

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Demam Tifoid

Demam tifoid memiliki gambaran klinis yang beragam, dari asimtomatik, gejala khas (sindrom demam tifoid, hingga gejala klinis berat yang disertai komplikasi. Gambaran klinis yang dihasilkanpun bervariasi bergantung pada daerah atau negara (Kemenkes RI, 2006).

Kejadian demam tifoid berasosiasi pada area dengan tingkat pendapatan rendah dan kualitas sanitasi yang kurang baik. Pada tahun 2000 diperkirakan terdapat 21.7 juta kasus kejadian demam tifoid dengan angka 216.000 meninggal karenanya secara global. Berdasarkan Institusi Vaksin Internasional terdapat 11.9 juta kasus dengan angka kematian sebesar 129.000 pada tahun 2010. Namun besarnya angka pasti kejadian di dunia sukar untuk ditentukan, karena penyakit ini memiliki gejala dengan spektrum klinik yang sangat luas (Ashurst *et al.*, 2021).

Di Indonesia, demam tifoid jarang dijumpai secara epidemis namun secara endemis dan banyak dijumpai di kota-kota besar. Insiden tertinggi didapatkan ada remaja dan dewasa muda. Kasus demam tifoid di Indonesia menunjukkan angka peningkatan setiap tahun dengan rata-rata 500/100.000 penduduk. Angka kematian diperkirakan sekitar 0.6 – 5% sebagai akibat dari keterlambatan mendapatkan pengobatan serta tingginya biaya pengobatan (Kemenkes RI, 2006).

Agen utama penyebab dari demam tifoid adalah *Salmonella thypi* dan *Salmonella parathyphi*, keduanya masuk dalam famili Enterobacteriaceae (Kasim, 2020).

2.2. **Salmonella Typhi**

Salmonella pertama kali ditemukan dan diisolasi dari usus babi yang menderita *swine fever* oleh Theoblad Smith pada tahun 1855. Penamaan strain bakterinya diambil dari Dr. Daniel Elmer Salmon partner dari Smith yang merupakan patologis Amerika (Eng *et al.*, 2015). *Salmonella thypii* merupakan bakteri gram negatif, motil, batang, aerobik, tidak menghasilkan spora, memiliki flagel, berkapsul, dan masuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Mampu memfermentasi glukosa dan manosa namun tidak terhadap laktosa dan sukrosa (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

2.2.1. **Klasifikasi**

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacterales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhimurium</i>

2.2.2. Morfologi

Salmonella thypi merupakan bakteri batang gram negatif, tidak membentuk spora, motil, berkapsul dan memiliki flagella (rambut getar). Bakteri ini dapat bertahan hidup pada pH 6-8 pada suhu 15-41°C (suhu optimal 37°C). Mengalami kematian dengan pemanasan pada suhu 54,4°C selama 1 jam dan 60°C selama 15-20 menit, pendidihan, dan khlorinisasi (Kasim, 2020).

Bakteri *salmonella thypi* tersusun atas dinding sel yang dibagian luarnya terdapat kapsul dan isi sel, tapi tidak mengandung endomembrane dan organel bermembran (kloroplas dan mitokondria). Bakteri ini memiliki struktur sel berupa flagella, dinding sel, membrane sel, mesosoma, sitoplasma, ribosom, endospore, lembaran fotosintetik, DNA, dan plasmid (Kasim, 2020).

Dinding selnya tersusun dari polisakarida yang berikatan dengan protein (peptidoglikan) yang berfungsi mempertahankan struktur tubuh dari bakteri dan melindungi sel. Susunan peptidoglikannya berada di antara membrane plasma dan membrane luar dalam jumlah sedikit, hal ini lah yang mendasari penggolongan bakteri gram negative atau positif. Setidaknya struktur dinding sel peptidoglikan pada bakteri gram negative adalah 10-20%, diluarnya terdapat struktur membrane yang tersusun dari protein fosfolipida dan lipopolisakarida yang saat cat dengan pewarnaan gram menghasilkan warna merah. Pada bagian luar dinding sel terdapat kapsul yang tersusun atas senyawa glikoprotein dan berfungsi untuk mempertahankan diri terhadap sistem imun sel host dan melindungi sel dari kekeringan (Kasim, 2020).

Dinding sel dari bakteri *Salmonella typhi* tersusun atas 20% lipoprotein dan 80% lapisan fosfolipid dan LPS. Kandungan lipid A, oligosakarida, dan polisakarida pada LPS menjadi penentu dalam sifat antigenic dan aktivitas eksotoksi suatu bakteri. Lipid A adalah asam lemak jenuh yang berperan dalam menentukan aktivitas dari endotoksi LPS terhadap dampak klinis dan imunologis yang ditimbulkan (Kasim, 2020).

2.2.3. Jenis Antigen pada Salmonella typhi

2.2.3.1. Antigen O (Antigen Somatik)

Berasal dari dinding sel lapisan luar dari bagian tubuh bakteri, memiliki struktur kimia *liposakarida* (endotoksin). Antigen O dapat menurunkan kepekaan bakteri terhadap komplemen, host kationik protein dan interaksi dengan makrofag. Antigen ini memiliki sifat hidrofilik, tahan terhadap pemanasan di suhu 100 C selama 2-5 jam dan alkohol 96%, ethanol 96% selama 4 jam pada suhu 37 C, namun tidak tahan terhadap formaldehid (Jawetz *et al.*, 2004). Antigen O kurang bersifat imunogenik dan aglutinasinya berlangsung secara lambat. Sehingga apabila digunakan sebagai bahan uji serologi kurang bagus, karena terdapat 67 faktor antigen yang berbeda untuk setiap spesies (Kasim, 2020).

2.2.3.2. Antigen H (Antigen Flagella)

Tertelak pada bagian flagella dan pili dari bakteri. Flagel tersusun atas badan basal yang menempel pada bagian sitoplasma dinding sel kuman, dengan struktur protein yang tahan terhadap formaldehid, namun tidak tahan pada panas dan alkohol pada suhu 60°C. Sedangkan komponen *the hook* dan filamen pada flagel tersusun atas protein polimerase yang disebut sebagai flagelin dengan berat molekul sebesar 51-57

kDa, sebagai bahan yang digunakan dalam pemeriksaan asam nukleat bakteri *Salmonella thypi*. Antigen H pada bakteri ini terdiri atas 2 fase yaitu fase 1 (fase spesifik) dan fase II (fase non spesifik) (Kasim, 2020).

Merupakan jenis antigen yang labil pada suhu tinggi (*heat labille protein*), sensitif terhadap alkohol dan pemanasan, namun dapat bertahan pada larutan formaldehid dengan konsentrasi 0,2 – 0,4%. Antigen H secara konstans mampu menginduksi proses pembentukan antibodi IgG selama infeksi berlangsung. Suspensi dari antigen H dapat membentuk aglutinasi yang tampak jelas secara makroskopis. Ekspresi gen terhadap antigen H cenderung tampak dalam dan atau dua fase yaitu fase 1 dan fase 2. Eskpresi gen tersebut berkaitan dengan evolusi bakteri dalam berinteraksi dengan sistem imunitas (Hassan et al., 2021)

2.2.3.3. Antigen Vi (Antigen Envelope)

Terletak pada bagian kapsul dan tersusun atas polimer polisakardia yang sifatnya asam, pada bagian luarnya bersifat termolabil, sehingga antigen jenis ini dapat rusak pada suhu 60°C selama 1 jam dan sensitive terhadap asam serta fenol (Kasim, 2020). Antigen Vi memiliki kemampuan menghindar dari mekanisme imun fagositosis dan menghambat aktivasi komplemen C3 (Hassan et al., 2021).

2.2.3.4. Antigen Outer Membrane Protein

Outer membrane protein adalah bagian dinding sel yang terletak di luar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. Protein ini bertindak sebagai barrier fisik dalam mengendalikan zat atau cairan yang akan masuk kedalam membrane sitoplasma, serta sebagai reseptor

untuk bakteriofag dan bakteriolisin (Nasrudin *et al.*, 2007). Protein ini diekspresikan oleh gen *AsmA*, saat terjadi mutasi maka membrane terluarnya akan berubah sifat menjadi semakin resistan terhadap cairan empedu dengan peningkatan ekspresi dari *marRAB*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Priteo *et al* (2009) mengatakan bahwa aktivasi dari transkripsi *marRAB* pada kondisi hilangnya gen *AsmA* merupakan akibat tidak langsung atas perubahan struktur dari OMP (Liu *et al.*, 2016). Gen ST50 (1476 bp) juga diketahui sebagai prekursor Omp TolC dengan berat molekul sebesar 50kDa. Gen ini merupakan komponen yang berperan dalam *multi-drug efflux system* pada *Salmonella typhi*. Secara spesifik gen ini ditemukan pada genom *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhi strain Ty2 yang merupakan pathogen spesifik penyebab demam tifoid dan CT18. Pada strain CT18 cenderung memiliki sifat lebih resisten terhadap antibiotik dibandingkan Ty2 (Guan *et al.*, 2015).

Saat ini banyak dilakukannya penelitian terkait peranan OMP *Salmonella typhi* sebagai alat dalam penegakan diagnosis penyakit. Adapaun protein mayor dari OMP dengan berat molekul 52 kDa berperan sebagai antigen dalam mendeteksi keberadaan antibodi pada penderita demam tifoid karena sifatnya yang mampu mengaktivasi IgM pada fase akut (Murwani *et al.*, 2002).

Salmonella enterica serovar typhi mengekspresikan 2 kode gen OMP yaitu asam amino-373 (berat molekul 41 000) dan asam amino-362 (berat molekul 40 000) (Moreno-Eutimio *et al.*, 2013). OMP terdiri dari dua bagian yaitu protein porin dan protein non porin. Protein porin merupakan komponen utama yang posisinya berada pada 2 lapis lipid pada permukaan bakteri, dimana berperan langsung dalam proses

patogenesis. Terdiri dari protein OMP B, OMP C, OMP D, OMP F yang merupakan saluran hidrofilik, berperan dalam difusi solut. OmpS1 dan OmpS2 juga ditemukan pada beberapa strain, namun jumlahnya sedikit dibandingkan dengan OmpC dan OmpF. OmpS1 berperan dalam *swarming* dan pembentukan biofilm (Moreno-Eutimio et al., 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Toledo *et al* (2017) mengatakan bahwa dari hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya bawasannya protein porins secara efektif dapat mengaktifkan APCs dan menginduksi ekspresi dari molekul *costimulatory*, serta produksi sitokin melalui sinyal TLR2, TLR4, dan MyD88. Pada penelitiannya pun memaparkan bawasannya porins mampu meningkatkan proliferasi dari sel T CD4⁺ spesifik OVA menghasilkan respon antibodi yang bertahan cukup lama, sehingga protein tersebut digunakan sebagai bahan vaksin. *Co-immunization* dengan porin mampu mempromosikan produksi IFN- γ , IL-17A, dan IL-2 (Pérez-Toledo et al., 2017).

OmpC merupakan protein porin utama (*major surface antigen*) pada *Salmonella thyphi*, yang memiliki struktur homotrimer. Monomer OmpC setidaknya terdapat 357 dengan berat molekul 39 kDa. Melalui penelitian sebelumnya diketahui bahwa OmpC terdiri atas 8 variabel region dengan struktur menyerupai kristal. Variabel *region* tersebut terdapat pada membrane terluar dari bakteri sehingga mudah dikenali oleh sel B dan menginduksi respon imun (Saxena, 2017).

OmpF bertanggung jawab atas terjadinya translokasi antibiotik, dengan struktur homotrimer pada unit fungsionalnya. Setiap monomernya memiliki berat molekul

sebesar 37 kDa membentuk struktur β -barrel. Porin ini membentuk lubang 3 saluran setiap trimernya, berguna dalam proses mikrodifusi molekul hidrofilik kecil seperti nutrisi, antibiotik, dan produk sisa (Saxena, 2017).

Sedangkan protein non porin terdiri atas OMP A, protein A, dan lipoprotein yang sensitif terhadap protease dan belum memiliki fungsi yang jelas. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya melaporkan bahwa OMP-A bekerja sebagai reseptor bagi bakteriolisin dan menjaga integritas dari OMP. Protein A merupakan protein lipoprotein dan diperkirakan berfungsi mengatur struktur primer dari kerangka *outer membrane peptidoglikan* agar stabil (Nugraha, 2007).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Lee et al (2010) untuk mengetahui karakter dan fungsi dari OmpA-sal dalam respon imun non spesifik dan adaptif terhadap infeksi *Salmonella thypi*. Menurut penelitian tersebut diketahui bahwa OmpA-sal mampu mengaktivasi sel dendritik hasil derivat dari sumsum tulang belakang melalui meningkatkan ekspresi dari CD80, CD86, dan molekul MHC kelas I dan II (major histocompatibility complex classes I dan II). OmpA-sal juga mampu menginduksi respon imun adaptif dengan mengaktivasi sel dendritik dan mengatur polarisasi dari Th1, dimana informasi tersebut dimanfaatkan sebagai salah satu dasar dalam pengembangan vaksin dan terapi imun yang efektif (Lee et al., 2010).

2.2.4. Patogenesis *Salmonella thypi* Terhadap Host

Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi*. Penularannya dapat berasal dari makanan dan atau minuman tercemar yang masuk ke dalam tubuh secara oral. Pada dasarnya bakteri salmonella merupakan bakteri

yang sensitif terhadap asam kecuali beberapa strain yang resistan terhadapnya. Sesampainya bakteri ke dalam lambung, sistem pertahanan non spesifik yang dilakukan oleh tubuh adalah dengan kekuatan peristaltik usus dan barrier di lambung berupa flora normal anaerob di usus yang akan menghalangi pertumbuhan bakteri dengan pembentukan asam lemak rantai pendek, membuat suasana sekitar menjadi asam. Namun karena beberapa faktor seperti jumlah mikroorganisme yang masuk terlalu banyak, daya tahan tubuh seseorang, status gizi, dan kondisi asam lambung menentukan apakah mikroorganisme tersebut dapat melewati barrier asam atau tidak. Bakteri dapat menimbulkan infeksi bila jumlah yang tertelan melalui makanan dan atau minuman mencapai 10^5 sampai dengan 10^9 (Kasim, 2020).

Saat bakteri mampu bertahan dari mekanisme imun non spesifik di lambung, selanjutnya akan masuk ke usus halus dan menembus sel-sel epitel. Kemudian mencapai kelenjar limfe mesentrial, pembuluh limfe, duktus torasikus dan masuk ke peredaran darah hingga terjadi bakterimia pertama setelah 24-72 jam pasca tertelan tanpa disertai gejala. Kemudian bakteri akan segera tertangkap oleh RES (sistem retikuloendotalial) terutama pada organ hati dan sumsum tulang. Organ pertama yang sering diserang ialah usus, limpa dan kandung empedu. Dari kandung empedu bakteri akan menuju ke usus halus untuk melakukan invasi ke jaringan limfoid (plak peyer) tempat predileksi untuk berkembang biak (Kasim, 2020).

Apabila jumlah bakteri intrasel telah mencapai tahap kritis, sel retikuloendotalial atau makrofag akan melepaskan bakteri yang ada untuk masuk kembali ke dalam peredaran darah (bakterimia II) selama 7 sampai 14 hari, pada periode

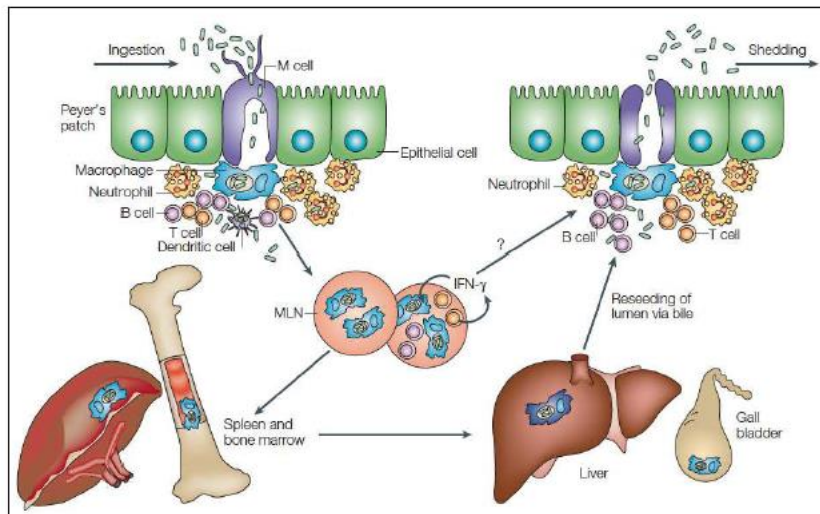
waktu inilah gejala klinis mulai tampak. Pada saat itu pula bakteri pada kandung empedu akan mengalami re-infeksi pada organ usus melalui duktus toratikus dengan jumlah populasi yang lebih besar (Kemenkes RI, 2006).

Di usus bakteri akan menyebabkan beberapa kelainan lokal, yang diawali dengan terlokalisirnya bakteri pada plaque payeri di ileum bagian bawah hingga menembus mukosa melalui sel M (sel khusus yang terletak diatas plaque) sehingga bakteri menumbulkan respon inflamasi yang menyebabkan ulserasi dan pendarahan usus. Kemudian saat respon imunitas selular tubuh mulai muncul, makrofag menjadi aktif dan mampu memusnahkan bakteri intraseel hingga terjadilah respon infalamsi yang cepat dengan pelepasan mediator-mediator dalam jumlah yang cukup besaar mengakibatkan kerusakan jaringan usus dan peforas (Kasim, 2020).

Bakteri Salmonella menghasilkan endotoksin (kompleks liposakarida) yang berperan dalam patogenitas di demam tifoid. Endotoksin tersebut bersifat pirogenik dan mampu memperbesar reaksi peradangan dimana bakteri tersebut berkembang biak. Selain itu merupakan stimulator yang kuat dalam memproduksi sitokin oleh sel-sel makrofag dan sel leukosit di jaringan yang meradang. Sitokin tersebut sebagai mediator timbulnya demam dan gejala proinflamantori. Bakteri ini juga memiliki sifat intraseluler, sehingga hampir semua bagian tubuh dapat terserang dan terkadang pada jaringan tersebut dapat timbul fokal-fokal infeksi (Most, 2014).

Kelainan patologis yang sering terjadi adalah pada bagian dileum usus halus bagian kelenjar plek peyer. Pada minggu pertama, plek peyer terjadi hiperpleasia berlanjut hingga mengalami nekrosis pada minggu kedua dan ulserasi pada minggu ke-

3, kemudian terbentuklah ulkus. Ulkus tersebut mudah mengalami pendarahan dan perforasi. Organ hati pun dapat membesar akibat infiltrasi sel-sel limfosit dan sel mononuclear lainnya serta nekrosis fokal. Proses inflamasi tersebut juga dapat terjadi pada jaringan retikuloendotelial lain seperti limpa dan kelenjar mesentrika (Most, 2014).



Gambar 2.1. Interaksi *Salmonella thypi* dengan sel host (Most, 2014).

Kandung empedu dapat menjadi tempat karier bila penyembuhan terhadap infeksi bakteri *Salmonella* tidak sempurna, yang kemudian dapat mengalir kedalam usus menjadi karier intestinal. Selain itu juga terdapat *urinary carrier* dimana bakteri terkandung didalam ginjal dalam waktu yang cukup lama. Keadaan ini memungkinkan penderita mengalami relaps (Kasim, 2020).

2.2.5. Sistem Imunologi dan Interaksinya dengan *Salmonella thypi*

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan pertama terhadap suatu infeksi, namun kurang efisien dalam memerangi suatu pathogen. Salah satu contoh

dari respon imun non spesifik adalah makrofag, DCs dan neutrophil, sel mast, basophil, eosinophil, sel NK, *subset* dari sel T, dan $\gamma\delta$ sel T. Komplemen termasuk dalam respon humoral pada sistem imun non spesifik (Most, 2014).

Sebelum memasuki mekanisme pertahanan, sistem imun adaptif berada pada fase lag dan akan teraktivasi saat mendapatkan sinyal dari sistem imun non spesifik dan sel efektor. *Cytotoxic T- cells* dan sel plasma merupakan bagian dari sel efektor yang akan mensekresikan antibodi spesifik terhadap suatu antigen. Oleh karena itu, respon pertahanan yang dihasilkan akan lebih efisien terhadap suatu pathogen. Setelah itu akan dihasilkan antibodi memori terhadap pathogen tersebut, sehingga memberikan respon pertahanan yang lebih cepat saat terjadi reinfeksi (Most, 2014).

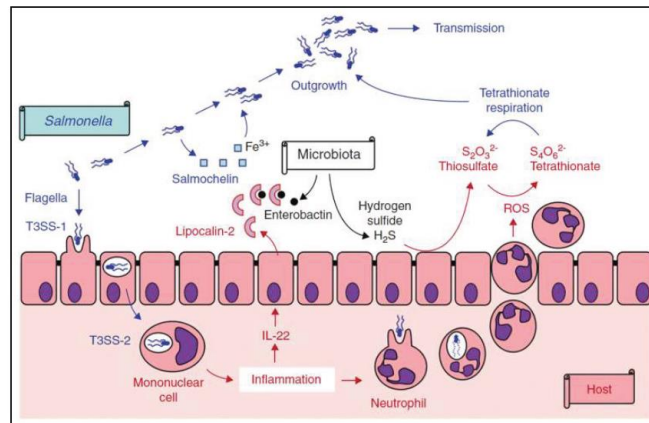
Saluran intestinal merupakan rumah bagi 100 miliar mikroorganisme, mereka disebut sebagai *microbiome* dan memiliki peran penting bagi sel host, seperti membantu metabolisme vitamin K, folat, dan asam lemak rantai pendek, serta sebagai mediator dalam pemecahan bahan karsinogen. Keberadaannya pun dibutuhkan oleh sistem pertahanan sel host, ketidakhadiran diri *microbiome* akan berkaitan dengan penurunan pergantian sel mukosa (*mucosal cell turnover*), vaskularitas, ketebalan dinding otot, produksi sitokin, aktivitas enzim pencernaan, dan penurunan kualitas dari *cell-mediated immunity*, serta mampu melindungi host dari mikroorganisme luar dengan cara mensekresikan antimikroba (Most, 2014).

Saluran intestinal memiliki mucus tebal yang dimanfaatkan sebagai pertahanan fisik pertama apabila mengalami infeksi. Mucus tersebut disekresikan oleh sel goblet dan *glycocalyx*. Pada mucus mendapatkan IgA yang disekresikan dari sel

plasma di villi lamona propria oleh sel epitel, dan memiliki kandungan antimikroba yang disekresikan oleh sel Paneth (Most, 2014).

Sel epitel pada intestinal dapat mengekspresikan *pattern recognition receptors* (PRR) seperti *Toll-like receptors* (TLR) atau *nuclear oligomerization domain* (NOD) *like reseptor* (NLR) dalam mengenali mikroorganisme. Setelah itu mengarahkan kepada produksi dan sekresi molekul efektor antimikroba dan sekresi basolateral berupa sitokin proinflamantori. Di beberapa lokasi pada ileum terdapat folikel limfoid yang disebut *peyer's patches*. *Peyer's patches* berfungsi dalam mengenali antigen dan menginduksi reaksi imun, serta menstimulasi penetrasi dari sel M (Most, 2014).

Pada saat pertama kali terjadi infeksi, bakteri *Salmonella thyphi* akan berhadapan dengan pH asam pada lambung. Namun terdapat beberapa strain bakteri yang dapat lolos karena resisten karena memiliki sistem *pho-PQ two-component* dan *alternate sigma factor RpoS*. Pada saluran intestinal bakteri tersebut akan dihadang oleh flora normal, namun dapat menginduksi terjadinya inflamasi di *T3SS-1 dependent* dimana terdapat beberapa protein efektor yang bertindak sebagai pro atau anti inflamasi. Saat terjadi inflamasi, *Salmonella* mampu memecah *ethanolamine* sebagai sumber karbon dengan senyawa tetrathionate yang dihasilkan oleh PMNs pada lumen intestinal sebagai produk ROS. Senyawa tetrathionate digunakan sebagai akseptor elektron yang menyebabkan bakteri dapat hidup secara anerobik. Selain itu *Salmonella* dapat mengubah muatan ion pada lapisan dinding LPSnya, guna menghindar dari sistem pertahanan dan antimikroba (Most, 2014).



Gambar 2.2. Mekanisme pertahanan bakteri *Salmonella typhi* terhadap microbiome (Most, 2014).

Toll-like receptors merupakan reseptor intraselular dan *cell-surface* yang mampu mengenali produk mikroba sebagai *pathogen-associated molecular patterns*. Proses pengiriman sinyal melalui TLR2 dan TLR4 penting dalam munculnya respon antibodi terhadap porin OmpC/OmpF *Salmonella typhi* (Moreno-Eutimio et al., 2013). Bersama dengan makrofag, bersama akan mengenali komponen lipoarabinomannan (LAM) dinding sel bakteri. TLR4 akan membentuk faktor transkripsi dan respon pertahanan yang bersama makrofag akan menghasilkan granul hasil dari produksi sitokin. Pada saat infeksi terjadi, sel host akan mensintesis sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan IL-6, IFN- γ dan TNF- α kemudian terjadilah inflamasi sistemik. Setelah seluruh sitokin disekresi maka sel T helper 1 (Th1) dan T helper 2 (Th2) akan teraktivasi. Namun perlu ada keseimbangan antara sitokin proinflamasi dengan antiinflamasi guna mengontrol kerusakan host akibat inflamasi yang berlebihan (Kasim, 2020).

2.3. Pemeriksaan Laboratorium

2.3.1. Pemeriksaan Bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi berupa kultur merupakan *gold standard* dalam penegakan diagnosis dari demam tifoid. Namun hasil yang diberikan bergantung pada patogenitas kuman, prognosis penyakit, dan waktu pengambilan. Biakan dari sampel darah terhadap bakteri *Salmonella* biasanya memberikan hasil positif sebesar 70-90% pada minggu pertama sakit, dan menurun hingga 50% saat memasuki akhir minggu ketiga. Pembiakan dari sampel tinja biasanya hanya memberikan hasil positif sebesar 10-15% pada minggu pertama dan meningkat hingga minggu ketiga sebesar 75%, namun setelah itu mengalami penurunan secara konstan dan perlahan. Pembiakan dari sampel urin memberikan hasil positif setelah minggu pertama, sedangkan biakan dari sampel sumsum tulang cenderung memberikan hasil yang lebih adekuat karena akan memberikan hasil positif selama fase akut dan kronis hingga fase penyembuhan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hoffman *et al* bahwa biakan sumsum tulang lebih sensitive (92%) secara bermakna dibandingkan dengan biakan darah (62%), biakan klot streptokinase (51%), dan biakan usap dubur (56%). Sedangkan melalui penelitian yang dilakukan oleh Gilman *et al* didapatkan bahwa dari 62 pasien demam tifoid yang hampir sebagian besar diantaranya mendapatkan terapi, biakan dari sampel sumsum tulang pada 56 pasien (90%) didapatkan hasil positif, sedangkan biakan darah, tinja, dan urin masing-masing didapatkan hasil positif pada 25 pasien (40%), 23 pasien (37%), dan 4 pasien (7%). Berdasarkan dari informasi diatas, metode pembiakan bakteri memiliki beberapa kendala diantaranya (1). Memerlukan waktu yang cukup panjang sekitar 5-7 hari, (2) memiliki metode yang kurang praktir terutama

pada laboratorium yang kurang memiliki sarana prasarana laboratorium memadai (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

2.3.2. Pemeriksaan Serologi

2.3.2.1. Uji Serologis Widal

Pemeriksaan widal merupakan uji serologi standar dan rutin yang digunakan sebagai penunjang diagnosa demam tifoid sejak tahun 1896. Prinsip dari uji widal adalah reaksi antara serum pasien dengan pengenceran bertahap ditambah bersama antigen dengan jumlah volume yang sama, ikatan diantara keduanya tampak secara makroskopis dalam bentuk aglutinasi. Pengenceran dilakukan guna mengetahui titer antibodi dalam serum. Uji widal sebenarnya tidak spesifik karena semua golongan *Salmonella* grup D memiliki antigen O yang sama (Ag O 9 dan 12), namun Ag O 12 juga dimiliki oleh *Salmonella paratyphi A* dan *B*, semua *Salmonella* grup D memiliki antigen H d fase 1, dan titer antibodi H masih tinggi dalam waktu yang lama pasca-infeksi. Selain itu uji widal memiliki tingkat sensitivitas yang rendah, karena kultur positif yang bermakna tidak selalu memberikan hasil yang sebanding dengan kadar antibodi (antibodi tidak muncul pada masa awal infeksi) dan sifatnya bervariasi sehingga sering tidak ada kaitannya dengan gambaran klinis penyakit, serta dalam jumlah yang cukup besar (>15%) tidak terjadi kenaikan titer yang bermakna (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

Kelemahan dari uji widal adalah rendahnya sensitivitas dan spesifisitas, serta hingga saat ini belum ada kesepakatan perihal nilai standar aglutinasi (*cut-off point*). Selain itu terdapat potensi adanya hasil negative palsu saat uji dilakukan terlalu dini

pada masa infeksi dan sudah mendapatkan terapi antibiotic. Hasil positif palsu dapat terjadi saat adanya reaksi silang dengan bakteri gram negatif lainnya (Kasim, 2020).

2.3.2.2. Dot Enzyme Immunosorbent Assay

Metode ini merupakan uji serologi yang semakin dikembangkan, dimana dilakukan pelacakan terhadap antibodi spesifik terhadap *Salmonella thypi*. Beberapa penelitian menyatakan bahwa adanya protein spesifik pada permukaan luar bakteri dapat dijadikan antigen dalam sistem pendeteksi antibodi IgM dan IgG. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa OMP atau membrane luar dari *Salmonella thypi* memiliki berat molekul 50kDa bersifat spesifik terhadap serum pasien demam tifoid dibandingkan dengan hasil biakan bakteri positif penderita. (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

Perbedaan presentase hasil pemeriksaan thypidot dengan metode kultur adalah >93%, dan dapat memprediksikan hasil positif setelah 2-3 hari setelah infeksi, serta dapat mengidentifikasi antibodi IgM dan IgG secara spesifik (Mangarengi, 2019).

2.3.2.3. Uji Serologi Pemeriksaan Antigen

Salah satu cara pelacakan antigen spesifik terhadap *Salmonella thypi* menggunakan teknik aglutinasi lateks yang telah dilapisi oleh antibodi monoclonal IgM *Salmonella* 0-9, memberikan hasil tes yang cukup singkat dengan sensitivitas 87,5 – 97,8% dan spesifisitas sebesar 100%. Namun pada penelitian yang sebelumnya sudah dilakukan oleh Chaicumpa didapatkan hasil sensitivitas sebesar 65% dan spesifisitas 100% dengan sampel urin. Sedangkan menggunakan antibodi monoclonal terhadap antigen flagel d-H dengan sampel serum dan didapatkan hasil sensitivitas sebesar 96%

dan spesifisitas 92%. Variasi hasil yang didapatkan tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jenis antigen, jenis spesimen yang diperiksa, jenis antibodi yang digunakan dalam kit pemeriksaan (poliklonal atau monoclonal), dan waktu pengambilan spesimen yang berkaitan dengan prognosis penyakit (akut atau kronis) (Retnosari & Tumbelaka, 2016).

2.3.3. Pemeriksaan secara molekuler

Metode lain dalam mengidentifikasi bakteri *Salmonella thypi* dengan spesifik adalah dengan cara mendeteksi DNA gen flagellin bakteri melalui teknik hibridisasi atau amplifikasi DNA menggunakan alat PCR. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Haque *et al.* (1999) bahwa spesifisitas dari teknik PCR adalah 100% dengan sensitivitas 10 kali lebih baik daripada penelitian sebelumnya dimana mampu mendeteksi 1-5 bakteri/mL. Namun layaknya uji laboratorium lainnya yang memiliki kendala pada prosedurnya pemeriksaanya, begitupun dengan PCR. Metode ini memiliki risiko kontaminasi sehingga menyebabkan hasil positif palsu, pelaksanaan teknisnya akan terhambat saat spesimen yang digunakan mengandung hemoglobin, heparin, bilirubin, dan garam empedu), memakan biaya yang cukup tinggi, dan teknis pelaksanaan yang cukup rumit (Kasim, 2020).