

PENGARUH LAMA PENANGGUHAN SPESIMEN SERUM PADA SUHU KAMAR TERHADAP TITER AGLUTININ O DAN AGLUTININ H DALAM SERUM PENDERITA DEMAM TIFOID

Kalma, Rahman*)

*) Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar

Abstrak

Pemeriksaan atau uji Widal merupakan uji serologis yang banyak digunakan untuk diagnosis demam tifoid. Penanganan specimen dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan atau uji Widal. Masih sering terjadi penangguhan specimen serum sebelum diperiksa, dengan kata lain tidak selalu specimen serum segera diperiksa. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penangguhan specimen serum penderita demam tifoid beberapa jam pada suhu kamar terhadap titer agglutinin O & agglutinin H dalam serum penderita demam tifoid. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum penderita demam tifoid sebanyak 7 penderita. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar pada bulan maret 2013. Setelah dilakukan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) hasil untuk agglutinin O yaitu $F_{hitung} 0,170 < F_{tabel} 2,95$ dan agglutinin H yaitu $F_{hitung} 0,475 < F_{tabel} 2,95$. Hal tersebut menunjukkan tidak ada pengaruh bermakna penangguhan specimen serum beberapa jam pada suhu kamar terhadap titer agglutinin O dan agglutinin H dalam serum penderita demam tifoid. Berdasarkan hasil yang diperoleh, disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti stabilitas agglutinin O dan agglutinin H pada suhu kamar, untuk mendapatkan informasi berapa jam agglutinin O dan agglutinin H stabil pada suhu kamar.

Kata kunci : Serum, Agglutinin O, Agglutinin H, Demam Tifoid

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang masih dijumpai secara luas di berbagai negara berkembang yang terutama terletak di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar higiene industri pengolahan makanan yang masih rendah. Besarnya angka pasti kasus demam tifoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini dikenal mempunyai gejala dengan spektrum klinis yang sangat luas.

Penyakit ini terdapat di seluruh dunia terutama dinegara yang sedang berkembang dan di Indonesia masih merupakan penyakit yang bersifat endemik. *Salmonella typhi* yang biasanya terdapat dalam feses dan urine dari penderita demam tifoid, masuk ke

dalam tubuh manusia melalui makanan dan air yang tercemar. Di dalam usus halus, *Salmonella typhi* akan masuk sirkulasi darahmenuju organ system retikuloendothelial untuk berreplikasi dan terjadi bakteriemia primer (Hardjoeno, 2007).

Demam tifoid menyerang penduduk di semua Negara. Seperti penyakit menular lainnya, tifoid banyak ditemukan di Negara berkembang yang hygiene pribadi dan sanitasi lingkungannya kurang baik. Prevalensi kasus bervariasi tergantung dari lokasi, kondisi lingkungan setempat, dan perilaku masyarakat. Angka insidensi di Amerika Serikat tahun 1990 adalah 300-500 kasus per tahun dan terus menurun. Prevalensi di Amerika Latin sekitar 150/100.000 penduduk setiap tahunnya, sedangkan prevalensi di Asia jauh lebih banyak yaitu sekitar 900/10.000 penduduk per tahun. Meskipun tifoid menyerang semua umur, namun golongan terbesar tetap pada usia kurang dari 20 tahun (Widoyono, 2008).

Di Sulawesi Selatan, Demam tifoid merupakan

salah satu dari penyakit infeksi terpenting. Penyakit ini endemik diseluruh daerah di provinsi ini dan merupakan penyakit infeksi terbanyak keempat yang dilaporkan dari seluruh 24 kabupaten. Di Sulawesi Selatan, demam tifoid merupakan penyebab terpenting terjadinya septisemia terkait komunitas, dengan insiden rate yang dilaporkan melebihi 2500/100.000 penduduk.

Beberapa dari pembawa atau karier tidak menunjukkan gejala atau asimtomatik. Faktor-faktor resiko terjadinya penularan antara lain, kebiasaan jajan di tempat yang tidak memenuhi syarat kesehatan, lingkungan kotor, dan daya tahan tubuh yang rendah. Kuman yang bersifat intrasel selanjutnya berkembang biak di dalam sel makrofag. Kuman menyebar ke jaringan sekitar dan merangsang leukosit mengeluarkan zat interfekuin (IL) yang menyebabkan timbulnya gejala demam, dengan masa inkubasi sekitar 7-14 hari (Anonim, 2012)

Penegakan diagnosis demam tifoid saat ini dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium. Diagnosis demam tifoid secara klinis seringkali tidak tepat karena tidak ditemukannya gejala klinis spesifik atau didapatkan gejala yang sama pada beberapa penyakit lain pada anak, terutama pada minggu pertama sakit. Hal ini menunjukkan perlunya pemeriksaan penunjang laboratorium untuk konfirmasi penegakan diagnosis demam tifoid. Oleh karena itu, untuk menegakkan diagnosis demam tifoid perlu ditunjang pemeriksaan laboratorium yang diandalkan. Pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid meliputi pemeriksaan darah tepi, bakteriologi dan serologi (Tumbelaka R.A, 2001).

Berbagai metode diagnostik masih terus dikembangkan untuk mencari cara yang cepat, mudah dilakukan dan murah biayanya dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Salah satu pemeriksaan yang masih digunakan di laboratorium yaitu uji Widal dalam hal ini penting untuk membantu usaha menegakkan diagnosis demam tifoid. Namun dalam pemeriksaan ini tenaga laboratorium seringkali menunda pembacaan sampel apabila menerima banyak permintaan pemeriksaan. Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Pengaruh Lama Penangguhan Spesimen Serum Pada Suhu Kamar Terhadap Titer Aglutinin O dan Aglutinin H Dalam Serum Penderita Demam Tifoid”.

B. Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer

agglutinin O dan agglutinin H dalam serum penderita demam tifoid.

C. Tujuan Penelitian

Untuk menentukan pengaruh lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer agglutinin O dan agglutinin H dalam serum penderita demam tifoid.

D. Manfaat Penelitian

1. Masyarakat

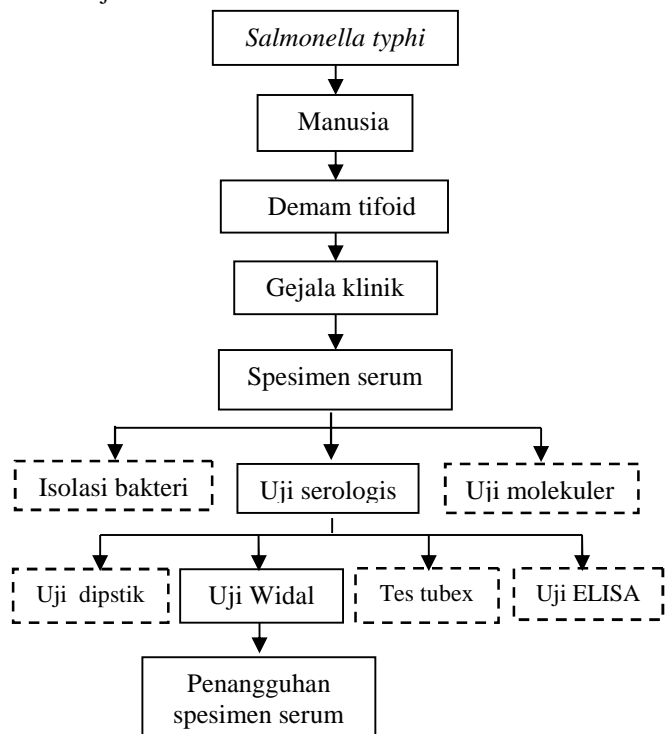
Sebagai informasi kepada masyarakat, khususnya Tenaga laboratorium atau Analis Kesehatan dan Peneliti tentang penanganan specimen serum penderita demam tifoid.

2. Pengembangan Ilmu

Sebagai informasi awal bagi peneliti dalam melakukan penelitian stabilitas suatu aglutinin atau antibody pada suhu atau temperature tertentu.

E. Kerangka Pikir

Pepaya mengandung Vitamin C kemudian dikonsumsi oleh tubuh, didalam tubuh Vitamin C akan melakukan metabolisme yang kemudian dibawa keseluruh jaringan tubuh sehingga sel dapat terlindungi dari kerusakan sistem kekebalan tubuh yang dapat terlindungi dari kerusakan system kekebalan tubuh yang dapat menyebabkan tubuh menjadi sehat kuat.



Gambar 1. Kerangka Pikir

Keterangan : 1. = Diteliti

2. = Tidak diteliti

F. Hipotesa

1. Hipotesa nol (H₀)

Tidak terdapat pengaruh lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer aglutinin O dan aglutinin H dalam serum penderita demam tifoid.

2. Hipotesa alternatif (H_a)

Terdapat pengaruh lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer agglutinin O dan aglutini H dalam serum penderita demam tifoid.

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah eksperimen laboratorik untuk mengetahui pengaruh lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer aglutinin O dan agglutinin H dalam serum penderita demam tifoid.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

- a. Tempat pengambilan sampel penelitian RSUD Labuang Baji Makassar
- b. Tempat pemeriksaan atau uji Widal, Laboratorium Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal Maret - April 2013.

C. Variabel

1. Variabel Bebas

Lama penangguhan specimen serum pada suhu kamar.

2. Variabel Terikat

Titer agglutinin O dan agglutinin H

D. Definisi Operasional

1. Serum adalah unsur larutan yang diperoleh dengan membiarkan penggumpalan spontan dari unsur figuratif.
2. Penderita demam tifoid adalah pasien yang terinfeksi bakteri *S.typhi* dimana dikatakan positif bila titer antibodinya di atas 1/160 pada pemeriksaan laboratorium.
3. Uji widal adalah suatu uji serologis yang spesifik untuk mengetahui ada tidaknya antibodi terhadap bakteri *salmonella typhi* dengan cara mereaksikan serum seseorang dengan antigen tertentu.
4. Titer adalah suatu nilai berbanding terbalik dengan pencenceran tertinggi yang memiliki penggumpalan sel dan antibodi.
5. Aglutinin O atau Antibodi O adalah antibodi yang terbentuk akibat adanya paparan / infeksi tubuh oleh (somatik) *Salmonella typhi*.

6. Aglutinin H atau Antibodi H adalah antibodi yang terbentuk akibat adanya paparan atau infeksi tubuh oleh (flagela) *Salmonella typhi*.

7. Lama penangguhan adalah jangka waktu dimana spesimen serum didiamkan pada suhu kamar sehingga waktu pembacaan.

8. Suhu kamar (20-25°C) adalah suhu yang digunakan untuk menanggguh kan spesimen

E. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah penderita demam tifoid .

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 7 penderita demam tifoid yang diambil darahnya.

3. Kriteria sampel

Sampel harus positif aglutinasi uji Widal dengan titer 1/80.

F. Prosedur Kerja

1. Prinsip

Antibodi *S.typhi* dalam tubuh penderita tifoid akan bereaksi dengan antigen pada reagen yang selanjutnya akan membentuk ikatan aglutinasi.

2. Alat Dan Bahan

a. Alat

Spoit, Rak tabung, Tabung reaksi, centrifuge, Mikropipet, Tips biru dan kuning dan Pipet tetes.

b. Bahan

Kapas alkohol 70%, Suspensi antigen O dan H (fortress), Serum penderita demam tifoid.

3. Cara Pengambilan spesimen

Pada orang dewasa dipakai salah satu vena dalam fossa cubiti; pada bayi vena jugularis superficialis dapat dipakai atau juga darah dari sinus sagittalis superior(Gandasoebrata R, 2009)

Cara memperoleh serum yaitu dengan pengambilan darah vena yang baik dan penghisapan tidak terlalu cepat kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi lewat dinding tabung dan di biarkan sampai membeku kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit maka setelah itu didapatkan bagian cairan yang terpisah dari bagian korpuskuli. Cairan yang terpisah dari bekuan tersebut yang berwarna kuning muda inilah yang disebut serum.

4. Cara Kerja

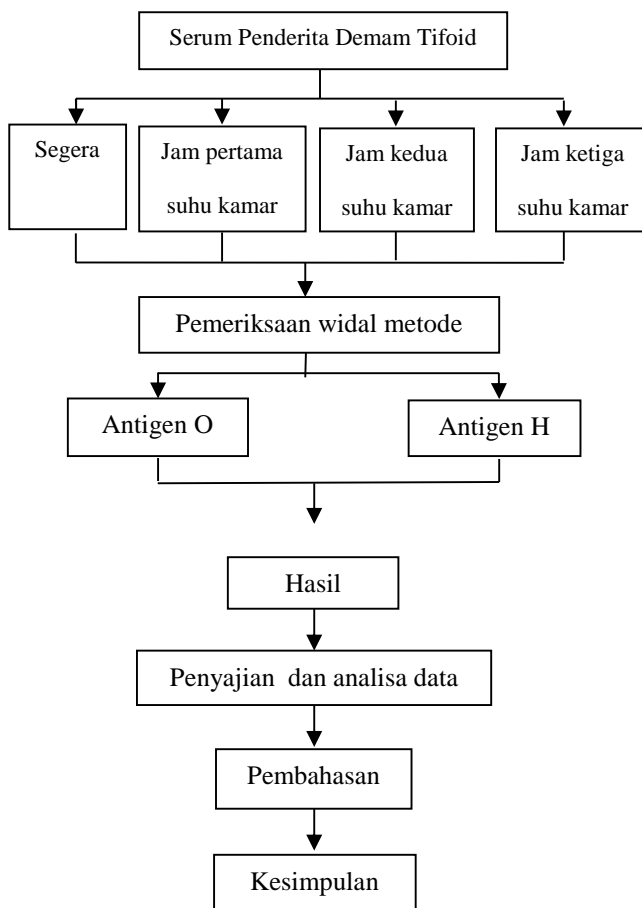
a. Persiapan sampel

1. Serum dibagi dalam empat tabung berdasarkan waktu pemeriksaannya yaitu masing-masing dibaca segera, jam pertama, kedua dan ketiga.
2. Serum dibiarkan pada suhu kamar(20-25°C).

b. Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan

3. Serum dipipet dan diteteskan pada slide masing-masing :
 - a) Lingkaran 1 : 80 µl serum
 - b) Lingkaran 2 : 40 µl serum
 - c) Lingkaran 3 : 20 µl serum
 - d) Lingkaran 4 : 10 µl serum
 - e) Lingkaran 5 : 5 µl serum
 Sehingga pengencerannya menjadi 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320.
4. Tambahkan masing-masing 1 tetes antigen O dan H
5. Slide digoyangkan pada rotator
6. Diamati ada tidaknya aglutinasi setelah 2 menit.

G. Kerangka Operasional



Gambar 2. Skema Kerangka Operasional

H. Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisa data varian klasifikasi tunggal (one way anova) untuk mengetahui apakah antara sampel yang satu dengan yang lain berbeda secara signifikan atau tidak.

$$dk = \{(k - 1), (n - 1)\}$$

$$JKK = \sum \frac{(\sum XA_1)^2}{n} - \frac{(\sum XT)^2}{N}$$

$$JKR = \sum XT^2 - \sum \frac{(\sum XA_1)^2}{n}$$

Keterangan :

JKK = jumlah antar kuadrat kolom

JKR = jumlah dalam kuadrat kolom

K = jumlah Perlakuan

N = jumlah total sampel

S¹ = kuadrat antar kolom

dk = derajat kebebasan

n = jumlah sampel

ΣXA = jumlah hasil titer antibodi

ΣXT = jumlah total titer antibodi

ΣXT² = jumlah total titer antibodi yang dikuadratkan

Kriteria penerimaan dan penolakan

Jika F_{hitung} < F_{tabel} maka “ Ho diterima dan Ha ditolak”.

Jika F_{hitung} > F_{tabel} maka “ Ho ditolak dan Ha diterima”.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, diperoleh hasil sebagaimana tertera pada tabel 4.1 berikut :

Tabel 1. Hasil uji Widal metode slide menggunakan antigen O dan antigen H dengan waktu penangguhan specimen serum yang bervariasi.

NO	KO-DE SAM-PEL	HASIL TITER ANTIBODI PADA PEMERIKSAAN WIDAL DENGAN WAKTU PENANGGUHAN SPESIMEN SERUM YANG BERVARIASI							
		SEGERA		JAM PERTAMA		JAM KEDUA		JAM KETIGA	
		ANTIGEN		ANTIGEN		ANTIGEN		ANTIGEN	
		O	H	O	H	O	H	O	H
1	A	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/160
2	B	1/320	1/160	1/160	1/160	1/160	1/320	1/160	1/320
3	C	1/320	1/320	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160
4	D	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320
5	E	1/80	1/160	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80
6	F	1/320	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/160	1/160
7	G	1/160	1/320	1/160	1/320	1/160	1/160	1/160	1/160

Sumber : Data primer April 2013

Tabel 1. Menunjukkan terdapat hasil yang meningkat, tidak berubah, dan menurun. Hal ini

dapat dilihat pada kode sampel B (antigen H) yang mengalami peningkatan dan beberapa hasil yang tidak berubah yaitu pada kode sampel A, C, D, E, G untuk antigen O dan D, F untuk antigen H dan hasil yang mengalami penurunan yaitu pada kode sampel B, F untuk antigen O dan A, C, E, G untuk antigen H.

Tabel 2. Hasil analisis uji anova (satu arah) pemeriksaan widal untuk antigen O dengan variasi waktu penangguhan spesimen serum.

Sumber Data	Jumlah kuadrat (JK)	Derajat kebebasan (DK)	Mean	F _{hitung}	F _{tabel}
Antar Group	0,285	3	0,095	0,170	2,95
Dalam Group	13,429	24	0,560		
Total	13,714	27			

Sumber : Data primer , April 2013

Tabel 2. Menunjukkan bahwa F_{-hitung} (0,170) dan F_{-tabel} (2,95) maka Ha ditolak dan Ho diterima pada tingkat kepercayaan 95%. Dalam hal ini berarti tidak ada pengaruh yang bermakna terhadap lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer antibodi menggunakan antigen O pada penderita demam tifoid.

Tabel 3. Hasil analisis uji anova (satu arah) pemeriksaan widal untuk antigen H dengan variasi waktu penangguhan spesimen serum.

Sumber Data	Jumlah kuadrat (JK)	Derajat kebebasan (DK)	Mean	F _{hitung}	F _{tabel}
Antar Group	0,678	3	0,226	0,475	2,95
Dalam Group	11,429	24	0,476		
Total	12,107	27			

Sumber : Data primer , April 2013

Tabel 3. Menunjukkan bahwa F_{-hitung} (0,475) dan F_{-tabel} (2,95) maka Ha ditolak dan Ho diterima pada tingkat kepercayaan 95%. Dalam hal ini berarti tidak ada pengaruh yang bermakna terhadap lama penangguhan spesimen serum pada suhu kamar terhadap titer antibodi menggunakan antigen H pada penderita demam tifoid.

B. Pembahasan

Uji serologi standar dan rutin untuk diagnosis

demam tifoid adalah uji widal. Uji ini telah digunakan sejak tahun 1896. Prinsip uji widal adalah serum pasien dengan pengenceran berbeda-beda ditambah antigen dalam jumlah sama. Jika serum terdapat anatibodi maka akan terjadi aglutinasi. Pengenceran tertinggi yang masih menimbulkan aglutinasi menunjukkan titer antibodi dalam serum.(Tumbelaka R.A, 2001)

Berdasarkan dari hasil penelitian yang didapatkan, setelah dilakukan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) hasil untuk antigen O yaitu $F_{hitung} 0,170 < F_{tabel} 2,95$ manakala untuk antigen H yaitu $F_{hitung} 0,475 < F_{tabel} 2,95$, Ha ditolak dan Ho diterima. Berdasarkan hasil penelitian yang bersifat eksperimental yakni percobaan terhadap penangguhan spesimen serum pasien demam tifoid pada suhu kamar (20-25°C) yang diperiksa selama 3 jam dengan metode semikuantitatif slide yang untuk mengetahui pengaruh titer antibodi O dan H. Dari hasil yang diperoleh bahwa pengaruh penangguhan spesimen serum pada suhu kamar (20-25°C) terhadap titer antibodi O dan H menunjukkan tidak ada pengaruh secara signifikan atau masih tetap stabil untuk pemeriksaan widal selama 3 jam.

Walaupun terdapat beberapa hasil yang berubah itu dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu,sampel, skill dan alat . Ketika dalam proses penyimpanan sampel dengan interval waktu yang lama dan suhunya tidak diatur dengan baik, bisa terjadi sampelnya akan rusak dan tidak bisa digunakan lagi. Begitu juga dengan sampel, lebih cenderung memperhatikan pada skill atau cara pengambilan spesimen. Ketika skill atau keterampilan untuk pengambilan spesimen itu minim, terdapat beberapa dampak kesalahan yang cenderung akan terjadi seperti spesimen serum lisis. Ketika hal ini terjadi, maka akan berdampak fatal pada pemeriksaan yang akan dilakukan khususnya uji widal. Hal yang tidak kalah pentingnya juga yaitu tentang kesterilan alat yang akan digunakan. Jika terdapat mikroorganisme yang tidak dibutuhkan pada alat yang akan digunakan, maka akan berpengaruh pada hasil yang dikeluarkan.

Selain itu, ada beberapa faktor teknis yang bisa mempengaruhi reaksi widal seperti konsentrasi suspensi antigen dan strain *Salmonella* yang dipakai untuk suspensi antigen. Fenomena ini terjadi karena antigen yang dipakai untuk uji widal lempeng impor berasal dari *strain* atau *phagetype* di luar daerah endemis (tidak prevalen di indonesia) maka sensitivitasnya, dan terutama spesifitasnya kurang baik bila dibandingkan dengan uji Widal lempeng lokal yang menggunakan 5 *phage-types S.typhi* yang prevalen di Indonesia sebagai antigen. Cara

pengenceran serum yang dipakai oleh berbagai macam kit uji widal lempeng, baik yang impor maupun yang local, untuk mendapatkan titer tertentu, berbeda antar kit, namun tercantum dalam petunjuk pemeriksaan yang terdapat di dalam kit.

Sebelum melakukan suatu pemeriksaan khususnya pemeriksaan uji widal, Interpretasi dari uji Widal ini harus memperhatikan beberapa faktor antara lain sensitivitas, spesifisitas, stadium penyakit; faktor penderita seperti status imunitas dan status gizi yang dapat mempengaruhi pembentukan antibodi, gambaran imunologis dari masyarakat setempat (daerah endemis atau non-endemis), faktor antigen, teknik serta reagen yang digunakan.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini dapat ditarik suatu kesimpulan sebagai berikut :

1. Tidak ada pengaruh bermakna penangguhan specimen serum penderita demam tifoid pada suhu kamar sampai 3 jam terhadap titer agglutinin O.
2. Tidak ada pengaruh bermakna penangguhan specimen serum penderita demam tifoid pada suhu kamar sampai 3 jam terhadap titer agglutinin H.

B. Saran

Mengingat tidak terdapat pengaruh penangguhan specimen serum pada suhu kamar terhadap titer agglutinin O & agglutinin H, maka pada kondisi yang tidak memungkinkan serum segera diperiksa, serum dapat ditangguhkan, tetapi tidak lebih dari 3 jam.

DAFTAR PUSTAKA

Handojo I, 2004, "Imunoessai Terapan Pada Beberapa Penyakit Infeksi" Surabaya, Airlangga Universitas Pres.

Handojo I, 2003, "Pengantar Imunoasai Dasar", Surabaya, Airlangga universitas pres.

Hardjoeno H., 2007, "Interprestasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik Bagian Dari Standar Pelayanan Medik", Makassar, Lembaga Penerbit Universitas Hasanudin

http://id.wikipedia.org/wiki/serum_darah diakses pada 12 april 2012.

http://id.wikipedia.org/wiki/suhu_kamar; diakses pada 10 april 2012.

R. Gandasoebrata, 2009; "Penuntun Laboratorium Klinik", dian rakyat; Jakarta.

Radji Maksum, M. Biomed. 2010, "Imunologi Dan Virologi".: PT ISFI Penerbitan.; Jakarta.

Soedarto 2009, "Penyakit Menular di Indonesia" CV sagung Seto: Jakarta..

Tumbelaka, R Alan., Akib, ^ /in A. P., Matondone, S Corry. 200.. "Pendekatan Imunologis Berbagai Penyakit Alergi Dan Infeksi Bagian Ilmu Kesehatan Anak", Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; Jakarta.

Widoyono, 2008; "Penyakit Tropis", Erlangga; Jakarta.