

PERBANDINGAN PEMERIKSAAN UJI TUBEX TF DENGAN UJI WIDAL DALAM MENDIAGNOSIS DEMAM TIFOID

Haryanto Surya *, Budi Setiawan *, Hamzah Shatri **, Aru W.Sudoyo ***, Tony Loho ****
* Dept Tropik Infeksi, ** Dept Psikosomatik, ***Dept Hematologi, **** Dept Patologi Klinik
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Latar belakang.

Demam tifoid adalah penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh kuman *Salmonella enterica serotipe typhi* dan dikenal dengan nama *Salmonella typhi* (*S. typhi*). Merupakan penyakit endemis pada beberapa negara seperti India, Amerika Tengah, Asia Selatan termasuk Indonesia. Hal ini juga dikaitkan dengan kepadatan penduduk, urbanisasi, higiene dan juga sanitasi lingkungan yang kurang baik serta mudahnya transportasi saat ini yang mempermudah penyebaran penyakit.¹

Di seluruh dunia diperkirakan terdapat 16 juta kasus baru setiap tahunnya dengan angka kematian sebesar 600.000 jiwa. Laporan WHO menyebutkan terjadi 900.000 kasus baru di Indonesia setiap tahunnya dengan jumlah kematian lebih dari 20.000 orang.¹ Menurut Departemen Kesehatan RI telah terjadi peningkatan angka kejadian antara tahun 1990 dan 1994 dari 9,2 menjadi 15,41 per 10.000 penduduk.² Jumlah kasus demam tifoid yang dilaporkan Departemen kesehatan RI hingga penghujung tahun 2005 tercatat sebanyak 25.270 kasus.³ Beberapa penyakit yang secara klinis sulit dibedakan dengan demam tifoid yang sering menyebabkan kesalahan diagnosis antara lain demam dengue, malaria, meningitis dan penyakit demam lainnya. Kecepatan dan ketepatan metode diagnostik akan mempermudah pengobatan dan mencegah komplikasi yang berat dan fatal.^{1,3}

Diagnosis pasti demam tifoid ditegakkan berdasarkan hasil biakan empedu (kultur *Gaal*). Saat ini masih merupakan standar baku diagnosis, namun pada kenyataan sehari-hari sering memberikan hasil negatif. Hal ini disebabkan beberapa faktor antara lain pemakaian antibiotik sebelum pengambilan spesimen, waktu pengambilan sampel serta transportasi yang lama sehingga sensitivitas pemeriksaan juga menurun. Biakan empedu dari darah dapat mendeteksi sampai 70% kasus demam tifoid pada minggu pertama sakit tanpa pemakaian antibiotik sebelumnya.⁴ Biakan dari aspirasi sumsum tulang lebih sensitif, dapat mendeteksi hampir 80-95% kasus tifoid, bahkan pada mereka yang sudah mendapat terapi antibiotik sebelumnya.^{4,5} Namun cara ini jarang dilakukan karena bersifat invasif. Biakan dari urin maupun feses menyokong diagnosis klinik, namun hasil positif jarang ditemukan dan memerlukan pemeriksaan yang berulang-ulang.^{1,4,6}

Pemeriksaan lain yaitu PCR (*polymerase chain reaction*), berdasarkan penggandaan segmen DNA mikroorganisme, merupakan teknik biomolekuler yang sangat sensitif. Teknik ini telah digunakan pada berbagai infeksi seperti hepatitis, HIV, sitomegalovirus, tuberkulosis, gonore, klamidia, mikoplasma dan parasit seperti malaria dan toksoplasma. Zhu⁷ melaporkan, sensitivitas PCR *S. typhi* lebih dari 90% *in vivo* dan spesifisitas 100% *in vitro*. Prihatini⁸ mendapatkan sensitivitas PCR *S. typhi* sebesar 95% dan spesifisitas 100%. Nafrialdi⁹ mendapatkan sensitivitas PCR *S. typhi* sebesar 90,48%.

Pemeriksaan serologi Widal paling banyak digunakan sampai saat ini karena cukup sensitif dan hasil dapat diperoleh dalam waktu singkat, tetapi tidak spesifik karena hasil dapat juga positif pada infeksi *Salmonella non typhi* atau pada mereka dengan riwayat pernah terinfeksi kuman *Salmonella* atau pernah mendapat vaksinasi tifus. Nilai *cut off point* uji Widal dipengaruhi oleh derajat endemisitas di masing-masing daerah.^{5,10}

Pemeriksaan diagnostik serologi lain adalah pemeriksaan TUBEX TF, suatu pemeriksaan semi kuantitatif *in vitro* dengan prinsip mendeteksi adanya antibodi IgM terhadap antigen lipopolisakarida O9 pada kuman *S. typhi*. Antigen ini sangat spesifik terhadap *S. typhi* serogrup D. Lim¹¹ mendapatkan sensitivitas pemeriksaan TUBEX TF sebesar 100% dan spesifisitas 100%. Oracz¹² melaporkan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan TUBEX TF sebesar 92,6% dan 94,8%. Olsen¹³ melaporkan sensitivitas dan spesifisitas TUBEX TF sebesar 78% dan 94%. Razel¹⁴ melaporkan sensitivitas dan spesifisitas TUBEX TF sebesar 94,7% dan 80,4%. Sampai saat ini di Indonesia belum ada data mengenai pemeriksaan TUBEX TF, sehingga mendorong peneliti untuk mempelajari sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan ini dalam mendiagnosis demam tifoid.

Masalah penelitian

Dari latar belakang tersebut diatas, diketahui uji Widal kurang spesifik dalam mendiagnosis *S.typhi*. Apakah pemeriksaan TUBEX TF yang pada beberapa penelitian dilaporkan lebih sensitif dan spesifik dari uji Widal dapat mendiagnosis demam tifoid dengan lebih tepat ?

Hipotesis

Pemeriksaan TUBEX TF lebih sensitif dan spesifik dibandingkan uji Widal dalam mendiagnosis demam tifoid secara cepat dan tepat.

Tujuan penelitian

Tujuan umum

- Mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan TUBEX TF pada demam tifoid.

Tujuan khusus

- Mengetahui sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan TUBEX TF dalam mendiagnosis demam tifoid.
- Mengetahui perbandingan sensitivitas dan spesifisitas uji serologi TUBEX TF dengan uji Widal dalam mendiagnosis demam tifoid.

Manfaat penelitian

- Kecepatan dan ketepatan dalam mendiagnosis demam tifoid.

Data TUBEX-TF di berbagai penelitian

No	Peneliti/negara/tahun	Metode	Sensitifitas %	Spesifisitas %
1	Lim PL, Malaysia ¹¹	TUBEX	100	100
2	Oracz , Polandia ¹²	TUBEX	92,6	94,8
3	Olsen,, Vietnam ¹³	TUBEX	78	94
4	Razel, Filipina. ¹⁴	TUBEX	94,7	80,4

METODOLOGI PENELITIAN

Disain penelitian Penelitian ini merupakan studi diagnostik membandingkan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan TUBEX TF dengan pemeriksaan Widal dalam mendiagnosis demam tifoid.

Tempat dan waktu penelitian Penelitian ini dilakukan di ruang rawat Bagian Penyakit Dalam RSCM-FKUI Jakarta, Rumah Sakit Persahabatan Jakarta, dan RSUD Tangerang dari bulan Mei 2006 sampai Oktober 2006.

Populasi, sampel dan besar sampel

Populasi sampel adalah pasien rawat inap di RSCM, RSP dan RSUD Tangerang dengan kecurigaan menderita demam tifoid.

Perkiraan besar sampel.³⁵

Besar sampel diperkirakan dengan menggunakan rumus estimasi proporsi pada sampel tunggal :

$$n = \frac{Z\alpha^2 \{P \times (100\%-P)\}}{d^2}$$

Dengan mengambil nilai α sebesar 0,05 ; interval kepercayaan 95% dan ketepatan absolut (d) sebesar 15%, maka berdasarkan perkiraan sensitivitas Widal (*cut off* titer O 1/160) sebagai kriteria tunggal sesuai penelitian Loho dkk yaitu sebesar 70 % diperoleh jumlah sampel sebanyak

$$n = 1,96^2 \times [0,70 \times (1-0,70)] / 0,15^2 = 32 \text{ pasien.}^{37}$$

Pada penelitian ini yang lebih diutamakan adalah spesifisitas, maka dengan mengambil nilai α sebesar 0,05 ; interval kepercayaan 95% dan ketepatan absolut (d) sebesar 15%, spesifisitas Widal (*cut off point* titer O atau H 1/160) sebesar 90 % , diperoleh jumlah sampel sebanyak $n = 1,96^2 \times [0,90 \times (1-0,90)] / 0,15^2 = 15$ pasien.

Berdasarkan perkiraan spesifisitas TUBEX TF terendah yaitu sebesar 80,4% diperoleh jumlah sampel $N = 1,96^2 \times [0,80 \times (1-0,80)] / 0,15^2 = 24$ pasien. Jadi minimal dibutuhkan 24 pasien *definite* demam tifoid. Dengan perkiraan proporsi biakan *S. typhi* positif (50%), maka jumlah subjek yang diperlukan sebesar $100/50 \times 24 = 48$ pasien

Pemilihan subyek penelitian

Kriteria inklusi

Pasien laki-laki atau perempuan usia 18-60 tahun yang dirawat inap dengan kecurigaan demam tifoid (sesuai skor Nelwan ≥ 8) di Departemen Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, Rumah Sakit Persahabatan, Jakarta dan Rumah Sakit Umum Daerah Tangerang.

Kriteria eksklusi

- Menderita gejala demam tifoid dalam 2 bulan terakhir (berdasarkan anamnesis gejala klinik demam tifoid sesuai skor tifoid dari Nelwan).
- Penyakit dasar yang potensial menimbulkan hasil negatif palsu pada pemeriksaan Widal seperti imunokompromi, leukopenia berat (leukosit $< 1.000/\text{ul}$), TB Paru luas, TB ekstra paru, HIV, penyakit autoimun sistemik, wanita hamil dan lain-lain (berdasarkan anamnesis).
- Serum sampel ikterik, darah lisis atau lipemik.

Cara kerja:

Pada setiap pasien yang memenuhi kriteria penerimaan dilakukan pemeriksaan yang meliputi :

Anamnesis mengenai lama dan pola demam, riwayat perjalanan ke daerah endemis malaria, dan riwayat pengobatan. Selain itu juga ditanyakan tentang gejala subjektif seperti sakit kepala, mual, muntah, diare, konstipasi, nyeri perut, napsu makan, dan susah tidur.

Pemeriksaan fisik meliputi suhu tubuh, kesadaran, adakah bradikardi relatif, lidah tifoid (lidah kotor/berselaput dengan pinggir hiperemis dan tremor), dan melena (ditemukannya darah kehitaman secara makroskopis pada feses, atau dengan pemeriksaan colok dubur).

Pemeriksaan Laboratorium meliputi pemeriksaan PCR *S.typhi* dikirim ke **Laboratorium Bio Medika** sebanyak 5 ml (darah EDTA), pemeriksaan Widal dan TUBEX TF (darah beku 5 ml) dikirim ke **Laboratorium Prodia Kramat**, pemeriksaan Kultur *S.typhi* dikirim ke **Laboratorium Prodia Kramat** sebanyak 5 ml dalam media Gaal.

Hasil akan dibandingkan dengan baku emas PCR *S.typhi* dan atau biakan *S.typhi* positif. Sensitivitas dan spesifisitas TUBEX TF dihitung berdasar tabel 2 x 2 berikut:

Tabel 4.1. Tabel 2 Kali 2 untuk menunjukkan uji diagnostik TUBEX TF dibandingkan dengan baku emas (PCR dan atau biakan *S.typhi*)

		PCR dan atau biakan <i>S.typhi</i>		
		Positif	Negatif	Jumlah
TUBEX TF	Positif	A	B	A+B
	Negatif	C	D	C+D
	Jumlah	A+C	B+D	A+B+C+D

$$\text{Sensitivitas} = A/(A+C)$$

$$\text{Spesifisitas} = D/(B+D)$$

$$\text{Nilai prediksi positif} = \{A/(A+B)\}$$

$$\text{Nilai prediksi negatif} = \{D/(C+D)\}.$$

Rasio kemungkinan positif = $A/(A+C) : B/(B+D)$
= sensitivitas : (1-spesifisitas)
Rasio kemungkinan negatif = $C/(A+C) : B/(B+D)$
= (1-sensitivitas) : spesifisitas

HASIL PENELITIAN

Karakteristik subyek

Pada penelitian ini dari Mei 2006 sampai Oktober 2006 telah dikumpulkan sebanyak 54 sampel darah dengan gejala klinik demam tifoid (sesuai skor tifoid dari Nelwan ≥ 8). Dari 54 sampel tersebut, hanya 52 sampel yang dapat dihitung datanya karena terdapat 2 sampel serum darah yang ikterik sehingga tidak dapat dilakukan pemeriksaan TUBEX TF.

Berdasarkan tempat pengambilan 52 sampel tersebut diatas, 32 sampel berasal dari RSP, 19 sampel dari RSUD Tangerang, dan 1 sampel dari RSCM.

Tabel 5.1 Sebaran jenis kelamin dan usia pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

Karakteristik demografik	n	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	27	52
Perempuan	25	48
Usia		
< 20 th	12	23,0
21-30 th	28	53,8
31-40 th	6	11,5
41-50 th	5	9,6
51-60 th	1	1,9
Rerata : 27,1 th	Jumlah : 52	

Pada pemeriksaan laboratorium pasien demam tifoid, seringkali didapatkan leukopenia (leukosit $< 5.000/ul$) dan trombositopenia (trombosit $< 150.000/ul$). Gambaran leukopenia dan trombositopenia pada kasus dengan kecurigaan demam tifoid dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Gambaran leukosit dan trombosit pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

Laboratorium	n	%
Leukopeni (leukosit $<5.000/ul$)	29	55,7
Trombositopenia (trombosit $<150.000/ul$)	36	69,2

Gambaran klinik

Gejala klinik penderita demam tifoid dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Gambaran klinik pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

Gejala/ tanda	n	%
Demam (> 37,8°C) < 1 minggu	12	23,1
Sefalgia	39	75,0
Rasa lemas	39	75,0
Mual	49	94,2
Nyeri perut	36	69,2
Anoreksia	45	86,5
Muntah	27	51,9
Gangguan motilitas sal.cerna	32	61,5
Susah tidur	29	55,7
Hepatomegali	14	26,9
Splenomegali	1	1,9
Demam (>37,8°C) > 1 minggu	40	76,9
Bradikardi	6	11,5
Lidah tifoid	42	80,8
Feses hitam	-	-
Apatis	-	-

Hubungan antara lamanya demam dengan kemungkinan positif baik pada pemeriksaan biakan ataupun PCR *S.typhi* dapat dilihat pada table 5.4

Tabel 5.4. Hubungan antara lamanya demam dengan PCR dan atau biakan *S.typhi* pada pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

Lama demam	PCR dan atau biakan <i>S. typhi</i>		Total
	Positif	Negatif	
< 1 minggu	6	6	12
> 1 minggu	26	14	40

Gambaran pemeriksaan TUBEX TF berdasarkan lamanya demam dapat dilihat pada tabel 5.5 dibawah ini.

Tabel 5.5 Gambaran pemeriksaan TUBEX TF sesuai lama demam pada pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

Tabel 5.6 Hubungan antara TUBEX TF dengan PCR dan atau biakan *S.typhi* pada pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

TUBEX TF	PCR dan atau biakan <i>S.typhi</i>		Total
	Positif	Negatif	
Positif	32	2	34
Negatif	0	18	18
Total	32	20	52

Keterangan :

Dari data diatas, berdasarkan perhitungan statistik didapatkan sensitivitas sebesar 100%, spesifisitas sebesar 90%, nilai duga positif (NDP) sebesar 94,1% dan nilai duga negatif (NDN) sebesar 100%. Rasio kemungkinan positif sebesar 10 dan rasio kemungkinan negatif sebesar 0. Pada uji *Chi Square* didapatkan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$)

Tabel 5.7 Hubungan antara uji Widal dengan PCR dan atau biakan *S.typhi* pada pasien dengan kecurigaan demam tifoid (n=52)

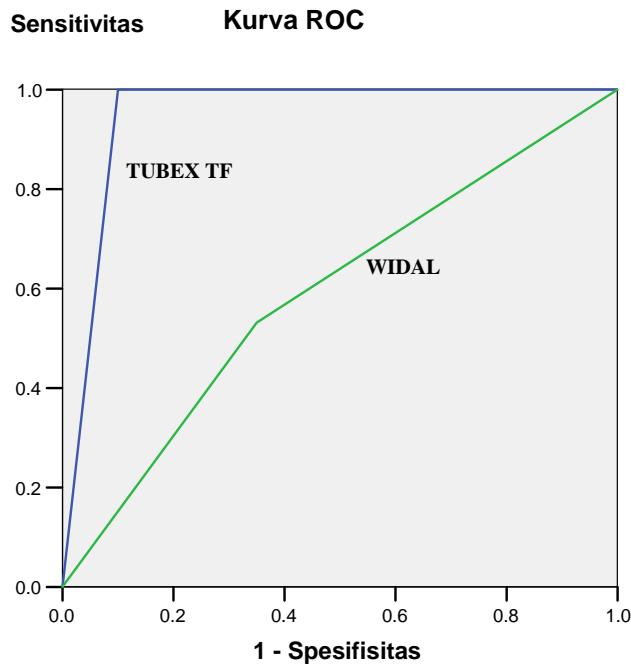
Widal O/H 1/160	PCR dan atau biakan <i>S.typhi</i>		Total
	Positif	Negatif	
Positif	17	7	24
Negatif	15	13	28
Total	32	20	52

Keterangan :

Dari data diatas, berdasarkan perhitungan statistik didapatkan sensitivitas sebesar 53,1%, spesifisitas sebesar 65%, nilai duga positif (NDP) sebesar 70,8% dan nilai duga negatif (NDN) sebesar 46,4%. Rasio kemungkinan positif sebesar 1,51 dan rasio kemungkinan negatif sebesar 0,72. Pada uji *Chi Square* didapatkan nilai $p=0,20$ ($p>0,05$)

Gambar 5.1. Kurva ROC uji Widal dengan Titer O atau H 1/160 dibandingkan uji TUBEX TF

Lama demam	TUBEX TF		Total
	Positif	Negatif	
< 1 minggu	7	5	12
> 1 minggu	27	13	40



Tabel 5.7 Luas daerah di bawah kurva ROC antara uji TUBEX TF dengan uji Widal

Variabel yang diuji	Luas area dibawah kurva	Nilai p
TUBEX TF	0.950	0,000
Widal	0.591	0,20

Keterangan :
 Dari perhitungan dengan ROC (*Receiver Operating Characteristic*) didapatkan luas area di bawah kurva untuk TUBEX TF lebih besar daripada Widal.

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik dan Gambaran Klinik

Penelitian ini merupakan uji diagnostik TUBEX TF dalam membantu mendiagnosis demam tifoid dibandingkan dengan uji Widal. Pada penelitian ini dikumpulkan 54 sampel pasien dengan kecurigaan demam tifoid (skor tifoid dari Nelwan ≥ 8), tetapi hanya 52 sampel yang memenuhi syarat penelitian karena 2 sampel ikterik.

Pada dua sampel ikterik ini, pemeriksaan PCR *S. typhi* positif sedangkan seromarker hepatitis A, B dan C negatif. Kemungkinan pada sampel tersebut disebabkan oleh hepatitis tifosa. Mekanisme timbulnya hepatitis tifosa belum diketahui dengan pasti, banyak faktor penyebab antara lain akibat endotoksin atau proses inflamasi, atau kerusakan mekanisme imunitas penderita.²²

Dari 52 sampel tersebut, didapatkan 32 (61,5%) sampel *definite* demam tifoid (gejala klinis demam tifoid dengan PCR dan atau biakan *S. typhi* positif). Berdasarkan tempat pengambilan sampel, dari 32 sampel *definite* demam tifoid, 21 (65,6%) sampel berasal dari RSP, 10 (31,2%) sampel dari RSUD Tangerang, dan 1 (3,1%) sampel dari RSCM. Berdasarkan jenis pemeriksaan, 32 sampel *definite* demam tifoid tersebut berasal dari 20 sampel dengan PCR *S. typhi* positif tetapi biakan darah negatif, 10 sampel dengan biakan darah dan PCR *S. typhi* positif, dan 2 sampel dengan biakan *S. typhi* positif tetapi PCR negatif.

Karakteristik dari 52 pasien dengan kecurigaan demam tifoid ini terdiri dari 27 orang laki-laki dan 25 orang wanita. Dari data ini tidak ditemukan hal menonjol terhadap persentase jenis kelamin terhadap kemungkinan menderita demam tifoid.

Usia berkisar antara 18-60 tahun dengan kasus terbanyak pada kelompok 20-30 tahun (53,8%). Banyaknya kasus pada kelompok ini dihubungkan dengan kebiasaan makan diwarung pinggir jalan, tidak mencuci tangan sebelum makan, imunitas yang menurun, lingkungan yang kotor serta tingkat ekonomi yang rendah.¹⁷

Berdasarkan lama demam, ditemukan 12 (23%) orang dengan lama demam < 1 minggu dan 40 (77%) orang dengan lama demam > 1 minggu. Dari 12 sampel dengan lama demam < 1 minggu, 6 sampel *definite* demam tifoid. Dari 6 sampel *definite* demam tifoid tersebut, biakan positif 4 sampel (66,6%). Dari 40 sampel dengan lama demam > 1 minggu, 26 sampel *definite* demam tifoid. Dari 26 sampel *definite* ini, biakan positif 8 sampel (30,7%). Dari data diatas, untuk mendapatkan biakan *S. typhi* positif, waktu pengambilan sampel sebaiknya pada minggu pertama demam.

Untuk pemeriksaan TUBEX TF ditemukan 7 (58,3%) kasus positif pada minggu pertama demam dan 27 (67,5%) kasus positif pada minggu kedua demam. Dari data diatas, kemungkinan mendapatkan hasil TUBEX TF positif lebih besar setelah demam minggu pertama. Hal ini sesuai dengan teori bahwa antibodi IgM terhadap *S. typhi* mulai timbul pada hari ke-5 demam

Gejala klinis penderita demam tifoid dapat dilihat pada tabel 5.2. Keluhan terbanyak selain demam adalah rasa mual, sefalgi, anoreksia, rasa lemas dan gangguan pencernaan.

Pada pemeriksaan laboratorium didapatkan leukopenia (leukosit < 5.000/ul) pada 29 kasus (55,7%). Salah satu teori menjelaskan bahwa akibat infeksi *S.typhi*, terjadi perpindahan lekosit dari sirkulasi ke dinding pembuluh darah sehingga leukosit dalam sirkulasi berkurang. Kemungkinan lain adalah terjadi depresi sumsum tulang pada demam tifoid yang berat.²³

Trombositopenia (trombosit < 150.000/ul) ditemukan sebanyak 36 kasus (69%) pada penelitian ini. Kemungkinan penyebab trombositopenia pada demam tifoid karena produksi trombosit di sumsum tulang yang turun atau terjadi peningkatan destruksi oleh sistem retikuloendotelial.²³

Pada penelitian ini, sebaran diagnosis berdasarkan biakan *S. typhi*, PCR *S. typhi*, Widal dan TUBEX TF adalah berturut turut: 12 (23%) untuk biakan *S. typhi*, 30 (57,8%) untuk PCR *S. typhi*, 24 (46,1%) untuk Widal dan 34 (65,3%) untuk TUBEX TF.

6.2 Biakan *S.typhi*

Pada penelitian ini, hasil biakan darah *S. typhi* positif hanya 23% (12/52), jauh lebih rendah dari yang disebutkan dalam beberapa kepustakaan bahwa biakan darah yang diambil pada minggu pertama sakit dapat mendeteksi sekitar 70% kasus demam tifoid.^{4,5} Prihatini⁸ mendapatkan hasil kultur *S. typhi* positif pada 45 dari 254 pasien (17,7%). Nafrialdi⁹ mendapatkan biakan positif pada 7 dari 38 pasien (18,4%). Pemakaian antibiotika sebelum pengambilan sampel merupakan faktor terpenting penyebab rendahnya hasil biakan positif pada penelitian ini. Sekitar 70% pasien telah mendapat antibiotika sebelum datang ke rumah sakit sehingga hasil positif yang didapat jauh dibawah apa yang disebut dalam kepustakaan.

Kemungkinan lain penyebab rendahnya biakan positif yaitu waktu pengambilan, jumlah sampel, kesalahan tehnik pengambilan dan transpor sampel. Mermel²⁴ menganjurkan jumlah sampel darah yang diambil untuk biakan sebaiknya antara 5-10 ml karena semakin banyak darah, jumlah kuman makin banyak sehingga kemungkinan positif makin besar. Pada penelitian ini jumlah darah yang diambil untuk biakan sebanyak 5 ml dan hanya sekali sehingga hasil biakan positif *S.typhi* menjadi rendah. Sebaiknya jumlah darah yang diambil 10 ml dan lebih dari 1 kali, bila dana cukup tersedia. Alternatif metode diagnosis lain yang lebih sensitif dan relatif kurang terpengaruh oleh pemberian antibiotika adalah biakan sumsum tulang, namun tidak rutin dikerjakan karena sifatnya invasif.

6.3 PCR *S. typhi*

Pada penelitian ini dipakai juga PCR *S. typhi* selain biakan darah sebagai baku emas. Sensitivitas dan spesifisitas PCR *S. typhi* paling mendekati nilai biakan *S. typhi*, karena pada kuman yang mati akibat pemakaian antibiotik, masih dapat terdeteksi. Zhu melaporkan, sensitivitas PCR *S. typhi* lebih dari 90% *in vivo* dan spesifisitas 100% *in vitro*.⁷ Prihatini mendapatkan sensitivitas PCR *S. typhi* sebesar 95% dan spesifisitas 100%.⁸ Nafrialdi mendapatkan sensitivitas PCR *S. typhi* sebesar 90,48%.⁹

Metode PCR adalah cara yang sangat sensitif, spesifik, cukup cepat dan kurang terpengaruh oleh pemakaian antibiotik sebelumnya. Tingginya hasil positif dengan PCR bisa berarti PCR memberikan hasil positif palsu. Kejadian positif palsu sering dikaitkan dengan kenyataan bahwa PCR dapat memberikan hasil positif tanpa membedakan kuman hidup ataupun kuman mati. Dalam hal ini,

dukungan gejala klinis sangat penting untuk menghindari positif palsu tersebut. Pada penelitian ini, sampel darah diambil dari pasien yang menderita demam dengan gejala khas tifoid (sesuai skor tifoid dari Nelwan), sehingga diharapkan bahwa hasil positif bukan merupakan positif palsu.

Beberapa penelitian menyarankan teknik PCR dipakai sebagai metode diagnostik dalam mendiagnosis demam tifoid terutama pada kasus dengan hasil kultur negatif dan pada penelitian epidemiologi. Chaudhry³⁵ melaporkan 4 kasus PCR *S. typhi* positif ditemukan pada 25 kasus dengan biakan *S. typhi* negatif. Kumar³⁶ melaporkan 12 kasus PCR *S. typhi* positif ditemukan dari 20 kasus dengan biakan *S. typhi* negatif.

Pada penelitian ini didapatkan nilai PCR *S. typhi* sebesar 57,8% lebih baik dibandingkan hasil biakan, karena itu gabungan PCR dengan biakan sebagai baku emas akan lebih akurat. Pemeriksaan dengan teknik PCR dapat mengatasi kendala waktu dibandingkan biakan dan kurang terpengaruh dengan pemakaian antibiotik, namun saat ini tidak semua laboratorium menyediakan pemeriksaan ini, selain itu biayanya mahal sehingga pemakaian lebih banyak untuk penelitian.

6.4 Uji Widal

Pemeriksaan serologi Widal paling banyak digunakan sampai saat ini karena cukup sensitif dan hasil dapat diperoleh dalam waktu singkat, tetapi tidak spesifik karena hasil dapat juga positif pada infeksi *Salmonella non typhi* atau pada mereka dengan riwayat pernah terinfeksi Salmonella atau pernah mendapat vaksinasi tifus.

Nilai *cut off* uji Widal dipengaruhi oleh derajat endemisitas di masing-masing daerah. Nelwan pada tahun 1991 menyatakan untuk daerah endemis khususnya Jakarta, titer O sebesar 1/200 dan titer H 1/800 bermakna mendiagnosis demam tifoid. Hardi pada tahun 1993 di Semarang mengatakan uji Widal tunggal dengan titer O antara 1/200 atau titer H 1/400 menyokong diagnosis demam tifoid. Herdiman pada tahun 1997 menyatakan titer Widal O maupun H 1/320 paling banyak ditemukan. Loho pada tahun 1998 menyatakan titer Widal 1/160 untuk aglutinin O atau H menyokong diagnosis demam tifoid. Pada penelitian Loho, dengan nilai *cut off* titer aglutinin O 1/160 sebagai kriteria tunggal, didapatkan sensitivitas 70% dan spesifisitas 90%. Jika dipakai titer H 1/160 sebagai kriteria tunggal, didapatkan sensitivitas 50% dan spesifisitas 90%. Jika dipakai kriteria gabungan, didapatkan sensitivitas 80 %, spesifisitas 83,3 % dengan nilai duga positif (NDP) sebesar 80 % dan nilai duga negatif (NDN) sebesar 83,3%. Kriteria gabungan dinilai dari sampel pertama dan ulangan yaitu bila (1) titer pada sampel pertama ≥ 160 , atau (2) serokonversi menjadi $\geq 1/160$ pada sampel ulangan atau (3) peningkatan titer ≥ 4 kali pada sampel ulangan. Sampel pertama adalah sampel yang diambil pada hari pertama perawatan dan sampel ulangan diambil 5-7 hari kemudian. Pada penelitian ini, batas *cut off* uji Widal yang dianjurkan untuk menegakkan diagnosis demam tifoid adalah 1/160, baik untuk aglutinin O atau H, dengan kriteria diagnostik tunggal atau gabungan.³⁷

Pada penelitian ini didapatkan angka Widal positif palsu sebesar 13,5%, negatif palsu sebesar 28,8%, sensitivitas 53,1%, spesifisitas 65%, nilai duga positif 70,8% dan nilai duga positif sebesar 46,4%. Angka positif palsu yang tinggi juga didapatkan oleh peneliti lain. Parry⁴ di Vietnam melaporkan angka positif palsu sebesar 26% dengan menggunakan nilai *cut off* titer O 1/100. Disimpulkan bahwa uji Widal sulit digunakan sebagai pegangan diagnosis.

6.5 Uji TUBEX TF

Dari 32 pasien *definite* demam tifoid, didapatkan semua pasien positif juga dengan uji TUBEX TF (skor ≥ 4). Pada penelitian ini juga didapatkan TUBEX TF positif pada 2 sampel dengan PCR *S. typhi* negatif tetapi biakan positif (negatif palsu PCR). Kemungkinan negatif palsu pada PCR adalah akibat adanya inhibitor DNA polimerase yang sering ada dalam cairan biologi.^{21,22} Pada kedua sampel ini, uji TUBEX TF positif, hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan ini sangat sensitif.

Dua sampel lainnya dengan TUBEX TF positif tetapi PCR dan biakan *S. typhi* negatif. Pada keadaan ini, masih mungkin pasien benar terkena demam tifoid, tetapi mungkin karena pemakaian antibiotik sehingga biakan tidak tumbuh dan jumlah kuman terlalu sedikit untuk terdeteksi dengan PCR. Kemungkinan lain pasien terkena infeksi kuman Salmonella grup D lain misalnya *S. enteritidis* walaupun

sangat jarang sekali menyebabkan gejala sistemik.³² Kemungkinan lain salah prosedur pemeriksaan, tetapi pada kasus ini sampel sudah diulang dan hasilnya sama.

Pada penelitian ini didapatkan 18 sampel yang negatif benar, 13 sampel yang dapat diketahui penyebabnya terdiri dari 11 pasien demam berdarah (serologi dengue positif), 1 pasien dengan infeksi saluran kemih (pemeriksaan urin) dan 1 pasien dengan pneumonia (pemeriksaan foto thorax), sedangkan 5 sampel lainnya penyebab demam tidak diketahui.

Pada penelitian ini didapatkan tingkat sensitivitas TUBEX TF terhadap PCR *S. typhi* sebesar 100%, hasil ini menunjukkan kemampuan TUBEX TF untuk mendeteksi kuman *S. typhi* sangat baik. Sedangkan spesifisitas TUBEX TF sebesar 90% menunjukkan kemampuan TUBEX TF untuk menentukan bahwa subyek tidak terinfeksi *S. typhi* sangat baik. NDP 94,1% berarti probabilitas seseorang menderita demam tifoid adalah 94,1% apabila uji diagnostiknya positif. NDN 100% berarti probabilitas seseorang tidak menderita demam tifoid adalah 100% bila hasil ujinya negatif. Rasio kemungkinan positif berarti perbandingan antara proporsi subyek yang sakit yang memberi hasil uji positif dengan proporsi subyek yang sehat yang memberi hasil positif. Rasio kemungkinan negatif berarti perbandingan antara proporsi subyek yang sakit akan memberi hasil uji negatif dengan subyek sehat yang memberi hasil uji negatif.

Dari perhitungan dengan ROC (*Receiver Operating Characteristic*) didapatkan nilai diagnostik TUBEX TF dengan luas area di bawah kurva sebesar 0,950. Sedangkan nilai diagnostik Widal hanya mempunyai luas area di bawah kurva sebesar 0,591. Hal ini menggambarkan bahwa nilai diagnostik TUBEX TF lebih baik dari uji Widal.

6.6 Keterbatasan penelitian :

Penelitian ini mempunyai beberapa keterbatasan, antara lain bila terdapat perubahan warna serum sampel akibat ikterik, darah lisis atau lipemik, pemeriksaan TUBEX TF tidak dapat dilakukan karena hasil pemeriksaan ditentukan dengan perubahan warna. Demikian pula, reagen Widal dari pabrik yang berbeda mungkin memberikan perbedaan hasil pemeriksaan karena perbedaan sensitivitas dan spesifisitas. Keterbatasan lain adalah pemeriksaan TUBEX TF secara teoritis tidak dapat mendeteksi adanya infeksi kuman *S. paratyphi* yang gejala kliniknya menyerupai demam tifoid akibat infeksi *S. typhi*. Hal lain adalah pada penelitian ini, sampel hanya diambil dari pasien yang dirawat inap saja, belum melibatkan pasien rawat jalan yang kemungkinan belum cukup membentuk antibodi IgM terhadap LPS O9 kuman *S. typhi* karena biasanya pasien rawat jalan datang berobat ke rumah sakit ketika demam baru berlangsung kurang dari 5 hari.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan serologi TUBEX TF lebih tinggi dibandingkan uji Widal dalam mendiagnosis demam tifoid.

Saran

- Pemeriksaan serologi TUBEX TF sangat dianjurkan dipakai dalam mendiagnosis demam tifoid karena sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan uji Widal.
- Perlu penelitian lebih lanjut pada pasien rawat jalan dan populasi sampel di tempat lain di Indonesia karena respons imun mungkin berbeda.
- Perlu penelitian lebih lanjut dengan memakai sampel pada pasien demam lain yang bukan disebabkan demam tifoid seperti pada kasus malaria, paratifoid dan lain-lain untuk melihat apakah terjadi *cross reaction* walaupun secara teoritis hal ini tidak mungkin terjadi.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Background document: the diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. WHO/V&B/03.07. Geneva; 2003.
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Data Surveilans tahun 1994. Sub Direktorat Surveilans. Jakarta.; 1995.
3. Zulkarnain I. Demam tifoid: Perkembangan Terbaru dalam Diagnosis dan Terapi. Dalam: Sumaryono, Setiati S, Gustaviani R, Sukrisman L, Sari NK, Lydia A, penyunting. Pertemuan Ilmiah Tahunan Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Pusat Penerbitan. 2006. h. 35-43.
4. Parry CM, Hien TT, Dougan G White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. N Eng J Med. 2002;347:1770-80.
5. Widodo D, Hasan I. Perkembangan diagnosis laboratorium demam tifoid. Maj Ked Indones. 1999;49:256-62.
6. Simanjuntak CH. Demam tifoid, epidemiologi dan perkembangan penelitiannya. Cermin Dunia Kedokteran. 1993;83:52-4.
7. Zhu Q, Lim CK, Chan YN. Detection of *Salmonella typhi* by polymerase chain reaction. J Appl Bacteriol. 1996;80(3):244-51.
8. Prihatini D, Tantular K, Rahman N. The sensitivity of PCR screening on *S. typhi* examination. Med J Indones. 1998;7:166-7.
9. Nafrialdi. Kajian diagnostik demam tifoid dengan metode serologi, bakteriologi dan PCR [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2004.
10. Dalima A, Wahono A. Diagnosis Laboratorium Demam Tifoid. Suplemen Naskah Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik FKUI. Jakarta; 2002:1-9.
11. Lim PL. One step 2-minute test to detect typhoid specific antibodies based on particle separation in tubes. J Clin Microbiol. 1998;36:2271-81.
12. Oracz G, Feleszko W, Golicka D. Rapid Diagnosis of Acute *Salmonella* Gastrointestinal Infection. Clin Infect Dis. 2003;36:112-5.
13. Olsen SJ. Evaluation of Rapid Diagnostic Tests for Typhoid Fever. J Clin Microbiol. 2004:1885-9.
14. Razel K. Comparative Performance Analysis of Four Serological Tests for The Diagnosis of *Salmonella typhi* among SAN LAZARO HOSPITAL patients, PHILIPPINES. 6th International Conference on typhoid fever & other Salmonellosis, China. Guilin; 2005.
15. Keusch GT. Salmonellosis. In: Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15 th ed. Editors: McGraw-Hill Inc. New York ; 2003:671-6.
16. Pang T, Bhutta ZA, Finlay BB. Typhoid fever and other Salmonellosis : a continuing chalanges. Trends Microbiol. 1995;3:253-5.
17. TUBEX-TF.REF 10-029. Instruction for use. 91-334-09. IDL. Biotech AB. Sweden; 2005.
18. Ali S, Wijaya S, Vollard AM. Risk Factors for typhoid and paratyphoid fever in Jakarta, Indonesia. JAMA. 2004;291:2607-16.
19. Slauch J. Mechanisms of Pathogenesis of *Salmonellae*: Linking *in vitro*, Animal and Human Studies. 1999.[cited 2006 Jun 21]. Available from: <http://www.jifsan.com>.
20. Wain J, Diep TS, Ho VA. Quantitation of bacteria in blood of typhoid fever patients and relationship between counts and clinical features, transmissibility, and antibiotic resistance. J Clin Microbiol. 1998;36:1683-7.
21. Nelwan RHH. Typhoid fever. In: Rakel and Bope, editors. Conn's Current Therapy. Philadelphia; 2003: 173-5.
22. Shaheen. Evaluation of the response of human humoral antibodies to *Salmonella typhi* lipopolysaccharide in an area of endemic typhoid fever. Clin Infect Dis. 1995;21:1012-3.
23. Pohan HT, Suhendro. Gambaran klinis dan laboratoris demam tifoid di Rumah Sakit Persahabatan Jakarta. In: Demam Tifoid peran Mediator, Diagnosis dan Terapi. Pusat Informasi dan Penerbitan FKUI. Jakarta; 2000:22-42.

24. Koneman EW, Allen SD, Janda WM. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia; 1997:76-7.
25. Lateef A, Aprileona LK. Widal agglutination test 100 years later: still plagued by controversy. *Postgrad Med J*. 2000;76:80-4.
26. House D, Wain J, Ho Vo A, Diep To S, Chinh NT, Bay PV, et al. Serology of typhoid fever in area of endemicity and its relevance to diagnosis. *J Clin Microbiol*. 2001;39:1002-7.
27. Fortress Prognostics Limited. *Stained Febrile Antigens for Salmonella Multiscreening*. BT 19 BDT. United Kingdom; 2005.
28. Song JH, Cho H, Park MY, Na DS, Moon HB, Pai CH. Detection of *Salmonella typhi* in blood of patients with typhoid fever by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1993;31(6):1439-43.
29. Massi MN, Shirakawa T, Gotoh A, Bishnu A, Hatta M, Kawabata M. Quantitative detection of *Salmonella enterica* serovar Typhi from blood of suspected typhoid fever patients by real-time PCR. *Int J Med Microbiol*. 2005;295(2):117-20.
30. Cherie MB, Xu J, Moore JE. Risk assessment models and contamination management: Implication for broad-range ribosomal DNA PCR as a diagnostic tool in medical bacteriology. *J Clin Microbiol*. 2002;40(5):1575-80.
31. Gracia ME, Blanco JL, Caballero J, Gargallo D. Anticoagulants interfere with PCR used to diagnose invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2002;40(4):1567-8.
32. Lim PL, Tam FCH. The TUBEX™ typhoid test based on particle-inhibition immunoassay detects IgM but not IgG anti-O9 antibodies. *J Immunol Methods*. 2003;1-9.[cited 2006 Jun 20]. Available from: <http://www.elsevier.com/locate/jim>.
33. Puspongoro HD, Wirya IG, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ. Uji diagnostik. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, penyunting. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Edisi ke-2. Jakarta: Sagung Seto; 2002. h. 166-85.
34. Trihendradi C. Pengukuran Deskriptif. In: *Step by step SPSS13 Analisis Data Statistik*. Yogyakarta: Andi; 2005:97-127.
35. Chaudhry R, Laxmi BV, Nisar N, Ray K, Kumar D. Standardisation of polymerase chain reaction for the detection of *Salmonella typhi* in typhoid fever. *J Clin Pathol*. 1997;50(5):437-9.
36. Kumar A, Arora V, Bashamboo A, Ali S. Detection of *Salmonella typhi* by polymerase chain reaction: Implication in diagnosis of typhoid fever. *Infect Genet Evol*. 2002;2(2):107-10.
37. Loho T, Sutanto H, Silman E. Evaluasi Nilai Diagnostik Pemeriksaan Enzim Immunoassay (EIA) Dot Blot Menggunakan Outer Membrane Protein (OMP) Berat Molekul (BM) 50 kDa Kuman *Salmonella typhi* dan Uji Widal Pada Penderita Demam Tifoid di RS Persahabatan Jakarta. In: *Demam Tifoid peran Mediator, Diagnosis dan Terapi*. Pusat Informasi dan Penerbitan FKUI. Jakarta; 2000:22-42.