

Editor
Suhaera
Rifky Saldi A. Wahid



PEMBUATAN DAN PEMERIKSAAN PADA ANALIS KESEHATAN

Amellya Octifani | Acivrida Mega Charisma | Seri Rayani Bangun | Evi Hudriyah Hukum
Kadeq Novita Prajawanti | Yuli Astuti | Yulianto Ade Prasetya | Safridha Kemala Putri | Siska Zafrida

PEMBUATAN DAN PEMERIKSAAN PADA ANALIS KESEHATAN



Ganesha
KreasiSemesta



ganeshakreasisemesta@gmail.com

www.ganeshakreasisemesta.com

0852-8000-2192

Anggota IKAPI
No. 281/JTE/2024

ISBN 978-623-10-3049-8



9 786231 030498

PEMBUATAN DAN PEMERIKSAAN PADA ANALIS KESEHATAN

**Amellya Octifani
Acivrida Mega Charisma
Seri Rayani Bangun
Evi Hudriyah Hukom
Kadeq Novita Prajawanti
Yuli Astuti
Yulianto Ade Prasetya
Safridha Kemala Putri
Siska Zafrida**

**Editor :
Suhaera
Rifky Saldi A. Wahid**



PENERBIT PT. GANESHA KREASI SEMESTA

PEMBUATAN DAN PEMERIKSAAN PADA ANALIS KESEHATAN

Penulis : Amellya Octifani
Acivrida Mega Charisma
Seri Rayani Bangun
Evi Hudriyah Hukom
Kadeq Novita Prajawanti
Yuli Astuti
Yulianto Ade Prasetya
Safridha Kemala Putri
Siska Zafrida

Editor : Suhaera
Rifky Saldi A. Wahid

Desain Sampul : Ardyan Arya Hayuwaskita

Tata Letak : Ayu May Lisa

ISBN : 978-623-10-3049-8

Diterbitkan oleh : **GANESHA KREASI SEMESTA,
AGUSTUS 2024
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 281/JTE/2024**

Redaksi:

Jalan Panongan, Desa Kutasari Kecamatan Baturraden Kabupaten
Banyumas Telp. 0852-8000-2192

Surel : ganeshakreasisemesta@gmail.com

Cetakan Pertama : 2024

All right reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh
isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun,
termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman
lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, kami dapat menyelesaikan buku dengan judul "Pembuatan dan Pemeriksaan pada Analisis Kesehatan" tepat pada waktunya.

Buku ini disusun dalam rangka memperdalam pemahaman dan keterampilan kami di bidang analisis kesehatan, khususnya dalam proses pembuatan dan pemeriksaan berbagai sampel yang penting bagi diagnosis dan pengobatan pasien. Dalam penyusunan buku ini, kami banyak belajar mengenai prinsip-prinsip dasar analisis kesehatan, mulai dari pengambilan sampel, metode pembuatan preparat, hingga teknik pemeriksaan yang akurat dan aman.

Kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat kami harapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Kami juga ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Semoga buku ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi positif bagi pembaca, serta menjadi referensi yang berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang analisis kesehatan.

Akhir kata, kami berharap agar buku ini dapat memberikan wawasan baru serta menambah pengetahuan bagi siapa saja yang membacanya.

Bandung, Agustus 2024

Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
BAB 1 PEMERIKSAAN SGOT	
Oleh : Amellya Octifani, S.Tr. AK., M.Kes.	1
A. Pendahuluan	1
B. Tes Fungsi Hati (LFT)	2
C. Pemeriksaan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT)	3
D. Faktor Pengganggu Pemeriksaan SGOT	8
DAFTAR PUSTAKA.....	10
TENTANG PENULIS	12
BAB 2 PEMERIKSAAN FESES MIKROSKOPIS	
Oleh : Acivrida Mega Charisma, S.Si., M.Si.	13
A. Pendahuluan	13
B. Pemeriksaan Spesimen Feses untuk Parasit	14
C. Macam - Macam Pemeriksaan Feses	17
DAFTAR PUSTAKA.....	26
TENTANG PENULIS	27
BAB 3 PEMERIKSAAN FESES MAKROSKOPIS	
Oleh : Seri Rayani Bangun, Skp., M.Biomed.....	28
A. Pendahuluan	28
B. Pemeriksaan Tinja atau Feses	29
C. Pemeriksaan Makroskopis Feses.....	29
D. Pemeriksaan Mikroskopis Feses	31
E. Prosedur Pemeriksaan.....	31
F. Identifikasi Parasit dalam Feses	34
DAFTAR PUSTAKA.....	43
TENTANG PENULIS	44
BAB 4 PEMERIKSAAN JAMUR	
Oleh : Evi Hudriyah Hukom, S.Kep., Ns., M.Kes.	45
A. Pendahuluan	45
B. Morfologi Jamur	46
C. Klasifikasi Jamur	46

	D. Penyakit akibat Jamur	49
	E. Pemeriksaan Jamur	50
	DAFTAR PUSTAKA	58
	TENTANG PENULIS	61
BAB 5	PEMERIKSAAN WIDAL	
	Oleh : Kadeq Novita Prajawanti, S.ST., M.Imun.	62
	A. Pendahuluan	62
	B. Virulensi <i>Salmonella typhi</i>	64
	C. Teknik Pemeriksaan Widal	69
	DAFTAR PUSTAKA	77
	TENTANG PENULIS	79
BAB 6	PEMERIKSAAN CROSS MATCH	
	Oleh : Yuli Astuti, A. P.TTD., S.ST., M.K.M.	80
	A. Pendahuluan	80
	B. Tujuan Pemeriksaan <i>Cross Match</i>	81
	C. Persiapan Pemeriksaan <i>Cross Match</i>	81
	D. Prinsip Pemeriksaan <i>Cross Match</i>	83
	E. Metode Pemeriksaan <i>Cross Match</i>	85
	F. Penanganan Masalah pada Pemeriksaan <i>Cross Match</i>	91
	DAFTAR PUSTAKA	94
	TENTANG PENULIS	97
BAB 7	BASIL TAHAN ASAM (BTA)	
	Oleh : Yulianto Ade Prasetya, S.Si., M.Si.	98
	A. Sejarah Singkat	98
	B. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	99
	C. Tahapan Pra-Analitik Pemeriksaan Basil Tahan Asam	102
	D. Tahapan Analitik	103
	E. Tahap Analitik Metode Mikroskopis	105
	F. Tahap Analitik Metode Kultur dan Biokimia	106
	G. Tahap Pasca Analitik	107
	H. Uji Tambahan Pemeriksaan Basil Tahan Asam	109
	I. Pengendalian Mutu Pemeriksaan Basil Tahan Asam	110
	DAFTAR PUSTAKA	111

	TENTANG PENULIS	113
BAB 8	PEMBUATAN INDIKATOR	
	Oleh : Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si.....	114
	A. Pendahuluan	114
	B. Jenis Indikator	116
	C. Langkah Pemilihan Indikator	117
	D. Peran pH dalam Pembuatan Indikator	118
	E. Pemilihan Larutan Indikator	119
	F. Pembuatan Larutan Indikator	119
	DAFTAR PUSTAKA.....	126
	TENTANG PENULIS	128
BAB 9	PENYIAPAN DAN PEMBUATAN MEDIUM	
	Oleh : Siska Zafrida, M. TLM.....	129
	A. Pendahuluan	129
	B. Fungsi Media	130
	C. Jenis Media	131
	D. Prosedur Pembuatan Media Cawan secara Umum	132
	E. Media Gula - Gula	136
	F. <i>Tripel Sugar Iron Agar (TSIA)</i>	137
	G. Media Urea	139
	H. Media Sulfur Indol Motility (SIM)	140
	I. Simmons Citrate Agar	142
	DAFTAR PUSTAKA.....	143
	TENTANG PENULIS	144

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Alat Automatic Analyzer.....	6
Gambar 1.2	Alat Semi Automatic Fotometer	7
Gambar 2.1	Pot Sampel Tertutup Pengambilan Sampel Feses	17
Gambar 4.1	Jamur Ascomycota.....	47
Gambar 4.2	Pemeriksaan Mikroskopis	52
Gambar 4.3	Kultur Jamur pada Media Agar.....	53
Gambar 4.4	Prosedur Mikrokultur	55
Gambar 4.5	Elektroferesis gel yang dihasilkan dari beberapa metode ekstraksi, Kit Isolasi DNA Genomic Jamur (1a & 1b), Kit mini Qiagen DNA (2), metode fenol klorofom iso-amyl alcohol (3)	56
Gambar 5.1	Morfologi Salmonella thypi.....	65
Gambar 5.2	Representasi skema komponen flagella Salmonella, SPI-1, dan SPI-2 T3SS. Struktur molekuler sistem flagela digambarkan di atas di sebelah kiri, SPI-1 T3SS di tengah, dan SPI-2 T3SS di sebelah kanan.	67
Gambar 5.3	Struktur Antigenik Salmonella typhi.....	68
Gambar 5.4	Ilustrasi Slide Uji Widal	72
Gambar 5.5	Ilustrasi Pemeriksaan Widal Metode Tabung	73
Gambar 5.6	Aglutinası Uji Idal	74
Gambar 6.1	Derajat Aglutinasi Cross Match Metode Gel	88
Gambar 7.1	Bakteri Mycobacterium tuberculosis yang diwarnai dengan Ziehl Neelsen (kiri) dan Auramine-Rhodamine (kanan).....	100
Gambar 7.2	Struktur Dinding Sel Bakteri Mycobacterium tuberculosis.....	101
Gambar 7.3	Wadah Steril Untuk Menampung Sputum Pasien...	103
Gambar 7.4	Tahap Analitik Diagnosis Pemeriksaan Tuberkulosis	104
Gambar 7.5	Hasil Pewarnaan Mycobacterium tuberculosis	106
Gambar 7.6	Hasil Pertumbuhan Bakteri Mycobacterium tuberculosis.....	107
Gambar 7.7	Interpretasi hasil metode sewaktu pagi sewaktu	108

Gambar 8.1	Struktur Molekul Eriochrome Black T.....	122
Gambar 8.2	Struktur Molekul Murexide	123
Gambar 8.3	Struktur Molekul Xylenol Orange	124
Gambar 8.4	Struktur Molekul Methyl Thymol Blue.....	124
Gambar 8.5	Struktur Molekul Fast Sulphon Black F	125
Gambar 8.6	Struktur Molekul Variamine Blue.....	125
Gambar 8.7	Struktur Molekul Patton and Readers.....	125
Gambar 9.1	Pembuatan Media Agar, Agar Tegak dan Agar Miring.....	130
Gambar 9.2	Hasil Uji pada Media TSIA	138
Gambar 9.3	Hasil Uji pada Media Urea.....	140
Gambar 9.4	Media SIM	141

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Prosedur Pemeriksaan Mikroskopis Feses	31
Tabel 3.2	Prosedur Pemeriksaan Makroskopis Feses Darah Samar.....	32
Tabel 5.1	Penyebab Hasil Positif Maupun Negatif Uji Widal	75
Tabel 6.1	Pemeriksaan Cross Match Fase I.....	85
Tabel 6.2	Tabel Interpretasi Hasil Cross Match Metode Tabung	86
Tabel 6.3	Hasil Pemeriksaan Cross Match Metode GEgl.....	89
Tabel 8.1	Perubahan Warna Indikator Sesuai pH.....	119
Tabel 9.1	Komposisi Medium EMB Agar Per Liter	133
Tabel 9.2	Komposisi Medium MC Agar Per Liter	134
Tabel 9.3	Komposisi Medium BAP Per Liter.....	135



PEMBUATAN DAN PEMERIKSAAN PADA ANALIS KESEHATAN

**Amellya Octifani
Acivrida Mega Charisma
Seri Rayani Bangun
Evi Hudriyah Hukom
Kadeq Novita Prajawanti
Yuli Astuti
Yulianto Ade Prasetya
Safridha Kemala Putri
Siska Zafrida**



BAB

1

PEMERIKSAAN SGOT

Amellya Octifani, S.Tr. AK., M.Kes.

A. Pendahuluan

Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks didalam tubuh. Hati merupakan organ tubuh penting untuk mendetoksifikasi zat kimia yang tidak berguna atau merugikan tubuh (Lestari *et al.*, 2023). Hati terletak dikuadran kanan atas tubuh dan dibawah diafragma yang bertanggung jawab atas beberapa fungsi yaitu:

1. Detoksifikasi primer berbagai metabolit
2. Produksi enzim pencernaan
3. Berperan penting dalam metabolisme
4. Regulasi sel darah merah
5. Sintesis dan penyimpanan glukosa
6. Penyimpanan vitamin larut lemak, besi dan tembaga
7. Faktor pembekuan dan sintesis protein
8. Pemecah heme menjadi bilirubin tak terkonjugasi dan mengkonjugasikannya
9. System imunologi tubuh (Kalra, Arjun. ; Tuma, 2018)

Hati melakukan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak sehingga beberapa enzim dan produk akhir dari jalur metabolisme sangat sensitive bagi kelainan yang terjadi pada hati (Gowda *et al.*, 2009). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kerusakan dan gangguan fungsi hati yaitu:

1. Virus,

Penyakit virus adalah penyebab umum hepatitis dan peningkatan LFT. Virus hepatitis B, C, dan D dapat menyebabkan hepatitis kronis, sedangkan hepatitis A dan E menyebabkan hepatitis virus akut. Beberapa virus lain, termasuk HIV, Epstein-Barr (EBV), dan Cytomegalovirus (CMV), juga dapat menyebabkan hepatitis (Maharani et al., 2019).

2. Bakteri,

3. Toksisitas dari obat-obatan

Beberapa obat diketahui menyebabkan kerusakan hati. Banyak di antaranya yang umum digunakan dalam praktik sehari-hari, termasuk namun tidak terbatas pada NSAID, antibiotik, statin, obat anti kejang, dan obat pengobatan tuberculosis (Hsu et al., 2003).

4. Bahan kimia serta konsumsi alkohol berlebihan

Pada pasien dengan gangguan penggunaan alkohol, rasio AST terhadap ALT umumnya minimal 2:1, menunjukkan tingkat aktivitas AST yang tinggi pada penyakit hati alkoholik (kalra, arjun.; tuma, 2018) (dewi, 2016).

B. Tes Fungsi Hati (LFT)

Tes fungsi hati dilaboratorium sebagai tes yang berguna dalam evaluasi dan pengobatan pasien dengan disfungsi hati. Beberapa penanda biokimia disfungsi hati yaitu:

1. Alanine transaminase (ALT) dan
2. Aspartate transaminase (AST),
3. Alkalinephosphatase (ALP),
4. Gamma-glutamyl transferase (GGT),
5. Serum bilirubin total, bilirubin terkonjugasi, bilirubin tidak terkonjugasi,
6. Waktu protrombine (PT),
7. Rasio normalisasi internasional (INR),
8. Total protein,

9. Globulin dan
10. Albumin.

Peningkatan parameter tes-tes ini dapat menentukan dimana area pada hati yang mungkin terjadi kerusakan atau cidera hati dan dapat membantu sebagai diagnosis banding (Lala V, Zubair M, n.d.) (Gowda et al., 2009)

C. Pemeriksaan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT)

1. SGOT

Enzim aspartat aminotransferase (AST) disebut juga glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) merupakan enzim mitokondria yang berfungsi mengkatalisis pemindahan bolak-balik gugus amino dari asam aspartat ke asam α -oksaloasetat membentuk asam glutamat dan oksaloasetat (Dila Wanti et al., 2020).

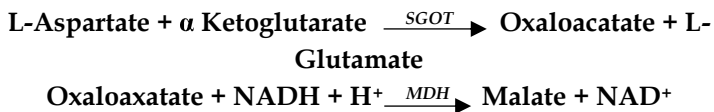
Aspartate aminotransferase (AST) atau Serum Glutamic Oxaloacetic transaminase (SGOT), merupakan enzim yang keberadaan dan kadarnya dalam darah dijadikan penanda terjadinya gangguan fungsi hati. Enzim tersebut normalnya berada pada sel-sel hati. Kerusakan pada hati akan menyebabkan enzim hati tersebut lepas ke dalam aliran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat dan menandakan adanya gangguan fungsi hati (Widarti & Nurqaidah, 2019). SGOT ditemukan dalam konsentrasi tertinggi di jantung dibandingkan dengan jaringan tubuh lain seperti hati, otot rangka dan ginjal (Gowda et al., 2009).

Nilai normal serum SGOT/AST adalah 0 hingga 35U/L (Reza & Rachmawati, 2017). Peningkatan AST mitokondria terlihat pada nekrosis jaringan luas selama miokardium infark dan juga pada penyakit hati kronis seperti degenerasi jaringan hati dan nekrosis. Sekitar 80% Aktivitas AST hati disumbangkan oleh isoenzim mitokondria, sedangkan sebagian besar aktivitas AST yang bersirkulasi pada orang normal berasal dari isoenzim sitosol (Gowda et al., 2009).

Kinetik-IFCC (Internasional Federation of Clinical Chemistry). Pengukuran Kinetik-IFCC adalah pengukuran fotometris dari perubahan absorbansi per satuan waktu yang telah diakui oleh kimia klinik secara internasional. Pengukuran kinetik dilakukan untuk penentuan aktifitas enzim, yaitu kecepatan enzim untuk merubah substrat (Aleya & Berawi, 2015).

Pemeriksaan SGOT menggunakan alat analisa semi-otomatis atau otomatis penuh, yang didasarkan pada prinsip fotometri. Fotometri adalah pengukuran cahaya yang diserap dalam rentang ultraviolet (UV) hingga cahaya tampak (VIS) hingga inframerah (IR). Pengukuran ini digunakan untuk menentukan jumlah analit dalam suatu larutan atau cairan. Fotometer menggunakan sumber cahaya dan detektor tertentu yang mengubah cahaya yang melewati larutan sampel menjadi sinyal listrik proporsional. Detektor ini dapat berupa fotodiode, fotoresistor, atau fotomultiplier (Lestari et al., 2023).

Prinsip Pemeriksaan SGOT:



2. Alat dan Bahan

a. Alat

Instrumen yang digunakan yaitu spuit, kapas alkohol 70%, klinipet 500 µl, tabung vakum, rak tabung, sentrifus, alat Mindray dan fotometer, kuvet serta alat pelindung diri yang terdiri dari jas laboratorium, masker, mikropipet rak tabung, sampel cup, tip biru dan handscoon

b. Bahan

Serum, alkohol 70%, Reagen SGOT, aquadest.

3. Prosedur Pemeriksaan

a. Pra-Analitik

- 1) Persiapan pasien:
 - a) Hindari Latihan fisik yang berat sebelum pengambilan sampel
 - b) Hindari obat atau zat yang mempengaruhi kadar SGOT misalnya salisilat dan alcohol
- 2) Persiapan dan Persyaratan Spesimen
 - a) Anggap semua spesimen yang diterima berpotensi mengandung agen infeksi sehingga harus menggunakan ala pelindung diri
 - b) Serum atau plasma dipisahkan tidak boleh berada pada suhu 15oC – 30oC selama 8 jam
 - c) Jika sampel tidak segera diperiksa simpan specimen pada suhu 2oC – 8oC
 - d) Sampel beku dicairkan hanya sekali, karena akan terjadi kerusakan specimen jika dibekukan dicairkan berulang kali
- 3) Pengambilan sampel penelitian
Prosedur pengambilan darah vena:
 - a) Dibersihkan bagian lengan yang akan ditusuk dengan kapas alkohol 70% dan dibiarkan sampai kering.
 - b) Jika memakai vena dalam fossa cubiti, dipasang ikatan pembendung pada lengan atas dan diminta pasien untuk mengepalkan dan membuka tangannya berkali-kali agar vena terlihat jelas.
 - c) Ditegangkan kulit diatas vena dengan jari-jari tangan kiri agar vena tidak dapat bergerak.
 - d) Ditusuk kulit dengan jarum dan spoit dalam tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam pembuluh vena.
 - e) Dilepaskan atau diregangkan pembendungan dan perlahan-lahan tarik penghisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
 - f) Dilepaskan pembendungan jika masih terpasang.

- g) Ditaruh kapas diatas jarum dan dicabut spoit dan jarum itu.
 - h) Diminta kepada pasien agar tempat tusukan itu ditekan selama beberapa menit dengan kapas tadi. Diangkat atau dilepaskan jarum dari spoit dan darah dialirkan ke dalam wadah atau tabung yang tersedia melalui dinding (Gandasoebrata R, 2011).
- 4) Cara memperoleh serum untuk pemeriksaan
- a) Tabung yang berisi darah didiamkan selama kurang lebih 10 menit, jika memakai tabung vakum tutup merah
 - b) Pengambilan darah dengan tabung vakum tutup kuning bisa langsung proses centrifugasi
 - c) dicentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm.
 - d) Serum dipisahkan dari bekuan darah. Serum yang telah didapat dimasukkan dalam tabung berlabel.
 - e) Serum siap diperiksa
 - f) Sampel dihindarkan dari hal-hal yang dapat menyebabkan hemolisis (Lippi et al., 2019).

b. Analitik

- 1) Pemeriksaan SGOT dengan Alat Automatic Analyzer



Gambar 1.1 Alat Automatic Analyzer

(Sumber : <https://medlab.id/pemeriksaan-sgot/>)

- a) Ditekan on/off, periksa washer, rinse, rak kuvet, reagen dan dilakukan kontrol sebelum alat digunakan, setelah semua selesai alat siap dioperasikan.
- b) Diambil serum dengan menggunakan clinipet 500 μ l.

- c) Dimasukkan sampel ke dalam sampel disk. Diberi label sesuai identitas pasien.
 - d) Diletakkan cup sampel pada rak sampel. 5) Diklik menu sampel pada display.
 - e) Dipilih sampel request.
 - f) Dicek posisi sampel pada sampel disk apakah sesuai.
 - g) Diinput data pasien.
 - h) Dipilih parameter yang akan diperiksa lalu tekan ok.
 - i) Ditekan ikon play maka secara otomatis proses run sampel akan bekerja.
 - j) Hasil muncul, ditekan print untuk mencetak hasil.
- 2) Pemeriksaan SGOT dengan Alat Semi Automatic Fotometer



Gambar 1.2 Alat Semi Automatic Fotometer
(Sumber : <https://medlab.id/pemeriksaan-sgot/>)

- a) Persiapan Larutan kerja
 - Campurkan 4 ml R1 dengan 1 ml R2 hingga homogen atau buat reagen siap digunakan dengan perbandingan 4:1
 - Larutan ini stabil selama 10 hari pada suhu 2-8 derajat Celsius atau 14 hari jika dibekukan
- b) Prosedur Pemeriksaan
 - Siapkan alat bahan yang digunakan
 - Dicampurkan 1 ml larutan kerja dan 100 mikroliter sampel serum hingga homogen.
 - Diinkubasi pada inkubator alat fotometer selama 60 detik pada suhu ruang.

- Diukur pada panjang gelombang 340 nm pada fotometer.
- Diukur pada panjang gelombang 340 nm pada fotometer

Tabel Prosedur Pemeriksaan SGOT

a) Monoreagen Prosedur

	Blank	Sample
Working reagent	1000μ	1000μ
aquabidest	100μ	-
Sample	-	1000μ
Mix, kemudian Inkubasi 1' 37°C, lakukan pembacaan pada alat		

b) Bireagen Prosedur

	Blank	Sample
Reagent 1	800μ	800μ
aquabidest	100μ	-
Sample	-	1000μ
Mix, kemudian Inkubasi 1' 37°C		
Reagent 2	200μ	200μ
Mix, kemudian Inkubasi 1' 37°C, lakukan pembacaan pada alat		

c) Pasca Analitik

Nilai normal :

Laki-laki: 0-37 U/L

Perempuan: 0-31 U/L

D. Faktor Pengganggu Pemeriksaan SGOT

1. Hemolisis, ikterus, dan lipemia

adalah masalah integritas spesimen paling umum yang dapat mengganggu tes laboratorium dan dapat menyebabkan hasil dan interpretasi yang salah dan, pada akhirnya, keputusan medis yang tidak tepat. Contohnya termasuk zat besi, lipase, albumin, dan g-glutamil transferase.

2. Hepatotoksisitas obat dapat bersifat nonidiosyncratic (dapat diprediksi) atau idiosyncratic (tidak dapat diprediksi). Selain itu, hepatotoksisitas terkait obat dapat diklasifikasikan menjadi dimediasi imun dan dimediasi non-imun. Insiden kerusakan hati akibat obat adalah 19 kasus per 100.000 orang
3. Faktor lain yang dapat mempengaruhi AST termasuk indeks massa tubuh (40 hingga 50% lebih tinggi pada indeks massa tubuh tinggi) dan olahraga (20% lebih rendah pada mereka yang berolahraga). Metronidazol dapat mengganggu metode ALT karena konsentrasi dan serapannya yang relatif tinggi mendekati 340 nm (Lala V, Zubair M, n.d.).

DAFTAR PUSTAKA

- Aleya, & Berawi, K. N. (2015). Korelasi Pemeriksaan Laboratorium SGOT / SGPT dengan Kadar Bilirubin pada Pasien Hepatitis C di Ruang Penyakit Dalam RSUD Dr . H . Abdul Moeloek Provinsi. *Jurnal Majority*, 4(9), 135-139.
- Dewi. (2016). KADAR SERUM GLUTAMATE PIRUVAT TRANSAMINASE PECANDU MINUMAN KERAS DI BANJAR AMBENGAN DESA SAYAN UBUD GIANYAR IGA Tari Diva Pradnya Dewi 1 , Nyoman Mastra 2 , I Wayan Merta 3. *Meditory*, 4(3), 82-93.
- Dila Wanti, H., Fadhilah, F., & Taufiqurrohman, O. (2020). Pengaruh Hemolisis Dalam Serum Terhadap Aktivitas Enzim Aspartat Aminotransferase Dengan Metode Kinetik-Ifcc. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoImedLabS)*, 1(1), 48-56. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.6>
- Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V, Math, A. A. K., Vernekar, S. N., & Kulkarni, S. S. (2009). A review on laboratory liver function tests. *The Pan African Medical Journal*, 3(November), 17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21532726> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2984286>
- Hsu, T. L., Chiang, Y., Wang, W. K., Chao, P. T., Bao, J. G., & Wang, Y. Y. L. (2003). Pulse analysis as a possible real-time biomarker complementary to SGPT and SGOT for monitoring acute hepatotoxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 13(3), 181-186. <https://doi.org/10.1080/15376510309829>
- Kalra, Arjun. ; Tuma, F. (2018). *Physiology, Liver - StatPearls - NCBI Bookshelf*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/>
- Lala V, Zubair M, M. D. L. F. T. [Updated 2023 J. 30]. I. S. [Internet]. T. I. (FL): S. P. 2024 J.-. A. from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482489/>. (n.d.). *Liver Function Tests - StatPearls - NCBI Bookshelf*.

- Lestari, K., Syafrisar, M., & Meisa, H. (2023). Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (Sgot) and Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (Sgpt) Values in Alcohol Drinkers. *Jurnal Ilmu Kesehatan Mandira Cendikia*, 2(6), 33–38.
- Lippi, G., Von Meyer, A., Cadamuro, J., & Simundic, A. M. (2019). Blood sample quality. *Diagnosis*, 6(1), 25–31. <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0018>
- Maharani, S., Efendi, D., & Tampubolon, L. A. (2019). Gambaran Pemeriksaan Fungsi Hati pada Pasien Sirosis Hepatis yang Dirawat di Rumah Sakit Umum Daerah Arifin Achmad Provinsi Riau Periode 2013 - 2015. *Jurnal Ilmu Kedokteran (Journal of Medical Science)*, 12(1), 46. <https://doi.org/10.26891/jik.v12i1.2018.46-51>
- Reza, A., & Rachmawati, B. (2017). Perbedaan Kadar Sgot Dan Sgpt Antara Subyek Dengan Dan Tanpa Diabetes Mellitus. *Banundari Rachmawati JKD*, 6(2), 158–166.
- Widarti, W., & Nurqaidah, N. (2019). Analisis Kadar Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (Sgpt) Dan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (Sgot) Pada Petani Yang Menggunakan Pestisida. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 10(1), 35. <https://doi.org/10.32382/mak.v10i1.984>

TENTANG PENULIS



Amellya Octifani, S.Tr. AK., M.Kes.

Penulis Dosen Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Anwar Medik lahir di gresik tanggal 09 Oktober 1995. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Anwar Medika Sidoarjo. Penulis Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Diploma 4 analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Surabaya 2013-2017 dan melanjutkan Studi Magister Ilmu Laboratorium Kesehatan di Universitas Muhammdiyah Semarang pada tahun 2019-2021

BAB 2

PEMERIKSAAN FESES MIKROSKOPIS

Acivrida Mega Charisma, S.Si., M.Si.

A. Pendahuluan

Feses adalah hasil dari digesti dan absorpsi asupan (intake) air, makanan (per oral), saliva, cairan lambung, cairan yang berasal dari pankreas, dan cairan empedu yang semuanya berperan pada proses pencernaan makanan. Orang dewasa mengeluarkan feses antara 100-300 gram/hari yang 70% diantaranya adalah feses. Bentuk dan komposisi feses bergantung pada proses absorpsi, sekresi dan fermentasi. Feses normal akan berwarna kuning (berasal dari degradasi pigmen empedu oleh bakteri), tidak lembek dan tidak keras, berbau khas (berasal dari indol, skatol, dan asam butirat). Protein yang tidak tercerna dengan baik akan menyebabkan bau yang kuat (Iqbal et al., 2023).

Pemeriksaan feses parasitologis merupakan suatu cara untuk mendeteksi keberadaan parasit dalam tubuh serta mempunyai peran yang cukup penting sebagai salah satu cara menegakkan diagnosis infeksi oleh parasit. Kegunaan pemeriksaan feses, mempunyai cakupan yang cukup luas untuk menunjang pemeriksaan berbagai infeksi oleh parasit; seperti infeksi protozoa usus, infeksi cacing usus yang meliputi nematoda usus, trematoda usus, dan cestoda usus. Beberapa penyakit infeksi oleh parasit pada organorgan selain usus, seperti hati, paru serta beberapa sistem vaskuler dapat dideteksi keberadaannya dengan pemeriksaan feses (Triani et al., 2023).

Pemeriksaan feses dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis dilakukan untuk melihat warna, konsistensi, jumlah, bentuk, bau dan ada tidaknya mukus. dan pemeriksaan mikroskopis meliputi dua yaitu kualitatif dan kuantitatif. Pemeriksaan kualitatif yang biasa dilakukan ada berbagai cara seperti pemeriksaan langsung (Direct slide) metode flotasi pengapungan, metode selotip, teknik sediaan tebal, dan metode sedimentasi. Sedangkan, pada pemeriksaan kuantitatif yang sering digunakan yaitu metode Kato Katz. Metode yang akan menentukan derajat infeksi kecacingan (Khatimah et al., 2022).

Pemeriksaan feses dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya telur cacing ataupun larva yang infeksi. Pemeriksaan feses ini juga dilakukan untuk tujuan mendiagnosa tingkat infeksi cacing parasit usus pada orang yang diperiksa fesesnya. Prinsip dasar untuk diagnosis infeksi parasit adalah riwayat yang cermat dari pasien. Teknik diagnostik merupakan salah satu aspek yang penting untuk mengetahui adanya infeksi penyakit cacing, yang dapat ditegakkan dengan cara melacak dan mengenal stadium parasit yang ditemukan. Sebagian besar infeksi dengan parasit berlangsung tanpa gejala atau menimbulkan gejala ringan

B. Pemeriksaan Spesimen Feses untuk Parasit

Pemeriksaan mikroskopis merupakan langkah yang penting dalam mendeteksi abnormalitas pada usus. Pemeriksaan mikroskopis merupakan pemeriksaan diagnostik yang digunakan untuk melihat adanya leukosit, jenis protozoa, dan telur cacing (Iqbal et al., 2023).

Cacing yang tidak dapat terlihat pada pemeriksaan makroskopis dapat dilihat menggunakan pemeriksaan mikroskopis. *Direct wet mount*, *saline wet mount*, dan *iodine wet mount* dapat digunakan untuk melihat bentuk cacing, telur, larva, tropozoit, dan kista. Iodine wet mount lebih baik digunakan jika ingin melihat kista. Cara sederhana tersebut ialah dengan sedikit menaruh sampel tinja yang diemulsi dalam 1-2

tetes saline atau iodine pada slide kaca, kemudian slide kaca baru ditempatkan di atasnya dan sediaan diperiksa di bawah mikroskop (Helmalia, 2019).

1. Leukosit: Pada keadaan normal, leukosit tidak ditemukan dalam tinja. Untuk pemeriksaan leukosit, sampel tinja diambil pada bagian yang berlendir. Leukosit biasanya didapati pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Dan tidak ditemukan pada kasus diare yang disebabkan oleh virus dan parasit.
2. Eritrosit: Pada keadaan normal, eritrosit tidak ditemukan dalam tinja. Invasi amoeba dapat menyebabkan adanya darah pada tinja. Keadaan seperti disentri juga merupakan infeksi pada usus yang menyebabkan diare yang disertai darah atau lendir. Penyebab lain adanya eritrosit pada tinja adalah inflammatory bowel disease, keganasan, ulkus peptikum, angiodisplasia, dan diverticulosis.
3. Lemak: Pada manusia sehat, kurang dari 6 g/hari lemak diekskresi dalam tinja. Jumlah ini tetap konstan meskipun konsumsi harian lemak mencapai 100-125 g. Untuk pengumpulan sampel pemeriksaan steatorrhea, tinja dikumpulkan selama 72 jam saat pasien melakukan diet yang mengandung 100 g lemak setiap hari. Namun, pemeriksaan ini sudah mulai digantikan dengan tes steatokrit asam yang didasarkan pada pengukuran berat. Tes ini didapati lebih sederhana, cepat, dan murah dibandingkan dengan pengumpulan lemak 72 jam.
4. Gula: Pemeriksaan ini menggunakan kertas kromatografi untuk mengidentifikasi adanya gula dalam tinja. Pemeriksaan ini memungkinkan untuk mendiagnosis galaktosemia klasik yang juga disebut dengan galaktosemia tipe 1, malabsorpsi sukrosa, intoleransi laktosa, dan keadaan seperti malabsorpsi glukosa-galaktosa.
5. pH tinja diperiksa menggunakan kertas nitrazine. Kertas kemudian ditempelkan pada sampel tinja selama 30 detik, kemudian bandingkan perubahan warna pada kertas nitrazine. pH normal tinja adalah 7,0-7,5. Pada bayi yang

meminum asi, pH akan lebih asam daripada normal. Feses dengan pH rendah dapat disebabkan oleh penyerapan yang buruk dari karbohidrat atau lemak.

Pemeriksaan langsung mikroskopik dilakukan setelah pemeriksaan makroskopik. Contoh metode pemeriksaan langsung mikroskopik adalah direct slide dan KatoKatz. Pemeriksaan tidak langsung adalah pemeriksaan yang dapat dilakukan beberapa saat atau beberapa hari setelah tinja didefekasikan. Contoh metode pemeriksaan tidak langsung adalah flotasi, sedimentasi, stoll, dan lain-lain. Metode pemeriksaan tinja juga dibagi menjadi metode kuantitatif dan metode kualitatif.⁷ Metode kualitatif berguna untuk menentukan positif atau negatif cacingan. Metode yang biasa digunakan untuk pemeriksaan kualitatif adalah metode direct slide, metode flotasi dan metode sedimentasi. Metode kuantitatif berguna untuk menentukan intensitas infeksi atau berat ringannya penyakit dengan mengetahui jumlah telur per gram tinja. Metode yang biasa digunakan untuk pemeriksaan kuantitatif adalah metode Kato-Katz dan metode Stoll.

Pemeriksaan feses adalah salah satu pemeriksaan laboratorium yang telah lama dikenal untuk membantu klinisi menegakkan diagnosis suatu penyakit. Pemeriksaan feses merupakan pemeriksaan gold standar yang dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi Soil Transmitted Helminth. Pemeriksaan feses dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis dilakukan untuk menilai warna, konsistensi, jumlah, bentuk, bau dan ada tidaknya mukus. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan untuk memeriksa parasit dan telur cacing.

1. Pengambilan spesimen

Hal-hal yang harus diperhatikan saat pengambilan specimen feses. Feses diambil kira-kira sebanyak 100 gram dalam wadah yang bersih dan kering tanpa pengawet. Wadah yang digunakan yaitu wadah bertutup ulir yang disajikan pada Gambar 2.1, specimen feses tidak dibiarkan

dalam keadaan terbuka, spesimen feses tidak boleh tercampur urin, feses diperiksa 1-4 jam setelah pengambilan.



Gambar 2.1 Pot Sampel Tertutup Pengambilan Sampel Feses

2. Pengiriman spesimen feses untuk mendeteksi parasit untuk keperluan diagnosis dan identifikasi parasit harus dikirim ke laboratorium.

Apabila pemeriksaan feses tidak bisa dilakukan segera setelah pengambilan sampel feses perlu diawetkan. Bahan pengawet yang dapat digunakan yaitu :

- a. Larutan formaldehid 10%
- b. Larutan lugol iodine 0.5%
- c. Larutan fiksatif Polvinil Alkohol (PVA)
- d. Larutan fiksatif Tiomersal-Iodine-Formaldehyde (TIF)

C. Macam - Macam Pemeriksaan Feses

Dasar dari metode pemeriksaan telur cacing yaitu pemeriksaan tinja secara langsung dan tidak langsung. Pemeriksaan langsung adalah pemeriksaan yang langsung dikerjakan setelah tinja didefekasikan. Pemeriksaan langsung dibagi menjadi dua yaitu makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan langsung makroskopik dilakukan untuk memeriksa adanya darah atau lendir, bau, warna dan konsistensi tinja. Pemeriksaan langsung mikroskopik dilakukan setelah pemeriksaan makroskopik. Contoh metode pemeriksaan langsung mikroskopik adalah direct slide dan Kato Katz. Pemeriksaan tidak langsung adalah pemeriksaan yang dapat dilakukan beberapa saat atau beberapa hari setelah tinja

defekasikan. Contoh metode pemeriksaan tidak langsung adalah flotasi, sedimentasi, Stoll, dan lain-lain (Putu Aryadnyani & Inderiati, 2016).

Cara Pengambilan Feses dilakukan pada saat murid sedang buang air besar pada pagi hari atau malam hari, tidak boleh terkena air, urin ataupun lantai kamar mandi. Tinja ditampung dalam kontainer kosong yang telah diberikan label identitas dan dikumpulkan pada waktu di sekolah. Prosedur pengambilan sampel dimulai dari mempersiapkan alat yang dibutuhkan untuk pemeriksaan tinja atau feses, kemudian melakukan cuci tangan rutin sesuai teknik aseptik (prosedural) dan memakai sarung tangan sebelum kontak dengan sampel atau sebelum melakukan pemeriksaan. Setelah itu Melakukan pemeriksaan makroskopis terhadap sampel pemeriksaan yang sudah disediakan (Khatimah et al., 2022).

1. Cara Langsung

a. Metode Direct Slide

Metode ini dipergunakan untuk pemeriksaan secara cepat dan baik untuk infeksi berat, tetapi untuk infeksi ringan sulit untuk menemukan telur. Digunakan larutan NaCl fisiologis (0,9%) atau eosin 2%. Eosin 2% dimaksudkan untuk lebih jelas membedakan telur cacing dengan kotoran disekitarnya. Metode pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan dengan mikroskop untuk mengetahui feses yang positif mengandung telur cacing.

Cara kerja kaca obyek yang sudah disediakan, kemudian menggunakan lidi atau batang korek api diambil sedikit feses ($\pm$ 1-2 mg) dan campurkan dengan tetesan larutan sampai homogen dan menjadi suspensi yang rata. Pada pewarnaan dengan Larutan Eosin cara pembuatan sediaan sama, hanya saja sediaan harus tipis, sehingga warnanya merah jambu muda. Bila warnanya merah jambu tua atau jingga maka berarti sediaan terlampau tebal dan harus diulang kembali.

Pada pewarnaan dengan Larutan Lugol cara pembuatan sediaan sama, namun sediaan tidak perlu terlalu tipis. Buang bila ada bagian-bagian atau serat yang kasar pada kaca objek. Selanjutnya bisa ditutup dengan kaca penutup ukuran 22 x 22 mm dengan perlahan-lahan, sedemikian rupa sehingga tidak terbentuk gelembung $\pm$ gelembung udara yang muncul saat pengamatan. Melakukan pemeriksaan secara sistematis dengan menggunakan pembesaran rendah (Obyektif 10x). Hasil dapat berupa cacing maupun telur cacing.

b. Metode Kato Katz

Metode ini menggunakan gliserin sebagai salah satu reagenya, oleh karena itu sediaan harus sesegera mungkin diperiksa dengan mikroskop setelah pembuatan sediaan apus tebal dengan cellophane tape. Sediaan yang lain yang belum diperiksa sebaiknya disimpan pada suhu kamar dan disimpan dalam kotak yang tertutup.

Pada tahun 1954, Kato dan Miura adalah orang pertama yang memperkenalkan metode baru “cellophane thick-smear technique” yang menggunakan prinsip direct fecal sampling.²⁰ Metode ini berbeda dari direct fecal 12 sampling standart adalah pada jumlah sampel yang digunakan lebih banyak dan cellophane digunakan sebagai penutup. Setelah mengalami beberapa perbaikan, metode Kato thick smear digunakan untuk program pengendalian di Jepang. Pada waktu itu, metode Kato dianggap paling dapat diandalkan dan praktis untuk mendeteksi bahkan untuk infeksi kecacingan ringan.

Banyak publikasi telah mencatat bahwa teknik Kato adalah metode yang sesuai dilihat dari sensitivitas, kesederhanaan dan biaya minimal, terutama dalam survei epidemiologi. Sebuah studi kuantitatif infeksi kecacingan menggunakan metode Kato awalnya dilakukan oleh Martin dan Beaver pada tahun 1968 untuk mendeteksi telur cacing tertentu. Ketika sejumlah telur *Scistosoma mansoni* ditambahkan kedalam tinja manusia yang sudah

diketahui beratnya, metode Kato-Katz, demikian nama metode ini dikenal, memberikan hasil yang sangat baik.

Hal ini segera menjadi bukti bahwa metode ini sangat sensitive, memiliki variansi minimal antara sampel, sederhana untuk dilakukan dan sesuai untuk studi lapangan.²⁶ Sejak itu metode ini diadopsi oleh WHO untuk diagnosis kuantitatif dan kualitatif dari infeksi intestinal yang disebabkan oleh cacing, seperti *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, cacing tambang, dan *Schistosoma mansoni*, terutama dalam program pengendalian dan studi kemoterapi (Triani et al., 2023).

Metode ini kemudian dikonfirmasi oleh banyak pekerja laboratorium dari berbagai belahan dunia. Namun, metode ini memiliki kelemahan yang mana tidak mampu mendeteksi larva dan kista protozoa sehingga beberapa survei data yang menggunakan metode Kato-Katz biasanya tidak dapat mendeteksi keberadaan infeksi protozoa.

Prosedur Kato-katz adalah sampel feses diletakkan di atas kertas minyak. Bagian atas tinja ditekan dengan kasa. Tinja halus yang keluar melalui kasa diambil dengan lidi/spatula. Pada object glass yang bersih dan bebas debu/lemak, dengan menggunakan aplikator sampel tinja dimasukkan kedalam lubang karton pola sampai penuh, lalu diangkat karton polanya sehingga sampel tinja tertinggal pada object glass sebanyak isi lubang karton kemudian menutup tinja tersebut dengan lembar selofan yang sudah disiapkan. Selofan ditekan-tekan perlahan dengan prop karet/botol kecil sampai tinja di bawahnya tersebar merata mungkin di bawah selofan. Larutan yang berlebihan dapat dikeringkan dengan cara membalikkan object glass sebentar pada kertas saring/tisu sambil menekan perlahan sehingga cairan sisa terserap, kemudian dibalikkan kembali, setelah itu didiamkan selama 15 menit pada suhu kamar. Sediaan siap diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran

objektif 10 x. Telur cacing maupun larva yang ada pada sediaan sudah dapat diidentifikasi

2. Cara Tidak Langsung

a. Metode Flotasi

Metode ini dengan adanya perbedaan berat jenis antara telur cacing dengan pelarut menyebabkan telur cacing akan terapung. Macam-macam metode Pengapungan (flotasi).

Teknik Flotasi menunjukkan sensitivitas yang tinggi sebagai alat diagnosis infeksi soil transmitted helminth dengan tingkat infeksi rendah. Karenanya banyak digunakan sebagai diagnosis pasti dalam lingkungan rumah sakit dan lingkup 9 survei epidemiologi. Di satu sisi, teknik ini cukup kompleks dan mahal dikarenakan menggunakan sentrifugasi di dalamnya tetapi masih terbaik diantara metode lainnya. Pemeriksaan ini berhasil untuk telur-telur Nematoda, Schistostoma, Dibothriosephalus, telur yang berpori-pori dari famili Taenidae, telur-telur Achantocephala ataupun telur Ascaris yang infertil. Tetapi tidak untuk telur Ascaris lumbricoides yang belum dibuahi serta spesimen faeces yang mengandung lemak dalam jumlah besar (Putu Aryadnyani & Inderiati, 2016).

Secara umum efektivitas pemeriksaan faeces flotasi dipengaruhi oleh jenis larutan pengapung, berat jenis, waktu apung (periode flotasi), dan homogenitas larutan setelah proses sentrifugasi. Lautan pengapung berperan penting dalam menyebabkan telur cacing dapat mengapung sehingga mudah diamati. Cara kerjanya didasarkan atas perbedaan berat jenis larutan kimia tertentu (1,120-1,210) dan telur larva cacing (1,050-1,150) , sehingga telur-telur terapung dipermukaan dan juga untuk memisahkan partikel-partikel yang besar yang terdapat dalam tinja. Bahan pengapung yang lazim dipergunakan dalam pemeriksaan tinja metode flotasi

adalah larutan NaCl jenuh, glukosa, MgSO₄, ZnSO₄ proanalisis, NaNO₃ dan millet jelly. Ada beberapa macam metode flotasi adalah:

1) Metode Flotasi pasif

Metode ini dapat digunakan untuk mendiagnosis infeksi parasit sebagai bagian dari pemeriksaan rutin ketika tahap diagnosis dapat ditemukan 10 pada tinja atau ketika tanda klinis menunjukkan terjadi peningkatan kecurigaan infeksi parasit. Kelebihan dari metode ini adalah cukup mudah dalam pengerjaannya, lebih murah daripada metode sentrifugasi dan dapat dilakukan meskipun tidak ada alat sentrifugasi. Kekurangan dari metode ini yaitu kurang efektif dibandingkan dengan metode sentrifugasi, menemukan telur lebih sedikit sehingga sering mendapatkan hasil negative palsu.

2) Metode Flotasi Sentrifugasi

Metode ini digunakan untuk mendiagnosis infeksi parasit ketika tahap diagnosis dapat ditemukan pada tinja. Berguna sebagai bagian dari pemeriksaan rutin atau ketika tanda klinis menunjukan terjadi peningkatan kecurigaan infeksi parasite. Kelebihan dari metode ini adalah pada beberapa studi dan publikasi menyebutkan bahwa metode ini mampu menemukan jumlah telur lebih banyak dan lebih jarang mendapatkan hasil negatif palsu dibandingkan metode flotasi pasif. Kekurangan metode ini adalah membutuhkan alat sentrifus, membutuhkan biaya yang lebih mahal, dan pengerjaannya lebih rumit dibandingkan metode flotasi pasif.

3) Metode Mc Master

Metode ini biasa digunakan untuk pemeriksaan tinja hewan. Metode ini cukup menjanjikan untuk penilaian efektivitas, karena memberikan perkiraan jumlah telur yang akurat dan sangat mudah dilakukan, sehingga sangat cocok untuk digunakan pada

laboratorium yang tidak memiliki peralatan yang lengkap dan laborat yang sedikit.

4) Metode FLOTAC

Metode ini cukup menjanjikan untuk pemeriksaan soil transmitted helminth pada manusia. Metode FLOTAC memiliki kelebihan yakni selama proses pengapungan, telur cacing akan berkumpul diatas di daerah kolom flotasi dipisahkan dari kotoran-kotoran tinja sehingga dapat dengan mudah dibaca. Namun metode ini membutuhkan waktu yang cukup lama dalam prosesnya dan membutuhkan biaya yang cukup mahal. Metode flotasi digunakan berdasarkan pertimbangan biaya dan ketersediaan alat adalah metode flotasi sentrifugasi menggunakan larutan $ZnSO_4$.

b. Metode Sedimentasi

Metode ini memiliki prinsip dengan adanya gaya sentrifugal dari sentrifuge yang dapat memisahkan antara supernatan dengan suspensinya sehingga telur cacing akan terendapkan. Metode sedimentasi menggunakan larutan dengan berat jenis yang lebih rendah dari organisme parasit, sehingga parasit dapat mengendap di bawah. Metode ini terdiri dari metode sedimentasi biasa yang hanya memanfaatkan gaya gravitasi, dan metode sedimentasi Formol-Ether (Ritchie) yang menggunakan gaya sentrifugal dan larutan formalin-eter pada cara kerjanya.

Sensitivitas dan spesifitas merupakan dua indikator yang menunjukkan validitas suatu pemeriksaan diagnostik. Semakin tinggi nilai sensitivitas dan spesifitasnya, maka semakin akurat suatu pemeriksaan dalam melakukan penegakan diagnosis. Berdasarkan hal tersebut, pengamatan ini ditujukan untuk menghitung prevalensi infeksi kecacingan, dan jenis cacing yang paling banyak menginfeksi pada anak sekolah dasar, serta

membandingkan keakuratan uji diagnostic dengan menggunakan dua metode yang berbeda .

c. Metode Stoll

Metode ini menggunakan NaOH 0,1 N sebagai pelarut tinja. Metode stoll baik untuk pemeriksaan infeksi berat dan sedang, akan tetapi kurang baik untuk pemeriksaan ringan. Metode Stoll sangat baik untuk mendiagnosis infeksi berat dan sedang, namun kurang efektif pada infeksi ringan. Feses dilarutkan kemudian dikocok hingga homogen dan semalaman didiamkan, kemudian diperiksa dibawah mikroskop, dan dihitung jumlah telurnya.

d. Metode Konsentrasi

Metode ini digunakan untuk memisahkan kista dan telur cacing dari bahan-bahan yang terkandung didalam tinja. Metode konsentrasi dapat dilakukan dua cara, yaitu sedimentasi dan cara pengapungan.

Metode ini sangat praktis dan sederhana. Prosedur pemeriksaan ini yaitu 1 gr tinja dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan akuadest dan diaduk sampai homogen. Masukkan ke tabung sentrifusi dan sentrifusi dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit. Larutan dibuang, sedimennya diambil dengan menggunakan pipet pasteur lalu diletakkan di atas kaca objek kemudian ditutup dengan cover glass dan dilihat di bawah di mikroskop. Pemeriksaan ini 27 dapat dilakukan sampai 2-3 kali.

e. Metode Merthiolate Iodine Formaldehyde (MIF)

Metode ini menyerupai metode sedimentasi. Metode ini baik dipakai untuk mendiagnosis secara laboratoris adanya telur cacing (Nematoda, trematoda dan cestoda), amoeba dan Giardia lamblia didalam tinja.

f. Metode selotip

Metode ini dilakukan untuk pemeriksaan telur *Enterobius vermicularis*. Pemeriksaan dilakukan pada pagi hari sebelum anak kontak dengan air, anak yang diperiksa berumur 1 sampai 10 tahun. Cara pemeriksaan adalah dengan menggunakan plester plastic yang tipis dan bening dan plester tersebut ditempelkan pada lubang anus, kemudian plester tersebut ditempelkan pada permukaan objek glass.

g. Pemeriksaan larva cacing Baermann

Metode ini digunakan untuk pembiakan larva dari tinja penderita maupun untuk memeriksa larva cacing dalam tanah seperti *A. duodenale* dan *N. Americanus*.

h. Pemeriksaan larva cacing Harada-Mori

Metode ini digunakan untuk menentukan dan mengidentifikasi larva infeksi dari *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis*, dan *Trichostrongylus sp.* Telur cacing dapat berkembang menjadi larva infeksi pada kertas saring basah dengan metode ini. Larva ini akan ditemukan di dalam air yang terdapat pada ujung kantong plastik.

DAFTAR PUSTAKA

- Gandahusada, S. Ilahude, H. Herry, D. Pribadi, W. (2002). Parasitologi Kedokteran FK UI. Dalam: Hadidjaja P. Penuntun Laboratorium Parasitology. Jakarta: FK UI
- Helmalia, F. F. (2019). Pemeriksaan Feses Untuk Penentuan Infeksi Parasit di RSUD Langsa. In *Biologica Samudra* (Vol. 01, Issue 2).
- Ideham, B., dan Pusarawati, S., (2007). *Helmintologi Kedokteran*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Iqbal, M., Triana, D., Rizqoh, D., Foresta Valentine Gunasari, L., Agustin Umar, L. (2023). Akurasi Pemeriksaan Kato-Katz dan Mini-Flotac Dalam Diagnosis Kecacingan pada Feses Segar dan Feses Awetan. <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK>
- Khatimah, H., Pratiwi Hasanuddin, A.,. (2022). Identifikasi Nematoda Usus Golongan STH (Soil Transmitted Helimnth) Menggunakan Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis*). <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>. Analisis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba, J., DIII Analisis Kesehatan, P., & Panrita Husada Bulukumba, S
- Putu Aryadnyani, N., & Inderiati, D. (2016). Formalin Dengan Berbagai Pelarut Tidak Efektif Untuk Mencegah Perkembangan Telur *Ascaris lumbricoides*.
- Triani, E., Ramdhani, D., Yuliyani, E. A., Suwitasari, P., & Handito, D. (2023). Perbandingan Pemeriksaan Feses Antara Metode Sedimentasi Dan Metode Formol-Ether Dalam Mendeteksi Helminthiasis Pada Anak-Anak Di Pesisir Pantai. *Prosiding SAINTEK LPPM Universitas Mataram*, 5(13).

TENTANG PENULIS



Acivrida Mega Charisma, S.Si., M.Si.

lahir di Mojokerto, pada 13 Juni 1991. Jenjang Pendidikan S1 Biologi ditempuh di Universitas Negeri Surabaya, Kota Surabaya Lulus Tahun 2012 sedangkan Pendidikan S2 Biologi, lulus tahun 2015 di Universitas Airlangga. Saat ini sebagai Dosen D3 Teknologi Laboratorium Medis di Universitas Anwar Medika Sidoarjo. Beberapa buku yang sudah diterbitkan yaitu ELISA, Mikologi, Botani Farmasi, Komunikasi, Promkes, dan Epidemiologi, Parasitologi, Sitohistoteknologi, Mikrobiologi, dan Bakteriologi 1.

BAB 3

PEMERIKSAAN FESES MAKROSKOPIS

Seri Rayani Bangun, Skp., M.Biomed.

A. Pendahuluan

Pemeriksaan feses atau tinja merupakan pemeriksaan laboraroiium untuk membantu klinis menegakkan diagnosa penyakit yang tidak memiliki gejala klinik khas. Parasit yang tidak memiliki gejala spesifik memerlukan pemeriksaar laboratorium. Pemeriksaan feses mengetahui ada tidaknya sel epitel, makrofag, leukosit, eritrosit, kristal-kristal, sisa makan, telur cacing atau larva. Pemeriksaan ini juga dimaksudkan untuk mendiagnosa tingkat infeksi cacing parasit usus pada orang yang diperiksa fesesnya (Reni Yunus at all 2022)

Parasitologi adalah cabang ilmu yang memfokuskan pada organisme hidup sebagai parasit di dalam atau pada inangnya. Parasit adalah makhluk hidup yang mencari keuntungan dari inangnya, sementara inang adalah organisme yang menjadi tempat hidup bagi parasit tersebut. Para peneliti dan ahli parasitologi melakukan studi mendalam terkait morfologi parasit, siklus hidupnya, aspek ekologi, dan dampak patologi yang ditimbulkan oleh parasit (Haryanto, 2023).

Infeksi parasit usus merupakan salah satu permasalahan kesehatan masyarakat untuk negara berkembang misalnya wilayah tropis serta subtropis, termasuk Indonesia. Keadaan ini menjadikan Indonesia sebagai tempat endemik berbagai penyakit. Salah satu penyakit yang prevalensinya masih besar merupakan penyakit kecacingan. Prevalensi infeksi kecacingan di Indonesia masih kategori besar pada penduduk miskin serta

hidup di area padat penduduk dengan sanitasi yang kurang baik, tidak memiliki jamban serta sarana air bersih tidak memadai (Rafika, 2020).

Pemeriksaan tinja parasitologis merupakan suatu cara untuk mendeteksi keberadaan parasit dalam tubuh serta mempunyai peran yang cukup penting sebagai salah satu cara menegakkan diagnosis infeksi oleh parasit. Kegunaan pemeriksaan tinja, mempunyai cakupan yang cukup luas untuk menunjang pemeriksaan berbagai infeksi oleh parasit; seperti infeksi protozoa usus, infeksi cacing usus yang meliputi nematoda usus, trematoda usus, dan cestoda usus. Beberapa penyakit infeksi oleh parasit pada organ- organ selain usus, seperti hati, paru serta beberapa sistem vaskuler dapat dideteksi keberadaannya dengan pemeriksaan tinja (Haryati et al., 2021).

B. Pemeriksaan Tinja atau Feses

Pemeriksaan tinja parasitologis untuk mendeteksi keberadaan parasit dalam tubuh serta mempunyai peran yang cukup penting menegakkan diagnosis infeksi oleh parasit. Pemeriksaan tinja, mempunyai cakupan yang cukup luas untuk menunjang pemeriksaan berbagai infeksi oleh parasit; seperti infeksi protozoa usus, infeksi cacing usus yang meliputi nematoda usus, trematoda usus, dan cestoda usus. Beberapa penyakit infeksi oleh parasit pada organ- organ selain usus, seperti hati, paru serta beberapa sistem vaskuler dapat dideteksi keberadaannya dengan pemeriksaan tinja (Haryati et al., 2021).

C. Pemeriksaan Makroskopis Feses

Pemeriksaan makroskopis, meliputi warna, darah, lendir, konsistensi, bau, pH, dan sisa makanan.

1. Pemeriksaan Bau

Seperti halnya pemeriksaan bau urine, uji bau pada tinja dilakukan dengan mengibaskan menggunakan telapak tangan terhadap sampel tinja pada wadahnya.

Interprestasi hasil:

- a. Normal: Merangsang tetapi tidak terlalu busuk
- b. Abnormal: Amis, busuk, tengik, dsb.

2. Pemeriksaan Warna dan Sisa Makanan

Warna dan sisa makanan diuji secara langsung dengan mengamati tinja secara visual.

Interprestasi hasil:

- a. Normal: Kuning Kecoklatan,
- b. Abnormal: Hitam, merah, hijau, dst

3. Pemeriksaan Lendir dan Konsistensi

Dua parameter ini dapat diperiksa secara bersamaan dalam satu langkah kerja, yaitu dengan menggunakan stik yang ditusukkan kedalam sampel.

Interprestasi hasil:

- a. Konsistensi:
 - Normal: Lunak (tidak keras/lembek)
 - Abnormal: Keras, lembek, dan encer
- b. Lendir (diperiksa setelah stik ditusukkan dalam sampel lalu di ambil lagi)
 - Positif (+): Terdapat lendir yang ikut saat stik diambil
 - Negatif (-): Tidak terdapat lendir

4. Pemeriksaan pH

pH tinja diperiksa menggunakan strip pH dengan bantuan pinset. Kertas pH menggunakan pinset lalu tempelkan/benamkan ke dalam sampel tinja selama 30 detik. Cocokkan perubahan warna yang terjadi pada kertas pH dengan standar warna strip pH.

5. Pemeriksaan Darah

Darah dapat diperiksa secara langsung maupun dengan bantuan reagen kimia untuk mendeteksi adanya darah samar dalam tinja.

Interprestasi hasil:

- Positif (+): Ada darah
- Negatif (-): Tidak terdapat darah (Haryati et al., 2021).

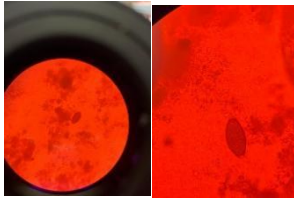
D. Pemeriksaan Mikroskopis Feses

Pemeriksaan mikroskopis feses terutama ditujukan untuk menemukan protozoa, larva, dan telur cacing. untuk menemukan protozoa, digunakan larutan eosin 1-2% atau lugol 1-2% sedangkan berikut adalah beberapa unsur lain yang bisa di teramati pada pemeriksaan mikroskopis: karbohidrat (menggunakan lugol, akan tampak butiran biru), lemak (menggunakan larutan sudan iii, akan tampak butiran jingga), protein (menggunakan reagen asam asetat 30% akan tampak butiran kuning muda) (Haryati et al., 2021)

E. Prosedur Pemeriksaan

Tabel 3.1 Prosedur Pemeriksaan Mikroskopis Feses

NO	Aspek Penilaian	Ya	Tidak
	Pra Analitik		
1.	Menyiapkan alat: a. Objek Glass b. Lidi c. Cover glass d. Pipet tetes		
2.	Bahan: a. Feses b. Eosin		
3.	Analitik a. Siapkan objek glass b. Ambil feses sebesar biji kacang hijau dengan menggunakan lidi dan letakkan di atas objek glass c. Tambahkan 1 tetes eosin, dan gunakan batang pengaduk untuk menghomogenkan d. Setelah homogen, tutup sampel dengan Deck Glass e. Siap untuk diamati dibawah mikroskop.		

NO	Aspek Penilaian	Ya	Tidak
	Pra Analitik		
4.	Post Analitik		
	Bereskan alat dan bahan yang digunakan		
	hasil yang didapatkan. 		
	Perilaku Profesional a. Melakukan dengan hati-hati b. Memperhatikan K3 c. Menerapkan prinsip PI d. Menulis interpretasi hasil pemeriksaan dengan jelas dan mudah dibaca		

Tabel 3.2 Prosedur Pemeriksaan Makroskopis Feses Darah Samar

NO	Aspek Penilaian	Ya	Tidak
	Pra Analitik		
1.	Menyiapkan alat: a. Batang pengaduk b. Fecal Occult Blood Rapid Test		
2.	Bahan: a. Feses b. Regen Darah Samar Feses		
3.	Analitik a. Siapkan alat dan bahan. b. Gunakan APD c. Berikan etiket pada rapid tes. d. Buka tutup tabung koleksi spesimen dan ambil secara acak		

NO	Aspek Penilaian	Ya	Tidak
	Pra Analitik		
	sampel feses dengan stik yang tersedia di dalam tabung koleksi lalu masukkan ke dalam tabung berisi buffer dan homogenkan. e. Homogenkan tunggu hingga 5 menit. f. Teteskan pada repid tes . g. Tunggu hasil selama 10 menit		
4.	Post Analitik		
	Bereskan alat dan bahan yang digunakan		
	hasil yang didapatkan. a. Positiv : Dua garis b. Negative : Satu garis		
	Perilaku Profesional a. Melakukan dengan hati-hati b. Memperhatikan K3 c. Menerapkan prinsip PI d. Menulis interpretasi hasil pemeriksaan dengan jelas dan mudah dibaca		
	Dokumentasi 		

F. Identifikasi Parasit dalam Feses

1. HOOKWORM DISEASES

a. *Necator americanus*

Bersama dengan *Ancylostoma duodenale*, cacing *Necator americanus* dikelompokkan sebagai cacing tambang. Meskipun memiliki beberapa perbedaan dalam distribusi geografis, tetapi keduanya mempunyai daur hidup yang serupa. Untuk melacak keberadaan cacing tambang di dalam usus manusia dapat dilakukan pemeriksaan tinja langsung (seperti pada pemeriksaan rutin tinja), dengan metoda konsentrasi atau biakan tinja menurut Harada Mori. Pada pemeriksaan tinja langsung maupun konsentrasi dapat ditemukan telur atau kadang² dapat ditemukan larva rhabditiformis walaupun jarang, misalnya pada tinja penderita konstipasi. Pada biakan tinja dicari larva baik rhabditiformis maupun filariformis, sehingga perlu dikenali morfologinya dengan baik. Larva, terutama rhabditiformis sukar dibedakan antara *N. americanus* dengan *A. duodenale*, tetapi dapat dibedakan dari larva *S. stercoralis*.

Telur:

- 1) Telur *Necator americanus* tidak dapat dibedakan dari telur *Ancylostoma duodenale*.
- 2) Berbentuk oval atau ellipsoid
- 3) Ukuran panjang 55 – 75 μ , lebar 35 – 42 μ
- 4) Berdinding hialin, transparan, tipis, satu lapis
- 5) Telur yang diambil dari feses yang masih baru mengandung 4 – 8 sel, tapi bila diambil dari feses yang sudah lama bisa didapatkan telur yang telah mengandung larva rhabditiformis.

Cacing Dewasa:

Makroskopis:

- 1) Warna putih abu-abu/kemerah-merahan
- 2) Cacing jantan ujung posteriornya melengkung ke ventral dan mempunyai bursa kopulatrik

- 3) silindris, lebih kecil dan lebih langsing dibanding *Ancylostoma duodenale*, bagian ujung anterior menghadap ke arah dorso anterior karena adanya *curvatura cervical*, sehingga berbentuk seperti huruf S.
- 4) Cacing betina lebih besar dari pada yang jantan
- 5) Jantan : Panjang 7 – 9 mm, diameter 0,4 mm
- 6) Bursa panjang dan lebar
- 7) Betina : Panjang 9 – 11 mm
- 8) Diameter 0,4 mm

Mikroskopis :

Kapsula bukalis kecil, terdapat :

- 1) 1 pasang lempeng pemotong ventral berbentuk $\frac{1}{2}$ lingkaran
- 2) 1 pasang lempeng pemotong dorsal berbentuk $\frac{1}{2}$ lingkaran
- 3) 1 pasang gigi subventral/lateral
- 4) 1 pasang gigi dorsa

Bursa kopulatrik :

Di ujung posterior cacing jantan dewasa, merupakan alat kopulasi diperkuat dengan 7 pasang 'rays':

- 1) Dorsal ray, bercelah dalam, masing2 ujung bercabang 2 (=bifida=bipartite).
- 2) Eksternodorsal
- 3) Posterolateral
- 4) Mediolateral
- 5) Eksternolateral
- 6) Lateroventral
- 7) Ventro ventral

Terdapat sepasang spikula kopulatorius seperti cambuk ; ujungnya bersatu dan melebar, membentuk kail

b. *Ancylostoma duodenale*

Seperi *N. americanus*, untuk melacak keberadaan cacing ini didalam usus manusia dapat dilakukan pemeriksaan tinja langsung, dengan metoda konsentrasi

atau biakan tinja menurut Harada Mori. Pada pemeriksaan tinja langsung maupun konsentrasi dapat ditemukan telur atau kadang² dapat ditemukan larva rhabditiformis walaupun jarang, misalnya pada tinja penderita konstipasi. Pada biakan tinja dicari larva baik rhabditiformis maupun filariformis.

Larva Rhabditiformis:

- 1) panjang $\pm 0,25 - 0,5$ mm, diameter 17 μm ;
- 2) mulut terbuka, kapsula bukalis panjang, sempit;
- 3) esofagus berbentuk seperti botol, panjangnya $\pm \frac{1}{3}$ panjang tubuh;
- 4) primordium genital kecil, tidak jelas/susah dilihat.

Larva Filariformis:

- 1) tubuhnya langsing, panjang 0,5 – 0,6 mm;
- 2) mulut menutup, panjang esofagus pendek, $\pm \frac{1}{4}$ panjang tubuh

Cacing dewasa:

Makroskopis :

- 1) Warna putih abu-abu/kemerah-merahan
- 2) Gemuk, bagian anterior agak meruncing, melengkung ke dorsal, membentuk seperti huruf C
- 3) Cacing jantan ujung posteriornya melengkung ke ventral dan mempunyai bursa kopulatrik
- 4) Cacing betina lebih besar dari pada yang jantan
- 5) Jantan : Panjang 8 – 11 mm; diameter 0,4 – 0,5 mm
- 6) Betina : Panjang 10 – 13 mm; diameter 0,6 mm

Mikroskopis:

- 1) Kapsula bukalis lebar, bentuk oval, diameter transversal lebih besar.
- 2) Disebelah ventral ('atas' pada mikroskop anda), terdapat gigi pemotong terdiri dari 2 pasang gigi yang menyatu, gigi luar lebih besar daripada gigi dalam, gigi dalam mempunyai processus medianus yang tak jelas.

- 3) Di sebelah dorsal ('bawah' pada mikroskop anda) terdapat lempeng gigi dengan celah median.
- 4) Bursa kopulatrik: 'dorsal ray' mempunyai celah dangkal, masing2 ujung bercabang 3 (= trifida = tripartite). Terdapat sepasang spikula kopulatorius seperti cambuk yang ujungnya tetap terpisah atau sejajar.

c. *Ancylostoma caninum*

Meskipun ada laporan cacing ini pernah menginfeksi manusia, namun umumnya merupakan parasit pada anjing, terutama di belahan bumi utara. Stadium klarva dapat menimbulkan 'creeping eruption' pada manusia. Dalam praktikum ini ditunjukkan kavum bukalisnya (tidak usah digambar) sebagai pembanding dengan kavum bukalis cacing tambang yang lain.

Cacing Dewasa:

- 1) Kavum bukalis lebar
- 2) Terdapat 3 pasang gigi ventral
- 3) Esofagus sebagai lanjutan kavum bukalis

2. STRONGYLOIDIASIS

Untuk menegakkan diagnosa strongiloidiasis perlu dilakukan pemeriksaan tinja untuk melacak keberadaan larva (terutama rhabditiformis), baik dengan pemeriksaan tinja secara langsung maupun dengan biakan Harada Mori. Telur *S. stercoralis* sukar/jarang ditemukan karena biasanya sudah menetas menjadi larva rhabditiformis sewaktu masih didalam rektum (masih didalam mukosa usus).

Larva Rhabditiformis:

- a. Panjang 200 – 400 μ , diameter 16 – 18 μ ;
- b. Kavum bukalis pendek, dimeternya kecil, hanya tampak sebagai suatu garis tipis;
- c. Panjang esofagus dibanding panjang badan larva $\pm 1 : 3$;

- d. Bagian posterior esofagus terdapat penyempitan oleh karena cincin saraf dan di sebelah anal (posterior) penyempitan esofagus berbentuk sebagai bulbus → bulbus esofagus;
- e. Primordium genital relatif jelas, terletak $\pm$ di pertengahan usus.

Larva Filariformis:

- a. Panjang 400 – 700 μ , diameter 12 – 20 μ ;
- b. Berbentuk langsing panjang;
- c. Sangat menyerupai larva filariformis cacing tambang, hanya disini esofagus relatif lebih panjang, $\pm \frac{1}{2}$ panjang badan;
- d. Tidak ada bulbus esofagus;
- e. Ujung ekor bertakik.

Cacing Dewasa yang hidup bebas:

- a. Jantan : mempunyai ukuran panjang 0,7 – 1 mm; diameter 40 – 50 μ , berbentuk rhabditoid, fusiform lebar; ekor runcing & melengkung ke ventral, mempunyai sepasang spikula & gubernakulum.
- b. Betina : berukuran panjang $\pm$ 1- 1,7 mm, lebar 50 – 70 μ ; badan gemuk, rhabditoid, terisi penuh dengan telur yang memenuhi sebagian besar tubuh.

3. ASCARIASIS

Ascaris lumbricoides ber-sama² dengan cacing tambang, *Trichuris trichiura* dan *Strongyloides stercoralis* secara epidemiologis dikelompokkan sebagai “cacing² yang ditularkan melalui perantara tanah” (“soil transmitted helminthiasis”). Untuk menjadi stadium infeksiif cacing² ini umumnya memerlukan tumbuh di tanah selama beberapa waktu (kecuali *Strongyloides stercoralis* yang dapat terjadi siklus langsung, yaitu larva filariformis terbentuk masih dalam rektum, dan pada keadaan tertentu cacing tambang, misalnya pada penderita yang mengalami konstipasi, larva filariformis dapat terbentuk sewaktu masih didalam rektum).

Telur:

a. Telur Fertil dengan Selubung Protein albuminoid:

- 1) Berbentuk bulat telur, lebar, panjang $\pm 60 - 75 \mu$, lebar $\pm 40 - 50 \mu$;
- 2) Dinding paling luar terdapat selubung protein/albuminoid dengan permukaan luar kasar ber-benjol2/bergelombang, berwarna oleh pigmen empedu sehingga berwarna coklat kekuningan sampai coklat gelap; disebelah dalamnya terdapat dinding telur yang tebal, transparan, tidak berwarna (=selubung hialin),
- 3) di sebelah lebih dalam lagi terdapat membrana vitelina tipis yang pada sediaan sukar dilihat.
- 4) didalam telur terdapat sel germinativum berbentuk bulat, dan karena ruang yang terbentuk oleh dinding telur berbentuk lonjong sedang isinya, sel germinativum berbentuk bulat maka terbentuk rongga berbentuk bulan sabit (celah semilunaris) di kedua ujungnya.

b. Telur Fertil tanpa Selubung Protein:

seperti telur fertil dengan selubung protein, hanya kehilangan/ tanpa selubung protein, sehingga permukaan luar telur terlihat halus.

c. Telur Infertil:

- 1) Berbentuk ellipsoid panjang, lebih besar dan lebih memanjang dibanding telur fertil, ukuran lebih bervariasi, panjang $\pm 60 - 90 \mu$, lebar $\pm 40 - 60 \mu$.
- 2) Dinding telur tipis, ber-kelok2, tipis, permukaan ber-benjol2 (bandingkan dengan dinding telur fertil), bisa tertutup atau tidak tertutup selubung protein
- 3) Berisi massa yang disorganisasi berupa granula yang sangat refraktil dengan ber-macam2 ukuran.

Cacing Dewasa:

- a. Cacing ini merupakan parasit Nematoda terbesar pada manusia.
- b. Berbentuk silindris, berwarna putih atau kuning kemerahan, ujung anterior tumpul sedang ujung posterior lebih meruncing.
- c. Pada tiap2 sisi terdapat garis2 longitudinal ('lateral lines') berwarna putih sepanjang badan cacing;
- d. Tubuhnya ditutupi kutikula ber-garis2 melintang;
- e. Pada ujung anterior terdapat 3 buah labia/bibir, satu di mediodorsal, sepasang di ventrolateral, dan di tengah, di antara ketiga bibir terdapat kavum bukalis kecil berbentuk segitiga.
- f. Cacing jantan berukuran panjang $\pm 10 - 31$ cm; diameter $\pm 2 - 4$ mm, ujung posterior melengkung ke ventral dengan sepasang spikula kopulatorius silindris dan bentuknya sederhana yang terletak dalam kantong;
- g. Cacing betina: lebih besar dari cacing jantan, berukuran panjang 20 – 35 cm, Ø 3 – 6 mm, vulva terletak di ventral tengah, $\pm$ di sepertiga anterior tubuh.

4. ENTEROBIASIS

Telur cacing ini dikeluarkan dari cacing betina di sekitar anus terutama malam hari sehingga telur cacing ini hanya ditemukan pada pemeriksaan dengan 'anal swab' atau dengan pemeriksaan dengan menggunakan 'cellophan tape'. Cacing dewasa betina kadang dapat ditemukan juga di perianal.

Telur:

- a. berbentuk ellipsoid, salah satu sisi mendatar, sisi lain melengkung;
- b. panjang 50 – 60 μ , lebar 20 – 30 μ ;
- c. berdinding hialin, transparan;
- d. biasanya ditemukan sudah mengandung embrio dalam stadium 'tadpole' (kecebong).

Cacing Dewasa:

- a. Berbentuk silindris
- b. Pada ujung anterior terdapat 3 labia dan sepasang alae berupa pelebaran kutikula ke arah dorsal & ventral, disebut 'cephalic alae'.
- c. Bulbus esofagus ganda.
- d. Jantan : panjang: 2 – 5 mm; diameter: 0,1 – 0,2 mm; ujung posterior sangat me lengkung ke ventral dengan spikula kopulatorius yang jelas; tidak ada gubernakulum; mempunyai bursa yang kecil yang tampak sebagai alae kaudal.
- e. Betina: panjang 8 – 13 mm, diameter: 0,35 – 0,5 mm; bagian ekor meruncing; vulva terletak kira² ½ bagian anterior

5. TRIKURIASIS

Infeksi cacing ini sering terjadi di daerah panas, sering terlihat bersama-sama dengan Ascaris.

Telur:

- a. Manusia mendapatkan infeksi dengan menelan telur yang mengkontaminasi tanah
- b. Telur-telur menetas diusus kecil dan akhirnya melekat pada mukosa usus besar.
- c. Cacing dewasa menjadi matur dalam waktu sekitar 3 bulan dan mulai memproduksi telurnya.
- d. Telur berwarna tengguli, berbentuk tong dengan tombol yang transparan
- e. Ukuran panjang 50x54 m dan lebar 22x23 m.
- f. Telur dikeluarkan pada stadium belum membelah dan menjadi matang setelah 14 hari kemudian.
- g. Diagnosis ditegakkan dengan menemukan telurnya yang khas dalam tinja

Dewasa:

- a. Ukuran jauh lebih besar dari cacing kremi.
- b. Ukuran: panjang 35-50mm (betna) dan 30-45mm (jantan)
- c. Cacing jantan bagian kaudalnya melingkar 360 derajat

- d. Cacing dewasa jarang ditemukan dalam tinja karena melekat pada dinding usus.
- e. Ujung posterior yang besar dilukiskan sebagai gagang cambuk sedang bagian ujung anterior yang tipis sebagai cambuknya, sehingga dinamakan 'Cacing Cambuk (Rafika, 2020)

DAFTAR PUSTAKA

- Haryanto, et al. (2023). Parasitologi. In Andrew's Disease of the Skin Clinical Dermatology.
- Haryati, S., Handayani, S. S., & Dirgahayu, P. (2021). Pemeriksaan Tinja Parasitologis. Parasitologi.Fk.Uns.Ac.Id, 0271. <https://parasitologi.fk.uns.ac.id/wp-content/uploads/2022/02/BPP-4.2-Pemeriksaan-Tinja-Parasitologis.pdf>
- Rafika. (2020). Buku Ajar Parasitologi I. In Rafika (Ed.), Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952. Pusat Pengembangan Pendidikan dan Kurikulum Poltekkes Kemenkes Makassar.

TENTANG PENULIS



Seri Rayani Bangun, SKp., M.Biomed.

lahir di Panribuan, 05 Maret 1976. Menyelesaikan pendidikan tinggi; Pendidikan Sarjana (S-1) pada Program Studi Ilmu Keperawatan di Universitas Diponegoro, Semarang (2002); Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran di Universitas Sumatera Utara, Medan (2016).

Saat ini sedang tercatat sebagai dosen di STIKes Santa Elisabeth Medan. Penulis menerbitkan beberapa artikel, jurnal nasional-internasional, maupun dalam buku referensi dan *book chapter*. Narahubung melalui email: serirayani2009@gmail.com atau HP/WA 813-78915602.

BAB 4

PEMERIKSAAN JAMUR

Evi Hudriyah Hukom, S.Kep., Ns., M.Kes.

A. Pendahuluan

Jamur yang disebut juga fungi merupakan suatu tumbuhan yang terbagi menjadi dua jenis yakni jamur makroskopis dan jamur mikroskopis. Jamur dapat bersifat uniseluler dapat juga bersifat multiseluler, memiliki karakteristik yakni tidak dapat bergerak atau disebut juga nonmotile. Walaupun merupakan jenis tumbuhan namun jamur tidak mengandung klorofil (Wasilah et al., 2023).

Jamur dipelajari dalam bidang ilmu mikologi yang merupakan Bahasa Yunani yang artinya *mykes*: jamur; *logos*: ilmu. Jamur mikroskopis atau disebut juga mikrofungi artinya jamur tersebut tidak dapat dilihat dengan mata saja, tetapi memerlukan mikroskopis. Sedangkan jamur makroskopis atau makrofungi adalah jamur yang berukuran lebih besar dan terdiri dari jamur yang dapat dimakan serta jamur beracun (Suryani et al., 2020). Terdapat beberapa jenis makrofungi yang dapat digunakan untuk obat makanan dan lainnya (Suryani & Cahyanto, 2022)

Jamur bersifat *khemoorganoheterotrof* yang artinya mendapatkan energi dari hasil oksidasi senyawa organik (Suryani & Taupiqurrahman, 2021), sehingga jamur ini hidup pada zat organik seperti humus atau pun feses hewan, sehingga jamur dapat hidup lebih lama tanpa perlu mencari inang manusia.

B. Morfologi Jamur

Jamur bentuknya seperti benang dan merupakan mikroba sel eukarit dengan sel yang tidak mengandung klorofil dan jumlah selnya beragam, ada sel tunggal, multiseluler atau uniseluler. Jamur memiliki dinding yang terbuat dari khitin (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).

Jamur tersusun oleh (Padoli, 2016):

1. Khamir/ragi

Sel-sel jamur ini bentuknya lonjong bulat dan ada pula yang memanjang. Jamur berkembang biak dengan membentuk tunas dan bergerombolan.

2. Kapang

Disebut juga hifa, yakni sel memanjang dan bercabang-cabang. Hifa ini dapat membentuk seperti anyaman yang biasa disebut miselium.

C. Klasifikasi Jamur

Terdapat beberapa klasifikasi jamur yang berperan dalam dunia kesehatan, dalam hal ini terdiri dari 4 filum Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota dan Mitosporic Jamur (Padoli, 2016). Berikut ini beberapa klasifikasi tersebut:

1. Ascomycota

Jamur jenis ini memiliki arti nama yaitu mirip kantung yang diartikan dari kata askus. Hifa pada askus ini akan mengalami perubahan dari sebuah inti menjadi bentuk tubuh suatu buah. Jamur ini dapat membentuk mikoriza dan ada pula yang membentuk Lichen. Beberapa jenis dari ascomycota yakni, jenis yang memiliki buah yaitu *Neurospora crassa*, jenis uniselular yaitu *Saccharomyces cereviceae* dan jenis multiselular yaitu *Penicillium* (Khosí'in, 2021).

Spesies ini memiliki bentuk tubuh buah yang bermacam-macam, ada yang bundar dan ada pula yang mirip mangkuk. Dalam berkembang biak, Ascomycota memiliki cara berkembang biak yang berbeda-beda tergantung jumlah selnya, misal pada multiselular,

perkembangbiakannya yang terjadi secara aseksual dengan membentuk konidia diujung konidiofor yakni suatu hifa berbentuk tangkai, sedangkan secara seksual mengalami perkawinan antara hifa positif dan hifa negatif, Dimana hifa ini disebut juga hifa haploid. Pada uniseluler terjadi perkembangbiakan secara seksual yaitu secara konjugasi dan menghasilkan sell diploid yang berbentuk askus (Khosi'in, 2021).



Gambar 4.1 Jamur Ascomycota
(Sumber : Cavalier-Smith, 1998)

Jamur ini memiliki banyak jenis dan ada beberapa yang dapat dikonsumsi namun ada pula yang dapat menyebabkan beberapa penyakit yaitu *Candida albicans*: menyebabkan kandidiasis, *Claviceps purpurea* dapat menyebabkan gangrene jika termakan, *Aspergillus flavus* menghasilkan spora yang mengeluarkan toksin bagi manusia, *Aspergillus nidulans* menyebabkan aspergilliosis dan *Piedraia hortai* menginfeksi rambut manusia (Lihyati & Sopialena, 2022).

2. Basidiomycota

Jamur ini jenis makroskopis dan memiliki basidium yang didalamnya terdapat 4 macam basidiospora. Dalam reproduksi, spesies ini memperbanyak diri dengan beberapa cara yaitu cara vegetatif. Dimana membuat fragmentasi hifa,

dan cara generative dengan membentuk basidiospore pada basidium (Lihyati & Sopialena, 2022).

Perkembangbiakan jamur ini dilakukan dengan cara perkawinan dan juga dengan tanpa kawin. Perkembangbiakan secara seksual terjadi jika hifa mengalami perkawinan dengan jenis yang lain. Perkembangan tanpa kawin atau disebut juga aseksual dapat menghasilkan konidia (Khosi'in, 2021).

Jamur ini hidup di darat, berukuran besar sehingga masuk dalam klasifikasi makroskopis fungi yang artinya tidak membutuhkan mikroskop untuk dapat melihat jamur ini. Selain itu, jamur ini memiliki banyak sel dan hidup sebagai parasit pada makhluk hidup lainnya. Basidiomycota ini memiliki hifa bersepta, inti haploid, buahnya berbentuk seperti payung yang terdiri dari batang dan tudung, Dimana basidiumnya berada dibawah tudung (Lihyati & Sopialena, 2022).

Jamur ini terdiri dari bermacam-macam jenis dan serta manfaat dan dampak terhadap manusia. Ada beberapa jamur yang dapat dikonsumsi oleh manusia dan adapula yang berbahaya. Beberapa jenis jamur yang berbahaya salah satunya yaitu *Amanita phalloides* yang sangat beracun dan mematikan (Lihyati & Sopialena, 2022).

3. *Zygomycota*

Zygomycota merupakan jamur yang hidup di darat, biasa ditemukan pada roti yang telah basi begitupun makanan basi lainnya. Selain hidup di darat, jamur ini bisa hidup pada tanaman dan bangkai Binatang (Lihyati & Sopialena, 2022).

Morfologi jamur ini yakni memiliki hifa yang tidak bersekat. Prosedur perkembangbiakannya yaitu dengan cara membentuk zigosporangium yang merupakan alat reproduksi secara kawin pada jamur ini. Tetapi reproduksi tanpa kawin yaitu dengan fragmentasi. Salah satu contoh

jamur ini yaitu *Rhizopus stolonifer* yang dipakai dalam membuat tempe (Khosi'in, 2021).

4. Mitosporic Jamur/ Deuteromycota

Jamur ini merupakan jamur imperfecti yang tidak melakukan perkembangbiakan seksual. Jamur-jamur yang dapat dikatakan belum jelas jenisnya, akan di masukan dalam spesies deuteromycota ini. Namun apabila dikemudian hari jamur yang tidak diketahui jenisnya itu di teliti dan bisa dimasukan dalam spesies Ascomycota atau spesies Basidiomycota. Misalnya jenis fungi untuk pembuatan oncom yaitu *Monilia sitophila*, setelah diketahui metode perkembangbiakan seksualnya maka dapat di masukan dalam spesies Ascomycota (Lihyati & Sopialena, 2022).

Spesies ini terdiri dari beberapa jenis, dan diantaranya ada yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, misalnya *Histoplasma capsulatum* penyebab penyakit kosidiomikosis, *Epedermophyton floccosum* yang menyebabkan penyakit kaki atlet dan ada pula yang menyebabkan penyakit kulit kurap yaitu masuk dalam jenis *microsporum*, *epidermyphyton* dan *trigophyton* (Khosi'in, 2021).

D. Penyakit akibat Jamur

Berikut ini terdapat beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh jamur:

1. Kandidiasis

Kandidiasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida* salah satunya yaitu *Candida albicans* yang mejadi penyebab terbesar dibandingkan jenis lainnya. Penyakit ini juga sering disebut sariawan, dimana infeksi ini biasanya mengganggu system gastrointestinal. Selain itu, penyakit ini juga dapat berada di area vaginal yang disebut kandidiasis vulvovaginal (Kabir & Ahmad, 2013).

2. Aspergilosis

Aspergilosis adalah penyakit yang disebabkan oleh jamur aspergilus, yang menyerang organ paru dimana masuk ke tubuh manusia melalui saluran pernapasan. Jamur aspergilus terdiri dari ratusan spesies, namun baru sekitar 20 spesies yang dilaporkan. *Aspergilus fumigatus* adalah jamur aspergilus yang paling banyak terisolasi (Garbino & Lew, 2004).

3. Kriptokokosis

Penyakit ini disebabkan oleh *Cryptococcus neoformans* dan *Cryptococcus gattii* serta ada beberapa jenis lainnya namun jarang ditemukan, jamur ini dapat masuk melalui pernapasan yang kemudian akan menyerang otak. Kulit, paru-paru, saluran cerna bahkan kelenjar tiroid ataupun kelenjar adrenal. Penyakit ini biasanya menyerang manusia dengan system imun yang menurun (Adawiyah & Wahyuningsih, 2012).

4. Histoplasmosis

Penyakit ini disebabkan oleh *Histoplasma capsulatum* yang merupakan jamur dimorfik yang dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui udara yang terkontaminasi kotoran burung. Penyakit ini menyerang saluran pernapasan yaitu paru-paru. . (Vidyanath et al., 2013).

5. Blastomikosis

Blastomikosis adalah penyakit pada saluran pernapasan yang disebabkan oleh jamur *Blastomyces dermatitis*. Namun, penyakit ini juga dapat menyerang organ-organ tubuh lainnya, seperti kulit, sendi bahkan tulang (Kassim et al., 2018)

E. Pemeriksaan Jamur

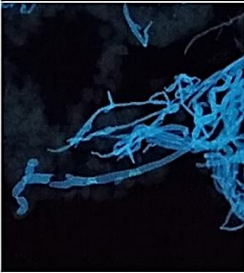
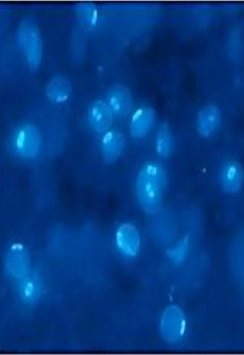
Pemeriksaan jamur biasanya disebut pemeriksaan mikologi yang dilakukan untuk memeriksa apakah penyakit tersebut disebabkan oleh suatu jamur. Pemeriksaan jamur ini juga dibutuhkan untuk memastikan bahwa pengobatan

seseorang telah berhasil dan tidak ada lagi sisa jamur pada kulit (Katsambas et al., 2015).

1. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan ini adalah salah satu dari sekian metode pemeriksaan jamur dan terhitung merupakan cara yang lumayan cepat. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan sampel jaringan dari pasien yang akan diperiksa. Pemeriksaan ini dapat dilakukan apabila pasien dicurigai mengalami infeksi akibat jamur. Sampel yang didapat dari pasien, akan diamati dibawah mikroskop untuk melihat struktur, bentuk dan jenis jamur. Interpretasi hasil pemeriksaan yaitu dengan melihat bentuk, struktur morfologi dari jamur yang ditemukan. Pemeriksaan ini dapat dengan mudah mendeteksi jamur, khususnya memiliki morfologi yang khas (Howell, 2023).

Pada pemeriksaan mikroskopis, yang paling sering digunakan yaitu mikroskopis cahaya dan mikroskopis fluoresen. Selain itu, pada pemeriksaan ini menggunakan berbagai macam pewarnaan dan Teknik. Beberapa jenis pewarnaan yang sering digunakan yakni KOH, zat pewarna fluoresen, India ink, dan masih banyak lagi, yang mana, setiap pewarna tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing (Knoll et al., 2023).

Possible pathogens		Similar structures		Staining
	Mould species such as <i>Aspergillus</i> , <i>Scedosporium</i> , <i>Fusarium</i> or others from BAL		Cotton fibres	Calcofluor white X 400
	Representatives of the genus <i>Mucorales</i> from BAL		Tissue fibres	Calcofluor white X 400
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> from BAL		Other yeasts	Calcofluor white X400
	Various <i>Candida</i> species from blood culture		Spermatozoa	Gram stain X 400

Gambar 4.2 Pemeriksaan Mikroskopis
(Sumber : Knoll *et al.*, 2023)

2. Kultur Jamur

Prosedur ini biasanya dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur pada media agar pada kondisi yang mendukung. Kultur jamur atau disebut juga kultur slide bertujuan agar dapat mendeteksi suatu jenis jamur disertai proses pertumbuhannya. Metode ini juga dapat dilakukan apa bila memerlukan studi lebih lanjut mengenai suatu jamur (Abboudi, 2021).

Adapun tahapan kultur jamur secara singkat yaitu:

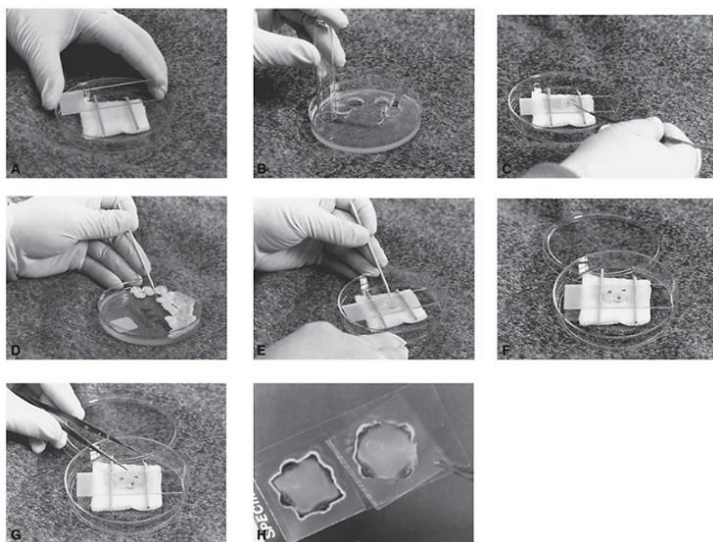
- a. Melakukan pengambilan sampel pada bagian tubuh pasien yang dicurigai terkena jamur, pengambilan dilakukan dengan berbagai macam cara seperti swab ataupun biopsi, pengambilan ini dilakukan secara steril (Procop et al., 2017)
- b. Cairkan media agar kemudian tuangkan dalam cawan petri dan biarkan membeku.
- c. Menanamkan sampel pada media kultur agar yang telah dibuat, kemudian inkubasi pada suhu optimal untuk menumbuhkan jamur. Hal ini dapat berlangsung selama beberapa hari bahkan minggu.
- d. Apabila jamur dilihat telah tumbuh, lanjutkan dengan pengamatan mikroskopis.



Gambar 4.3 Kultur Jamur pada Media Agar
(Sumber : Sophia & Suraini, 2023)

Selain prosedur tersebut, dapat pula dilakukan prosedur kultur microslide berikut (Procop et al., 2017):

- a. Letakkan selembar kasa atau kertas saring dalam cawan petri, dan letakkan 2 stik panjang diatasnya sebagai penopang slide glass. Letakkan pula objek glass diatas stik tersebut (A).
- b. Potong media agar dan letakan diatas objek glass, media glass dapat diletakkan sebanyak 1 atau 2 blok agar (B, C).
- c. Ambil sampel jamur yang akan dikulturkan menggunakan kawat ataupun jarum yang steril, dan inokulasikan pada sisi blok agar (D, E).
- d. Panaskan coverslip secara cepat dan letakan tepat diatas blok agar, kemudian basahi kertas saring atau kasa dengan sedikit air, kemudian inkubasi pada suhu ruang 3-5 hari.
- e. Apabila jamur terlihat telah tumbuh, coverslip dapat diangkat menggunakan pingset secara hati-hati agar tidak merusak miselium yang melekat pada bagian bawah coverslip.
- f. Pada sebuah objek glass, teteskan lacrophenol aniline blue, kemudian coverslip diletakan tepat diatas tetesan tersebut (H).



Gambar 4.4 Prosedur Mikrokultur
(Sumber : Procop *et al.*, 2017)

3. Polymerase Chain Reaction

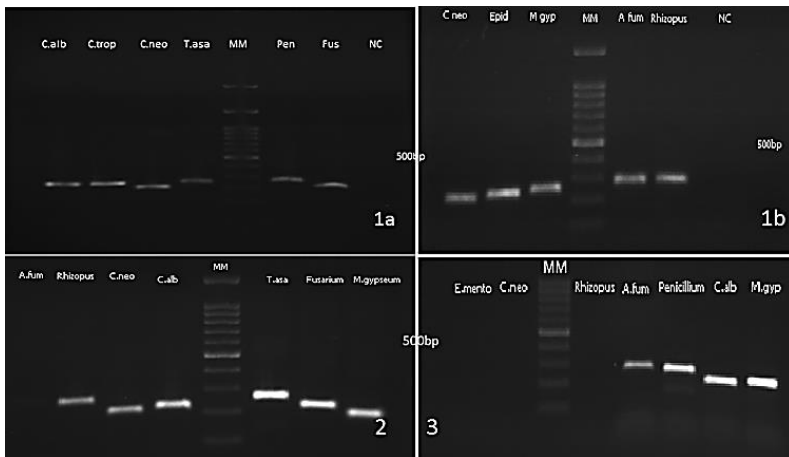
Polymerase Chain Reaction atau PCR merupakan metode yang digunakan untuk mencari dan melihat suatu materi genetik atau DNA/RNA dari agen penyebab infeksi, salah satunya yaitu jamur. Namun jamur memiliki dinding sel yang sedikit sulit mengalami lisis sehingga terkadang hasil PCR dapat saja palsu. Walaupun begitu, tes PCR ini memiliki kelebihan dalam pemeriksaan jamur, yaitu dapat mendeteksi secara detail materi genetik jamur (Khot & Fredricks, 2009).

Prosedur Pemeriksaan jamur dengan PCR (Ream, 1998) yaitu:

Ambil sampel jamur yang akan diperiksa, dapat diambil dari pasien ataupun dari kultur jamur yang telah ada.

- a. Lakukan ekstraksi DNA Dimana pada prosedur ini terdiri dari beberapa banyak metode ekstraksi antara lain isolasi DNA genomic Jamur, Kit mini Qiagen DNA dan Metode fenol kloroform iso-amyl alcohol.

- b. Persiapan reaksi PCR mulai dari master mix, DNA sampel, primer jamur yang diinginkan serta enzim polymerase
- c. Lakukan proses PCR yakni denaturasi, annealing primer dan ekstensi/elongasi.
- d. Lakukan prosedur secara berulang hingga mendapatkan salinan gen dalam jumlah yang dibutuhkan



Gambar 4.5 Elektroferisis gel yang dihasilkan dari beberapa metode ekstraksi, Kit Isolasi DNA Genomic Jamur (1a & 1b), Kit mini Qiagen DNA (2), metode fenol klorofom iso-amyl alcohol (3) (Sumber : Kumar & Mugunthan, 2018)

4. Tes Serologi

Tes serologi ini dilakukan dengan mendeteksi antibody atau antigen suatu jamur yang terdapat dalam serum. Tes ini salah satunya adalah dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* (Fang & Ramasamy, 2015)

Tes serologi ini memiliki beberapa keunggulan yakni dapat digunakan apabila sampel sulit diperoleh dan apabila hasil kultur tidak menunjukkan tanda positif, tes serologi ini bisa mendapatkan hasil positif. Keunggulan berikutnya, tes ini lebih aman dilakukan dibandingkan kultur jamur, utamanya pada jamur yang berpotensi berbahaya. Tes ini juga memiliki kekurangan yaitu, memerlukan waktu yang

sedikit lebih lama, dan harus dilakukan oleh ahlinya (Tobón et al., 2005).

Selain empat metode pemeriksaan yang telah dijelaskan diatas, adapula beberapa metode yang dapat dilakukan dalam pemeriksaan jamur, yaitu (Sharma et al., 2021):

1. Mikroskopis
 - a. Pewarnaan
 - b. Fluorescent antibody staining
 - c. Histopatologi
2. Kultur jamur
3. Metode non-kultur
 - a. Serologi
 - b. Deteksi antibody dan antigen
 - c. Immunohistochemistry
4. Metode Molekular
 - a. PCR
 - b. Microarrays

DAFTAR PUSTAKA

- Abboudi, M. (2021). Bacterial Growth on Recycled Agar Medium Media Used in Different Cultures. 27(2), 133.
- Adawiyah, R., & Wahyuningsih, R. (2012). Kriptokokosis: Epidemiologi, Manifestasi Klinis dan Diagnosis. *Majalah Kedokteran FK UKI*, XXVIII(3).
- Fang, Y., & Ramasamy, R. (2015). Current and Prospective Methods for Plant Disease Detection. *Biosensors*, 5(3), 537–561. <https://doi.org/10.3390/bios5030537>
- Garbino, J., & Lew, D. (2004). Aspergillosis. <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-Aspergillosis.pdf>
- Howell, S. A. (2023). Dermatopathology and the Diagnosis of Fungal Infections. In *British Journal of Biomedical Science* (Vol. 80). Institute of Biomedical Science (IBMS). <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11314>
- Kabir, M. A., & Ahmad, Z. (2013). Candida Infections and Their Prevention. *ISRN Preventive Medicine*, 2013, 1–13. <https://doi.org/10.5402/2013/763628>
- Kassim, S. S., Penner, C., Hyman, G., Kerr, P., Trepman, E., & Embil, J. M. (2018). Oral fistula caused by *Blastomyces dermatitidis*. *Official Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada*, 3(1), 47–51. <https://doi.org/10.3138/jammi.3.1.08>
- Katsambas, A. D., Lotti, T. M., Dessinioti, C., & D'Erme, A. M. (2015). *European Handbook of Dermatological Treatments* (3rd ed.).
- Khosi'in. (2021). *Keanekaragaman Makhluk Hidup (Kingdom Fungi)* (Sugiarti, Ed.). CV. Elsi Pro.

- Khot, P. D., & Fredricks, D. N. (2009). PCR-based diagnosis of human fungal infections. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 7(10), 1201–1221. <https://doi.org/10.1586/eri.09.104>
- Knoll, M. A., Steixner, S., & Lass-Flörl, C. (2023). How to Use Direct Microscopy for Diagnosing Fungal Infections. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 29, Issue 8, pp. 1031–1038). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.05.012>
- Kumar, M., & Mugunthan, M. (2018). Evaluation of three DNA extraction methods from fungal cultures. *Medical Journal Armed Forces India*, 74(4), 333–336. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2017.07.009>
- Lihyati, W., & Sopialena. (2022). *Pengelolaan Terpadu Patogen Jamur Tumbuhan*.
- Padoli. (2016). *Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan*.
- Procop, G. W., Church, D. L., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*.
- Ream, W. (1998). *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*. Academic Press.
- Sharma, G., Saxena, S., Singh, P., & Singh, S. K. (2021). Laboratory Diagnosis of Fungal Infection-A Review. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*, 12(2), 69–72. <https://www.ompj.org/archives>
- Sophia, A., & Suraini. (2023). Efektivitas Aquabidest dan Limbah Air Ac Sebagai Pelarut Media Sda Untuk Pertumbuhan Candida Albicans. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Suryani, Y., & Cahyanto, T. (2022). *Pengantar Jamur Makroskopis*. Gunung Djati Publishing.
- Suryani, Y., & Taupiqurrahman, O. (2021). *Mikrobiologi Dasar*. LP2M UIN SGD.

- Suryani, Y., Taupiqurrahman, O., & Kulsum, Y. (2020). Mikologi. PT Freeline Cipta Granesia.
- Tobón, A. M., Agudelo, C. A., Rosero, D. S., Ochoa, J. E., De Bedout, C., Zuluaga, A., Arango, M., Cano, L. E., Sampetro, J., & Restrepo, A. (2005). Disseminated histoplasmosis: A comparative study between patients with acquired immunodeficiency syndrome and non-human immunodeficiency virus-infected individuals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(3), 576–582. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2005.73.576>
- Vidyanath, S., Shameena, P., Sudha, S., & Nair, R. (2013). Disseminated histoplasmosis with oral and cutaneous manifestations. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 17(1), 139. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.110722>
- Wasilah, S. Z., Nasution, J., Rahmiati, Fadillah, M. A., Bangu, Supriyanto, Salim, M., Darsono, K., Anwar, A. Y., Asikin, Z. F., Nurhayati, E., & Malik, N. (2023). Mikologi.

TENTANG PENULIS



Evi Hudriyah Hukom, S.Kep., Ns., M.Kes.

Lahir dan besar di Kota Sorong, tanggal 18 April 1990. Merupakan lulusan sarjana keperawatan pada tahun 2012 dan menyelesaikan studi profesi ners ditahun 2013 di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nani Hasanuddin Makassar. Kemudian penulis melanjutkan studi Magister pada program studi Ilmu Biomedik dengan konsentrasi Fisiologi pada Universitas Hasanuddin Makassar kurang lebih selama 2 tahun dan selesai di tahun 2017. Penulis mulai bekerja sebagai dosen sejak tahun 2018 dan saat ini penulis sedang bekerja sebagai dosen sekaligus pengelola pada institusi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Papua sejak tahun 2019. Penulis merupakan dosen untuk beberapa mata kuliah salah satunya adalah mata kuliah Penyakit Tropis pada program studi Teknologi Laboratorium Medik (TLM).

BAB 5

PEMERIKSAAN WIDAL

Kadeq Novita Prajawanti, S.ST., M.Imun.

A. Pendahuluan

Spesies *Salmonella* merupakan bakteri basil Gram-negatif anggota *Enterobacteriaceae* dan berhubungan dengan infeksi pada manusia. *Salmonella* terdiri dari dua spesies utama, yaitu *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. *S. enterica* diklasifikasikan menjadi enam serotipe yang dibedakan berdasarkan antigenisitasnya. Beberapa serotipe *Salmonella enterica* menyebabkan demam tifoid. *S. typhi* dan *S. paratyphi*, disebut sebagai *Salmonella tifoid*—merupakan spesies paling umum penyebab demam enterik (demam tifoid dan demam paratifoid). Meskipun kedua demam memiliki gejala klinis yang sama, demam paratifoid cenderung lebih jinak. Demam paratifoid paling sering ditularkan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi bakteri (Wilairatana et al., 2021).

Demam tifoid memiliki gambaran klinis yang tidak spesifik, oleh karenanya akurasi diagnosis masih menjadi tantangan ditengah keterbatasan sumber daya (Thriemer et al., 2013). Secara klinis, gejala tifoid antara lain demam, malaise, rasa tidak nyaman pada perut, diare, konstipasi, dan gejala nonspesifik lainnya. Gejala tifoid dapat berlangsung ringan hingga berat dengan sedikit morbiditas lain hingga toksemia berat dan komplikasi multisistem. Demam terjadi pada sebagian besar pasien (>90%) tanpa memandang kelompok usianya (Shahapur et al., 2021).

Kultur darah merupakan metode acuan diagnosis saat ini, namun hasilnya baru dapat diperoleh setelah >48 jam, prosedur ini mahal dan memerlukan peralatan laboratorium yang ekstensif serta keahlian teknis. Sensitivitas diperkirakan antara 40% dan 70%. Kultur dari sumsum tulang diketahui lebih sensitif, namun karakter invasif membuat prosedur ini belum layak untuk diaplikasikan dalam skala besar (Thriemer et al., 2013).

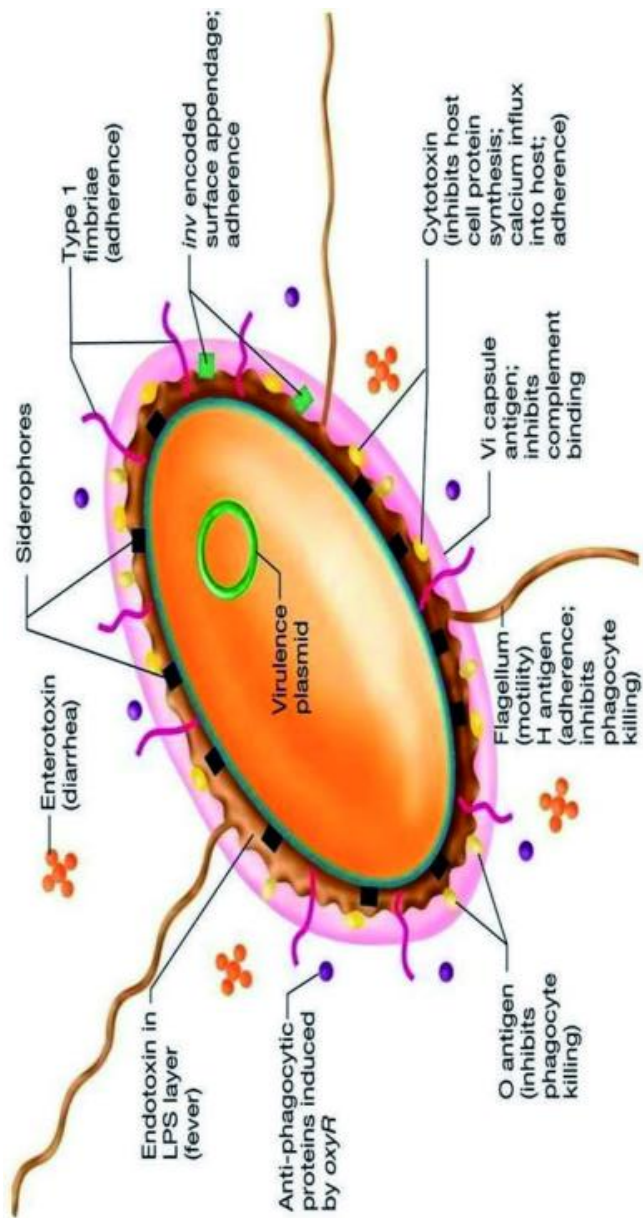
Pemeriksaan Widal Aglutinasi diperkenalkan sebagai teknik serologis untuk membantu diagnosis demam tifoid. Tes ini didasarkan adanya aglutinin (antibodi) dalam serum pasien yang terinfeksi, melawan antigen H (Flagellar) dan O (somatik) *Salmonella typhi*. Meskipun diagnosis pasti demam tifoid bergantung pada isolasi *S typhi* dari darah, tinja, urin atau cairan tubuh lainnya, peran tes Widal adalah untuk meningkatkan kewaspadaan adanya demam tifoid dengan menunjukkan aglutinasi positif. Selama masa infeksi akut dan masa pemulihan dengan bukti peningkatan titer antibodi sebanyak empat kali lipat. Di negara-negara maju, penggunaan aglutinasi Widal sebagai alat laboratorium untuk membantu diagnosis demam tifoid selama fase akut penyakit, sebagian besar telah ditinggalkan, karena kebutuhan akan tes tersebut sangat minim, terutama mengingat rendahnya prevalensi demam tifoid. Selain itu, tersedia sanitasi yang memadai dan lebih baik, sistem pembuangan limbah, kebersihan yang layak, dan cara yang lebih baik untuk mengisolasi organisme dari kultur. Sayangnya, di beberapa negara berkembang, situasinya cukup berbeda, dan tes Widal tampaknya merupakan satu-satunya pemeriksaan laboratorium yang digunakan dalam diagnosis demam tifoid pada pasien yang diduga menderita tifoid. Karena tes tersebut mengalami reaktivitas silang yang serius dengan agen infeksi lain, tes tersebut dapat memberikan hasil positif palsu, sehingga menyebabkan diagnosis demam tifoid yang berlebihan (Olopoenia & King, 2000).

B. Virulensi *Salmonella typhi*

Faktor virulensi pada *Salmonella Typhi* terlibat dalam berbagai tahapan infeksi, yaitu: produksi racun lipopolisakarida (LPS) seperti endotoksin, enterotoksin, dan sitotoksin, kolonisasi, adhesi dan invasi, serta kelangsungan hidup di dalam sel inang (Al-Khafaji et al., 2020).

1. Antigen Vi

Antigen Vi kapsuler adalah homopolimer linier alfa 1-4 dihubungkan dengan asam aminouronat galaktosa yang diasetilasi secara bervariasi pada posisi C3. Antigen ini berperan dalam menghambat fagositosis dan aktivasi komplemen C3 sehingga menghambat opsonisasi non spesifik, salah satu ciri utama yang membedakan *S. Typhi* dengan *Salmonella non tyfoid* (SNT) adalah produksi kapsul polisakarida yang diberi nama antigen Vi. Kapsul Vi menghambat fagositosis dan memberikan resistensi serum, dengan melindungi antigen O dari antibodi. Gen yang mengkode kapsul Vi terdiri dari lokus *viaB* dalam *Salmonella* pathogenicity island (SPI)-7, yang juga mengkode efektor sistem sekresi tipe III (T3SS) *SopE* dan pilus tipe IVB (Al-Khafaji et al., 2020).



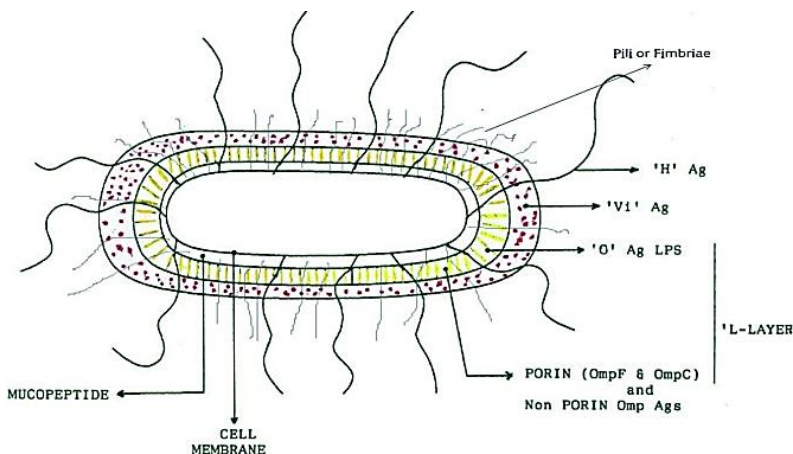
Gambar 5.1 Morfologi *Salmonella typhi*
(Sumber : Al-Khafaji *et al.*, 2020)

2. SPI-1, SPI-2, dan T3SS

Faktor virulensi *Salmonella* paling umum terjadi pada penyakit tifoid dan non tifoid, dikode oleh T3SS: SPI-1 dan SPI-2. Pada *S. Typhi*, SPI-1 T3SS juga diperlukan untuk invasi sel nonfagositik, namun peran penting SPI-2 T3SS masih kurang jelas. Gangguan pada SPI-2 T3SS tidak mempengaruhi kelangsungan hidup *S. Typhi* di THP-1 dan makrofag yang berasal dari monosit manusia; namun, strain *S. Typhi* dengan penyisipan transposon dalam komponen SPI-2 *ssaQ*, *ssaP*, atau *ssaN* diseleksi secara negatif selama pertumbuhan kompetitif makrofag manusia. Oleh karena itu, peran SPI-2 selama gaya hidup intraseluler serovar tifoid memerlukan penelitian lebih lanjut.

3. Antigen O Somatik (Antigen Dinding SEL atau LPS)

Lapisan "L" luar sebagai komponen dasar bahan kapsul tubuh bakteri memiliki lipopolisakarida (LPS) disebut antigen 'O'. Lapisan 'L' juga memiliki protein tertentu disebut protein membran luar/ outer membrane protein (OMP) yang bersifat antigenik. OMP ini mencakup zat porin (OMP F dan OMP C) dan non-porin. Porin merupakan saluran pembentuk pori membantu penyerapan zat terlarut dan protein non-porin merupakan protein struktural. Antigen O bersifat sangat imunogenik dan terdapat respon antibodi yang baik terhadap semua antigen tersebut pada pasien demam tifoid. Antigen somatik mewakili rantai samping unit gula berulang yang menonjol keluar dari lapisan lipopolisakarida dan permukaan dinding sel bakteri; bersifat hidrofilik dan stabil terhadap panas. Mendeteksi keberadaan antigen ini dapat digunakan untuk diagnosis serologis.



Gambar 5.3 Struktur Antigenik *Salmonella typhi*
(Sumber : Ali-Khafaji *et al.*, 2020)

4. Flagella (H Antigen)

Flagela, selain berperan terhadap virulensi, juga merupakan penggerak penting respon imun bawaan melalui pengenalan flagelin monomer oleh reseptor Toll like receptor-5 (TLR5) dan NLR family apoptosis inhibitory

proteins (NAIP). Antigen H dapat terjadi dalam salah satu atau kedua bentuk, yang disebut fase 1 dan fase 2. Organisme cenderung berubah dari satu fase ke fase lainnya. Antigen H menjadi epidemiologi penting untuk menentukan sumber infeksi dan cara penyebarannya; sebagian besar *Salmonella* non tifoid memiliki variasi fase ditunjukkan dengan adanya ekspresi dua gen flagellin (fliC dan fljB), sebagian besar strain *S. Typhi* bersifat monofasik, mengekspresikan FliC dari antigen H:d secara langsung. Beberapa strain *S. Typhi* dari Indonesia menularkan H:j, akibat penghapusan in-frame pada fliC, suatu varian dari H:d bersifat bifasik, yang mengekspresikan analog FljB yang dikodekan oleh plasmid dari antigen H:z66. Varian antigenik H:j dan H:z66 diperkirakan baru muncul selama evolusi *S. Typhi*, distimulasi oleh seleksi imun pada wilayah dengan insiden tinggi. EVolusi *S.Typhi* ini diakibatkan karena terdapat interaksi antara *S. Typhi* dengan sel epitel inang dan makrofag dan sebagian melalui mekanisme penghindaran sistem imunitas.

C. Teknik Pemeriksaan Widal

Reaksi uji Widal menggunakan suspensi bakteri *S. typhi* dan *S. paratyphi* 'A' dan 'B', yang diolah untuk mempertahankan antigen 'O' dan 'H'. Antigen 'O' dan 'H' digunakan untuk mendeteksi antibodi yang sesuai dalam serum pasien yang diduga menderita demam tifoid. Antibodi IgM somatik O muncul pertama dan mewakili respons serologis awal pada demam tifoid akut, sedangkan antibodi IgG flagella H biasanya berkembang lebih lambat namun bertahan lebih lama.

Terdapat dua jenis teknik aglutinasi: uji slide dan uji tabung. Uji slide cepat dan digunakan sebagai prosedur skrining. Dengan menggunakan antigen *S. typhi* yang tersedia secara komersial, setetes antigen tersuspensi ditambahkan ke serum yang telah disiapkan sebelumnya dalam jumlah yang sama. Tes skrining positif memerlukan penentuan kekuatan antibodi. Hal ini dilakukan dengan menambahkan suspensi

antigen dalam jumlah yang sama dan serum yang diencerkan secara serial dari pasien yang dicurigai terinfeksi *S. typhi*. Aglutinasi divisualisasikan sebagai gumpalan. Aglutinasi reaktif lemah mungkin memerlukan sumber cahaya yang cukup untuk visualisasi yang tepat, sedangkan aglutinasi reaktif kuat mudah terlihat.

1. Tahapan Pra-analitik

a. Alat dan bahan

Alat: slide tes widal, stik pengaduk sekali pakai, tabung serologi, mikropipet dan yellow tip, sentrifus, alat sampling (sputum, tourniquet, tabung vacutainer, alcohol swab, handsaplast), serta alat pelindung diri yang meliputi handscoon, masker, dan jas laboratorium. Bahan: Kit Widal terdiri dari antigen *Salmonella typhi* O, *Salmonella typhi* H, *Salmonella paratyphi* AH, *Salmonella paratyphi* BH, kontrol positif, kontrol negatif, dan sampel serum uji.

b. Persiapan bahan

- 1) Pemeriksaan Widal harus digunakan sesuai instruksi yang tertera pada kit.
- 2) Sebelum digunakan, semua reagen harus dibiarkan dalam suhu ruangan.
- 3) Reagen widal tidak boleh diencerkan/diluruhkan.
- 4) Tidak diperkenankan mencampur reagen widal satu dengan lainnya.
- 5) Kit widal tidak boleh dibekukan.
- 6) Pastikan slide yang akan digunakan kering dan bersih.

c. Prosedur pengambilan darah vena:

- 1) Dibersihkan bagian lengan yang akan ditusuk dengan kapas alkohol 70% dan dibiarkan sampai kering.
- 2) Jika memakai vena dalam fossa cubiti, dipasang ikatan pembendung pada lengan atas dan diminta pasien untuk mengepalkan dan membuka tangannya berkali-kali agar vena terlihat jelas.
- 3) Ditegangkan kulit diatas vena dengan jari-jari tangan kiri agar vena tidak dapat bergerak.

- 4) Ditusuk kulit dengan jarum dan spoit dalam tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke pembuluh vena.
 - 5) Dilepaskan atau diregangkan pembendungan dan perlahan-lahan tarik penghisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
 - 6) Dilepaskan pembendungan jika masih terpasang.
 - 7) Ditaruh kapas diatas jarum dan dicabut spoit dan jarum.
 - 8) Diminta kepada pasien agar tempat tusukan itu ditekan selama beberapa menit dengan kapas tadi. Diangkat atau dilepaskan jarum dari spoit dan darah dialirkan ke dalam wadah atau tabung yang tersedia melalui dinding.
- (Gandasoebrata, 2013)

d. Cara memperoleh serum untuk pemeriksaan

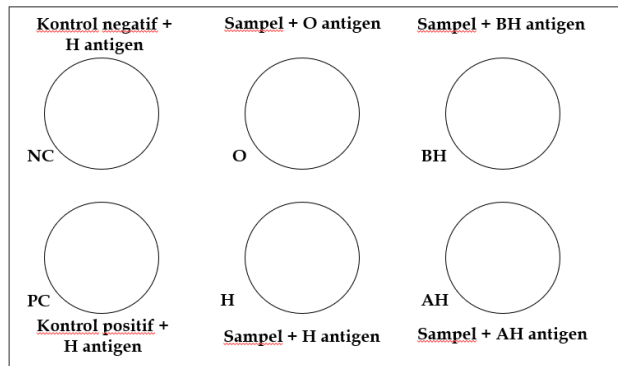
- 1) Tabung yang berisi darah didiamkan selama kurang lebih 10 menit, jika memakai tabung vakum tutup merah;
- 2) Dicentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm.
- 3) Serum dipisahkan dari bekuan darah. Serum yang telah didapat dimasukkan dalam tabung berlabel.
- 4) Serum siap diperiksa (Lippi et al., 2019).

2. Tahapan Analitik

a. Pemeriksaan Widal Slide

- 1) Reagen uji widal harus berada pada suhu ruang.
- 2) Beri label pada slide uji widal sebagai berikut kontrol positif (KP), kontrol negatif (KN), O, H, AH, BH seperti gambar 7.4.
- 3) Teteskan 25 μ l kontrol positif kedalam lingkaran KP.
- 4) Teteskan 25 μ l kontrol negatif kedalam lingkaran KN.
- 5) Teteskan 25 μ l serum pasien/ sampel pada lingkaran berlabel O,H, AH, dan BH.

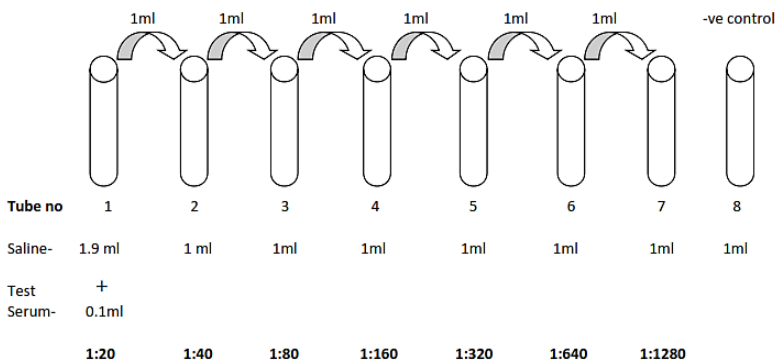
- 6) Tambahkan masing-masing 25 µl reagen *Salmonella typhi* 'H' kedalam lingkaran PC dan NC. Homogenkan dengan batang pengaduk plastik.
- 7) Tambahkan masing-masing 25 µl reagen *Salmonella typhi* 'O', *Salmonella typhi* 'H', *Salmonella paratyphi* 'AH' dan *Salmonella paratyphi* 'BH' ke dalam lingkaran sesuai label O, H, BH, dan AH. Homogenkan dengan batang pengaduk plastic
- 8) Goyangkan slide perlahan (sekitar satu menit) dan amati aglutinasi yang terbentuk.
(Himedia HiGenome, n.d.-a).



Gambar 5.4 Ilustrasi Slide Uji Widal

- b. Pemeriksaan Widal Metode Tabung
 - 1) Disiapkan 8 buah tabung serologi untuk setiap hasil antibodi yang positif.
 - 2) Dipipet 1,9 ml saline 0,85% ke dalam tabung pertama dan 1 ml saline ke dalam tujuh tabung lainnya.
 - 3) Pada tabung pertama ditambahkan 0,1 ml serum pasien (yang hasil widal slide nya positif). Homogenkan.
 - 4) Dipipet 1 ml campuran di tabung pertama dan pindahkan pada tabung kedua. Homogenkan.
 - 5) Dipipet 1 ml campuran di tabung kedua dan pindahkan pada tabung ketiga. Homogenkan. Begitu seterusnya sampai tabung ke tujuh.
 - 6) Dibuang 1 ml campuran dari tabung ke tujuh.

- 7) Tabung ke delapan digunakan sebagai kontrol negatif karena hanya berisi larutan saline tanpa terisi sampel.
- 8) Tambahkan 1 tetes reagen widal (misal: Salmonella thypi H) ke dalam tabung ke-1 hingga ke-8. Homogenkan.
- 9) Inkubasi pada suhu 50°C selama 4 jam apabila menggunakan antigen Salmonella O dan inkubasi 50°C selama 2 jam apabila menggunakan antigen Salmonella H.
- 10) Periksa seluruh tabung setelah waktu inkubasi selesai dan amati adanya aglutinasi.
- 11) Titer diambil adalah pengenceran pada tabung terakhir yang masih menunjukkan adanya aglutinasi. (Marliana & Widhyasih, 2018)



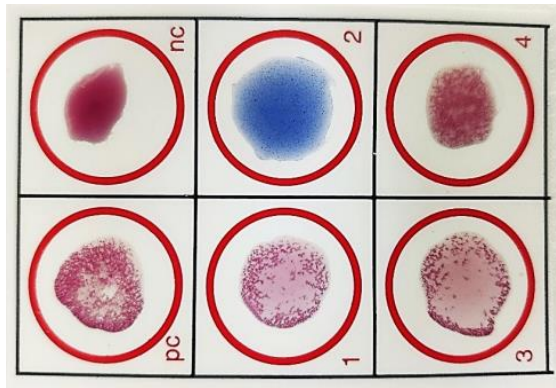
Gambar 5.5 Ilustrasi Pemeriksaan Widal Metode Tabung
(Sumber Himedia HiGenome, n.d)

3. Tahapan Paska-Analitik

Hasil uji widal diberi skor 0 sampai 4+, yaitu 0 (tidak ada aglutinasi), 1+ (25% aglutinasi), 2+ (50% aglutinasi), 3+ (75% aglutinasi) atau 4+ (100% aglutinasi). Kuantitas serum terkecil yang menunjukkan aglutinasi 2+ atau 50% dianggap sebagai titik akhir aktivitas atau titer serum.

Uji aglutinasi tabung memerlukan lebih banyak pekerjaan teknis dibandingkan uji slide, dan dapat diamati secara makroskopis. Hasil diberi skor dari 0 hingga 4+

aglutinasi positif seperti uji slide. Uji tabung berguna untuk memperjelas reaksi aglutinasi yang tidak menentu atau samar-samar yang diperoleh pada uji slid



Gambar 5.6 Aglutinasi Uji Idal
(Sumber Himedia HiGenome, n.d)

4. Interpretasi dan Limitas Hasil Pemeriksaan Widal

Meskipun pelaksanaan uji widal memerlukan beberapa pekerjaan teknis yang terperinci, menafsirkan hasil tes merupakan tugas yang lebih sulit. Berdasarkan antigen O somatiknya *Salmonella* dibagi menjadi kelompok serologis yang berbeda (A hingga E). Semua *Salmonella* kelompok D, seperti *S. typhi* memiliki antigen O₉, sekitar 60 dari 78 serotipe kelompok D termasuk *S. typhi* juga memiliki antigen O. Jadi, infeksi oleh salah satu serotipe grup D dapat menghasilkan antibodi yang dapat bereaksi dengan antigen O yang digunakan dalam reaksi Widal. Selain itu, karena seluruh *Salmonella* golongan A dan B memiliki antigen O₁₂, reaksi silang dengan antibodi O serotipe grup D dapat terjadi dengan antigen serotipe O grup A dan B mana pun. Tergantung pada kualitas relatif dan kuantitas antigenitas antigen O₉ dan 12 yang terkandung dalam serotipe *Salmonella* non-tifoidal umum lainnya, reaksi silang dapat terjadi cukup sering sehingga mengurangi spesifisitas diagnostik reaksi Widal. Suatu studi perbandingan antigen *S. typhi* O yang diperoleh dari produsen berbeda diuji terhadap

serum yang sama, yang sebelumnya telah terbukti positif melalui uji aglutinasi slide, mengungkapkan variabilitas yang nyata terkait dengan titer aglutinasi Widal. Tes aglutinasi yang negatif mungkin disebabkan oleh salah satu dari beberapa alasan yang diberikan pada Tabel 7.1. Oleh karena itu, hasil tes Widal yang negatif tidak serta merta menyingkirkan kemungkinan tidak adanya infeksi. Hasil tersebut sebaiknya disimpan sebagai referensi untuk analisis komparatif selanjutnya (Olopoenia & King, 2000).

Sebaliknya, uji aglutinasi positif (pada dua kesempatan berturut-turut), mungkin juga menimbulkan beberapa interpretasi yang berbeda (Tabel 1). Meskipun terdapat kontroversi seputar peningkatan titer setelah minggu pertama sakit di beberapa daerah endemik, para dokter secara umum menerima bahwa, menjelang akhir minggu pertama sakit, titer antibodi O atau H dapat meningkat setinggi mungkin bahkan sampai 1:160. Namun, kurangnya serum berpasangan dapat menyebabkan interpretasi hasil tes yang salah. Di daerah endemik tipus, pengujian tunggal terhadap spesimen serum untuk aglutinin Widal tidak dapat memberikan diagnosis yang dapat diandalkan karena:

- a. Paparan berulang terhadap inokula kecil *S typhi* atau *Salmonella* spp lainnya yang mengandung antigen tipe 9 atau
- b. Imunisasi demam tifoid sebelumnya
- c. Agen infeksi lain seperti malaria.

Tabel 5.1 Penyebab Hasil Positif Maupun Negatif Uji Widal

Penyebab hasil positif	Penyebab hasil negatif
1. Positif demam tifoid	1. Tidak terinfeksi <i>S.typhi</i>
2. Riwayat imunisasi antigen <i>Salmonella</i>	2. Dalam tahap “carrier” atau inkubasi bakteri
3. Reaksi silang/ cross-reaction dengan <i>Salmonella non-typoidal</i>	3. Ketidakseimbangan antigen inoculum bakteri dalam menginduksi

Penyebab hasil positif	Penyebab hasil negatif
4. variabilitas dan persiapan antigen komersial yang tidak terstandarisasi dengan baik	produksi antibodi penderita
5. terinfeksi malaria atau <i>Enterobacteriaceae</i>	4. Kesalahan dalam Teknik pemeriksaan
6. penyakit lain seperti dengue	5. Penggunaan antibiotik pada infeksi sebelumnya
	6. variabilitas dalam persiapan antigen komersial

(Sumber : Olopoenia & King, 2000)

Meskipun sejumlah laporan dari beberapa negara berkembang menyatakan bahwa tes Widal tunggal sudah cukup untuk membuat diagnosis demam tifoid, negara-negara lain masih membantah kegunaan hasil tes tunggal tersebut. Di beberapa negara berkembang penggunaan tes Widal tunggal sudah menjadi hal yang lumrah, terjadi peningkatan angka hasil positif palsu (Olopoenia & King, 2000).

Dalam menginterpretasikan hasil tes Widal, penting untuk adanya komunikasi yang erat antara dokter yang meminta tes dan laboratorium, karena modifikasi teknik di masing-masing laboratorium dapat mempengaruhi titer Widal dan beberapa pasien dengan demam tifoid yang dikonfirmasi secara bakteriologis mungkin gagal mencapai peningkatan titer antibodi seperti biasanya. Hasil tes harus dilaporkan sebagai “tidak ada aglutinasi” atau, jika ada aglutinasi, dalam titer (1:20, 1:40 atau 1:80) dan bukan dalam istilah deskriptif (negatif atau positif). karena dapat menyebabkan interpretasi yang salah dari hasil tes oleh dokter. Fungsi laboratorium adalah melakukan dan melaporkan hasil tes kepada dokter yang meminta, yang selanjutnya akan menggunakan data tersebut untuk membantu membuat diagnosis yang tepat (Olopoenia & King, 2000)

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Khafaji, N. S. ., Al-Bayati, A. M. ., & Al-Dahmoshi, O. . (2020). Virulence Factors of Salmonella Typhi. In Salmonella spp.-A Global Challenge (pp. 1-11). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.95587>
- Gandasoebrata. (2013). Penuntun Laboratorium Klinik. Dian Rakyat.
- Himedia HiGenome. (n.d.-a). HiPer Widal Test Teaching Kit (Slide Test). HiMedia Laboratories Pvt Ltd.
- Himedia HiGenome. (n.d.-b). HiPer Widal Test Teaching Kit (Tube Test). HiMedia Laboratories Pvt Ltd. Retrieved February 26, 2024, from <https://www.himedialabs.com/us/hti018-hiper-widal-test-teaching-kit-tube-test.html>
- Lippi, G., Meyer, A. von, Cadamuro, J., & Simundic, A.-M. (2019). Blood sample quality. Diagnosis (Berl), 1(6), 25-31. <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0018>
- Marliana, N., & Widhyasih, R. M. (2018). Imunoserologi. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Olopoenia, L. A., & King, A. L. (2000). Widal agglutination test - 100 years later: Still plagued by controversy. Postgraduate Medical Journal, 76(892), 80-84. <https://doi.org/10.1136/pmj.76.892.80>
- Shahapur, P. R., Shahapur, R., Nimbale, A., Suvvari, T. K., D Silva, R. G., & Kandi, V. (2021). Traditional Widal Agglutination Test Versus Rapid Immunochromatographic Test in the Diagnosis of Enteric Fever: A Prospective Study From South India. Cureus, 13(10). <https://doi.org/10.7759/cureus.18474>
- Thriemer, K., Ley, B., Menten, J., Jacobs, J., & Van Den Ende, J. (2013). A systematic review and meta-analysis of the performance of two point of care typhoid fever tests, tubex TF

and typhidot, in endemic countries. PLoS ONE, 8(12).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081263>

Wilairatana, P., Mala, W., Klangbud, W. K., Kotepui, K. U., Rattaprasert, P., & Kotepui, M. (2021). Prevalence, probability, and outcomes of typhoidal/non-typhoidal Salmonella and malaria co-infection among febrile patients: a systematic review and meta-analysis. In Scientific Reports (Vol. 11, Issue 1). Nature Publishing Group UK.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-00611-0>

Wisner, A., Desin, T., White, A., Potter, A., & Kster, W. (2012). The Salmonella Pathogenicity Island-1 and -2 Encoded Type III Secretion Systems. Salmonella - A Diversified Superbug.
<https://doi.org/10.5772/29203>

TENTANG PENULIS



Kadeq Novita Prajawanti, S.ST., M.Imun.

lahir di Kota Mataram pada tanggal 19 November 1994. Pada tahun 2017 ia telah menempuh studi D4 Analisis Kesehatan Poltekes Kemenkes Mataram dan mendapat gelar Sarjana Sains Terapan. Lalu pada tahun 2020 ia mendapat gelar Magister Imunologi setelah menyelesaikan studinya di Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga. Saat ini ia tercatat sebagai dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis di Universitas Anwar Medika Sidoarjo.

BAB 6

PEMERIKSAAN CROSS MATCH

Yuli Astuti, A. P.TTD., S.ST., M.K.M.

A. Pendahuluan

Pelayanan pra transfusi merupakan salah satu pelayanan kesehatan yang bertujuan untuk menjamin ketersediaan darah yang aman dan bermutu bagi pengguna darah (pasien) sebelum ditransfusikan. Pemeriksaan pra-transfusi meliputi serangkaian pemeriksaan serologi golongan darah yang memastikan kecocokan antara darah donor dan darah pasien, sehingga meminimalisir efek reaksi transfusi dan optimaslisasi proses transfusi darah. Pemeriksaan serologi golongan darah ini terdiri dari pemeriksaan golongan darah donor dan darah pasien (ABO dan rhesus) dan pemeriksaan uji silang serasi atau *cross match* (Kemenkes, 2015). *Cross match* adalah pemeriksaan yang memastikan darah donor dan darah pasien cocok atau sesuai berdasarkan American Association of Blood Bank (AABB) *cross match* memastikan kecocokan darah donor dan keberadaan antibodi signifikan yang bereaksi terhadap antigen. Hasil uji *cross match* yang diharapkan dalam pemeriksaan pra transfusi adalah dengan hasil negative (*incompatible*) pada minor, mayor dan autocontrol (Pardosi et al., 2022).

Langkah-langkah pemeriksaan *cross match* dalam makna luas dalam pemeriksaan pra-transfusi sebnanrnya dimulai dari identifikasi penerima darah, pengambilan dan penanganan sampel, sampai pada pemeriksaan *cross match*. *Cross match* yang digunakan dalam pemeriksaan pra-transfusi di pelayanan dilakukan dengan dengan berbagai metode yaitu metode tabung dan

metode gel. *Cross match* dinamakan uji silang serasi dikarenakan adanya pencocokan reaksi secara silang dari sel darah dan serum donor dengan sel darah dan serum pasien. Hasil *cross match* yang diharapkan adalah yang tidak terjadi aglutinasi pada sel darah merah, plasma donor dan sel darah merah, plasma pasien, sehingga darah dapat dilanjutkan untuk proses transfusi. Jika terjadi aglutinasi darah dinyatakan tidak cocok dan tidak diperbolehkan untuk transfusi. Aglutinasi ini terjadi menunjukkan adanya interaksi antara antigen dan antibodi pendonor dengan pasien sehingga darah tidak direkomendasikan untuk ditransfusikan (Horward, 2017).

B. Tujuan Pemeriksaan *Cross Match*

Tujuan utama pemeriksaan *cross match* adalah mencegah reaksi transfusi yang dapat mengancam nyawa dan memaksimalkan efek terapi transfusi. Rangkaian pemeriksaan *cross match* secara khusus bertujuan untuk (Horward, 2017):

1. Pengecekan ulang untuk identifikasi sampel dan kantong darah donor.
2. Pengkajian riwayat transfusi pasien.
3. Konfirmasi pemeriksaan golongan darah donor dan pasien (ABO dan rhesus).
4. Hasil pemeriksaan *cross match* sebagai dasar untuk darah dapat atau tidaknya ditransfusikan ke pasien.
5. Jika penerima/pasien memiliki riwayat antibodi yang terdeteksi secara klinis, *cross match* menyediakan cara kedua untuk mendeteksi antibody dan memeriksa antibodi

C. Persiapan Pemeriksaan *Cross Match*

1. Formulir Permintaan Darah

Pemeriksaan *cross match* diawali dengan adanya permintaan darah dari pasien. Formulir permintaan darah ini berfungsi sebagai informasi tentang data dan riwayat kesehatan pasien dan harus ditandatangani oleh dokter yang menangani pasien atau pihak yang berwenang. Formulir permintaan darah terdiri dari (WHO, 2009):

- a. Tanggal permintaan darah.
- b. Data diri pasien meliputi: nama lengkap pasien, tempat, tanggal lahir, jenis kelamin.
- c. Nomer rekam medis pasien.
- d. Bangsa pasien.
- e. Alamat pasien.
- f. Diagnosis pasien.
- g. Golongan darah (jika sudah diketahui).
- h. Riwayat transfusi.
- i. Riwayat reaksi transfusi.
- j. Khusus perempuan riwayat jumlah kehamilan.
- k. Jumlah dan jenis unit darah atau produk darah yang dibutuhkan.
- l. Tanggal dibutuhkan.
- m. Tanda tangan dokter meminta darah.

Permintaan darah tidak dapat diproses jika formulir permintaan darah tidak diisi lengkap, serta formulir tidak sesuai dengan sampel pasien.

2. Persiapan Sampel

Persiapan sampel dalam pemeriksaan cross match mulai dari identifikasi sampel sampai sampel siap digunakan untuk pemeriksaan. Kesalahan paling sering ditemui dalam pemeriksaan cross match adalah kesalahan dalam identifikasi sampel dan penanganan sampel untuk pemeriksaan cross match. Berikut standar penting yang harus diperhatikan dalam identifikasi sampel (Armstrong et al, 2008):

- a. Identifikasi pasien.
- b. Pengambilan dan pelabelan sampel.
- c. Pendaftaran cross match di unit laboratorium (sampel disertai formulir permintaan darah).
- d. Sampel harus dipastikan dalam kondisi baik (tidak lisis, tidak lipemik, volume cukup, dan tidak terkontaminasi bakteri).

Sampel donor dan sampel pasien yang akan digunakan pemeriksaan *cross match* harus melalui beberapa prosedur diantaranya sebagai berikut (Bhattacharya et al. 2018):

- a. Siapkan sampel yang sudah dilakukan identifikasi sebanyak minimal 3 ml, tidak lisis, tidak lipemik dan tidak terkontaminasi bakteri.
- b. Sampel yang digunakan masa penyimpanannya tidak boleh lebih dari 3 hari perhitungan tanggal pengambilan sampel merupakan hari ke-0 (penyimpanan yang lebih lama dapat menurunkan morfologi darah, terutama eritrosit).
- c. Lakukan centrifugasi selama 3000 xg selama 3 menit.
- d. Pisahkan serum dan plasma.
- e. Lakukan konfirmasi golongan darah (ABO dan rhesus) pada donor dan pasien. Pastikan menggunakan reagen yang sudah divalidasi.
- f. Pastikan golongan darah pada sampel pasien sudah sesuai dengan golongan darah donor yang akan ditransfusikan.
- g. Membuat suspensi sel darah merah sesuai dengan metode pemeriksaan *cross match*.

D. Prinsip Pemeriksaan *Cross Match*

Prinsip pemeriksaan *Cross match* meliputi mayor, minor, dan auto control. Secara umum dapat dijelaskan sebagai berikut (Hastuti, 2019):

1. Mayor

Prinsip uji *cross match* mayor adalah mereaksikan sel suspensi darah merah donor dan serum/plasma pasien. Tujuannya adalah untuk mengetahui keberadaan antigen yang dimiliki donor dapat bereaksi dengan antibody yang dimiliki oleh pasien. Jika mayor positif maka darah dinyatakan tidak kompatibel (tidak boleh ditransfusikan) karena akan mengakibatkan reaksi transfusi jika ditransfusikan (lisis dan rusaknya sel pasien).

2. Minor

Prinsip uji cross match minor adalah mereaksikan suspensi sel darah merah pasien dengan serum/plasma donor. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk mengetahui keberadaan antigen yang dimiliki pasien dapat bereaksi dengan antibodi yang dimiliki oleh donor. Jika minor positif maka darah dinyatakan tidak kompatibel (tidak boleh ditransfusikan), meskipun demikian dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa reaksi transfusi yang ditimbulkan pada pasien yang tidak kompatibel di pemeriksaan minor, disebutkan bahwa tidak menimbulkan reaksi transfusi yang serius. Hal ini disebabkan plasma donor yang terdeteksi tidak kompatibel dengan titer yang rendah akan terdilusi dalam sistem sirkulasi tubuh pasien saat proses transfusi. Namun ada beberapa kondisi plasma donor yang dapat menimbulkan reaksi jika dalam kondisi sebagai berikut (Irawati et al. 2016):

- a. Plasma donor dengan titer antibodi ABO yang kuat dapat menyebabkan reaksi hemolitik. Misalnya antibodi A-B yang kuat pada donor golongan darah O dapat mengakibatkan reaksi hemolisis pada sel darah merah pada pasien bergolongan darah A atau B.
- b. Pada plasma donor yang mengandung antibodi HLA (Human Leucocyte Antigen) dapat bereaksi pada sel darah putih pasien yang mengakibatkan reaksi akut pada paru (TRALI).

3. Autocontrol

Prinsip uji cross match autocontrol adalah mereaksikan suspensi sel darah merah pasien dengan serum/plasma pasien. Tujuan dari autocontrol adalah untuk mengetahui apakah ada reaksi antigen dan antibodi di dalam tubuh pasien (Hastuti, 2019)

E. Metode Pemeriksaan *Cross Match*

1. Pemeriksaan *Cross Match* Metode Tabung

Pemeriksaan *cross match* metode tabung merupakan metode yang masih konvensional meliputi media salin dan *indirect comb test*. Metode ini terdiri dari tiga fase yaitu fase I (fase medium saline dalam suhu kamar), fase 2 (fase medium bovin albumin, suhu inkubasi 37°C), dan fase 3 (medium AHG) (Singh et al. 2020). Pemeriksaan *cross match* metode tabung dapat dijelaskan sebagai berikut:

a. Fase I (Medium Salin, Suhu Ruang)

Fase I sering disebut dengan metode *immediate spin*. Pada fase ini siapkan suspensi 5% sel darah merah donor dan sel darah merah pasien dan siapkan plasma donor dan pasien. Siapkan tiga tabung dengan penetesan masing-masing tabung sesuai dengan tabel 6.1 berikut (Ranjitha et al, 2022):

Tabel 6.1 Pemeriksaan *Cross Match* Fase I

Tabung I (Mayor)	Tabung II (Minor)	Tabung III (Autokontrol)
2 tetes plasma/serum pasien dan 1 tetes sel suspensi darah merah donor.	2 tetes plasma/serum donor dengan 1 tetes sel suspensi sel darah merah pasien.	2 tetes serum/plasma pasien dan 1 tetes sel suspensi sel darah merah pasien.
Homogenkan masing-masing tabung dan putar dalam centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.		
Baca Hasil secara makroskopis.		

b. Fase II (Medium Bovine Albumin, Suhu Inkubasi 37°C)

Fase II ini merupakan lanjutan fase pertama, masing-masing tabung dari fase I ditambahkan 2 tetes bovine albumin 22% lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C selama 15 menit. Pemberian bovine albumin

memperkuat ikatan antigen dan atibodi. Putar dalam centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik. Baca hasil secara makroskopis (Ranjitha et al, 2022).

c. Fase III (Medium AHG)

Fase III merupakan fase terakhir dalam pemeriksaan cross match. Pada fase ini masing-masing tabung dari fase II dilakukan pencucian dengan saline sebanyak 3 kali. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan antibody yang tidak terikat. Setelah dilakukan pencucian tambahkan 2 tetes AHG, homogenkan masing-masing tabung dan putar dalam centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik. Baca hasil secara makroskopis, tetapi jika sulit menentukan aglutinasi baca hasil dengan menggunakan mikroskop (Ranjitha et al, 2022). Pada fase III jika seluruh tabung tidak mengalami aglutinasi tambahkan 1 tetes CCC (combs control cell) sebagai validasi akhir hasil pemeriksaan, putar dalam centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik. Baca hasil secara makroskopis. Pemeriksaan dinyatakan valid jika terjadi aglutinasi, jika invalid atau tidak terjadi aglutinasi, wajib dilakukan pemeriksaan cross match ulang (Horward, 2017). Interpretasi hasil pada pemeriksaan cross match metode tabung dapat dilihat pada tabel 2 berikut (Taksali et al, 2016)

Tabel 6.2 Tabel Interpretasi Hasil *Cross Match* Metode Tabung

Mayor	Minor	Autokontrol	Kesimpulan
Negatif	Negatif	Negatif	<i>Compatible</i> , dan darah boleh untuk ditransfusikan.
Positif	Negatif	Negatif	<i>Incompatible</i> dan ganti darah donor.
Negatif	Positif	Negatif	<i>Incompatible</i> dan ganti darah donor

Mayor	Minor	Autokontrol	Kesimpulan
Negatif	Positif	Positif	<i>Incompatible</i> dan lakukan pemeriksaan direct comb test pada pasien.

2. Pemeriksaan Cross Match Metode Gel

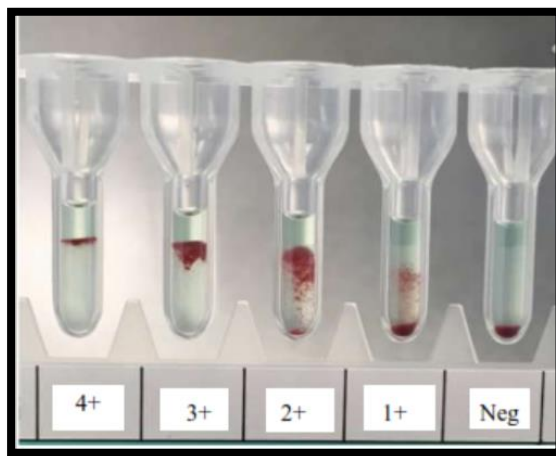
Pemeriksaan cross match metode gel pertama kali dikenalkan di pelayanan transfusi oleh Lappiere, dengan menggunakan gel di dalam microtube. Metode ini pertama kali digunakan di daerah Amerika dan Eropa, tetapi untuk saat ini metode gel sudah banyak digunakan di instansi layanan darah karena memiliki kelebihan dari metode tabung, yaitu mampu mendeteksi alloantibodi secara cepat dibandingkan dengan metode tabung (Sharma dan Sanwalka, 2020). Pemeriksaan gel dengan ID card LISS/Comb mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang lebih baik dibandingkan dengan metode tabung. Pada metode gel tidak diperlukan pencucian sehingga mengurangi elusi antibody yang terikat lemah dari sel darah merah sehingga mengurangi kemungkinan negatif palsu atau positif palsu (Swarup et al, 2008). Prosedur pemeriksaan cross match metode gel adalah sebagai berikut (Dhariwal et al. 2020):

Sediakan suspensi sel darah merah pasien dan donor masing-masing 0,8-1% dengan cara menambahkan 0,5 ml Diluent 2 dengan Dispenser ke dalam tabung, tambahkan 5 µl (mikroliter) sel darah merah atau 10 µl wholeblood ke dalam tabung, campur dan homogenkan.

- a. Ambil Liss/Coombs Card, tandai dengan identitas Pasien/Donor, buka penutup aluminium.
- b. Masukkan sampel donor dan pasien dengan menggunakan micropipet dengan ketentuan, untuk mayor meneteskan 50 µl suspensi sel donor 1 % ditambah 25 µl serum pasien, minor meneteskan 50 µl suspensi sel pasien 1 % ditambah 25 µl serum donor, dan untuk auto

- control meneteskan 50 μ l suspensi sel pasien 1 % ditambah 25 μ l serum pasien.
- Ketok – ketok ID card Liss/comb card perlahan supaya sel dan serum tercampur, tutup dengan selotip/isolasi
 - Masukkan kartu ke dalam ID Inkubator, Inkubasi 37°C, 15 menit (Tekan Tombol Timer 1/2/3).
 - Pindahkan kartu ke ID Centrifuge, tekan tombol Start, putar selama 10 menit.
 - Baca reaksi aglutinasi secara makroskopis.

Interpretasi hasil pemeriksaan cross match meode gel test dapat dilihat pada ID card LISS/Comb Card terjadi aglutinasi atau tidak terjadi aglutinasi. Adapun derajat aglutinasi dapat dilihat dengan jelas sesuai petunjuk gambar 6.1 di bawah ini:



Gambar 6.1 Derajat Aglutinasi Cross Match Metode Gel
(Sumber : Andicic, 2021)

Hasil pemeriksaan cross match metode gel dapat di intepretasikan pada tabel 6.3 berikut (Andicic, 2021)

Tabel 6.3 Hasil Pemeriksaan Cross Match Metode GEgl

Hasil Pemeriksaan	Indikator	Kesimpulan
Negatif	Mayor, minor, autokontrol	1. Compatible 2. Darah dapat ditransfusikan.
Positif	Mayor saja	1. Incompatible 2. Periksa ulang golongan darah pasien apakah sudah sama dengan donor 3. Ditemukan adanya Irreguler antibodi pada serum pasien 4. Ganti darah donor, lakukan Cross match lagi sampai didapat hasil Negatif. 5. Jika tidak ditemukan hasil yang Kompatibel, rujuk ke UTD pusat. 6. Jika tempat pelayanan ada skrining dan identifikasi antibody, lakukan skrining dan identifikasi antibodi pada darah pasien.
Positif	Minor saja	1. Incompatible 2. Ditemukan adanya Irregular Antibody pada serum/plasma Donor

Hasil Pemeriksaan	Indikator	Kesimpulan
		3. Ganti dengan darah donor lain, lakukan cross match lagi. 4. Jika tidak ditemukan hasil yang kompatibel, rujuk ke UTD pusat.
Positif	Minor dan Autokontrol	1. Incompatible 2. Lakukan Direct Coombs Test (DCT) pada sel darah merah pasien. 3. Bila hasil pemeriksaan DCT positif, hal ini disebabkan autoantibodi pada darah pasien. 4. Bila hasil pemeriksaan DCT didapatkan, derajat positif pada minor/auto kontrol $\leq$ derajat positif pada DCT, maka darah boleh dikeluarkan. 5. Bila hasil pemeriksaan DCT didapatkan, derajat positif pada minor/auto kontrol $\geq$ derajat positif pada DCT, maka darah tidak boleh dikeluarkan, dan ganti darah donor.

(Sumber : Andicic, 2021)

F. Penanganan Masalah pada Pemeriksaan *Cross Match*

Cross match yang tidak compatible biasanya disebabkan karena adanya antibodi pasien yang bereaksi dengan sel darah merah. Hal ini harus dipastikan antibodi yang bereaksi berasal dari autoantibody (berasal dari pasien sendiri) atau alloantibody (berasal dari luar, bisa karena transfusi atau kehamilan). Pada pasien yang tidak mengalami Riwayat transfusi dan kehamilan, jika didapatkan hasil *cross match* positif dan direct comb test positif ini menandakan adanya antibody irreguler yang dimiliki oleh pasien. Antibodi irreguler ini yang mengakibatkan darah pasien akan terus bereaksi dengan darah donor sehingga pasien perlu pemeriksaan lanjutan skrining dan identifikasi antibodi (Andicic, 2021).

Pada pemeriksaan *cross match* berikut beberapa solusi praktis yang dapat dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan lanjutan ada beberapa yang dapat dikaji sebagai berikut (Maulydia dan Rahardjo, 2020):

1. Permasalahan teknis diantaranya meliputi: salah pelabelan, salah reagensia, alat pemeriksaan bermasalah, sampel rusak atau sudah terkontaminasi dan kesalahan prosedur pemeriksaan.
2. Konfirmasi pemeriksaan golongan darah (ABO dan rhesus) donor dan pasien sudah sesuai.
3. Riwayat transfusi sebelumnya, pada orang yang memiliki riwayat pernah melakukan transfusi lebih berisiko untuk mendapatkan hasil inkompatibel karena sudah pernah terpapar antigen asing pada proses transfusi sebelumnya.
4. Riwayat kehamilan (termasuk keguguran dan aborsi), pada orang yang pernah hamil risiko terbentuk antibodi HLA (Human Leukocyte Antigen) yang dapat meningkatkan kejadian inkompatibilitas dan reaksi transfusi.
5. Pasien dengan riwayat hemolisis atau mempunyai Riwayat AIHA (*Autoimmune Hemolytic Anemia*) orang dengan AIHA sel darah merahnya selalu hemolisis hal ini dapat mengakibatkan hasil *cross match* selalu tidak kompatibel.

6. Pasien sudah pernah skrining dan identifikasi antibodi dengan hasil pasien memiliki antibody irreguler.

Tata laksana hasil cross match yang inkompatibel diantaranya adalah sebagai berikut (Andicic, 2021):

1. Langkah I

Langkah I ini merupakan Langkah awal yang dapat dilakukan oleh petugas jika menemukan kasus cross match yang inkompatibel setelah menyingkirkan permasalahan teknis. Petugas harus melakukan pengkajian riwayat pasien (umur, jenis kelamin, riwayat transfusi, riwayat kehamilan, dan penggunaan obat tertentu dalam jangka waktu yang lama). Permasalahan cross match yang inkompatibel pada langkah ini adalah dicurigai masalah berasal dari pasien, sehingga petugas dapat mempertimbangkan penggantian darah donor dan jenis pemeriksaan lanjutan sebelum dilakukan cross match ulang.

2. Langkah II

Pada langkah ini dilaksanakan jika masalah teknis dan masalah pasien sudah disingkirkan. Lakukan pemeriksaan pra-transfusi ulang dengan mengganti darah donor, pemeriksaan pra-transfusi dimulai dari konfirmasi golongan darah. Petugas setelah cross match dapat melanjutkan pemeriksaan direct combe test sel darah merah pasien untuk mengetahui adanya alloantibody (pada pasien yang baru saja mendapatkan transfusi) atau autoantibody yang sudah coated pada sel darah merah pasien.

3. Langkah III

Pada langkah ini dilakukan skrining dan identifikasi antibodi pada darah pasien. Jika ditemukan antibodi irreguler, maka ganti darah donor yang sesuai (yang dimungkinkan tidak ada reaksi dengan antibodi pasien jika ditransfusikan).

Tata laksana cross match yang inkompatibel harus dilaksanakan sesuai wewenang petugas dan sarana prasarana yang tersedia di tempat pelayanan, dan lakukan rujukan kasus

ke unit pelayanan darah pusat bila perlu. Petugas yang mendapatkan kasus harus dapat berkolaborasi dan berkoordinasi dengan para klinisi terkait. Unit pelayanan transfusi darah khususnya rumah sakit harus memiliki komite/unit yang membuat pedoman untuk penanganan bila ditemukan kasus inkompatibilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Amstrong R, Wilkinson R, Smart E. 2008. ISBT Sciences Series. Compatibility Testing. Journal Compilation Blackwell Publishing Ltd.
- Andicic N. 2021. Neslihan Practical Solutions for Problems in Blood Grouping and Cross matching. Turk J Hematol 2022; 39:55-60.
- Bhattacharya P, Samanta E, Afroza N, Naik A, Biswas R. 2018. An approach to incompatible cross-matched red cells: Our experience in a major regional blood transfusion center at Kolkata, Eastern India. Asian Journal of Transfusion Science Volume 12, Issue 1, January-June 2018. DOI: 10.4103/ajts.AJTS_157_16.
- Dhariwal S K, More S, Tamaskar S, et al. Comparison of Blood Cross Match Using Gel Technique And Conventional Tube Method In SSIMS, Bhilai, C.G: Cross Sectional Study. International Journal of Science Research; 2020,9(8):80-8.
- Hastuti Y, Roosarjani C. 2019. Gambaran Hasil Cross matching Incompatible Minor Positif Dan Auto Kontrol (AK) Positif Di Unit Donor Darah (UDD) PMI Kota Surakarta Januari –Maret 2019. Jurnal JAKA Vol. 1 No. 1 Januari 2022.
- Horward Paula. 2017. Basic&Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices. United States of America. Elsevier.
- Irawaty, Rachmawati, Mansyur. 2016. Characteristics Of Cross match Types In Compatibility Testing On Diagnosis And Blood Types Using Gel Method (Ciri Inkompatibilitas Uji Cocok Serasi Metode Gel Terhadap Diagnosis Dan Golongan Darah). Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory, 2016 November; 23(1): 36–41.

- Maulydia, Rahardjo. 2020. Penanganan Inkompatibilitas Darah pada Wanita Hamil yang Menderita Lupus Eritematosus Sistemik. *Jurnal Anestesiologi Indonesia*. Volume 12, Nomor 1, Tahun 2020.
- Pardosi Betti, Mulyantari Ni Kadek, Wirawati Ida A, Lestari Anak A, Mahartini Ni N. 2022. Overview of transfusion reactions in patients with incompatible cross match at Sanglah General Hospital, Denpasar, Bali, Indonesia. *Bali Medical Journal (Bali MedJ)* 2022, Volume 11, Number 2: 506-509 P-ISSN.2089-1180, E-ISSN: 2302-2914.
- Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 15 tahun 2015 tentang Satndar Pelayanan Transfusi Darah.
- Ranjita V, Vijay, Shashidhara. 2022. Gel Card and Saline Tube Techniques for Blood Cross-Matching: A Comparative Assessment Study. *RJAHS* 2022; 2(2):1-4.
- Sharma R, Sanwalka M. Evaluation of Methodology and Comparative Study between Micro Typing System Gel Card and Conventional Tube Techniques for Cross Matching in a Tertiary Care Centre. *International Journal of Science and Research*. 2020; 9:1356-1359.
- Singh R, Garg P, Kumar P, Sucheta, Babra M. (2020). Comparison between conventional tube method and gel card technique for blood cross matching: A study in a tertiary care center of north India. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(4), 6500–6503. Retrieved from <https://ijrps.com/home/article/view/1650>.
- Swarup C, Dhot B, Kotwal Lt, Verma Lt. 2008. Comparative Study of Blood Cross Matching Using Conventional Tube and Gel Method. *MJAFI*, Vol. 64, No. 2, 2008.
- Taksali R, Somani.S, Jivrag A, Bhale C. Gel Tube Method and Manual Method for Coomb's TestStudy of Pros and Cons: *International Journal of current Medical and Applied sciences*; 2016, 10(1), 11-14.

World Health Organization. 2009. Safe Blood and Blood Product
“Blood Group Serology, Module 3”. Geneva, Switzerland.
WHO Press.

TENTANG PENULIS



Yuli Astuti, A. P.TTD., S.ST., M.K.M.

lahir di Sragen, pada 12 Juli 1990. Lulusan D-1 Teknologi Transfusi Darah Poltekkes BSI Yogyakarta, D-IV Kebidanan Universitas Padjadjaran Bandung dan S-2 Universitas Sebelas Maret Surakarta. Saat ini menjadi Dosen Tetap dan Sekertaris Program Studi Teknologi Bank Darah (D-3) Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Aktif menulis di beberpa jurnal ilmiah dan menulis buku Bahan Ajar Teknologi Bank Darah (TBD) : Karya Tulis Ilmiah terbitan Kementian Kesehatan RI.

BAB 7

BASIL TAHAN ASAM (BTA)

Yulianto Ade Prasetya, S.Si., M.Si.

A. Sejarah Singkat

Penemuan basil tahan asam yang merupakan salah satu penyebab penyakit tuberkulosis (TBC) dikaitkan erat dengan sejarah menarik dalam ilmu kedokteran dan mikrobiologi medik. Pada zaman dahulu, bakteri ini dikenal dengan nama *Bacillus tuberculosis* yang pada saat ini kita kenal dengan sebutan *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri penyebab TBC ini pertama kali diidentifikasi oleh seorang ilmuwan Jerman yang bernama Robert Koch pada tahun 1882. Temuan pada tahun tersebut menjadikan tonggak penting dalam pemahaman tentang penyakit TBC hingga saat ini.

Tuberkulosis telah dikenal sejak zaman kuno, akan tetapi belum ada pengetahuan tentang agen penyebab penyakit tersebut hingga abad ke-19. Pada tahun 1882 barulah oleh seorang ilmuwan bernama Robert Koch yang merupakan ahli mikrobiologis asal Jerman yang menemukan bakteri ini. Koch melakukan isolasi dan identifikasi bakteri penyebab TBC dari sampel sputum pasien yang terinfeksi. Bakteri ini kemudian dinamakan sebagai *Bacillus tuberculosis*. Koch menemukan juga bahwa bakteri ini unik yang membedakannya dengan bakteri lain, salah satunya adalah ketahanannya terhadap pewarnaan asam. Koch telah mendapatkan nobel dalam bidang kedokteran pada tahun 1905 karena penemuannya yang revolusioner tersebut.

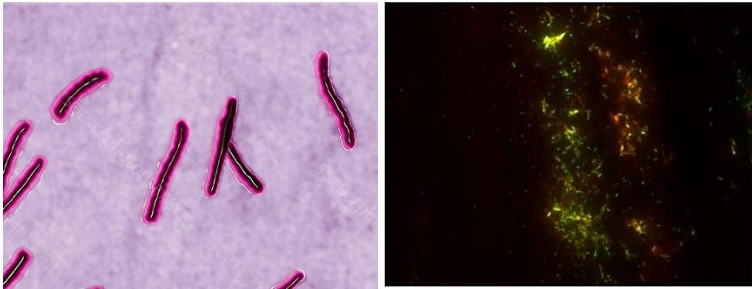
Penemuan Robert Koch menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya dalam memahami TBC, termasuk pengembangan alat diagnostik, vaksinasi, dan pengembangan antibiotik untuk pengobatan TBC. Penemuan awal Koch menunjukkan bahwa pentingnya pendekatan ilmiah dalam memahami dan mengatasi penyakit menular lain yang disebabkan oleh mikroorganisme.

B. *Mycobacterium tuberculosis*

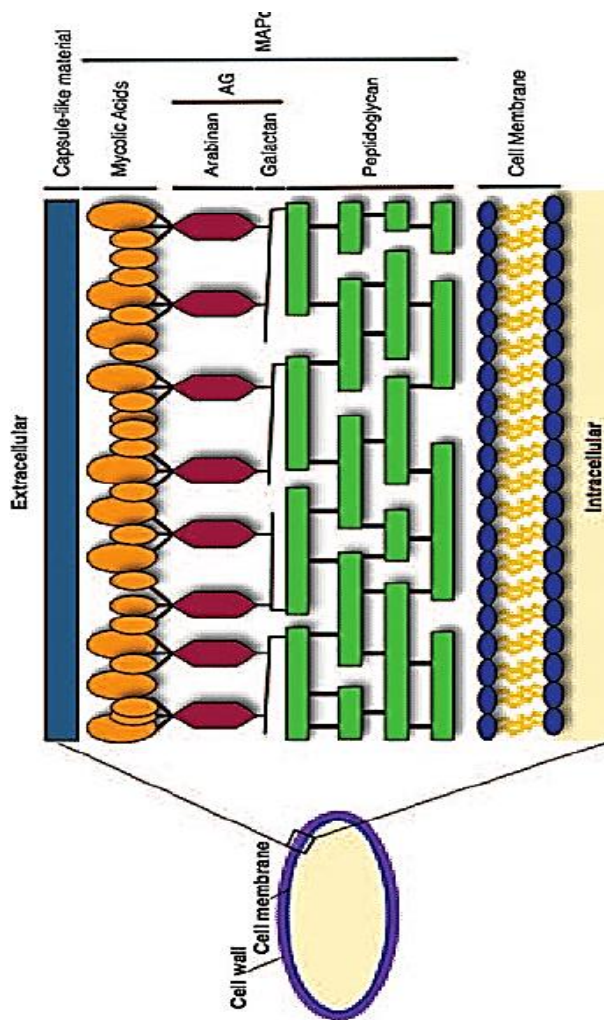
Mycobacterium tuberculosis (Gambar 7.1) merupakan bakteri patogen yang menyebabkan tuberculosis pada manusia. Morfologi mikroskopis pada bakteri ini berupa batang lurus dan tipis dengan ukuran $0.4 \times 3 \mu\text{m}$, tidak memiliki flagela (non motil), tidak memiliki spora, dan bukan termasuk bakteri Gram positif maupun negatif. Bakteri ini hanya dapat diwarnai dengan pewarnaan khusus yaitu tahan asam seperti Ziehl-Neelsen atau auramine-rhodamine dengan hasil berupa batang panjang berwarna merah muda. Hal ini berkaitan dengan lapisan dinding sel bakteri *M. tuberculosis* yang berbeda dengan bakteri yang lainnya

Dinding sel bakteri (Gambar 7.2) ini mengandung jumlah lipid yang tinggi, terutama asam mikolat. Lipid ini memberikan dinding selnya ketahanan terhadap desikasi (kehilangan air), perubahan pH, tekanan osmotik, serta berkontribusi terhadap resistensi beberapa antibiotik. Asam mikolat merupakan komponen utama yang hanya dapat diwarnai dengan pewarna asam (seperti Ziehl-Neelsen atau auramine-rhodamine). Bakteri ini memiliki lapisan peptidoglikan yang sedikit, selain itu bakteri ini juga memiliki asam arakat yang berfungsi untuk memberikan kekakuan pada dinding sel dan resistensi terhadap perubahan lingkungan. Glikolipid seperti lipoarabinomannan (LAM) dan lipomannan (LM) merupakan komponen penting lainnya yang berperan dalam interaksi bakteri dengan host (termasuk manusia) dan penghindaran terhadap respon kekebalan inang. Dinding sel *M. tuberculosis* terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan luar, periplasma, dan membran sitoplasma.

Bakteri penyebab TBC ini termasuk aerob obligat yang artinya mutlak memerlukan oksigen untuk pertumbuhan dan metabolisme. Walaupun bakteri ini tidak bisa hidup dalam kondisi kurang oksigen, namun bakteri ini memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrem seperti suhu rendah, pH rendah, dan tekanan osmotik yang tinggi. Kemampuan tersebut memungkinkan bakteri untuk hidup bertahan di berbagai lingkungan, termasuk dalam tubuh manusia.



Gambar 7.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang diwarnai dengan Ziehl Neelsen (kiri) dan Auramine-Rhodamine (kanan)



Gambar 7.2 Struktur Dinding Sel Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

C. Tahapan Pra-Analitik Pemeriksaan Basil Tahan Asam

Tahapan pra-analitik pada pemeriksaan basil tahan asam sangat penting sebelum dilakukan analisa di laboratorium. Langkah persiapan sampel penting untuk memastikan kualitas dan integritas sampel, serta meminimalkan resiko kontaminasi silang. Berikut langkah yang dilakukan dalam pemeriksaan basil tahan asam.

1. **Pengumpulan sampel.** Sampel yang diperlukan untuk pemeriksaan basil tahan asam dapat berupa sputum, cairan tubuh, atau jaringan dari pasien yang diduga terinfeksi tuberkulosis. Hal penting yang harus diperhatikan pada pengumpulan sampel yang benar dan steril serta dapat berupa wadah yang bermulut lebar (Gambar 7.3). Pada pemeriksaan TBC, dilakukan metode pengumpulan pasien yang dikenal dengan metode sewaktu pagi sewaktu (SPS) yang berguna untuk meningkatkan sensitifitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Sampel sewaktu artinya sampel yang pertama dikumpulkan pada saat pasien datang pertama kali ke fasilitas kesehatan. Sampel pagi artinya pasien diminta untuk mengumpulkan sputum di pagi hari setelah bangun tidur. Pada sampel sewaktu artinya sampel kedua dikumpulkan pada waktu yang sama dengan sampel pertama, biasanya beberapa jam setelah sampel pagi.
2. **Pengolahan sampel.** Sampel yang telah dikumpulkan dari pasien, beberapa mungkin membutuhkan pengolahan sebelum dianalisis. Beberapa kasus tertentu, sputum harus diencerkan terlebih dahulu atau harus dibagi sampelnya untuk pemeriksaan lain seperti kultur bakteri.
3. **Labeling dan identifikasi.** Setiap sampel harus dilabel dengan benar untuk mengidentifikasi pasien, jenis sampel, dan informasi penting lainnya. Labeling yang tepat, penting untuk menghindari kesalahan dalam pengolahan dan analisis sampel.
4. **Kontrol kualitas.** Sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, kontrol kualitas harus dilakukan untuk memastikan bahwa semua prosedur sudah dilakukan dengan benar dan sampel

siap untuk dianalisis. Tahap ini dapat melibatkan penggunaan kontrol positif dan negatif untuk memverifikasi kinerja metode analisis.

5. **Pengiriman sampel ke Laboratorium.** Apabila semua tahap pra analitik sudah selesai dilakukan sesuai prosedur, maka sampel siap dikirim ke laboratorium untuk dilakukan analisis lebih lanjut, seperti pemeriksaan mikroskopis atau kultur bakteri.

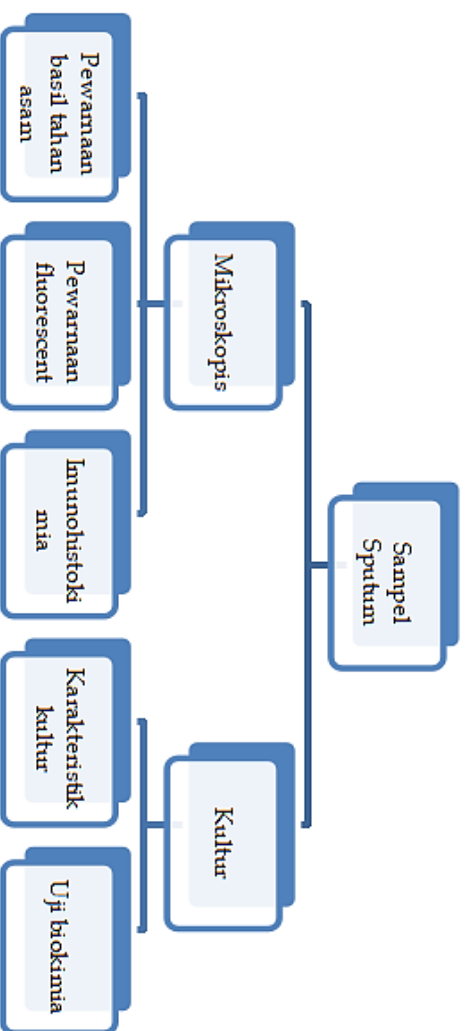
Tahap pra analitik sangat penting dalam memastikan keakuratan dan realibilitas hasil pemeriksaan basil tahan asam. Kesalahan atau ketidaktepatan dalam tahap ini dapat mengarah pada hasil yang tidak akurat dan mengganggu proses diagnosis dan pengobatan pasien.



Gambar 7.3 Wadah Steril Untuk Menampung Sputum Pasien

D. Tahapan Analitik

Tahap analitik dalam pemeriksaan basil tahan asam meliputi serangkaian prosedur laboratorium yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan bakteri dalam sampel sputum atau jaringan pasien. Tahap analitik untuk diagnosis laboratorium pada basil tahan asam dapat dilihat secara rinci pada gambar 7.4.

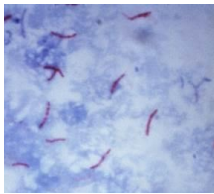


Gambar 7.4 Tahap Analitik Diagnosis Pemeriksaan Tuberkulosis

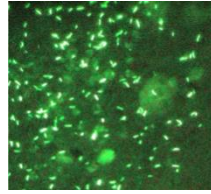
E. Tahap Analitik Metode Mikroskopis

Metode ini seringkali digunakan untuk diagnosis penderita terduga tuberkulosis karena memberikan hasil yang cepat dibandingkan dengan kultur. Pada pewarnaan mikroskopis secara umum terdapat tiga macam yang bisa dilakukan dengan hasil pewarnaan yang dapat dilihat pada gambar 7.5.

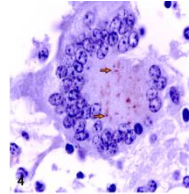
1. **Pewarnaan tahan asam/ acid fast.** Pada pewarnaan tahan asam terdapat banyak macam yang dapat dilakukan
 - a. **Pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN).** Metode ini menggunakan larutan karbol fuchsin sebagai pewarna utama. Sampel yang sudah diberi pewarnaan kemudian dilakukan dekolorisasi dengan larutan campuran asam dan alkohol. Basil tahan asam akan tetap mempertahankan warna merah muda dari karbol fuchsin, sementara komponen lain dalam sampel menjadi tidak berwarna setelah dilakukan dekolorisasi.
 - b. **Pewarnaan Kinyoun.** Metode ini mirip dengan pewarnaan ZN, tetapi karbol fuchsin yang digunakan dimodifikasi dengan tambahan bahan pengikat surfaktan. Hal ini membuat metodenya lebih sensitif dibandingkan dengan metode ZN dan hasil yang dibaca dalam waktu yang relatif lebih singkat.
2. **Pewarnaan Fluoresen Auramine-Rhodamine.** Metode ini menggunakan pewarna fluoresen, seperti auramine O dan rhodamine B. Basil tahan asam diwarnai dan kemudian dilakukan dekolorisasi dengan larutan asam. Hasil pada mikroskop akan menunjukkan pendaran warna hijau fluoresen.
3. **Imunohistokimia.** Teknik ini menggunakan antibodi spesifik terhadap antigen *Mycobacterium tuberculosis* untuk deteksi bakteri dalam jaringan atau sampel biopsi. Sampel diinkubasi dalam antibodi yang dilabeli, yang berkaitan dengan antigen spesifik *M. tuberculosis*. Sampel **kemudian** diamati di bawah mikroskop dan keberadaan basil tahan asam ditandai oleh sinyal positif dari antibodi yang dilabel.



**Pewarnaan Ziehl
Neelsen**



**Pewarnaan
Fluorescent**



Imunohistokimia

Gambar 7.5 Hasil Pewarnaan *Mycobacterium tuberculosis*

F. Tahap Analitik Metode Kultur dan Biokimia

Jika pemeriksaan mikroskopis tidak menunjukkan hasil yang jelas atau jika hasilnya negatif tetapi masih ada kecurigaan akan infeksi, maka sampel sputum dapat ditanam atau dikultur pada media yang sesuai. Metode ini membutuhkan waktu yang lama karena bakteri ini termasuk non-fastidious dalam melakukan replikasi sel. Beberapa media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *M. tuberculosis* adalah sebagai berikut dengan hasil koloni yang dapat dilihat pada Gambar 7.6.

- 1. Lownstein Jensen (LJ) agar.** Media padat yang mengandung telur ayam sebagai sumber protein untuk pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*, asam malat sebagai sumber karbon, asam sitrat untuk mengontrol pH medium, gliserol sebagai sumber karbon tambahan, natrium kalium sebagai sumber nitrogen, dan malakit hijau sebagai agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain yang tidak diinginkan. Koloni yang dihasilkan selama 30 hari masa inkubasi berupa warna kuning atau krem yang khas.
- 2. Middlebrook 7H10/7H11 agar.** Media ini mengandung asam aspratat dan asam glutamate sebagai sumber nitrogen dan karbon, glukosa sebagai sumber karbon, natrium klorida untuk keseimbangan osmotik, ferro sulfat dan zink sulfat sebagai sumber zat besi dan seng, dan albumin serum sebagai sumber nutrisi dan faktor pertumbuhan. Pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* relatif lebih cepat dibandingkan

dengan media LJ yaitu selama 25-28 hari. Koloni yang dihasilkan berupa warna krem dan sedikit kering



Lownstein Jensen agar Middlebrook 7H10/7H11 agar

Gambar 7.6 Hasil Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Pada pengujian biokimia biasanya digunakan untuk mengidentifikasi dan membedakan *Mycobacterium tuberculosis* dari spesies *Mycobacterium* lainnya. Beberapa uji biokimia yang umum dilakukan di laboratorium, antara lain:

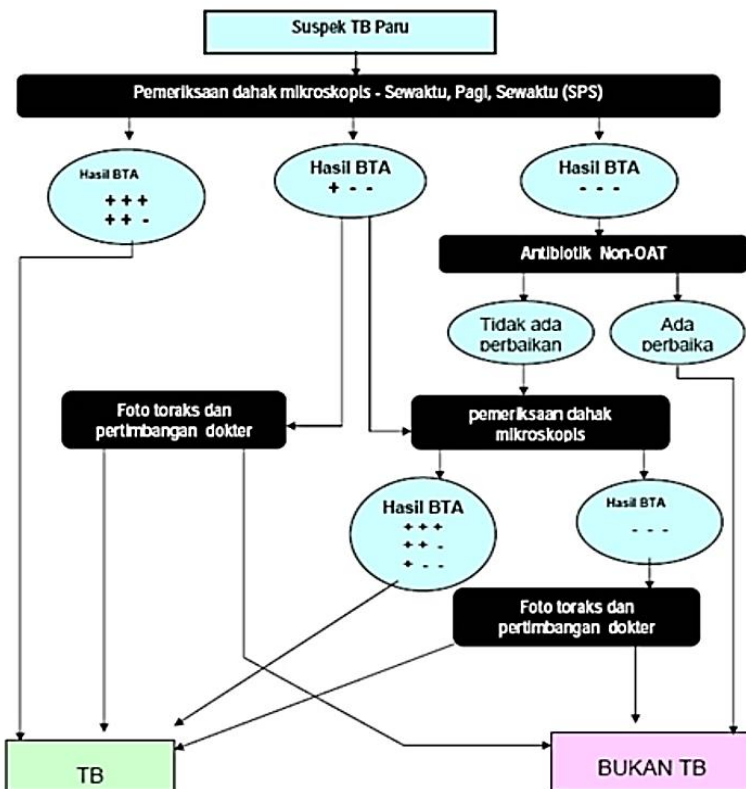
1. **Uji niasin.** *M. tuberculosis* biasanya positif dalam uji ini dengan menghasilkan niasin sebagai produk metabolitnya.
2. **Uji nitrat.** Bakteri ini tidak dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit.
3. **Uji katalase.** Bakteri *M. tuberculosis* biasanya positif dengan menghasilkan gelembung gas oksigen ketika hidrogen peroksida ditambahkan.
4. **Uji sensitivitas terhadap asam dan alkali.** Bakteri ini resisten terhadap asam yang dapat dilakukan dengan mewarnai sel bakteri dengan pewarna asam.
5. **Uji sitrat.** Bakteri *M. tuberculosis* tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

G. Tahap Pasca Analitik

Tahap pasca analitik dalam pemeriksaan tuberkulosis melibatkan interpretasi hasil dari berbagai tes diagnostik yang telah dilakukan dan tindak lanjut yang sesuai dengan hasil tersebut. Interpretasi hasil pada pemeriksaan mikroskopiis pada lapang pandang dapat menggunakan skala *international union against tuberculosis and lung disease* (IUATLD) dengan rincian sebagai berikut:

1. Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang disebut negatif
2. Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang, ditulis jumlah kuman yang ditemukan
3. Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang disebut positif satu (1+)
4. Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang disebut positif dua (2+)
5. Ditemukan > 10 BTA dalam 1 lapang pandang disebut positif 3 (3+)

Pada metode sewaktu pagi sewaktu dapat dilihat interpretasi hasilnya pada Gambar 7.7 sebagai berikut.



Gambar 7.7 Interpretasi hasil metode sewaktu pagi sewaktu

H. Uji Tambahan Pemeriksaan Basil Tahan Asam

Beberapa uji tambahan diperlukan untuk menegaskan diagnosis pemeriksaan basil tahan asam, yaitu:

1. **Anamnesis dan pemeriksaan fisik.** Dokter akan melakukan wawancara medis secara menyeluruh untuk mencari gejala klinis yang mungkin berkaitan dengan tuberkulosis seperti batuk berkepanjangan, demam, kehilangan berat badan, dan keringat malam. Pemeriksaan fisik juga dilakukan untuk mencari tanda-tanda fisik yang khas dari tuberkulosis, seperti pembesaran kelenjar limfa dan gejala peningkatan bekerja paru.
2. **Tes molekular.** Metode molekular menggunakan *polymerase chain reaction (PCR)* dapat digunakan untuk mendeteksi DNA dengan sensitivitas yang tinggi dan spesifitas yang baik. Namun beberapa laboratorium mungkin tidak tersedia sehingga dapat dipertimbangkan untuk mengirimkan sampel dengan instrumen PCR yang tersedia.
3. **Evaluasi radiologi.** Pemeriksaan radiologi seperti foto rontgen dada atau CT scan dapat menunjukkan gambaran karakteristik tuberkulosis seperti lesi kaviter, infiltrat, atau pembesaran kelenjar limfa mediastinum.
4. **Tes tuberkulin (Mantoux).** Metode ini dilakukan dengan menyuntikkan secara intrakutan berupa protein kuman TB dengan antigenik yang kuat. Tuberkulin yang dipakai biasanya PPD RT-23 2 TU atau PPD-S (Siebert). Pembacaan hasil dilakukan 48-72 jam setelah dilakukan penyuntikan dengan mengukur diameter indurasi. Interpretasi hasil berupa negatif (diameter 0-4 mm), positif meragukan karena kesalahan teknis (diameter 5-9 mm), dan positif (diameter > 10 mm).
5. **Evaluasi tambahan.** Jika diperlukan, tes tambahan seperti tes darah untuk mengetahui tingkat penanda inflamasi (seperti tingkat C-reactive protein atau sedimentasi eritrosit) atau fungsi hati (misalnya tes enzim hati) untuk menilai tingkat keparahan infeksi dan efek samping pengobatan.

I. Pengendalian Mutu Pemeriksaan Basil Tahan Asam

Pengendalian mutu dalam pemeriksaan basil tahan asam (BTA) penting untuk memastikan hasil yang akurat, konsisten, dan dapat diandalkan dalam diagnosis tuberkulosis. Berikut beberapa langkah yang perlu diambil dalam pengendalian mutu pemeriksaan BTA.

- 1. Pemeliharaan dan kalibrasi peralatan.** Pastikan bahwa mikroskop, oven, inkubator, dan peralatan laboratorium lainnya yang digunakan dalam pemeriksaan BTA dipelihara secara teratur dan dikalibrasi sesuai dengan standar yang ditetapkan.
- 2. Pemeliharaan stok reagen.** Simpan dan gunakan reagen (seperti pewarna asam) sesuai dengan petunjuk produsen dan pastikan bahwa stok reagen selalu segar dan tidak kadaluwarsa.
- 3. Kontrol Kualitas Internal.** Lakukan pemeriksaan kontrol kualitas internal secara teratur menggunakan sampel kontrol yang telah diketahui hasilnya. Hal ini membantu memastikan bahwa prosedur pemeriksaan BTA berfungsi dengan baik dan memberikan hasil yang konsisten.
- 4. Partisipasi dalam program eksternal untuk evaluasi kinerja laboratorium (*Proficiency Testing*).** Laboratorium harus berpartisipasi dalam program eksternal untuk evaluasi kinerja laboratorium yang diselenggarakan oleh lembaga yang terakreditasi.
- 5. Pemeriksaan silang.** Lakukan pemeriksaan silang antara pemeriksa laboratorium untuk memastikan konsisten dalam interpretasi hasil pemeriksaan BTA.
- 6. Penggunaan Kontrol Positif dan Negatif.** Gunakan kontrol positif (sampel dengan kandungan *Mycobacterium tuberculosis*) dan kontrol negatif (non-MTB) dalam setiap siklus pemeriksaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, B., Acharya, A., Gautam, S., Ghimire, S.P., Mishra, G., Parajuli, N. and Sapkota, B., 2020. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis. *Molecular biology reports*, 47, pp.4065-4075.
- Fujiwara, M., Kawasaki, M., Hariguchi, N., Liu, Y. and Matsumoto, M., 2018. Mechanisms of resistance to delamanid, a drug for Mycobacterium tuberculosis. *Tuberculosis*, 108, pp.186-194.
- Gagneux, S., 2018. Ecology and evolution of Mycobacterium tuberculosis. *Nature Reviews Microbiology*, 16(4), pp.202-213.
- Goering, R., Dockrell, H.M., Zuckerman, M. and Chiodini, P.L., 2018. Mims' Medical Microbiology and immunology: Mims' Medical Microbiology and immunology. Elsevier Health Sciences.
- Jacobs Jr, W.R., McShane, H., Mizrahi, V. and Orme, I.M. eds., 2020. Tuberculosis and the tubercle bacillus. John Wiley & Sons.
- Koch, A. and Mizrahi, V., 2018. Mycobacterium tuberculosis. *Trends in microbiology*, 26(6), pp.555-556.
- Leber, A.L., 2020. Clinical microbiology procedures handbook. John Wiley & Sons.
- Mahon, C.R. and Lehman, D.C., 2022. Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book: Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book. Elsevier Health Sciences.
- Sastry, A.S. and Bhat, S., 2018. Essentials of medical microbiology. JP Medical Ltd.
- Simmons, J.D., Stein, C.M., Seshadri, C., Campo, M., Alter, G., Fortune, S., Schurr, E., Wallis, R.S., Churchyard, G., Mayanja-Kizza, H. and Boom, W.H., 2018. Immunological mechanisms of human resistance to persistent Mycobacterium

tuberculosis infection. *Nature Reviews Immunology*, 18(9), pp.575-589.

Sussman, M., 2023. *Molecular medical microbiology*. Academic press.

VanMeter, K.C. and Hubert, R.J., 2021. *Microbiology for the healthcare professional-e-book*. Elsevier Health Sciences.

Zhai, W., Wu, F., Zhang, Y., Fu, Y. and Liu, Z., 2019. The immune escape mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis*. *International journal of molecular sciences*, 20(2), p.340

TENTANG PENULIS



Yulianto Ade Prasetya, S.Si., M.Si.

merupakan tenaga pendidik yang berasal dari Universitas Anwar Medika Sidoarjo. Dosen dengan jabatan akademik Lektor 300 golongan III-C ini sudah menyelesaikan pendidikan S1 Biologi Fakultas MIPA di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya dan S2 Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Fakultas Kedokteran di Universitas Airlangga serta sedang menempuh pendidikan S3 Fakultas Biologi di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penulis dengan *homebase* pada program studi D3 Teknologi Laboratorium Medis (TLM) ini fokus pada penelitian bidang mikrobiologi, bioteknologi, dan metagenomik.

BAB 8

PEMBUATAN INDIKATOR

Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si.

A. Pendahuluan

Larutan indikator adalah larutan yang mengandung senyawa indikator, yang digunakan untuk menunjukkan atau mengukur perubahan pH atau titik akhir suatu reaksi kimia (Mills et al., 2023). Larutan indikator digunakan dalam berbagai jenis analisis kimia dan titrasi untuk memberikan informasi visual atau kuantitatif tentang kondisi atau perubahan yang sedang diamati dalam sampel (Köksal et al., 2023).

Secara umum, larutan indikator terdiri dari senyawa organik atau anorganik yang dapat mengalami perubahan warna pada rentang pH tertentu (Khezerlou et al., 2023). Perubahan warna ini disebabkan oleh perubahan struktur molekul atau perubahan konjugasi elektronik saat terjadi perubahan pH dalam larutan (Indira, 2015).

Larutan indikator yang umum digunakan dalam laboratorium antara lain fenolftalein, metil jingga, metil merah, bromtimol biru, bromtimol ungu, phenol red, dan lain sebagainya (Funnekotter et al., 2023). Pemilihan larutan indikator yang tepat tergantung pada tujuan analisis, rentang pH yang ingin diukur, kepekaan terhadap perubahan pH, dan karakteristik titrasi atau analisis kimia yang dilakukan (Jia et al., 2023).

Larutan indikator juga digunakan untuk menentukan titik akhir suatu reaksi kimia atau untuk mengindikasikan keberadaan atau konsentrasi suatu zat dalam sampel. Larutan

ini sering digunakan dalam berbagai jenis uji kimia dan analisis laboratorium untuk memberikan informasi visual atau kuantitatif tentang kondisi atau perubahan yang sedang diamati.

Sebagai contoh, dalam titrasi asam-basa, larutan indikator seperti fenolftalein dan metil merah dapat ditambahkan ke dalam larutan yang dititrasi. Perubahan warna yang terjadi pada titik akhir titrasi menandakan bahwa reaksi telah selesai atau titik ekuivalen telah tercapai. Selain itu, dalam analisis kualitatif dan kuantitatif, larutan indikator juga digunakan untuk mengukur konsentrasi atau keberadaan zat tertentu dalam sampel. Larutan indikator sangat penting dalam laboratorium karena membantu menghasilkan hasil yang akurat dan dapat dipercaya dalam analisis kimia dan uji laboratorium lainnya.

Indikator umumnya tergolong senyawa organik karena senyawa-senyawa organik cenderung memiliki sifat-sifat yang dapat digunakan sebagai indikator pH (Agustina et al., 2022). Berikut beberapa alasan indikator dibuat dari senyawa organik :

1. Perubahan Warna: Senyawa organik sering kali memiliki gugus fungsional yang dapat mengalami perubahan struktural atau perubahan konjugasi elektronik saat terjadi perubahan pH. Perubahan ini dapat menyebabkan perubahan warna yang mudah diamati, yang merupakan kualitas penting untuk indikator.
2. Kepekaan terhadap pH: Senyawa organik dapat dirancang atau dipilih untuk memiliki kepekaan yang tinggi terhadap perubahan pH di sekitar titik perubahan warnanya. Hal ini memungkinkan indikator untuk memberikan respons yang tajam pada perubahan pH yang diinginkan.
3. Stabilitas: Sebagian besar senyawa organik yang digunakan sebagai indikator cukup stabil dalam larutan dan dapat digunakan secara berulang tanpa mengalami degradasi yang signifikan.
4. Kelarutan: Banyak senyawa organik yang digunakan sebagai indikator memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut yang umum digunakan dalam analisis kimia, seperti air atau pelarut organik yang kompatibel.

5. Reaktivitas: Senyawa organik dapat dirancang untuk bereaksi secara spesifik dengan ion H^+ atau OH^- dalam larutan, memberikan indikasi yang jelas tentang perubahan pH.

Meskipun indikator umumnya berasal dari senyawa organik, ada juga indikator anorganik seperti lakmus yang digunakan secara luas dalam pengujian pH. Namun, keunggulan senyawa organik dalam hal perubahan warna yang jelas dan kepekaan terhadap perubahan pH membuatnya menjadi pilihan utama dalam banyak aplikasi analisis kimia.

B. Jenis Indikator

Berdasarkan fungsinya, indikator dapat dikelompokkan menjadi beberapa kategori utama. Beberapa kelompok indikator berdasarkan fungsinya:

1. Indikator Asam-Basa: Indikator ini digunakan untuk menentukan titik akhir titrasi asam-basa. Mereka mengalami perubahan warna pada titik tertentu ketika pH larutan berubah dari asam ke basa atau sebaliknya. Contoh indikator asam-basa adalah fenolftalein, metil jingga, metil merah, bromtimol biru, dan bromtimol ungu.
2. Indikator Redoks: Indikator ini digunakan dalam titrasi redoks untuk menentukan titik akhir reaksi redoks. Mereka mengalami perubahan warna saat terjadi perubahan oksidasi-reduksi dalam larutan. Contoh indikator redoks adalah larutan permanganat potasium ($KMnO_4$) dan larutan iodin (I_2) yang digunakan dalam iodometri dan iodimetri.
3. Indikator Kompleksometri: Indikator ini digunakan dalam titrasi kompleksometri untuk menunjukkan titik akhir formasi kompleks antara ion logam dan ligan. Contoh indikator kompleksometri adalah Eriochrome Black T (EBT) dan Calmagite yang digunakan dalam penentuan kadar ion logam.
4. Indikator Pengendapan (adsorpsi)
5. Indikator Pendar fluor (indicator fluoresen)
6. Kulometrik: berupa elektroda pembanding-indikator)

C. Langkah Pemilihan Indikator

Menentukan dan memilih indikator yang tepat adalah langkah kunci dalam analisis kimia yang akurat dan dapat diandalkan. Berikut adalah beberapa langkah umum untuk menentukan dan memilih indikator:

1. Tentukan Tujuan Analisis: Pertama-tama, tentukan tujuan analisis yang ingin dicapai. Apakah Anda ingin menentukan titik akhir titrasi asam-basa, mengukur pH suatu larutan, atau mengidentifikasi keberadaan zat tertentu dalam sampel?
2. Kenali Rentang pH: Tentukan rentang pH yang akan dianalisis. Misalnya, apakah Anda akan beroperasi di lingkungan asam, netral, atau basa? Hal ini akan membantu Anda memilih indikator yang memiliki titik perubahan warna yang sesuai dengan rentang pH tersebut.
3. Pilih Indikator yang Tepat: Berdasarkan tujuan analisis dan rentang pH, pilih indikator yang tepat. Periksa karakteristik perubahan warna indikator dan pastikan bahwa titik perubahan warnanya sesuai dengan titik akhir reaksi atau kondisi yang ingin Anda deteksi.
4. Uji sensitivitas indikator dengan larutan standar untuk melihat perubahan warna pada rentang pH yang diinginkan. Pastikan bahwa indikator menunjukkan reaksi yang jelas dan tajam pada titik perubahan warna.
5. Perhatikan Selektivitas: Jika analisis melibatkan interaksi dengan zat-zat lain, perhatikan selektivitas indikator. Pastikan bahwa indikator tidak bereaksi dengan komponen lain dalam sampel yang dapat mengganggu hasil analisis.
6. Konsultasi Referensi: Gunakan referensi kimia atau literatur yang terpercaya untuk memperoleh informasi lebih lanjut tentang indikator yang ingin Anda gunakan. Periksa karakteristik, rentang pH, kepekaan, dan selektivitas indikator tersebut dalam referensi yang tersedia.
7. Validasi dan Verifikasi: Setelah memilih indikator, lakukan validasi dan verifikasi dengan melakukan pengujian di laboratorium. Pastikan bahwa indikator memberikan hasil

yang konsisten dan akurat sesuai dengan tujuan analisis yang ditetapkan.

D. Peran pH dalam Pembuatan Indikator

pH sangat berperan dalam penentuan indikator karena indikator sering kali digunakan untuk mengukur atau menunjukkan perubahan pH dalam sebuah larutan. pH sendiri adalah ukuran keasaman atau kebasaan suatu larutan, yang ditentukan oleh konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam larutan tersebut (Nur Yusaerah, 2022). Peran penting pH dalam penentuan indikator dapat dijelaskan dengan beberapa alasan:

1. **Titik Warna Indikator:** Indikator cenderung mengalami perubahan warna pada titik tertentu yang berkaitan dengan pH larutan. Misalnya, fenolftalein berubah warna saat mencapai pH sekitar 8, sementara metil jingga berubah warna pada pH sekitar 3.5 hingga 4.5. Oleh karena itu, dengan mengetahui pH larutan yang akan diuji, Anda dapat memilih indikator yang tepat untuk mendeteksi perubahan tersebut.
2. **Rentang Efektivitas:** Setiap indikator memiliki rentang pH di mana mereka paling efektif dalam menunjukkan perubahan warna. Misalnya, fenolftalein efektif pada pH basa sedangkan lakmus lebih efektif pada rentang pH asam-basa. Dengan mengetahui rentang efektivitas indikator, Anda dapat memilih yang sesuai dengan pH yang akan diuji.
3. **Kepekaan Terhadap Perubahan:** Indikator cenderung lebih sensitif terhadap perubahan pH di sekitar titik perubahan warnanya. Sebagai contoh, indikator seperti metil merah dapat menunjukkan perubahan warna yang tajam pada perubahan pH yang relatif kecil, sehingga cocok untuk titrasi yang membutuhkan kepekaan tinggi terhadap perubahan pH.
4. **Kesesuaian dengan Titrasi:** Dalam proses titrasi asam-basa, penentuan indikator yang tepat sangat penting untuk menentukan titik ekuivalen atau titik akhir titrasi. Indikator

yang dipilih harus memiliki titik perubahan warna yang sesuai dengan titik akhir reaksi kimia yang ingin diukur.

E. Pemilihan Larutan Indikator

Idealnya, larutan indikator yang baik adalah larutan indikator yang dapat berubah warna ketika pH berada pada titik ekuivalen (Putri, 2021). Beberapa contoh indikator dapat dilihat pada tabel 8.1.

Tabel 8.1 Perubahan Warna Indikator Sesuai pH

Indicator	Low pH color	Transition pH range	High pH color
Gentian violet (Methyl violet 10B)	yellow	0.0–2.0	blue-violet
Leucomalachite green (first transition)	yellow	0.0–2.0	green
Leucomalachite green (second transition)	green	11.6–14	colorless
Thymol blue (first transition)	red	1.2–2.8	yellow
Thymol blue (second transition)	yellow	8.0–9.6	blue
Methyl yellow	red	2.9–4.0	yellow
Bromophenol blue	yellow	3.0–4.6	purple
Congo red	blue-violet	3.0–5.0	red
Methyl orange	red	3.1–4.4	orange
Bromocresol green	yellow	3.8–5.4	blue
Methyl red	red	4.4–6.2	yellow
Methyl red	red	4.5–5.2	green
Azolitmin	red	4.5–8.3	blue
Bromocresol purple	yellow	5.2–6.8	purple
Bromothymol blue	yellow	6.0–7.6	blue
Phenol red	yellow	6.8–8.4	red
Neutral red	red	6.8–8.0	yellow
Naphtholphthalein	colorless to reddish	7.3–8.7	greenish to blue
Cresol Red	yellow	7.2–8.8	reddish-purple
Phenolphthalein	colorless	8.3–10.0	fuchsia
Thymolphthalein	colorless	9.3–10.5	blue
Alizarine Yellow R	yellow	10.2–12.0	red
Litmus	red	4.5-8.3	blue

F. Pembuatan Larutan Indikator

Pembuatan larutan indikator untuk keperluan analisa di laboratorium dapat menggunakan air atau etanol 70-90% sebagai pelarut (Pilat et al., 2023). Bila larutan yang terbentuk

keruh, maka dapat dilakukan penyaringan. Jumlah pemakaian indikator pada tiap uji sebanyak 2-3 tetes (Prakobdi & Saetear, 2023).

1. Pembuatan larutan indikator asam-basa (Putri, 2022) :

- a. Methyl Orange
Cara pembuatan: 0,05 gram Methyl Orange dilarutkan dengan Aquades sampai volume 100 mL.
- b. Methyl Red
Cara pembuatan: 0,1 gram Methyl Red dilarutkan dengan Aquades panas sampai volume 100 mL.
- c. Phenolphthalein
Cara pembuatan: 0,5 gram Phenolphthalein dilarutkan dengan Etanol 50 mL dan Aquades 50 mL
- d. Thymolphthalein
Cara pembuatan: 0,04 gram Thymolphthalein dilarutkan dengan Etanol 60 mL dan Aquades 40 mL.
- e. Methyl-Yellow
Cara pembuatan: 0,1 gram Methyl Yellow dilarutkan dengan Etanol 80% sampai volume 100 mL.
- f. Congo Red
Cara pembuatan: 0,1 gram Congo Red dilarutkan dengan Etanol 80% sampai volume 100 mL.
- g. Alizarin Yellow R
Cara pembuatan: 0,05 gram Alizarin Yellow R dilarutkan dengan Etanol 80% sampai volume 100 mL.
- h. Tropaeolin OO
Cara pembuatan: 0,1 gram Tropaeolin OO dilarutkan dengan Aquades sampai volume 100 mL.

2. Pembuatan larutan indikator untuk Iodometri-Iodimetri (Putri, 2022):

- a. Indikator Amilum (kanji)
Cara pembuatan: 1,0 gram amilum disuspensikan dengan 10 mL aquades, selanjutnya dituangkan kedalam 90 mL aquades mendidih sambil diaduk. Didihkan selama 1 menit. Setelah dingin tambahkan 2-3 gram kristal kalium

iodida kemudian diaduk sampai larut, lalu disimpan dalam botol yang tertutup rapat.

Indikator amilum sebaiknya dibuat baru karena mudah rusak yang akan berubah menjadi dekstrin berwarna merah coklat jika ditambah iodium.

Jumlah pemakaian amilum sebanyak 1-2 mL untuk uji analisa.

- b. Indikator Kloroform (CHCl_3) dan Karbon tetraklorida (CCl_4).

3. Pembuatan larutan indikator untuk Argentometri (Nur Yusaerah, et al, 2022):

- a. Indikator kalium kromat 5 %

Cara pembuatan: 5 gram Kalium kromat dilarutkan dengan aquades sampai volume 100 mL.

- b. Indikator ion feri

Cara pembuatan: 20 gram Feri amonium sulfat dilarutkan dengan aquades sampai volume 50 mL. Tambahkan beberapa tetes HNO_3 6 M.

4. Pembuatan larutan indikator untuk kompleksometri disebut juga indikator logam (Sulistiyarti & Mulyasuryani, 2021):

- a. Eriochrome Black T (EBT)/Mordant Black 11

Nama lain (sinonim):

1-(1-Hydroxy-2-naphthylazo)-6-nitro-2-naphthol-4-sulfonic Acid Sodium Salt

Perubahan warna karena pengaruh pH:

pH kurang dari 5,5 = merah

pH 7-11 = biru

pH diatas 11,5 = kuning orange

Dalam bentuk kompleks dengan ion logam berwarna merah. Titrasi dengan indikator EBT dilakukan dalam daerah pH 7-11.

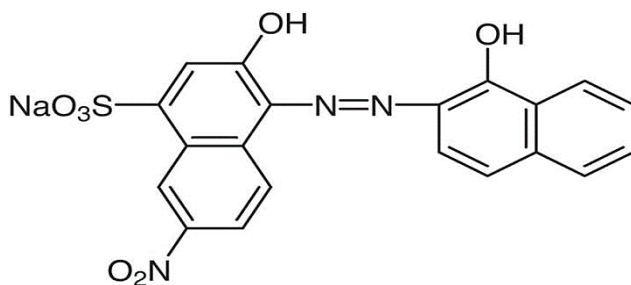
EBT digunakan untuk titrasi ion logam: Mg, Zn, Cd, Hg, Pb (secara titrasi langsung).

Juga untuk logam Cu, Al, Fe, Co, Ni, Pt (secara titrasi kembali).

Rumus kimia: $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$

Berat Molekul: 461,38

Rumus struktur EBT sbb:



Gambar 8.1 Struktur Molekul Eriochrome Black T

Cara pembuatan: 1 gram EBT dan 100 gram KCl dicampur homogen dan disimpan dalam eksikator. Pemakaian 40-50 mgram untuk uji analisa.

Atau:

Cara pembuatan: 400 mgram EBT dilarutkan dalam metanol sampai volume 100 mL

- b. Murexide ($NH_4C_8H_4N_5O_6$ atau $C_8H_5N_5O_6 \cdot NH_3$)

Perubahan warna karena pengaruh pH:

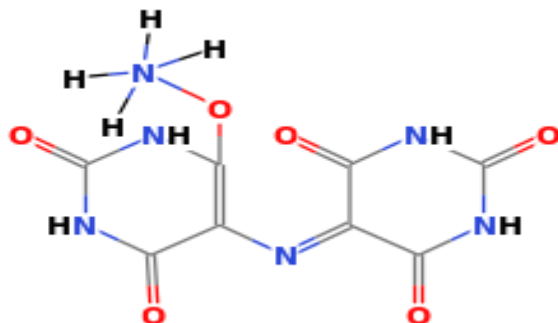
pH kurang dari 9 = merah ungu

pH 9-11 = ungu

pH diatas 11 = biru-ungu atau biru

Digunakan untuk titrasi secara langsung terhadap ion logam: Cu, Ni, Co, Ca.

Titrasi dilaksanakan pada pH 11.



Gambar 8.2 Struktur Molekul Murexide

Pembuatan larutan murexide:

Cara Pembuatan: 500 mgm murexide, ditambah aquades secukupnya sampai terbentuk suspensi, lalu diendapkan. Supernatan yang merupakan larutan jenuh dari murexide dipakai untuk indikator.

Atau:

Cara pembuatan: 200 mgm murexide ditambah 100 gram NaCl dicampur homogen, dimasukkan kedalam wadah dan disimpan dalam eksikator

c. Xylenol Orange ($C_{31}H_{32}N_2O_{13}S$)

Perubahan warna karena pengaruh pH:

pH kurang dari 5,4 = kuning jeruk

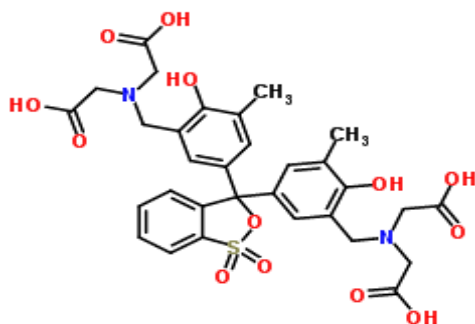
pH 5,4 – 7,4 = merah

Dalam bentuk kompleks dengan ion logam berwarna merah.

Xylenol orange dapat digunakan untuk titrasi secara langsung terhadap ion logam Bi, Zn, Cd, Co, Hg, Mg.

Pembuatan larutan xylenol orange:

Cara pembuatan: 500 mgm xylenol orange dilarutkan dengan aquades sampai volume 100 mL

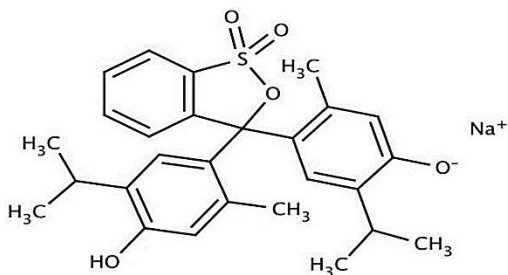


Gambar 8.3 Struktur Molekul Xylenol Orange

- d. Methyl Thymol Blue (MTB) ($C_{37}H_{40}N_2O_{13}SNa_4$)

Indikator ini dapat digunakan untuk titrasi dalam suasana asam maupun basa.

Cara pembuatan: 1 gram Methyl Thymol Blue ditambah kalium nitrat 99 gram

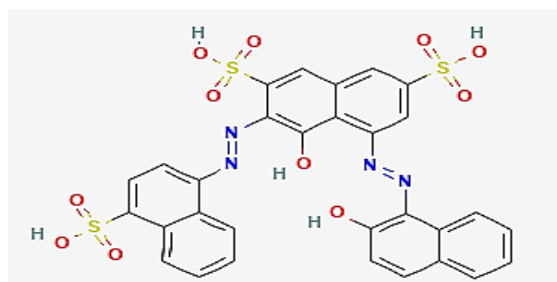


Gambar 8.4 Struktur Molekul Methyl Thymol Blue

- e. Fast Sulphon Black F (FSB)

Indikator ini spesifik untuk titrasi terhadap ion Cu^{2+} .

Cara pembuatan: 500 mgram FSB dilarutkan dengan aquades sampai volume 100 mL

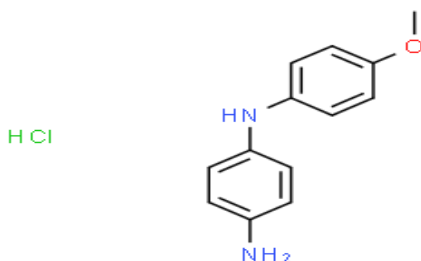


Gambar 8.5 Struktur Molekul Fast Sulphon Black F

f. Variamine Blue ($C_{12}H_{15}$)

Indikator ini digunakan untuk titrasi ion Fe^{3+} dalam suasana asam.

Cara pembuatan: 1 gram variamine Blue dilarutkan dengan aquades sampai volume 100 mL

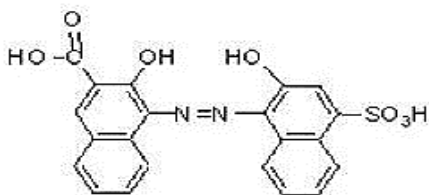


Gambar 8.6 Struktur Molekul Variamine Blue

g. Patton and Reader's / Calconcarboxylic Acid

Indikator ini digunakan untuk titrasi secara langsung terhadap ion Ca^{2+} , terutama yang bercampur dengan ion Mg^{2+} .

Cara pembuatan: 1 gram Patton dan Readers ditambah Natrium sulfat sebanyak 100 gram



Gambar 8.7 Struktur Molekul Patton and Readers

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, R., Rahma, S., & Chrismania Sandhira, A. (2022). Karakteristik Trayek pH Indikator Alami dan Aplikasinya pada Titration Asam dan Basa. *Bivalen: Chemical Studies Journal*, 5(2), 51-56. <http://jurnal.fkip.unmul.ac.id/index.php/bivalen>
- Funnekotter, B., Mancera, R. L., & Bunn, E. (2023). A Simple but Effective Combination of pH Indicators for Plant Tissue Culture. *Plants*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/plants12040740>
- Indira, C. (2015). Pembuatan Indikator Asam Basa Karamunting. *Jurnal Kaunia*, 11(1), 1-2.
- Jia, L., Sun, W., Li, W., Dong, Y., Wu, L., Saldaña, M. D. A., Gao, Y., Jin, Y., & Sun, W. (2023). A colour indicator film based on bromothymol blue/poly-L-lactic acid/polyvinylpyrrolidone for detecting bacteria. *Packaging Technology and Science*, 36(7), 549-556. <https://doi.org/10.1002/pts.2726>
- Khezerlou, A., Alizadeh Sani, M., Tavassoli, M., Abedi-Firoozjah, R., Ehsani, A., & McClements, D. J. (2023). Halochromic (pH-Responsive) Indicators Based on Natural Anthocyanins for Monitoring Fish Freshness/Spoilage. *Journal of Composites Science*, 7(4), 1-13. <https://doi.org/10.3390/jcs7040143>
- Köksal, Ş. S., Öztürk, Z., Alkurt, U., Karatas, D., Güney Eskiiler, G., Çokluk, E., Deveci Ozkan, A., Erkorkmaz, Ü., & Gönüllü, E. (2023). Ab1143 Mir-10B Expression in Psoriatic Arthritis Patients With Dapsa Score Remission or Low Disease Activity. 1801.3-1802. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2023-eular.5536>
- Mills, A., McDonnell, L., & Yusufu, D. (2023). Colorimetric CO₂ Indicators. *Accounts of Materials Research*, 4(7), 570-579. <https://doi.org/10.1021/accountsmr.2c00226>

- Nur Yusaerah, H. J. & others. (2022). Konsep Dasar Kimia Analitik (terjemahan) (Issue May).
www.globaleksekutifteknologi.co.id
- Pilat, F., Schwarz, B., Baumgartner, B., Ristanić, D., Detz, H., Andrews, A. M., Lendl, B., Strasser, G., & Hinkov, B. (2023). Beyond Karl Fischer titration: a monolithic quantum cascade sensor for monitoring residual water concentration in solvents. *Lab on a Chip*, 23(7), 1816–1824.
<https://doi.org/10.1039/d2lc00724j>
- Prakobdi, C., & Saetear, P. (2023). Iodoform Reaction-Based Turbidimetry for Analysis of Alcohols in Hand Sanitizers. *Analytica*, 4(2), 239–249.
<https://doi.org/10.3390/analytica4020019>
- Putri, S. K. (2021). Modul Pengantar Laboratorium Medik. In Prodi D III Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Aceh.
- Putri, S. K. (2022). Analisa Volumetri. In Darmawati (Ed.), Prodi D III Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Aceh.
- Sulistiyarti, H., & Mulyasuryani, A. (2021). Kimia Analisis Kuantitatif Dasar. Universitas Brawijaya Press.

TENTANG PENULIS



Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si.

Lahir di Langsa, 25 Januari 1975. Penulis menyelesaikan program sarjana kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Syiah Kuala pada tahun 1999 dan melanjutkan studi magister kimia di Universitas Sumatera Utara pada tahun 2015 dan lulus tahun 2017. Sampai saat ini penulis sebagai Dosen di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Aceh dan mengajar dalam mata kuliah Kimia Kesehatan, Toksikologi klinik, Kimia Klinik, Pengantar Laboratorium Medis serta Manajemen Laboratorium.

BAB 9

PENYIAPAN DAN PEMBUATAN MEDIUM

Siska Zafrida, M. TLM.

A. Pendahuluan

Dalam mikrobiologi, terdapat beberapa jenis media padat yang digunakan untuk menumbuhkan dan memelihara kultur mikroorganisme, diantaranya:

1. Media Agar (Agar Plate)

Media agar dituang ke dalam cawan petri steril sehingga membentuk permukaan padat setelah dingin. Media ini digunakan untuk menumbuhkan koloni mikroba yang tersebar pada permukaannya.

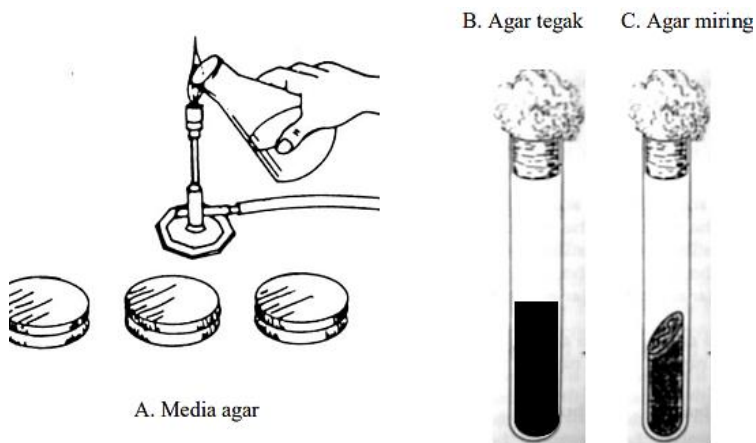
2. Agar Miring (Slant Agar)

Media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan posisi miring sehingga membentuk permukaan miring yang padat setelah dingin. Agar miring ini biasanya digunakan untuk memelihara kultur bakteri aerob dalam jangka waktu lama.

3. Agar Tegak (Deep/Stab Agar)

Media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan posisi tegak lurus sehingga mengisi seluruh bagian tabung dan membentuk agar padat setelah dingin. Agar tegak ini biasanya digunakan untuk memelihara kultur bakteri anaerob karena kondisi di dalam tabung relatif bebas oksigen.

Jadi, kultur aerob biasanya disimpan dalam agar miring, sedangkan kultur anaerob disimpan dalam agar tegak (stab agar) untuk menciptakan lingkungan yang sesuai bagi pertumbuhan masing-masing jenis bakteri tersebut.



Gambar 9.1 Pembuatan Media Agar, Agar Tegak dan Agar Miring

B. Fungsi Media

Media merupakan substrat atau bahan yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroorganisme dalam percobaan atau kultur mikroba. Sebelum digunakan, media harus disterilkan terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi oleh mikroorganisme yang tidak diinginkan dan dapat mengganggu pertumbuhan kultur mikroba yang diinginkan.

Sterilisasi media sangat penting dilakukan agar media benar-benar bebas dari kontaminan mikroba lain sehingga mikroba target dapat tumbuh dengan baik tanpa adanya kompetisi atau gangguan dari mikroba kontaminan. Proses sterilisasi biasanya dilakukan dengan pemanasan menggunakan autoklaf atau dengan penyaringan. Langkah sterilisasi dilakukan agar hasil yang didapatkan akurat dan sesuai dengan mikroba yang memang ingin diamati pertumbuhannya.

Agar mikroba yang kita kultur dapat tumbuh dengan baik, maka persyaratan yang harus dipenuhi oleh suatu media adalah:

1. Media harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan mikroba seperti unsur makro, unsur mikro, trace elemen, dan zat pengatur tumbuh.

2. Faktor fisik seperti tekanan osmosis, tegangan permukaan, dan pH harus sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan mikroba yang akan dikultur.
3. Media harus dalam keadaan steril sebelum digunakan untuk menghindari kontaminasi oleh mikroorganisme yang tidak diinginkan.

C. Jenis Media

- 1. Menurut bahan yang dipakai dalam pembuatannya, media dapat digolongkan menjadi:**
 - a. Media alami: Media yang komponen pembentuknya terdiri dari bahan-bahan alam, seperti kentang, taube, daging, nasi, dan lain sebagainya.
 - b. Media semi sintetik: Media yang bahan pembentuknya terdiri dari campuran bahan-bahan alami dan bahan sintetik. Contoh: Agar Taube, Agar Kentang Dextrosa, dll.
 - c. Media sintetik: Media yang bahan pembentuknya secara keseluruhan terbuat dari bahan-bahan sintetik. Contoh: Agar Sabouraud, Endo Agar, Agar Czapek Dox, dll.
- 2. Menurut bentuknya, media dapat digolongkan menjadi:**
 - a. Media cair: Media yang tidak ditambahkan zat pematat (agar), sehingga media ini dalam keadaan encer (cair). Contoh: Lactose Broth, Nutrient Broth.
 - b. Media semi padat: Media yang mengandung bahan yang sama dengan media cair, tetapi ditambah sedikit agar (setengah konsentrasi agar), sehingga menjadi agak padat. Media ini dipakai untuk menumbuhkan mikroba yang banyak memerlukan air dan hidup dalam lingkungan yang anaerob atau anaerob fakultatif. Media ini juga dipakai untuk uji motilitas suatu bakteri.
 - c. Media padat: Media cair yang ditambahkan dengan agar-agar sehingga menjadi padat. Contoh: Nutrient Agar (NA), Potato Dextrose Agar (PDA), dll.

3. Menurut kegunaanya, Media digolongkan menjadi:

- a. Media umum: Media yang digunakan untuk menumbuhkan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum. Contoh: Nutrient Agar (media untuk menumbuhkan kelompok bakteri, Potato Dextrose Agar (media yang dipakai untuk menumbuhkan kelompok jamur, dll.
- b. Media pengaya: Media yang dipakai untuk menyuburkan mikroba tertentu sebelum ditumbuhkan pada media yang dipakai dalam penelitian. Contoh: *Selenit Broth* (untuk menyuburkan pertumbuhan bakteri *Salmonella*.
- c. Media selektif: Media yang dipakai untuk menumbuhkan species tertentu dari mikroba, dengan menghambat pertumbuhan species lain yang tidak dikehendaki. Contoh: Media SS Agar (*Salmonella* dan *Shigella* Agar) untuk bakteri *Salmonella* dan *Shigella*.
- d. Media penghitungan: Media yang dipakai untuk menghitung jumlah mikroba suatu bahan. Media ini dapat berupa media media umum dan media selektif.

D. Prosedur Pembuatan Media Cawan secara Umum

Tersedia beberapa macam media, yaitu media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), media Nutrient Agar, Malt extract, Lactose Broth, Brilliant Green 2 % Bile Broth, dan media Endo Agar. **“Semua media tersebut merupakan media sintetik yang banyak dijual dalam bentuk instant, sehingga dalam pembuatannya, laboran cukup memperhatikan petunjuk yang tertera pada setiap media”**

Prosedur pembuatan media cawan secara umum :

Untuk membuat 1 liter medium ini, lakukanlah prosedur berikut:

1. Timbang sebanyak 23,5 gram medium instant Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), **Catatan: Merk yang berbeda mempunyai komposisi yang berbeda sehingga berat gram / lt mungkin berbeda. Sehingga, perhatikan panduan yang tertulis pada kemasan/botol media yang diupergunakan.**
2. Suspensikan dalam akuades dan buat volume akhir menjadi 1000 ml.

3. Panaskan sampai semua komponen larut (langkah ini bisa tidak dilakukan apabila tidak mempersiapkan agar tegak/ agar miring dalam tabung reaksi).
4. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C pada tekanan 15 lbs, selama 15 menit.
5. Media bisa dituang ke dalam cawan petri yang sudah di autoclave. Untuk satu cawan petri diameter 9,9mm, ketebalan 1,5 cm, maka volume agar yang diperkukan sebanyak 17,5-20 ml untuk ketebalan media agar yang baik. Agar dituang ke dalam cawan petri pada kondisi suhu media + 65-75°C. Pada suhu di bawah itu agar akan membeku.
6. Biarkan agar dalam cawan petri membeku, tutup cawan di buka sampai agar membeku (20-30 menit dalam laminar flow).
7. Simpan ditempat yang sejuk dan kering (dalam kulkas) dalam keadaan dibungkus kantong plastik dan agar diletakkan terbalik (bagian tutup cawan petri di bawah dan agar di atas).

Macam-macam media dan Komposisinya

1. Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Medium EMBA digunakan untuk mengisolasi dan membedakan bakteri gram negatif berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa. Medium ini mengandung laktosa, sukrosa, pepton, eosin Y dan methylene blue. Adanya eosin Y mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Bakteri yang mampu memfermentasi laktosa akan menunjukkan koloni berwarna merah muda/pink. Khusus bakteri *E. coli* memiliki ciri yang khas yaitu memiliki koloni yang berwarna hijau metalik, sedangkan bakteri non laktosa fermenter koloni berwarna transparan.

Tabel 9.1 Komposisi Medium EMB Agar Per Liter

Agar	13,5 g
Pancreatic digest of casein	10 g
Lactosa	5,0 g
K ₂ HPO ₄	2.0 g

EOSIN	0,46. methylen
Sukrosa	5.0
K ₂ HPO ₄	2,0 g
Eosin Y	0,4 g
Methylen blue	0,065 g
pH 7,2 ± 0,2 at 25°C	

2. Media MacConkey Agar

Medium MC merupakan medium selektif karena mengandung garam empedu (bile salts) dan crystal violet yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Medium MC juga termasuk pada medium diferensial karena mampu membedakan bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa.

Tabel 9.2 Komposisi Medium MC Agar Per Liter

Agar	13,5 g
Pancreatic digest of gelatin	17,0 g
Laktosa	10,0 g
NaCl	5.0 g
Bile salt	1,5 g
Pancreatic digest of casein	1,5 g
Peptic digest of animal tissue	1,5 g
Neutral red	0,03 g
Crystal violet	1,0 g
pH 7,1 ± 0,2 at 25°C	

3. Media Blood Agar Plate (BAP)

Medium BAP merupakan medium diperkaya karena mengandung 5% darah, sehingga medium ini mengisolasi dan mengkultifasi berbagai macam bakteri yang umumnya sulit ditumbuhkan (fastidious bacteria). Media BAP juga merupakan medium diferensial karena dapat membedakan bakteri berdasarkan kemampuan dalam menghemolisis sel darah merah

Tabel 9.3 Komposisi Medium BAP Per Liter

Agar	15,0 g
Pancreatic digest of gelatin	15,0 g
Papaic digest of soybean meal	5,0 g
NaCl	5.0 g
Sheep blood, defibrinated	1,5 g
pH 7,6 $\pm$ 0,2 at 25°C	

4. *Salmonella Shigella* Agar

Media Ini Termasuk Media Selektif Untuk Mengisolasi Kuman *Salmonella* Dan *Shigella*. Koloni Yang Tampak Tidak Berwarna Atau Tanpa Warna Hitam Pada Bagian Sentral (Black Spot). Formula *Salmonella Shigella* Agar Oxoid : Gram Per Liter

Perhitungan:

Agar	13,5 g
Laktose	10 g
Bile salts	8,5 g
Na ₂ S ₂ O ₄	8,5 g
Sodium sitrat	8,5 g
<i>Beef extract</i>	5 g
<i>Panereactic digest of casein</i>	2,5 g
<i>Peptic diges of animal tissue</i>	2,5 g
Ferric citrate	1 g
Neutral red	0,025 g
Brilliant green	0,33 g
pH 7,0 $\pm$ 0,2 at 25°C	

Cara kerja :

- Larutkan 63 gram media ke dalam 1 liter air suling
- Panaskan sambil diaduk hingga larutsempurna
- Sterilkan median dengan mendidihkan tiga kali, jangan diautoclave tapi boleh dipanaskan di water-bath suhu 100°C selama 10 menit
- Tuangkan larutan tersebut secara steril ke dalam cawan petri steril

- e. Biarkan media menjadi dingin
- f. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam
- g. Simpan media dalam lemari es sampai diperlukan

E. Media Gula - Gula

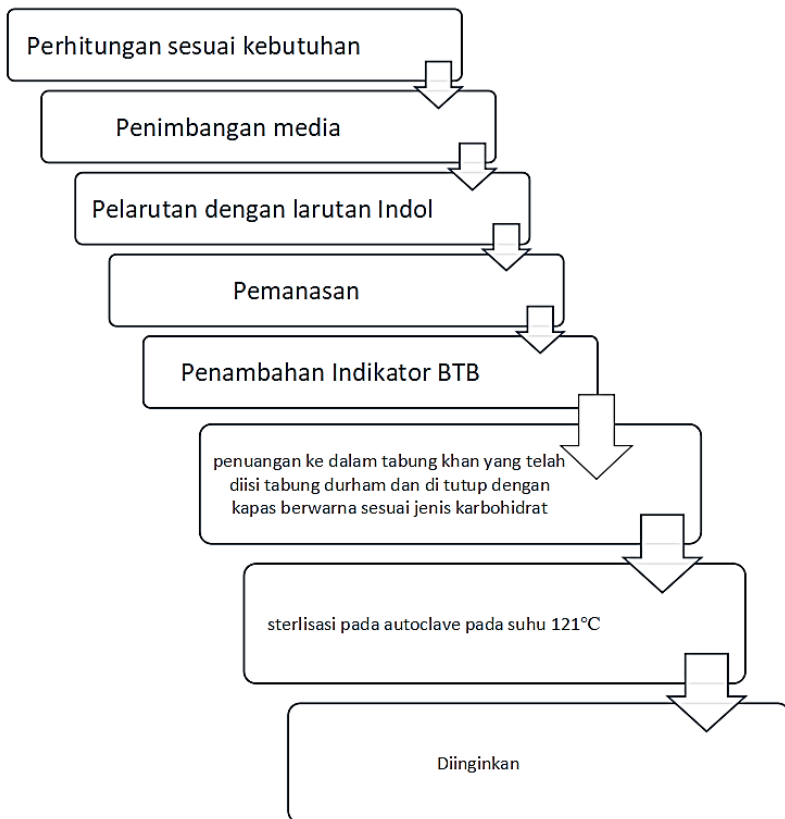
Medium gula-gula adalah media cair yang terdiri dari pembenihan gula-gula (karbohidrat) seperti glukosa, laktosa, maltosa, manosa dan sukrosa dengan kadar 1% dan penambahan indikator BTB atau phenol red.

Media gula-gula berguna untuk mengetahui kemampuan fermentasi bakteri terhadap gula-gula. Reaksi positif bila medium berwarna kuning, artinya gula difermentasi dengan menghasilkan asam. Bila negatif, medium tetap berwarna merah. Formula gula - gula: gram per liter

Media Glukosa/sukrosa/maltosa/manitol	5 g
Pepton	5 g
Phenol red	0,0005 g
akuadest	500 g
pH 7	

1. Perhitungan pembuatan media gula-gula
 Perhitungan: Gula-gula 12 tabung khan + durham yang masing-masing berisi 4 ml ($4 \times 12 = 48$ ml)
 - a. Glukosa, laktosa, maltosa, manosa dan sukrosa masing-masing $1 \text{ g}/100 \text{ mL} \times 50 \text{ ml} = 0,48 \text{ g}$
 - b. Pelarut indol 48 mL
 - c. BTB 0,4% - $1 \text{ mL}/100 \text{ mL} \times 48 \text{ mL} = 0,48 \text{ mL}$
2. Prosedur pembuatan media gula-gula (Glukosa, Sukrosa, laktosa, maltosa dan manitol)
 - a. Siapkan alat dan bahan ,cuci tangan dan gunakan APD
 - b. Timbang Media lalu masukkan dalam erlenmeyer kemudian
 - c. tambahkan aquadest sebanyak 220 ml
 - d. Kemudian tutuplah dengan kapas dan aluminium foil lalu panaskan hingga homogenkan

- e. Tunggu suhu turun ,tuang media dalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik
- f. Bolak-balik tabung agar tabung durham terisi penuh dan pastikan tidak ada rongga udara pada tabung durham
- g. Setelah selesai sterilisasi media dalam autoclave dengan suhu 121 0 c selama 15 menit jagalah agar suhu autoclave tetap stabil agar mendapatkan media yang bermutu baik
- h. Bila tidak digunakan simpan dalam kulkas



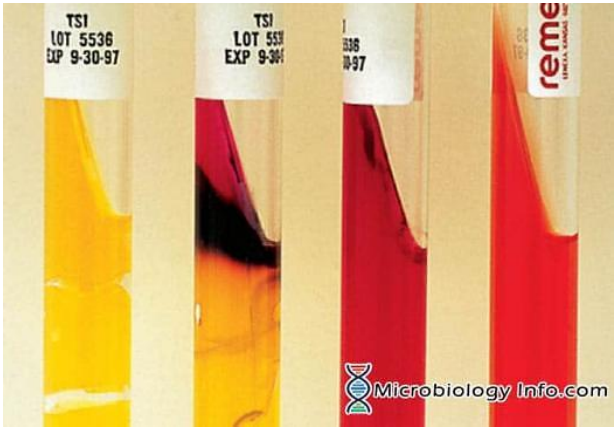
F. *Tripel Sugar Iron Agar (TSIA)*

Media TSIA merupakan Media diferensial untuk golongan Enterobacteriaceae dan bakteri basil Gram negatif lainnya. Agar miring TSIA mengandung laktosa dan sukrosa berkonsentrasi 1% serta glukosa berkonsentrasi 0,1 %.

Tujuannya untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasi 3 macam gula yaitu Glukosa, Laktosa dan Sukrosa serta kemampuannya memproduksi hidrogen sulfida (H₂S).

Media TSIA juga mengandung natrium tiosulfat, suatu substrat untuk pembentukan hidrogen sulfida (H₂S) dan fero sulfat untuk mendeteksi hasil akhir yang tidak berwarna. Setelah inkubasi, hanya biakan organisme yang dapat menghasilkan H₂S yang akan menunjukkan penghitaman yang pekat di bagian dasar kerana terjadi pengendapan fero sulfida yang tidak larut.

Agar	13,0 g
<i>Pancreatic digest of casein</i>	10,0 g
<i>Paptic digest of animal tissue</i>	10,0 g
Lactose	10,0 g
Sucrose	10,0 g
NaCl	5,0 g
Glucose	1,0 g
Fe (NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ .6H ₂ O	0,2 g
Na ₂ S ₂ O ₃	0,2 g
Phenol red	0,025 g
pH 7,3 ± 0,2 at 25°C	



Gambar 9.2 Hasil Uji pada Media TSIA

Prosedur pembuatan media TSIA.

1. Siapkan alat dan bahan ,cuci tangan dan gunakan APD
2. Timbang Media gr, lalu masukkan dalam erlenmeyer kemudian tambahkan aquadest sebanyak yang diinginkanml
3. Kemudian tutuplah dengan kapas dan aluminium foil lalu panaskan hingga homogenkan
4. Setelah homogen sterilisasi media dalam autoclave dengan suhu 121 0 c selama 15 menit jagalah agar suhu autoclave tetap stabil agar mendapatkan media yang bermutu baik
5. Setelah selesai proses sterilisasi angkat media dan tunggu suhu turun hingga 50°C lalu tuangkan pada tabung reaksi yang steril
6. Lalu miringkan posisi tabung ,tunggu beku media siap digunakan. Bila tidak digunakan simpan dalam kulkas

G. Media Urea

Uji urease digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuan mikroba untuk menghidrolisis urea dengan enzim urease. Urea merupakan produk dekaboksilasi dari asam amino tertentu. Urea dapat dihirolisis menjadi amonia dan karbon dioksida oleh bakteri yang mengandung enzim urease.

Glukosa	1 g
<i>Peptone</i>	1 g
NaCl	5 g
Disodium Phosphate	1,2 g
Disodium dihydrogen	0,8 g
Phenol Red	0,012 g
Agar	15 g
pH 7,3 ± 0,2 at 25°C	

Rumus :

$$\frac{\text{Berat total media (Ketentuan Sesuai Merck)}}{1000 \text{ ml (Ketentuan Sesuai Merck)}} \times \text{Vol. Aquadest}$$



Gambar 9.3 Hasil Uji pada Media Urea

Prosedur pembuatan media Urea.

1. Siapkan alat dan bahan ,cuci tangan dan gunakan APD
2. Timbang Media gr, lalu masukkan dalam erlenmeyer kemudian tambahkan aquadest sebanyak yang diinginkanml
3. Kemudian tutuplah dengan kapas dan aluminium foil lalu panaskan hingga homogenkan
4. Setelah homogen sterilisasi media dalam autoclave dengan suhu 121 0 c selama 15 menit jagalah agar suhu autoclave tetap stabil agar mendapatkan media yang bermutu baik
5. Setelah selesai proses sterilisasi angkat media dan tunggu suhu turun hingga 50°C lalu tuangkan pada tabung reaksi yang steril
6. Lalu miringkan posisi tabung ,tunggu beku media siap digunakan. Bila tidak digunakan simpan dalam kulkas

H. Media Sulfur Indol Motility (SIM)

Uji motilitas digunakan untuk mendeteksi motilitas (pergerakan) dari suatu mikrobia. Mikroorganisme mampu bergerak karena memiliki alat gerak berupa flagella. Flagella digunakan mikrobia bergerak menuju nutrient seperti gula dan asam amino dan bergerak menjauh dari substrat yang berbahaya.

Uji motilitas dilakukan pada media semi solid dengan konsentrasi agar 0,4%, media semi solid ini memudahkan mikroba untuk bergerak mendekati nutrisi. Inokulasi dilakukan dengan cara menusukkan jarum ose yang telah mengandung inokulum ke dalam media. Motilitas dari suatu mikroba dideteksi dengan pertumbuhan mikroba yang tersebar dari tengah media.

Pepton	0,5 g
NaCl	0,5 g
Agar-agar	0,4 g
Akuadest	100 ml
pH 7	



Gambar 9.4 Media SIM

1. Siapkan alat dan bahan, cuci tangan dan gunakan APD
2. Timbang Media lalu masukkan dalam erlenmeyer kemudian tambahkan aquadest sebanyak ml
3. Kemudian tutuplah dengan kapas dan aluminium foil lalu panaskan hingga homogenkan
4. Setelah homogen sterilisasi media dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit pastikan agar suhu autoclave tetap stabil agar mendapatkan media yang bermutu baik
5. Setelah selesai proses sterilisasi angkat media dan tunggu suhu turun hingga 50°C, lalu tuangkan pada tabung reaksi steril tunggu hingga beku. Bila tidak digunakan simpan dalam kulkas

I. Simmons Citrate Agar

Medium ini berfungsi untuk mengetahui kemampuan kuman dalam memanfaatkan natrium citrat sebagai sumber karbon untuk keperluan hidupnya. Tanda adanya pertumbuhan bakteri pada medium ini adalah adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru.

Cara kerja :

1. Larutkan 23 gram medium ke dalam 1 liter air suling
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit
4. Tuang dalam tabung reaksi dan letakkan + 30 '45o sehingga diperoleh bagian bagian miring
5. Dinginkan
6. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam
7. Simpan media dalam lemari es sampai diperlukan

DAFTAR PUSTAKA

- Braissant, O., Astasov-Frauenhoffer, M., Waltimo, T., & Bonkat, G. (2020). A Review of Methods to Determine Viability, Vitality, and Metabolic Rates in Microbiology. *Frontiers in Microbiology*, 11(2), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.547458>
- Cooper, C. . (2019). Sufide-Indole-Motility (SIM). *Microbiology Laboratory*)BIOL 3702L).
- Cowan, Marjorie Kelley, and H. S. (2018). *Microbiology A Systems Approach*. McGraw-Hill.
- Kushkevych, I. (2022). *Bacterial Physiology and Biochemistry*. Stacy Masucci Publisher.
- Madigan, M.T., Bender, K. S., Buckley, D.S., Sattely, Wm., & Stahl, D. . (2021). *Brock Biology of Microorganisms*. In Global Edi (In Sixteen). Pearson.
- Norman-McKay, L. (2019). *Microbiology : Basic and Clinical Principles*. Pearson.
- Parker, Nina, Mark Schneegurt, Anh-Hue Thi Tu, Brian M. Forster, dan P. L. (2021). *Microbiology*. ASM PRESS.
- Richard Goering, Hazel M. Dockrell, Mark Zuckerman, P. L. C. (2018). *Mims' Medical Microbiology and Immunology* (6th ed.). Elsevier Inc.
- Smith, Molly, Sara Selby, dan S. S. (2017). *Microbiology for Allied Health Students*. McGraw-Hill.
- Suprapti, L. (2020). *Pedoman Pembuatan Media dan Reagensia*. Penerbit Deepublish.
- Tille, P. (2015). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiolgy-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Tortora, G.J Funke, B. R., & Case, C. L. (2019). *Microbiology an Introduction* (13th ed.). Pearson Education.

TENTANG PENULIS



Siska Zafrida, M. TLM.

lahir pada tahun 1995 di Pekanbaru, Riau. Telah menyelesaikan; Pendidikan Diploma (D-III) pada Program Studi Analisis Kesehatan di Universitas Abdurrah, Pekanbaru (2018); Pendidikan Diploma (D IV) pada program studi Teknologi Laboratorium Medik di Universitas Muhammadiyah Semarang (2019); Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Laboratorium Medik di Universitas Semarang (2021). Saat ini sedang tercatat sebagai Dosen Tetap di Akademi Kesehatan John Paul Pekanbaru. Penulis telah memiliki beberapa artikel, baik yang diterbitkan pada jurnal nasional-internasional, maupun dalam buku referensi. Penulis dapat dihubungi melalui email: Siskazafrida@akjp2.ac.id atau HP/WA 082288844044.