

SELEKSI BAKTERI *SALMONELLA* TYPHI DARI KULTUR DARAH PENDERITA DEMAM TIFOID

Charis Amarantini^{1*}, Widya Asmara², Haripurnomo Kushadiwijaya³, Langkah Sembiring⁴

^{1.} Fakultas Biologi, Universitas Kristen Duta Wacana.

^{2.} Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

^{3.} Field Epidemiology Training Program, Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

^{4.} Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Abstrak

Salmonella enterica subsp. *enterica* serotipe Typhi (*Salmonella* Typhi; *Salmonella typhi*) merupakan agensia penyebab demam tifoid, bersifat patogenik hanya pada manusia dan masih menjadi problema epidemiologik terutama di daerah tropik, termasuk di Indonesia. Sebagai bagian dari anggota famili *Enterobacteriaceae*, ketepatan untuk dapat memisahkan bakteri tersebut dari anggota famili *Enterobacteriaceae* memiliki arti sangat penting untuk identifikasi yang akurat dan diagnosis yang tepat pada penderita tifoid. Dengan alasan ini, maka diperlukan konfirmasi pemeriksaan laboratorium melalui isolasi/biakan kuman terhadap kultur darah dari penderita demam tifoid. Pada penelitian ini seleksi bakteri *S. Typhi* dari kultur darah penderita demam tifoid dilakukan secara selektif dan diferensial menggunakan BacT/ALERT FA culture media (bioMérieux Inc.), Selenite cystine broth (SC) (Oxoid Ltd.), dan Chromocult[®] Coliform Agar (CCA) (Merck), MacConkey Agar (Oxoid Ltd.), serta *Salmonella Shigella Agar* (SS Agar) (Oxoid Ltd.). Dengan nilai standar aglutinasi titer aglutinin O_≥ 200 diperoleh kultur darah positif sebesar 78,83% dengan keberhasilan memperoleh isolat *S. Typhi* sebesar 10,74%. Secara fenotipik, penggunaan medium CCA terbukti lebih handal dalam memisahkan kelompok *Salmonella* dengan bakteri lain dalam famili *Enterobacteriaceae* yang menunjukkan kemiripan dengan *Salmonella*.

Kata kunci: *Salmonella typhi*, tifoid, blood culture

PENDAHULUAN

Salmonella enterica subsp. *enterica* serotipe Typhi (*S. Typhi*) merupakan agensia penyebab demam tifoid. Penyakit ini sampai sekarang masih merupakan problema epidemiologik terutama di daerah tropik, termasuk di Indonesia. Secara global diperkirakan terjadi kasus sebanyak 17-22 juta per tahun dan yang terkait dengan kematian sebesar 216.000-600.000 per tahun (Steele, 2008). Di Indonesia angka insidensi mencapai 358/100.000 penduduk/tahun di daerah pedesaan dan 760-810/100.000 penduduk/tahun di daerah perkotaan atau sekitar 600.000 dan 1,5 juta kasus per tahun dengan angka kematian kasus sebesar 1,6-3% (Arjoso dan Simanjuntak, 1998; Prasetyo dan Ismoedijanto, 1998; Parry *et al.*, 2002; Ochiai, *et al.*, 2008).

Manusia merupakan satu-satunya inang dan reservoir untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. Typhi*. Infeksi terjadi secara *fecal-oral* melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi dan oleh sebab itu tifoid umum dijumpai dalam suatu area dengan kondisi sanitasi buruk dan memiliki keterbatasan memperoleh air bersih. Kuman *S. Typhi* dapat tetap terbawa dalam tubuh penderita (karier) dan secara terus-menerus keluar bersama feses. Kuman yang keluar bersama tinja dapat bertahan lama di alam dan menjadi sumber penularan bagi banyak orang. Dalam suatu area dimana demam tifoid masih bersifat endemis, maka air yang berasal dari sungai atau danau yang digunakan

untuk konsumsi masyarakat dan sering terkontaminasi limbah merupakan sumber infeksi utama (Thong *et al.*, 1996; Mastroeni dan Maskell, 2005)

Gejala klinis demam tifoid sangat bervariasi mulai dari keadaan sakit ringan disertai sedikit demam, badan terasa tidak enak, batuk sampai pada keadaan klinis yang berat seperti nyeri abdominal dan komplikasi. Kondisi ini sering dapat menyebabkan kesulitan dalam dalam menegakkan diagnosis demam tifoid apabila hanya berdasarkan gambaran klinis (Muliawan dan Surjawidjaja, 1999). Oleh sebab itu identifikasi *S. Typhi* yang akurat memiliki arti sangat penting untuk diagnosis pada pasien demam tifoid dan untuk memperkirakan pengaruh demam tifoid di masyarakat.

Bakteri *Salmonella* tergolong dalam bakteri gram negatif, berbentuk batang, anaerob fakultatif dan secara morfologi menyerupai bakteri enterik lain. Golongan Enterobacteriaceae merupakan bakteri enterik. Holt *et al.*, (2000) dalam Bergey's Manual of Determinative Bacteriology menyebutkan terdapat 30 genus anggota famili Enterobacteriaceae, salah satu diantaranya adalah genus *Salmonella*. Genus *Salmonella* terdiri dari dua spesies, yaitu *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. Selanjutnya *Salmonella enterica* dibagi menjadi enam subspecies, yaitu *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (subsp. I), *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (subsp. II), *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (subsp. IIIa), *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (subsp. IIIa), *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (subsp. IV), dan *Salmonella enterica* subsp. *indica* (subsp. VI). Sedangkan *Salmonella bongori* pada awalnya dikategorikan sebagai *S. enterica* subspecies V sebelum ditentukan sebagai spesies yang terpisah dari *Salmonella enterica*. Disamping pengelompokan secara taksonomi seperti tersebut di atas, genus *Salmonella* memiliki anggota lebih dari 2500 serotipe atau strain yang berbeda menurut antigen O dan H. Pengelompokan berdasarkan serotipe ini (*subtyping method*) lebih dikenal penggunaannya secara baik oleh dokter ataupun tenaga medis terutama untuk kegiatan dalam lingkup bidang kesehatan masyarakat seperti surveilans dan investigasi ketika terjadi wabah (*outbreak*) (Euzebey, 1999; WHO, 2003; Truper, 2005).

Berdasarkan latar belakang pemikiran tersebut diatas, dimana terdapat kesulitan penegakan diagnosis jika hanya berdasarkan pada gejala klinis dan adanya kemiripan anggota genus *Salmonella* dengan kelompok bakteri enterik lain dalam famili Enterobacteriaceae, maka untuk dapat memastikan penyebabnya masih diperlukan tahapan konfirmasi pemeriksaan mikrobiologi. Pada penelitian ini, dilakukan seleksi bakteri *S. Typhi* dari kultur darah penderita demam tifoid secara selektif dan diferensial. Proses seleksi ini merupakan tahap awal dari keseluruhan tahapan dalam proses identifikasi. Melalui tahapan seleksi ini, diharapkan dapat diperoleh rumusan metode kultur yang secara selektif dan diferensial dapat digunakan untuk menandai keberadaan *typical* koloni *S. Typhi* sehingga lebih memudahkan untuk kelanjutan tahap identifikasi.

METODE PENELITIAN

Sampel kultur darah penderita tifoid

Kultur darah penderita demam tifoid diperoleh dari pasien yang secara klinis didiagnosis menderita demam tifoid dengan demam ≥ 3 hari, suhu tubuh $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ dan titer Widal $O \geq 200$.

Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Karitas Weetabula dan Balai Kesehatan Masyarakat yang ada di bawah RS Karitas (BP. Elopada di Wewewa Timur dan BP. Katikuloku yang ada di Anakalang) serta Rumah Sakit Lende Moripa di Waikabubak. Keseluruhan unit pelayanan kesehatan tersebut dipilih sebagai lokasi penelitian berdasarkan ketersediaan fasilitas laboratorium untuk uji Widal.

Seleksi Bakteri *S. Typhi*

Preparasi kultur darah (blood culture). Sebanyak 5 ml darah (untuk pasien dewasa) atau 3 ml darah (untuk pasien anak-anak) diinokulasikan ke dalam medium BacT/ALERT FAN *culture media* (bioMérieux Inc.) dan diinkubasikan selama 7 hari pada suhu 37°C . Selama periode inkubasi, dilakukan pengamatan pertumbuhan yang ditandai dengan perubahan warna sensor pada bagian dasar botol menjadi warna kuning. Selain mengamati pertumbuhan, juga dilakukan pengamatan mikroskopis dengan pengecatan gram. Indikasi terdapatnya bakteri *Salmonella* ditunjukkan dengan mengamati secara mikroskopis terdapatnya sel bakteri gram negatif melalui pengecatan gram.

Tahap pre-enrichment dan selective enrichment. Tahap *pre-enrichment* dilakukan dalam *Buffered peptone water* (BPW). Sebanyak 10 ml kultur dari BacT/ALERT FAN *culture media* disentrifus dalam kondisi dingin 3000 rpm selama 15 menit. Endapan dipindahkan ke dalam 10 ml BPW dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 jam. Setelah melalui tahap *pre-enrichment*, dilakukan sentrifugasi kembali 3000 rpm selama 15 menit. Seluruh endapan sel diambil dan dipindahkan ke dalam medium *selective enrichment selenite cystine broth* (SC) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 10-12 jam.

Seleksi dalam medium agar selektif. Sesudah melalui tahap *selective enrichment*, dilakukan *subculture/plating* ke dalam medium agar selektif: *Chromocult® Coliform Agar* (CCA) (Merck), *MacConkey Agar* (Oxoid Ltd.), dan *Salmonella Shigella Agar* (SS Agar) (Oxoid Ltd.). Koloni tunggal yang tumbuh diisolasi secara bertingkat beberapa kali hingga didapatkan kultur murni. Untuk menguji kemurnian kultur tunggal yang tumbuh maka koloni tersebut ditumbuhkan kembali dengan digoreskan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Koloni tunggal yang muncul diinokulasikan ke dalam *Trypticase Soy Agar* (TSA) atau BHIA untuk disimpan.

Pengamatan profil koloni Salmonella. Sesudah proses inkubasi selama 24 jam dalam medium agar selektif, dilakukan pengamatan koloni *typical* dan *atypical Salmonella* pada medium CCA, MacCONKEY Agar, dan SS Agar. Dalam medium CCA, koloni bakteri *E.coli* berwarna biru gelap. Kelompok *Citrobacter* dan *Enterobacter* berwarna merah, sedangkan kelompok *Salmonella*, *Shigella*, dan *Yersinia* berwarna jernih transparan sampai biru terang tergantung pada ekspresi enzim β -glucuronidase (Turner, et al., 2000). Dalam medium MacCONKEY Agar, koloni *Salmonella* dan *Shigella* terlihat jernih dan transparan karena tidak menghasilkan enzim β -galactosidase. Sedangkan dalam medium SS Agar, koloni *typical Salmonella* juga akan terlihat jernih dan transparan (Merck Microbiology Manual 12th Edition).

Uji konfirmasi. Koloni *typical Salmonella* yang tumbuh pada media agar selektif, masing-masing diambil 10 koloni untuk dilakukan uji konfirmasi dalam medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Tabel 1), *Urea agar*, dan *L-Lysine decarboxylation*. Bakteri *Salmonella* tidak mampu menghidrolisis urea, sedangkan dalam medium *L-Lysine decarboxylation* (LDC), keberadaan *typical Salmonella* ditandai dengan kekeruhan medium dan warna ungu (WHO, 2003).

Tabel 1. Reaksi *typical Salmonella* dan anggota Enterobacteriaceae yang lain dalam medium TSIA

Organisme	Butt	Slope	H ₂ S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AG	A	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	AG	A	-
<i>Escherichia coli</i>	AG	A	-
<i>Proteus vulgaris</i>	AG	A	+
<i>Morganella morganii</i>	A atau AG	NC atau ALK	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC atau ALK	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC atau ALK	-
<i>Salmonella Typhi</i>	A	NC atau ALK	+(w)
<i>Salmonella Paratyphi</i>	AG	NC atau ALK	-
<i>Salmonella Enteritidis</i>	AG	NC atau ALK	+
<i>Salmonella Typhimurium</i>	AG	NC atau ALK	+

Keterangan:

Butt (bagian dasar tabung)

: AG= asam dan gas; A=asam

Slope (bagian permukaan
Agar miring)

: A= asam; NC= *not change* (tidak berubah);
ALK= alkali

H₂S

: + = produksi hidrogen sulfida (hitam); - = tidak dihasilkan
hidrogen sulfida; +(w) = produksi H₂S lemah/sedikit.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Demam tifoid merupakan infeksi sistemik akut yang disebabkan oleh bakteri *S. Typhi*. Infeksi sistemik akut ini yang menyebabkan kuman *S. Typhi* dapat masuk ke dalam aliran darah setelah melalui beberapa organ yang terdapat dalam berbagai sistem di dalam tubuh inang. Oleh sebab itu pemeriksaan laboratorium, isolasi/kultur *S. Typhi* dari darah merupakan diagnosis pasti/definitif demam tifoid. Dalam penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan skrining terhadap penderita yang secara klinis menunjukkan dugaan demam tifoid melalui pemeriksaan serologi. Pasien dengan titer Widal $O \geq 200$ digunakan sebagai subyek penelitian untuk diambil sampel darahnya. Hasil kultur darah terhadap 189 subyek penelitian ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining bakteri *S. Typhi* dari Kultur Darah Penderita Demam Tifoid

Lokasi	Σ Sampel	Kultur Darah Positif	<i>Recovery</i> <i>S. Typhi</i>
RS Karitas	34	31	5
BP Elopada	138	104	9
RS Lende Moripa	12	9	2
BP Katikuloku	5	5	0
Total	189	149 (78,83%)	16 (10,74%)

Dari 189 sampel, diperoleh angka keberhasilan kultur darah sebesar 78,83% dengan keberhasilan isolasi (memperoleh isolat *S. Typhi*) sebesar 10,74%. Kultur darah mampu mendeteksi 40-70% dan kisaran sensitivitas ini berhubungan dengan jumlah sampel darah, tingkat bakteremia *S. Typhi*, jenis medium yang digunakan, dan lama periode inkubasi (Rubin *et al.*, 1989). Kultur darah mampu mendeteksi 60-80% kasus tifoid. Akan tetapi kisaran angka keberhasilan kultur darah tersebut sangat bervariasi, terutama di daerah endemik yang tidak diketahui secara pasti titer antibodi normal pada populasi sehingga menyulitkan interpretasi hasil karena belum ada kesepakatan akan nilai standar aglutinasi (*cut-off point*) (Pang and Puthuchery, 1983; Olsen *et al.*, 2004). Parry *et al.*, (1999) mengemukakan bahwa dengan nilai standar aglutinasi ≥ 200 untuk aglutinin O atau ≥ 100 untuk aglutinin H, maka uji Widal mampu mendiagnosis secara tepat kultur darah positif sebesar 74% dari kasus penderita demam tifoid. Akan tetapi masih dimungkinkan terjadi positif palsu sebesar 14% dan negatif palsu sebesar 10%. Lin *et al.*, (2000) menyebutkan bahwa angka keberhasilan kultur darah untuk gejala demam selama 3 hari sebesar 4,6%. Presentase keberhasilan kultur darah mengalami peningkatan sampai 13,9% untuk demam selama 7 hari. Chomal dan Deodhar (2000) menyebutkan bahwa dari 3279 sampel menghasilkan kultur positif sebanyak 558 (17%) dan berhasil mengisolasi 109 strain *S. Typhi* dari sampel kultur darah positif (19,53%).

Pengujian kultur darah dari penderita demam tifoid dalam penelitian ini menggunakan BacT/ALERT *culture media*. Medium ini merupakan *gold standard* yang telah diaplikasikan secara luas pada berbagai laboratorium patologi klinik. Di dalam media kultur BacT/ALERT terkandung *Ecosorb*, substansi yang berperan untuk absorbsi antibiotik. Dengan demikian penggunaan media ini terbukti mampu meningkatkan *recovery* sel bakteri meskipun pasien telah menerima terapi antibiotik (Mc Donald *et al.*, 1996; Jorgensen *et al.*, 1997; Mc Donald *et al.*, 2001; Bourbeau and Pohlman, 2001; Krisher *et al.*, 2001; Flayhart *et al.*, 2007). Walaupun skrining terhadap subyek penelitian sudah dilakukan dengan mengacu pada nilai standar aglutinasi ≥ 200 untuk aglutinin O, akan tetapi keberhasilan isolasi *S. Typhi* masih rendah. Spesifisitas pemeriksaan widal dianggap kurang baik karena serotipe *Salmonella* yang lain juga memiliki antigen O dan H. Epitop *S. Typhi* juga bereaksi silang dengan Enterobacteriaceae lain sehingga menyebabkan hasil positif palsu. Hasil positif palsu juga dapat terjadi pada kondisi klinis yang lain misalnya malaria, *typhus bacteremia* dan juga sirosis. Subyek penelitian ini diambil di daerah endemis baik untuk tifoid maupun malaria dan tidak diketahui latar belakang antibodi pada populasi. Hal inilah yang diduga menyebabkan keberhasilan isolasi *S. Typhi* masih rendah. Berbagai studi menunjukkan bahwa terdapat sekitar 1-10% pada sampel yang ditumbuhkan sistem BACTEC memberikan hasil positif palsu sehingga tidak terlihat pertumbuhan bakteri ketika dilakukan *subculture* dalam medium

standard. Penyebab hasil positif palsu ini tidak dapat diketahui secara pasti apakah disebabkan oleh pertumbuhan organisme *fastidious* yang tidak mampu tumbuh dalam medium standard atau disebabkan oleh tingginya sensitivitas sistem BACTEC terhadap kenaikan konsentrasi CO₂ dalam medium pertumbuhan (Anonim, 2006; Karahan, 2006).

Hasil seleksi dan uji konfirmasi profil koloni *typical Salmonella* dalam medium selektif agar menunjukkan bahwa semua koloni yang dicurigai sebagai kandidat *Salmonella* akan terlihat berwarna *colorless, translucent* pada medium agar MacCONKEY dan SSA serta medium CCA (Tabel 3 dan 4). Untuk menseleksi *S. Typhi*, secara visual skrining dalam medium CCA lebih mudah dibandingkan dengan medium agar MacCONKEY dan SSA. Di dalam medium CCA terkandung dua macam substrat kromogenik, yaitu *5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronidase* sebagai substrat untuk enzim β-glukoronidase dan *6-chloro-3-indoxyl-β-D-galactosidase* sebagai substrat untuk enzim β-galaktosidase. Sedangkan di dalam medium MacCONKEY Agar dan SSA hanya terdapat laktosa untuk mendeteksi keberadaan mikrobia yang mampu menggunakan laktosa. MacCONKEY Agar mengandung *bile salts* dan kristal violet yang menghambat pertumbuhan flora mikrobia gram positif. Laktosa dan pH indikator *neutral red* yang terdapat didalamnya berfungsi untuk deteksi degradasi laktosa.

Tabel 3. Hasil Seleksi *S. Typhi* dari Kultur darah Penderita Tifoid dalam Media Agar Selektif

Lokasi	Recovery <i>S. Typhi</i>	Kode Isolat	Subculture dalam Media Agar Selektif		
			MacCONKEY	SSA	CCA
RS Karitas	5	RSK 1	-	<i>colorless, translucent</i>	-
		RSK 3	-	<i>colorless, translucent</i>	-
		RSK 5	<i>colorless, translucent; merah</i>	<i>colorless, translucent; merah</i>	<i>colorless, translucent</i>
		RSK 22	-	-	<i>colorless, translucent</i>
		RSK 32	<i>colorless, translucent</i>	-	<i>colorless, translucent</i>
BP Elopada	9	BPE 1	<i>colorless, translucent</i>	<i>colorless, translucent</i>	-
		BPE 7	<i>colorless, translucent</i>	<i>colorless, translucent</i>	putih, <i>opaque</i> ; merah
		BPE 74	-	<i>colorless, translucent; pink</i>	<i>colorless, translucent</i>
		BPE 88	-	-	<i>colorless, translucent</i>
		BPE 120	<i>colorless, translucent</i>	-	-
		BPE 121	<i>colorless, translucent</i>	-	-
		BPE 122	-	-	<i>colorless, translucent; violet</i>
		BPE 123	-	-	<i>colorless, translucent</i>
RS Lende Moripa	2	RSL 2	<i>colorless, translucent</i>	<i>colorless, translucent; pink</i>	<i>colorless, translucent; putih opaque</i>
		RSL 3	-	<i>colorless, translucent</i>	-

Tabel 4. Hasil Uji Konfirmasi Koloni *Typical Salmonella* pada Medium *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Urea agar*, dan *L-Lysine decarboxylation (LDC)*.

Lokasi	Recovery <i>S. Typhi</i>	Kode Isolat	Uji TSIA			Uji Urea	Uji LDC
			Butt	Slope	H ₂ S		
RS Karitas	5	RSK 1	A	NC/ALK	-	-	+
		RSK 3	A	NC/ALK	-	-	+
		RSK 5	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		RSK 22	A	NC/ALK	+(w)	-	+
BP Elopada	9	RSK 32	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		BPE 1	0A248	NC/ALK18(-)3(6(A+).42.6(A7.4			128.88

		BPE 120	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		BPE 121	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		BPE 122	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		BPE 123	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		BPE 127	A	NC/ALK	+(w)	-	+
RS Lende Moripa	2	RSL 2	A	NC/ALK	+(w)	-	+
		RSL 3	A	NC/ALK	+(w)	-	+
S. Typhi NCTC 786 (PT. Biofarma)			A	NC/ALK	-	-	+

Koloni *Salmonella* dan *Shigella* terlihat jernih dan transparan karena tidak menghasilkan enzim β -galactosidase. Medium SS Agar mengandung *brilliant green*, *ox bile*, dan thiosulfat dan sitrat dalam konsentrasi tinggi yang mampu menghambat flora mikrobia. Sebagian besar *Salmonella* mampu menghasilkan H₂S sehingga akan terlihat titik hitam di tengah koloni. *Salmonella* Typhi tergolong lemah dalam menghasilkan H₂S sehingga koloni *typical Salmonella* juga akan terlihat jernih dan transparan dalam medium SS Agar (Merck Microbiology Manual 12th Edition).

Setelah melalui uji konfirmasi dalam medium TSIA, urea, dan LDC diketahui bahwa koloni *typical S. Typhi* dan anggota genus *Salmonella* yang lain memperlihatkan perbedaan warna koloni dalam medium CCA. Koloni *typical S. Typhi* terlihat berwarna *colorless, translucent*, sedangkan koloni anggota genus *Salmonella* selain *S. Typhi* berwarna biru terang (Turner *et al.*, 2000; Amarantini dkk., 2005). Dengan demikian dapat diketahui bahwa *S. Typhi* tidak menggunakan substrat untuk enzim β -glukoronidase dan β -galaktosidase, sedangkan anggota genus *Salmonella* yang mampu menggunakan substrat untuk enzim β -glukoronidase tetapi tidak dapat menggunakan substrat untuk enzim β -galaktosidase akan tampak berwarna biru terang.

KESIMPULAN, SARAN DAN REKOMENDASI

Penggunaan medium yang bersifat selektif dan diferensial sangat diperlukan untuk konfirmasi pemeriksaan kuman *S. Typhi* dari kultur darah penderita demam tifoid. Media kultur BacT/ALERT FA (bioMérieux Inc.) terbukti cukup handal untuk digunakan sebagai sarana skrining kultur darah dari penderita demam tifoid. Media CCA cukup selektif untuk menandai keberadaan koloni *typical S. Typhi* sehingga dapat mempersingkat tahap konfirmasi pemeriksaan kultur darah.

Mengingat genus *Salmonella* memiliki anggota lebih dari 2500 serotipe dan dimungkinkan bahwa jumlah strain yang berbeda yang diisolasi terus-menerus meningkat, maka diperlukan penelitian lanjut yang mengkarakterisasi keseluruhan isolat yang sudah diperoleh dengan menggunakan data fenotipik, genotipik, dan filogenetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarantini, C., T.Y. Budiarso, R. Suryanto, 2005. Profil Cemaran Bakteri Coliform pada Minuman Susu Segar yang Dijual Pedagang Kaki Lima di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Biota* Vol. X (1):10-16.
- Anonim, 2006. Pemeriksaan Anti *Salmonella typhi* IgM untuk Diagnosis Demam Tifoid. *Buletin Informasi Laboratorium*. ISSN 0854-7165. No. 5.
- Arjoso, S. dan Simanjuntak, C.H. 1998. Typhoid fever and Salmonellosis in Indonesia. *Medical Journal of Indonesia*, S 1-5.
- Bourbeau, P.P. and J.K. Pohlman, 2001. Three days Incubation May Be Sufficient for Routine Blood Cultures with BacT/Alert FAN Blood Culture Bottles. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 39, No. 6:2079-2082.

- Euzéby, J.P. 1999. Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. As the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (Approved Lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (Approved Lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (Approved Lists 1980). Request for an Opinion. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 927-930.
- Flayhart, D., A.P. Borek, T. Wakefield, J. Dick, and K.C. Carroll, 2007. Comparison of BACTEC Plus Blood Culture Media to BacT/Alert FA Blood Culture Media for Detection of Bacterial Pathogens in Samples Containing Therapeutic Levels of Antibiotics. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 45, No.3:816-821.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams, 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9thEd. Lippincott Williams & Wilkins. New York.
- Jorgensen J.H., S. Mirrett, L.C. McDonald, P.R. Murray, M.P. Weinstein, J. Fune, C.W. Trippy, M. Masterson, L.B. Reller. 1997. Controlled Clinical Comparison of BACTEC Plus Aerobic/F Resin Medium with BacT/ALERT Aerobic FAN Medium for Detection of Bacteremia and Fungemia. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 35, No. 1: 53-58.
- Karahan, Z.C. 2006. PCR Evaluation of False-Positive Signals from Two Automated Blood-Culture Systems. *J. Medical Microbiology*, 55: 53-57.
- Krisher, K.K., P. Gibb, S. Corbett and D. Church. 2001. Comparison of the BacT/ALERT PF Pediatric FAN Blood Culture Bottle with the Standard Pediatric Blood Culture Bottle, the Pedi-BacT. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 39, No.8:2880 - 2883.
- Lin, F.C., V.A. Ho, P.V. Bay, Thuy, N.T.T., D. Bryla, T.C. Thanh, H.B. Khiem, D.D. Trach and J.B. Robbins, 2000. The Epidemiology of Typhoid fever in The Dong Thap Province, Mekong Delta Region of Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62(5), pp. 644-648.
- Mastroeni, P. and D. Maskell (Ed), 2005. *Salmonella Infections: Clinical, Immunological and Molecular Aspects*. Cambridge University Press. www.cambridge.org.
- McDonald, L.C., J. Fune, L.B. Gaido, M.P. Weinstein, L.G. Reimer, T.M. Flynn, M.L. Wilson, S. Mirrett and L.B. Reller. 1996. Clinical Importance of Increased Sensitivity of BacT/Alert FAN Aerobic and Anaerobic Blood Culture Bottles. *J. Clin. Microbiol.* Vol, 34. No. 9:2180-2184.
- McDonald, L.C., M.P. Weinstein, J. Fune, S. Mirrett, L.G. Reimer, L.B. Reller. 2001. Controlled Comparison of BacT/ALERT FAN Aerobic Medium and BACTEC Fungal Blood Culture Medium for Detection of Fungemia. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 39, No. 2: 622-624.
- Muliawan, S.Y. dan J.E.Surjawidjaja, 1999. Tinjauan Ulang Peranan Uji Widal sebagai Alat Diagnostik Penyakit Demam Tifoid di Rumah Sakit. *Cermin Dunia Kedokteran* 124: 14-16.
- Ochiai, R.L., C.J. Acosta, M.C. Danovaro-Holliday, D. Baiqing, S.K. Bhattacharya, M.D. Agtini, Z.A. Bhutta, D.G. Canh, M. Ali, S. Shin, J. Wain, A. Page, M.J. Albert, J. Farray, R. Abu-Elyazeed, T. Pang, C.M. Galindo, L. von Seidlein, J.D. Clemens and the Domic Typhoid Study Group. 2008. A Study of Typhoid Fever in five Asian countries: Disease Burden and Implications for Control. *Bulletin of the World Health Organization*. April, 86 (4).

- Olsen, S.J., J. Pruckler, W. Bibb, N.T.M. Tanh, T.M. Trinh, N.T. Minh, S. Silvapalasingam, A. Gupta, P.T. Phuong, N.T. Chinh, N.V. Chau, P.D. Cam, and E.D. Mintz, 2004. 2004. Evaluation of Rapid Diagnostic tests for Typhoid Fever. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 42, No. 5: 1885-1889.
- Pang, T. and S.D. Puthuchery, 1983. Significance and Value of The Widal Test in The Diagnosis of Typhoid Fever in an Endemic Area. *J. Clin. Pathol.* 36: 471-475.
- Parry, C.M., N.T.T. Hoa, T.S. Diep, J. Wain, N.T. Chinh, H. Vinh, T.T. Hien, N.J. White, and J.J. Farrar. 1999. Value of Single-Tube Widal test in Diagnosis of Typhoid Fever in Vietnam. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 37, No. 9: 2882-2886.
- Parry, C.M., M.B. Tran Tinh Hien, G. Dougan, N.J. White, and J.J. Farrar, 2002. Medical Progress: Typhoid Fever. *N Engl J Med.* Vol. 347, No. 22: 1770-1782.
- Prasetyo, R.V. dan Ismoedijanto, 1998. Metode Diagnostik Demam Tifoid pada Anak. *Media IDI*, 23: 4-7. <http://www.pediatrik.com/buletin/062241/44/8-f53zj>.
- Rubin, F.A., P.D. McWhirter, N.H. Punjabi, ED Lane, P. Sudarmono, S.P. Pulungsih, M. Lesmana, S. Kumala, D.J. Kopecko and S.L. Hoffman, 1989. Use of a DNA Probe to Detect *Salmonella typhi* in the Blood of Patients with Typhoid Fever. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 27, No. 5: 1112-1114.
- Steele, D. 2008. The Importance of Generating Evidence on Typhoid Fever for Implementing Vaccination Strategies. *J Infect Developing Countries* 2(4):250-252.
- Thong, K., A. Cordano, R. M. Yassin, and T. Pang, 1996. Molecular Analysis of Environmental and Human Isolates of *Salmonella typhi*. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 62, No. 1: 271-274.
- Truper, H.G. 2005. The type species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 is *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987, with the type strain LT2^T, and conservation of the epithet *enterica* in *Salmonella enterica* over all earlier epithets that may be applied to this species. Opinion 80. Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 519-520.
- Turner, K.M., L. Restaino, and E.W. Frampton, 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detection in Foods. *Journal of Food Protection.* Vol. 63. No. 4: 539-541.
- WHO, 2003. *Background Document: The Diagnosis, Treatment and Prevention of Typhoid Fever.* Communicable Disease Surveillance and Response Vaccines and Biologicals. pp. 1-30; 103-120. [http://www.who.int/CSR/resources/publications/drugresist/IIIAMRManual.pdf/](http://www.who.int/CSR/resources/publications/drugresist/IIIAMRManual.pdf)