

Analisis Profil Plasmid Bakteri Kultur Darah Widal Positif Anggota Familia *Enterobacteriaceae* Sensitif terhadap Madu Hutan

Eko Naning Sofyanita^{*1}, Mochamad Rizal Maulana²

¹Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Semarang, Indonesia

²Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Semarang, Indonesia

Email: ¹en.sofyanita@gmail.com, ²mochamadrizalmaulana7@gmail.com

Abstrak

Pemberian antibiotik pada demam tipoid untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang secara terus menerus akan menyebabkan resistensi obat. Penggunaan obat alami seperti madu hutan sering digunakan untuk pengobatan demam tipoid oleh masyarakat. Bakteri memiliki plasmid yang merupakan DNA ekstrakromosom yang menjadi protein fungsional salah satunya protein yang dapat merusak antibiotik. Plasmid ini merupakan penentu sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dan akan menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap isolat bakteri. Tujuan penelitian ini yaitu Isolat bakteri yang berbeda memungkinkan ukuran *base pairs* (bp) juga berbeda sehingga perlu untuk diketahui profil plasmid bakteri kultur darah Widal positif anggota familia *Enterobacteriaceae* yang sensitif terhadap madu hutan. Metode untuk uji sensitivitas yaitu dengan metode sumuran dan untuk isolasi plasmid bakteri yaitu menggunakan lisis alkali. Plasmid yang diperoleh dari bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* dan *Salmonella typhi* yang sensitif terhadap madu hutan kemudian dielektroforesis pada agarosa 1%. Hasil penelitian menunjukkan profil plasmid DNA pada *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. cloacae* dan *S. typhi*, menunjukkan adanya kesamaan ukuran 300bp.

Kata kunci: *Enterobacteriaceae*, Profil Plasmid, Widal

Abstract

The administration of antibiotics in typhoid fever to inhibit the continuous growth of bacteria will cause drug resistance. The use of natural remedies such as wild honey is often used for the treatment of typhoid fever by the community. Bacteria have plasmids which are extrachromosomal DNA that make functional proteins, one of which is a protein that can damage antibiotics. This plasmid is a determinant of bacterial sensitivity to antibiotics and will show different results in each bacterial isolate. The purpose of this study is that different bacterial isolates allow the size of base pairs (bp) to be different so it is necessary to know the plasmid profile of Widal positive blood culture bacteria members of the *Enterobacteriaceae* family that are sensitive to forest honey. The method for sensitivity testing is the wells method and for isolation of bacterial plasmids is using alkali lysis. Plasmids obtained from *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* and *Salmonella typhi* bacteria sensitive to forest honey were then electrophoresed on 1% agarose. The results showed that the DNA plasmid profiles in *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. cloacae* and *S. typhi*, showed a similar size of 300bp.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, Plasmid Profil, Widal

1. PENDAHULUAN

Demam tifoid disebut juga demam enterik dimana penyebabnya adalah Makanan dan minuman yang tercemar oleh bakteri *Salmonella typhi* (*S. typhi*) yang kemudian masuk ke usus halus dan menyebabkan infeksi (WHO, 2003). Penyakit demam tifoid di Kota Semarang menjadi penyebab kematian ke tiga setelah Demam Berdarah Dengue dan Diare serta gastroenteritis. Gejala demam tifoid berupa mual demam yang tinggi, kehilangan nafsu makan, diare, sakit kepala, hati dan limpa membesar tetapi gejala klinis pada demam tifoid ini tidak spesifik sehingga perlu diagnosis laboratorium yaitu Uji Widal (Bennett, 2008; Rachman et al., 2011).

Bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* adalah bakteri bentuk batang Gram negatif yang berada pada usus besar manusia dan hewan. Bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* yaitu *Escherichia sp.*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Serratia sp.*, dan *Proteus sp.* Kelompok bakteri ini merupakan bakteri kontaminan pada makanan maupun minuman dan merupakan penyebab infeksi yang paling umum (Sofyanita & Afriansya, 2021). Penelitian yang dilakukan Sofyanita (2015) menguji aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri kultur darah widal positif anggota familia *Enterobacteriaceae*, dimana bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* bersifat sensitif pada madu hutan dengan konsentrasi paling efektif yaitu 100% (Sofyanita, 2015). Madu hutan dihasilkan oleh lebah dari jenis *Apis dorsata* yang berupa cairan kental berasa manis dan juga berfungsi untuk membantu proses penyembuhan berbagai penyakit, anti oksidan, anti inflamasi, obat gangguan mata serta digunakan sebagai antibakteri (Fajarini Budhiarta, 2017). Madu hutan secara ilmiah terbukti memiliki kandungan senyawa-senyawa organik yang bersifat antibakteri yaitu flavonoid, polyphenol dan glikosida (Rahayu, 2006; Sofyanita & Azahra, 2023).

Pengobatan dengan antibiotika yang tepat dapat mengurangi angka kematian akibat demam tifoid (Suganda, 2005). Penggunaan antibiotika yang tidak tepat akan menimbulkan resistensi. Ada tiga tipe resistensi yang diketahui yaitu resistensi non genetik, resistensi genetik, dan resistensi silang (Suganda, 2005; Wibowo dkk, 2011) (Suganda, 2005; Wibowo, 2011). Resistensi sendiri merupakan suatu proses menurunnya efektifitas penggunaan obat terhadap bakteri (Al-Bahry, 2000).

Resistensi dapat dilalui dengan berbagai mekanisme, yaitu menginaktifkan obat, menambahkan target atau struktur enzim, menurunkan akumulasi obat oleh sel, adanya variasi jalur metabolik dan juga meningkatkan konsentrasi metabolik. Resistensi dengan mekanisme melalui proses mutasi tidak dapat diketahui oleh beberapa spesies mikroorganisme yang dapat bermutasi secara otomatis. Resistensi transfer plasmid ini terjadi antar sepsies satu dengan yang lainnya maupun antar genus. Sedangkan mekanisme resistensi permeabilitas membran dikode secara kromosomal (Rahayu, 2006; Sofyanita et al., 2023). Timbulnya plasmid baru akan tampak apabila gen yang didalamnya memberikan sifat-sifat baru dalam sel host. Pada dasarnya plasmid sendiri akan diberi nama berdasarkan sifat plasmid tersebut seperti plasmid resistensi, virulensi, degradatif, seksplasmid serta Kol-plasmid. Diketahui bahwa sel bakteri dapat memiliki beberapa jenis DNA plasmid (Astrini et al., 2014; Wibowo, 2011).

Meskipun sudah diketahui bannyak resistensi bakteri terhadap antibiotik dan mengingat perbedaan tempat dan waktu penelelitian yang dilakukan kemungkinan pola resistensi bakteri berbagai jenis antibiotik juga berubah sehingga peneliti ingin mengetahui pola resistensi pada bakteri kultur darah Widal positif anggota familia *Enterobacteriaceae* sensitif terhadap madu hutan.

2. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini menggunakan 5 sampel bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* yaitu *Klebsiella pneumoniae*, *Esherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter cloacae* yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Muhammadiyah Semarang. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi plasmid bakteri menggunakan metode lisis alkali.

Alat yang digunakan yaitu chamber elektroforesis, power supplay, vortex, waterbath, sentrifuge, microwave, UV Transiluminator dan Jangka Panjang. Bahan yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol, madu hutan, *Muller Hinton Agar*, *Heart Infusion Agar* (HIA), Agarosa 1%, Larutan Lysing, TAE, dan Ethanol.

Bakteri yang sudah dilakukan uji sensitivitas kemudian di kultur di media penyubur, kemudian dipanen dan dilakukan preparasi sampel untuk mendapatkan plasmid DNA bakteri murni. Plasmid yang sudah didapat kemudian di separasi menggunakan elektroforesis agarose 1%. Alat yang sudah terpasang selanjutnya dihubungkan dengan power suppkay dan dielektroforesis pada tegangan 100 V selama 60 menit. Setelah selesai proses elektroforesis, gel diamati dibawah sinar UV dan diukur band DNA Plasmidnya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

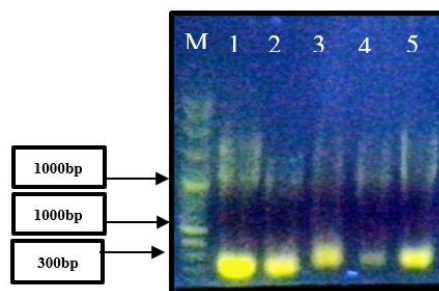
3.1. Hasil

Gambaran hasil uji sensitivitas 5 bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* terhadap antibiotik kloramfenikol dan madu hutan yang disajikan pada tabel 1.

Tabel. 1 Hasil uji sensitivitas bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae*

Sampel	Uji Kepekaan	
	Kloramfenikol	Madu Hutan
<i>E. coli</i>	<i>Sensitive</i>	<i>Sensitive</i>
<i>S. typhi</i>	<i>Sensitive</i>	<i>Sensitive</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Sensitive</i>	<i>Sensitive</i>
<i>E. cloacae</i>	<i>Sensitive</i>	<i>Sensitive</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Sensitive</i>	<i>Sensitive</i>

Pada tabel 1 terlihat bahwa semua bakteri sensitive terhadap madu hutan, selanjutnya dilakukan analisis profil plasmid menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% dimana hasil menunjukkan dari running pada agarosa memperlihatkan kemiripan ukuran pasang basa pada keseluruhan sampel bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* dan *Salmonella typhi* yang sensitif terhadap madu hutan dan kloramfenikol yaitu berukuran sekitar 300bp. Hasil dari separasi elektroforesis pada gel agarose ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Elektroforesis Gel Agarose DNA plasmid. M) : Marker Vivantis 100bp, 1) : *E. coli*, 2) : *S. typhi*, 3) : *S. marcescens*, 4) : *E. cloacae*, dan 5) : *K. pneumonia*

Sumuran 1 berisi marker vivantis DNA ladder 100bp yang dapat menunjukkan berat molekul dari 3000bp sampai 100bp yang digunakan untuk memperluas cakupan ukuran pasang basa yang dapat diketahui dari bakteri. Sumuran 2 berisi plasmid bakteri *E. coli*, Sumuran 3 plasmid bakteri *S. typhi*, Sumuran 4 plasmid bakteri *Serratia marcescens*, Sumuran 5 plasmid bakteri *Enterobacter cloacae* dan Sumuran 6 plasmid bakteri *Klebsiella pneumonia*.

3.2. Pembahasan

Plasmid DNA 5 bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *S. typhi*, *S. marcescens*, *E. cloacae* dan *K. pneumonia*) dari kultur darah Widal positif yang sensitif terhadap madu hutan dan kloramfenikol teramati memiliki ukuran plasmid yang serupa yaitu 300bp. Ukuran DNA dapat diketahui dengan elektroforesis dan menggunakan DNA marker dengan berat molekul yang sudah ditentukan. DNA marker yang digunakan berfungsi sebagai pembanding sehingga diketahui perkiraan ukuran DNA sampel. Molekul DNA ini bermuatan negatif sehingga akan bermigrasi melalui gel agarosa menuju kutub positif. Makin besar ukuran molekulnya, makin rendah laju migrasinya (Nisa, 2016). Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya kesamaan sampel DNA plasmid dengan ukuran dan jarak migrasi DNA marker (Kelanit et al., 2018; Magdeldin, 2012).

Plasmid pada bakteri berguna memindahkan gen bakteri satu ke bakteri ke lain, hal ini disebut transfer gen horisontal (Bennet, 2008). Perpindahan gen dari plasmid yang mengandung kode resistensi

antibiotik antara bakteri satu dengan yang lain merupakan suatu peranan dalam evolusi resistensi antibiotik pada bakteri. Hal ini senada dengan penelitian Nicklin (1999) yang menyatakan bahwa bakteri dapat mempunyai satu atau lebih jenis plasmid DNA dengan ukuran yang berbeda ataupun bervariasi (kecil sampai sangat besar) (Nicklin, et al., 1999). Penelitian (Akano et al., 2009), bakteri yang mempunyai sifat multidrug resisten dapat menularkan gen resisten ke spesies yang sama dengan menggunakan mekanisme konjugasi plasmid-R (Pignato et al., 2009; Septiyasari & Sofyanita, 2023) (Pignato, 2009). Transfer plasmid R sendiri menjadi suatu perhatian dikarenakan dapat meningkatkan populasi bakteri yang memiliki sifat resistensi di alam sehingga mengakibatkan berkurangnya efektifitas dalam proses pengobatan (Astrini et al., 2014; Widodo, 2007).

Plasmid akan membawa satu bahkan lebih gen yang menyebabkan timbulnya tanda-tanda penting yang ditunjukkan oleh bakteri. Hasil isolasi plasmid yang dilakukan oleh (Warganegara, 2005) menyatakan *E.coli* yang sensitif maupun resisten terhadap amoksisilin-klavulanat memiliki plasmid dengan ukuran lebih kecil dari 6,7 kb. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa sensitifitas serta resistensi *E.coli* terhadap antibiotik β -laktam disebabkan oleh gen yang terletak pada plasmid (Saves et al, 1995; Siu et al., 1998; Thomson & Amyes, 1992).

Berdasarkan penelitian (Tait, 1993) menyatakan dikarenakan antibiotik hal ini menyebabkan bakteri yang resisten mempunyai plasmid dapat berkembang. Menurut Lausova et al. (1997) tempat gen di dalam plasmid adalah hal yang serius dikarenakan plasmid dapat berpindah dari satu bakteri ke bakteri yang lain dan juga dapat berpindah dari bakteri Gram negatif ke bakteri Gram positif dengan mekanisme konjugasi (Lausová et al, 1997).

Hasil penelitian ini diperoleh pada 5 bakteri familia *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* dan *Salmonella typhi*) dari kultur darah Widal positif yang sama-sama sensitif terhadap madu hutan ternyata mempunyai ukuran plasmid yang sama yaitu 300bp, sesuai dengan penelitian Widodo (2007) yang mengatakan bahwa pola sensitifitas bakteri terhadap antibiotik yang sama pada setiap daerah dapat bervariasi karena masing-masing daerah mempunyai pola kepekaan yang berbeda dan bervariasi pada waktu dan tempat yang berbeda. Pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dan bakteri tersebut masih sensitif dengan kloramfenikol maupun madu hutan sehingga dapat diartikan familia *Enterobacteriaceae* yang menjadi sampel belum mengalami resistensi antibiotik. Sehingga untuk menghindari pola resistensi tersebut diharapkan madu hutan dapat menjadi suplemen pendamping pada pasien dengan demam tipoid sebelum mendapatkan antibiotik kloramfenikol.

4. KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ukuran pola resistensi pada lima bakteri anggota familia *Enterobacteriaceae* yang sensitif terhadap madu hutan adalah sama yaitu dengan ukuran 300bp dan dengan satu jenis plasmid yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Akano, S., Daini, O., Ojo, M., Smith, S., & Akinsade, K. (2009). Comparative Analysis Of Antibiotic Resistance And R-Plasmids Of *Staphylococcus aureus* Isolates From Human And Dog Samples. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 10(3), 136–143. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v10i3.43406>
- Al-Bahry, S. N. (2000). Plasmid Profiles of Antibiotic Resistant *Salmonella* Species Isolated in Muscat, Oman. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(2), 215–218. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2000.215.218>
- Astrini, D., Wibowo, M. S., & Nugrahani, I. (2014). Aktivitas antibakteri madu pahit terhadap bakteri gram negatif dan gram positif serta potensinya dibandingkan terhadap antibiotik kloramfenikol, oksitetrasiklin dan gentamisin. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 39(3 & 4), 75–83. <https://doi.org/10.5614/api.v39i3 & 4.5252>
- Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, 153(SUPPL. 1), 347–357.

<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>

- Fajarini Budhiarta, D. M. (2017). Penatalaksanaan dan edukasi pasien sirosis hati dengan varises esofagus di rsup sanglah denpasar tahun 2014. *Intisari Sains Medis*, 8(1), 19–23. <https://doi.org/10.15562/ism.v8i1.106>
- Kelanit, R. S., Runtuboi, D. Y. P., & Gunaedi, T. (2018). Uji Resistensi Antibiotik dan Deteksi Gen Plasmid IncHI1 Salmonella typhi Isolat Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*, 8(1), 48–56. <https://doi.org/10.31957/jbp.47>
- Lausová A, Bujdánková H, K. M. (1997). Beta-Laktámové antibiotiká--mechnizmy účinku a rezistencie u Enterobacteriaceae [beta-Lactam antibiotics--mechanisms of action and resistance in Enterobacteriaceae]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 46(2), 73–80.
- Magdeldin, S. (2012). *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*. InTech Publisher : Rijeka, Croatia.
- Nicklin, J., Cook, K.G., Paget, T., Killington, R. A. (1999). *Instant Notes in Mycrobiology Bios*. Scientific Publisher.
- Nisa, E. F. (2016). Gambaran Sensitivitas Berbagai Antibiotik Dan Profil Plasmid Escherichia Coli Isolat Air Sumur Gali Desa Ngemplak Kabupaten Pati. *Skripsi*, 23–25. <http://repository.unimus.ac.id/id/eprint/121>
- Pignato, S., Coniglio, M. A., Faro, G., Weill, F. X., & Giammanco, G. (2009). Plasmid-mediated multiple antibiotic resistance of Escherichia coli in crude and treated wastewater used in agriculture. *Journal of Water and Health*, 7(2), 251–258. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.019>
- Rachman, A. F., Arkhaesi, N., & Hardian. (2011). Dengan Kultur Darah Sebagai Baku Emas Untuk Diagnosis Demam Tifoid Pada Anak a . Fatmawati Rachman G2a007001 Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Universitas Diponegoro Tahun 2011. *Skripsi*.
- Rahayu, T. (2006). Potensi Antibiotik Isolat Bakteri Rizosfer Terhadap Bakteri Escherichia coli Multiresisten. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 7(2), 81–91.
- Saves, I., Odile, B.S., Swaren, P., Lefevre, F., Massoni, J.M., Prome, J.C. and Samama, J. . (1995). The Asparagin to Aspartic acid Substitution at Position 276 of TEM-35 and TEM-36 is involved in the β lactamase Resistance to Clavulanic acid. *J. Biol. Chem*, 270(31), 18240-18245.
- Septiyasari, E., & Sofyanita, E. N. (2023). Gambaran Bakteri Escherichia Coli Pada Jajanan Gorengan Di Sepanjang Jalan Tlogosari Raya Semarang. *Jurnal Dunia Ilmu Kesehatan (JURDIKES)*, 1(1), 22–27. <https://doi.org/10.59435/jurdikes.v1i1.98>
- Siu, L. K., Cheng, W. L., Ho, P. L., Ng, W. S., Chau, P. Y., & Lo, J. Y. C. (1998). Correlation of in vitro susceptibility testing results for amoxicillin- clavulanate and ampicillin-sulbactam using a panel of lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Apmis*, 106(9), 917–920. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1998.tb00239.x>
- Sofyanita, E. N. (2015). Efektivitas Madu Hutan Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Pada Kultur Darah Widal Positif Anggota Familia Enterobacteriaceae. *Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang*.
- Sofyanita, E. N., & Afriansya, R. (2021). DIFFERENCES OF INHIBITION ZONE FOREST PURE HONEY AND CINNAMON (Cinnamomum burmani) AS ANTIBACTERIAL BACTERIAL COMPOUNDS OF MEMBERS OF THE Enterobacteriaceae FAMILY. *Jurnal Riset Kesehatan*, 10(1), 7–11. <https://doi.org/10.31983/jrk.v10i1.6424>
- Sofyanita, E. N., & Azahra, N. (2023). Pengaruh Penggunaan Minyak Kelapa Murni Sebagai Larutan Clearing Pada Sediaan Hepar Mencit. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 8(1), 57–65. <https://doi.org/10.51544/jalm.v8i1.3945>
- Sofyanita, E. N., Rezky, A., Prasetyoko, M., Rizal, M., Poltekkes, K., Semarang, K., Semarang, J., & Tengah, I. (2023). Differences in the Number of Coliform Bacteria in 3 Types of Ice Cubes (Plastic Packaging Ice Cubes, Crystal Ice, and Ice Blocks). *Jurnal Health Sains*, 04(08), 146–154.
- Suganda, J. (2005). Uji Efektivitas Madu Sebagai Anti Mikroba terhadap Salmonella typhi secara In

Tait, S. (1993). Mobile genetic elements in antibiotic resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 38(3), 157–159. <https://doi.org/10.1099/00222615-38-3-157>

Therapy, C., Gordon, V., Meditation, C., VanRullen, R., Myers, N. E., Stokes, M. G., Nobre, A. C., Helfrich, R. F., Fiebelkorn, I. C., Szczepanski, S. M., Lin, J. J., Parvizi, J., Knight, R. T., Kastner, S., Wyart, V., Myers, N. E., Summerfield, C., Wan-ye-he, L. I., Yue-de, C. H. U., ... No, S. (2018). No Title (تفتش), (تفتش) □□□□ □, □□□□□□. ببسب. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=sph&AN=119374333&site=ehost-live&scope=site%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.032%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2017.03.010%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.006>

Thomson, C. J., & Amyes, S. G. B. (1992). TRC-1: Emergence of a clavulanic acid-resistant TEM β -lactamase in a clinical strain. *FEMS Microbiology Letters*, 91(2), 113–117. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(92\)90669-F](https://doi.org/10.1016/0378-1097(92)90669-F)

Warganegara, E. (2005). Isolasi Plasmid dan Gen β -Laktamase Dari Escherichia coli Sensitif dan Resisten Amoksilin-Klavulanat. *J. Sains Tek*, 11(1).

WHO. (2000). *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine* World Health Organization.

Wibowo, M. H. (2011). PLASMID PROFILE OF ANTIBIOTIC RESISTANT Escherichia coli ISOLATED. *J. Sain Vet.*, 29(1), 43–50.

Widodo, D. (2007). Demam tifoid: Ilmu penyakit dalam. Edisi IV. In *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. (pp. 1752–175).