).
- c. Aglutinin Vi, karena rangsangan antigen Vi (berasal dari simpai kuman).

Dari ketiga aglutinin tersebut hanya agglutinin O dan H yang ditentukan titernya untuk diagnosis. Makin tinggi titernya makin besar kemungkinan pasien menderita demam tifoid. Pada infeksi yang aktif, titer uji widal akan meningkat pada pemeriksaan ulang yang dilakukan selang paling sedikit 5 hari. (24)

Diagnosis demam tifoid / paratifoid dinyatakan bila titer O adalah 1/160 bahkan mungkin sekali nilai batas tersebut harus lebih tinggi mengingat penyakit demam tifoid ini endemis di Indonesia. Titer antibodi O meningkat setelah akhir minggu. Melihat hal-hal di atas maka permintaan tes widal ini pada penderita yang baru menderita demam beberapa hari kurang tepat. Bila hasil reaktif (positif) maka kemungkinan besar bukan disebabkan oleh penyakit saat ini tetapi dari kontrak sebelumnya. (17)

Pemeriksaan titer H tunggal mempunyai sensitifitas yang serupa tetapi spesifisitasnya lebih rendah. Aglutinin H sering kali meningkat secara tidak khas karena imunisasi atau infeksi sebelumnya dengan

bakteri lain. Di daerah endemis demam tifoid, pemeriksaan uji widal secara tunggal tidak mempunyai nilai signifikan oleh karena kesulitan dalam menentukan titer pada orang sehat yang tinggal di daerah tersebut. Oleh karena itu, penggunaan uji widal sebaiknya digunakan di daerah dimana tidak didapatkan fasilitas pemeriksaan biakan empedu. (17)

Dari kedua antigen yang digunakan pada pemeriksaan widal yaitu antigen O dan H, yang paling spesifik yaitu antigen O karena dapat menunjukkan kenaikan titer yang progresif sehingga diperlukan untuk membuat diagnosis. Dimana, titer yang dihasilkan oleh antigen O mencapai puncaknya bersamaan dengan penyembuhan penderita. Sedangkan untuk antigen H, memiliki tingkat spesifik yang lebih rendah dari antigen O karena titer yang dihasilkan pada antigen H dapat tetap meningkat setelah mendapat imunisasi atau penderita telah lama sembuh, hal ini disebabkan adanya reaktifitas silang yang luas sehingga sulit untuk diinterpretasikan. Dengan alasan ini maka pemeriksaan titer yang paling spesifik adalah pada antigen O. (17)

Interpretasi tes widal untuk menunjang diagnosis harus dilakukan dengan cermat karena dipengaruhi banyak faktor antara lain :

Faktor individu ; keadaan umum (gizi). Gizi buruk dapat menghambat pembentukan antibodi dalam tubuh. Waktu

pengambilan sampel selama sakit ; Antibodi O dan H terbentuk pada minggu pertama atau awal minggu ke 2. antigen O mencapai puncak pada minggu ke 3-5 sedangkan antibodi H pada minggu ke 4-6. pengobatan dini dengan antibiotik. Penyakit yang menghambat pembentukan antibodi ; misalnya karsinoma. Obat immunosupresif atau kortokosteroid. Infeksi subklinis; keadaan ini menyebabkan tes widal positif walaupun titernya rendah. Pada individu ini tidak menunjukkan gejala klinis. Reaksi anamnestic ; keadaan yang menyebabkan peningkatan titer widal karena infeksi oleh kuman lain. Faktor teknis : Aglutinasi silang ; Karena beberapa spesies salmonella dapat mengandung antigen O dan H yang sama, maka reaksi aglutinasi pada satu spesies dapat juga menimbulkan reaksi aglutinasi pada spesies lain. Oleh karena itu spesies salmonella penyebab infeksi tidak dapat ditentukan dengan uji widal. Konsentrasi suspensi antigen ; Konsentrasi suspensi antigen yang digunakan pada uji widal akan mempengaruhi hasilnya. Strain salmonella yang digunakan untuk suspensi antigen ; Ada peneliti yang berpendapat bahwa daya aglutinasi suspensi antigen dari strain salmonella setempat lebih baik dari pada suspensi antigen dari strain lain. Faktor geografi : pada daerah endemis titer antibodi O dan H dapat lebih tinggi dibanding daerah non endemis.

Akibatnya hasil tes dapat bernilai positif palsu atau negatif palsu.

(24)

Hasil positif palsu dapat disebabkan oleh faktor-faktor, antara lain pernah mendapatkan vaksinasi, reaksi silang dengan spesies lain (*Enterobacteriaceae sp*), reaksi anamnestic (pernah sakit) dan adanya faktor rheumatoid (RF). Hasil negatif palsu dapat disebabkan oleh karena antara lain penderita sudah mendapatkan terapi antibiotik, waktu pengambilan darah kurang dari 1 minggu sakit, keadaan umum pasien yang buruk dan adanya penyakit imunologik lain.

Pada diagnosis demam tifoid dengan menggunakan uji widal, sebaiknya dilakukan pada minggu kedua atau minggu ketiga karena apabila dilakukan pemeriksaan pada minggu pertama maka dapat memberikan hasil yang negatif palsu. Pada minggu pertama, antibodi yang dihasilkan oleh agen penyebab penyakit belum terbentuk sehingga antibodi tersebut belum dapat terdeteksi.

Tes TUBEX® merupakan tes aglutinasi kompetitif semi kuantitatif yang sederhana dan cepat (kurang lebih 2 menit) dengan menggunakan partikel yang berwarna untuk meningkatkan sensitivitas. Spesifisitas ditingkatkan dengan menggunakan antigen O9 yang benar-benar spesifik yang hanya ditemukan pada *Salmonella* serogrup D. Tes ini sangat akurat dalam diagnosis

infeksi akut karena hanya mendeteksi adanya antibodi IgM dan tidak mendeteksi antibodi IgG dalam waktu beberapa menit (25).

Walaupun belum banyak penelitian yang menggunakan tes TUBEX® ini, beberapa penelitian pendahuluan menyimpulkan bahwa tes ini mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik daripada uji Widal. Penelitian oleh Lim dkk (2002) mendapatkan hasil sensitivitas 100% dan spesifisitas 100%. Penelitian lain mendapatkan sensitivitas sebesar 78% dan spesifisitas sebesar 89%. Tes ini dapat menjadi pemeriksaan yang ideal, dapat digunakan untuk pemeriksaan secara rutin karena cepat, mudah dan sederhana, terutama di negara berkembang (25).

Uji serologi EIA (*Enzyme Immunoassay*) didasarkan pada metode untuk melacak antibodi spesifik IgM dan IgG terhadap antigen OMP 50 kD *S. typhi*. Deteksi terhadap IgM menunjukkan fase awal infeksi pada demam tifoid akut sedangkan deteksi terhadap IgM dan IgG menunjukkan demam tifoid pada fase pertengahan infeksi. Pada daerah endemis dimana didapatkan tingkat transmisi demam tifoid yang tinggi akan terjadi peningkatan deteksi IgG spesifik akan tetapi tidak dapat membedakan antara kasus akut, konvalesen dan reinfeksi. Pada metode Typhidot-M® yang merupakan modifikasi dari metode Typhidot® telah dilakukan inaktivasi dari IgG total sehingga menghilangkan pengikatan

kompetitif dan memungkinkan pengikatan antigen terhadap Ig M spesifik (25).

Penelitian oleh Purwaningsih dkk (2001) terhadap 207 kasus demam tifoid bahwa spesifisitas uji ini sebesar 76.74% dengan sensitivitas sebesar 93.16%, nilai prediksi positif sebesar 85.06% dan nilai prediksi negatif sebesar 91.66%. Sedangkan penelitian oleh Gopalakhrisnan dkk (2002) pada 144 kasus demam tifoid mendapatkan sensitivitas uji ini sebesar 98%, spesifisitas sebesar 76.6% dan efisiensi uji sebesar 84%. Penelitian lain mendapatkan sensitivitas sebesar 79% dan spesifisitas sebesar 89% (18).

Uji dot EIA tidak mengadakan reaksi silang dengan salmonellosis non-tifoid bila dibandingkan dengan Widal. Dengan demikian bila dibandingkan dengan uji Widal, sensitivitas uji dot EIA lebih tinggi oleh karena kultur positif yang bermakna tidak selalu diikuti dengan uji Widal positif. Dikatakan bahwa Typhidot-M® ini dapat menggantikan uji Widal bila digunakan bersama dengan kultur untuk mendapatkan diagnosis demam tifoid akut yang cepat dan akurat (25).

Beberapa keuntungan metode ini adalah memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan kecil kemungkinan untuk terjadinya reaksi silang dengan penyakit demam lain, murah (karena menggunakan antigen dan membran nitroselulosa sedikit),

tidak menggunakan alat yang khusus sehingga dapat digunakan secara luas di tempat yang hanya mempunyai fasilitas kesehatan sederhana dan belum tersedia sarana biakan kuman. Keuntungan lain adalah bahwa antigen pada membran lempengan nitroselulosa yang belum ditandai dan diblok dapat tetap stabil selama 6 bulan bila disimpan pada suhu 4°C dan bila hasil didapatkan dalam waktu 3 jam setelah penerimaan serum pasien (25).

Uji *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* dipakai untuk melacak antibodi IgG, IgM dan IgA terhadap antigen LPS O9, antibodi IgG terhadap antigen flagella d (Hd) dan antibodi terhadap antigen Vi *S. typhi*. Uji ELISA yang sering dipakai untuk mendeteksi adanya antigen *S. typhi* dalam spesimen klinis adalah double antibody sandwich ELISA. Chaicumpa dkk (1992) mendapatkan sensitivitas uji ini sebesar 95% pada sampel darah, 73% pada sampel feses dan 40% pada sampel sumsum tulang (25).

Pada penderita yang didapatkan *S. typhi* pada darahnya, uji ELISA pada sampel urine didapatkan sensitivitas 65% pada satu kali pemeriksaan dan 95% pada pemeriksaan serial serta spesifisitas 100%. Penelitian oleh Fadeel dkk (2004) terhadap sampel urine penderita demam tifoid mendapatkan sensitivitas uji ini sebesar 100% pada deteksi antigen Vi serta masing-masing 44% pada deteksi antigen O dan antigen Hd. Pemeriksaan terhadap

antigen *Vi* urine ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut akan tetapi tampaknya cukup menjanjikan, terutama bila dilakukan pada minggu pertama sesudah panas timbul, namun juga perlu diperhitungkan adanya nilai positif juga pada kasus dengan *Brucellosis* (25).

Uji serologis dengan pemeriksaan *dipstick* dikembangkan di Belanda dimana dapat mendeteksi antibodi IgM spesifik terhadap antigen LPS *S. typhi* dengan menggunakan membran nitroselulosa yang mengandung antigen *S. 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 (25).

Penelitian oleh Gasem dkk (2002) mendapatkan sensitivitas uji ini sebesar 69.8% bila dibandingkan dengan kultur sumsum tulang dan 86.5% bila dibandingkan dengan kultur darah dengan spesifisitas sebesar 88.9% dan nilai prediksi positif sebesar 94.6%. Penelitian lain oleh Ismail dkk (2002) terhadap 30 penderita demam tifoid mendapatkan sensitivitas uji ini sebesar 90% dan spesifisitas sebesar 96%. Penelitian oleh Hatta dkk (2002) mendapatkan rerata sensitivitas sebesar 65.3% yang makin meningkat pada pemeriksaan serial yang menunjukkan adanya serokonversi pada

penderita demam tifoid. Uji ini terbukti mudah dilakukan, hasilnya cepat dan dapat diandalkan dan mungkin lebih besar manfaatnya pada penderita yang menunjukkan gambaran klinis tifoid dengan hasil kultur negatif atau di tempat dimana penggunaan antibiotika tinggi dan tidak tersedia perangkat pemeriksaan kultur secara luas (25).

Royal Tropical Institute di Amsterdam telah mengembangkan pemeriksaan lateks aglutinasi yang disebut *Typhoid F Dri-Dot* untuk skrining cepat demam tifoid. Pemeriksaan tersebut ditujukan bagi deteksi antibodi-antibodi yang spesifik terhadap *S. Typhi* dalam serum manusia (26).

Typhoid F Dri-Dot adalah pemeriksaan sederhana untuk mendeteksi antibodi yang spesifik terhadap *S. Typhi* dalam sera manusia. Pemeriksaan tersebut tidak memerlukan perlengkapan khusus dan hasilnya diamati dalam 30 detik. Bahan-bahannya sangat stabil dan dapat disimpan dalam suhu ruangan. Pemeriksaan *Typhoid F Dri-Dot* memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi bagi para pasien demam tifoid yang terkonfirmasi dengan kultur darah (26).

Typhoid F Dri-Dot mengandung partikel-partikel lateks berwarna yang diaktifasi dengan preparat antigen yang diambil dari *S. Typhi* yang dikeringkan pada kartu agglutinasi. Pemeriksaan

tersebut didasarkan pada pengikatan antibodi-antibodi spesifik, yang ada dalam sampel serum, pada antigen yang menyebabkan agglutinasi granular yang bagus yang cenderung berada pada tepian droplet (hasil positif). Ketika tidak dijumpai antibodi spesifik, maka suspensi berwarna biru akan tetap homogen (hasil negatif) (26).

Penggunaan pemeriksaan lateks lebih tepat dibanding tes Widal. Tes Widal memerlukan persiapan hati-hati sampel yang dilarutkan berseri dua kali lipat dan dibaca setelah periode inkubasi sekurang-kurangnya 4 jam. Sebaliknya, pemeriksaan lateks dilakukan dengan menggunakan 10 μ L sampel serum murni dan dibaca dalam 60 detik. Perbedaan-perbedaan tersebut penting saat pemilihan tes untuk penggunaan di berbagai fasilitas yang miskin akan sumber daya yang tidak memiliki laboratorium. Lebih jauh lagi, kartu agglutinasi secara individual dikemas untuk penggunaan tunggal dan reagenya distabilkan; kartu yang terbungkus dapat disimpan selama lebih dari 2 tahun pada suhu 55^oC tanpa kehilangan aktifitasnya dan penggunaan kartu tidak mempengaruhi tampilan dan rentang waktu kartu-kartu yang tersisa. Selain pemeriksaan tersebut tidak memerlukan tempat yang dingin untuk transportasi dan penyimpanan, pemeriksaan tersebut dapat dilakukan tanpa latihan oleh seorang yang relatif tidak terlatih, dan

tidak diperlukan peralatan listrik dan yang mahal. Keuntungan-keuntungan tersebut membuat pemeriksaan lateks tersebut ideal sebagai suatu poin perawatan tes diagnostik demam tifoid (27).

II.4.4 Pemeriksaan Kuman Secara Molekuler

Metode lain untuk identifikasi bakteri *S. typhi* yang akurat adalah mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagellin bakteri *S. typhi* dalam darah dengan teknik hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA dengan cara *polymerase chain reaction* (PCR) melalui identifikasi antigen Vi yang spesifik untuk *S. typhi*.

Penelitian oleh Haque dkk (1999) mendapatkan spesifisitas PCR sebesar 100% dengan sensitivitas yang 10 kali lebih baik daripada penelitian sebelumnya dimana mampu mendeteksi 1-5 bakteri/mL darah. Penelitian lain oleh Massi dkk (2003) mendapatkan sensitivitas sebesar 63% bila dibandingkan dengan kultur darah (13.7%) dan uji Widal (35.6%).

Kendala yang sering dihadapi pada penggunaan metode PCR ini meliputi risiko kontaminasi yang menyebabkan hasil positif palsu yang terjadi bila prosedur teknis tidak dilakukan secara cermat, adanya bahan-bahan dalam spesimen yang bisa menghambat proses PCR (hemoglobin dan heparin dalam spesimen darah serta bilirubin dan garam empedu dalam spesimen

feses), biaya yang cukup tinggi dan teknis yang relatif rumit. Usaha untuk melacak DNA dari spesimen klinis masih belum memberikan hasil yang memuaskan sehingga saat ini penggunaannya masih terbatas dalam laboratorium penelitian.

II.5 Respon Imunologi

Berbagai mekanisme pertahanan tubuh sangat penting untuk mencegah kolonisasi dan invasi kuman *Salmonella sp.* Respon yang ditunjukkan oleh tubuh dapat berupa respon imunologi non spesifik dan respon imunologi spesifik (humoral dan seluler). Interaksi imunologi non spesifik dan imunologi spesifik pada dasarnya bertujuan meningkatkan respon imun untuk eliminasi respon antigen. (28)

Respon imunologi non spesifik (28, 29, 30)

Pada orang sehat banyak kuman dalam lambung dimusnahkan (pH < 3,5). Dengan demikian kuman yang mencapai usus halus sedikit. Motilitas usus halus juga melindungi usus. Demikian pula dengan bakteri anaerob di dalam usus menimbulkan suasana asam yang toksik terhadap *Salmonella sp.*, sehingga menghambat pertumbuhan kuman. Hyperplasia sistem retikuloendotelia menyebabkan peningkatan aktivitas fagositosis terhadap kuman. Terjadinya invasi kuman dalam mukosa usus menyebabkan sel epitel melepaskan sitokin misalnya interleukin 1 (IL), IL 6 dan *tumor necrosis factor*. Reaksi inflamasi akibat produksi berlebihan

menyebabkan timbulnya gejala demam, diare, aktivitas leukosit berlebihan. Akibat interaksi endotel dengan IL 1 dan IL 6 menyebabkan pula efek pembekuan serta fibrinolisis yang menimbulkan koagulasi sistemik dengan konsekuensi klinis berupa trombosis depresi platelet dengan akibat perdarahan yang sulit diatasi.

Respon Immunologi spesifik

Respon imunologi humoral diperankan oleh sel limfosit B yang mensintesa imunoglobulin. Infeksi primer akan merangsang terbentuknya imunoglobulin M (IgM) karena IgM lebih dahulu terbentuk saat tubuh terpapar dengan benda asing dan mulai meningkat pada akhir minggu pertama kemudian disusul dengan terbentuknya IgG yang menunjukkan respon serologi sekunder yang meningkat dan bertahan lebih lama. IgM berfungsi untuk netralisasi kuman, dapat mencegah gerakan mikroorganisme patogen, memudahkan fagositosis dan merupakan aglutinator poten antigen. Sedangkan IgG berfungsi meningkatkan fagositosis dan aktivasi komplemen.

Respon imunologi seluler melibatkan limfosit T. Antigen menstimulasi limfosit T membentuk limfokin yang mengaktifkan makrofag untuk berkumpul ditempat invasi kuman sehingga aktifitas fagosit makin besar.

II.6 Tinjauan Umum Darah

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, berada dalam konsistensi cair, beredar dalam suatu sistem yang tertutup yang dinamakan pembuluh darah. Dan berfungsi mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh dan membunuh kuman-kuman penyakit (bakteri maupun virus) yang masuk kedalam tubuh, serta mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme (31).

Darah terdiri dari beberapa jenis korpuskuli yang membentuk 45 % bagian dari darah 55 % yang lain adalah plasma darah, cairan kekuning-kuningan yang membentuk medium cairan darah (31).

II.7 Plasma dan Serum

Sejumlah volume darah dimasukkan kedalam sebuah wadah (tabung) lalu dibiarkan, maka selang beberapa jam kemudian darah tersebut membeku dan selanjutnya mengalami retraksi dengan akibatnya terperasnya cairan dari dalam bekuan.

Cairan yang terperas dari bekuan tersebut yang berwarna kuning muda yang disebut serum (32)

Pengumpalan unsur figuratif dalam tabung dapat dicegah dengan senyawa tertentu, yang secara umum dinamai antikoagulan. Dalam hal ini, untuk memisahkan unsur figuratif dari bagian larutan dapat dilakukan dengan 2 cara. Cara pertama ialah dengan membiarkan terjadinya

pengendapan berbagai macam sel yang membentuk unsur figuratif semata-mata dengan bantuan gais berat. Cara ini memerlukan waktu yang lain dan pemisahan yang diperoleh tidak sempurna. Pemisahan akan di peroleh jauh lebih-lebih cepat dan sempurna bila tabung yang berisi darah tersebut langsung dipusing saja dengan bantuan alat pemusing. Hasilnya, juga akan diperoleh 2 bagian besar, yaitu endapan sel-sel yang membentuk unsur figuratif, serta cairan jernih yang juga berwarna kuning jernih yang dinamai sebagai plasma.

Serum darah atau plasma pada dasarnya adalah larutan air yang mengandung :

1. Air : 91,0 %
2. Protein : 8,0 % (albumin, globulin, protrombin dan fibrinogen)
3. Mineral : 0,9 % (Natrium klorida, Natrium bikarbonat, garam dan kalium, fosfor, magnesium, dan besi)
4. Gas- oksigen dan karbondioksida
5. Hormon
6. Enzim dan
7. Antigen
8. Sisanya diisi oleh sejumlah bahan organik, yaitu : glukosa, lemak, urea, asam urat, kreatinin, kolesterol dan asam amino (31) .

Antara plasma dan serum, walaupun keduanya merupakan cairan darah yang bebas dari sel dan sama-sama berwarna kuning jernih,

terdapat perbedaan yang jelas. Oleh karena plasma diperoleh dengan mencegah proses penggumpalan darah dan serum didapat dengan membiarkan proses tersebut, plasma mengandung senyawa yang seharusnya dapat menggumpalkan darah. Senyawa tersebut mestinya sudah tidak ada lagi dalam serum. Senyawa tersebut adalah fibrinogen, suatu protein darah yang berubah menjadi taring dari serat-serat fibrin pada peristiwa penggumpalan. Dengan demikian, di dalam serum tidak ada lagi fibrinogen dan menggumpal bersama unsur figuratif yang berupa sel. Sebaliknya di dalam plasma masih terdapat fibrinogen, yang tidak dapat berubah menjadi fibrin karena adanya antikoagulan yang ditambahkan.

Tabel 1. Pemisahan cairan darah menjadi plasma atau serum .

Ciri	Plasma	Serum
Warna	Agak kuning dan jernih	Agak kuning dan jernih
Kekentalan	> kental dari air	> kental dari air
Antikoagulan	Perlu	Tidak perlu
Fibrinogen	Masih ada	Tidak ada lagi
Fibrin	Tidak ada	Ada dalam gumpalan
Pemisahan sel	Pemusingan	Penggunaan spontan

Sel terkumpul dalam	Endapan (sedimen)	Gumpalan
Suspense kembali sel	Dapat	Tidak dapat

Sumber : Sadikin. *Biokimia Darah*. Penerbit Widya Medika. Jakarta. 2001

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *cross sectional* untuk uji diagnostik terhadap spesimen serum dan plasma pada uji widal metode slide dari penderita demam tifoid.

III.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di RSUD Labuang Baji Makassar mulai dari bulan Mei 2009 sampai Juli 2009.

III.3 Populasi Penelitian

Semua penderita demam tifoid yang berkunjung dan dirawat di RSUD Labuang Baji Makassar untuk melakukan pemeriksaan Widal dan telah memenuhi kriteria inklusi.

III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

a. Kriteria Inklusi

- Bersedia ikut serta dalam penelitian ini
- Lama demam lebih dari 1 minggu dengan suhu badan lebih dari 37°C.

- Penderita berumur 3 tahun keatas dengan jenis kelamin laki-laki dan perempuan

b. Kriteria Eksklusi

- Menderita penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD)
- Telah Mendapatkan vaksinasi

III.5 Perkiraan Jumlah Sampel

Besar sampel yang digunakan ditentukan dengan menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Snedecor dan Cochran adalah sebagai berikut : (33)

$$n = \frac{Zx^2 PQ}{d^2}$$

keterangan :

Zx = Derivate baku normal untuk tingkat kemaknaan, x (ditetapkan). Nilai x ini dipilih sesuai dengan indeks kesalahan (IK) yang diinginkan. Bila IK 95%, maka berarti $x=0,05$ sehingga $Zx = 1,96$.

P = Proporsi penyakit atau keadaan yang akan dicari, P (dari pustaka) atau perkiraan proporsi (prevalensi) efek pada populasi dari penelitian sebelumnya.

Q = $1-P$

- d = Tingkat ketepatan absolute yang dikehendaki d (ditetapkan)
(0,1)
- n = Besar sampel

Dari rumus diatas maka diperoleh jumlah sampelyang akan diteliti adalah sebagai berikut :

$$\text{Nilai P : } \frac{\text{Jumlah insiden terkecil}}{\text{Jumlah insiden terbesar}} = \frac{76 \text{ orang}}{83 \text{ orang}} = 0,92$$

(Data RSU Labuang Baji Makassar)

$$\text{Nilai Q : } 1 - 0,92 = 0,08$$

$$n = \frac{1,96^2 (0,92) (0,08)}{0,1^2} = \frac{3,84 \times 0,07}{0,01}$$

$$n = 26,8 = 27$$

sehingga jumlah sampel yang akan diteliti adalah 27 sampel.

III.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah slide, rotator, sentrifus, mikropipet.

Bahan-bahan yang digunakan adalah serum, plasma, Antigen O dan Antigen H, antikaogulan (EDTA 10%)

III.7 Prosedur Kerja

a. Pra Analitik

- Pengumpulan sampel (34)

Darah vena

- a. Daerah vena dibersihkan dengan alkohol 70% dan biarkan sampai kering.
- b. Jika memakai vena dalam fossa cubiti, tourniquet dipasangkanlah pada lengan atas dan meminta pasien mengepal dan membuka tangannya berkali-kali agar vena jelas terlihat.
- c. Kulit ditegangkanlah di atas vena dengan menggunakan jari-jari tangan kiri agar vena tidak dapat bergerak.
- d. Kulit ditusuk dengan menggunakan jarum dan semprit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena.
- e. Pembendungan dilepaskan atau diregangkan kemudian secara perlahan-lahan ditarik penghisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
- f. Pembendungan dilepaskan jika masih terpasang.
- g. Kapas diletakkan di atas jarum kemudian semprit dan jarum dicabut.
- h. Jarum dilepaskan dari semprit kemudian darah dialirkan (jangan disemprotkan) ke dalam wadah atau tabung yang tersedia melalui dinding tabung.

Cara memperoleh serum dan plasma

- 1) Untuk memperoleh serum: Darah yang diperoleh didiamkan selama beberapa menit lalu disentrifus selama 5 sampai 10

menit dengan kecepatan 3000 rpm kemudian serum dipisahkan dari sel-sel darah.

2) Untuk memperoleh plasma : Darah dicampur dengan antikoagulan misalnya EDTA 10% lalu didiamkan beberapa menit kemudian plasma dipisahkan dari sel-sel darah. (34)

- Prinsip Pemeriksaan (35)

Mendeteksi adanya reaksi antara antibodi aglutinin dalam serum dan plasma penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagela (H) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi. Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum dan plasma.

b. Analitik

Cara Kerja (Metode Slide) (35)

- a) Disiapkan 2 slide kemudian diberi tanda O pada slide 1 dan slide 2 diberi tanda H.
- b) Sampel diteteskan pada tiap-tiap slide sebanyak 80 μ l.
- c) Pada slide O ditambahkan 1 tetes suspensi antigen O dan pada slide H ditambahkan 1 tetes antigen H

- d) Sampel dan suspensi antigen dicampur dengan menggunakan aplikator bersih pada masing-masing slide, digoyang pelan-pelan dengan menggunakan rotator selama tiga menit.
- e) Adanya aglutinasi diamati dengan menggunakan kasat mata.
- f) Baik slide O maupun slide H jika terjadi aglutinasi lebih atau sama dengan 50% tes dilanjutkan untuk menentukan titer antibodi dengan menggunakan metode slide.

Metode slide untuk menentukan titer antibodi :

- a) Seri slide O dan slide H dibuat pada mikroplate.
- b) Pada seri slide O dan slide H ditetaskan sampel secara berturut-turut 80 μ l; 40 μ l; 20 μ l; 10 μ l; dan 5 μ l, sehingga didapatkan pengenceran secara berturut-turut : 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 dan 1:320.
- c) Pada slide O ditambahkan dengan 1 tetes antigen O dan pada slide H ditambahkan dengan 1 tetes antigen H.
- d) Sampel dan suspensi antigen dicampur dengan menggunakan aplikator bersih pada masing-masing slide, selanjutnya slide digoyang pelan-pelan dengan menggunakan rotator selama 3 menit.
- e) Adanya aglutinasi diamati dengan menggunakan kasat mata pada masing-masing slide dengan syarat terjadi lebih atau sama dengan 50% aglutinasi.

c. Pasca Analitik

Pembacaan hasil : Negatif jika tidak terjadi reaksi aglutinasi

Interpretasi : Dinyatakan menderita demam tifoid jika terjadi reaksi aglutinasi yang dilihat pada pengenceran tertinggi. Dengan nilai rujukan $\geq 1:160$ pada anti O dan anti H.

III.8 Cara pengolahan data dan Analisa data

Teknik yang digunakan dalam menganalisis data adalah diolah dengan menggunakan SPSS Versi 16.0 dan dengan menggunakan uji statistik parametrik (uji-t) dengan rumus sebagai berikut :

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

dimana :

\bar{X}_1 : Rata – rata data pada sampel 1

\bar{X}_2 : Rata – rata data pada sampel 2

n_1 : Jumlah anggota sampel 1

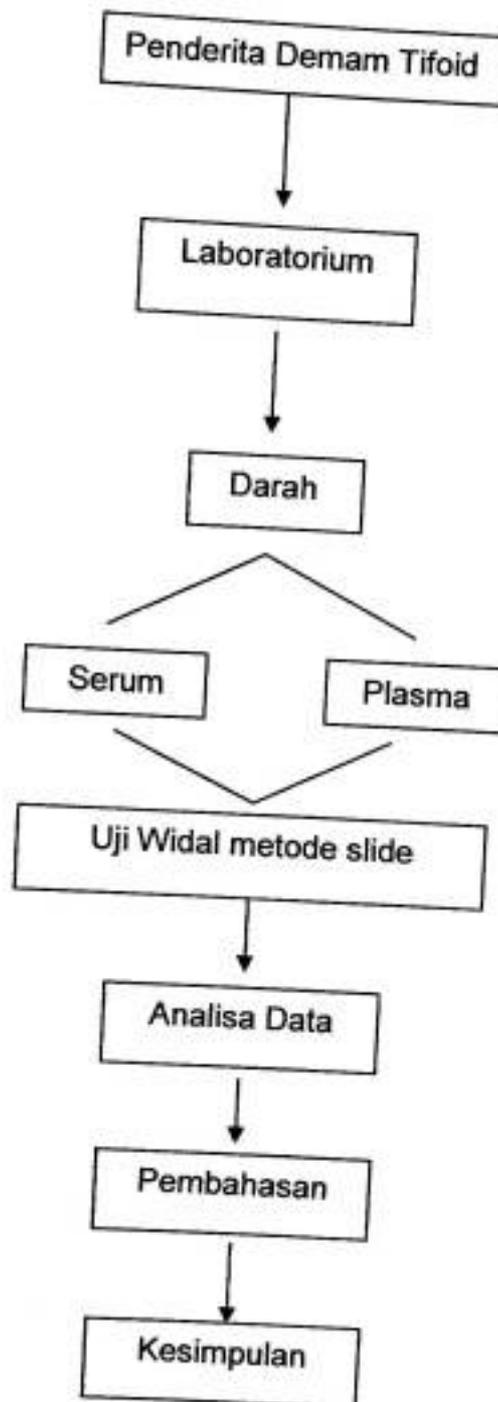
n_2 : Jumlah anggota sampel 2

S : Simpangan baku. (36)

III.9 Defenisi Operasional

- Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh kuman batang gram negative *Salmonella typhi* maupun *Salmonella paratyphi* A,B,C.
- Uji Widal merupakan suatu metode serologi baku dan rutin digunakan sejak tahun 1896 untuk memeriksa reaksi antara antibodi agglutinin dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen somatik (O) dan flagella (H) yang ditambahkan dalam jumlah yang sama sehingga terjadi aglutinasi.
- Serum merupakan komponen darah yang tidak mengandung fibrin yang diperoleh setelah fibrinogen dan faktor-faktor pembekuan dihilangkan dari plasma. (10)
- Plasma merupakan komponen cair darah yang mengandung fibrin dan terdiri dari 91-92% air yang berperan sebagai medium transport, dan 8-9% zat padat. (10)

III.10 Alur Kerja



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium Rumah Sakit Umum Labuang Baji Makassar tentang evaluasi hasil uji widal metode slide dengan menggunakan sampel plasma dan serum pada penderita demam tifoid, maka diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil pemeriksaan uji widal metode slide dengan menggunakan sampel plasma dan serum pada penderita demam tifoid di Rumah Sakit Umum Labuang Baji Makassar.

No	Kode	Umur	JK	Serum				Plasma			
				OD	OA	HD	HA	OD	OA	HD	HA
1	A	23	LK	1/160	Neg	1/320	Neg	1/160	Neg	1/320	Neg
2	B	30	LK	1/80	Neg	1/320	Neg	Neg	Neg	1/320	Neg
3	C	28	LK	Neg	Neg	1/320	1/160	1/160	Neg	1/320	1/160
4	D	15	PR	1/160	1/160	1/160	Neg	1/160	1/160	1/160	Neg
5	E	20	PR	1/320	1/80	1/160	1/80	1/320	1/80	1/160	1/80
6	F	22	PR	1/160	1/160	1/80	1/80	1/160	1/160	1/80	1/80
7	G	34	PR	1/320	1/320	1/80	Neg	1/320	1/320	1/80	Neg
8	H	20	LK	1/160	1/80	1/320	Neg	1/160	1/80	1/320	Neg
9	I	18	PR	Neg	Neg	1/320	1/80	Neg	Neg	1/320	1/80
10	J	18	LK	1/80	Neg	1/320	1/80	1/80	Neg	1/320	1/80
11	K	15	PR	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320
12	L	14	LK	1/320	1/80	1/160	1/160	1/320	1/80	1/160	1/160
13	M	12	LK	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160
14	N	5	PR	1/160	Neg	1/80	1/40	1/160	Neg	1/80	1/40
15	O	9	LK	1/40	1/40	1/320	1/160	1/40	1/40	1/320	1/160

16	P	14	LK	1/80	1/320	1/80	1/320	1/80	1/320	1/80	1/320
17	Q	13	LK	Neg	Neg	1/160	1/40	Neg	Neg	1/160	1/40
18	R	5	PR	1/320	Neg	1/320	Neg	1/320	Neg	1/320	Neg
19	S	3	LK	1/320	Neg	1/160	Neg	1/320	Neg	1/160	Neg
20	T	14	LK	1/80	Neg	1/80	1/320	1/80	Neg	1/80	1/320
21	U	30	PR	1/320	1/80	1/320	1/320	1/320	1/80	1/320	1/320
22	V	60	PR	Neg	Neg	1/320	Neg	Neg	Neg	1/320	Neg
23	W	4	LK	Neg	Neg	1/320	Neg	Neg	Neg	1/320	Neg
24	X	5	PR	1/160	1/160	1/320	Neg	1/160	1/160	1/320	Neg
25	Y	5	PR	Neg	Neg	1/160	Neg	Neg	Neg	1/160	Neg
26	Z	7	PR	1/320	1/320	1/80	1/80	1/320	1/320	1/80	1/80
27	AA	9	PR	1/160	1/320	1/160	1/160	1/160	1/320	1/160	1/160

Keterangan :

OD : Antigen somatic D

OA : Antigen somatic A

HD : Antigen flagella D

HA : Antigen flagella A

Tabel. 3 Karakteristik subyek penelitian berdasarkan umur

Umur	Jumlah	Persentase (%)
3-12 tahun	10	37 %
13-30 tahun	15	55,6 %
>31 tahun	2	7,4 %

Tabel 4. Karakteristik subyek penelitian berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin	Jumlah	Persentase (%)
Laki-laki	13	48.1
Perempuan	14	51.9

IV. 2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian tentang evaluasi hasil pemeriksaan widal metode slide dengan menggunakan 2 sampel yang berbeda yaitu serum dan plasma pada pasien demam tifoid di RSUD Labuang Baji Makassar yang dikerjakan masing-masing sebanyak 27 sampel pasien berusia 3 tahun keatas dengan lama demam lebih dari 1 minggu.

Pada penelitian ini didapatkan jumlah penderita demam tifoid dengan jenis kelamin laki-laki adalah 13 orang (48,1%) dan wanita sebanyak 14 orang (51,9%). Pada tabel 3 didapatkan persentase tertinggi pada umur adalah 13 - 30 tahun (55,6 %).

Pada pemeriksaan widal yang telah dilakukan pada 27 sampel pasien yang menderita demam tifoid, semuanya memiliki nilai titer antibodi yang abnormal yaitu berkisar antara 1/160-1/320. Dimana nilai rujukan untuk uji widal sebesar $\geq 1/160$ baik pada anti O maupun anti H dengan gejala klinik yang khas seperti panas dengan suhu badan $> 37^{\circ}\text{C}$, lidah kotor, muntah, mual, diare, sakit kepala dan sebagainya.

Pada tabel 2 hasil pemeriksaan widal dengan menggunakan 2 sampel yang berbeda yaitu serum dan plasma ternyata di setiap sampel

pasien memperlihatkan hasil yang sama antara sampel serum dan plasma kecuali pada sampel kode B dan C yaitu pada kode B didapatkan hasil titer antibodi pada antigen OD pada sampel serum sebesar 1/80 sedangkan pada sampel plasma tidak terjadi aglutinasi atau titer antibodi pada antigen OD sebesar nol, akan tetapi perbedaan ini tidak bermakna sebab hanya terjadi perbedaan antara tanpa adanya aglutinasi dengan 1/80 karena hasil dengan titer antibodi 1/80 pada antigen OD sampel serum masih dikatakan negatif karena masih dibawah nilai rujukan uji widal. Dan untuk sampel kode C pada sample serum tidak terjadi aglutinasi pada antigen OD sedangkan pada sampel plasma didapatkan hasil titer antibodi pada antigen OD sebesar 1/160. Hal ini terjadi karena pada waktu melakukan pemeriksaan, terjadi beberapa kesalahan, misalnya terjadinya kontaminasi pada alat dan bahan yang digunakan, terjadi kesalahan dalam teknik pengerjaannya serta dapat terjadi kesalahan dalam pembacaan hasil. Beberapa literatur yang ada, menyatakan bahwa hasil tes widal dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor-faktor, antara lain faktor antigen serta reagen yang digunakan.

Berdasarkan hasil analisa data dengan menggunakan program SPSS 16 diperoleh nilai rata-rata untuk sampel serum sebesar 0,005435 dan untuk sampel plasma diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,005545.

Pada uji statistik parametrik (uji t), apabila nilai $t_{hitung} < t_{tabel}$ maka H_0 diterima yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan widal antara sampel serum dan plasma. Apabila nilai $t_{hitung} > t_{tabel}$ maka H_1 diterima yang berarti bahwa terdapat perbedaan hasil pemeriksaan widal antara sampel serum dan plasma.

Berdasarkan hasil uji statistik parametrik (uji t) maka diperoleh nilai t_{hitung} adalah 0,0683 sedang nilai t_{tabel} 1,674 dan dinyatakan bahwa t_{hitung} lebih kecil dari t_{tabel} sehingga H_0 diterima. Jadi tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara sampel serum dan plasma pada pemeriksaan widal metode slide. Karena pada prinsipnya, di dalam uji widal terjadi reaksi antara antibodi di dalam sampel dengan antigen dalam reagen yang akan membentuk agregasi partikel-partikel berupa aglutinasi. Walaupun pada serum sudah tidak mengandung fibrinogen dan pada plasma masih mengandung fibrinogen, namun tidak mempengaruhi hasil penelitian ini karena baik dalam plasma maupun serum sama-sama mengandung antibodi yang dihasilkan oleh agen penyebab penyakit dan akan bereaksi dengan antigen dalam reagen sehingga keduanya tidak dapat dibedakan dalam uji widal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada pemeriksaan widal metode slide dengan menggunakan sampel plasma dan serum pada penderita demam tifoid, sehingga sampel plasma juga dapat digunakan pada pemeriksaan widal.

V.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan adalah :

1. Diharapkan pada peneliti selanjutnya untuk melakukan penelitian tentang uji widal dengan menggunakan metode tabung dan antigen yang berbeda pada sample serum dan plasma penderita demam tifoid
2. Untuk tenaga laboratorium kesehatan dapat mempertimbangkan dalam penggunaan sampel plasma pada pemeriksaan widal penderita demam tifoid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cleary TG. Salmonella. Di dalam : Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Editors. *Nelson textbook of pediatrics*. Ed 16. WB Saunders. Philadelphia. 2000. Hal 842-8
2. Tumbelaka AR, Retnosari S. Imunodiagnosis demam tifoid. Di dalam : *Kumpulan naskah pendidikan kedokteran berkelanjutan ilmu kesehatan anak XLIV*. BP FKUI. Jakarta. 2001. Hal 73-65
3. Pawitro UE, Noorvitry M, Darmowandowo W. Demam tifoid. Di dalam : Soegijanto S, Editor. *Ilmu penyakit anak : diagnosa dan penatalaksanaan*. Ed 1. Salemba Medika. Jakarta. 2002. Hal 3-1
4. Diagnosis of typhoid fever. Di dalam : Background document : *The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever*. World Health Organization (WHO). 2003 [accessed 23 Juni 2008]. Available from : <http://www.mail-archive.com/html/13k>.
5. Darmowandowo W. Demam Tifoid. Di dalam : Soedarmo SS, Garna H, Hadinegoro SR, Editors. *Buku ajar ilmu kesehatan anak : infeksi dan penyakit tropis*. Ed 1. BP FKUI. Jakarta. 2002. Hal 367
6. Parry CM. *Typhoid fever*. N Engl J Med 2002. Hal 1770-82
7. Tumbelaka AR. *Tata laksana terkini demam tifoid pada anak*. Symposium infeksi pediatrik tropik dan gawat darurat pada anak. IDAI Cabang Jawa Timur. Malang : IDAI Jawa Timur. 2005. Hal 38
8. Hoffman SL. Typhoid fever. Di dalam : Strickland GT, editor. *Hunter's textbook of pediatrics*. Ed 7. WB Saunders. Philadelphia. 1991. Hal 60-58
9. Kalra SP, Naithani N, Mehta SR, Swamy AJ. *Current trends in the management of typhoid fever*. MJAFI. 2003. Hal 130
10. Sylvia Anderson. *Patofisiologi vol 1*. Ed 6. Penerbit Buku Kesehatan EGC. Jakarta. 2005. hal 247
11. ii. Deteksi *Salmonella typhi* Dengan Metode Kultur Darah dan ada Suspek Tifoid Berdasarkan Lama Demam. *Skripsi*. Fakultas Universitas Hasanuddin. Makassar. 2003. hal. 9-8

12. Jollik W.K, Willet H.P, & Amos D.B. *Zinsser Microbiology*. 18th ed. Appleton Century – Crofts/ Norwalk. Connecticut. 1984. hal. 617-616
13. Christiantoro T. *Test for typhoid fever diagnostic*. PT Pacific Biotekindo Intralab. Jakarta. 2006. hal. 4-1
14. Greenwood D, Slack R.C.B, & Peutherer J.F. *Medical Microbiology*. 19th ed. Churchill Livingstone. Toronto. 2002. hal. 24-23
15. Nelson W.E. *Ilmu Kesehatan Anak*. Terjemahan oleh Samik Wahab A. EGC. 2003. hal. 966-965
16. Kenneth J.R & George C.R. *Sherris Medical Microbiology*. 4th ed. Mc Graw-Hill. New York. 2004. hal. 363-362
17. Rampengan T.H & Laurentz I.R. *Penyakit Infeksi Tropik Pada Anak*. EGC. 2000. hal. 54-53
18. Widodo D. *Demam tifoid dalam buku ajar ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 4. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. 2006: 1774-1779
19. Bahrn, U. *Diagnosis demam tifoid dengan tes anti-Salmonella typhi IgM*. disampaikan dalam Simposium Prodia. Makassar. 2009
20. Mansjoer Arif dkk. *Kapita selekta Kedokteran*. Edisi ketiga, jilid 1. FK UI. Medica Aesculapius. 2000. Hal.422
21. Juwono R. *Demam tifoid dalam buku ajar ilmu penyakit dalam*. Edisi 3. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. 2004. Hal.436
22. Yatim Faisal. *Macam-macam penyakit menular dan cara pencegahannya, Jilid 2*. Pustaka Obor popular. Jakarta. 2007. Hal.123
23. Syamsuhidayat, R., Wim de Jong. *Infeksi dan Inflamasi*. Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi Revisi. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1997. Hal. 3 – 70.
24. Widodo J, Hasan I. *Perkembangan Diagnosis Laboratorium Demam Tifoid*. Majalah Kedokteran Indonesia. Vol. 49. 1999. hal. 263-256

25. Prasetyo RV, Ismoedijanto. *Metode diagnostik demam tifoid pada anak*. Divisi Tropik dan Penyakit Infeksi. Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya. 2008. <http://www.wordpress.com> diakses 3 Maret 2009.
26. *Tifoid F Dri-Dot a Salmonella typhi-specific Latex Serum Agglutination Assay for Use on human Serum Samples*. Royal tropical Institute/Koninklijk Institute Voor de Tropen (KIT). 2007
27. Abdoel, T. Smits, L. Hatta, M. *Laboratory evaluation of a simple and rapid latex agglutination assay for the serodiagnosis of tifoid fever*. 2007. www.sciencedirect.com/journals/trst.
28. Liana L. *Diagnostik Laboratorium Demam Tifoid*. Ed 6. Laboratorium Amerind Bio-Clinic. Jakarta. 2006. hal. 4-2
29. Mutmainnah. *Titer Antibodi Terhadap Antigen O dan H Salmonella typhi pada Orang Sehat*. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin. Makassar. 2003. hal. 18-11
30. Baratawidjaja K.G. *Imunologi Dasar*. Ed 6. Universitas Indonesia. Jakarta. 2004. hal. 83-79
31. Sadikin, M. 2001. *Biokimia Darah*. Penerbit Widya Medika. Jakarta.
32. Anonim. 1989. *Hematologi*. Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
33. Budiarto Eko. *Metodologi penelitian kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2003. Hal 48
34. Gandasoebrata R. *Penuntun laboratorium klinik*. Dian Rakyat. Jakarta. 1995. Hal 8-7
35. Hardjoeno. *Interpretasi hasil tes laboratorium diagnostik*. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. Makassar. 2003.
36. Morris H. *Basic Statistics. A Modern Approach* Harcourt Brace Javamovies Inc. New York. 1979.

LAMPIRAN I

HASIL ANALISA DATA SECARA SPSS

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Umur	27	3	60	16.74	12.281
OD Serum	27	.000	.025	.00552	.005680
OA Serum	27	.000	.025	.00430	.006176
HD Serum	27	.003	.013	.00611	.003974
HA Serum	27	.000	.025	.00581	.007333
OD Plasma	27	.000	.025	.00596	.006671
OA Plasma	27	.000	.025	.00430	.006176
HD Plasma	27	.003	.013	.00611	.003974
HA Plasma	27	.000	.025	.00581	.007333
Valid N (listwise)	27				

Klpk	N	Mean	Std. deviation
Serum	27	0,005435	0,0057908
Plasma	27	0,005545	0,0060385

LAMPIRAN 2

UJI STATISTIK PARAMETRIK (UJI t)

Varians sampel serum dan plasma :

$$S_{\text{serum}} (S_1^2) = (S_1)^2$$

$$S_{\text{plasma}} (S_2^2) = (S_2)^2$$

$$S_{\text{serum}} (S_1^2) = (0,0057908)^2$$

$$S_{\text{plasma}} (S_2^2) = (0,0060385)^2$$

$$S_{\text{serum}} (S_1^2) = 0,0000335$$

$$S_{\text{plasma}} (S_2^2) = 0,0000365$$

Simpangan baku gabungan 2 sampel

$$S = \sqrt{\frac{(n-1) S_1^2 + (n-1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$S = \sqrt{\frac{(27-1)0,0000335 + (27-1)0,0000365}{27+27-2}}$$

$$S = \sqrt{\frac{0,0008719 + 0,000949}{52}}$$

$$S = \sqrt{\frac{0,0018209}{52}}$$

$$S = \sqrt{0,000035}$$

$$S = 0,0059175$$

Berdasarkan data yang diperoleh di atas maka nilai t hitung adalah sebagai berikut :

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$t = \frac{0,005435 - 0,005545}{0,0059175 \sqrt{\frac{1}{27} + \frac{1}{27}}}$$

$$t = \frac{0,00011}{0,0059175 (0,2721655)}$$

$$t = \frac{0,00011}{0,0016105}$$

$$t = 0,0683$$

jadi nilai $t_{hitung} = 0,0683$.

Mencari t tabel

$$dk = n_1 + n_2 - 2$$

$$= 27 + 27 - 2$$

$$= 52$$

Tabel t

Pada tingkat kepercayaan 95%

$$40 = 1,68$$

$$60 = 1,67$$

$$52 = x$$

$$\frac{40 - 60}{60 - 52} = \frac{1,68 - 1,67}{1,67 - x}$$

$$\frac{-20}{8} = \frac{0,01}{1,67 - x}$$

$$-33,4 + 20x = 0,08$$

$$20x = 0,08 + 33,4$$

$$20x = 33,48$$

$$x = \frac{33,48}{20}$$

$$x = 1,674$$

$$t(0,95)(52) = 1,674$$

Kesimpulan : $t_{hitung} < t_{tabel}$ yaitu $0,0683 < 1,674$ jadi H_0 diterima sehingga tidak terdapat perbedaan bermakna antara sampel plasma

dan serum pada pemeriksaan widal metode slide penderita demam tifoid.

LAMPIRAN 3

TABEL DISTRIBUSI t

P	t 0.995	t 0.99	t 0.975	t 0.95	t 0.90	t 0.80	t 0.75	t 0.70	t 0.60	t 0.55
1	63.66	31.82	12.71	6.310	3.08	1.376	1.000	0.727	0.325	0.158
2	9.92	6.96	4.30	2.92	1.89	1.061	0.816	0.617	0.289	0.142
3	5.84	4.54	3.18	2.35	1.64	0.978	0.765	0.584	0.277	0.137
4	4.60	3.75	2.78	2.13	1.53	0.941	0.741	0.569	0.271	0.134
5	4.03	3.26	2.75	2.02	1.48	0.920	0.727	0.559	0.267	0.132
6	3.71	3.14	2.45	1.94	1.44	0.906	0.718	0.553	0.265	0.310
7	3.50	3.00	2.36	1.90	1.42	0.896	0.711	0.549	0.263	0.130
8	3.36	2.00	2.31	1.86	1.40	0.889	0.706	0.546	0.262	0.130
9	3.25	2.82	2.26	1.83	1.38	0.883	0.703	0.543	0.261	0.129
10	3.17	2.76	2.23	1.81	1.37	0.879	0.700	0.542	0.260	0.129
11	3.11	2.72	2.20	1.80	1.36	0.876	0.697	0.540	0.260	0.129
12	3.06	2.68	2.18	1.78	1.36	0.873	0.695	0.539	0.259	0.128
13	3.01	2.65	2.16	1.77	1.35	0.870	0.694	0.538	0.259	0.128
14	2.98	2.62	2.14	1.76	1.34	0.868	0.692	0.537	0.258	0.128
15	2.95	2.60	2.13	1.75	1.34	0.866	0.691	0.536	0.258	0.128
16	2.92	2.58	2.12	1.75	1.34	0.865	0.690	0.535	0.258	0.128
17	2.90	2.57	2.11	1.74	1.33	0.863	0.689	0.534	0.257	0.128
18	2.88	2.55	2.10	1.73	1.33	0.862	0.688	0.534	0.257	0.127
19	2.86	2.54	2.09	1.73	1.33	0.861	0.688	0.533	0.257	0.127

<i>P</i>	<i>t</i> 0.995	<i>t</i> 0.99	<i>t</i> 0.975	<i>t</i> 0.95	<i>t</i> 0.90	<i>t</i> 0.80	<i>t</i> 0.75	<i>t</i> 0.70	<i>t</i> 0.60	<i>t</i> 0.55
20	2.84	2.53	2.09	1.72	1.32	0.860	0.687	0.533	0.257	0.127
21	2.83	2.52	2.08	1.72	1.32	0.859	0.686	0.532	0.257	0.127
22	2.82	2.51	2.07	1.72	1.32	0.858	0.686	0.532	0.256	0.127
23	2.81	2.50	2.07	1.71	1.32	0.858	0.685	0.532	0.256	0.127
24	2.80	2.49	2.06	1.71	1.32	0.857	0.685	0.531	0.256	0.127
25	2.79	2.48	2.06	1.71	1.32	0.856	0.684	0.531	0.256	0.127
26	2.78	2.48	2.06	1.71	1.32	0.856	0.684	0.531	0.256	0.127
27	2.77	2.47	2.05	1.70	1.31	0.855	0.684	0.531	0.256	0.127
28	2.76	2.47	2.05	1.70	1.31	0.855	0.683	0.530	0.256	0.127
29	2.76	2.46	2.04	1.70	1.31	0.854	0.683	0.530	0.256	0.127
30	2.75	2.46	2.04	1.70	1.31	0.854	0.683	0.530	0.256	0.127
40	2.70	2.42	2.02	1.68	1.30	0.851	0.681	0.529	0.255	0.126
60	2.66	2.39	2.00	1.67	1.30	0.848	0.679	0.527	0.254	0.126
120	2.62	2.36	1.98	1.66	1.29	0.845	0.677	0.526	0.254	0.126
~	2.58	2.33	1.96	1.645	1.28	0.842	0.674	0.534	0.253	0.126

LAMPIRAN 4

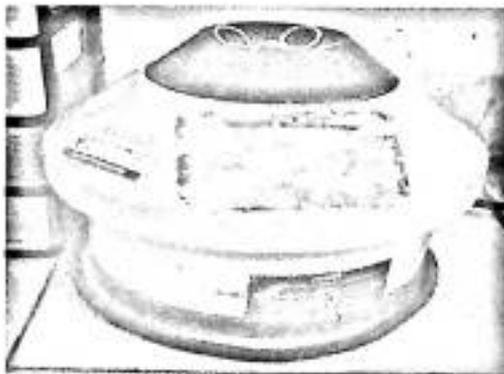
Gambar Alat, Bahan dan Hasil Penelitian



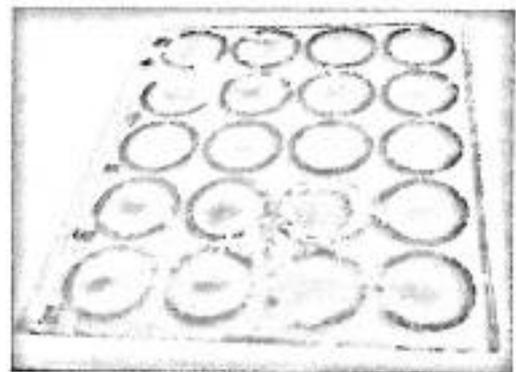
Gambar 4. Antigen O dan H



Gambar 5. Rotator



Gambar 6. Sentrifuge



Gambar 7. Hasil uji widal