

WAKTU INKUBASI PEMERIKSAAN WIDAL DAN ANTIGEN O SALMONELLATYPHI DENGAN METODE TABUNG

Linda A. Makalew¹⁾, Vera A Hermanus²⁾, Ni Made Sunarti³⁾

^{1), 2), 3)}, Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Manado, Jl. Manguni 20 Malendeng

Abstract: Typhoid fever is an acute infectious disease of the small intestine caused by *S typhi*. Data in the Department of Prof. BLU. Dr. R. D. Kandou Manado shows the number of patients suffering from typhoid fever in January to December 2012 amounted to 494 cases. This study aims to determine the variation of incubation time 3 hours, 4 hours and 5 hours, the Widal test results for Salmonella O antigen thypi the tube method. This type of research is the observation that an analytical laboratory, with a population of patients with suspected typhoid fever in both outpatient and inpatient department of Manado Kandou hoses on April 24 to 30, 2013, and obtained a sample of the total population of 15 respondents.

Data analysis was performed using Analysis of Variance and Post Hoc continue to learn, the time variation of the difference, with results calculated F value (1.200) < F table (3.885) with a significant value of 0.335 is greater than α (0.05) then H_0 is accepted. So there is no significant effect of incubation time variation of the O antigens of Salmonella typhi. In accordance with the results of laboratory studies suggested to the officer to use the incubation time in accordance with the procedure or work instruction set.

Keywords: Examination Widal , Incubation Period

Demam tifoid merupakan permasalahan kesehatan yang banyak ditemukan pada negara berkembang secara global, diperkirakan 17 juta orang mengidap penyakit ini tiap tahunnya. Di Indonesia diperkirakan insiden demam tifoid adalah 300–810 kasus per 100.000 penduduk pertahun dengan angka kematian 2%. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2003 terdapat sekitar 900.000 kasus di Indonesia, dimana sekitar 20.000 penderita meninggal dunia. Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* (*S.typhi*), suatu basil gram negatif yang motil, bersifat aerob dan tidak membentuk spora. Memiliki 3 antigen yaitu antigen O (somatik), antigen H (flagel) dan antigen Vi (pili) (Lestari, 2011).

Penyakit demam tifoid dapat ditemukan pada semua usia, mulai dari usia balita, anak-anak sampai dewasa. Tetapi yang paling sering terdapat yaitu pada anak-anak

berumur 5–9 tahun (Zulkoni, 2011). Infeksi didapat dengan cara menelan makanan atau minuman yang tercemar atau terkontaminasi dan dapat pula dengan kontak langsung jari tangan yang terkontaminasi tinja, urine serta sekret saluran nafas. Sebagian kuman di musnahkan oleh asam lambung, sebagian lagi masuk kedalam usus halus dan mencapai jaringan limfoid plaque peyeri di ileum terminalis yang mengalami hipertrofi (Noer, 1999).

Diagnosis demam dilakukan dengan dua cara utama yakni secara klinis dan pemeriksaan laboratorium. Diagnosis ini sering tidak tepat karena gejala klinis khas demam tifoid tidak ditemukan atau gejala yang sama juga didapatkan pada penyakit lain, hal ini terjadi terutama pada anak-anak. Diagnosis demam tifoid sering kali terlewatkan karena pada penyakit dengan demam beberapa hari tidak dipikirkan kemungkinan diagnosis demam tifoid. Penting

sekali membuat diagnosa dini selama berkembangnya penyakit terutama pada minggu pertama pada perjalanan penyakit.

Adapun pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis penyakit demam tifoid dapat dilakukan dengan dan tanpa biakan kuman. Biakan kuman dapat dilakukan dari darah, sumsum tulang, cairan duodenum, tinja, urin namun pemeriksaan ini memerlukan waktu paling sedikit 18 jam hingga 4 hari. Pemeriksaan lain yaitu tanpa biakan yakni dengan menggunakan uji widal (pemeriksaan serologi). Pemeriksaan ini dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain gizi, reaksi anamnestik, vaksinasi dengan kotipa atau tipa, pernah atau sedang mendapat terapi antibiotik saat pengambilan darah, infeksi klinis dan subklinis oleh salmonella sebelumnya dan daerah tempat tinggal penderita. (Rohim dkk, 2002).

Hasil pemeriksaan laboratorium kesehatan sangat diperlukan setiap dokter dalam menegaskan diagnosa suatu penyakit. Hasil pemeriksaan tersebut memerlukan ketelitian, ketepatan, keterampilan dan pengetahuan dari pranata Laboratorium Kesehatan khususnya Analisis Kesehatan dalam mempersiapkan alat, bahan dan proses pemeriksaannya. Untuk mendiagnosis demam tifoid tidak cukup dengan hanya melihat gejala klinis saja, sebab gambaran klinisnya bervariasi dan umumnya tidak khas karena gejala demamnya juga dapat dijumpai pada penyakit lain. Atas dasar inilah maka peranan laboratorium sangat membantu dalam menegaskan diagnosa. Pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis demam tifoid, yaitu dengan dan tanpa biakan kuman isolasi kuman *Salmonella typhi* dari sampel darah, urine, tinja dan cairan tubuh lainnya, *Immunoessay* untuk melacak adanya atau kenaikan titer antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi*, dan uji *polymerase chain reaction* (PCR) untuk melacak DNA spesifik dari *Salmonella typhi*. Pemeriksaan tertua untuk melacak adanya antibodi atau kenaikan

titer antibodi terhadap *Salmonella typhi* yaitu dengan cara penentuan titer aglutinin O dan H dengan uji widal yang dipakai sejak tahun 1896. Uji widal menggunakan suspensi basil *Salmonella typhi* untuk menentukan titer aglutinin dalam serum penderita demam tifoid.

Balai Data Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara pada tahun 2012 menunjukkan demam tifoid dengan gejala klinis sebanyak 234 kasus, dimana pada tahun yang sama terdapat kasus positif sebanyak 141 kasus demam tifoid, sedangkan data dari Buku Register Instalasi Laboratorium RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado pada tahun 2012 terdapat 494 kasus demam tifoid.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah dengan observasi laboratorik yang bersifat analitik, dengan populasi pada pasien suspek demam tifoid baik rawat jalan maupun rawat inap di RSUP Kandou Manado selang tanggal 24 sampai 30 April 2013. Sampel sebanyak 15, diperiksa dengan tes widal yaitu uji serologis untuk menentukan suatu reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi yang spesifik terhadap *S.typhi* pada serum penderita suspek demam tifoid, menggunakan metode tabung dengan variasi masa inkubasi 3 jam, 4 jam dan 5 jam pada suhu 50⁰C, titer positif menunjukkan terjadinya aglutinasi 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 dan 1/640. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *Analisis of Variance* dan dilanjutkan *Post Hoc* untuk mengetahui, perbedaan variasi waktu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 1. Hasil penelitian pemeriksaan widal metode tabung menggunakan waktu inkubasi 3 jam, 4 jam, 5 jam, pada suhu 50°C

Perlakuan Inkubasi	Kode Sampel	Suhu 50°C
3 Jam	A	1/40
	C	1/80
	K	1/80
	L	1/80
	O	1/80
4 Jam	E	1/80
	H	1/80
	I	1/80
	M	1/80
	N	1/80
5 Jam	B	1/80
	D	1/40
	F	1/40
	G	1/80
	J	c

Pada tabel 1 ditemukannya waktu inkubasi 3 jam titer terendah pada sampel A yaitu 1/40 sedangkan pada waktu inkubasi 5 jam ditemukannya titer terendah pada sampel D dan F yaitu 1/40 .

Untuk mempertegas pengaruh variasi waktu inkubasi pada hasil pemeriksaan widal dengan metode tabung dilakukan uji statistik *anova one way* dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Anova

F Hitung	F Tabel	Signifikasi	α
1,2	3,885	0,335	0,05

Dari tabel 2 dapat dilihat nilai F_{hitung} (1.200) < F_{tabel} (3,885) dengan nilai signifikan 0,335 yang lebih dari 0,05 ini menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap pemeriksaan widal pada serum pasien dengan metode tabung dengan presentasi kesalahan 33,5%.

Tabel 3. Hasil Uji Post Hoc

Waktu Inkubasi	3 Jam	4 Jam	5 Jam
3 Jam		0,454	0,454
4 Jam	0,454		0,147
5 Jam	0,454	0,147	

Pada tabel 3 dapat dilihat perbedaan antara waktu perlakuan inkubasi. Pada inkubasi waktu 3 jam mempunyai nilai signifikan 0,454 sedangkan pada waktu inkubasi 4 jam dan 5 jam nilai signifikan 0,147 lebih besar dari nilai $\alpha = 0,05$.

Pembahasan

Uji widal merupakan uji serologi yang paling banyak digunakan di laboratorium rumah sakit untuk mendiagnosis demam tifoid. Tetapi hingga saat ini masih mengundang kontroversi dalam interpretasi hasil, berbagai penelitian memperlihatkan bahwa nilai normal uji widal sangat bervariasi diantara beberapa laboratorium dan ini mungkin disebabkan karena jenis antigen dan teknik pengerjaan. Uji widal mempunyai prinsip Antibodi salmonella dalam serum penderita bereaksi dengan antigen salmonella membentuk kompleks yang dapat di lihat berupa adanya aglutinasi.

Awal pengerjaan serum ditetaskan dengan menggunakan reagen Remel yang waktu inkubasi 50°C selama 4 jam, kemudian interpretasi uji widal harus dilakukan dengan cermat karena banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan antara lain: stadium penyakit, pemberian antibiotik, vaksinasi, aglutinasi silang, konsentrasi suspensi antigen, strain salmonella yang digunakan untuk suspensi antigen.

Beberapa faktor pra analitik yang mempengaruhi lainnya bisa saja terjadi karena terkontaminasi oleh mikroba pada wadah yang ditempati untuk serum yang mengakibatkan pereaksi dalam hal ini ialah reagen mengalami kerusakan struktur dan jumlahnya menjadi sedikit, sehingga menjadi penurunan konsentrasi antigen terhadap

konsentrasi antibodi karena reaksi antigen dan antibodi selain sangat peka terhadap waktu inkubasi, suhu inkubasi dan pH, reaksi juga sangat dipengaruhi oleh antigen dan antibodi itu sendiri.

Pada penelitian ini, beberapa waktu inkubasi diteliti apakah berpengaruh terhadap titer antigen O dalam serum penderita demam tifoid dengan menggunakan uji widal metode tabung. Hasil pemeriksaan titer aglutinasi O dengan waktu inkubasi 3 jam, 4 jam dan 5 jam pada suhu 50°C diuji secara statistik dengan uji anova didapatkan secara statistik tidak terdapat pengaruh yang signifikan namun secara post hoc (lihat tabel 3) pada inkubasi 4 jam dan 5 jam tingkat kesalahan 14,7% mendekati efisien dari pada dengan inkubasi 3 jam (tingkat kesalahan 45,5%).

Inkubasi selama 3 jam sudah terbentuk aglutinasi namun memberikan hasil yang tidak optimal, pada jam ke-4 dan ke-5 aglutinasi di dasar tabung semakin jelas ini disebabkan karena interaksi antara antigen dan antibodi dimana hasil yang optimal secara jelas terbentuknya aglutinasi setelah diinkubasi selama 4 jam pada suhu 50°C. Pada waktu inkubasi jam ke-5 ditemukannya hasil dengan titer rendah 1/40 ini disebabkan kemungkinan pasien sudah melakukan terapi antibiotik sebelum pemeriksaan laboratorium karena pengobatan dini dengan antibiotik dapat terjadi perlambatan dan hambatan pembentukan antibodi. Namun apabila diinkubasi lebih lama lagi dan suhunya semakin tinggi maka kemungkinan antibodi yang terdapat dalam serum akan rusak karena antibodi mempunyai sifat tidak tahan panas dan kemungkinan rusaknya protein dalam antibodi yang bisa mempengaruhi hasil titer widal. Hal ini dapat juga dipengaruhi oleh faktor pra analitik yang tidak dapat dihindari oleh peneliti dikarenakan serum yang digunakan sebagai sampel penelitian merupakan serum yang habis dipakai oleh laboratorium setempat.

Pemeriksaan uji widal dilakukan pada suhu 50°C dan disetiap waktu inkubasi. Titer tertinggi pada pengenceran merupakan titik akhir pada pemeriksaan yang dikonversi ke bilangan desimal untuk dianalisa menggunakan uji anova. Dari hasil yang dilakukan dengan titer terendah 1/40 pada waktu inkubasi 3 jam sedangkan titer tertinggi 1/80 pada waktu inkubasi 4 jam dengan hasil yang optimal atau efisien. Dari data hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa $F_{hitung} (1,200) < F_{tabel} (3,885)$ dengan nilai signifikan 0,335 lebih besar dari alfa 0,05 maka H_0 diterima. Jadi tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari variasi inkubasi 3 jam, 4 jam, dan 5 jam terhadap antigen O *Salmonella typhi*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari 30 sampel urin yang diteliti terdapat 25 sampel yang mengalami perubahan atau 83,33% sampel mengalami perubahan hasil. Perubahan-perubahan yang terjadi terdapat pada 3 parameter yakni makroskopis meliputi kejernihan, mikroskopis meliputi eritrosit, leukosit dan epitel serta secara kimia meliputi Berat Jenis, Potensi Hidrogen, leukosit, nitrit, protein, glukosa, keton, urobilinogen, bilirubin, dan erytrosit. Sebagian besar sampel yang diteliti mengalami perubahan hasil. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari variasi inkubasi 3 jam, 4 jam, dan 5 jam terhadap antigen O *Salmonella typhi*.

Saran

Untuk memperoleh hasil pemeriksaan yang baik maka perlu digunakan urin segar untuk pemeriksaan dan tidak menunda waktu pemeriksaan lebih dari dua jam agar hasil uji tidak berubah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2010 a). *Metode Kuantitatif Pemeriksaan Widal, Penuntun Praktikum Serologi*, Jurusan Analis Kesehatan Manado.
- , Artikel Kesehatan. (2010 b). [http://Rumah Sakit Tipe B _ On Becoming A Learner.htm](http://RumahSakitTipeB-OnBecomingALearner.htm). Diakses pada tanggal 22 Mei 2013)
- Djalil Sjarifuddin. (1995). *Modul Pelatihan Teknis Tenaga Kesehatan Laboratorium Tingkat dasar*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Lestari Kartriani. (2011). *Epidemiologi Penyakit Menular*, FKM UNSRI, Diakses Pada Tanggal 06 Februari 2013
- Mahdiana Ratna, (2010). *Penularan penyakit Dari Infeksi*, cetakan 1 citra pustaka Yogyakarta :
- Mongan, A. (2010). *Buku Penuntun Praktikum Patologi Klinik*. FK Unsrat, Manado
- Noer Sjaifoellah. (1999). *Ilmu Penyakit Dalam*,FKUI, Jakarta
- Notoatmodjo S. (2003). *Metodelogi Penelitian Kesehatan*, Cetakan Kedua, Rineka Cipta, Jakarta.
- Pearce C. Evelyn. (2010). *Anatomi dan Fisiologis Untuk Paramedis*, Cetakan 34, Jakarta
- Robbins. 2006. *Buku Ajar Patologi Volume 1*. EGC: Jakarta.
- Rohim Abdul. (2002). *Ilmu Penyakit Anak Diagnosa Dan Penatalaksanaan*, Salemba Medika, Jakarta
- Syaifuddin. 2006. *Anatomi Fisiologi untuk Mahasiswa Keperawatan*. EGC: Jakarta.
- Zulkoni Akhsin H. (2011). *Parasitologi Untuk keperawatan*, Cetakan Pertama, Nuha Medika, Yogyakarta