

PENGARUH WAKTU INKUBASI TERHADAP TITER ANTIBODI O PADA PEMERIKSAAN WIDAL METODE TABUNG MENGGUNAKAN REAGEN α SHIELD

Kalma*)

***) Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Makassar**

ABSTRAK

Pemeriksaan widal merupakan uji serologis yang paling banyak dipakai oleh para klinisi, teknik laboratorium sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan widal, namun kesalahan yang biasa dilakukan oleh para klinisi yaitu sering mengabaikan waktu inkubasi. Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum penderita demam tifoid sebanyak 7 pasien. Penelitian dilakukan di laboratorium D-III Analis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar pada tanggal 10- 14 Mei 2010. Setelah dilakukan uji ANOVA, dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) hasil penelitian didapatkan F hitung 37,385 > F tabel 4,085. menunjukkan ada pengaruh yang bermakna waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka disarankan untuk menggunakan pemeriksaan widal metode tabung menggunakan waktu inkubasi yang betul-betul sesuai dengan prosedur yang tertera pada brosur reagen.

Kata kunci : pemeriksaan widal metode tabung, waktu inkubasi , hasil titer antibodi O

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid atau typhus abdominalis adalah suatu infeksi sistemik yang terjadi pada usus kecil yang disebabkan oleh kuman gram negatif yaitu *Salmonella typhi*. Yang sampai saat ini masih menjadi problem kesehatan masyarakat di negara berkembang terutama di daerah-daerah tropis dan sub tropis seperti Indonesia karena penyebaran penyakit ini berkaitan dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar hygiene industri pengolahan makanan yang masih rendah.

Selama terinfeksi kuman tersebut bermultiplikasi dalam sel fagositik mononuklear dan secara berkelanjutan dilepaskan ke aliran darah. Gejalanya dapat berlangsung selama 1 minggu atau lebih disertai gangguan pada pencernaan dan dengan atau tanpa gangguan kesadaran. Sumber penularan penyakit demam tifoid adalah

penderita yang aktif, penderita dalam fase konvaselen dan kronik karier.

Besarnya angka pasti kasus demam tifoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini dikenal mempunyai gejala dengan spektrum klinis yang sangat luas. Data World Health Organization (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid diseluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Di Negara berkembang, kasus demam tifoid dilaporkan sebagai penyakit endemis dimana 95% merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 15-25 kali lebih besar dari laporan rawat inap di rumah sakit. Di Indonesia kasus ini tersebar secara merata di seluruh propinsi dengan insidensi di daerah pedesaan 358/100.000 penduduk/tahun dan di daerah perkotaan 760/100.000 penduduk/tahun atau sekitar 600.000 dan 1,4 juta kasus per tahun. Umur penderita yang terkena di Indonesia adalah antara 3-19 tahun pada 91% kasus.

Beberapa faktor penyebab demam tifoid masih terus menjadi masalah kesehatan terpenting di Negara berkembang, meliputi pula keterlambatan penegakan diagnosis pasti. Penegakan diagnosis demam tifoid saat ini dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium. Diagnosis demam tifoid secara klinis sering kali tidak tepat karena tidak ditemukannya gejala klinis spesifik atau didapatkan gejala yang sama pada penyakit lain pada anak, terutama pada minggu pertama sakit. Hal ini menunjukkan perlunya pemeriksaan penunjang laboratorium untuk konfirmasi penegakan diagnosis demam tifoid. (<http://www.koaskamar13.wordpress.com> tanggal 5 April 2010)

Beberapa metode diagnostik masih terus dikembangkan untuk mencari cara cepat, mudah dilakukan dan murah biayanya dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Hal ini penting untuk membantu usaha penatalaksanaan penderita secara menyeluruh yang juga meliputi penegakan diagnosis sedini mungkin dimana pemberian terapi yang sesuai secara dini akan dapat menurunkan ketidaknyamanan penderita, insidensi terjadinya komplikasi yang berat dan kematian serta memungkinkan usaha kontrol penyebaran penyakit melalui identifikasi karier.

Penegakan diagnosis demam tifoid didasarkan pada manifestasi klinis yang diperkuat oleh pemeriksaan laboratorium penunjang. Sampai saat ini masih dilakukan berbagai penelitian yang menggunakan berbagai metode diagnostik untuk mendapatkan metode terbaik dalam usaha penatalaksanaan penderita demam tifoid secara menyeluruh.

Diagnosis demam tifoid ditegakkan berdasarkan anamnesis, gejala klinis, kelainan fisik dan tes laboratorium. Diagnosis definitif demam tifoid adalah isolasi *Salmonella typhi* dari darah, sumsum tulang atau specimen cairan tubuh lainnya. Tes laboratorium yang biasa digunakan adalah tes rutin (non spesifik), tes serologis dan tes kultur. (Mansyur, A. 2007)

Sejak beberapa tahun terakhir pemeriksaan widal menjadi rutin men-sreen penderita demam untuk penderita demam tifoid. Uji ini telah digunakan sejak tahun 1986. Meskipun uji serologi widal sebagai alat

penunjang diagnosis demam tifoid telah luas digunakan di seluruh dunia, namun manfaatnya masih menjadi perdebatan.

Dari beberapa metode yang digunakan untuk menegakkan diagnosis tes widal merupakan tes yang paling banyak digunakan di klinik, peranan tes widal sebagai tes diagnostik sampai saat ini masih kontroversial, akibat banyak faktor yang dapat mempengaruhi faktor penderita dan teknis selain itu pula sensitivitas dan spesifisitas tes widal dibandingkan dengan kultur rendah yakni 64,29% dan 72%.

Dalam menegakkan diagnosis dini demam tifoid menggunakan tes widal yang saat ini dikenal 2 macam tes yaitu tes widal metode slide dan tes widal metode aglutinasi tabung. Selama ini laboratorium klinik lebih banyak menggunakan metode slide karena lebih mudah dan tidak memerlukan waktu yang lebih lama jika dibandingkan dengan metode tabung. Namun jika berbicara mengenai ketelitiannya, metode tabung memiliki tingkat ketelitian yang lebih bagus karena dapat diketahui hasil titernya secara jelas. Walaupun dalam pengerjaannya membutuhkan waktu relatif lama. Waktu dan suhu inkubasi yang digunakan juga berbeda-beda. Tergantung dari jenis reagen yang digunakan. Ada reagen yang menggunakan suhu inkubasi 37°C selama 18-24 jam dan ada pula yang menggunakan suhu 50°C selama 4 jam. Namun saat ini yang banyak dipakai di masyarakat seperti reagen merk tydal, tulip, humatex dan sebagainya menggunakan suhu inkubasi 37°C selama 18-24 jam sedangkan suhu 50°C selama 2-4 jam jarang digunakan mungkin karena reagensinya belum terlalu dikenal di masyarakat.

Ada beberapa kesalahan yang sering dilakukan oleh seorang laboran dalam melakukan pemeriksaan widal salah satunya adalah penggunaan waktu inkubasi yang tidak sesuai dengan prosedur, mungkin itu disebabkan karena faktor lupa sehingga melakukan inkubasi lewat dari waktu yang sebenarnya atau seorang laboran yang terburu-buru ingin segera menyelesaikan pekerjaannya sehingga melakukan inkubasi kurang dari waktu yang sebenarnya. Hal ini bisa saja

menyebabkan terjadinya hasil positif palsu ataupun negatif palsu.

Berdasarkan uraian di atas maka penulis tertarik untuk melakukan suatu penelitian untuk mengetahui apakah ada pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen merek α -shield.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan judul dan latar belakang di atas yang menjadi pokok permasalahan adalah apakah ada pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk mengetahui apakah ada pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield.

2. Tujuan khusus

Untuk mengetahui apakah ada pengaruh waktu inkubasi 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam dan 6 jam terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield.

D. Manfaat Penelitian

1. Institusi

Sebagai bahan masukan atau sumber informasi bagi Program Diploma Tiga Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar, Rumah Sakit dan Departemen Kesehatan serta instansi terkait lainnya dalam menentukan kebijakan pemeriksaan uji widal pada penderita demam tifoid.

2. Masyarakat

Sebagai informasi kepada masyarakat tentang bahaya infeksi *Salmonella typhi* yang menyebabkan penyakit demam tifoid dan jenis pemeriksaannya.

3. Manfaat praktis

Sebagai wahana penulis untuk mengembangkan dan memperdalam pengetahuan penelitian sereta merupakan pengalaman berharga dalam memperluas wawasan tentang pemeriksaan widal metode tabung.

E. Hipotesa

1. Hipotesa Nol (H_0) : Tidak ada pengaruh waktu inkubasi terhadap titer

antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α -shield.

2. Hipotesa alternatif (H_a) :
Ada pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α -shield.

METODE PENELITIAN

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen merek α shield.

2. Populasi dan Sampel

a. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien demam tifoid di RS Islam Faisal Makassar.

b. Sampel penelitian

Sampel penelitian ini diambil secara purposive yakni pasien demam tifoid dengan kriteria antigen O positif di RS Islam Faisal Makassar.

3. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Waktu inkubasi

b. Variabel terikat

Titer antibodi O

4. Definisi Operasional

- A.** Uji widal adalah suatu uji serologis spesifik untuk mengetahui ada tidaknya antibodi terhadap *Salmonella typhi* dengan jalan mereaksikan serum seseorang dengan antigen tertentu.
- B.** Uji widal metode tabung adalah metode pemeriksaan widal yang mereaksikan antara antibodi dengan antigen dalam serum penderita yang telah mengalami pengenceran berbeda-beda terhadap antigen sehingga terjadi aglutinasi dengan menggunakan tabung untuk mengetahui titer antibodi.
- C.** Antibodi adalah molekul protein yang sebagian dari strukturnya mempunyai urutan asam-asam amino khas yang memungkinkan interaksi sangat khusus dengan antigen yang sesuai.

D. Titer adalah suatu nilai berbanding terbalik dengan pengenceran tertinggi yang memiliki gumpalan sel antibodi.

E. Titer antibodi O adalah suatu nilai berbanding terbalik dengan pengenceran tertinggi terhadap anti gen somatik *Salmonella* yang terdapat pada *Salmonella typhi*.

5. Waktu dan lokasi Penelitian

A. Waktu penelitian

Waktu penelitian direncanakan pada bulan Mei 2010

B. Lokasi penelitian

Sampel diambil di rumah Sakit Islam Faisal Makassar dan di periksa di laboratorium D-III Analis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar.

6. Prosedur Kerja

A. Pemeriksaan widal metode slide

1. Prinsip

Antibodi yang terdapat dalam serum akan bereaksi dengan antigen yang terdapat pada reagen yang selanjutnya akan membentuk aglutinasi.

2. Alat dan Bahan

- a. Alat
 1. Slide
 2. pipet tetes
 3. rotator
- b. Bahan
 1. Serum
 2. Reagen widal merek α shield

3. Prosedur Kerja

1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Diteteskan masing – masing 2 tetes (80 μ l) serum pada lingkaran yang terdapat pada slide.
3. Ditambahkan 1 tetes reagen OA pada lingkaran 1, OB pada lingkaran 2, OC pada lingkaran 3 dan OD pada lingkaran 4 kemudian dicampur hingga homogen
4. Dirotator selama 1 menit.
5. Lihat adanya agglutinasi pada masing masing lingkaran tersebut, hasil positif dilanjutkan ke cara tabung untuk menentukan titernya.

B. Pemeriksaan widal metode tabung

1. Prinsip

Antibodi yang terdapat dalam serum akan bereaksi dengan antigen yang terdapat pada

reagen yang selanjutnya akan membentuk aglutinasi

2. Alat dan Bahan

- a. Alat
 1. centripuge
 2. mikropipet dan tips
 3. Inkubator
 4. Rak Tabung
 5. Slide
 6. Tabung reaksi
- b. Bahan
 1. Larutan NaCl 0,9%
 2. Reagen widal merek α shield (antigen O)
 3. Serum.

C. Cara Kerja

1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Disiapkan 8 buah tabung reaksi kemudian susun pada rak tabung dan beri label pada masing masing tabung.
3. Dipipet larutan NaCl 0,9 % kedalam tabung pertama sebanyak 1900 μ l (1,9 ml). Dan untuk tabung ke-2 sampai ke-8 dimasukkan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml.
4. Pada tabung pertama ditambahkan 100 μ l sampel serum lalu dikocok hingga homogen.
5. Diambil 1000 μ l (1ml) pada tabung pertama dan masukkan pada tabung ke-2 kemudian campur hingga homogen, untuk tabung berikutnya perlakuan ini dilakukan sesuai cara tadi sampai tabung ke-7.sehingga terjadi pengenceran 1/20, 1/40, 1/80, 1/60, 1/320 ,dst.
6. Ditambahkan masing – masing 1 tetes antigen O pada tabung 1 – 8.
7. Di inkubasi pada suhu 50⁰C, Untuk perlakuan pertama diinkubasi selama 2 jam, perlakuan ke-2 diinkubasi selama 3 jam, perlakuan ke-3 diinkubasi selama 4 jam (inkubasi brosur), perlakuan ke-4 diinkubasi selama 5 jam dan untuk perlakuan ke-5 diinkubasi selama 6 jam.
8. Amati aglutinasi yang terbentuk di dasar tabung. Tabung terakhir yang menunjukkan adanya aglutinasi merupakan titer.Reagen merek α shield tidak dilengkapi dengan serum kontrol oleh karena itu yang digunakan sebagai kontrol pada saat pemeriksaan adalah tabung ke-8 yang isinya hanya NaCl

0,9% dan reagen widal tanpa penambahan serum. Tabung ke-8 ini digunakan sebagai kontrol negatif sehingga tidak boleh menunjukkan adanya aglutinasi.

D. Interpretasi hasil

1. Negatif (-) : Tidak terjadi aglutinasi di dasar tabung
2. Positif (+) : Terjadi aglutinasi di dasar tabung

7. Analisa Data

Hasil pembacaan titer berupa pecahan yaitu 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 dan 1/3280 dikonversi kedalam bentuk desimal kemudian dilakukan analisa data menggunakan uji ANOVA satu jalan (one way anova). dengan membandingkan antara F hitung dan F tabel pada derajat kemaknaan (α) = 95 % dengan rumus:

$$F \text{ hitung} = \frac{\text{MK antar}}{\text{MK dalam}}$$

Keterangan:

MK antar = Mean Kuadrat antara grup

MK dalam = Mean Kuadrat dalam grup

- A. Bila harga F hitung lebih kecil atau sama dengan F tabel maka H_0 diterima dan H_a ditolak.
- B. Bila harga F hitung lebih besar atau sama dengan F tabel maka H_0 ditolak dan H_a diterima.
- C. H_a diterima dan H_0 ditolak.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan sejak tanggal 10-14 Mei 2010 mengenai pengaruh waktu inkubasi terhadap titer antibodil O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield di Laboratorium D-III Analis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. hasil penelitian pemeriksaan widal metode tabung menggunakan waktu inkubasi 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam,

dan 6 jam.

	KODE SAMPEL	PEMERIKSAAN WIDAL METODE TABUNG				
		INKUBASI 2 JAM	INKUBASI 3 JAM	INKUBASI 4 JAM	INKUBASI 5 JAM	INKUBASI 6 JAM
1	A	Neg (-)	Neg (-)	1/1280	1/1280	1/1280
2	B	Neg (-)	Neg (-)	1/160	1/160	1/160
3	C	Neg (-)	Neg (-)	1/160	1/160	1/160
4	D	Neg (-)	Neg (-)	1/320	1/320	1/320
5	E	Neg (-)	Neg (-)	1/160	1/160	1/160
6	F	Neg (-)	Neg (-)	1/320	1/320	1/320
7	G	Neg (-)	Neg (-)	1/160	1/160	1/160

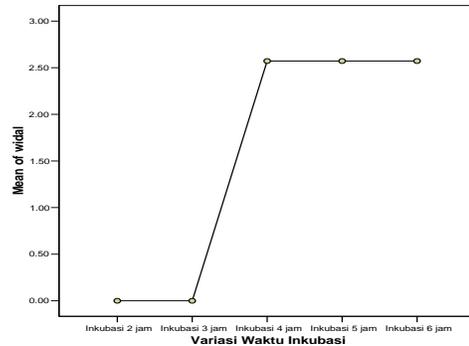
Sumber : Data primer , 2010

Tabel 2. Hasil analisa data statistik Uji ANOVA satu jalan pemeriksaan widal metode tabung menggunakan waktu inkubasi 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam pada suhu 50⁰ C.

Sumber Varians	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat Bebas (DB)	Kudrat Ratarata (KR)	F hitung	Taraf Signifikan (P)
Antar grup (A)	55,543	4	13,886	37,385	< 0,05 F tabel = 4,085
Dalam grup (B)	11,143	30	0,371	-	-
Total	66,686	34	-	-	-

Sumber : Data primer, 2010

Hasil penelitian dapat dilihat / disajikan dalam bentuk grafik sebagai berikut :



Gambar 1 grafik hasil penelitian

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada derajat kemaknaan 0,05 atau tingkat kepercayaan 95 % didapatkan F hitung (37,385) > F tabel (4,085), Ha diterima dan Ho ditolak artinya waktu inkubasi berpengaruh terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α shield.

B. Pembahasan

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang masaih dijumpai secara luas di Negara-negara berkembang. Antara 1–5 % dari pasien yang mengalami infeksi tifoid yang akut akan menjadi carier yang kronis karena infeksi yang terjadi pada kandung empedu akan membawa dampak yang lebih buruk bagi penderitanya. Oleh karena itu dibutuhkan metode yang efektif untuk mendiagnosa secara klinis.

Uji widal merupakan uji serologis yang paling banyak digunakan di laboratorium rumah sakit untuk mendiagnosis demam tifoid. Uji widal ini mempunyai prinsip yaitu terjadinya reaksi agutinasia antara antigen *Salmonella typhi* dengan agglutinin penderita atau dengan kata lain berupa penentuan kadar aglutinasi antibodi terhadap antigen O dan H

Uji serologi widal memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang tergolong sedang yakni dari beberapa penelitian pada kasus demam tifoid dengan hasil biakan positif, ternyata hanya didapatkan sensitifitas uji widal sebesar 64 – 74 % dan spesifitas sebesar 76 – 83 %,

Cara pemeriksaan uji widal ada dua metode yang digunakan yaitu secara kualitatif (metode slide) dan secara kuantitatif (metode aglutinasi tabung). Uji widal metode slide dapat dikerjakan dapat cepat dibanding dengan metode tabung, akan tetapi kalau kita berbicara mengenai ketelitian maka metode tabung yang memiliki tingkat ketelitian yang lebih baik dibandingkan dengan metode slide karena pada metode tabung hasil titernya dapat diketahui secara jelas, oleh karena itu dalam penentuan titer sebaiknya menggunakan metode tabung.

Sebelum dilakukan pemeriksaan widal metode tabung terlebih dahulu dilakukan screnning tes (tes penyaring) menggunakan slide setelah itu hasil yang positif pada slide tersebut dilanjutkan ke metode tabung untuk menentukan titernya, pemeriksaan widal metode tabung dilakukan dengan cara malakukan pengenceran yang berbeda – beda terhadap sampel serum kemudian diinkubasi menggunakan waktu dan suhu tertentu.

Waktu dan suhu inkubasi yang digunakan berbeda – beda tergantung dari jenis reagen yang digunakan, ada yang diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam, suhu inkubasi 56⁰ C selama 4 jam, suhu inkubasi 56⁰ C selama 18-24 jam untuk antigen O dan selama 2 jam untuk antigen H, bahkan ada pula yang menggunakan suhu 50⁰ C selama 4 jam untuk antigen O dan 2 jam untuk antigen H. (Samvel,2005)

Pada penelitian ini menggunakan reagen merek α shield yang menggunakan waktu dan suhu inkubasi 50⁰ C selama 4 jam. Interpretasi uji widal harus dilakukan dengan cermat, karena banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan antara lain: stadium penyakit, pemberian anti biotik, gambaran imunologis masyarakat setempat, vaksinasi, narkotik, strain antigen *Salmonella* yang digunakan, aglutinasi silang, pengaruh oleh penyakit selain demam tifoid serta teknik laboratorium.

Stadium penyakit sangat mempengaruhi disebabkan agglutinin baru dijumpai dalam darah setelah pasien sakit satu minggu dan mencapai puncaknya pada minggu kelima atau keenam penyakit. Pemberian antibiotik umumnya dikatakan oleh para peneliti bahwa

pembrian anti biotik dapat memperlambat kenaikan titer uji widal (Handojo, 2004).

Gambaran imunologis masyarakat setempat yang berkaitan dengan endemis tidaknya penyakit demam tifoid di suatu daerah yang penyebrannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar hygiene industry pengolahan makanan yang masih rendah.

Pada seseorang yang divaksinasi, titer agglutinin O dan H meningkat, akan tetapi titer agglutinin O akan menurun lebih dulu sedangkan titer aglutinin H dipertahankan selama beberapa tahun. Sedangkan narkotik, pada beberapa kasus dapat memberikan hasil uji widal positif semu (Handojo I, 2004).

Strain *Salmonella* yang dipakai amat berpengaruh pada hasil uji widal. Antigen yang dibuat dari strain *Salmonella typhi* yang bukan berasal dari daerah endemis yang bersangkutan dapat memberikan hasil negatif maupun positif semu.

Kemungkinan terjadinya reaksi silang dengan spesies *Salmonella* dalam grup D (kelompok *S.Typhi*) memiliki antigen O yang sama yakni nomor 9 dan 12, namun perlu diingat bahwa antigen O nomor 12 dimiliki pula oleh *Salmonella* grup A dan B (yang lebih dikenal sebagai *S.Paratyphi A dan Paratyphi B*) (Arwin, 2001). Infeksi penyakit lain juga dapat memberikan hasil positif palsu seperti pada penyakit malaria.

Teknik laboratorium lebih banyak ditentukan oleh manusia, dalam hal ini analisis yang malakukan proses pemeriksaan diperklukan adanya ketelitian dan kecermatan dalam melakukan persiapan sampel, pemeriksaan, pembacaan hasil dan pelaporan hasil. Dalm hal pemeriksaan waktu dan suhu inkubasi harus diperhatikan karena bisa saja mempengaruhi hasil

Sebagian besar reaksi antigen-antibodi terjadi dalam dua tingkat sebagai berikut:

1. Ikatan spesifik antara antibodi dengan antigen atau haptan yang sesuai.
2. Terjadinya reaksi yang dapat dilihat sebagai hasil dari ikatan tersebut, seperti misalnya presipitasi, aglutinasi, lisis, dan sebagainya.

Kedua tingkatan ini selalu berlangsung secara beruntun, tetapi seringkali malah tumpang-tindih (overlap) yang satu dengan yang lain dan setiap tingkat membutuhkan waktu dan suhu tertentu. (Indro, 2003)

Dari hasil penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium D-III Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar pada tanggal 10-14 Mei 2010, menunjukkan adanya pengaruh waktu inkubasi yang bermakna terhadap titer antibodi O pada pemeriksaan widal metode tabung. Dari ke 7 sampel yang diperiksa dimana setiap sampel ada 5 perlakuan inkubasi yaitu diinkubasi selama 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam dan 6 jam pada suhu 50⁰ C.

Inkubasi selama 2 jam dan 3 jam belum terbentuk aglutinasi, namun setelah jam ke- 4 dan seterusnya telah terbentuk aglutinasi di dasar tabung. Ini disebabkan karena interaksi antara antigen dan antibodi yang berupa aglutinasi baru terbentuk setelah diinkubasi selama 4 jam pada suhu 50⁰ C.

pada inkubasi selama 5 jam dan 6 jam bentuk aglutinasi di dasar tabung semakin jelas karena aglutinasi yang terjadi telah terendapkan semua di dasar tabung. Namun apabila diinkubasi terlalu lama pada suhu yang tinggi maka kemungkinan antibodi yang terdapat dalam serum akan rusak karena antibodi mempunyai sifat tidak tahan panas sehingga kemungkinan menyebabkan rusaknya protein dalam antibodi yang bisa mempengaruhi hasil titer widal. (Samvel, 2005)

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan pada tanggal 10 – 14 Mei 2010 di Laboratorium D- III Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar, dipatkan $F_{hitung} 37,385 > F_{tabel} 4,085$ pada $\alpha = 0,05$ itu menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna waktu inkubasi terhadap titer antibodil O pada pemeriksaan widal metode tabung menggunakan reagen α Shield

2. Saran

1. Berdasarkan hasil penelitian maka penulis menyarankan bahwa dalam melakukan pemeriksaan widal metode tabung harus betul-betul menggunakan waktu inkubasi sesuai dengan prosedur yang ditetapkan pada brosur reagen.
2. Karena suhu dan waktu inkubasi sangat berpengaruh terhadap titer antibodi maka untuk peneliti berikutnya disarankan untuk melakukan penelitian pada pemeriksaan widal metode tabung dengan variable yang lain yaitu suhu inkubasi dengan cara melakukan pemeriksaan widal metode tabung menggunakan variasi suhu inkubasi, Untuk mengetahui pengaruhnya.

DAFTAR PUSTAKA

Mansyur, A. 2007. Semiloka Mutu "Pemantapan Mutu Tes Rapid *Salmonella*", Makassar.

Brooks, Geo F., Butel, Janet S, Morse, Stephen A. 2005. *Mikro Biologi Kedokteran Edisi Petama*, Salemba Medika : Jakarta.

Entjang I., 2001. *Mikrobiologi Dan Parasitologi*, Citra Aditia Bakri: Bandung.

<http://www.koaskamar> 13 .wordpress.com 5 April 2010

<http://www.inogzain.blogspot.com>. april 2010

<http://www.iwandarmawansyah.web.htm>.

<http://www.pediatrik.com>, 2 april 2010

<http://www.blogster.com>. April 2010

<http://www.infeksi.com>, april 2010

Handojo I., 2003. *Pengantar Imonoassay Dasar*, Airlangga University Press: Surabaya

Handojo I., 2004. *Imunoassay Terapan Pada Beberapa Penyakit Infeksi*. Airlangga University Press : Surabaya.

Rampengan, L., 1990. *Penyakit Infeksi Tropik Pada Anak*, Buku Kedokteran EGC.

Senawiyah, 2007. *Pemeriksaan Widal Metode Tabung Pada Pasien Demam Tifoid Di Rumah Sakit Bhayangkara Makassar*, Program D-III Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar.

Samvel, 2005. *Perbandingan hasil pemeriksaan widal metode tabung yang menggunakan suhu inkubasi 56°C selama 4 jam dan suhu inkubasi 37°C selama 18 jam*, Program D-III Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar.

Staf Pengajar FKUI, 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerbit Binarupa, Jakarta.

Soegeng, H., 2002. *Ilmu Penyakit Anak Diagnose Dan Penatalaksanaan*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.