

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SERUM TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN WIDAL METODE AGLUTINASI SLIDE

Bella Aprilia, Opik Taupiqurrohman

Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

ABSTRAK

Pemeriksaan widal merupakan pemeriksaan yang bertujuan untuk mendeteksi adanya Antibodi terhadap bakteri *Salmonella* dalam serum penderita. Pemeriksaan widal sangat peka terhadap kondisi spesimen maka pemeriksaannya dilakukan dengan serum, perlakuan sampel serum perlu diperhatikan, khususnya apabila sampel tidak langsung diperiksa (penundaan) karena serum sangat rentan terhadap suhu (panas). Tujuan pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan besaran titer aglutinasi pada pemeriksaan widal metode aglutinasi *slide* dengan penundaan waktu pemeriksaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 6 sampel yang merupakan orang yang pernah menderita demam tifoid, kemudian di uji menggunakan Anova 1 arah dengan hasil pada semua antigen yaitu $F_{hitung} < F_{tabel}$ sehingga H_0 diterima dan H_a ditolak, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan widal metode aglutinasi slide dengan penundaan waktu pemeriksaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Penelitian ini dilakukan pada suhu 22°C dan stabil selama penelitian.

Kata Kunci: Widal Metode Aglutinasi Slide, Demam Tifoid, Penundaan Serum.

ABSTRACT

Widal examination is an examination that aims to detect the presence of antibodies against Salmonella bacteria in the patient's serum. Widal examination is very sensitive to the condition of the specimen, so the examination is carried out with serum, treatment of serum samples needs to be considered, especially if the sample is not examined immediately (delay) because serum is very susceptible to temperature (heat). The purpose of this study was to determine whether or not there was a difference in the amount of agglutination titer in the slide agglutination method widal examination with a delay of 1 hour, 2 hours, 3 hours and 4 hours for sample examination. The number of samples in this study were 6 samples who were people who had suffered from typhoid fever, then tested using one way Anova with results on all antigens, namely $F_{count} < F_{table}$ so that H_a is accepted and H_0 is rejected, his means that there is no significant difference in the results of the Widal test using the slide agglutination method with a delay of 1 hour, 2 hours, 3 hours and 4 hours of sample examination. This research was conducted at a temperature of 22°C and was stable during the study.

Keywords: *Widal Slide Agglutination Method, Typhoid Fever, Serum Delay.*

1. Pendahuluan

Demam tifoid merupakan penyakit menular yang dapat menyebabkan wabah dan merupakan masalah kesehatan masyarakat di sebagian negara berkembang di dunia (Irianto, 2014). Demam tifoid dapat terjadi pada anak-anak dan dewasa, walaupun gejala pada anak-anak lebih ringan dari dewasa anak-anak sangat rentan terkena demam typoid, di hampir seluruh daerah endemik kasus ini terjadi pada anak usia 3 - 9 tahun (Irianto, 2014). Menurut WHO (*World Health Organization*) pada tahun

2018 ada 21 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia, dengan 128.000 hingga 61.000 kematian setiap tahun, yang sebagian besar berada di Asia Selatan dan Tenggara. Jumlah penderita demam tifoid di Indonesia mencapai 81% per 100.000 penduduk (Depkes RI, 2015). Di Indonesia, kejadian demam tifoid diperkirakan rata-rata 900.000 per tahun, dengan lebih dari 200.000 kematian (Apyadi, 2018).

Penyebab penyakit demam tifoid yaitu bakteri *Salmonella typhi*, bakteri ini berbentuk gram negatif, pada umumnya bergerak dengan *flagella*, bersifat

aerobic dan memiliki 5 macam antigen yaitu Antigen O (Antigen somatik), Antigen H (Antigen flagella), Antigen Vi, Antigen OMP dan Antigen HSP (Handojo, 2004). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang sudah terkontaminasi, setelah termakan bakteri difagosit didalam lambung dan sebagian akan lolos ke usus kemudian berkembang biak. Bakteri ini akan menembus sel-sel epitel dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama bagian hati dan limpa jika respon imunitas humoral mukosa (Ig A) usus kurang baik, setelah itu akan terjadi masa inkubasi selama 10 - 14 hari serta timbul beberapa gejala seperti demam lemah, sakit kepala dan konstipasi, juga limpa serta hati sangat membesar (Hardjoeno, 2007).

Tes Serologi merupakan salah satu cara pasti untuk mendiagnosa demam typhoid, tes Serologi yaitu tes aglutinasi menggunakan metode tabung, metode slide dan tes ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*). Untuk uji bakteriologi isolasi *Salmonella typhi* merupakan pemeriksaan penunjang untuk demam typhoid (Sudoyo, 2014). Pemeriksaan widal metode slide dan tabung merupakan pemeriksaan laboratorium yang umum digunakan (Sacher, 2004). Perbedaan dari kedua metode tersebut yaitu pada waktu inkubasi nya, metode tabung membutuhkan waktu inkubasi semalaman karena membutuhkan teknik yang rumit, sedangkan pada metode tabung hanya membutuhkan waktu inkubasi 1 menit (R Nuzul, 2016).

Pemeriksaan widal sangat peka terhadap kondisi spesimen, maka akurasi pemeriksaan harus menggunakan serum, yaitu bagian cair dari darah yang tidak diberi antikoagulan dan berupa cairan yang berwarna kuning (Riswanto, 2013). Perlakuan sampel serum perlu diperhatikan, khususnya apabila sampel tidak langsung diperiksa (penundaan) karena serum sangat rentan terhadap suhu (panas). Penyimpanan serum yang mengandung sel darah dapat mempengaruhi hasil. Hal ini karena adanya sel darah hemolisis selama penyimpanan mencemari serum dan mempengaruhi pembacaan hasil, yang mengarah ke hasil positif palsu atau negatif palsu (Widodo, 2006).

Pada pemeriksaan widal di beberapa Rumah Sakit kadangkala pemeriksaan tidak langsung dilakukan atau ditunda karena beberapa faktor seperti jumlah sampel yang terlalu banyak, terjadi kerusakan teknis atau keterbatasan jam kerja, sehingga sampel serum tidak dapat langsung dilakukan pemeriksaan (Handojo, 2004). Menurut Hardjoeno pada tahun 2003 dalam bukunya mengatakan interpretasi hasil tes laboratorium diagnostik bahwa "serum harus segera diperiksa paling lambat 2 jam setelah pengambilan darah untuk menghindari perubahan-perubahan dari zat-zat yang terlarut didalamnya oleh pengaruh suhu" (Hardjoeno, 2003). Pada penelitian Kusuma 2016 menunjukkan tidak adanya perbedaan pada serum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 2 jam karena waktu penundaan hanya dilakukan 2 jam tepat dan disarankan untuk

penambahan waktu penundaan pada serum selama 3 atau 4 jam.

Berdasarkan uraian di atas, penulis akan melakukan penelitian dengan waktu penundaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam dengan judul "Pengaruh Waktu Penundaan Serum Terhadap Pemeriksaan Widal Metode Aglutinasi Slide".

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat *Pra Eksperimental*, karena penelitian ini dilakukan dengan penundaan pada sampel pemeriksaan (Serum), dengan waktu penundaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya spuit, tabung reaksi, rak tabung, silde widal, tissue, mikropipet 5 - 50 µl, tip kuning, tip biru, centrifuge dan tourniquet.

Bahan

Bahan pemeriksaan yang digunakan diantaranya serum, kapas alcohol 70% dan reagen widal (antigen O, antigen H, antigen AH dan antigen BH).

Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode aglutinasi *slide*.

Cara Kerja

Penelitian ini diawali dengan tahap persiapan instrumen dan persiapan pasien yang pernah terkena penyakit demam tifoid. Pada tahap persiapan instrumen ini yaitu mempersiapkan alat dan bahan serta reagen yang akan digunakan untuk melakukan pemeriksaan. Tahap selanjutnya adalah pengambilan sampel darah dan preparasi darah menjadi serum. Selanjutnya dilakukan penundaan pada serum selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam kemudian dilakukan pemeriksaan widal metode aglutinasi *slide*. Data yang diperoleh, selanjutnya dianalisis menggunakan uji Anova 1 arah pada setiap Antigen yang digunakan.

3. Hasil

Tabel 1. Hasil pemeriksaan widal dengan penundaan selama 1 jam

	Antigen O	Antigen H	Antigen AH	Antigen BH
Sampel 1	-	1/80	-	-
Sampel 2	1/40	1/80	-	-
Sampel 3	1/40	1/40	-	-
Sampel 4	-	1/20	-	-
Sampel 5	1/40	1/80	1/40	1/40
Sampel 6	1/40	1/80	-	1/20

Tabel 2. Hasil pemeriksaan widal dengan penundaan selama 2 jam

	Antigen O	Antigen H	Antigen AH	Antigen BH
Sampel 1	-	1/80	-	-
Sampel 2	1/40	1/80	-	-
Sampel 3	1/20	1/40	-	-
Sampel 4	-	1/20	-	-
Sampel 5	1/40	1/80	1/40	1/40
Sampel 6	1/40	1/80	-	1/20

Tabel 3. Hasil pemeriksaan widal dengan penundaan selama 3 jam

	Antigen O	Antigen H	Antigen AH	Antigen BH
Sampel 1	-	1/40	-	-
Sampel 2	1/20	1/40	-	-
Sampel 3	-	1/20	-	-
Sampel 4	-	1/20	-	-
Sampel 5	1/20	1/80	1/40	1/20
Sampel 6	-	1/80	-	1/20

Tabel 4. Hasil pemeriksaan widal dengan penundaan selama 4 jam

	Antigen O	Antigen H	Antigen AH	Antigen BH
Sampel 1	-	1/40	-	-
Sampel 2	-	1/40	-	-
Sampel 3	-	1/20	-	-
Sampel 4	-	-	-	-
Sampel 5	-	1/40	1/40	1/20
Sampel 6	-	1/40	-	-

Dari data diatas dapat terlihat adanya perbedaan hasil pada beberapa sampel setelah dilakukan penyimpanan pada serum dan semakin lama penyimpanan semakin turun titer aglutinasi pemeriksaannya. Untuk menganalisis apakah perbedaan tersebut terjadi secara signifikan atau tidak dilakukan Uji Anova 1 arah. Sebelum melakukan uji anova terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas data dengan menggunakan Uji Barlett dengan Hipotesis nol (Ho) : Data homogen/populasi homogen jika X^2 hitung $\leq X^2$ tabel dan Hipotesis alternatif (Ha) : Data tidak homogen/populasi tidak homogen jika X^2 hitung $\geq X^2$ tabel. Untuk mempermudah dalam pengolahan data titer aglutinasi di rubah menjadi bilangan desimal yaitu titer 1/20 menjadi 0,05, titer 1/40 menjadi 0,025 ,titer 1/80 menjadi 0,0125 dan jika titer negatif maka menjadi 0.

Setelah dilakukan Uji Barlett didapatkan hasil X^2 hitung -82,8 dan X^2 tabel 25 Sehingga dapat disimpulkan jika X^2 hitung $\leq X^2$ tabel pada selang kepercayaan 95%

atau $\alpha = 0,05$ artinya Ho diterima dan populasi dikatakan homogen.

Setelah dilakukan Uji Homogenitas kemudian dilakukan Uji statistik menggunakan Anova 1 arah pada masing masing antigen dengan Hipotesis nol (Ho): Ho diterima dan Ha ditolak jika nilai F Hitung < F tabel dan Hipotesis alternatif (Ha) : Ha diterima dan Ho ditolak jika nilai F hitung > F tabel. Hasil uji Anova 1 arah sebagai berikut:

Tabel 5. Hasil Uji Anova 1 Arah Antigen O

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata – rata Tengah	F Hitung	p- value	F Tabel
Diantara Kelompok	0,0015	3	0,0005	1,7251	0,194	3,0983
Didalam Kelompok	0,005	20	0,0002			
Total	0,0074	23				

Tabel 6. Hasil Uji Anova 1 Arah Antigen H

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata – rata Tengah	F Hitung	p- value	F Tabel
Diantara Kelompok	0,0003	3	1E-04	0,3819	0,767	3,0984
Didalam Kelompok	0,005	20	0,0003			
Total	0,0053	23				

Tabel 7. Hasil Uji Anova 1 Arah Antigen AH

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata – rata Tengah	F Hitung	p- value	F Tabel
Diantara Kelompok	4,3368	3	1E-19	1,3877	1	3,0984
Didalam Kelompok	0,0020	20	0,0001			
Total	0,0020	23				

Tabel 8. Hasil Uji Anova 1 Arah Antigen BH

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata – rata Tengah	F Hitung	p- value	F Tabel
Diantara Kelompok	0,0002	3	6E-05	0,1418	0,933	3,0983

Didalam Kelompok	0,0097	20	0,0004			
Total	0,01	23				

Berdasarkan hasil Uji Anova 1 Arah didapatkan hasil pada setiap antigen yaitu F Hitung < F Tabel, yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan widal metode aglutinasi slide dengan penundaan waktu pemeriksaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam.

4. Pembahasan

Setelah dilakukan uji Anova 1 arah pada semua antigen didapatkan hasil F hitung < F tabel seperti yang terlihat pada tabel 4.5, 4.6, 4.7 dan 4.8 sehingga H_0 diterima dan H_a ditolak, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan widal metode aglutinasi slide dengan penundaan waktu pemeriksaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Hasil ini berbanding terbalik dari pernyataan Hardjoeno tahun 2003 “serum harus segera diperiksa paling lambat 2 jam setelah pengambilan darah untuk menghindari perubahan - perubahan dari zat - zat yang terlarut didalamnya oleh pengaruh suhu”. Hal ini bisa disebabkan oleh stabilnya suhu pada saat penelitian yaitu pada suhu 22°C sehingga kandungan zat-zat yang terdapat didalam serum tidak mengalami perubahan. Menurut Setiawan tahun 2016 mengatakan bahwa stabilitas serum tidak akan terganggu pada suhu kamar dan akan rusak pada suhu diatas 25°C, sangat rentan terhadap kerusakan oleh cahaya, baik cahaya matahari ataupun cahaya lampu. Penyimpanan serum yang tepat yaitu umur simpan 1 hari pada suhu penyimpanan antara 15°C - 25°C, suhu 2°C - 8°C selama 4 hari dan suhu -20°C selama 3 bulan.

Untuk pembacaan pemeriksaan widal dilakukan dengan kasat mata sehingga pembacaannya sangat subjektif juga aglutinasi yang tidak berwarna membuat pembacaan hasil pemeriksaannya jauh lebih sulit hal ini dapat memberikan ketidaksesuaian hasil pembacaan dan dapat memberikan hasil positif atau negatif palsu karena pembacaan yang kurang tepat.

5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa tidak adanya pengaruh yang signifikan pada pemeriksaan widal metode aglutinasi slide dengan penundaan waktu pemeriksaan sampel selama 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam.

6. Daftar Pustaka

1. Erika, N. (2019). *Gambaran Hasil Uji Widal Berdasarkan Lama Demam Pada Pasien Suspek*

Demam Tifoid Di Puskesmas Padang Bulan Medan.

- Handojo, Indro. (2004). *Imunoasai Terapan Pada Beberapa Penyakit Infeksi*. Surabaya : AUP
- Hardjoeno, H, dkk. (2003). *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*.
- Hardjoeno, H, dkk. (2007). *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*.
- Heavey, E. (2014). *Statistik Keperawatan : Pendekatan Praktik*. Jakarta : EGC
- Inawati. (2009). *Demam Tifoid*. Jurnal FK Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, 1-7.
- Irianto, Koes. (2014). *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis, Dan Virologi Medis*. Bandung : Alfabeta
- Isalina, I. (2021). *Gambaran Hasil Pemeriksaan Widal Pada Pemulung Di Tempat Pembuangan Akhir (Tpa) Kampung Mandiri Energi Kecamatan Puuwatu Kota Kendari* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Kendari).
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC
- Kuntijojo. (2009). *METODOLOGI PENELITIAN*
- Naully, P.G. (2018). *Panduan Analisis Laboratorium Imunoserologi untuk D3 Teknologi Laboratorium Medis*. Cimahi : Stikes Achmad Yani.
- Ningsih, S. (2020). *Gambaran Pemeriksaan Widal Pada Anak Sekolah Suspek Demam Tifoid Di Laboratorium Rsia Badrul Aini Medan*.
- Nuzul Rahmayana R, P., & Saranani, M. (2016). *Perbedaan Hasil Pemeriksaan Widal Metode Slide Berdasarkan Variasi Waktu Di Rsd Kota Kendari* (Diploma, Poltekkes Kemenkes Kendari).
- Riswanto. (2013). *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta : Alfabeta dan Kanal Medika
- Tamara, A. (2019). *Pengaruh Penundaan Waktu Terhadap Hasil Pemeriksaan Widal Metode Slide Di Puskesmas Wisma Indah Bojonegoro* (Diploma, Poltekkes Kemenkes Surabaya).
- Widodo D. (2006). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Jakarta.
- Winda Melya Kusuma, P., Misbah, S. R., & Yuniarty, T. (2016). *Perbedaan Hasil Pemeriksaan Widal Metode Slide Pada Serum Penderita Demam Tifoid Yang Langsung Diperiksa Dan Ditunda Setelah 2 Jam Di Rumah Sakit Umum Daerah Kota Kendari* (Diploma, Poltekkes Kemenkes Kendari).
- WHO. (2018). *Weekly Epidemiological Record*. Geneva: WHO.