

Penentuan Titer Aglutinin O dan H *Salmonella typhi* Dengan Uji Widal Menggunakan Reagen Tydal dan Reagen Fortress Pada Spesimen Serum Suspek Demam Tifoid

K a l m a *)

*) Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan
Kementerian Kesehatan Makassar

Abstrak

Sampai saat ini diagnosis demam tifoid yang digunakan secara rutin di Laboratorium Rumah Sakit dan Laboratorium Pusat Kesehatan Masyarakat adalah diagnosis serologis dengan uji Widal. Teknik uji Widal dapat dilakukan dalam waktu relatif singkat, tetapi sensitivitas dan spesifisitas teknik ini relatif rendah dibandingkan teknik kultur. *Underdiagnosis* pada kasus demam tifoid dapat terjadi jika menggunakan teknik diagnosis yang kurang sensitif atau kurang spesifik. Saat ini ada beberapa jenis reagen untuk uji Widal yang digunakan di Laboratorium Rumah Sakit dan Laboratorium Pusat Kesehatan Masyarakat, diantaranya reagen Tydal dan reagen Fortress. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan ada tidaknya perbedaan yang signifikan titer agglutinin O dan agglutinin H dengan uji Widal menggunakan reagen Tydal dan reagen Fortress. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 7 sampai dengan 19 September 2015 di Laboratorium Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar. Penelitian ini merupakan penelitian survey analitik dengan sampel 24 pasien suspek demam tifoid yang diperoleh dari beberapa Rumah Sakit. Setiap spesimen serum dari 24 pasien suspek demam tifoid, dilakukan uji Widal menggunakan reagen Tydal dan reagen Fortress untuk menentukan titer agglutinin O dan H. Dari data hasil penelitian yang diperoleh setelah dilakukan uji statistik dengan uji-t dua sampel bebas menunjukkan bahwa aglutinin O, t hitung (1.6614) < t tabel (2.0147) sedangkan untuk aglutinin H, t hitung (0.7049) < t tabel (2.0147). Simpulan tidak ada perbedaan yang bermakna titer aglutinin O dan agglutinin H uji Widal menggunakan reagen Tydal dan Fortress pada spesimen serum suspek demam tifoid.

Kata kunci : Aglutinin, *Salmonella typhi*, Widal, Tydal, Fortress

PENDAHULUAN

Demam tifoid menyerang penduduk di semua Negara. Seperti penyakit menular lainnya, tifoid banyak ditemukan di negara berkembang di mana hygiene pribadi dan sanitasi lingkungannya kurang baik. Prevalensi kasus bervariasi tergantung lokasi, kondisi lingkungan setempat, dan perilaku masyarakat. Angka insidensi di seluruh dunia sekitar 17 juta pertahun dengan 500.000 orang meninggal karena penyakit ini. WHO memperkirakan 70% kematian terjadi di Asia. Di Indonesia merupakan Negara endemic

tifoid diperkirakan terdapat 800 penderita per 100.000 penduduk setiap tahun yang ditemukan (Widoyono, 2011).

Penyakit ini disebabkan oleh infeksi *Salmonella typhosa* yang merupakan bakteri gram negatif, motil dan tidak menghasilkan spora bakteri ini dapat hidup baik pada suhu tubuh manusia maupun suhu yang lebih rendah serta mati pada suhu 70⁰ C maupun oleh antiseptik. Sampai saat ini di ketahui bahwa bakteri ini hanya menyerang manusia (Rampengan, Laurenz 1990).

Sampai saat ini demam tifoid masih merupakan masalah kesehatan, hal ini di sebabkan karena sanitasi lingkungan yang

kurang memadai, penyediaan air minum yang kurang memenuhi syarat, tingkat sosial ekonomi, tingkat pendidikan masyarakat. Walaupun pengobatan demam tifoid tidak terlalu menjadi masalah namun masalah diagnostik kadang – kadang menjadi masalah terutama di tempat di mana tidak dapat dilakukan pemeriksaan laboratoriumnya (Rampengan, Laurenz 1990).

Usaha yang tertua untuk melacak adanya kenaikan titer kadar antibodi atau agglutinin terhadap *Salmonella typhi* yaitu dengan cara penentuan titer Agglutinin O dan H dengan uji Widal yang telah dipakai sejak tahun 1896. Uji Widal menggunakan suspensi basil *Salmonella typhi* atau *Paratyphi* untuk menentukan titer agglutinin dalam serum penderita demam tifoid atau paratifoid, walaupun banyak mempunyai kelemahan, sampai dewasa ini masih merupakan imunoasai yang paling banyak dipakai untuk menunjang diagnosis demam tifoid di klinik (Handojo I, 2004).

Selain metode, reagen pun memegang peranan sangat penting terutama dalam interpretasi hasil pemeriksaan. Reagensia atau pereaksi yang digunakan dalam suatu reaksi untuk mendeteksi, mengukur dan atau memeriksa suatu parameter pemeriksaan di laboratorium (Depkes RI, 2008: *Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice)*). Direktorat Jenderal Bina Pelayanan Medik : Jakarta).

Mutu hasil pemeriksaan laboratorium sangat dipengaruhi oleh kualitas reagensia, sebab apabila kualitas reagensianya tidak baik maka hasil pemeriksaan yang diperolehpun tidak dapat dipertanggungjawabkan.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis berkeinginan melakukan penelitian untuk mengetahui titer agglutinin O dan H terhadap *Salmonella typhi* dengan uji Widal menggunakan reagens Tydal dan Fortress pada spesimen serum suspek demam tifoid.

Demam tifoid atau yang dikenal masyarakat awam dengan istilah tifus merupakan penyakit infeksi yang masuk melalui saluran cerna kemudian menyebar ke seluruh tubuh melalui darah (infeksi sistemik).

Tifoid disebabkan oleh bakteri yang disebut *Salmonella typhi* atau *paratyphi*. Terdapat ratusan jenis bakteri salmonella, tetapi hanya empat jenis yang dapat menimbulkan tifoid yaitu salmonella serovarian typhi, paratyphi A, paratyphi B, dan paratyphi C. Di Indonesia tifoid merupakan penyakit endemis yang berarti kasusnya selalu ada sepanjang tahun, Umumnya penderita tifoid meningkat, terutama pada musim kemarau. Saat musim itu terjadi kekurangan sumber air bersih dan sumber air yang ada mudah tercemar.

Selain itu, Demam tifoid adalah penyakit infeksi hebat yang diawali di selaput lendir usus dan jika tidak diobati, secara progresif menyerbu jaringan di seluruh tubuh. Aspek paling penting dari infeksi ini ialah kemungkinan terjadinya perforasi usus, karena satu kali organisme memasuki rongga perut, pasti timbul peritonitis yang mengganas (Tamboyang, j 2000).

Makanan dan minuman yang terkontaminasi merupakan transmisi *Salmonella* sp khususnya *Salmonella typhi*, *carrier* pada manusia adalah sumber infeksi. *Salmonella typhi* bisa berada di air, debu, sampah kering. *Salmonella typhi* akan berkembangbiak mencapai dosis infeksi. Maka perlu diperhatikan faktor kebersihan lingkungan, pembuangan sampah, cara memasak air dan bahan makanan secara benar untuk pencegahan Salmonellosis terutama demam tifoid.

Gejala demam tifoid adalah suhu tubuh meningkat secara bertingkat sampai mencapai 40⁰ c, dengan frekuensi nadi relative lambat. Sering ada nyeri tekan di perut, konstipasi (kadang-kadang diare). Pada kasus berat, mungkin terlihat bintik-bintik merah pada kulit dinding perut atau dada (dalam minggu pertama sampai kedua) (Tamboyang j, 2000).

Dalam minggu pertama, keluhan dan gejala meyerupai penyakit infeksi akut pada umumnya, seperti demam, nyeri kepala, anoreksia, mual, muntah, diare, konstipasi. Pada pemeriksaan fisik hanya didapatkan suhu badan yang meningkat. Setelah minggu kedua maka gejala/tanda klinis menjadi makin jelas, berupa demam remiten, lidah tifoid,

pembesaran hati dan limpa, perut kembung mungkin disertai gangguan kesadaran dari yang ringan sampai berat (Rempengan, Laurentz 1990).

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi* dan endotoksinya yang merangsang sintesis dan pelepasan zat pirogen oleh lekosit pada jaringan yang meradang. Selanjutnya zat pirogen yang beredar di darah mempengaruhi pusat termoregulator di hipotalamus yang mengakibatkan timbulnya gejala demam (Rampengan, Laurenz 1990)

Bila *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* dalam dosis yang infeksi (>10⁵/ml), masuk bersama makanan atau minuman yang tercemar ke dalam saluran pencernaan dari seorang penderita, maka basil tersebut akan berkembang biak dan bila penderita tersebut tidak mempunyai kekebalan immunoglobulin A sekretori (s.IgA) terhadap basil tersebut, maka basil tersebut akan menempel pada dinding usus penderita dan menembus epitel usus, melalui sel epitel usus menuju ke lamina propia.

Di tempat ini, *Salmonella typhi* akan difagositosis oleh sel fagosit, terutama makrofag. Di dalam makrofag, karena terlindung oleh kapsul Vi, *Salmonella typhi* dapat bertahan hidup, bahkan dapat berkembang biak. Selanjutnya basil tersebut akan dibawa ke plak payeri, terutama yang berada di ileum terminalis dan melalui saluran getah bening dibawa ke kelenjar limfe mesenterium. Dalam tahap berikutnya, *Salmonella typhi* melalui ductus thoracicus akan masuk ke aliran darah (stadium bakteremi I) dan selanjutnya menyebar ke jaringan retikuloendotelial di seluruh tubuh, terutama di hati dan limfa.

Di dalam organ tersebut, *Salmonella typhi* keluar dari sel fagosit dan berkembang biak di luar sel dalam jaringan organ atau jaringan sinusoid dan menimbulkan peradangan. Proses ini selama 7-10 hari.

Diagnosis demam tifoid ini sulit ditegakkan, sebab gambaran klinis penyakit ini sangat bervariasi dan umumnya tidak khas. Sarana laboratorium dalam membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dapat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu :

- a. Tes serologis untuk mendeteksi kenaikan titer antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi*.
- b. Tes biakan untuk deteksi kuman *Salmonella typhi*, dari spesimen klinik seperti darah.
- c. Tes Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk deteksi DNA spesifik *Salmonella typhi* (Hardjoeno H, 2003).

Salmonella Memiliki Sedikitnya Tiga Macam Antigen.

- a. Antigen O (antigen somatik), yang terletak pada lapisan luar dari tubuh kuman. Bagian ini mempunyai struktur kimia lipopolisakarida atau disebut juga endotoksin. Antigen ini tahan terhadap panas dan alcohol tetapi tidak tahan terhadap formaldehid.
- b. Antigen H (antigen flagella), yang terletak pada flagella, fimbriae atau pili dari kuman. Antigen ini mempunyai struktur kimia suatu protein dan tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan terhadap panas dan alcohol.
- c. Antigen vi, yang terletak pada kapsel (envelope) dari kuman yang dapat melindungi kuman terhadap fagositosis.

Jenis-jenis pemeriksaan laboratorium yang berperan dalam menegakkan diagnosis demam tifoid antara lain serodiagnostik meliputi : Uji Widal, Tes Typhoid Dipstick dengan metode Carik Celup; Tes Elisa dengan metode Double Sandwich. Selain itu juga dapat dilakukan biakan untuk *Salmonella typhi* dan deteksi DNA dengan metode PCR.

Kadar agglutinin akan mencapai puncaknya pada minggu ke lima sejak timbulnya febris dan dipertahankan selama beberapa bulan kemudian akan menurun perlahan-lahan.

Agglutinin O dapat bertahan di atas ambang normalnya sampai 5 bulan, sedangkan agglutinin H dapat bertahan sampai 2 tahun. Bila karena suatu sebab penderita menjadi pembawa kuman (carrier) yang sehat, maka agglutinin Vi akan dipertahankan terus selama dia masih menjadi pengidap kuman yang sehat (Handojo I, 2004)

Uji Widal adalah suatu reaksi serum (sero-test) untuk mengetahui ada tidaknya

antibodi terhadap *Salmonella typhi*, dengan jalan mereaksikan serum seseorang dengan antigen O dan antigen H di laboratorium. Bila terjadi aglutinasi, dikatakan uji Widal positif yang berarti serum orang tersebut mengandung antibodi terhadap *Salmonella typhi*, baik setelah vaksinasi, setelah sembuh dari penyakit demam tifoid ataupun sedang menderita demam tifoid. Uji Widal negatif artinya serum tidak mengandung antibodi terhadap *Salmonella typhi* (Entjang I, 2003).

Antigen yang digunakan pada uji Widal adalah suspensi *Salmonella typhi* yang sudah dimatikan dan diolah di laboratorium. Tujuan dari uji Widal adalah untuk menentukan adanya aglutinin dalam serum penderita yang diduga menderita demam tifoid. Dari ketiga aglutinin (aglutinin O, H, dan Vi), hanya aglutinin O dan H yang ditentukan titernya untuk diagnosis. Semakin tinggi titer aglutininnya, semakin besar pula kemungkinan didiagnosis sebagai penderita demam tifoid. Pada infeksi yang aktif, titer aglutinin akan meningkat pada pemeriksaan ulang yang dilakukan selang waktu paling sedikit 5 hari. Peningkatan titer aglutinin empat kali lipat selama 2 sampai 3 minggu memastikan diagnosis demam tifoid..

Uji Widal merupakan uji aglutinasi yang menggunakan suspensi kuman *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* sebagai antigen untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* di dalam serum penderita.

Uji Widal dipakai untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit demam tifoid. Adapun prinsip dasar uji Widal adalah, suspensi bakteri (antigen) tak larut yang direaksikan dengan antibodi spesifik terhadap bakteri tersebut yang ada di dalam serum penderita.

Metode kualitatif

Uji Widal metode kualitatif merupakan metode yang digunakan pada Uji Widal untuk mengetahui ada tidaknya antibodi pada serum penderita, interpretasi hasilnya adalah positif atau negatif.

Prosedur Kerja :

Letakkan 1 tetes control positif keatas lingkaran pada slide. Letakkan 50 µl NaCl fisiologis di lingkaran yang lain pada slide.

Kemudian letakkan satu tetes serum pada setiap lingkaran pada slide yang lain. Tambahkan 1 tetes reagen yang sesuai keatas control positif dan NaCl fisiologis. Tambahkan 1 tetes reagen yang sesuai ke atas lingkaran yang mengandung serum pasien. Selanjutnya, campur semua isi dari lingkaran menggunakan stik pengaduk sampai mengenai sisi lingkaran. Goyangkan slide ke depan dan ke belakang, dan perhatikan adanya aglutinasi setelah 1 menit. Hasil positif apabila terjadi aglutinasi yang menunjukkan keberadaan antibodi yang sesuai dalam serum pasien sedangkan hasil negatif apabila tidak terjadi agglutinasia dan menunjukkan tidak adanya antibodi yang sesuai dalam serum pasien.

Metode Semikuantitatif

Uji Widal metode semikuantitatif merupakan salah satu metode yang dapat digunakan pada untuk menentukan titer antibodi atau agglutinin dalam serum penderita demam tifoid.

Prosedur kerja :

Letakkan serum pasien menggunakan 5 lingkaran pada slide dengan volume berturut-turut : 80µl, 40µl, 20µl, 10µl, 5 µl. Titer : 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, dan 1/320. Tambahkan 1 tetes reagen untuk uji Widal yang sesuai ke atas lingkaran yang mengandung serum pasien. Setelah itu, campur semua isi dari lingkaran menggunakan pengaduk sampai mengenai sisi lingkaran. Goyangkan slide kedepan dan kebelakang, selanjutnya amati adanya aglutinasi pada slide setelah 1 menit. Hasil positif apabila terjadi aglutinasi pada slide sedangkan hasil negatif apabila tidak terjadi aglutinasi pada slide. Titer dilaporkan berdasarkan volume spesimen serum terkecil yang masih terjadi aglutinasi.

Reagen Tydal

Tydal mengandung suspensi antigen dengan kode , *Salmonella typhi* O , *Salmonella typhi* H , *Salmonella paratyphi* AH , *Salmonella paratyphi* BH , bersama dengan reaktif kontrol positif polyspecific dengan antigen tersebut. Setiap reagen mengalami kontrol kualitas yang ketat pada berbagai tahap pembuatan untuk kekhususan dan kinerja.

a. Penyimpanan Dan Stabilitas Reagen
Simpan reagen pada 2-8 ° C dan jangan dibekukan. Stabilitas reagen adalah berdasarkan pada tanggal kadaluwarsa yang ada pada kit reagen.

b. Prinsip

Suspensi antigen salmonella typhi yang sudah dilemahkan dicampur / diinkubasi dengan serum, antibodi *anti - salmonella* pasien terdapat dalam serum pasien kemudian bereaksi dengan suspensi antigen untuk memberikan agglutinasi. Agglutinasi adalah hasil tes positif, menunjukkan bahwa terdapat antibodi anti - salmonella dalam sampel pasien. Tidak ada agglutinasi adalah hasil tes negatif menunjukkan tidak terdapat *antibodi Salmonella*.

Reagen Fortress

Uji Widal dengan menggunakan reagen Fortress ini menggunakan strain suspensi Salmonella yang dimaksudkan untuk mendeteksi *Salmonella thypi, parathypi A, B* dan *C* yang menginduksi tubuh manusia dan menyebabkan penyakit tifoid. (Fortress Diagnostik, 2013). Secara prinsip prosedural, suspensi antigen pada reagen Fortress yang sudah dilemahkan ini dicampur atau diinkubasi dengan serum pasien. Selanjutnya antibodi anti-salmonella yang berada dalam serum pasien akan bereaksi dengan suspensi antigen untuk memberikan agglutinasi. Agglutinasi adalah interpretasi hasil tes positif, yang menunjukkan adanya antibodi anti-salmonella.

a. Komposisi

1). *Febrile Antigen Salmonella* :Antigen berwarna biru yang spesifik terhadap antigen somatik O.

Antigen berwarna merah spesifik terhadap antigen somatik flagellar H.

2).*Kontrol Positif* : Natrium serum Human Azida 0,95 g / L

3).*Kontrol Negatif* : Natrium serum Animal Azida 0,95 g / L

b. *Penyimpanan* : komponen penyimpanan pada 2 – 8 °C

c. *Peralatan tambahan* : Mikroplatekaca atau plastik dan rotator mekanikal diatur dengan kecepatan 100 rpm.

d. *Kontrol kualitas* : Setiap menjalankan tes harus divalidasi dengan control positif dan negatif.

e. *Prinsip kerja*:Suspensi antigen pada reagen yang berwarna dicampur dengan serum pasien. Antibodi *Salmonella* yang berada dalam serum pasien bereaksi dengan suspensi antigen reagen untuk memberikan aglutinasi.

METODE

Penelitian ini bersifat Observasi laboratorik dengan melakukan penentuan titer agglutinin O dan H terhadap Salmonella typhi dengan uji Widal menggunakan dua reagen yaitu reagen Tydal dan reagen Fortress. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan titer agglutinin O dan H terhadap *Salmonella typhi* menggunakan kedua reagen tersebut

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien tersangka demam tifoid di beberapa Rumah Makassar.

Spesimen pada penelitian ini adalah serum tersangka demam tifoid.

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah purposive sampling.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik kesehatan Makassar pada September 2015

Sebelum melakukan pemeriksaan atau uji Widal, reagen dan spesimen serum diletakkan pada suhu ruangan.

Penentuan titer agglutinin O dan H menggunakan Reagen Tydal Dengan Metode Semikuantitatif :

Spesimen serum pasien diletakkan pada 5 lingkaran slide dengan volume berturut-turut : 80 µl, 40 µl, 20 µl, 10 µl, 5 µl. Titer : 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, dan 1/320. Selanjutnya ditambahkan 1 tetes reagen Tydal yang sesuai ke atas lingkaran yang mengandung serum pasien. Setelah itu, Campur semua isi dari lingkaran menggunakan pengaduk sampai mengenai sisi lingkaran. Slide digoyang ke depan dan ke belakang, kemudian diamati adanya agglutinasi pada slide setelah 1 menit.

Intepretasi

Hasil positif apabila terjadi aglutinasi pada slide sedangkan hasil negatif apabila tidak terjadi aglutinasi pada slide. Titer agglutinin O dan H terhadap *Salmonella typhi* ditentukan berdasarkan pengenceran tertinggi yang masih terjadi aglutinasi.

Penentuan Titer Agglutinin O dan H Menggunakan Reagen Fortress Dengan Metode Semikuantitatif :

Spesimen serum pasien diletakkan pada 5 lingkaran slide dengan volume berturut-turut : 80 µl, 40 µl, 20 µl, 10 µl, 5 µl. Titer : 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, dan 1/320. Selanjtnya ditambahkan 1 tetes reagen Fortress yang sesuai ke atas lingkaran yang mengandung serum pasien. Setelah itu, Campur semua isi dari lingkaran menggunakan pengaduk sampai mengenai sisi lingkaran. Slide digoyang ke depan dan ke belakang, kemudian diamati adanya aglutinasi pada slide setelah 1 menit.

Intepretasi

Hasil positif apabila terjadi aglutinasi pada slide sedangkan hasil negatif apabila tidak terjadi aglutinasi pada slide. Titer agglutinin O dan H terhadap *Salmonella typhi* ditentukan berdasarkan pengenceran tertinggi yang masih terjadi aglutinasi.

HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian penentuan titer agglutinin O dan H terhadap *Salmonella typhi* dengan uji Widal menggunakan reagen Tydal dan Fortress pada sampel tersangka demam tifoid di Laboratorium Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar. Diperoleh hasil sebagaimana tercantum pada tabel berikut :

Tabel. Hasil Penentuan Titer Aglutinin O dan H dengan Uji Widal Menggunakan Reagen Tydal dan Fortress Pada Spesimen Suspek Demam Tifoid.

Kode Sampel	Reagen			
	Tydal		Fortress	
	Aglutin O	Aglutin H	Aglutin O	Aglutin H

1	1/40	1/40	1/160	1/40
2	1/40	1/160	1/80	1/320
3	1/160	1/80	1/160	1/160
4	1/160	1/320	1/320	1/320
5	1/40	1/20	1/40	1/40
6	1/40	1/320	1/80	1/320
7.	1/80	1/80	1/160	1/40
8	1/160	1/20	1/320	1/20
9	1/40	1/40	1/80	1/40
10	1/160	1/80	1/320	1/20
11	1/160	1/320	1/160	1/160
12	1/20	1/20	1/40	1/40
13	1/40	1/80	1/40	1/320
14	1/320	1/40	1/320	1/80
15	1/160	1/80	1/160	1/160
16	1/40	1/80	1/80	1/80
17	1/80	1/40	1/80	1/40
18	1/80	1/160	1/160	1/160
19	1/320	1/320	1/320	1/320
20	1/80	1/80	1/320	1/80
21	1/40	1/20	1/160	1/80
22	1/320	1/40	1/320	1/80
23	1/40	1/80	1/80	1/80
24	1/80	1/40	1/160	1/80

Pada tabel menunjukkan bahwa dari 24 sampel yang diperiksa terdapat beberapa perbedaan titer aglutinin O dan H dengan uji Widal menggunakan reagen Tydal dan Fortress.

Tabel. Hasil Uji Statistik Penentuan Titer Aglutinin O dan H *Salmonella typhi* dengan Uji Widal Menggunakan Reagen Tydal dan Fortress Pada Spesimen Serum Suspek Demam Tifoid.

No	Aglutinin O		Aglutinin H	
	t hitung	t tabel	t hitung	t tabel
1	1.6614	2.0147	0.7049	2.0147

Dari data hasil penelitian yang diperoleh setelah dilakukan uji statistik menunjukkan bahwa pada Antigen O, t hitung (1.6614) < t tabel (2.0147) sedangkan pada Antigen H, t hitung (0.7049) < t tabel (2.0147) maka Ho

diterima artinya tidak ada perbedaan yang bermakna dari uji atau tes Widal menggunakan reagen Tydal dan Fortress pada specimen suspek demam tifoid.

PEMBAHASAN

Uji Widal adalah salah satu sarana laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid. Uji Widal dapat dilakukan dengan metode *slide* dan tabung. Cara *slide* memberikan hasil berupa titer antibodi yang menggambarkan jumlah antibodi dalam serum penderita. disamping itu, cara *slide* memberikan hasil yang lebih cepat serta mudah dalam pengerjaannya.

Sejak diketahui kegunaan tes Widal yang menggunakan suspensi *Salmonella typhi* untuk menentukan titer aglutinin dalam serum penderita demam tifoid maka tes widal telah menjadi pilihan utama di kalangan klinisi dan teknisi laboratorium dalam upaya penentuan diagnosis untuk demam tifoid. Hal ini tanpa disadari telah mampu menjadikan produk tes Widal menjadi berkembang pesat dan saat ini telah banyak dikemas secara beragam dalam berbagai merek dagang dengan produk berbeda.

Dari hasil penelitian terhadap 24 sampel pasien yang telah dilakukan pemeriksaan widal diperoleh gambaran bahwa terdapat beberapa perbedaan titer dari tes widal menggunakan reagen Tydal dan Fortress, dimana hasil titer menggunakan antigen O dan H reagen Fortress lebih tinggi dibandingkan dengan hasil titer menggunakan antigen O dan H dari reagen Tydal. Tes Widal pada antigen O reagen Tydal dan Fortress diperoleh t hitung (1.6614) lebih kecil dari t tabel (2.0147) dengan derajat kemaknaan 0.05, maka H_0 diterima. Sedangkan tes Widal pada antigen H reagen Tydal dan Fortress diperoleh t hitung (0.7049) lebih kecil dari t tabel (2.0147) dengan drajat kemaknaan 0.05, maka H_0 diterima.

Adanya perbedaan respon imun yang timbul pada hasil penelitian ini akibat pengaruh imunogen (antigen O dan H *Salmonella typhi*) yang digunakan, yaitu kemampuan imunogenik dari suspensi antigen O dan H *Salmonella typhi* dalam menginduksi

antibodi berasal dari isolat yang berlainan. Perbedaan respon imun ini juga dipengaruhi oleh karena struktur masing-masing protein dalam hal ini terkait dengan komposisi reagensia yang menyusun antigen tersebut ataupun oleh proses pembuatan suspensi antigen O dan H *Salmonella typhi*, antara lain: persiapan isolat, termasuk cara pengumpulan dan penanganya, kualitas berbagai media yang digunakan, prosedur isolasi dan identifikasi, prosedur kontrol kualitas (internal), standarisasi kekeruhan suspensi antigen, penggunaan standart emas (*gold standart*) dan tenaga teknis yang memproduksinya. (Bakri.S.,2002).

Pada tes Widal biasanya titer aglutinin O akan naik lebih dulu daripada aglutinin H atau Vi, sebab aglutinin O yang terbentuk akibat respon terhadap bagian lipopolisakarida *Salmonella typhi* merupakan antigen yang *T independent* sehingga dapat langsung merangsang limfosit B untuk mengekskresi antibodi tanpa melau limfosit T seperti halnya antigen H dan Vi. Aglutinin O biasanya akan menghilang setelah 6-12 bulan, sedangkan aglutinin H akan menghilang setelah 2 tahun. Peningkatan titer aglutinin H saja tanpa disertai peningkatan titer aglutinin O pada uji Widal tidak dapat dipakai untuk mendiagnosis penyakit demam tifoid, sebab bila O negatif dan H positif ada 3 kemungkinan yang menjadi penyebab, pertama, pernah terinfeksi atau sering terinfeksi dengan *Salmonella typhi*, sehingga bila terinfeksi dengan dosis yang rendah ($<10^3$), penderita dalam kelompok ini telah mempunyai sel memori terhadap antigen H dari *Salmonella typhi*. Kedua, penderita berada dalam masa penyembuhan dari demam tifoid. Aglutinin O dapat bertahan 6-12 bulan dalam darah sedangkan aglutinin H dipertahankan sampai 2 tahun. Ketiga pernah mendapat imunisasi antitifoid, aglutinin H dipertahankan sampai 2 tahun (Tribuana, 2005).

Titer aglutinini mencapai puncaknya pada minggu kelima atau keenam sejak dimulai demam. Kadang kala bahkan baru dijumpai setelah penderita sembuh terutama pada anak. Bila kemudian oleh karna pengobatan penderita sembuh, titer aglutinin dalam darah akan dipertahankan selama

beberapa bulan dan selanjutnya akan menurun secara perlahan-lahan biasanya aglutinin O menghilang terlebih dahulu yang diikuti oleh aglutinin vi dan H. Berpijak pada landasan tersebut maka dalam memberikan interpretasi hasil uji widal, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan diantaranya, bahwa hasil pemeriksaan uji widal satu kali saja belum dapat ditarik kesimpulan berarti kecuali titernya amat tinggi. Untuk dapat memberikan interpretasi yang baik uji Widal perlu diulangi beberapa kali (sedikitnya 2 kali) dengan jangka waktu 5-7(Handojo I, 2004).

Ketepatan interpretasi hasil uji Widal dalam mendukung penegakan diagnosis demam tifoid seharusnya dilakukan secara cermat, tepat, dan teliti karena kecenderungan munculnya perbandingan hasil yang jauh dari tiap komponen bersifat multifaktorial dan sangat rentan terhadap faktor-faktor sekecil apapun. Kesalahan interpretasi sangat riskan menyebabkan nilai interpretasi menjadi bernilai positif palsu atau negatif palsu.

Munculnya hasil negatif palsu biasanya dipengaruhi oleh beberapa keadaan diantaranya jumlah bakteri yang ternyata tidak cukup untuk merangsang pembentukan antibodi secara menyeluruh atau keadaan di mana telah mendapatkan pengobatan sebelumnya. Disamping itu, sensitivitas dan spesifisitas dari masing-masing reagens uji diagnostik ini tentunya juga berbeda. Adanya perbedaan yang mungkin disebabkan atau dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti : Pertama, *strain* yang berbeda dapat menimbulkan respon antibodi yang berbeda, *strain* yang kemungkinan besar diperoleh dari faktor individualistik pada suatu komunitas yang tentunya berbeda dari individu yang lainnya. (Bakhri, S., 2002). Hal ini dimungkinkan oleh banyak faktor, salah satunya yaitu perbedaan berat molekul dari tiap *strain* yang berperan pada proses optimalisasi terhadap sel B. Kedua, Penggunaan antibiotika yang luas dapat memperlambat dan menghambat pembentukan aglutinin. Ketiga, Standarisasi kekeruhan suspensi antigen yang kurang baik, pemberian imunisasi sebelumnya, adanya reaksi silang dari species *Salmonella* lainnya dan yang tak kalah pentingnya adalah perbedaan teknik

pelaksanaan uji Widal dapat menyebabkan hasil positif palsu. (Handojo, 2004).

Berdasarkan data hasil penelitian yang diuji secara statistik melalui uji-t dua sampel bebas diperoleh kesimpulan: tidak ada perbedaan yang bermakna antara titer hasil Uji Widal dari antigen O dan H reagen Tydal dan Fortress.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, *Prosedur Kerja Widal*, India : Tulip Diagnostics (P) LTD
- Anonim, *Prosedur Kerja Widal*, UK : Fortress Diagnostic.
- Bakhri, S. AK, 2002. *Imunogenitas Antigen O Salmonella typhi Antara Isolat dari Strain Makassar Isolat Strain dari Surabaya dalam Menginduksi Antibodi*. Tesis Pascasarjana Program Studi Immunologi. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Budiman, 2011. *Penelitian Kesehatan*. Bandung : Refika Aditama.
- Depkes RI, 2008. *Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice)*. Direktorat Jenderal Bina Pelayanan Medik : Jakarta.
- Depkes RI, 1997. *Petunjuk Pelaksana Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Kesehatan*. Departemen Kesehatan RI Pusat Laboratorium Kesehatan : Jakarta.
- Entjang, Indan, 2003. *Mikrobiologi Dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Yang Sederajat*. Bandung : Citra Aditya Bakti.
- FKUI, 1991. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : binarupa aksara.

- Handoyo I, 2004. *Imunisasi Terapan Pada Beberapa Penyakit Infeksi*. Surabaya : Airlangga University.
- Hardjoeno, H, 2003. *Interpretasi hasil tes laboratorium diagnostic*. Makassar : Lembaga penerbitan universitas hasanuddin.
- Jawetz. E, Joseph. L, Edward A. Adelberg, 1991. *Microbiologi untuk profesi kesehatan (Review of Medical Microbiology)*. Jakarta : Penerbit buku kedokteran EGC.
- Rampengan, Laurentz 1990. *Penyakit Infeksi Tropic Pada Anak*, Buku Kedokteran EGC.
- Sugiyono, 2002. *Statistik Untuk Penelitian Edisi 5*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Tamboyang, J, 2000, *Patofisiologi Untuk Keperawatan*. Jakarta : EGC.
- Todar .K ,PhD. 2008. Salmonella and Salmonellosis. <http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella.html> diakses tanggal 28 mei 2012
- Tribuana R, 2005. *Uji Validitas Tulip Diagnostik Cara Slide Dalam Mendeteksi Antibodi Spesifik Terhadap Antigen O Salmonella Thypi Pada Tersangka Demam Thypoid*, Makassar.
- Widoyono, 2011. *PENYAKIT TROPIS Epidemiologi, Penularan, Pencegahan & Pemberantasannya*. Jakarta : Erlangga