

DETEKSI IgM ANTI *Salmonella Enterica* Serovar Typhi DENGAN PEMERIKSAAN TUBEX TF DAN TYPHIDOT-M

Ilham*¹, Jusak Nugraha², Marijam Purwanta³

Program Studi S2 Imunologi, Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya

e-mail: *¹ilham.ku31@gmail.com, ²jusak.nugraha@yahoo.com,

³marijampurwanta@yahoo.com

Abstrak

Bakteri *Salmonella enterica* Serovar Typhi merupakan bakteri Gram-negatif yang bersifat patogen fakultatif intraseluler, masuk ke dalam tubuh manusia dan menyebabkan penyakit infeksi sistemik akut yang disebut demam tifoid. Deteksi dini antibodi anti *Salmonella enterica* Serovar Typhi masih merupakan tantangan dalam penegakan diagnosis laboratorium demam tifoid.

Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi perbedaan antara hasil deteksi kit TUBEX TF dan Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti *Salmonella enterica* Serovar Typhi pasien demam tifoid, menganalisis hubungan suhu tubuh dengan hasil pemeriksaan TUBEX TF, menganalisis hubungan suhu tubuh dengan hasil pemeriksaan Typhidot-M dan menganalisis tingkat kesesuaian hasil deteksi IgM dengan pemeriksaan TUBEX TF dengan Typhidot-M.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan observasional, tiga puluh delapan sampel yang berasal dari pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Hasil penelitian ini bahwa kit TUBEX TF menunjukkan hasil (65.8%) positif dan (34.2%) negatif. Sedangkan kit Kit Typhidot-M menunjukkan (60.5%) positif dan 15 (39.5%) sampel negatif. Analisis statistik menunjukkan hasil nilai kappa: $0.887 > 0.75$, kedua kit terdapat kesesuaian dengan tingkat kesesuaian sangat baik.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan kit Typhidot-M dapat digunakan sebagai diagnosis cepat bila kit TUBEX TF tidak tersedia. Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk membandingkan hasil TUBEX TF dan Typhidot-M dengan menggunakan kultur darah sebagai diagnosis gold standar untuk deteksi IgM anti *Salmonella enterica* Serovar Typhi.

Kata Kunci: IgM, *Salmonella enterica* Serovar Typhi, TUBEX TF, Typhidot-M

Abstract

Salmonella enterica Serovar Typhi is a Gram-negative enteric bacteria, it is a facultative intracellular pathogen that causes typhoid fever. Rapid detection of anti-*Salmonella enterica* Serovar Typhi antibodies remain challenge in diagnosis of typhoid fever.

The purpose of this research were to identify the difference result of TUBEX TF and Typhidot-M in detecting typhoid fever; to analyze correlation between the degree of body temperature and the result of IgM detected by TUBEX TF; to analyze correlation between the degree of body temperature and the result of IgM detected by Typhidot-M; and to analyze the conformity between the result of TUBEX TF with the result of Typhidot-M in detecting IgM anti-*Salmonella enterica* Serovar Typhi from typhoid fever patients.

This study is a descriptive observational approach design. Thirty-eight serum samples were taken from regional general hospital Dr. Soetomo Surabaya.

The result of TUBEX TF kit showed that 25 (65.8%) samples were positive and 13 (34.2%) samples were negative. While the result of Typhidot-M kit showed that 23 (60.5%) samples were positive and 15 (39.5%) samples were negative. Statistically analysis showed that TUBEX TF and Typhidot-M test had a very good conformity level by Kappa value 0.887 > (0.75).

*Based on the results of this research then it was suggested that Typhidot-M kit could be used as a rapid diagnosis whenever the TUBEX TF kit was not available. For further research, it is advisable to compare the results of TUBEX TF and Typhidot-M by using blood cultures as a gold standard to detect IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi (*S. typhi*).*

Keyword: *IgM, Salmonella enterica Serovar Typhi, TUBEX TF, Typhidot-M*

1. PENDAHULUAN

TF dan Typhidot-M yang dibandingkan dengan

Demam tifoid merupakan suatu penyakit sistemik akut yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*), yaitu suatu bakteri Gram-negatif enterik (Enterobacteriaceae) yang bersifat patogen fakultatif intraseluler (Jawetz et al., 1996; Mweu et al., 2008; Kaur et al., 2012).

Salmonella merupakan agen penyebab penyakit salmonellosis. Bakteri ini termasuk ke dalam famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang, berflagella (Pui et al., 2011), termasuk dalam golongan bakteri Gram-negatif, dan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri dari golongan *Salmonella* ini mampu menyerang hewan dan manusia dengan berbagai tingkat infeksi yang bervariasi, mulai infeksi ringan yang mengakibatkan diare sampai pada infeksi berat, misalnya demam tifoid (Diepen et al., 2005).

Penyakit ini masih merupakan masalah kesehatan yang utama di dunia. Lazim di temukan di berbagai belahan dunia yang memiliki keterbatasan akses ke sarana air bersih dan kurangnya sanitasi, seperti di India, Nepal, Pakistan, (Crump et al., 2010). Estimasi global terbaru penyakit ini berkisar dari 21 juta kasus per tahun dan 222.000 kematian per tahun di seluruh dunia (World Health Organization, 2014). Negara-negara yang memiliki insidensi tinggi (100/100.000 populasi per tahun) terletak di Asia Tenggara dan Asia bagian selatan serta di area pulau-pulau Pasifik (Crump et al., 2004; Merieux, 2007). Di Indonesia, insidensi penyakit demam tifoid tidak diketahui secara pasti, diperkirakan terdapat 900.000 kasus dan 20.000 kematian di seluruh Nusantara per tahun (World Health Organization, 2003; Merieux, 2007).

Penegakan diagnosis demam tifoid hanya dengan melihat tanda-tanda klinis sulit dilakukan karena tidak spesifiknya tanda-tanda dan gejala yang timbul, Gejala klinis demam tifoid yang timbul pada minggu pertama sakit yaitu keluhan demam, nyeri kepala, malaise dan gangguan gastrointestinal (Sudoyo, 2009). Adapun kategori suhu tubuh untuk mengetahui keluhan demam terdiri dari: (1). Hipotermi bila suhu tubuh kurang dari 36°C, (2). Normal bila suhu tubuh berkisar antara 36°C sampai dengan 37,5°C, (3). Febris/pireksia/demam bila suhu tubuh antara 37,5°C sampai dengan 40°C, (4). Hipotermi, bila suhu tubuh lebih dari 40°C (Tamsuri, 2007).

Studi yang dilakukan di Tanzania menggunakan suhu > 38°C (riwayat demam atau menunjukkan pireksia) sebagai kriteria inklusi untuk melakukan evaluasi kit TUBEX

hasil kultur darah menunjukkan hasil hubungan antara kit diagnosis cepat pada demam tifoid buruk (keddy *et al.*, 2011).

Berbagai metode diagnostik sebagai pengganti pemeriksaan Widal dan kultur darah sebagai metode konvensional masih

memerlukan penelitian lebih lanjut. Beberapa metode diagnostik yang lebih cepat, mudah dilakukan dan terjangkau harganya untuk negara berkembang dengan sensitivitas dan spesifisitas yang cukup baik, seperti pemeriksaan TUBEX

TF, Typhidot dan Dipstik mulai dapat dikembangkan penggunaannya di Indonesia (Tumbelaka, 2003).

TUBEX® TF merupakan suatu rapid test in vitro dengan metode inhibition magnetlc binding immunoasay (IMBI) yang dapat mendeteksi IgM yang spesifik terhadap antigen O9 Salmonella enterica Serovar Typhi yang terdapat dalam serum penderita. Interpretasi dari hasil pemeriksaan ini bersifat semi-kuantitatif yaitu dengan membandingkan warna yang timbul pada hasil reaksi pemeriksaan dengan warna standar yang memiliki skor yang terdapat pada kit TUBEX® TF (Pacific Biotek indoIntralab, 2007).

Pemeriksaan serologis Typhidot merupakan suatu pemeriksaan serologi yang didasarkan pada deteksi antibodi spesifik IgM

maupun IgG terhadap Salmonella enterica Serovar Typhi. Pemeriksaan menggunakan suatu membran nitroselulosa yang diisi 50-kDa spesifik protein dan antigen kontrol. Deteksi

antibodi IgM menunjukkan tahap awal infeksi pada demam tifoid akut sedangkan adanya peningkatan IgG menandakan infeksi yang lebih lanjut. Pada Typhidot-M yang merupakan modifikasi dari metode Typhidot telah dilakukan inaktivasi dari IgG total sehingga menghilangkan pengikatan kompetitif dan memungkinkan pengikatan antigen terhadap IgM spesifik. Walaupun kultur merupakan pemeriksaan gold standar, perbandingan kepekaan Typhidot-M dan metode kultur adalah

>93%. Typhidot-M sangat bermanfaat untuk diagnosis cepat di daerah endemis demam tifoid (Marleni, 2012; WHO, 2003). Hasil positif pada

pemeriksaan Typhidot didapatkan 2-3 hari setelah infeksi dan dapat mengidentifikasi secara spesifik antibodi IgM dan IgG terhadap antigen Salmonella enterica Serovar Typhi seberat 50-kDa yang terdapat pada strip nitroselulosa (Sudoyo, 2009).

1.1 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi perbedaan hasil interpretasi antara pemeriksaan TUBEX® TF dan Typhidot-M anti-Salmonella enterica

- serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
2. Menganalisis tingkat kesesuaian hasil pemeriksaan kit TUBEX[®] TF dan Typhidot-M anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
 3. Menganalisis hubungan suhu tubuh dengan hasil deteksi kit TUBEX[®] TF dalam pemeriksaan anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
 4. Menganalisis hubungan suhu tubuh dengan hasil deteksi kit Typhidot-M dalam pemeriksaan anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Demam tifoid

Penyakit demam tifoid merupakan suatu penyakit sistemik akut yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi (Nasronuddin, 2007). Bakteri ini merupakan patogen intra seluler fakultatif dan hanya menyebabkan penyakit demam tifoid pada manusia sampai saat ini (Mweu *et al.*, 2008; Kaur *et al.*, 2012).

Terdapat berbagai macam faktor yang mempengaruhi kejadian demam tifoid, diantaranya yaitu: kurangnya kebersihan individu, lingkungan tempat tinggal yang sangat padat, persediaan air bersih yang belum mencukupi, menurunnya system imun penderita, adanya mutasi genetik bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi dan munculnya *multidrug resistant* (Kumar *et al.*, 2007; Nasronuddin, 2007; Kothari *et al.*, 2008; Zaki *et al.*, 2011).

2.2. *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*)

2.2.1. Klasifikasi *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*)

Klasifikasi *Salmonella enterica* serovar Typhi sebagai berikut:

Kingdom: *Bacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Class: *Proteobacteria* Ordo:

Enterobacteriales Family:

Enterobacteriaceae Genus:

Salmonella

Species: *Salmonella enteric*

Subspecies: *Enterica*

Serovar: Typhi

Serovar merupakan klasifikasi *Salmonella* ke subspecies berdasarkan antigen organisme yang menyajikan. Hal ini

White yang membedakan varietas serologis satu dengan lainnya. Serovar biasanya dimasukkan ke dalam kelompok subspecies setelah genus dan spesies, dengan serovar dikapitalisasi, tidak dicetak miring: Contohnya *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (Achtman *et al.*, 2012).

Menurut *Kauffman-White sceme* bahwa berdasarkan identifikasi serologis *Salmonella enterica* Serovar Typhi dapat dikelompokkan ke dalam serovar berdasarkan formula perbedaan antigen, yaitu berdasarkan antigen O (somatik), antigen Vi (kapsul) dan antigen H (flagella) (Holt *et al.*, 1994). Saat ini system penamaan serotype/serovar digunakan *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* dan *WHO Collaborating Centre* (Brenner *et al.*, 2000).

Salmonella enterica serovar Typhi merupakan organisme yang sangat klonal, bakteri ini memiliki variasi genom yang terbatas, yang mana hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini belum lama berevolusi (Roumagnac *et al.*, 2006). Banyak gen yang berhubungan dengan *intestinal persistence* misalnya *shdA*, *ratB* atau yang berhubungan dengan interaksi dengan permukaan tubuh *host*, misalnya *fimbriae*, *pili*, dan lainnya mengalami inaktivasi (Holt *et al.*, 2009). Sebagai contoh gen-gen yang berkontribusi atas pelepasan cairan, misalnya *sopA* atau daya tahan di lingkungan intra seluler, misalnya *sopE2*, *sseJ* mengalami inaktivasi (McClelland *et al.*, 2004; Holt *et al.*, 2009). Akibatnya, *Salmonella enterica* serovar Typhi yang menginvasi akan melwati jalur/siklus hidup yang sederhana dan berefek terhadap terbatasnya aktivasi respon inflamasi *host* (McClelland *et al.*, 2004; Holt *et al.*, 2009).

Outer membrane protein (OMP) merupakan dinding sel terluar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang berfungsi sebagai sawar untuk mengendalikan aktivitas masuknya cairan ke dalam membran sitoplasma serta berfungsi sebagai reseptor bakteriofag dan bakteriolisin (Marleni, 2012).

2.3 Imunopatogenesis demam tifoid

Patogenesis demam tifoid bersifat kompleks, berbagai komponen patogen *Salmonella enterica* serovar Typhi bekerja secara serasi pada saat interaksi dengan *host* (Nasronuddin, 2007). Dosis infeksius *Salmonella enterica* serovar Typhi bervariasi antara 1000 hingga 1 juta organisme (Hornick *et al.*, 1970). *Salmonella enterica* serovar Typhi masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang tercemar menuju lambung, dan yang berhasil melewati lambung akan mencapai usus halus (Nasronuddin, 2007; Kaur *et al.*, 2012).

Salmonella enterica serovar Typhi (Humoral dan Seluler) (Kaur *et al.*, 2012). Sel masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang tercemar menuju lambung, dan yang berhasil melewati lambung akan mencapai usus halus (Monack *et al.*, 2004). Sel-sel fagosit yang terinfeksi akan terorganisir ke dalam foci khusus yang akan menjadi lesi patologis yang dikelilingi oleh jaringan normal (Monack *et al.*, 2004; Kaur *et al.*, 2012). Pembentukan lesi merupakan suatu proses dinamis yang membutuhkan berbagai molekul adhesi seperti ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), serta kinerja sitokin-sitokin yang berimbang, seperti: *Tumor Necrosis Factor* (TNF), interleukin (IL) -12, IL-8, IL-14, IL-15 dan interferon gamma (IFN- γ) (Kaur *et al.*, 2012). Sel dendritik berperan dalam mempresentasikan antigen bakteri sel-sel imun yang akan membangkitkan aktivasi limfosit T dan limfosit B (Kaur *et al.*, 2012). Sel limfosit T dan limfosit B akan keluar dari nodul limfatik dan mencapai hati dan limpa melalui jaringan RES (*reticuloendothelial system*) (House *et al.*, 2001; Nasronuddin, 2007). Di organ-organ ini bakteri akan dibunuh terutama oleh makrofag. Namun bagaimanapun *Salmonella enterica* serovar Typhi merupakan organisme intraseluler fakultatif yang mampu bertahan hidup dan bermultiplikasi di dalam sel fagosit (House *et al.*, 2001; Kaur *et al.*, 2012).

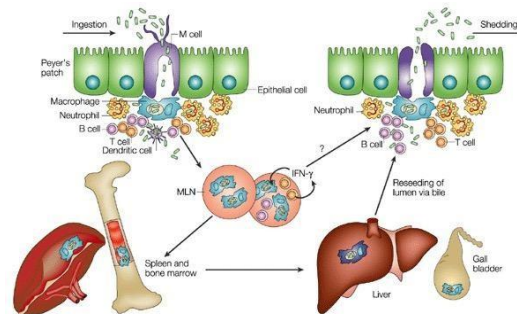
Pada ambang batas tertentu, yang ditentukan oleh jumlah bakteri, virulensi bakteri dan respon imun *host*, bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi akan keluar dari habitat intraseluler mereka menuju aliran darah (Kaur *et al.*, 2012). Fase bakterimia dari penyakit demam tifoid ditandai oleh menyebarnya bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi (Kaur *et al.*, 2012). Lokasi infeksi sekunder yang paling sering adalah hati, limpa, sumsum tulang, kandung empedu, dan *peyer's patches* di ileum terminal. Di hati, *Salmonella enterica* serovar Typhi menimbulkan aktivasi sel kupfer yang memiliki daya mikrobisidal yang tinggi dan dapat menetralkan bakteri dengan menggunakan *oxidative free radicals*, *nitric oxide* serta enzim-enzim (Kaur *et al.*, 2012). Bakteri yang berhasil bertahan hidup akan menginvasi hepatosit dan menyebabkan kematian seluler, utamanya melalui mekanisme apoptosis (Kaur *et al.*, 2012).

2.4 Respon imun terhadap infeksi *salmonella enterica* serovar typhi

Respon imun *host* pada infeksi *Salmonella enterica* serovar Typhi melibatkan *innate immunity* dan *adaptive immunity*

sel inflamasi ini memproduksi sitokin seperti TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, dan IL-8. TNF- α memiliki aktifitas antibakterial yang sangat banyak terhadap *Salmonella typhi*, dan sel-sel kuffer merupakan penghasil utama TNF- α di hati (Santos S.A *et al.*, 2011). Clearance bakteri *Salmonella enterica* serovar Typhi jaringan memerlukan aktivasi CD4⁺, T cell reseptor (TCR)- $\alpha\beta$ dari sel T, dan dikontrol oleh gen Major Histocompatibility Complex (MHC) kelas II (McSorley *et al.*, 2000; Kaur *et al.*, 2012).

Salmonella enterica serovar Typhi yang berada di intrasel tidak dapat diserang oleh imunitas humoral dan komplemen, sehingga diperlukan respon imun seluler untuk mengatasinya. Untuk itu, dalam hal ini antibodi berperan untuk meningkatkan aktifitas makrofag dan menghambat perlekatan dengan reseptor sel. IgM berfungsi untuk netralisasi, sedangkan IgG berfungsi untuk meningkatkan fagositosis dan aktivasi komplemen (Nasronuddin, 2007).



Gambar 2.2 patogenesis infeksi *salmonella enterica serovar typhi* pada manusia (Kaur *et al.*, 2012)

Salmonella enterica serovar Typhi pada manusia: bakteri memasuki payers patches dari permukaan mukosa saluran usus dengan mengivasi sel M, sel epitel spesifik yang menangkap dan membawa antigen ke luminal untuk di tangkap oleh sel fagosit. Hal ini diikuti oleh inflamasi dan fagositosis bakteri oleh neutrophil, makrofag dan pembentukan sel T dan B.

Bakteri dapat bertahan di *mesenteric lymph nodes* (MLNs), sumsum tulang dan kantung empedu seumur hidup, dan terjadi pembelahan secara berkala pada permukaan mukosa melalui saluran empedu dan/atau mesenteric lymph nodes (MLNs) dari usus kecil, dan penumpahan dapat terjadi dari permukaan mukosa. Interferon (IFN- γ), yang dapat disekresi oleh sel T, memiliki peran dalam mengendalikan replikasi *Salmonella* intraselular. Interleukin (IL) -12, yang dapat meningkatkan produksi (IFN- γ) dan sitokin tumor-necrosis

factor (TNF- α) juga berkontribusi terhadap pengendalian pertahanan *Salmonella* (Kaur *et al.*, 2012)

2.5 Gejala klinis demam tifoid

Gejala klinis demam tifoid pada anak biasanya lebih ringan jika dibanding dengan penderita dewasa. Masa inkubasi demam tifoid 3 sampai 60 hari dengan rata-rata antara 10 sampai 14 hari (Nelwan, 2007). Manifestasi klinis demam tifoid seringkali tidak khas dan sangat bervariasi dari gejala ringan seperti demam yang tidak terlalu tinggi, malaise dan batuk kering, sesuai dengan patogenesis demam tifoid sampai dengan bentuk klinis yang berat baik berupa gejala sistemik panas tinggi, gejala septik yang lain, ensefalopati atau timbul komplikasi gastrointestinal berupa perforasi usus atau perdarahan. Hal ini menyebabkan sulit untuk melakukan penegakan diagnosis berdasarkan gambaran klinisnya saja (Darmowandoyo, 2003; Tumbelaka, 2003).

2.6 Skor Nelwan

Skor nelwan merupakan skala penilaian klinis demam tifoid diaman skor terdiri dari nilai skor minimal yaitu 1 dan nilai skor maksimal 20, semakin tinggi skor semakin mendukung demam tifoid. Penilaian klinis demam tifoid bila terdapat nilai skor ≥ 8 . Diagnosis bisa ditegakkan melalui tanda-tanda klinis, terutama lima tanda utama (mual, nyeri abdominal, anoreksia, muntah dan gangguan motilitas saluran cerna) dan kriteria lainnya. Berdasarkan tanda-tanda klinis, bisa didapatkan skor klinik (kalbemed, 2014).

2.7 Klasifikasi batas normal suhu tubuh manusia

International Union of Physiological Sciences Commission for Thermal Physiology mendefinisikan demam/febris sebagai suatu keadaan peningkatan suhu inti, yang sering merupakan bagian dari respons pertahanan organisme multiselular (host) terhadap invasi mikroorganisme atau benda mati yang patogenik atau dianggap asing oleh *host*. El-Rahdi dkk., mendefinisikan demam (pireksia) dari segi patofisiologis dan klinis.

Pirogen eksogen biasanya merangsang demam dalam 2 jam setelah terpapar. Umumnya, pirogen berinteraksi dengan sel fagosit, makrofag atau monosit, untuk merangsang sintesis IL-1. Mekanisme lain yang mungkin berperan sebagai pirogen eksogen (misalnya endotoksin) bekerja langsung pada hipotalamus untuk mengubah pengatur suhu. Pirogenitas bakteri Gram-negatif (misalnya

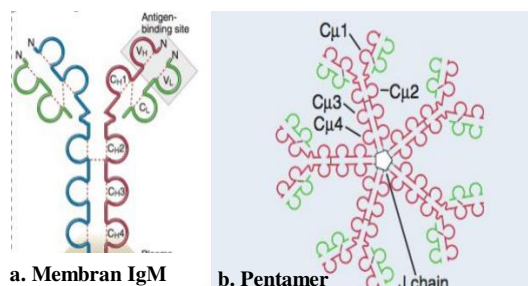
Escherichia coli, *Salmonella*) disebabkan adanya *l-zeat-stable factor* yaitu endotoksin, suatu pirogen eksogen yang pertama kali ditemukan. Komponen aktif endotoksin berupa lapisan luar bakteri yaitu lipopolisakarida (Soedarmo *et al.*, 2008).

Suhu tubuh dibagi menjadi: (1). Hipotermi bila suhu tubuh kurang dari 36°C, (2). Normal bila suhu tubuh berkisar antara 36°C sampai dengan 37,5°C, (3). Febris/pireksia/demam bila suhu tubuh antara 37,6°C sampai dengan 40°C, (4). Hipertermi, bila suhu tubuh lebih dari 40°C (Tamsuri, 2007).

2.8 Immunoglobulin M (IgM)

Immunoglobulin M (IgM) merupakan suatu protein dengan berat molekul yang tinggi (makroglobulin), dalam bentuk tersekresi antibodi ini dapat terdiri atas 5 atau 6 (jarang) subunit (IgM monomer; pentamer heksamer (Abbas *et al.*, 2012). Setiap monomer IgM terdiri atas dua *heavy chain* dan dua *light chain* yang terhubung melalui suatu struktur polipeptida 15-kDa (ikatan disulfida) yang disebut *joining (J) chain*. IgM memiliki konsentrasi serum sebesar 1,5 mg/mL, dan serum *half life* selama 5 hari (Abbas *et al.*, 2012). Immunoglobulin M (IgM) merupakan immunoglobulin yang pertama kali disintesis oleh neonatus, dan merupakan kelas immunoglobulin yang paling berpengaruh pada tahap awal respon imun.

Imunoglobulin *heavy chain* dan *light chain* disintesis di *membrane-bound* ribosom pada retikulum endoplasma kasar, yang kemudian akan ditranslokasikan ke retikulum endoplasma, immunoglobulin *heavy chain* akan mengalami *N-glycosylated* selama proses translokasi ini (Abbas *et al.*, 2012). Proses *folded immunoglobulin heavy chain* dan perakitannya dengan *light chain* diregulasi oleh *chaperones*, yaitu suatu protein residen di retikulum endoplasma. Setelah proses perakitan selesai, molekul immunoglobulin akan dilepaskan dari *chaperones* kemudian akan ditransportasikan ke dalam *cisternae* kompleks golgi tempat terjadi modifikasi karbohidrat, dan kemudian ke membran plasma di vesikel. Di dalam bentuk membran akan terpancang di membran plasma, sedangkan IgM dalam bentuk pentamer akan ditransportasikan ke luar sel (Abbas *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Struktur IgM (Abbas *et al.*, 2012)

Dalam bentuk monomer, IgM berfungsi sebagai reseptor permukaan sel yang akan mengenali antigen dan menginisiasi proses aktivasi sel B. Sel B matur mengekspresikan molekul IgM dan IgD dalam bentuk membran. Saat sel limfosit B matur diaktivasi oleh antigen dan berbagai stimulus lainnya, sel B akan berdiferensiasi menjadi sel pensекреpsi antibodi (*antibody-secreting cell*) (Abbas *et al.*, 2012). Proses ini juga disertai dengan terjadinya perubahan pola produksi imunoglobulin. Salah satu perubahan yang muncul adalah meningkatnya produksi imunoglobulin dalam bentuk sekresi dibandingkan dalam bentuk membran. Perubahan lainnya adalah munculnya ekspresi *isotype heavy chain* imunoglobulin selain IgM dan IgD (*Class switching*). Dalam bentuk polimer, molekul IgM berperan sebagai aktivator kaskade komplemen jalur klasik yang sangat efisien. Satu molekul IgM dapat mengaktifkan komponen komplemen C1 sedangkan untuk fungsi yang sama dibutuhkan beberapa molekul IgG (Abbas *et al.*, 2012).

2.9 imunodiagnosis demam tifoid

Rapid test: merupakan suatu alat diagnostik yang sederhana, reliable, dan relatif murah. Alat ini cocok digunakan di daerah terpencil yang memiliki keterbatasan fasilitas laboratorium dan penggunaannya tidak memerlukan pelatihan khusus untuk menggunakan alat ini (Parry *et al.*, 2011). Kelas antibodi yang dapat dideteksi oleh alat ini biasanya IgM, yang merupakan petunjuk adanya infeksi yang baru atau sedang terjadi (Parry *et al.*, 2011) Beberapa *rapid test* juga dapat mendeteksi IgG yang merupakan indikasi adanya infeksi yang sedang terjadi atau paparan infeksi sebelumnya (Parry *et al.*, 2011).

2.10 TUBEX® TF

Pemeriksaan Tubex merupakan pemeriksaan aglutinasi kompetitif semi-kuantitatif yang cepat dan mudah untuk dikerjakan. Pemeriksaan ini mendeteksi antibodi IgM terhadap antigen LPS 0-9 pada serum pasien, prinsip kerjanya dengan menggunakan metode reaksi *Inhibition Magnetic Binding Immunoassay* (IMBI®) yaitu dengan cara

mengukur kemampuan serum antibodi IgM dalam menghambat reaksi antara antigen *Salmonella enterica* serovar Typhi dan anti-O9 IgM *monoclonal antibody* (MAb). Selanjutnya ikatan inhibisi akan dipisahkan oleh suatu daya magnetik (Rahman, 2007). Penelitian Olsen (2004) yang dilakukan pada anak demam hari ke enam dibandingkan kultur didapatkan sensitivitas dan spesifisitas 78% dan 94% (Marleni, 2012; Olsen, 2004).

2.11 Prinsip *Inhibition Magnetic Binding Immunoassay* (IMBI®)

Uji TUBEX TF menggunakan metode *Inhibition Magnetic Binding Immunoassay* (IMBI®) untuk mendeteksi antibodi serum spesifik (IgM) terhadap antigen O9 yang terdapat pada lipopolisakarida (LPS) *Salmonella enterica* serovar Typhi (Lim *et al.*, 1998). Antigen O9 bersifat imunodominant yang dapat merangsang respon imun secara independen, antigen ini dapat langsung merangsang mitosis sel B tanpa memerlukan bantuan dari sel T. Karena memiliki sifat ini, maka respon imun terhadap antigen O9 bersifat cepat, sehingga deteksi terhadap antibodi anti O9 dapat dilakukan lebih dini, yaitu pada hari ke-5 untuk indikasi primer dan hari ke-2 untuk infeksi sekunder (Widodo, 2009).

Imunoglobulin M (IgM) dapat terdeteksi adanya kemampuan untuk menghambat reaksi perlekatan antara reagen monoklonal antibodi (anti-O9 mAb) berlabel lateks warna biru dengan reagen antigen O9 LPS *Salmonella enterica* serovar Typhi berlabel partikel lateks magnetik, yang mana ikatan inhibisi itu nantinya akan dipisahkan oleh suatu daya magnetik (Lim *et al.*, 1998; Tam *et al.*, 2008).

Komponen yang berperan pada metode IMBI ini adalah: (i) Partikel antigen O9 LPS *Salmonella enterica* serovar Typhi yang berlabel lateks magnetik (reagen Cokelat), (ii) Partikel anti-O9 monoklonal antibodi yang berlabel partikel latek berwarna (reagen biru), (iii) Penyangga magnet (*magnetic stand*) yang berfungsi untuk mengendapkan perlekatan ikatan partikel antigen-antibodi (IDL Biotech, 2008).

2.10.1 Prinsip Pemeriksaan TUBEX® TF

Pada kondisi tidak adanya antibodi dari serum, bila suspensi cair dari kedua reagen (reagen biru dan cokelat) dicampurkan maka akan terjadi perlekatan antara reagen partikel monoklonal antibodi dengan partikel antigen dan keduanya akan mengendap ke bagian dasar tabung reaksi yang berbentuk V saat tabung reaksi tersebut di letakkan di penyangga magnet

Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 19 (2017) pp
© (2017) Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, Indonesia
(Lim *et al.*, 1998; Tam *et al.*,
2008).



Gambar 2.5 skala warna hasil uji tubex® *tf* (dl biotech, 2011)

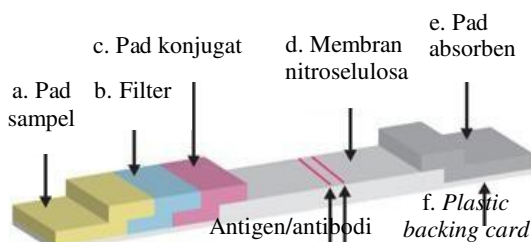
Pembacaan hasil uji TUBEX® *TF* dilakukan setelah 5 menit proses sedimentasi partikel-partikel magnetik dengan magnet yang terdapat pada penyangga magnet (Tam *et al.*, 2008b). Hasil (semikuantitatif) dibaca secara visual berdasarkan warna yang terlihat setelah reaksi pencampuran dilakukan dan dibandingkan dengan skala warna yang terdapat pada kit TUBEX® *TF*, rentang skor hasil yaitu dari 0 (warna merah, sangat negatif) megatin hingga 10 (warna biru tua, sangat positif) (Kawano *et al.*, 2007; Tam *et al.*, 2008a).

Di antara keuntungan dari uji TUBEX® *TF* adalah: (1) memiliki sensitivitas dan spesifitas yang relative tinggi, (2) menggunakan antigen O9 LPS *Salmonella enterica* serovar Typhi yang sangat spesifik, (3) prosedur pemeriksaan yang sangat mudah sehingga dapat dilakukan oleh teknisi tanpa pelatihan khusus, (4) dapat dilakukan dimana saja, tidak harus di dalam laboratorium, (5) dapat menguji banyak tes sekaligus sehingga dapat digunakan pada *mass screening*, (6) hasil dapat diperoleh secara cepat kurang lebih 10 menit, (7) sampel darah yang dibutuhkan hanya sedikit, non invasif (Lim *et al.*, 1998; Olsen *et al.*, 2004; Kawano *et al.*, 2007; PT. Pacific Biotekindo Intralab, 2007; IDL Biotech, 2008).

2.11 Typhidot-M

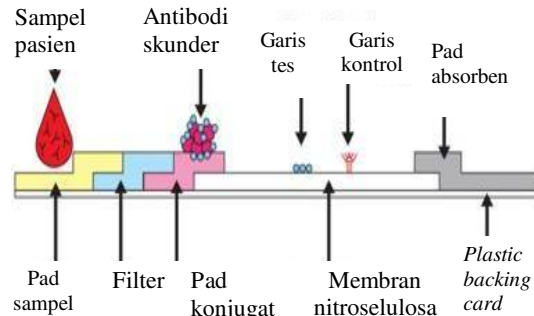
Uji ini menggunakan membran nitroselulosa dengan 50-kDa protein tertentu dan antigen kontrol (Narayanappa *et al.*, 2010).

2.11.1 Prinsip immunochromatographic test (ICT)



Gambar 2.7 immunochromatographic test (reszonics.com, 2011)

Sampel pasien (serum/plasma/darah utuh) ditetaskan pada pad sampel (Gambar 2.8), untuk sampel *whole blood*, *buffer* ditetaskan pada pad sampel setelah sampel pasien.



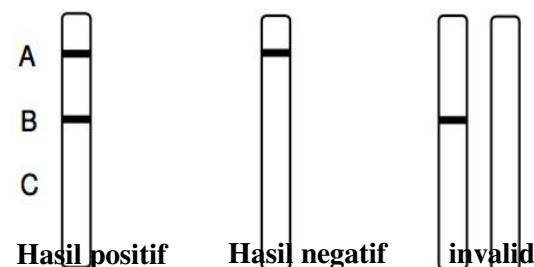
Gambar 2.8 pad sampel (reszonics.com, 2011)

Absorbent pad di ujung menyebabkan kapiler, yang sesuai sampel (dan penyangga) terhadap filter (Gambar 2.9). Ketika sampel mengalir melalui filter, sel-sel darah merah dalam sampel *whole blood* terdapat di filter, sedangkan serum yang mengandung antibodi pasien melewati filter menuju pad konjugat.

2.11.2 Prinsip Pemeriksaan Typhidot-M

Typhidot-M merupakan uji imunokromatografi fase padat tidak langsung. Antigen spesifik *Salmonella typhi* bergerak ke strip membran selulosa nitrat. Ketika sampel uji ditambahkan ke pad sampel, akan bermigrasi ke atas. Jika antibodi spesifik berada dalam sampel uji (serum atau plasma), akan membentuk kompleks antigen-antibodi dengan antigen bergerak di zona jendela uji. Antigen-antibodi kompleks yang terikat kemudian dideteksi oleh pewarna terkonjugasi *IgM goat anti human* ketika *chese buffer* ditambahkan dan bermigrasi ke bawah, memberikan warna pink keungan. Garis kontrol berisi *rabbit anti-goat IgG* yang mengikat dengan pewarna terkonjugasi *goat anti human IgM*. Band kontrol berfungsi sebagai indikasi migrasi yang tepat yang ditambah dengan reagen kontrol.

2.11.3 Interpretasi Hasil Typhidot-M



Gambar 2.12 Interpretasi Hasil Typhidot-M (reszonics.com, 2011)

Hasil pemeriksaan Typhidot-M sebagai berikut: 1). Hasil positif untuk antibodi spesifik *Salmonella typhi*: Warna tebal muncul di garis kontrol (A) dan garis Tes (B), 2). Hasil negatif untuk antibodi spesifik *Salmonella typhi*: Hanya garis kontrol (A) yang terlihat, 3). Hasil tidak valid: Garis kontrol (A) tidak ada. Jika hal ini terjadi, pengujian harus diulang menggunakan kaset pengujian baru.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Deskriptif dengan pendekatan Observasional, Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling*, yaitu mengambil pengambilan sampel yang di dilai sesuai tujuan peneliti dan sesuai dengan ciri atau sifat tertentu yang sudah diketahui sebelumnya

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2017 sampai dengan Mei 2017, Sampel dikumpulkan sebanyak 38 sampel serum yang berasal dari pasien dengan gejala klinik demam tifoid berdasarkan skor Nelwan (≥ 8) dan data lain diantaranya: jenis kelamin, usia, Suhu tubuh disajikan dalam bentuk Tabel distribusi frekuensi dan persentase.

Pemeriksaan IgM anti-*Salmonella enterica* Serovar Typhi pada serum pasien dengan metode *Inhibition Magnetic Binding Immunoassay* (IMBI[®]) pada Kit TUBEX TF. Hasil pemeriksaan berdasarkan skor 0 sampai dengan 10, dinyatakan positif jika skor (≥ 4) dan dinyatakan negatif jika hasil skor (< 4). Selain itu serum pasien dipemeriksa menggunakan Kit Typhidot-M (*Reszon Diagnostics International Sdn. Bhd*). Hasil dinyatakan positif jika terdapat 2 garis antara garis A dan B, dinyatakan hasil negatif jika hanya terdapat 1 garis pada garis A.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan sebanyak 38 sampel serum yang berasal dari pasien laki-laki sebanyak 20 sampel serum dan perempuan sebanyak 20 sampel serum yang memenuhi kriteria skor Nelwan (≥ 8), dari hasil analisis deskriptif menunjukkan hasil sebagai berikut: Skor minimal 8, skor maksimal 16 dengan skor rata-rata 11.4211 dan standar deviasi 3.30136. Usia terbanyak 13 sampai dengan 24 tahun sebanyak 17 sampel, 14 sampel yang memiliki usia 1 tahun sampai dengan 12 tahun dan tidak terdapat pasien yang memiliki rentan usia 37 tahun sampai dengan 60 tahun. Hasil deskriptif berdasarkan usia kejadian demam tifoid sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh penelitian lain dengan usia rata-rata kejadian demam tifoid lebih banyak

pada usia 24 tahun (Karen., 2011; WHO., 2017). Terdapatnya persamaan hasil yang didapat dikarenakan pada umumnya, demam tifoid menyerang penderita usia 5-30 tahun, tetapi kasus ini juga ditemukan pada anak usia di bawah 2 tahun (Lin et al., 2000; Nasronuddin, 2007; Zaki et al., 2011), selain itu kemungkinan terdapat berbagai macam faktor yang mempengaruhi kejadian demam tifoid pada pasien usia 1 tahun sampai dengan 12 tahun maupun usia 13 tahun sampai dengan 24 tahun, diantaranya: kurangnya kebersihan individu, lingkungan tempat tinggal yang sangat padat, persediaan air bersih yang belum mencukupi, menurunnya system imun penderita, adanya mutasi genetik bakteri *Salmonella enterica* Serovar Typhi dan munculnya multidrug resistant (Kumar et al., 2007; Nasronuddin, 2007; Kothari et al., 2008; Zaki et al., 2011).

Tabel 4.1 Hasil analisis deskriptif suhu tubuh

Hasil	TUBEX TF	Typhidot-M
Positif	25	23
Negatif	13	15
Total	38	38

Perbedaan hasil interpretasi antara kit TUBEX TF dan kit Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti-*Salmonella enterica* Serovar Typhi. Pada Tabel 5.7 hasil deteksi tidak dilakukan analisis statistik, karena peneliti hanya bertujuan untuk mengidentifikasi hasil positif maupun negatif dari masing-masing kit, dimana antara kedua hasil kit menunjukkan hasil deteksi positif dari TUBEX TF sebanyak 25 sampel dan hasil negatif sebanyak 13 sampel, hasil dari pemeriksaan Typhidot-M menunjukkan hasil positif sebanyak 23 sampel dan hasil negatif sebanyak 15 sampel. Dari hasil pemeriksaan TUBEX TF dan Typhidot-M berdasarkan frekuensinya bahwa kit TUBEX TF lebih banyak memiliki hasil deteksi positif dibandingkan dengan hasil positif yang dimiliki kit Typhidot-M pada sampel serum pasien yang sama dengan selisih hasil positif sebanyak 2 sampel. Adanya selisih hasil pemeriksaan tersebut maka dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan hasil deteksi antara kit TUBEX TF dengan kit Typhidot-M dalam deteksi IgM anti-*S.Typhi* pada pasien demam tifoid yang memenuhi kriteria skor Nelwan.

Tabel 4.2 hasil tabulasi silang tubex *tf* dengan typhidot-m

		Typhidot-M		
		Positif	Negatif	Total
TUBEX	Positif	23	2	25/
	<i>TF</i> Negatif	0	13	13
Total		23	15	38

Nilai $\chi^2 = 0.000 < 0.05$

Tingkat kesesuaian hasil deteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi kit TUBEX TF dengan kit Typhidot-M, Berdasarkan Tabel 4.2 Menunjukkan 23 sampel (60.5%) positif pada kit TUBEX TF maupun kit Typhidot-M, 2 sampel (5.3%) positif pada kit TUBEX TF tetapi negatif pada kit Typhidot-M dalam mendeteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi, 0 sampel (0%) hasil negatif pada kit TUBEX TF tetapi 13 sampel (34.2%) negatif pada kit Typhidot-M dalam mendeteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi. Hasil analisis Chi-Square terdapat nilai $p = 0.000 < 0.05$ yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (significant) antara hasil deteksi kit TUBEX TF dengan hasil deteksi kit Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi dan nilai kappa: 0.887 yang berarti terdapat tingkat kesesuaian yang sangat baik antara hasil kit TUBEX TF dengan kit Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica

Serovar Typhi. Kriteria nilai kappa yang digunakan sebagai berikut bila kappa ($>0,75$) menunjukkan tingkat kesesuaian sangat baik, 0,4-0,75 menunjukkan tingkat kesesuaian yang baik dan ($<0,4$) menunjukkan tingkat kesesuaian yang buruk (Dahlan, 2010). berdasarkan Tabel 5.7 dapat dihitung nilai sensitivitas 100% (23/23+0) dan spesifisitas sebesar 86,7% (13/13+2), nilai prediktif positif 92% (23/23+2) dan nilai prediktif negatif 100% (13/13+0). Hasil dari penelitian ini memiliki sensitifitas dan spesifisitas lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yang menggunakan 3 uji serologi sekaligus, didapatkan pemeriksaan TUBEX TF memiliki sensitifitas dan spesifisitas tinggi (78% dan 89%) jika dibandingkan pemeriksaant carik celup Multi-test Dip-S-Ticks (89% dan 53%), Typhidot (79 dan 89%), serta Widal (64 dan 76%) (Olsen *et al.*, 2004). Typhidot dan pemeriksaan TUUBEX TF menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh, namun jika dipertimbangkan dari segi biaya dan teknik pemeriksaannya, pemeriksaan TUUBEX TF

lebih unggul dengan biaya relatif lebih murah dan prosedur yang sederhana (Bibb *et al.*, 2004). Namun hasil peneliti saat ini berbeda dengan hasil yang pernah dilakukan oleh peneliti lain di afrika utara dan repoblik Tanzania dimana sensitivitas kit Typhidot-M (75%) lebih tinggi dibandingkan dengan sensitivitas kit TUBEX 1F (15%) dengan kultur darah sebagai gold standard (Keddy *et al.*, 2011). Hasil anatara kit TUBEX TF dan kit Typhidot-M yang memiliki sensitifitas dan spesifisitas lebih tinggi dari peneliti sebelumnya. Beberapa laporan menunjukkan bahwa tes Typhidot-M mungkin lebih bermanfaat di Asia (Keddy *et al.*, 2011). Adanya kemungkinan disebabkan adanya perbedaan serotype/serovar dari masing-masing negaragara sehingga mengakibatkan tingkat sensitifitas maupun spesifitas dari kit yang digunakan sebagai diagnosis cepat dalam mendeteksi IgM memiliki hasil yang berda, peneliti saat ini tidak menggunakan pemeriksaan biakan darah dari sumsum tulang atau menggunakan kultur darah sebagai baku emas. Peneliti saat ini hanya menggunakan skor Nelwan sebagai kreteria penentu adanya demam pada sampel yang diteliti, sehingga besar kemungkinan untuk terjadinya subjektifitas dari peneliti. Mengingat demam tifoid tidak ada gejala klinis yang tunggal untuk mengetahui pasti atau tidak terjadinya demam tifoid yang terjadi pada pasien yang dijadikan sampel penelitian saat ini.

Tabel 4.3 hasil tabulasi silang suhu tubuh dengan kit tubex *tf*

		TUBEX TF		
		Psitif	Negatif	Total
Suhu	$>37,5^{\circ}\text{C}$	19	4	23
Tubuh	$<37,5^{\circ}\text{C}$	6	9	15
Total		25	13	38

Nilai $p: 0.013 < 0.05$

Suhu tubuh merupakan salah satu gejala sistemik demam tifoid sehingga penilti saat ini ingin mengetahui bagaimana hubungan antara hasil deteksi IgM dari kit TUBEX TF maupun kit Typhidot-M terhadap suhu tubuh sebagai upaya deteksi dini dari demam tifoid. Pada penelinian saat ini hubungan suhu tubuh dengan hasil interpretasi deteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi dengan kit Typhidot-M, berdasarkan Tabel 4.3 terdapat 19 sampel (50%) positif, 4 sampel (10.5%) negatif yang berasal dari pasien demam tifoid dengan suhu tubuh

TUBEX TF dan terdapat 6 sampel (15.8%) positif, 9 sampel (23.6%) negatif yang berasal dari pasien demam tifoid dengan suhu tubuh <37.50C pada pemeriksaan IgM dengan kit TUBEX TF. Hasil analisis Chi-Square didapat nilai $\rho = 0.013 < 0.05$ yang menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna (significant) antara suhu tubuh dengan hasil deteksi kit TUBEX TF dan nilai kappa = 0.436 yang berarti tingkat hubungan yang baik pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi.

Tabel 4.4 hasil tabulasi silang suhu tubuh dengan typhidot-m

		Typhidot-M		
		Positif	Negatif	Total
Suhu tubuh	>37.5°C	17	6	23
	<37.5°C	6	9	15
Total		23	15	38

Nilai $\rho = 0.049 < 0.05$

Berdasarkan Tabel 5.10 terdapat 17 sampel (44.7%) positif, 6 sampel (15.8%) negatif yang berasal dari pasien demam tifoid dengan suhu tubuh >37.5°C pada pemeriksaan IgM dengan kit Typhidot-M dan terdapat 6 sampel (15.8%) positif, 9 sampel (23.6%) negatif yang berasal dari pasien demam tifoid dengan suhu tubuh <37.50C pada pemeriksaan IgM dengan kit Typhidot-M. Hasil analisis Chi-Square didapat nilai $\rho = 0.049 < 0.05$ yang menunjukkan terdapat hubungan antara suhu tubuh dengan dengan hasil deteksi Typhidot-M dan nilai kappa = 0.339 yang berarti tingkat hubungan yang buruk pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi dengan kit Typhidot-M. Hasil Studi yang dilakukan di Tanzania menggunakan suhu > 38°C (riwayat demam atau menunjukkan pireksia) sebagai kriteria inklusi untuk melakukan evaluasi kit Typhidot-M yang dibandingkan dengan hasil kultur darah menunjukkan hasil hubungan antara kit diagnosis cepat pada demam tifoid buruk (keddy et al., 2011), akan tetapi hasil pemeriksaan IgM dengan Kit TUBEX TF berbeda, dimana hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti saat ini menunjukkan hasil yang baik.

Kriteria suhu tubuh normal bila berkisar antara 36°C sampai dengan 37,5°C, demam bila suhu tubuh antara 37,6°C sampai dengan 40°C yang dinyatakan (Tamsuri, 2007). International Union of Physiological Sciences Commission for Thermal Physiology yang

mendefinisikan bahwa demam/febris sebagai suatu keadaan peningkatan suhu inti, yang sering merupakan bagian dari respons pertahanan organisme multiselular host terhadap invasi mikroorganisme atau benda mati yang patogenik atau dianggap asing oleh host. El-Rahdi dkk., mendefinisikan demam (pireksia) dari segi patofisiologis dan klinis. Secara patofisiologis demam adalah peningkatan thermoregulatory set point dari pusat hipotalamus yang diperantarai oleh interleukin 1 (IL-1). Sedangkan secara klinis demam adalah peningkatan suhu tubuh 1oC atau lebih besar di atas nilai rerata suhu normal di tempat pencatatan. Sebagai respons terhadap perubahan set point ini, terjadi proses aktif untuk mencapai set point yang baru. Hal ini dicapai secara fisiologis dengan meminimalkan pelepasan panas dan memproduksi panas (El-Radhi, 2009; Fisher RG, 2005).

Terjadinya hasil positif yang dominan pada kit TUBEX TF dan Typhidot-M kemungkinan disebabkan oleh faktor seperti faktor individu dan lingkungan, meliputi usia, jenis kelamin, aktivitas fisik dan suhu udara ambien dan kemungkinan tempat pengukuran yang berbeda dari masing-masing sampel sehingga perlu adanya pengelompokan yang lebih spesifik untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara suhu tubuh dengan kejadian demam tifoid berdasarkan tempat pengukuran suhu maupun waktu pengukuran suhu tubuh.

Disamping itu pirogen berinteraksi dengan sel fagosit, makrofag atau monosit, untuk merangsang sintesis IL-1. Mekanisme lain yang mungkin berperan sebagai pirogen eksogen (misalnya endotoksin) bekerja langsung pada hipotalamus untuk mengubah pengatur suhu. Pirogenitas bakteri Gram-negatif (misalnya Escherichi coli, Salmonela) disebabkan adanya l-zeat-stable factor yaitu endotoksin, suatu pirogen eksogen yang pertama kali ditemukan. Komponen aktif endotoksin berupa lapisan luar bakteri yaitu lipopolisakarida (Soedarmo et al., 2008). Kit TUBEX TF menggunakan metode Inhibition Magnetic Binding Immunoassay (IMBI®) untuk mendeteksi antibodi serum spesifik (IgM) terhadap antigen O9 yang terdapat pada lipopolisakarida (LPS) Salmonella enterica Serovar Typhi sehingga kit TUBEX TF lebih banyak mendeteksi IgM. Immunoglobulin M muncul pada minggu pertama dan diikuti peningkatan suhu tubuh pasien demam tifoid sehingga hasil positif sampel serum dari pasien yang memiliki suhu $\geq 37.60C$ lebih dominan.

Sedangkan kit Typhidot-M mendeteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi menggunakan Outer Membrane Protein (OMP) resisten pada suhu 800C sampai dengan 1000C meskipun demikian ada kemungkinan terjadinya perubahan yang dipengaruhi oleh suhu lingkungan maupun pada pasien itu sendiri sehingga terdeteksinya hasil negatif pada pemeriksaan IgM pada serum pasien demam tifoid.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang di dapat, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: Terdapat perbedaan hasil interpretasi antara pemeriksaan TUBEX[®] TF dan Typhidot-M anti-Salmonella enterica Serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Tingkat kesesuaian hasil pemeriksaan TUBEX TF dan Typhidot-M anti-Salmonella enterica Serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Analisis *Chi-Square* terdapat nilai $\rho = 0.000 < 0.05$ yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (*significant*) antara hasil deteksi kit TUBEX TF dengan hasil deteksi kit Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti Salmonella enterica Serovar Typhi dan nilai $kappa = 0.887$ yang berarti terdapat tingkat kesesuaian yang sangat baik antara hasil kit TUBEX TF dengan kit Typhidot-M pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi.

Terdapat hubungan suhu tubuh dengan hasil pemeriksaan TUBEX[®] TF dalam deteksi anti-Salmonella enterica Serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan nilai $\rho = 0.013 < 0.05$ dan nilai $kappa = 0.436$ yang berarti tingkat hubungan yang baik pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi.

Terdapat hubungan suhu tubuh terhadap hasil pemeriksaan Thipidot-M dalam deteksi anti-Salmonella enterica Serovar Typhi pada serum pasien demam tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan nilai $\rho = 0.049 < 0.05$ dan nilai $kappa = 0.339$ yang berarti tingkat hubungan yang buruk pada pemeriksaan IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi dengan kit Typhidot-M.

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan penggunaan kit Typhidot-M dapat

digunakan sebagai diagnosis cepat bila kit TUBEX TF tidak tersedia.

Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk membandingkan hasil TUBEX TF dan Typhidot-M menggunakan kultur darah sebagai gold standar dalam deteksi IgM anti-Salmonella enterica Serovar Typhi (*S. typhi*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya, saya ucapkan kepada Bapak Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK (K), Sebagai pembimbing ketua, Ucapan terimakasih kepada Ibu Dr. Marijam Purwanta, Dra., M.Sc., Apt, SEBAGAI pembimbing II.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Andrew H, and Pillai S. 2012. *Immunity To Mikrobies. In Cellular And Molecular Immunology*. 7th Edition, Philadelphia; WB Elsvier Company.
- Achtman, M.; Wain, J.; Weill, F. O. X.; Nair, S.; Zhou, Z.; Sangal, V.; Krauland, M. G.; Hale, J. L.; Harbottle, H.; Uesbeck, A.; Dougan, G.; Harrison, L. H.; Brisse, S.; .2012. *S. Enterica MLST Study Group*. Bessen, Debra E, ed. "Multilocus Sequence Typing As A Replacement For Serotyping In Salmonella Enterica". PLOS Pathogens. 8 (6): e1002776. doi:10.1371/journal.ppat.1002776. PMC 3380943 . PMID 22737074
- Bib W, Minh NT, Olsen SJ, Pruckler J, Thanh NTM, Trinh TM, et al. 2004. "Evaluation Of Rapid Diagnostic Tests For Typhoid Fever". *Journal of Clinical Microbiology*. 42(5). 1885- 9.
- Brenner, Villar, R.G, Angulo, F. J.;Tauxe, R. And B. Swaminathan. 2000. *Salmonella Nomenclature*. *Journal Of Clinical Microbiology*, p. 2465–2467 0095-1137/00/\$04.00 0
- Crump, J.A. and Mintz, E.D. 2010. *Global Trends In Typhoid And Paratyphoid Fever*. *Clin Infect Dis* 50(2):241-246.
- Crump, J.A., Luby, S.P. and Mintz, E.D. 2004. *The Global Burden Of Typhoid Fever*. *Bull World Health Organ* 82(5):461-465.
- Diepen AV, Gevel JSV, Koudijs MM, Ossendrop F, Beekhuizen H, Janssen R, Dissel JTV. 2005. Gamma irradiation or CD4+ T Cell Depletion Causes Reactivation Of Latent Salmonella Enterica Serovar Typhimurium Infection

- In C3H/Hen Mice*. Journal Infection and Immunity 75(3): 2857-2862
- El-Radhi AS, Carroll J, Klein N, Abbas A. Fever. Dalam: El-Radhi SA, Carroll J, Klein N, penyunting. *Clinical Manual Of Fever In Children*. Edisi ke-9. Berlin: Springer-Verlag; 2009.h.1-24.
- Fisher RG, Boyce TG. *Fever And Shock Syndrome*. Dalam: Fisher RG, Boyce TG, penyunting. *Moffet's Pediatric infectious diseases: A problem-oriented approach*. Edisi ke-4. New York: Lippincott William & Wilkins; 2005.h.318-73.
- Holt, et al. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. USA: Williams and Wilkins Baltimore.
- Holt, K.E., Thomson, N.R., Wain, J., Langridge, G.C., Hasan, R., Bhutta, Z.A., Quail, M.A., Norbertczak, H., Walker, D., Simmonds, M. et al. 2009. *Pseudogene Accumulation In The Evolutionary Histories Of Salmonella Enterica Serovars Paratyphi A And Typhi*. BMC Genomics 10(36).
- Hornick, R.B., Greisman, S.E., Woodward, T.E., DuPont, H.L., Dawkins, A.T. and Snyder, M.J. 1970. *Typhoid Fever: Pathogenesis and Immunologic Control*. N Engl J Med 283:686-691.
- House, D., Wain, J., Ho, V.A., Diep, T.S., Chinh, N.T., Bay, P.V., Vinh, H., Duc, M., Parry, C.M., Dougan, G. et al. . 2001. *Serology Of Typhoid Fever In An Area Of Endemicity And Its Relevance To Diagnosis*. J Clin Microbiol 39(3):1002-1007.
- IDL Biotech. 2008. *Tubex-TF, Confidence In Typhoid Fever Diagnosis*. Sweden.
- IDL Biotech. 2011. *Tubex-TF, Confidence In Typhoid Fever Diagnosis*. Sweden. Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Kalbemed.com. 2014. *Terapi Terkini Demam Tifoid*. diakses 23 november 2016.
- Kaur, J. and Jain, S.K. 2012. *Role Of Antigens And Virulence Factors Of Salmonella Enterica Serovar Typhi In Its Pathogenesis*. Microbiological Research 167:199-210.
- Kawano, R.L., Leano, S.A. and A, D.M. 2007. *Comparison Of Serological Test Kits For Diagnosis Of Typhoid Fever In The Philippines*. Journal of clinical microbiology 45:246-248.
- Keddy, Arvinda S., Maupi E., Greta H., Claire LC., Anne M & John A. 2011. *Sensitivity And Speci City Of Typhoid Fever Rapid Antibody Tests For Laboratory Diagnosis At Two Sub-Saharan African Sites*. Bull World Health Organ;89:640-647 | doi:10.2471/BLT.11.087627
- Kothari, A., Pruthi, A. and Chugh, T.D. 2008. *The Burden of Enteric Fever*. J Infect Dev Ctries 28:253-259.
- Kumar, R., Gupta, N. and Shalini. 2007. *Multidrug-Resistant Typhoid Fever*. Indian J Pediatr 74:39-42.
- Marleni, M. 2012. *Ketepatan Uji Tubex TF Dibandingkan Nested-PCR Dalam Mendiagnosis Demam Tifoid Pada Anak Pada Demam Hari Ke-4*. Universitas Sriwijaya. Palembang.
- McClelland, M., Sanderson, K.E., Clifton, S.W., Latreille, P., Porwollik, S., Sabo, A., Meyer, R., Bieri, T., Ozersky, P., McLellan, M. et al. . 2004. *Comparison Of Genome Degradation In Paratyphi A And Typhi, Human- Restricted Serovars Of Salmonella Enterica That Cause Typhoid*. Nature Genetics 36:1268-1274.
- McSorley, S.J. and Jenkins, M.K. 2000. *Antibody Is Required For Protection Against Virulent But Not Attenuated Salmonella Enterica serovar Typhimurium*. Infect Immun 68(6):3344-3348.
- Merieux, F. 2007. *Report Of The Meeting On Typhoid Fever, A Neglected Disease: Towards a Vaccine Introduction Policy*. France: Les Pensieres.
- Mweu, E. and English, M. 2008. *Typhoid Fever In Children In Africa*. Trop Med Int Health 13(4):532-540.
- Narayanappa, D, Rachana Sripathi, K Jagdishkumar And Hs Rajani. 2009. *Comparative Study of Dot Enzyme Immunoassay (Typhidot-M) and Widal Test in the Diagnosis of Typhoid Fever*. Department of Pediatrics, JSS Medical College, JSS University, Mysore, India. Vol 47__April 17, 2010.
- Nasronuddin. 2007. *Demam Tifoid*. In: Nasronuddin, Hadi U, Vitanata, Erwin AT, Bramantono, Suharto, and Soeandojo E, editors. *Penyakit Infeksi di Indonesia, Solusi kini dan mendatang*. Surabaya: Airlangga University Press. P 121-125
- Nelwan, R.H.H. 2007. *Demam: Tipe dan Pendekatan dalam Sudoyo, Aru W. et.al. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*

Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.

Olsen, S.J. 2004. *Evaluation of Rapid Diagnostic Test for Typhoid Fever*. Journal of Clinical Microbiology. 1885-1889, Vol. 42, No. 5.

Parry, C.M., Wijedoru, L., Arjyal, A. and Baker, S. 2011. The utility of diagnostic tests for enteric fever in endemic locations. *Expert Rev Anti Infect Ther* 9:711-725.

PT. Pacific Biotekindo Intralab. 2007. Tubex TF.
http://www.pacbiotekindocoid/products/tubex_tf.php

Pui CF, Wong WC, Chai LC, Tunung R, Jeyaletchumi P, Hidayah N, Ubong A, Farinazleen MG, Cheah YK, Shon R. 2011. Salmonella: a foodborne pathogen. *Review Article International Food Research Journal*. 18: 465-473.

Rahman, M., Siddique, A.K., Tam, F.C.-H., Sharmin, S., Rashid, H., Iqbal, A., Ahmed, S., Nair, G.B., Chaignat, C.-L. and Lim, P.-L. 2007. Rapid detection of early typhoid fever in endemic community children by the TUBEX® O9-antibody test. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease* 58:275-281.

Reszon Diagnostics International Sdn. Bhd. 2011. *Dot EIA test for specific detection of IgG & IgM to Salmonella typhi*. Malaysian.

Roumagnac, P., Weill, F.-X., Dolecek, C., Baker, S., Brisse, S., Chinh, N.T., Le, T.A.H., Acosta, C.J., Farrar, J., Dougan, G. et al. . 2006. *Evolutionary History of Salmonella Typhi*. *Science* 314(5803): 1301-1304.

Santos S.A, Andrade Jr., D.R. and Andrade, D.R. 2011. TNF- α production and apoptosis in hepatocytes after *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* invasion. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 53(2):107-112.

Soedarmo; Herry; Sri; Hindar. 2008. *Buku Ajar Infeksi & Pediatri Tropis*. Edisi II. Badan Penerbit IDAI, Jakarta. ISBN: 979-8421-14-0.

Tamsuri A. 2007. *Konsep Dan Penatalaksanaan Nyeri*. Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta.

Widodo, D. 2009. Demam tifoid. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, and Setiati S, editors. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. V ed. Jakarta: InternaPublishing.

World Health Organization. 2014. *immunization. vaccine and biologicals*. Geneva: WHO. diakses 14 september 2016.

World Health Organization. 2003. Background document: *The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever*. Geneva: Communicable Disease Surveillance and Response Vaccines and Biologicals. WHO.

APPENDIX

HASIL PENGUMPULAN DATA PADA SAMPEL DEMAM TIFOID DI RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA

Nomor	Kode Sampel	usia	Jenis Kelamin	Suhu Tubuh (°C)	Hasil Pemeriksaan		Skor Newlan
					Tubex-TF	Typhidot-M	
1	P1	19	L	37	2	-	8
2	P2	3	L	38	4	-	8
3	P3	4	P	38	4	-	8
4	P4	14	L	38,5	7	+	14
5	P5	31	L	38	5	+	12
6	P6	2	L	37	2	-	8
7	P7	1	L	37	2	-	8
8	P8	14	L	38,5	8	+	15
9	P9	7	L	38	6	+	10
10	P10	21	L	38,5	7	+	14
11	P11	7	P	38	6	+	11
12	P12	20	L	39	8	+	16
13	P13	70	L	38,5	2	-	8
14	P14	1	P	38,5	8	+	15
15	P15	30	P	39	8	+	14
16	P16	28	P	38,5	7	+	14
17	P17	13	L	39	8	+	14
18	P18	17	P	38,5	8	+	12
19	P19	2	P	39	10	+	16
20	P20	16	L	37	2	-	8
21	P21	6	P	39	10	+	16
22	P22	13	P	38,5	10	+	15
23	P23	19	L	39	9	+	15
24	P24	15	P	39	10	+	16
25	P25	21	L	38	6	+	14
26	P26	24	L	38	4	+	8
27	P27	3	L	37	4	+	8
28	P28	1	P	38	8	+	14
29	P29	4	P	39	2	-	8
30	P30	6	P	37	2	-	8
31	P31	63	L	37	2	-	8
32	P32	13	P	38	2	-	8
33	P33	14	P	39	2	-	8
34	P34	24	L	39	2	-	8
35	P35	32	P	37	2	-	8
36	P36	3	P	37	2	-	8
37	P37	22	P	39	6	+	15
38	P38	26	L	38	6	+	15

Keterangan:							
35	P35	32	P	37	2	-	8
36	P36	3	P	37	2	-	8
37	P37	22	P	39	6	+	15
38	P38	26	L	38	6	+	15

Keterangan:
 L : Laki-laki
 P : Perempuan
 °C : Derajat Celcius
 (+) : Hasil pemeriksaan Positif
 (-) : Hasil pemeriksaan Negatif

Crosstab

Tubex_TF * Typhidot_M Crosstabulation

Tubex_TF	Positif	Typhidot_M		Total
		Positif	Negatif	
	Count	23	2	25
	Expected Count	15.1	9.9	25.0
	% within Tubex_TF	92.0%	8.0%	100.0%
	% within Typhidot_M	100.0%	13.3%	65.8%
	Negatif	Count	0	13
	Expected Count	7.9	5.1	13.0
	% within Tubex_TF	0.0%	100.0%	100.0%
	% within Typhidot_M	0.0%	86.7%	34.2%
Total	Count	23	15	38
	Expected Count	23.0	15.0	38.0
	% within Tubex_TF	68.5%	39.5%	100.0%
	% within Typhidot_M	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	30.299 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	26.570	1	.000		
Likelihood Ratio	37.044	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	29.501	1	.000		
N of Valid Cases	38				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.13.
 b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

	Value	Asymptotic Standard Error ^a	Approximate T ^b	Approximate Significance	
Measure of Agreement	Kappa	.887	.077	5.504	.000
N of Valid Cases	38				

a. Not assuming the null hypothesis.
 b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

75

Hasil Analisis Statistik

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Skor_Nelwan	38	8.00	16.00	11.4211	3.30136
Valid N (listwise)	38				

Frequency Table

Jenis Kelamin

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Laki-Laki	20	52.6	52.6	52.6
P perempuan	18	47.4	47.4	100.0
Total	38	100.0	100.0	

Usia

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 1-12	14	36.8	36.8	36.8
13-24	17	44.7	44.7	81.6
25-36	5	13.2	13.2	94.7
61-72	2	5.3	5.3	100.0
Total	38	100.0	100.0	

Subu_Tubuh

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid >37.5	23	60.5	60.5	60.5
<37.5	15	39.5	39.5	100.0
Total	38	100.0	100.0	

Tubex_TF

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Positif	23	60.5	60.5	60.5
Negatif	15	39.5	39.5	100.0
Total	38	100.0	100.0	

Typhidot_M

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Positif	23	60.5	60.5	60.5
Negatif	15	39.5	39.5	100.0
Total	38	100.0	100.0	

Crosstabs

Subu_Tubuh * Tubex_TF

Crosstab

Subu_Tubuh >37.5	Count	Tubex_TF		Total
		Positif	Negatif	
	Expected Count	15.1	7.9	23.0
	% within Subu_Tubuh	82.6%	17.4%	100.0%
	% within Tubex_TF	76.0%	30.8%	60.5%
<37.5	Count	6	9	15
	Expected Count	9.9	5.1	15.0
	% within Subu_Tubuh	40.0%	60.0%	100.0%
	% within Tubex_TF	24.0%	69.2%	39.5%
Total	Count	25	13	38
	Expected Count	25.0	13.0	38.0
	% within Subu_Tubuh	65.8%	34.2%	100.0%
	% within Tubex_TF	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7.323 ^a	1	.007		
Continuity Correction ^b	5.553	1	.018		
Likelihood Ratio	7.380	1	.007		
Fisher's Exact Test				.013	.009
Linear-by-Linear Association	7.131	1	.008		
N of Valid Cases	38				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.13.
 b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

	Value	Asymptotic Standard Error ^a	Approximate T ^b	Approximate Significance	
Measure of Agreement	Kappa	.436	.150	2.706	.007
N of Valid Cases	38				

a. Not assuming the null hypothesis.
 b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Subu_Tubuh * Typhidot_M

Crosstab

Subu_Tubuh >37.5	Count	Typhidot_M		Total
		Positif	Negatif	
	Expected Count	17	6	23
	% within Subu_Tubuh	73.9%	26.1%	100.0%
	% within Typhidot_M	73.9%	40.0%	60.5%
<37.5	Count	6	9	15
	Expected Count	9.1	5.9	15.0
	% within Subu_Tubuh	40.0%	60.0%	100.0%
	% within Typhidot_M	26.1%	60.0%	39.5%
Total	Count	23	15	38
	Expected Count	23.0	15.0	38.0
	% within Subu_Tubuh	60.5%	39.5%	100.0%
	% within Typhidot_M	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4.379 ^a	1	.037		
Continuity Correction ^b	3.066	1	.080		
Likelihood Ratio	4.390	1	.036		
Fisher's Exact Test				.049	.040
Linear-by-Linear Association	4.255	1	.039		
N of Valid Cases	38				



a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.92.
 b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

	Value	Asymptotic Standard Error ^a	Approximate T ^b	Approximate Significance	
Measure of Agreement	Kappa	.339	.186	2.091	.037
N of Valid Cases	38				

a. Not assuming the null hypothesis.
 b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

F.LITR.003



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**
**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(" ETHICAL CLEARANCE ")**
27 / Panke.KKE / 1 / 2017

KOMITE ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :

" Perbandingan Interpretasi Hasil Deteksi IgM Anti *Salmonella Entrica Serovar Typhi* dengan Pemeriksaan Tubex TF dan Typhidot-M pada Pasien Demam Tifoid di RSUD Dr. Soetomo Surabaya "


PENELITI UTAMA : Ilham

**PENELITI LAIN : 1. Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK (K)
2. Dr. Marijam Purwanta, Dra., M.Sc., Apt**

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK

SURABAYA, 20 JAN 2017


(Dr. Eriens Hainidito, dr., Sp.An, KIC-KAP)
NIP. 19511007 197903 1 002