

**DETEKSI SUSPEK TIFOID DENGAN METODE WIDAL SLIDE
DAN DILANJUTKAN DENGAN BIAKAN**

SKRIPSI

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

HARTINI KASIM

H521 05 026

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

**DETEKSI SUSPEK TIFOID DENGAN METODE WIDAL SLIDE
DAN DILANJUTKAN DENGAN BIAKAN**

HARTINI KASIM

H521 05 026

Disetujui oleh

Pembimbing Utama,



**Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt
NIP. 132 010 567**

Pembimbing Pertama,



**Dra. Agnes Lidjaja, M.Kes, Apt
NIP. 140 174 320**

Pembimbing kedua,



**Dra. Rosany Tayeb, M.Si, Apt
NIP. 131 637 601**

Pada Tanggal Mei 2007

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian deteksi suspek tifoid dengan metode widal slide dan dilanjutkan dengan biakan yang merupakan diagnosa pasti demam tifoid menurut *World Health Organization (WHO)*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa persen dari pasien yang diperiksa dengan metode widal slide hasilnya positif, juga positif pada metode biakan. Adanya reaksi antigen antibodi dalam darah menyebabkan aglutinasi pada metode widal kemudian dibiakan untuk memperbanyak dan mengisolasi dalam medium selektif dan biokimia. Hasil yang diperoleh didapatkan bahwa metode widal slide hanya dapat digunakan sebagai screening test dan metode biakan sebagai gold standar apabila pengambilan sampel darah diambil pada waktu yang tepat yaitu 3 - 5 hari tanpa pemberian antibiotik sebelumnya, sehingga didapatkan hasil biakan 58,3 % positif dari 12 sampel suspek tifoid yang positif metode widal.

Kata kunci : Tifoid, Widal slide, Biakan darah.

ABSTRACT

The study to detect of suspect typhoid through widal's slide method followed by culture. Has been done, absolut for diagnosis of typhoid according to World Health Organization (WHO). The aim of this study is to know what the percentage of patient is positive by widal's slide method and also positive by culture method. The presence of antibody antigen reaction in blood result agglutination on widal's slide method, then culturing to grow - up and isolating into a selective biochemical medium. The result showed that widal's slide method is applicable only for screnning test and culture method as a gold standard when blood sampling is taken at properly time, 3-5 days without previously giving antibiotic. Culture's yield was positive 58,3 % from 12 samples that suspect typhoid as positive in widal's slide method.

keyword : Typhoid, Widal's slide, blood culture

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Pengasih dan Tak Pilih Kasih, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini banyak kendala dan hambatan yang dihadapi. Namun berkat dukungan dan bantuan semua pihak dan seizin Tuhan Yang Maha Kuasa, penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis dengan segala kerendahan dan ketulusan hati menghaturkan banyak terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada;

1. Dr.rer.nat.Marianti Manggau selaku Pembimbing Utama.
2. Dra. Agnes Lidjaja, M.Kes, Apt selaku Pembimbing Pertama.
3. Dra. Rosany tayeb, M.Si, Apt selaku Pembimbing Kedua.
4. Dr. Hartiny Djafar M.Kes, selaku Direktur Rumah Sakit Umum Pangkep.
5. Dr. Sri Nurul Hidayat, M.Kes, DSPK, Laurensia SKM, Arwan Lenden beserta staf Laboratorium dan BDRS RSU Pangkep.
6. Kepala Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, beserta staf bagian Mikrobiologi.
9. Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS
10. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

11. Para dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Farmasi Program Konsentrasi TLK Unhas

12. Seluruh staf dan karyawan jurusan Farmasi Program TLK Unhas.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua teman sesama mahasiswa angkatan kedua 2005 (Makmur Alim, Ahmad Baihaqi, Fihiruddin, Sunarti, Nurul Inayati, Tyastuti, Purwaningsih, Murniah) Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan yang telah banyak membantu, saling mendukung dalam suka duka.

Penulis persembahkan karya tulis ini kepada anakku tercinta Qaulan Sadidah, khususnya orang tua tercinta, yang sudah mendukung baik moril dan materil. Semoga karya tulis ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan, serta diberkati Tuhan Yang Maha Esa.

Makassar, April 2007

Hartini Kasim

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENUNJUK SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACK.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
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.3 Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid	10
II.4 Respon Immunologi	15
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	17
III.1 Alat dan Bahan.....	17
III.1.1 Alat	17

III.1.1.1 Metode Widal Slide	17
III.1.1.2 Metode Biakan	17
III.1.2 Bahan	17
III.1.2.1 Metode Widal Slide	17
III.1.2.2 Metode Biakan	17
III.2 Persiapan Sampel	18
III.3 Prinsip dan Cara Kerja	19
III.3.1 Prinsip Pemeriksaan Metode Widal Slide.....	19
III.3.2 Cara Kerja	19
III.3.3 Prinsip Biakan Metode Biakan.....	19
III.4 Cara Kerja Untuk Metode Kultur	20
III.4.1 Waktu Penelitian	20
III.4.2 Tempat Penelitian	21
III.5 Pengumpulan dan Pengolahan Data.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Hasil Penelitian	22
IV.2 Pembahasan	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

	Halaman
TABEL	
1. Hasil pemeriksaan Widal - Slide dan biakan	22
2. Tabel hasil identifikasi biokimia <i>Salmonella sp</i>	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
GAMBAR	
1. Morfologi <i>Salmonella</i> sp	7
2. <i>Salmonella</i> gram negatif	7
3. Reagen antigen <i>Salmonella typhi</i>	32
4. Hasil pemeriksaan Widal-Slide	32
5. Media Transport (GN Broth)	33
6. Koloni <i>Salmonella</i> sp	33
7. Hasil Biokimia <i>Salmonella typhi</i>	34
8. Hasil uji <i>Salmonella typhi</i> pada KIA	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN	
1. Skema Kerja	30
2. Foto Hasil Penelitian	32
3. Komposisi dan Cara Pembuatan Media	35

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Daftar lambang/singkatan	arti
BTB	brilliant timol blue
GNB	gram negatif broth
Ig	imunoglobulin
IL	interleukin
LED	laju endap darah
MR	methyl red
PCR	polymerase chain reaction
SGOT	serum glutamate oksalo transaminase
SGPT	serum glutamate piruvat transaminase
SSA	salmonella shigella agar
Sp	spesies
TSIA	triple sugar iron agar
VP	voges proskauer
WHO	World Health Organization

BAB I PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* maupun *Salmonella paratyphi* A, B dan C. Pada masing-masing organisme tersebut diketahui ada tiga macam antigen yang penting yaitu antigen O (somatik), terdiri atas zat kompleks lipopolisakarida, antigen H (flagella) dan antigen Vi (kapsul ekstraseluler) (1, 2).

Penyakit tifoid ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh kuman *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*, yang dikenal sebagai penularan fecal - oral. Kuman masuk ke saluran cerna, usus dan kelenjar limfe usus selanjutnya melalui saluran darah masuk ke hati, limpa, sumsum tulang dan ginjal (3,4).

Diperkirakan ada 20 juta kasus tifoid tiap tahun di seluruh dunia, dengan kematian lebih dari 200.000. Di India dan Asia Tenggara, angka insiden demam tifoid \pm 100/100.000 populasi pertahun. Sesuai laporan Departemen Kesehatan RI tahun 1996 terdapat 125 kasus per 10.000 orang per-tahun. Dari data tahun 2005 di Rumah Sakit Umum Pangkep, tifoid menduduki peringkat ke 2 (dua) dari sepuluh besar penyakit terbesar rawat inap dengan jumlah kasus 272. Menurut data tahun 2006 pasien rawat jalan, kasus tifoid menduduki urutan ke 3 (tiga), dengan jumlah kasus 123 dari 283.175 jiwa penduduk Kabupaten Pangkep (5,6).

Pada umumnya di daerah dengan sarana dan prasarana yang belum memadai, uji Widal cara slide merupakan uji yang paling sering

digunakan untuk penentuan demam tifoid karena ekonomis, praktis dan pemeriksaannya lebih cepat sehingga penanggulangan demam tifoid dapat segera ditegakkan.

Metode Widal – Slide merupakan reaksi aglutinasi antara antigen dengan antibodi penderita. Antigen berisi somatik dan flagella dari *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* yang telah dimatikan dan diwarnai, bila dicampur dengan antibodi yang homolog akan menimbulkan aglutinasi atau penggumpalan. Antigen somatik berwarna biru dan flagella berwarna merah (7).

Beberapa kasus demam tifoid ditegakkan atas dasar riwayat penyakit, gambaran klinis dan titer widal positif, kemudian diberikan pengobatan tifoid tanpa dilanjutkan dengan biakan (kultur), tetapi setelah diberikan pengobatan ternyata pasien tersebut tidak terinfeksi demam tifoid. Hasil widal positif tersebut disebabkan oleh pemberian imunisasi tifoid, adanya reaksi silang dengan non typhoidal salmonella, infeksi dengan malaria atau Enterobacteriaceae lainnya, dan penyakit lain seperti dengue. Biakan (kultur) merupakan baku emas (gold standard) untuk pemeriksaan *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*. Prinsip biakan adalah memperbanyak dan mengisolasi kuman pada media selektif.

Dari uraian tersebut di atas, maka rumusan masalah adalah berapa banyak pasien yang didiagnosa demam tifoid dari hasil widal slide positif tanpa dilanjutkan dengan biakan. Tujuan penelitian untuk mengetahui berapa persen dari pasien yang diperiksa dengan hasil positif

pada metode widal – slide, juga positif pada metode biakan dan apakah metode biakan yang merupakan *gold standard* bisa digunakan untuk menegakkan diagnosa demam tifoid. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi, bahwa jika hasil metode Widal – Slide positif dilanjutkan dengan metode biakan sehingga dapat menegakkan diagnosa demam tifoid. Hipotesis penelitian adalah metode Widal – Slide positif akan memberikan hasil positif pada metode biakan, jika pengambilan darah dilakukan pada waktu yang tepat (pada saat demam 3 – 5 hari sebelum pemberian antibiotik).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum *Salmonella sp* (2,5,8,13,14,15)

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 spesimen (manusia dan non – manusia) (13).

Ada lebih dari 2400 serotipe *Salmonella* termasuk lebih dari 1400 dalam DNA hibridisasi group I yang dapat menginfeksi manusia. Empat serotipe *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 (2,5,13).

Salmonella adalah motil tidak membentuk spora, tidak berkapsul, batang gram – negatif dengan panjang 2 – 3 µm diameter 0,4 – 0,6 µm, 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 fisik tetapi dapat di bunuh 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 (8).

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 di bentuk bersifat IgG. Antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat

asam, terdapat pada bagian yang paling luar dari badan kuman. Dapat di rusak 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 bakteriofaga dan dalam laboratorium sangat berguna untuk diagnosa cepat. Kuman *Salmonella typhi* yaitu dengan cara tes Aglutinasi slide dengan Vi antiserum. Antigen Vi jarang di temukan pada strain *Salmonella paratyphi C* (14,15).

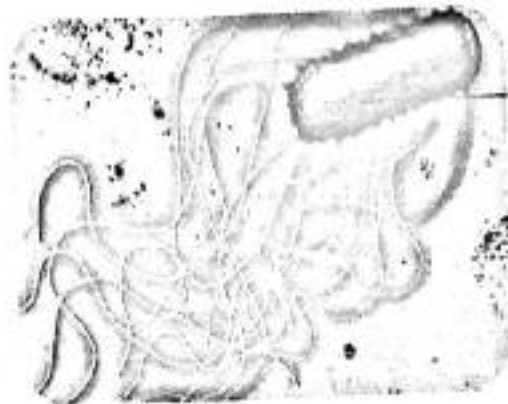
Skema klasifikasi di dasarkan pada reaksi biokimia atau serologis. Teknologi molekuler telah memungkinkan klasifikasi pada tingkat gen. Hibridisasi DNA telah membuktikan bahwa organisme *Salmonella* sangat terkait secara genetik sebagai satu spesies dengan enam subkelompok ; kebanyakan isolat yang menyebabkan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

Klasifikasi *Salmonella* terdiri dari ;

Kingdom : Procaryotae
Divisio : Scotabasteria
Class : Bacteriae
Ordo : Eubacteriales
Family : Enterobactericeae
Genus : *Salmonella*
Spesies : *Salmonella typhi* (14).



Gambar 1. Morfologi *Salmonella typhi* (5).



Gambar 2. *Salmonella* gram negatif (5).

II.2 Tinjauan Umum Demam Tifoid (4,5,17,18,19)

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 di hasilkan oleh organisme *Salmonella sp* tertentu. Sumber utama penyebaran dari bakteri penyebab demam tifoid ini adalah dari manusia

yang terinfeksi. Pada kenyataannya penyakit yang muncul pada awal abad ini, penyebarannya juga dapat melalui air yang terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella typhi*. Kerang-kerangan yang berada pada air yang terkontaminasi dan Ice cream diketahui sebagai faktor resiko yang signifikan terhadap penularan demam tifoid. Di Negara – Negara berkembang selain transmisi water – borne maka transmisi food borne juga dapat terjadi, yaitu penularan yang terjadi akibat seorang kronik carrier mengkontaminasi makanan, dimana kontaminasi itu disebabkan oleh penanganan makanan yang tidak sehat (5).

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).

Organisme yang tertelan, masuk ke dalam lambung untuk mencapai usus halus. Asam lambung tampaknya kurang berpengaruh terhadap kehidupannya. Organisme secara cepat mencapai usus halus bagian proksimal, melakukan penetrasi ke dalam lapisan epitel mukosa. Kuman *Salmonella typhi* telah sampai di kelenjar getah bening regional / KGB mesentrium dan kemudian terjadi bakteriemia dan kuman sampai di hati, limpa, juga sumsum tulang dan ginjal. *Salmonella typhi* segera difagosit oleh sel – sel fagosit mononukleus yang ada di organ tersebut. Di sini kuman berkembang biak memperbanyak diri. Inilah karakteristik dari *Salmonella sp* yang akan menentukan perjalanan penyakit yang di

timbulkannya. Setelah memperbanyak diri secara intraseluler, organisme akan di lepaskan lagi ke dalam aliran darah, terjadi bakteremia kedua, pada saat ini penderita akan mengalami panas tinggi. Bakterimia ini menyebabkan dua kejadian kritis yaitu masuknya kuman ke dalam kantung empedu dan plague peyer. Bila masuknya kuman tadi terjadi reaksi radang yang hebat sekali maka akan terjadi nekrosis jaringan yang secara klinik di tandai dengan kolesistitis nekrotikans dan perdarahan perforasi usus. Masuknya kuman di kantung empedu dan plague peyer menyebabkan kultur kotoran manusia positif dan invasi ke dalam kantung empedu sendiri dapat menyebabkan terjadinya karier kronik (17).

Masa inkubasi demam tifoid umumnya 1 – 2 minggu, dapat lebih singkat yaitu 3 hari atau lebih panjang selama 2 bulan. Komplikasi yang terjadi antara lain komplikasi pada sistem saraf seperti ensefalitis, ensefalomielitis, gangguan psikiatri, miokarditis akut, hepatitis, osteomielitis, juga komplikasi pada usus berupa perdarahan dan perforasi (17).

Klasifikasi kasus demam tifoid menurut WHO : Confirmed case of typhoid fever : pasien dengan demam (38 °C atau lebih) yang berlangsung \geq 3 hari dan di konfirmasi oleh tes laboratorium – kultur positif *Salmonella typhi* (darah, sumsum tulang, urin). Probable case of typhoid fever : pasien dengan demam (38 °C atau lebih) yang berlangsung \geq 3 hari dan di konfirmasi oleh tes laboratorium – serodiagnosis positif atau deteksi antigen tetapi tanpa isolasi *Salmonella typhi*. Chronic carrier :

ekskresi kuman *Salmonella typhi* di urin atau kotoran manusia (atau diulang dengan kultur empedu atau usus duodenal tetap positif) selama lebih dari 1 tahun setelah terjangkit demam tifoid akut (5).

II.3 Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid (4,18,19,20)

Pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan hematologi : Hemoglobin dapat normal atau menurun bila terjadi penyakit perdarahan usus atau perforasi. Penelitian oleh Ratih W M dkk (2001) mendapatkan 6,6 % penderita demam tifoid mengalami anemia. Hitung leukosit sering rendah (leukopenia), gejala ini ditemukan pada 15 % penderita demam tifoid, tetapi dapat pula normal atau tinggi. LED (Laju Endap Darah) meningkat jumlah trombosit normal atau menurun (trombositopenia), dilaporkan sebanyak 25,4 % penderita demam tifoid mengalami trombositopenia (4,19).

Urinalisis; protein bervariasi dari negatif sampai positif (akibat demam). Leukosit dan eritrosit normal, bila jumlahnya meningkat kemungkinan terjadi penyulit. Kimia klinik; enzim hati (SGOT, SGPT) sering meningkat dengan paradangan sampai hepatitis akut (4).

Imunoserologi ; widal, pemeriksaan serologi ini ditujukan untuk mendeteksi adanya antibodi (di dalam darah) terhadap antigen kuman *Salmonella typhi / paratyphi* (reagen). Uji ini merupakan tes kuno yang masih amat populer dan paling sering diminta terutama dinegara penyakit ini endemis seperti di Indonesia. Sebagai uji cepat hasilnya dapat segera



diketahui. Hasil positif dinyatakan dengan adanya aglutinasi . Karena itu antibodi jenis ini dikenal sebagai fibrile agglutinin (4).

Sampai saat ini tidak ada kepustakaan yang menyebutkan nilai titer Widal yang absolute untuk memastikan diagnosa demam tifoid. Nilai sensitifitas, spesifisitas serta reaksi Widal sangat bervariasi dari satu laboratorium dengan laboratorium lainnya. Disebut tidak sensitif karena adanya sejumlah penderita dengan hasil biakan positif tapi tidak pernah dideteksi adanya antibodi dengan tes ini : bila dapat dideteksi hanya titer antibodi sering titer naik sebelum timbul gejala klinis, sehingga sulit untuk memperlihatkan terjadinya kenaikan titer yang berarti. Disebut tidak spesifik oleh karena semua grup D Salmonella mempunyai antigen O, demikian juga grup A dan B Salmonella; semua grup D Salmonella mempunyai fase H antigen yang sama dengan *Salmonella tifosa* ; titer H tetap meningkat dalam waktu sesudah infeksi (4).

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 cut off (batas nilai negatif) yang dipilih disuatu komunitas tertentu

bergantung pada insiden demam tifoid dan tingkat vaksinasi di tempat tersebut (17,18).

Kadar agglutinin O dan H pada orang normal di daerah endemis seperti Malaysia adalah 1/160, sehingga kadar agglutinin yang mempunyai nilai diagnostik di tempat ini adalah $\geq 1/320$. Di Indonesia titer antibodi O lebih atau sama dengan 1/40 yang diukur dengan pemeriksaan widal slide mempunyai nilai ramal positif sebesar 96 % (18).

Pemeriksaan titer H tunggal mempunyai sensitifitas yang serupa tetapi spesifitasnya lebih rendah. Agglutinin 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 (18).

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 kortikosteroid. Infeksi subklinis; keadaan ini menyebabkan tes widal positif walaupun titernya rendah. Pada individu ini tidak menunjukkan gejala klinis. Reaksi anamnestik ; keadaan yang menyebabkan peningkatan titer widal karena infeksi oleh kuman lain. Faktor teknis : Aglutinasi ; Beberapa spesies kuman *salmonella* mempunyai antigen O dan H yang sama sehingga menyebabkan reaksi aglutinasi yang sama terhadap *S. typhi*. Konsentrasi suspensi antigen. Strain *salmonella* yang digunakan untuk suspensi antigen ; Daya aglutinasi suspensi antigen dari strain salmonella berbeda-beda sehingga titer hasil tes berbeda pula. 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. Negatif palsu dapat ditemukan pada keadaan :

- Jumlah bakteri yang tidak cukup untuk merangsang pembentukan antibodi atau telah mendapat pengobatan.
- Kesalahan teknik (pra analitik dan analitik)
- Variasi standarisasi pembuatan antigen

Positif palsu dapat ditemukan pada keadaan :

- Pemberian imunisasi tifoid atau adanya reaksi silang *Salmonella* lain.
- Kesalahan teknik (pra analitik dan analitik)
- Variasi standarisasi pembuatan antigen.

Tes ELISA ; tes ini dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi IgM dan IgG. Kadar IgM meningkat selama minggu pertama dan kedua perjalanan penyakit. IgG dapat meningkat pada minggu pertama hingga minggu terakhir dari perjalanan penyakit. Keunggulan tes ini adalah dapat digunakan secara tunggal (19, 20).

Mikrobiologi ; kultur (gall culture / biakan empedu). Diagnosa pasti demam tifoid dilakukan dengan isolasi *Salmonella typhi*. Isolasi kuman penyebab demam tifoid dapat dilakukan dengan melakukan biakan dari sampel darah, tinja, urin, sum-sum tulang dan cairan empedu. Spesimen darah diambil minggu I sakit saat demam tinggi. Spesimen feses dan urine pada minggu ke II dan minggu-minggu selanjutnya. Pembiakan memerlukan waktu kurang lebih 5 -7 hari. Bila laporan hasil biakan "Basil *Salmonella* tumbuh" maka penderita sudah pasti mengidap demam tifoid. Telah diketahui bahwa berbagai faktor mempengaruhi hasil isolasi kuman. Jumlah kuman yang beredar dalam darah sangat rendah dan kebanyakan berada dalam sel mononukleat. Selain itu mungkin terdapat faktor serum (antibodi ,komplemen, dll) yang dapat menghambat atau membunuh kuman. Oleh karena itu dalam teknik isolasi kuman harus diambil jumlah sampel darah yang cukup dengan media yang sesuai dan pengenceran yang cukup (pengenceran darah dan broth adalah 1 : 8 – 10) sehingga faktor serum kadarnya lebih rendah dari yang diperlukan untuk efek bakterisidal selain itu dapat dengan cara membubuhkan bahan yang dapat menetralkan efek inhibisi faktor serum misalnya liquid.

Sensitivitas metode biakan kuman berkurang dengan penggunaan antibiotik dan perbandingan kultur broth terhadap darah yang lebih pekat. Dengan pemeriksaan biakan darah beberapa kali diharapkan didapat hasil yang lebih baik (18).

Biologi molecular ; PCR (Polymerase Chain Reaction) . Pelacakan DNA *Salmonella typhi* dapat dilakukan dengan tehnik PCR. Prinsip PCR adalah (1) denaturasi untuk memisahkan pasangan DNA, (2) annealing primer yaitu proses pengikatan primer, (3) pemanjangan primer untuk penggandaan DNA sehingga mudah terdeteksi (19).

II.4 Respon imunologi (4,19,22)

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 atau seluler). Interaksi imunologi non spesifik dan imunologi spesifik pada dasarnya bertujuan meningkatkan respon imun untuk eliminasi respon antigen.

Respon imunologi non spesifik

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. Hiperplasia 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 konsekwensi 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 (Ig M) karena (Ig M) lebih dahulu terbentuk saat tubuh terpapar dengan benda asing dan mulai meningkat pada akhir minggu pertama kemudian disusul dengan terbentuknya (Ig G) yang menunjukkan respon serologi sekunder yang meningkat dan bertahan lebih lama. Ig M berfungsi untuk netralisasi kuman, dapat mencegah gerakan mikroorganisme patogen, memudahkan fagositosis dan merupakan aglutinator poten antigen. Sedangkan Ig G 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 (4,19,22).

BAB III
PELAKSANAAN PENELITIAN

III. 1 Alat dan bahan

III.1.1 Alat

III.1.1.1 Metode Widal – Slide :

Objek gelas, pipet, batang pengaduk, tabung reaksi, spoit, alat sentrifugasi.

III.1.1.2 Metode biakan :

Cawan Petri, botol transport , tabung reaksi, ose bulat, bunsen, inkubator, oven, otoklaf, Laminar Air Flow, Biological safety cabinet.

III.1.2 Bahan

III.1.2.1 Metode Widal – Slide :

Sampel darah (serum)
Antigen *Salmonella typhi* O (OD)
Antigen *Salmonella typhi* H (HD)
Antigen *Salmonella paratyphi* A (HA)
Antigen *Salmonella paratyphi* B (HB)
Kontrol positif

III.1.2.2 Metode Biakan

Sampel darah, aquadest steril , medium pemupuk (GN Broth), SSA (*Salmonella Shigella* Agar), KIA(Kligler Iron Agar), SIM (Sulfide

Indol Motility), MR - VP (Methyl Red – Voges Proskauer), SCA (Simmon Citrat Agar), Pereaksi Indole (Kovaks), Larutan Methyl merah, alfa naftol, dan KOH 40 %.

III. 2 Persiapan Sampel

Pengambilan sampel

Sampel yang di gunakan adalah sampel pasien demam 3 – 7 hari. Populasi pada penelitian ini adalah semua pasien penderita suspek demam tifoid yang diperiksa di Rumah Sakit Umum Kabupaten Pangkep.

Pengambilan darah vena

- Karet pembendung dipasang pada lengan atas 7, 5 – 10 cm di atas bagian yang akan di lakukan tusukan vena.
- Tempat yang akan ditusuk didesinfeksi dengan kapas alkohol 70%, dibiarkan 30 detik untuk mengeringkan alkohol.
- Penusukan kulit dengan jarum steril dilakukan dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas.
- Spoit diisi sesuai jumlah darah yang dikehendaki.
- Karet pembendung dilepaskan agar darah mengalir.
- Spoit dilepaskan dengan cara sepotong kapas steril tutupi tempat tusukan, kemudian jarum dilepas, masukkan darah kedalam tabung reaksi melalui dinding tabung.

Pembuatan Serum

- Darah dibiarkan selama 30 menit pada temperatur ruangan kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit

maka akan terpisah komponen darah dan serum.

- Serum dipindahkan pada tabung sampel dan siap untuk diperiksa.

III. 3 Prinsip dan Cara Kerja

III.3.1 Prinsip pemeriksaan metode Widal – Slide :

Antibodi (serum) Ig M dan Ig G ditambah dengan antigen *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* akan terjadi reaksi aglutinasi.

III.3.2 Cara Kerja :

- Objek glas yang bersih dan kering disiapkan.
- Serum dipipet masing-masing 40 µl untuk Antigen O, Antigen H, Antigen HA, Antigen HB, kemudian
- Diteteskan masing-masing 1 tetes Antigen *Salmonella typhi* O, *S.typhi* H, *S.paratyphi* A, *S.paratyphi* B, kemudian
- Dicampur dengan menggunakan batang pengaduk hingga homogen, selanjutnya di goyang perlahan-lahan.
- Serum tambah antigen dibiarkan selama 1 menit.
- Kemudian diamati adanya aglutinasi pada masing-masing antigen
- Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya aglutinasi, kemudian dibuat pengenceran bertingkat yaitu 1/40, 1/80, 1/160, 1/320.

III.3.3 Prinsip Pemeriksaan Metode Biakan

Isolasi dan identifikasi *Salmonella sp* dalam darah.

III.3.4 Cara kerja untuk metode kultur

- Darah diambil secara aseptik sebanyak 2 ml dan di masukkan ke dalam botol transport steril yang berisi medium GN Broth 18 ml, lalu dicampur perlahan-lahan, kemudian
- Spesimen yang telah dicampur dengan medium GN Broth diinkubasi selama 18-24 jam, pada suhu 37⁰C,
- Selanjutnya diambil inokulum sebanyak 1 ose dan dioleskan secara zig - zag diatas permukaan medium SSA (*Salmonella Shigella Agar*).
- Diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam, lalu dilakukan pengamatan terhadap koloni *Salmonella typhi* (sesuai dengan ciri-ciri pertumbuhan koloni *Salmonella typhi*), dan untuk lebih menyakinkan keberadaan dari *Salmonella typhi*, maka dari koloni yang dicurigai dilanjutkan dengan pengujian ke medium KIA (Kligler Iron Agar) yang diinkubasikan pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Selanjutnya diteruskan ke media reaksi biokimia.
- Dilakukan pengamatan dan disesuaikan dengan ciri-ciri pertumbuhan *Salmonella sp.*

III. 4 Waktu dan Tempat Penelitian

III. 4. 1 Waktu Penelitian

Penelitian ini di laksanakan pada bulan Januari 2007.

III. 4. 2 Tempat Penelitian

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Rumah Sakit Umum Kabupaten Pangkep Provinsi Sulawesi – Selatan, dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar Provinsi Sulawesi Selatan.

III.5 Pengumpulan dan Pengolahan Data

Data diambil dari hasil pemeriksaan. Dikelompokkan hasil pemeriksaan widal slide dan biakan, serta hasil positif dan negatif. Dihitung persentase yang positif.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium Rumah sakit Umum Pangkep dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar di dapatkan data hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Widal – Slide Dan Biakan

No.	Kode Sampel	Lama Demam	Hasil Pemeriksaan					Biakan
			Widal Slide					
			OD	HD	HA	HB	Ket	
1	18	3 Hari	1/320	1/160	1/320	1/160	+	+ <i>Salmonella paratyphi</i>
2	31	3 Hari	1/320	1/320	1/160	1/160	+	+ <i>Salmonella typhi</i>
3	37	3 Hari	1/320	1/320	1/320	1/160	+	+ <i>Salmonella paratyphi</i>
4	40	3 Hari	1/320	1/160	1/320	1/320	+	+ <i>Salmonella typhi</i>
5	7	5 Hari	1/320	1/320	1/160	1/160	+	+ <i>Salmonella typhi</i>
6	12	5 Hari	1/320	1/320	1/160	1/160	+	+ <i>Salmonella typhi</i>
7	16	5 Hari	1/160	1/160	1/160	1/160	+	-
8	27	5 Hari	1/320	1/320	1/160	1/320	+	+ <i>Salmonella typhi</i>
9	8	7 Hari	1/160	1/320	1/80	1/80	+	-
10	10	7 Hari	1/320	1/320	1/80	1/80	+	-
11	33	7 Hari	1/320	1/160	1/160	1/160	+	-
12	38	7 Hari	1/160	1/320	1/160	1/160	+	-

Keterangan :

Biakan (-) : Tidak ada pertumbuhan *Salmonella sp*

(+) : Ada pertumbuhan *Salmonella sp*

Widal Slide : Antigen OD (*Salmonella typhi* O)

Antigen HD (*Salmonella typhi* H)

Antigen HA (*Salmonella paratyphi* A)

Antigen HB (*Salmonella paratyphi* B)

Di laboratorium RSU Pangkep :

Widal Slide (+) : Titer Antibodi $\geq 1/160$

(-) : Titer Antibodi $< 1/160$

$$\text{Persentase hasil biakan (+)} = \frac{\text{hasil (+) biakan}}{\text{jumlah sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{7}{12} \times 100 \%$$

$$= 58,3 \%$$

IV.2 Pembahasan

Ada beberapa metode yang digunakan untuk menegakkan diagnosa demam tifoid, dua diantaranya digunakan dalam penelitian ini, yaitu metode Widal Slide dan biakan. Penelitian ini dilakukan pada sampel darah suspek tifoid dengan lama demam bervariasi antara 3, 5 dan 7 hari, karena pada hari ke 3 sampai hari ke 7 titer antibodi dapat dideteksi pada widal positif didapatkan hasil pengenceran $\geq 1/160$. Pada masing-masing sampel darah dilakukan pemeriksaan widal slide yang dilanjutkan ke metode biakan.

Berdasarkan hasil diagnosa dari suspek tifoid dengan widal slide didapatkan hasil bahwa kode sampel 18, 31, 37, dan 40 dengan lama demam 3 hari, widal positif dimana titer antibodi *Salmonella typhi* O (OD) adalah pengenceran 1/320, *Salmonella typhi* H (HD) bervariasi antara , 1/160, dan 1/320, *Salmonella paratyphi* A (HA) 1/160 dan 1/320, *Salmonella paratyphi* B (HB) 1/160 dan 1/320, karena pada hari ke 3 titer antibodi dalam darah mulai meningkat dan ditemukan bakteri *Salmonella typhi* dalam biakan sampel darah dengan titer antibodi *Salmonella typhi* O 1/320 dan *Salmonella typhi* H 1/160 dan 1/320. Sedangkan *Salmonella paratyphi* dalam biakan didapatkan titer antibodi *Salmonella paratyphi* A 1/320 dan *Salmonella paratyphi* B 1/160 dan 1/320.

Kode sampel 7, 12 dan 27 dengan lama demam 5 hari didapatkan titer antibodi OD 1/320, HD 1/320, HA 1/160 dan HB 1/160 (widal positif) dan ditemukan *Salmonella typhi* dalam biakan, karena pada hari ke 5 titer antibodi masih tinggi dalam darah dan pada biakan positif karena terjadi bakteremia dalam darah (23).

Kode sampel 16 dengan lama demam 5 hari didapatkan titer antibodi OD 1/160, HD 1/160, HA 1/160 dan HB 1/160 (widal positif) dan pada biakan negatif

Kode sampel 8, 10, 33, 38 dengan lama demam 7 hari, walau titer antibodi dalam darah masih tinggi yaitu OD 1/160 dan 1/320, HD 1/160 dan 1/320, HA 1/80 dan 1/160, HB 1/80 dan 1/160 (widal positif) tetapi dalam biakan negatif.

Pada hari ke 7 demam bakteremia dalam darah sudah tidak ditemukan lagi dalam biakan sebanding dengan titer antibodi yang tinggi dalam darah yang dapat mematikan bakteri, titer antibodi dapat bertahan dalam dalam jangka waktu yang lama dalam darah tergantung daya tahan seseorang.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa widal positif dan biakan positif dapat dijadikan sebagai rujukan untuk diagnosa pasti demam tifoid, sebaliknya jika hasil widal positif dan biakan negatif belum tentu bukan demam tifoid karena hasil biakan negatif palsu dapat disebabkan oleh penggunaan antibiotik oleh penderita sebelum pemeriksaan, kurangnya volume darah yang digunakan, karakteristik intraseluler *Salmonella typhi*, waktu yang digunakan untuk mengumpulkan sampel darah.

Dengan hasil widal slide positif yang di lanjutkan dengan biakan didapatkan hasil negatif sehingga hasil widal slide tersebut belum dapat dijadikan sebagai rujukan untuk diagnosa demam tifoid kecuali jika dilakukan pemeriksaan sampel yang kedua dengan memberikan hasil kenaikan titer antibodi empat kali pada hasil widal slide sebelumnya. (21)

Biakan positif dapat ditemukan pada minggu – minggu pertama karena merupakan fase bakteremia dan septikemia yang berat, yang mana dalam jumlah yang banyak dalam darah sehingga persentase positif untuk biakan darah bisa mencapai 80 % dengan terlebih dulu melihat pemberian obat – obat, reinfeksi, vaksinasi (13,23).

Beberapa faktor yang menyebabkan reaksi antigen antibodi hasil Widal Slide positif adalah pasien memang menderita demam tifoid, imunisasi dengan antigen *Salmonella* sebelumnya, reaksi silang dengan non - typhoidal *Salmonella*, variabilitas dan buruknya standarisasi pembuatan antigen komersial, infeksi dengan malaria atau *Enterobacteriaceae* lainnya dan penyakit lain seperti dengue (5).

Penelitian yang dilakukan oleh Rivai (1992) di RS Karantina Jakarta mendapatkan hasil biakan *S.typhi* positif pada 83% tersangka penderita demam tifoid, Azhali (1993) sebanyak 46,8% penderita, 72,9 % diantaranya berasal dari biakan darah. Satari (1996) di RSCM Jakarta 1990 - 1995 dengan hasil biakan positif sebesar 20,6 %. Hasil terendah didapatkan dari penelitian biakan oleh Herawati (1999) di RS Hasan Sadikin Bandung 1994 -1998 sebesar 16,5 % (4,8).

Persentase hasil positif dari 12 sampel di dapatkan jumlah positif dari widal slide sebanyak 12 sampel dan kultur positif sebanyak 7 sampel sehingga persentase hasil di dapatkan 58,3 %.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

Metode Widal Slide hanya dapat digunakan sebagai screening test.

Metode biakan sebagai " gold stándar " apabila pengambilan sampel darah diambil pada waktu yang tepat yaitu 3 – 5 hari tanpa pemberian antibiotika sebelumnya.

Didapatkan hasil biakan 58,3 % dari 12 sampel suspek tifoid dengan widal slide positif.

V.2 Saran

Dianjurkan pemeriksaan laboratorium untuk pasien dengan suspek tifoid dilanjutkan dengan pemeriksaan PCR (Polymerase Chain Reaction), karena tingkat sensitifitas dan spesifitasnya yang tinggi dan waktu yang dibutuhkan cepat

DAFTAR PUSTAKA

1. Brook, G.F., Butel, J.S., & Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. edisi pertama. Salemba Medika. Jakarta. 365.
2. Jollik, W.K., Willet, H.P., & Amos, D.B. 1984. *Zinsser Microbiology*, Eighteenth edition. Appleton Century – Crofts/ Norwalk. Connecticut. 616 – 617.
3. Riskiyati, N. 2004. *Kasus Demam Tifoid di Propinsi Sulawesi Selatan Dalam berita Epidemiologi*. edisi Desember. Ditjen PPM dan PL. Makassar. 1-2.
4. Liana, L. 2006. *Diagnostik Laboratorium Demam Tifoid*. Laboratorium Amerind Bio – clinic. edisi enam. Jakarta. 2-4.
5. Christianoro, T. 2006 *Test for typhoid fever diagnostic*. PT. Pacific Biotekindo Intralab. Jakarta. 1-4.
6. RSU Pangkep. 2005. *Profil RSU Pangkep*.
7. Parry, C.M. 2002. *Typhoid fever English Journal*. Med.347.1770 – 1782.
8. Greenwood, D., Slack, R.C.B., & Peutherer, J.F. 2002. *Medical Microbiology*. Sixteenth edition. Churchill Livingstone. Toronto. 23-24.
9. Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi. Rineka Cipta. Jakarta. 92.
10. Widodo J., Hasan I. 1999. *perkembangan diagnosis laboratorium demam tifoid*. *Majalah Kedokteran Indonesia* . vol ; 49 ; 256 – 263.
11. Harjono H. 2003. *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*. edisi III. Lepas. Ujung Pandang. 437-440.
12. Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pedoman pengendalian demam tifoid bagi tenaga kesehatan*. Ditjen PPM dan PL. 1-10.
13. Musriani. 2003. *Deteksi Salmonella Typhi Dengan Metode Kultur Darah dan PCR Pada suspek Tifoid Berdasarkan Lama Demam*. Skripsi. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar. 8 – 9.
14. Nelson, W.E., 2003. *Ilmu Kesehatan Anak*. Terjemahan oleh A. Samik Wahab. EGC. 965 – 966.

15. Kenneth, J.R., & George, C.R. 2004. *Sherris Medical Microbiology*, 4 th edition, Mc Graw – Hill. New york. 362 – 363.
16. Bergey. David, H., 2000. *Bergey's Manual of Determinative bacteriology*. Eight edition, waverly Press – Inc. MH – Royal and Guilford Avei, Baltwore. USA.
17. Rampengan, T.H., Laurentz, I.R. 2000. *Penyakit Infeksi Tropik Pada Anak*. EGC. 53 – 54.
18. Soegijanto, H.S. 2003. *Ilmu Penyakit Anak Diagosa dan Penatalaksanaan*. Salemba Medica. Jakarta. 22 – 23
19. Mutmainnah, 2003. *Titer antibodi terhadap Antigen O dan Antigen H Salmonella typhi pada orang sehat*. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makassar. 11- 18.
20. Kresno, B.S. 2000. *Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta. 210 -212.
21. Soenarto, W., Suwarsono., Soenarto, R,L., & Arifin ,S. 1999. *Penuntun Praktikum Bakteriologi Klinik* . SMAK Surabaya. 17.
22. Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar*. edisi enam. Universitas Indonesia. Jakarta. 79- 83.
23. Mahon, C.R., Manuselius, Jr. 1995. *Diagnostic Microbiology*. W.B. Saunders company. Philadelphia. 465.