



**Kampus
Merdeka**
INDONESIA JAYA



**RAKERNAS
AIPTLMI**

VIII



ISSN: 3025-7883

PROSIDING AIPTLMI

RAKERNAS VIII AIPTLMI

Transformasi Budaya Akademik
Melalui Pengelolaan Pendidikan Tinggi TLM
Untuk Mewujudkan SDM Berdaya Saing Global
<https://rakernas.aiptlmi-iasmlt.id/>



SURABAYA, 26 - 28 OKTOBER 2023



TEMA RAKERNAS VIII AIPTLMI

**Transformasi Budaya Akademik
Melalui Pengelolaan Pendidikan Tinggi TLM
Untuk Mewujudkan SDM Berdaya Saing Global**

PROSIDING

DALAM RANGKA RAPAT KERJA NASIONAL VIII (RAKERNAS VIII)
ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

Panitia & Reviewer

PENASEHAT

Dra. Estu Lestari, MM
Entuy Kurniawan, S.Si, M.KM

PENANGGUNG JAWAB

Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

KETUA PELAKSANA

Suryanata Kesuma, SST, M.Si

WAKIL KETUA

Dr. Moh. Fairuz Abadi, M.Si
Andreas Putro Ragil, SST, M.Si

SEKRETARIS & WAKIL SEKRETARIS

Dr. Arina Novilla, S.Pd., M.Si
Suci Rizki Nurul Aeni, S.Pd,M.Si

BENDAHARA & WAKIL BENDAHARA

Imas Latifah, S.K.M., M.KKK
Sumiati Bedah, SKM, M.KM

SEKSI-SEKSI

Registrasi

Retno Martini, S.Si, M.Biomed, Zuraida, SKM, M.KM, Feldha Fadhila, S.Si, M.Si,
Dr. Evy Ratnasari Ekawati, S.Si, M.Si

Ilmiah

Atun Farihatun, S.Si,M.KM, Patricia Gita Naully, M.Si, Eva Ayu Maharani, S.Si,M.Biomed,
Dwi Wahyu Indriati, M.Si, Ph.D, Dewi Inderiati, S.Si, M.Biomed, Dr. Betty Nurhayati, M.Si

Perlombaan

Gela Setya Ayu P, S.Tr.Kes, M.Kes, Nurul Ni'ma Aziz, SST, M.Kes,
Anita Dwi Anggraini, SST, M.Si

Sidang Organisasi

Dr. Syamsuriansyah, M.Kes, Aziz Ansori W, ST, MT

Acara

Ummy Mardiana, M.Si, Reny Pratiwi, S.Si, M.Si,Ph.D, Ellies Tunjung Sari,S.ST, M.Si

Perlengkapan

Hieronymus Rayi, P., SST, M.Si, Darmadi, SKM, M.Biomed

Humas & Dokumentasi

Gilang Nugraha, S.Si,M.Si, Haitami, S.Si, M.Sc, M. Sungging, S.Si, M.Si

Akomodasi & Konsumsi

Herlisa Anggraini, SKM, M.Si.Med, Dra. Eka Sulistyaningsih,
M.Kes, Iis Herawati, S.Pd,M.Kes, Era Fitria Yunia, S.Tr. Kes

Information and Technology (IT)

Dewi Astuti, S.Si,M.Biomed, Munirul Huda, S.Kom, Wawan Kurniawan

REVIEWER

Meti Kusmiati, M.Si
Eva Ayu Maharani, S.Si, M.Biomed.
Dwi Wahyu Indriati, S.Si, Ph.D

EDITOR
Atun Farihatun, SKM, MKM.

ISBN :
Cetakan Kedua, Desember 2023
Penerbit :
Kantor :
Email :
Website :

SAMBUTAN KETUA PANITIA PELAKSANA RAPAT KERJA NASIONAL VIII AIPTLMI

Puji syukur kehadirat Allah Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat rahmat dan perkenan-NYA panitia melalui bidang ilmiah telah berhasil menerbitkan prosiding Rapat Kerja Nasional VIII Asosiasi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia Tahun 2023. Penerbitan prosiding kegiatan nasional merupakan bentuk komitmen AIPTLMI terhadap upaya dalam berbudaya dengan cara berpikir ilmiah pada anggota asosiasi untuk mengembangkan ilmu dan pengetahuan teknologi di bidang laboratorium medik. Tema yang diangkat pada kegiatan nasional kali ini adalah “Transformasi Budaya Akademik Melalui Pengelolaan Pendidikan Tinggi TLM Untuk Mewujudkan SDM Berdaya Saing Global”, dengan harapan AIPTLMI sebagai rumah bagi dosen, tenaga kependidikan, mahasiswa maupun ATLM siap menuju organisasi pendidikan tinggi kesehatan yang profesional dengan secara terus menerus mengambil peran nyata untuk mendukung visi dan misi pembangunan kesehatan menyeluruh khususnya bagi penyiapan SDM ATLM yang berkualitas, berkompeten, berdaya saing, serta mempunyai digital mindset update.

Prosiding ini merupakan dokumen ilmiah yang memuat karya ilmiah yang berkaitan dengan bidang kelimuan laboratorium medik dan dihasilkan oleh praktisi pendidikan bidang laboratorium medik dari institusi pendidikan teknologi laboratorium medik. Karya ilmiah berasal dari penelitian ini telah di presentasikan didepan Dewan Juri yang merupakan pakar di bidang masing-masing.

Diharapkan dengan adanya prosiding ini memberikan manfaat bagi para anggota AIPTLMI atau masyarakat khususnya yang tidak dapat mengikuti secara langsung pada kegiatan Rapat Kerja Nasional VIII. Dengan demikian dokumen ilmiah ini akan menjadi referensi yang akan membuka wawasan pengetahuan dan pada akhirnya masyarakat yang terlibat dan berkepentingan akan semakin meningkatkan diri khususnya terhadap perkembangan metode dan teknologi laboratorium medik terkini. Pada akhirnya dengan senantiasa update ilmu dan pengetahuan teknologi di bidang laboratorium sangat penting bagi pendidik, tenaga kependidikan dan calon ATLM menuju laboratorium medik masa depan.

Akhir kata, kami ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan prosiding sampai pada penerbitan dan distribusi pada pihak-pihak yang berkepentingan.

Jakarta, Desember 2023
Suryanata Kesuma, SST, M.Si
Ketua Panitia Pelaksana

Assalamualaikum Wr.Wb.

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga prosiding hasil desiminasi artikel ilmiah telah berhasil diterbitkan melalui kegiatan Rakernas VIII AIPTLMI. Semoga dengan adanya prosiding ini dapat menambah pengayaan literasi khususnya para mahasiswa dan dosen ATLM.

Rakernas AIPTLMI ke VIII mengusung tema Transformasi Budaya Akademik Melalui Pengelolaan Pendidikan Tinggi TLM Untuk Mewujudkan SDM Berdaya Saing Global. Untuk mencapai sasaran ini maka topik kajian menyangkut peningkatan kualitas SDM, peningkatan kualitas dosen, peningkatan kurikulum pembelajaran. Dosen yang berkualitas adalah yang mampu melaksanakan tri dharma perguruan tinggi yang meliputi pendidikan, penelitian, dan pengabdian masyarakat.

Saya selaku ketua Umum AIPTLMI mengucapkan terimakasih kepada seluruh panitia, atas perjuangan dan kerja kerasnya menyelenggarakan rakernas AIPTLMI ke VIII dan berhasil menyusun prosiding yang bermanfaat. Saya berharap prosiding ini dapat dimanfaatkan untuk menambah referensi para dosen pendidikan di program studi Teknologi Laboratorium Medik/Analisis Kesehatan.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Ketua AIPTLMI

Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

Daftar Isi

Tema RAKERNAS VIII AIPTLMI	ii
Penyelenggara Panitia & Reviewer	iii
Sambutan Ketua Panitia Pelaksana	v
Daftar Isi	vii
Validasi Metode <i>Methylation-Specific</i> PCR dengan Sequencing Untuk Deteksi Metilasi Gen <i>Rassf1</i> pada Pasien Kanker Payudara	1
Mulya Sari, Puji Lestari, Radhita Karima	
Uji Efektivitas Biolarvasida Minyak Atsiri Serai Wangi (<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle) Terhadap Mortalitas Larva <i>Aedes sp</i>	18
Anita Oktari, Isti Sofia Insani, Mira Aprilani, Anisa Aulia Inandawati	
Perbandingan Nilai Indeks Eritrosit dari Darah <i>Whole Blood</i> Dan <i>Pre Diluent</i> Pada <i>Hematology Analyzer</i> Medonic M32	28
Vinka Amelia, Betty Nurhayati, Eem Hayati, Mamat Rahmat	
Ekstrak Ubi Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.) Sebagai Zat Warna pada Pemeriksaan Telur Cacing <i>Soil Transmitted Helminths</i> (STH)	42
Yeli Hartuti	
Jumlah Trombosit Menggunakan Metode <i>Optical</i> dan Metode <i>Fluorescent</i> pada Anemia Mikrositik	50
Devy Kartika Ningrum, Eem Hayati, Betty Nurhayati, Ganjar Noviar	
Pengaruh Induksi Timbal Terhadap Kadar Malondialdehid pada Darah Mencit (<i>Mus musculus</i>)	63
Liah Kodariah, Aziz Ansori Wahid, Viona Anissa Putri, Tyas Ismi Fadilah	
Pengaruh Replikasi Pemanasan Media <i>Nutrient Agar</i> Terhadap Nutrisi Media, pH Media dan Jumlah Koloni Bakteri	73
Dira Maharani, Rafika, Zulfikar Ali Hasan, Artati	
Kadar Vitamin D-25 OH Pada Ibu Hamil Trimester Pertama dengan Prognosis Diabetes Mellitus Gestasional	86
Citra Amaniah Anhar, Dewi Inderiati, Ragil Dwi Utari	
Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Pasien di Laboratorium Klinik Prodia Blitar	100
Ratna megawati, Didik Prasetya, Anak Agung Sri Sanjiwani	
Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kandungan Nikotin dalam Urine pada Perokok Aktif	111
Andyanita Hanif Hermawati, Qurrotu A'yunin Lathifah	

Desain Primer dan Probe melalui Pendekatan Bioinformatika untuk Deteksi Gen GAG HIV-1 Menggunakan qRT-PCR	118
Asryadin, Nur Aini Hidayah Khasanah, Nilasari Indah Yuniati	
Profil <i>Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio</i> pada Demam Tifoid	129
Dian Nurmansyah, Silfanida Putri, Rizka Ayu Wahyuni, Nafila	
Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Darah Resipien Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi (<i>Crossmatch</i>) Metode Gel Test	136
Aisyah Arrosyada, Bastian, Nurhidayanti, Firna Kamilatun Nuha	
Natrium Sitrat 3,2% sebagai Antikoagulan Alternatif Pemeriksaan Hemoglobin Pada Spesimen Darah Av-Shunt Pasien Hemodialisa	147
Frisqila Amalia Rizka, Gilang Nugraha	
Limbah Ampas Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri Gram Negatif	158
Prima Nanda Fauziah, Rahmawati Tri Handayani, Syarifah Miftahul El Jannah, Imas Latifah	
Hubungan Kadar HbA1c Dengan Nilai Laju Endap Darah Pada Penderita Diabetes Melitus di RSUD Haji Provinsi Jawa Timur	169
Kholisoh Tri Febriana, Ellies Tunjung Sari Maulidiyanti, Rahma Widyastuti, Rinza Rahmawati, Waras Budiman	
Analisis PCR-RFLP Enzim <i>HaeIII</i> Secara In Silico Pada Fragmen D-Loop DNA Mitokondria Demi Kepentingan Forensik	176
Ni Putu Senshi Septiasari	
Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Bawang Dayak (<i>Eleutherine bulbosa</i> (Mill.) Urb.) Terhadap Stabilitas Membran Sel Darah Merah	190
Dwi Murti Zaputri, Wahdaniah, Linda Triana, Mujtahidah	
Uji Daya Hambat Fermentasi Kombucha Teh Bunga Kecombrang (<i>Etlingera elatior</i>) Terhadap Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	200
Fitri Rahmi Fadhilah, Suyarta Efrida Pakpahan, Firman Rezaldi, Liah Kodariah, Aziz Ansori Wahid, Olvia Julinda	
Hubungan Kadar <i>C-Reactive Protein</i> dengan <i>Neutrophil Lymphocyte Ratio</i> (NLR) Pada Penderita Demam Tifoid	212
Herlinda Djohan, Ari Nuswantoro, Harno	
Optimasi Antosianin Pada Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) Sebagai Zat Warna Pada Pemeriksaan <i>Soil Transmitted Helminth</i>	226
A.R.Pratiwi Hasanuddin, Rahmat Aryandi, Andi Suswani, Andi Harmawati	

Deteksi <i>Candida albicans</i> Pada Saliva Pasien Diabetes Melitus di Puskesmas I Denpasar Timur	239
I Ngurah Ketut A.N Baskara Jelantik, Ni Wayan Desi Bintari, Ni Luh Nova Dilisca Dwi Putri	
Perbandingan Pertumbuhan Jamur <i>Candida albicans</i> Pada Media <i>Potato Dextrose Agar</i> dan Media Alami Dari Jagung Manis (<i>Zea Mays Saccharata L.</i>)	250
Ardini Damayanti	
Gambaran Kadar Albumin Murni Skala Mikrogram yang Diukur Secara Spektrofotometer UV Setelah Diadsorpsi Magnetit (Fe₃O₄)	261
Muhamad Rifky Fauzi, Ayi Furqon, Ellsie Viendra Permana	
Perbedaan Indeks Entomologi <i>Aedes aegypti</i> Sebelum dan Setelah Pemasangan <i>Lethal Ovitrap</i> di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta	271
Ni Putu Asvini, Tri Mulyowati, Rinda Binugraheni	
Umbi Talas Bogor (<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i>	284
Imas Latifah, Mulyati, Muhammad Rizky Abucher, Prima Nanda Fauziah	
Hubungan Gen Reseptor Angiotensin II Tipe 1 Dengan Kadar Protein dalam Urin Ibu Hamil di Puskesmas Dalu X B Kabupaten Deli Serdang	300
Suparni, Liza Mutia, Nita Andriani Lubis	
Perbedaan Hasil Identifikasi Telur <i>Soil Transmitted Helminth</i> pada Selada Antara Metode Sedimentasi NaOH 0,2% dan Flotasi NaCl	315
Stefia Shofila Mada, Dita Pratiwi Kusuma Wardani, Ikhsan Mujahid, Muhammad Luthfi Almanfaluthi	
Pemeriksaan Kolesterol Total Metoda <i>Point Of Care Testing</i> dan Metoda Fotometri Terhadap Pasien Hipertensi	325
Dinar Rahaju Pudjiastuty, Tuti Rustiana, Diat Rukhiat, Dedi Kurnia	
Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen di Perairan Pantai Pangandaran	334
Ditya Fitriani Sukmawan, Rochmanah Suhartati, Korry Novitriani	
Pengobatan <i>Soil Transmitted Helminths</i> dengan Respon Imun Cepat Rapid Tes IgE Setelah Pemberian Ekstrak Teh Hitam di Socah Bangkalan Madura	345
Dwi Aprilia Anggraini, Dwi Nur Hidayanti, Nurul Hikmah, Nia Ramadhani Putri	
Penurunan Kadar Fe²⁺ dengan Penambahan Spon Oyong (<i>Luffa acutangula</i>) Menggunakan Variasi Lama Pemanasan	355
Andriana Kusuma Putri, Stefano Argyata Pradana, Lintang Fajar Dwi Amanda	
Perbedaan Jumlah Total Leukosit dan Jenis Leukosit Pada Penderita Malaria <i>falciparum</i> dan Malaria <i>vivax</i> di RSUD Kabupaten Manokwari	365
Rosalia Meilani Sayangbati, Lucia Sincu Gunawan, Rumeyda Chitra Puspita	

Pengaruh Pemberian Susu Tempe Selama Tujuh (7) Hari Berturut-Turut Terhadap Kadar Kolesterol Total pada Wanita Usia Lebih dari 45 Tahun 375
Retno Sulistiyowati, Meida Laely Ramdani, Ns. Yasinta Nur Rohmah,
Sumiyatun Septianingsih, Syifa Luthfia Nissa

Gambaran Sedimen Urin pada Pemandu Karaoke yang Mengonsumsi Alkohol di Kabupaten Tulungagung 381
Yan Fuana, Chalie Diah Pratiwi, Qurrotu A'yunin Lathifah, Ranu Ajib Saputra

Hubungan Antara Kadar Serum Albumin dengan Kejadian Stunting pada Balita di Desa Tulehu, Kecamatan Salahutu, Kabupaten Maluku Tengah 391
Frisca F F Telussa, Mahani Auriyah Maligana, Syawal Alfikry Kaimudin

Potensi Media Transport Modifikasi Ampas Tahu Sebagai Penunjang Deteksi Gen ESBL Pada Infeksi Ulkus Kaki Diabetik..... 401
Venny Patricia, Ahmad Yani, Citra Trisna, Muhamad Abdul Rifai,
Luthfiyatul Hidayah, Mega Rachmawati

VALIDASI METODE METHYLATION-SPECIFIC PCR DENGAN SEQUENCING UNTUK DETEKSI METILASI GEN RASSF1 PADA PASIEN KANKER PAYUDARA

Mulya Sari^{1*} · Puji Lestari² · Radhita Karima³

¹D IV Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia

²Laboratorium Penelitian dan Pengembangan, Rumah Sakit Kanker Dharmais, DKI Jakarta, Indonesia

e-Mail: mlysari@gmail.com

No Tlp WA : 085767008669

Abstract

Metastasis in breast cancer can occur due to epigenetic events, namely DNA methylation, which causes the inactivation of tumour suppressor genes. One gene that can be used as a marker for metastasis in breast cancer is the RASSF1 gene (tumour suppressor gene). Methylation can be identified using molecular-based methods like real-time PCR, MSP, and sequencing. Methylation-specific PCR (MSP) is a simple and affordable methylation detection method with high sensitivity. However, the result's accuracy depends on the DNA band visualization. Visualization failure can occur if the number of amplicons is too small. So, validation using sequencing as the gold standard is needed to ensure that the MSP technique accurately detects methylation. This study aims to determine the accuracy of the MSP method in detecting RASSF1 gene methylation in breast cancer. This descriptive observational study with a cross-sectional design was conducted at the Research and Development Department of the Dharmais Cancer Hospital (RSKD) in January-June 2023. The specimens used were 16 breast cancer tissues. The results of this study show that the methylation status of the RASSF1 gene in all samples detected by the sequencing method corresponds to the results of the MSP method, namely fully methylated. Thus, it is proven that the MSP method can be used to detect methylation status as an alternative to sequencing methods.

Keywords : Breast cancer, RASSF1 gene methylation, MSP, Sequencing

Abstrak

Metastasis pada kanker payudara dapat terjadi karena peristiwa epigenetik yaitu metilasi DNA yang menyebabkan inaktivasi gen tumor supresor. Salah satu gen yang dapat digunakan sebagai penanda terjadinya metastasis pada kanker payudara adalah gen RASSF1 (gen tumor supresor). Metilasi dapat diidentifikasi menggunakan metode berbasis molekuler, misalnya *real time* PCR, MSP, dan *sequencing*. *Methylation-specific* PCR (MSP) merupakan metode deteksi metilasi yang sederhana dengan biaya terjangkau, serta memiliki sensitivitas tinggi. Namun akurasi hasilnya sangat bergantung pada visualisasi *band* DNA. Kegagalan visualisasi dapat terjadi jika jumlah amplicon terlalu sedikit, sehingga diperlukan validasi menggunakan *sequencing* sebagai *gold standard* untuk memastikan bahwa teknik MSP yang digunakan akurat dalam mendeteksi terjadinya metilasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui akurasi dari metode MSP dalam mendeteksi metilasi gen RASSF1 pada kanker payudara. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan desain *cross-sectional* yang dilakukan di Bagian Penelitian dan Pengembangan Rumah Sakit Kanker Dharmais (RSKD) pada Januari-Juni 2023. Spesimen yang digunakan berjumlah 16 jaringan kanker payudara. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa

status metilasi gen RASSF1 pada keseluruhan sampel yang dideteksi dengan metode *sequencing* bersesuaian atau sama dengan hasil metode MSP, yaitu *fully methylated*. Hal ini membuktikan bahwa metode MSP dapat digunakan untuk mendeteksi status metilasi, sebagai alternatif metode *sequencing*.

Kata Kunci : Kanker payudara, Metilasi, Gen RASSF1, MSP, *Sequencing*

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah salah satu kanker yang paling umum pada wanita di seluruh dunia, yang menyebabkan sekitar 570.000 kematian pada tahun 2015 (Sun et al., 2017). Berdasarkan data Global Cancer Observatory (2020), insiden kanker payudara pada wanita di Indonesia dari segala umur sebanyak 65.858 ribu (16,6%) dengan angka mortalitas mencapai 22.430 ribu (20,4%) dari total kasus, serta prevalensi selama lima tahun terakhir sebanyak 201.143 ribu (36,1%). Berdasarkan data tersebut, kanker payudara menempati urutan pertama sebagai jumlah kanker terbanyak di Indonesia, serta menjadi salah satu penyumbang kematian tertinggi kedua akibat kanker. Menurut Scully et al. (2012), metastasis merupakan penyebab utama kematian pada kanker payudara. Metastasis merupakan proses penyebaran sel kanker dari tumor primer ke bagian tubuh/organ lainnya melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik. Tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) pasien kanker payudara akan lebih baik apabila didiagnosis sejak dini, karena kanker cenderung bermetastasis sehingga dapat memperburuk prognosis pasien (Els, 2022).

Pemeriksaan berbasis molekuler untuk kanker telah berkembang pesat, hal ini karena beberapa perubahan genetik maupun epigenetik terlibat dalam mekanisme perkembangan kanker (karsinogenesis). Menurut Sun et al. (2017), salah satu peristiwa epigenetik yang terlibat dalam karsinogenesis adalah metilasi DNA yang terjadi pada awal karsinogenesis. Metilasi yang terjadi pada nukleotida sitosin situs CpG daerah promotor gen mengakibatkan penurunan ekspresi atau inaktivasi gen tumor supresor. Metilasi tersebut juga terjadi pada kanker payudara dan diketahui terjadi di

awal karsinogenesis (Salvi et al., 2016; Shen et al., 2016; Han et al., 2018; Saelee & Pongtheerat, 2020). Metilasi pada kanker payudara telah banyak dipelajari dengan tujuan untuk menemukan penanda biologis (biomarker) untuk kanker tersebut (Liyana et al., 2019; Vietri et al., 2021).

Salah satu gen tumor supresor yaitu *Ras association domain family 1* (RASSF1) yang terletak di kromosom 3p21.3. Gen tersebut mengkode protein yang dapat memengaruhi inisiasi dan perkembangan kanker. Gen ini memiliki delapan isoform, namun hanya RASSF1A dan RASSF1C yang paling banyak diekspresikan di dalam sel (Raos et al., 2021). Melalui *Rho family signalling pathways*, RASSF1A terlibat dalam regulasi migrasi dan invasi sel, hal ini menjelaskan mengapa hilangnya ekspresi RASSF1A dapat menyebabkan metastasis (García-Gutiérrez et al., 2020). Beberapa penelitian menunjukkan metilasi gen RASSF1 dapat dijadikan sebagai biomarker. Penelitian yang dilakukan oleh Fackler et al. (2014) menggunakan serum pasien pada pasien kanker payudara metastatik didapatkan hasil metilasi RASSF1A sebesar 70% (40 dari 57 sampel). Lalu pada studi yang dilakukan oleh Hagrass et al. (2014) dengan metode *methylation-specific* PCR ditemukan metilasi RASSF1A di jaringan dan serum pada pasien kanker payudara masing-masing adalah 70% dan 63,3%. Kemudian pada meta-analisis oleh Li et al. (2019) menyimpulkan bahwa metilasi RASSF1A berpotensi untuk digunakan sebagai biomarker prognosis yang potensial untuk kanker payudara.

Deteksi dan identifikasi metilasi DNA dapat dilakukan dengan beberapa teknik molekuler, diantaranya *methylation-specific* PCR (MSP), *quantitative methylation-specific* PCR (qMSP), dan *sequencing* (Šestáková, Šálek & Remešová, 2019). Metode *methylation-specific* PCR (MSP) memiliki keunggulan diantaranya pengerjaannya yang mudah, sensitivitas tinggi, fleksibilitas dalam memilih wilayah untuk analisis, efektivitas waktu, dan biaya yang terjangkau. Namun, kekurangan dari metode ini adalah hasilnya

yang kualitatif dimana penentuan status metilasi berdasarkan visualisasi *band* DNA. Selain itu, metode ini tidak mampu menentukan persentase metilasi (Khodadadi et al., 2021; Pajares et al., 2021). Jika jumlah persentase metilasi kecil, maka besar kemungkinan akan terdeteksi normal pada hasil MSP, meskipun sebenarnya terdapat metilasi.

Persentase metilasi dapat ditentukan menggunakan metode qMSP. Metode ini menggabungkan metode MSP dengan probe TaqMan. Dua probe digunakan untuk berikatan secara spesifik pada sekuens DNA. Kelebihan dari metode qMSP yaitu sangat spesifik dan pengerjaannya yang lebih cepat daripada metode MSP. Namun, metode ini relatif mahal karena penggunaan probe dan tidak dapat memberikan informasi tentang status metilasi masing-masing situs CpG (Šestáková et al., 2019; Sigalotti et al., 2019)

Untuk mengetahui status metilasi tiap situs CpG dapat menggunakan metode *sequencing*. Metode ini merupakan *gold standard* untuk deteksi metilasi DNA karena memberikan pendekatan kuantitatif dan efisien untuk mengidentifikasi status metilasi (Y. Li & Tollefsbol, 2011). Selain dapat menilai status metilasi di setiap situs CpG, kelebihan dari metode ini yaitu mampu menilai keberhasilan konversi bisulfit DNA. Namun, metode ini menggunakan instrumen yang mahal dan prosedur pengerjaan yang panjang serta kompleks (Gouil & Keniry, 2019).

Pilihan metode yang tepat tergantung pada kebutuhan dan teknologi yang tersedia di laboratorium (Sigalotti et al., 2019). *Methylation-specific* PCR (MSP) merupakan metode paling sederhana, dimana sumber daya yang diperlukan umumnya tersedia di sebagian besar laboratorium molekuler seperti mesin *thermal cycler*, *chamber* elektroforesis, dan instrumen lain yang biasanya digunakan pada PCR konvensional. Tetapi, kemampuan metode MSP untuk secara akurat menentukan status metilasi hanya didasarkan oleh visualisasi *band* DNA. Jika amplikon yang dihasilkan terlalu sedikit, maka *band* DNA dapat tidak tervisualisasikan pada elektroforesis gel

agarosa (Magdeldin, 2012). Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk memvalidasi metode MSP dengan metode Sanger *sequencing*. Validasi ini bertujuan untuk menilai akurasi dari metode MSP dalam mendeteksi metilasi.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian adalah deskriptif observasional dengan desain *cross sectional*. Sampel yang digunakan berjumlah 16 jaringan kanker payudara yang tersimpan di *biobank* Rumah Sakit Kanker Dharmais (RSKD). Prosedur penelitian dimulai dengan ekstraksi DNA mengikuti protokol QIAamp DNA Mini & Blood Kit (LOT: 160031233). Hasil ekstraksi DNA kemudian dikonversi dengan natrium bisulfit menggunakan protokol EpiTect® Plus DNA Bisulfite Kit (LOT: 172034905). Konsentrasi ssDNA yang diperoleh diukur dengan NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific). Hasil konversi DNA ini yang akan digunakan sebagai *template* pada *methylation-specific* PCR (MSP). Pengerjaan MSP diawali dengan pembuatan *master mix* masing-masing untuk dua pasang primer berbeda yaitu primer *methylated* (primer M) dan primer *unmethylated* (primer U) (Hagrass et al., 2014). Berikut adalah sekuens primer *methylated* RASSF1 dengan panjang produk 269 bp dan suhu annealing 52°C; primer RASSF1 (M) *forward* 5'-GGTTTTTTTTAGTTTTTTTTTCGTC-3' dan primer RASSF1 (M) *reverse* 5'-CTACCGTATAAAATTACACGC-3'. Berikut adalah sekuens primer *unmethylated* RASSF1 dengan panjang produk 271 bp dan suhu annealing 53°C; primer RASSF1 (U) *forward* 5'-TGGTTTTTTTTAGTTTTTTTTTGTT-3' dan primer RASSF1 (U) *reverse* 5'-ACTACCATATAAAATTACACACA-3'.

Methylation-specific PCR (MSP) dilakukan sesuai dengan protokol EpiTect® MSP Kit (LOT: 142347565). Komponen *master mix* dengan volume total sebanyak 25 µL sebagai berikut; 12,5 µL EpiTect Master Mix (2X), 0,75 µL primer *forward* (10 µM), 0,75 µL primer *reverse* (10 µM), 10 µL RNase-

free water, dan 1 μL *template* DNA (<100 ng/25 μL reaksi). Program MSP pada mesin *thermal cycler* ProFlex (Thermo Scientific) diatur sebagai berikut; pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 10 menit; dilanjutkan dengan 40 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C (primer M) dan 53°C (primer U) selama 30 detik, dan *extension* pada suhu 72°C selama 30 detik; diakhiri dengan satu siklus *final extension* pada suhu 72°C selama 10 menit.

Produk MSP kemudian divisualisasi menggunakan elektroforesis gel agarosa dan GelDoc Biorad. Hasil yang diharapkan adalah *single band* DNA dengan panjang produk termetilasi seluruhnya (*fully methylated*) dan tidak termetilasi (*unmethylated*) berturut-turut adalah 269 bp dan 271 bp. Apabila kedua *band* DNA muncul bersamaan maka diidentifikasi termetilasi sebagian (*partially methylated*). Kemudian hasil tersebut divalidasi dengan *Sanger sequencing*.

Sanger sequencing digunakan untuk mengidentifikasi susunan nukleotida DNA (sekuens) dengan cara membandingkan sekuens dari sampel dengan sekuens yang ada pada *gene bank*. DNA yang akan ditentukan urutan sekuensnya dijadikan sebagai *template* untuk kemudian diamplifikasi. Modifikasi DNA dengan konversi bisulfit dilakukan terlebih dahulu kemudian diamplifikasi dengan PCR yang menyebabkan urasil berubah menjadi timin sehingga metilasi DNA dapat dibaca langsung dengan metode Sanger. Proses *sequencing* diawali dengan PCR untuk mengamplifikasi *template* DNA RASSF1 yang telah dikonversi bisulfit menggunakan sepasang primer RASSF1 *bisulphite sequencing* (Zhang et al., 2014). Sekuens primer sebagai berikut; RASSF1 (BF) 5'-AGTTTTTGTATTTAGGTTTTTATTG-3' dan RASSF1 (BR) 5'-AACTCAATAAACTCAAACCTCCCC-3'. PCR dilakukan menggunakan protokol HotStarTaq® DNA *Polymerase* (LOT: 172011386). Komponen *master mix* dengan volume total sebanyak 25 μL sebagai berikut; 5 μL *Buffer* PCR (10X); 5 μL *Q solution*; 0,5 μL dNTPs mix (10 mM); 0,75 μL primer RASSF1 BF (10

μM); 0,75 μL primer RASSF1 BR (10 μM); 0,125 μL HotStart DNA *polymerase*; 10,875 μL RNase-free water; dan 1 μL *template* DNA (<100 ng/25 μL reaksi). PCR *tube* berisi komponen reaksi dimasukkan ke dalam mesin *thermal cycler* ProFlex (Thermo Scientific). Program PCR menggunakan protokol PCR *Touch-Up* (Rowther et al., 2012) sebagai berikut; aktivasi awal pada suhu 95°C selama 15 menit; dilanjutkan dengan 10 siklus yang terdiri dari 95°C selama 30 detik, 48°C selama 30 detik (+0,5°C setiap siklus), dan 72°C selama 1 menit. Perulangan 10 siklus dilakukan sebanyak lima kali (50 siklus). Produk PCR divisualisasi menggunakan elektroforesis gel agarosa dan GelDoc Biorad. Hasil yang diharapkan adalah *single band* DNA dengan panjang produk 191 bp.

Hasil PCR DNA RASSF1 kemudian dipurifikasi sesuai dengan protokol Geneaid GenepHlow™ Gel/PCR Kit (LOT: FF36105). Kemudian konsentrasi dan kemurnian DNA diukur dengan NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific). Selanjutnya dilakukan proses *cycle sequencing* dengan mesin *thermal cycler* Biorad T-100 menggunakan BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (LOT: 1308242). Komponen master mix dengan volume total sebanyak 20 μL sebagai berikut; 10,25 μL RT *Grade Water*; 3,75 μL BigDye 5x *Sequencing Buffer*; primer 3,5 μL (1 μM); 0,5 μL BigDye Ready Reaction Mix; dan 2 μL *template* DNA (5 ng/ μL). Program *thermal cycler* untuk *cycle sequencing* menggunakan protokol yang sudah dioptimasi sebagai berikut; *pre-cycle* pada suhu 37°C selama 15 menit; dilanjutkan dengan 25 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 96°C selama 10 detik, *annealing* pada suhu 50°C selama 5 detik, dan *extension* pada suhu 60°C selama 4 menit.

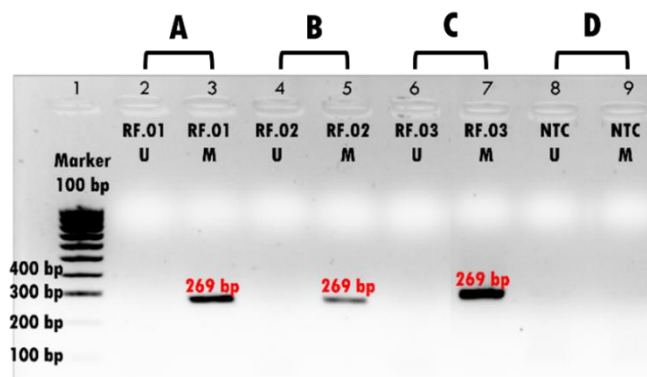
Hasil *cycle sequencing* kemudian dipurifikasi sesuai protokol dari Applied Biosystems Big-Dye XTerminator (LOT: 2009179). Produk *cycle sequencing* (20 μL) ditambahkan 90 μL SAM solution dan 20 μL BigDye XTerminator. Kemudian divortex selama 30 menit, lalu disentrifugasi pada 1000xg selama 1 menit. Supernatan hasil purifikasi *cycle sequencing*

sebanyak 20 μ L kemudian dilakukan Sanger *sequencing* menggunakan alat Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystem) dengan referensi sekuens yang digunakan adalah >NC_000003.12:c50340967-50340777.

Penelitian ini dilakukan berdasarkan kaidah etik dan telah mendapat persetujuan komite etik RSKD melalui surat nomor: 157/KEPK/V/2023. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar dan tabel, kemudian dianalisis secara deskriptif. Hasil deteksi metilasi dengan metode MSP dikategorikan menjadi tiga yaitu tidak termetilasi (*unmethylated*), termetilasi seluruhnya (*fully methylated*), dan termetilasi sebagian (*partially methylated*). Seluruh sampel yang telah diidentifikasi status metilasinya dengan metode MSP, selanjutnya dilakukan Sanger *sequencing* untuk memvalidasi hasilnya. Analisis data *sequencing* menggunakan *software* SeqScape v.2.7.

HASIL

Hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa pada status metilasi gen RASSF1 pada jaringan kanker payudara yang dideteksi dengan metode MSP ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi Elektroforesis Metilasi Gen RASSF1 Metode MSP

Keterangan:

Kolom 1 menunjukkan marker 100 bp sebagai referensi panjang produk *band* DNA. Hasil *fully methylated* apabila panjang produk primer (M) *single band* DNA 269 bp dan *unmethylated* apabila panjang produk primer (U) *single band* DNA 271 bp. (A) Sampel kode RF.01 status metilasinya *fully methylated* ditunjukkan oleh kolom 3 dengan panjang produk primer (M) adalah *single band* DNA 269 bp dan kolom 2 dengan primer (U) tidak terdapat *band* DNA. (B) Sampel kode RF.02 status metilasinya *fully methylated* ditunjukkan oleh kolom 5 dengan

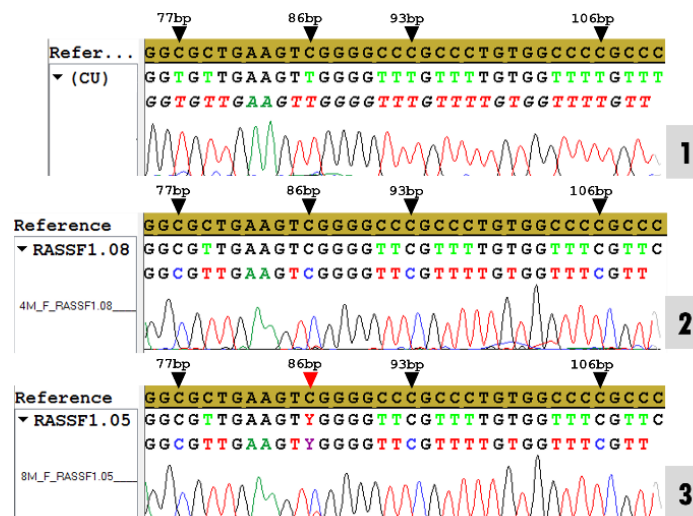
panjang produk primer (M) adalah *single band* DNA 269 bp dan kolom 4 dengan primer (U) tidak terdapat *band* DNA. (C) Sampel kode RF.03 status metilasinya *fully methylated* ditunjukkan oleh kolom 7 dengan panjang produk primer (M) adalah *single band* DNA 269 bp dan kolom 6 dengan primer (U) tidak terdapat *band* DNA. (D) *No template control* (NTC) pada primer (U) dan primer (M) tidak menunjukkan *band* DNA yang artinya tidak terjadi kontaminasi sehingga hasil valid.

Gambar 1. pada kolom 3, 5, dan 7 yang menunjukkan *single band* DNA dengan panjang produk 269 bp merupakan sampel dengan hasil termetilasi seluruhnya (*fully methylated*).

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Metilasi Gen RASSF1 Metode MSP

Hasil	N	%
<i>Fully methylated</i>	16	100%
<i>Partially methylated</i>	0	0%
<i>Unmethylated</i>	0	0%
Total	16	100%

Tabel 1. menunjukkan persentase status metilasi gen RASSF1, yaitu didapatkan sampel dengan status *fully methylated* sebanyak 16 sampel (100%). Kemudian, status metilasi tersebut divalidasi dengan metode Sanger sequencing menggunakan alat *genetic analyzer* dan *software* analisis SeqScape v.2.7. Hasil analisis *sequencing* ditunjukkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Sequencing Gen RASSF1

Keterangan:

Segitiga hitam menunjukkan situs CpG dan segitiga merah menunjukkan situs CpG yang

termetilasi sebagian. (1) Sampel tidak termetilasi (*unmethylated*) (2) Sampel termetilasi seluruhnya (*fully methylated*) (3) Sampel termetilasi sebagian (*partially methylated*).

Gambar 2. menunjukkan hasil *sequencing* gen RASSF1 yaitu berupa urutan basa nukleotida (sekuens) RASSF1. Sebanyak 16 situs CpG dapat diidentifikasi dari sekuens yang terbaca. Status metilasi pada Gambar 2. diidentifikasi sebagai berikut:

- 1) Nomor 1: Tidak termetilasi (*unmethylated*) yaitu tidak terjadi metilasi di seluruh situs CpG.
- 2) Nomor 2: Termetilasi seluruhnya (*fully methylated*) yaitu terjadi metilasi di seluruh situs CpG.
- 3) Nomor 3: Termetilasi sebagian (*partially methylated*) yaitu tidak terjadi metilasi di sejumlah situs CpG dari total situs CpG yang ada.

Situs CpG yang termetilasi ditunjukkan dengan adanya *single peak* berwarna biru yang mengkode basa sitosin (C). Hal ini menandakan tidak terjadi perubahan 5-metilsitosin (5mC) menjadi urasil (C→C) saat konversi bisulfit sebelumnya. Kemudian, situs CpG yang tidak termetilasi ditunjukkan dengan adanya *single peak* berwarna merah yang mengkode basa timin (T). Hal ini menandakan terjadi perubahan pada sitosin tidak termetilasi menjadi urasil (C→U) saat konversi bisulfit. Pada situs CpG yang memiliki *double peak* (disimbolkan dengan huruf “Y”) artinya sitosin di situs CpG tersebut termetilasi sebagian saja. Sampel yang status metilasinya berhasil diidentifikasi dengan metode MSP disandingkan dengan hasil metode Sanger *sequencing*. Kesesuaian hasil ditunjukkan oleh Tabel 2.

Tabel 2. Status Metilasi Gen RASSF1 dari Metode MSP dan Metode Sanger *sequencing*

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan Status Metilasi Gen RASSF1	
		Metode MSP	Metode Sanger <i>sequencing</i>
1	RF.01	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
2	RF.02	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
3	RF.03	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
4	RF.04	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan Status Metilasi Gen RASSF1	
		Metode MSP	Metode Sanger sequencing
5	RF.05	<i>Fully methylated</i>	<i>Partially methylated</i>
6	RF.06	<i>Fully methylated</i>	<i>Partially methylated</i>
7	RF.07	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
8	RF.08	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
9	RF.09	<i>Fully methylated</i>	<i>Partially methylated</i>
10	RF.10	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
11	RF.11	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
12	RF.12	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
13	RF.13	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
14	RF.14	<i>Fully methylated</i>	<i>Partially methylated</i>
15	RF.15	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>
16	RF.16	<i>Fully methylated</i>	<i>Fully methylated</i>

Tabel 2. menunjukkan hasil metilasi gen RASSF1 yang telah divalidasi dengan metode Sanger *sequencing* diperoleh hasil *fully methylated* sebanyak 12 sampel (75%) dan *partially methylated* sebanyak 4 sampel (25%). Terdapat 4 sampel yang hasilnya tidak sama dengan hasil metode MSP.

DISKUSI

Metode *methylation-specific PCR* (MSP) dan Sanger *sequencing* merupakan metode berbasis konversi bisulfit DNA. Proses konversi mengubah sitosin (C) tidak termetilasi menjadi urasil (U), sementara sitosin (C) termetilasi tidak berubah sehingga memungkinkan penentuan status metilasi. Keberadaan sitosin pada situs non-CpG sebagai indikator keberhasilan konversi dilihat melalui analisis hasil *sequencing*. Keberhasilan konversi bisulfit DNA sangat penting karena hasil konversi yang tidak sempurna (*incomplete conversion*) akan menyebabkan sitosin yang belum terkonversi diinterpretasikan sebagai sitosin termetilasi yang menyebabkan hasil pemeriksaan status metilasi tidak akurat (Pajares et al., 2021).

Sebanyak 16 (100%) sampel dideteksi status metilasinya *fully methylated* oleh metode MSP. Hasil tersebut kemudian divalidasi

menggunakan metode Sanger *sequencing*. Metode Sanger *sequencing* merupakan *gold standard* yang digunakan untuk validasi karena memiliki keunggulan utama yaitu kemampuannya dalam menilai status metilasi di setiap situs CpG sekaligus melihat keberhasilan konversi bisulfit DNA sehingga mengeliminasi hasil positif palsu. Namun, metode ini memerlukan instrumen yang mahal dan prosedur pengerjaan yang panjang serta kompleks (Gouil & Keniry, 2019).

Tabel 2. menunjukkan terdapat perbedaan hasil status metilasi antara metode MSP dan metode Sanger *sequencing*. Keempat sampel yaitu RF.05, RF.06, RF.09, dan RF.14 yang status metilasinya diidentifikasi *fully methylated* oleh metode MSP ternyata menunjukkan hasil *partially methylated* pada metode Sanger *sequencing*. Perbedaan ini terjadi karena pada empat sampel tersebut, tidak semua situsya termetilasi. Satu dari 16 situs CpG yang berhasil diidentifikasi, tepatnya pada situs CpG 86 bp hanya terjadi metilasi sebagian. Hal ini yang menyebabkan primer *unmethylated* (U) pada metode MSP tidak dapat mengamplifikasi *template* DNA karena pengenalan situs CpG yang terlalu sedikit. Sekalipun terjadi amplifikasi, produk MSP yang dihasilkan sangat sedikit sehingga tidak dapat divisualisasikan dengan elektroforesis gel agarosa.

Metode MSP menggunakan primer yang didesain untuk mengenali 1-3 situs CpG pada sampel untuk amplifikasi. Primer *unmethylated* (U) didesain untuk menempel (*annealing*) pada situs CpG yang tidak termetilasi (*unmethylated*). Namun, pada keempat sampel yang status metilasinya *partially methylated*, hanya satu situs CpG yang tidak termetilasi, itupun termetilasi sebagian dan posisinya di tengah sekuens. Hal inilah yang menyebabkan primer tidak menempel ke *template* DNA sehingga amplifikasi tidak terjadi (Kurdyukov & Bullock, 2016).

Berdasarkan penjelasan tersebut, maka perbedaan keempat hasil sebelumnya tidak terlalu berarti signifikan terhadap akurasi hasil status

metilasi yang didapatkan dari metode MSP karena hanya satu situs CpG yang termetilasi sebagian dari total 16 situs CpG. Artinya, sebanyak 15 situs CpG yang termetilasi tetap akan mendominasi, sehingga menyebabkan promotor gen RASSF1 pada keempat sampel tersebut tetap mengalami inaktivasi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat kesesuaian antara hasil metode MSP dengan metode Sanger *sequencing* karena pada seluruh sampel yang diperiksa status metilasinya dengan kedua metode tersebut diidentifikasi mengalami metilasi (*methylated*). Hasil ini menunjukkan bahwa pemeriksaan status metilasi dengan metode MSP adalah valid, sehingga dapat digunakan untuk deteksi metilasi gen RASSF1.

Penelitian yang dilakukan oleh Buhmeida et al. (2011) dengan menggunakan sampel FFPE, didapatkan hasil gen yang paling sering termetilasi adalah RASSF1A (65 dari 100 sampel). Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara metilasi RASSF1A dan metastasis kelenjar getah bening (KGB), serta metilasi RASSF1A dapat digunakan sebagai prediktor independen untuk prognosis buruk pada kanker payudara. Selanjutnya berdasarkan hasil studi meta-analisis Jiang et al. (2012) pada pasien yang mengalami hipermetilasi promotor RASSF1A memiliki risiko yang lebih tinggi untuk kambuh (*relapse*) dan memiliki kelangsungan hidup lebih buruk. Oleh sebab itu, identifikasi status metilasi ini sangat penting untuk meningkatkan strategi terapi pada pasien kanker payudara untuk meningkatkan kualitas dan kelangsungan hidup pasien. Metode MSP memungkinkan untuk digunakan sebagai prosedur identifikasi status metilasi gen RASSF1 pada kanker payudara.

KESIMPULAN

Metode *methylation-specific* PCR (MSP) merupakan metode yang akurat dalam mendeteksi metilasi gen RASSF1 pada jaringan kanker payudara.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan pada segenap pimpinan dan staf laboratorium Penelitian dan Pengembangan RS Kanker Dharmais, Jakarta.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan untuk penerbitan prosiding ini.

REFERENSI

- Buhmeida, A., Merdad, A., El-Maghrabi, J., Al-Thobaiti, F., Ata, M., Bugis, A., Syrjänen, K., Abuzenadah, A., Chaudhary, A., Gari, M., Al-Qahtani, M., & Dallol, A. (2011). RASSF1A methylation is predictive of poor prognosis in female breast cancer in a background of overall low methylation frequency. *Anticancer Research*, 31(9), 2975-2981.
- Els, V. (2022). Keterkaitan Cara Kerja Kontrasepsi Hormonal Dengan Risiko Terjadinya Kanker Payudara. *Essential: Essence of Scientific Medical Journal*, 19(2), 25. <https://doi.org/10.24843/estl.2021.v19.i02.p05>
- Fackler, M. J., Bujanda, Z. L., Umbricht, C., Teo, W. W., Cho, S., Zhang, Z., Visvanathan, K., Jeter, S., Argani, P., Wang, C., Lyman, J. P., De Brot, M., Ingle, J. N., Boughey, J., McGuire, K., King, T. A., Carey, L. A., Cope, L., Wolff, A. C., & Sukumar, S. (2014). Novel methylated biomarkers and a robust assay to detect circulating tumor dna in metastatic breast cancer. *Cancer Research*, 74(8), 2160-2170. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3392>
- García-Gutiérrez, L., McKenna, S., Kolch, W., & Matallanas, D. (2020). RASSF1A tumour suppressor: Target the network for effective cancer therapy. *Cancers*, 12(1), 1-22. <https://doi.org/10.3390/cancers12010229>
- Global Cancer Observatory. (2020). *Cancer in Indonesia*. International Agency for Research on Cancer (IARC). <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>
- Gouil, Q., & Keniry, A. (2019). Latest techniques to study DNA methylation. *Essays in Biochemistry*, 63(6), 639-648.

<https://doi.org/10.1042/EBC20190027>

- Hagrass, H. A., Pasha, H. F., Shaheen, M. A., Abdel Bary, E. H., & Kassem, R. (2014). Methylation status and protein expression of RASSF1A in breast cancer patients. *Molecular Biology Reports*, 41(1), 57-65. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2837-3>
- Han, W., Wang, Y., Fan, J., & Wang, C. (2018). Is APC hypermethylation a diagnostic biomarker for bladder cancer? A meta-analysis. *OncoTargets and Therapy*, 11, 8359-8369. <https://doi.org/10.2147/OTT.S177601>
- Jiang, Y., Cui, L., Chen, W. de, Shen, S. hai, & Ding, L. dong. (2012). The prognostic role of RASSF1A promoter methylation in breast cancer: A meta-analysis of published data. *PLoS ONE*, 7(5), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036780>
- Khodadadi, E., Fahmideh, L., Khodadadi, E., Dao, S., Yousefi, M., Taghizadeh, S., Asgharzadeh, M., Yousefi, B., & Kafil, H. S. (2021). Current advances in DNA methylation analysis methods. *BioMed Research International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8827516>
- Kurdyukov, S., & Bullock, M. (2016). DNA methylation analysis: Choosing the right method. *Biology*, 5(1), 1-21. <https://doi.org/10.3390/biology5010003>
- Li, M., Wang, C., Yu, B., Zhang, X., Shi, F., & Liu, X. (2019). Diagnostic value of RASSF1A methylation for breast cancer: A meta-analysis. *Bioscience Reports*, 39(6), 1-10. <https://doi.org/10.1042/BSR20190923>
- Li, Y., & Tollefsbol, T. O. (2011). DNA Methylation Detection: Bisulfite Genomic Sequencing Analysis. *Methods in Molecular Biology*, 791(3), 11-21. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_2
- Liyanage, C., Wathupola, A., Muraleetharan, S., Perera, K., Punyadeera, C., & Udagama, P. (2019). Promoter hypermethylation of tumor-suppressor genes p16ink4a, rassf1a, timp3, and pcqap/med15 in salivary dna as a quadruple biomarker panel for early detection of oral and oropharyngeal cancers. *Biomolecules*, 9(4), 1-19. <https://doi.org/10.3390/biom9040148>
- Magdeldin, S. (2012). *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*. IntechOpen. <https://doi.org/10.32388/9CU07B>
- Pajares, M. J., Palanca-Ballester, C., Urtasun, R., Alemany-Cosme, E., Lahoz, A., & Sandoval, J. (2021). Methods for analysis of specific DNA methylation status. *Methods*, 187, 3-12.
-

<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.021>

- Raos, D., Ulamec, M., Bojanac, A. K., Bulic-Jakus, F., Jezek, D., & Sincic, N. (2021). Epigenetically inactivated rassf1a as a tumor biomarker. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(4), 386-397. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2020.5219>
- Rowther, F. B., Karooni, H., & Warr, T. (2012). TOUCH-UP gradient amplification method. *Journal of Biomolecular Techniques*, 23(1), 1-3. <https://doi.org/10.7171/jbt.12-2301-004>
- Saelee, P., & Pongtheerat, T. (2020). APC Promoter Hypermethylation as a Prognostic Marker in Breast Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(12), 3627-3632. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.12.3627>
- Salvi, S., Gurioli, G., de Giorgi, U., Conteduca, V., Tedaldi, G., Calistri, D., & Casadio, V. (2016). Cell-free DNA as a diagnostic marker for cancer: Current insights. *OncoTargets and Therapy*, 9, 6549-6559. <https://doi.org/10.2147/OTT.S100901>
- Scully, O. J., Bay, B.-H., Yip, G., & Yu, Y. (2012). Breast Cancer Metastasis. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1187). https://doi.org/10.1007/978-981-32-9620-6_9
- Šestáková, Š., Šálek, C., & Remešová, H. (2019). DNA Methylation Validation Methods: A Coherent Review with Practical Comparison. *Biological Procedures Online*, 21(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12575-019-0107-z>
- Shen, C., Sheng, Q., Zhang, X., Fu, Y., & Zhu, K. (2016). Hypermethylated APC in serous carcinoma based on a meta-analysis of ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0271-6>
- Sigalotti, L., Covre, A., Colizzi, F., & Fratta, E. (2019). Quantitative Methylation-Specific PCR: A Simple Method for Studying Epigenetic Modifications of Cell-Free DNA. In V. Casadio & S. Salvi (Eds.), *Cell-free DNA as Diagnostic Markers: Methods and Protocols* (pp. 137-162). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8973-7_11
- Sun, Y., Zhao, Z., Yang, Z., Xu, F., Lu, H., Zhu, Z., & Shi, W. (2017). *Risk Factors and Preventions of Breast Cancer*. 13. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>

Vietri, M. T., D'elia, G., Benincasa, G., Ferraro, G., Caliendo, G., Nicoletti, G. F., & Napoli, C. (2021). DNA methylation and breast cancer: A way forward (Review). *International Journal of Oncology*, 59(5), 1-12. <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5278>

Zhang, C. Y., Zhao, Y. X., Xia, R. H., Han, J., Wang, B. S., Tian, Z., Wang, L. Z., Hu, Y. H., & Li, J. (2014). RASSF1A promoter hypermethylation is a strong biomarker of poor survival in patients with salivary adenoid cystic carcinoma in a Chinese population. *PLoS ONE*, 9(10), 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110159>

UJI EFEKTIVITAS BIOLARVASIDA MINYAK ATSIRI SERAI WANGI (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) TERHADAP MORTALITAS LARVA *Aedes* SP.

Anita Oktari^{1*} · Isti Sofia Insani² · Mira Aprilani³ · Anisa Aulia Inandawati⁴

^{1,2,3,4}Program Studi Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail anita_oktari@staba.ac.id
No Tlp WA : 08122334215

Abstract

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by *Aedes sp.* as the vector of dengue virus for which a cure has not been found. Control of disease depends on vector control and one of them is eradication through the larval stage. Citronella oil (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) has been shown to contain citronellal and geraniol which are toxic to larvae. The research aims to determine the effectiveness and toxicity or Lethal Concentration 50% (LC50) of citronella oil as an alternative biolarvacide. The research is experimental with post test only control group design consisting of a control and an experimental group consisting of biolarvacide with concentration of 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, and 200 ppm. The 25 larvae of *Aedes sp.* instar III for each test was carried out 4 times. Shapiro-Willk test analysis showed that the data were normally distributed with $p > 0,05$ and *one-way Anova* test could be continued and there were significant differences between each treatment with $F_{crit} > F_{table}$ (140,703 > 4,8932). The LC50 value was obtained by Probit test. The result showed that citronella oil (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) was effective as a biolarvacide with LC50 of 151 ppm.

Keywords : *Aedes sp.*, biolarvacide, essential oil, citronella

Abstrak

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes sp.* sebagai vektor pembawa virus dengue yang belum ditemukan obatnya. Pengendalian penyakit ini bergantung pada pengendalian vektor nyamuk *Aedes sp.* Salah satunya adalah pemberantasan melalui stadium larva. Minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terbukti memiliki kandungan sitronelal dan geraniol yang bersifat toksik bagi larva. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas dan daya toksisitas atau *Lethal Concentration* 50% (LC50%) minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) sebagai alternatif biolarvasida. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *post test only control group* yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok eksperimen yang terdiri dari biolarvasida dengan konsentrasi 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm dan 200 ppm. Larva yang digunakan adalah larva *Aedes sp.* instar III sebanyak 25 larva, setiap pengujian dilakukan sebanyak 4 kali. Analisis Uji Shapiro-Willk menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan hasil $p > 0,05$ sehingga uji *one-way Anova* bisa dilanjutkan dan terdapat perbedaan bermakna dari setiap perlakuan dengan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (140,703 > 4,8932). Nilai LC50 diperoleh dengan uji Probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) efektif sebagai biolarvasida dengan LC50 sebesar 151 ppm.

Kata Kunci : *Aedes sp.*, biolarvasida, minyak atsiri, serai wangi

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes sp.* sebagai vektor pembawa virus dengue. Penyakit ini menyebabkan penderita mengalami demam tinggi yang disertai manifestasi klinis pendarahan yang berpotensi menimbulkan renjatan (*shock*) dan kematian. Menurut Direktur Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonotik, dr. Siti Tarmizi M.Epid dalam (Lubis, 2021), mengatakan bahwa kasus DBD yang terjadi di Indonesia hingga Juli 2021 mencapai 71.633 (Makkiah et al., 2019).

Hingga saat ini belum ditemukan vaksin atau obat untuk DBD, sehingga pengendalian penyakit ini bergantung pada pengendalian vektornya, yaitu nyamuk *Aedes sp.* yang salah satunya melalui stadium larva. Pengendalian nyamuk *Aedes sp.* sering dilakukan menggunakan larvasida kimia. Menurut (Nugraha et al., 2019), penggunaan larvasida kimia seperti *temephos* atau abate 1%, memang memberikan efek yang manjur terhadap kematian larva. Namun, bahan-bahan kimia tersebut tidak bisa terurai sempurna sehingga meninggalkan zat sisa yang menyebabkan terjadinya degradasi lingkungan. Selain itu, akibat dari pemakaian larvasida kimia yang terus berulang dapat menyebabkan resistensi terhadap larva (Farmasi & Perjuangan, 2021).

Biolarvasida merupakan larvasida alami yang memiliki bahan dasar dari tanaman yang mempunyai kandungan senyawa tertentu yang dapat membunuh larva. Menurut (Mangelep, 2018) serai wangi merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang sering digunakan sebagai pengusir serangga. Minyak atsiri dari serai wangi mengandung bahan aktif seperti sitronella dan geraniol yang berfungsi sebagai toksin dan menjadi kandungan utama sebagai antimikroorganisme, termasuk mortalitas larva. Kandungan ini akan menyebabkan larva kehilangan cairan tubuh yang berkelanjutan sampai mati.

Menurut (Farmasi & Perjuangan, 2021), minyak atsiri pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, karena memiliki sifat ketegangan yang berbeda dan juga memiliki tingkat kestabilan yang rendah akibat pengaruh lingkungan. Emulsifier merupakan zat yang memiliki kemampuan untuk

menurunkan ketegangan permukaan suatu medium dan menurunkan tegangan antara dua fase yang berbeda polaritasnya. Selain itu, emulsifier dapat menstabilkan emulsi (Anggraini, 2019).

Banyak sekali penelitian yang dilakukan untuk mengendalikan nyamuk sebagai vektor DBD dengan berbagai ekstrak bahan alami, seperti penelitian yang dilakukan oleh (Safiudin et al., 2017), yaitu menggunakan ekstrak etanol dari rimpang temu kunci sebagai alternatif larvasida dimana ekstrak tersebut efektif membunuh larva mulai dari konsentrasi 0,05% sampai dengan 2%. Penelitian lain dilakukan oleh (Farich et al., 2021) dimana penggunaan minyak atsiri serai wangi pada konsentrasi 11,804 ppm menyebabkan kematian terhadap larva instar III sebanyak 50%. Hal ini membuktikan bahwa serai wangi dapat digunakan sebagai bahan pengganti larvasida.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh biolarvasida minyak atsiri serai wangi pada rentang konsentrasi 100-200 ppm terhadap mortalitas larva *Aedes sp.* dan untuk mengetahui daya toksisitas atau *Lethal Concentration 50%* (LC_{50}) dari biolarvasida minyak atsiri serai wangi terhadap mortalitas larva *Aedes sp.*

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan yaitu abate 1%, aquades, kertas label, minyak atsiri serai wangi merk Envile, pakan ikan, tergitol NP10, dan telur nyamuk *Aedes sp.*

Metode penelitian yang dilakukan diantaranya:

1. **Pembiakkan Telur Nyamuk.** Pembiakkan dilakukan dengan memasukkan telur nyamuk ke dalam nampan yang berisi aquades sebanyak $\frac{1}{2}$ dari volume nampan. Dibiarkan 1-2 hari. Jika Larva nyamuk *Aedes sp.* yang telah menetas diberikan pakan ikan untuk makanan larva setiap hari sebanyak 1 butir, dan dikembangkan sampai instar III. Suhu optimum saat proses pembiakan dari tahapan telur sampai menjadi larva adalah 25°C - 30°C, kelembaban udara yang optimum adalah 81,5 - 89,5% dan pH optimum adalah pH normal atau 5,8 - 8,6. Kondisi tersebut dapat dicapai dengan cara menggunakan aquades sebagai media pertumbuhan telur

nyamuk pada suhu ruangan yang diatur kelembaban dan pH-nya pada nilai tersebut. Pengukuran suhu menggunakan alat Termometer, pengukuran kelembaban dengan alat Higrometer, dan pengukuran pH dengan pH meter.

2. **Pembuatan Formula Biolarvasida Minyak Atsiri Serai Wangi.** Sebelum proses pembuatan biolarvasida, dilakukan pengecekan suhu dan kelembapan ruangan terlebih dahulu. Pembuatan biolarvasida dimulai dengan membuat larutan stok 100% yang terdiri dari minyak atsiri serai wangi dan tergitol NP10 masing-masing 2 mL. Setelah itu, dibuat larutan stok 1000 ppm dengan dipipet 0,5 mL dari larutan stok 100% dan ditambahkan aquades hingga 500 mL. Untuk membuat larutan 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm, dipipet 10 mL, 12,5 mL, 15 mL, 17,5 mL, dan 20 mL ke dalam masing-masing labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquades hingga 100 mL. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam gelas plastik yang telah diberi label. Sebelum diuji, dilakukan pengujian pH terhadap masing-masing larutan (Anggraini, 2019).
3. **Pengujian Biolarvasida.** Pada tahap ini, larva instar III sebanyak 25 ekor dimasukkan ke dalam masing-masing gelas plastik berisi kontrol positif (abate 1%), kontrol negatif (aquades), formula 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Pengamatan dilakukan selama 24 jam. Perhitungan jumlah larva yang mati dilakukan secara langsung dengan mata telanjang tanpa menggunakan mikroskop. Hasil yang diperoleh dicatat dalam bentuk persentase jumlah kematian larva untuk setiap konsentrasi (Safiudin et al., 2017).
4. **Analisis data.** Data uji yang didapat diolah dengan menggunakan uji Normalitas untuk mengetahui data yang diperoleh apakah sudah terdistribusi secara normal atau tidak. Kemudian dilanjutkan dengan *Analysis of Variance* (Anova) satu arah untuk menguji apakah terdapat perbedaan bermakna antar beberapa perlakuan tersebut. Jika hasil Anova menunjukkan adanya perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan analisis Probit (Farmasi & Perjuangan, 2021) untuk mendapatkan nilai *Lethal*

Concentration 50 (LC50).

HASIL

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh biolarvasida minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap mortalitas/kematian larva *Aedes sp.* Pembagian subjek penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang terdiri dari kontrol positif (abate 1%) dan kontrol negatif (aquades), dan kelompok perlakuan yang diberikan formula biolarvasida dengan konsentrasi 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm dan 200 ppm. Penggunaan sampel yang diteliti yaitu 25 larva *Aedes sp.* instar III sebanyak 4 kali pengulangan yang kemudian diamati setelah 24 jam.

Tabel 1 Jumlah kematian larva *Aedes sp.* setelah perlakuan 24 jam

Pengulangan	Jumlah Larva yang Mati (ekor)						
	Kontrol Positif (A)	Kontrol negatif (B)	100 ppm (C)	125 ppm (D)	150 ppm (E)	175 ppm (F)	200 ppm (G)
1	25	0	4	7	13	18	23
2	25	0	4	8	15	19	25
3	25	0	5	8	11	20	24
4	25	0	3	9	15	20	21
Rata-rata	25	0	4	8	13,5	19,25	23,35
Persentase	100%	0%	16%	32%	54%	77%	93%

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh biolarvasida minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap kematian larva *Aedes sp.* Semakin besar konsentrasi, maka semakin banyak jumlah larva yang mengalami kematian. Dari data tersebut kemudian dianalisis menggunakan software IBM SPSS 29.0, yaitu menggunakan uji *Shapiro Willk*, uji Anova satu arah taraf 1%, dan analisis probit untuk mengetahui daya toksisitas terhadap larva *Aedes sp.*

Uji normalitas dan uji homogenitas merupakan syarat uji parametrik. Jika data terdistribusi secara normal dan data homogen, maka uji parametrik bisa dilakukan. Namun, jika data tidak terdistribusi secara normal

dan tidak homogen, maka analisis beralih ke analisis non- parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis* atau *Mann-U Whitney*. Uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$ sehingga data terdistribusi secara normal. Sedangkan untuk uji homogenitas diperoleh hasil bahwa data memiliki varians yang sama atau homogen. Hal tersebut dibuktikan dari nilai signifikansi $> 0,05$ ($0,188 > 0,05$).

Analisis parametrik yang dipakai adalah uji Anova satu arah atau *one-way Anova* karena pada penelitian ini, pengujian terdiri lebih dari 2 kelompok independen. Berdasarkan hasil uji Anova diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan konsentrasi biolarvasida minyak atsiri serai wangi terhadap kematian larva *Aedes sp.* instar III dengan hasil F hitung $> F$ tabel ($140,703 > 4,8932$) sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima berdasarkan hipotesis penelitian.

Tabel 2. Uji Probit

Probability	Confidence Limits		
	95% Confidence Limits for Dosis		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
100	114,685	94,220	127,789
200	126,120	107,816	137,718
300	135,067	118,731	145,464
400	143,213	128,810	152,566
500	151,270	138,818	159,730
600	159,780	149,262	167,613
700	169,416	160,585	177,272
800	181,434	173,347	191,018
900	199,524	189,698	215,260
990	250,050	228,310	294,241

a. Logarithm base = 10.

Berdasarkan Tabel 2, diperoleh nilai LC50% yang ditunjukkan pada nilai probabilitas 500, yaitu konsentrasi 151,270 ppm atau dibulatkan menjadi 151 ppm dengan interval 138,818 ppm - 159,730 ppm. Artinya, pada konsentrasi 151

ppm, biolarvasida sudah memberikan kematian terhadap $\frac{1}{2}$ dari jumlah larva yang digunakan untuk pengujian.

Pengamatan larva di bawah mikroskop dilakukan setelah larva mencapai stadium atau instar III untuk memastikan larva yang akan diuji merupakan larva jenis *Aedes sp.* Berdasarkan hasil pengamatan pada Gambar 1, jenis larva tersebut merupakan *Aedes sp.* dengan ciri-ciri umum larva *Aedes sp.* yaitu



terdapat *comb scale* satu baris dan siphon nampak gemuk (Arcani et al., 2017).

Gambar 1. Larva *Aedes sp.*

DISKUSI

Uji efektivitas biolarvasida ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh biolarvasida minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap kematian larva sekaligus menentukan konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% larva uji atau *Lethal Concentration* (LC50). Pengujian dilakukan dalam waktu 24 jam. Larva yang digunakan merupakan larva berjenis *Aedes sp.* yang dibiakkan di Laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung dari fase telur yang diperoleh dari Loka Litbangkes Pangandaran. Larva ini dibiakkan sampai instar III karena pada tahapan tersebut organ tubuh larva sudah terbentuk secara lengkap dan larva aktif mengonsumsi makanan di air sehingga biolarvasida sangat mudah masuk ke dalam perut larva dan larva mengalami kematian (Safiudin et al., 2017).

Sebelum dilakukan pengujian biolarvasida terhadap larva, dilakukan pengujian faktor eksternal yaitu uji suhu, kelembapan dan pH larutan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui keadaan lingkungan yang dikhawatirkan

mempengaruhi terhadap pertumbuhan larva. Berdasarkan hasil pengujian faktor eksternal pada penelitian ini, suhu selama penelitian termasuk suhu optimum dengan suhu 25,0° C dan pH juga masuk ke dalam rentang pH optimum yaitu 6,5. Namun, kelembaban berada dibawah nilai optimum, yaitu 40%. Jika kelembaban udara kurang dari 60%, dapat mempengaruhi terhadap perkembangan nyamuk (Anggraini, 2019).

Minyak atsiri yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak atsiri serai wangi merk Enviel hasil produksi dari PT. Indosains Niaga Sejahtera yang telah diuji tingkat kemurniannya di laboratorium. Minyak atsiri serai wangi memiliki efektivitas larvasida terhadap larva *Aedes sp.* karena memiliki kandungan senyawa aktif yang bersifat toksin yang menyebabkan larva mengalami dehidrasi. Senyawa tersebut adalah sitronella, sitronellol, dan geraniol. Sitronella mempunyai sifat racun kontak dan racun perut. Racun kontak dapat menyebabkan kematian pada larva karena kehilangan cairan secara terus-menerus sehingga tubuh kekurangan cairan atau dehidrasi. Sebagai racun perut, sitronella akan masuk ke organ pencernaan sehingga menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase (Farich et al., 2021).

Pembuatan formula larvasida dimulai dengan menambahkan minyak atsiri sebanyak 2 mL dan emulsifier jenis tergitol NP10 sebanyak 2 mL. Campuran kedua larutan ini disebut larutan *stock* 100%. Emulsifier jenis tergitol NP10 (*Nonil-Phenol 10*) ini digunakan karena emulsifier ini sering digunakan dalam berbagai industri kimia. Selain itu, NP10 tidak menghasilkan busa yang banyak dibandingkan surfaktan lainnya yang dapat mencemari lingkungan (Jiang et al., 2019).

Pada penelitian ini menggunakan 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari kontrol (-) menggunakan aquadest dan kontrol (+) menggunakan bubuk abate 1%. Berdasarkan prosedur pemakaian abate, 1 gram bubuk abate digunakan untuk 10 L air sehingga bubuk abate yang digunakan untuk 100 mL yaitu sebanyak 0,001 gram. Hasil uji kontrol negatif yaitu 0% karena tidak ada larva yang mati dan kontrol positif memberikan hasil kematian 100%. Hal ini membuktikan bahwa kontrol yang digunakan memberikan hasil yang baik dan sesuai.

KESIMPULAN

Formula biolarvasida minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) memberikan pengaruh terhadap kematian larva *Aedes sp.* berdasarkan hasil uji Anova, yaitu $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($140,703 > 4,8932$) sehingga terdapat perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan. Daya toksisitas atau nilai LC50 yang diperoleh pada penelitian ini yaitu $151,270 \text{ ppm} \approx 151 \text{ ppm}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Loka Litbangkes Pangandaran yang telah menyediakan telur nyamuk *Aedes sp.* dan terimakasih kepada PT. Indosains Niaga Sejahtera yang menyediakan minyak atsiri serai wangi pada penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Anggraini, Septa dkk. (2019). Perkembangan *Aedes aegypti* pada Berbagai pH Air dan Salinitas Air. *Higeia Journal of Public Health Research and Development*, 1(3), 1-10. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/higeia>
- Arcani, N.L.K.S, Sudarmaja, I.M, & Swastika, I.K. (2017). Efektifitas Ekstrak Etanol Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *E-Jurnal Medika Udayana*, 6(1), 1-4.
- Farich, A., Perdana, A. A., & Yunita, D. (2021). Efektivitas Tanaman Sereh Wangi Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Vektora : Jurnal Vektor Dan Reservoir Penyakit*, 13(1), 19-26. <https://doi.org/10.22435/vk.v13i1.3767>
- Farmasi, P., & Perjuangan, U. (2021). Prosiding Seminar Nasional Universitas Ma Chung Uji Efektivitas Minyak Atsiri Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*)

Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jl. Pembela Tanah Air (PETA) No, 177, 46111.*

Jiang, L., Yang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Pan, B., Wang, B., & Lin, Y. (2019). Accumulation and toxicological effects of nonylphenol in tomato (*Solanum lycopersicum* L) plants. *Scientific Reports*, 9(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43550-7>

Lubis, L. A. (2021). Potensi Ekstrak Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti* Systematic Review. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 26(2), 173-180. <http://www.ufrgs.br/actavet/31-1/artigo552.pdf>

Makkiah, M., Salaki, C. L., & Assa, B. (2019). Efektivitas Ekstrak Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27977>

Mangelep, D. N. O. (2018). Efektivitas Sari Batang Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Larvasida *Aedes sp.* *Skripsi*, 1-49.

Nugraha, E. C., Mulyowati, T., & Binugraheni, R. (2019). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanolik Daun Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap Larva *Culex sp.* Instar III. *Jurnal Biomedika*, 12(02), 237-243.

Safiudin, A., Listiana, L. M. K., & Gayatri, Y. M. P. (2017). Efektivitas Penggunaan Biolarvasida Dari Ekstrak Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* roxb) Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*. *E-Print UMSurabaya*, 5-20. http://repository.um-surabaya.ac.id/545/3/13_BAB_II.pdf.

PERBANDINGAN NILAI INDEKS ERITROSIT DARI DARAH *WHOLE BLOOD* DAN *PRE DILUENT* PADA *HEMATOLOGY ANALYZER* MEDONIC M32

Vinka Amelia¹ · Betty Nurhayati¹ · Eem Hayati¹ · Mamat Rahmat¹

¹Program Studi D-III, Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : vinkaamelia72@gmail.com

No. Tlp Wa : 083143656546

Abstract

The erythrocyte index is often used to classify anemia. Determination of erythrocyte index can be done manually and automatically using a hematology analyzer. Hematology analyzer has two methods, namely the whole blood method and the pre diluent method. The whole blood method requires a blood sample that matches the volume needed, while the Pre Diluent method is used on a small sample taken on someone who is difficult to take. This study aims to determine the comparison of erythrocyte index values from whole blood and pre-diluent blood in the Medonic M32 hematology analyzer. This type of research is descriptive research with comparative studies (Comparative Study). There were 30 research samples with a sampling technique, namely consecutive sampling. The data of this study used primary data. The results of this study obtained the average value of erythrocyte index (MCV, MCH, MCHC) whole blood of 84.819 fL, 27.823 pg, and 32.777 g / dL. While the average value of erythrocyte index (MCV, MCH, MCHC) of pre-diluent blood was 79.112 fL, 27.442 pg, and 34.669 g / dL. There is a difference in erythrocyte index values in the whole blood method and the pre-diluent method which is tested statistically using the Wilcoxon signed rank test and the Paired Samples T-Test test with a significance value of $0.000 < 0.05$, so there is a significant difference between the whole blood method and the pre diluent method.

Keywords : Erythrocyte Index, Whole Blood mode, Pre Diluent mode, Hematology Analyzer

Abstrak

Indeks eritrosit sering digunakan untuk mengklasifikasikan anemia. Penentuan indeks eritrosit dapat dilakukan secara manual dan otomatis menggunakan *hematology analyzer*. *Hematology analyzer* memiliki dua metode yaitu metode *whole blood* dan metode *pre diluent*. Metode *whole blood* membutuhkan sampel darah yang sesuai dengan volume yang dibutuhkan, sedangkan metode *Pre Diluent* digunakan pada sampel dalam jumlah sedikit yang diambil pada seseorang yang sulit diambil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan nilai indeks eritrosit dari darah *whole blood* dan *pre diluent* pada *hematology analyzer* Medonic M32. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan studi perbandingan (Comparative Study). Sampel penelitian sebanyak 30 dengan teknik pengambilan sampel yaitu *consecutive sampling*. Data penelitian ini menggunakan data primer. Hasil penelitian ini diperoleh nilai rata-rata indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) darah *whole blood* sebesar 84,819 fL, 27,823 pg, dan 32,777 g/dL. Sedangkan nilai rata-rata indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) darah *pre diluent* sebesar 79,112 fL, 27,442 pg, dan 34,669 g/dL. Terdapat perbedaan nilai indeks eritrosit pada metode *whole blood* dan metode *pre diluent* yang diuji secara statistik menggunakan uji *Wilcoxon signed rank test* dan uji *Paired Samples T-Test* dengan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang bermakna antara metode *whole blood* dengan metode *pre diluent*.

Kata Kunci : Indeks Eritrosit, metode *Whole Blood*, metode *Pre Diluent*, *Hematology Analyzer*

PENDAHULUAN

Laboratorium klinik memiliki peran penting dalam setiap tindakan medis, dimana sekitar 70% keputusan diambil berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium. Salah satu peran terpenting dari laboratorium klinik adalah komunikasi yang jelas, akurat dan cepat kepada pemberi pelayanan kesehatan (Nugraheti, 2023).

Laboratorium Klinik melaksanakan pelayanan pemeriksaan di bidang hematologi, kimia klinik, mikrobiologi klinik, parasitologi klinik, imunologi klinik atau bidang lain yang berkaitan dengan kepentingan kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan (Yaqin, 2015).

Hematologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang darah dan bagian penyusun darah. Pemeriksaan darah rutin merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan dalam mendiagnosis penyakit kelainan darah dan menjadi acuan dalam menentukan pemeriksaan lanjutan dan pengobatan (Verbrugge & Huisman, 2015).

Pada umumnya, pemeriksaan hematologi rutin menggunakan sampel *whole blood* (darah utuh), yaitu apabila darah yang dibutuhkan dalam volume yang cukup. Sedangkan saat volume darah dalam jumlah yang sedikit, maka metode *pre diluent* akan berguna dalam situasi ini (Hamadto, 2018).

Salah satu pemeriksaan hematologi rutin adalah indeks eritrosit. Nilai eritrosit rata-rata (*Mean Corpuscular Volume*) atau disebut juga Indeks Eritrosit merupakan bagian dari pemeriksaan laboratorium hitung darah lengkap yang memberi keterangan mengenai banyaknya hemoglobin (hb) per eritrosit. Biasanya digunakan dalam mengklasifikasi anemia dan untuk membantu mendiagnosis penyebab anemia. Volume sel rerata (MCV), hemoglobin sel rerata (MCH), konsentrasi Hemoglobin sel rerata (MCHC) dihitung dari Hematokrit(PCV), perkiraan hemoglobin, dan hitung sel darah merah (Suhartati, 2015).

Pada pemeriksaan indeks eritrosit, jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin sangat berpengaruh dalam menentukan hasil MCV, MCH, dan MCHC. Rekomendasi waktu maksimal untuk pemeriksaan yang di kemukakan oleh *International Council for Standardization in Haematology*(ICSH) pada tahun 2002 yaitu maximal 4 jam (Vives-Coron, *et al.* 2013).

Prevalensi anemia tahun 2021 pada wanita usia produktif dengan rentang usia 15-49 tahun menurut WHO secara global adalah sebesar 29,9% (WHO, 2021). Sedangkan menurut Riskesdas (2018), tercatat sebesar 26,8% anak usia 5-14 tahun menderita anemia dan 32% pada usia 15-24 tahun, artinya 3-4 dari 10 remaja menderita anemia. Anemia merupakan kondisi pada eritrosit dan hemoglobin yang beredar tidak memenuhi kebutuhan oksigen bagi jaringan tubuh (Rusminingsih, 2023).

Pengukuran serta pemeriksaan sel darah dapat dilakukan secara otomatis menggunakan *hematology analyzer*. *Hematology analyzer* merupakan alat otomatis digital yang memberikan hasil yang sangat cepat dan dapat dilakukan pada beberapa parameter pemeriksaan seperti pemeriksaan darah lengkap, salah satunya indeks eritrosit. Selain itu, kelebihan alat ini yaitu volume sampel tidak banyak, tidak memerlukan perlakuan yang sulit karena darah yang diperoleh dapat langsung dilakukan pembacaan hasil dengan waktu yang singkat (Arini, 2024). *Hematology analyzer* memberikan ketepatan dan ketelitian yang tinggi. Untuk memastikan ketepatan dan ketelitian hasil, maka dilakukan uji validasi menggunakan bahan kontrol sebelum dilakukannya pemeriksaan sehingga hasil pemeriksaan dapat dipercaya (Prasetya, H. R., *et al.* 2016).

Perlu dilakukan upaya untuk mencegah pengambilan darah kembali seandainya volume darah tidak mencukupi, karena dengan dilakukannya pengambilan darah berulang maka hal tersebut akan menambah perlukaan dan kemungkinan menimbulkan ketakutan pasien. Selain itu, tindakan tersebut membuat hasil pemeriksaan yang dikeluarkan menjadi lebih lama karena dibutuhkannya waktu yang lebih panjang dari biasanya saat pengambilan darah. Oleh karena itu, metode *pre diluent* dapat menjadi solusi dengan memanfaatkan sampel darah vena yang sedikit tersebut tetap dapat dianalisis

(Sudaryati, 2020).

Di dalam larutan *diluent*, ada kemungkinan sel akan mengerut atau mengembang hingga menyebabkan lisis (Medonic, 2016). Di samping itu, indeks eritrosit memberi keterangan mengenai ukuran dan isi hemoglobin eritrosit. Maka dalam hal ini, indeks eritrosit dapat dijadikan penentu mengenai kondisi eritrosit dalam larutan *diluent*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sudaryati (2020) mengenai gambaran angka trombosit menggunakan sampel *whole blood* dan *pre diluted* pada darah vena dengan *hematology analyzer* Sysmex XP-100 didapatkan perbedaan yang signifikan pada jumlah trombosit dengan metode *whole blood* dan metode *pre diluted*. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang akan dilakukan adalah perbedaan parameter yang diteliti.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai rata-rata indeks eritrosit menggunakan metode *whole blood* dan metode *pre diluent* serta untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil indeks eritrosit antara kedua metode tersebut.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah darah

BAHAN DAN METODE

vena, antikoagulan K3-EDTA, reagen *hematology analyzer* (*diluent*, lyse, dan cleanser) dan kontrol normal *hematology analyzer*.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan studi perbandingan (*Comparative Study*), yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan nilai indeks eritrosit dari darah *whole blood* dan darah *pre diluent* pada *hematology analyzer*. Penelitian ini sudah dilakukan pemantapan mutu internal menggunakan bahan kontrol normal LOT 22212.12 hasil nilai kontrol tersebut berada dalam rentang nilai kontrol sehingga *hematology analyzer* sudah dapat digunakan untuk pemeriksaan sampel.

Darah vena ditampung sebanyak 3 mL pada tabung vacutainer K3 EDTA. Pada metode *whole blood*, darah yang didapatkan sebanyak 3 mL tersebut langsung dianalisis menggunakan *hematology analyzer* Medonic M32, sedangkan

pada metode *pre diluent*, darah sebanyak 3 mL tersebut dilakukan pengenceran terlebih dahulu dengan perbandingan 1 : 225 yaitu dengan di pipet darah sebanyak 20 μ L kemudian ditambahkan *diluent* sebanyak 4,5 mL yang dikeluarkan oleh alat *hematology analyzer*, setelah itu baru dianalisis. Pada metode *whole blood*, alat akan menghisap darah sebanyak $\leq 110 \mu$ l (Medonic, 2016), sedangkan pada metode *pre diluent* campuran darah dengan *diluent* tersebut akan dihisap seluruhnya oleh alat dan hasil tidak perlu dikalkulasikan karena sudah dikalkulasi oleh alat.

Penelitian ini menggunakan data primer, yaitu melalui pemeriksaan langsung indeks eritrosit pada 30 mahasiswa jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, kemudian dilakukan perbandingan pemeriksaan dengan metode yang berbeda. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji statistik normalitas *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal, maka dilanjutkan uji *Paired Samples T-Test* dan jika terdistribusi tidak normal, maka dilakukan uji *Wilcoxon Signed Rank Test*. Jika hasil yang didapatkan terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji bias untuk mengetahui pengaruh secara klinis.

HASIL

Setelah dilakukan pemeriksaan pada 30 sampel, terdapat 4 data *out of range* untuk dilakukan uji statistik, oleh karena itu data yang digunakan hanya 26 data. Berdasarkan analisis deskriptif, pada tabel 2 dan 3, menunjukkan hasil nilai rata-rata metode *whole blood* lebih tinggi dari metode *pre diluent* pada parameter MCV dan MCH. Sedangkan pada tabel 4 menunjukkan hasil nilai rata-rata yang lebih tinggi pada metode *pre diluent* parameter MCHC.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan MCV, MCH, MCHC antara metode *whole blood* dan *pre diluent*

No. Sampel	MCV (fL) <i>Whole Blood</i>	MCV (fL) <i>Pre diluent</i>	MCH (pg) <i>Whole Blood</i>	MCH (pg) <i>Pre diluent</i>	MCHC (g/dL) <i>Whole Blood</i>	MCHC (g/dL) <i>Pre diluent</i>
1	94,3	87,7	30,6	30,8	32,4	35,1
2	83,1	77,3	26,4	25,9	31,7	33,5

No. Sampel	MCV (fL) Whole Blood	MCV (fL) Pre diluent	MCH (pg) Whole Blood	MCH (pg) Pre diluent	MCHC (g/dL) Whole Blood	MCHC (g/dL) Pre diluent
3	87,1	81,0	28,6	28,1	32,8	34,7
4	87,0	81,0	28,8	27,8	33,1	34,3
5	87,4	81,9	28,8	28,6	32,9	35,0
6	89,0	84,0	29,7	29,6	33,3	35,3
7	88,3	81,5	28,7	28,6	32,5	35,1
8	89,5	83,3	29,1	28,7	32,5	34,4
9	89,0	83,6	29,8	28,8	33,4	34,5
10	78,0	72,0	25,6	25,3	32,8	35,1
11	89,4	83,5	29,7	29,4	33,3	35,2
12	91,8	86,1	31,0	30,0	33,7	34,8
13	90,8	84,3	29,5	29,2	32,5	34,6
14	72,8	67,5	23,0	22,6	31,6	33,5
15	87,6	81,9	28,1	27,9	32,1	34,1
16	75,9	70,9	24,8	25,1	32,7	35,4
17	79,8	74,1	26,4	26,2	33,1	35,3
18	84,6	78,9	27,8	27,6	32,9	34,9
19	83,3	78,4	28,0	27,8	33,6	35,5
20	73,8	69,0	24,1	24,1	32,6	35,0
21	87,2	80,9	29,1	28,0	33,3	34,6
22	84,3	78,4	27,2	26,7	32,3	34,0
23	85,9	80,2	28,7	28,1	33,5	35,0
24	85,1	79,8	27,9	27,5	32,8	34,4
25	87,2	81,7	28,7	28,3	33,0	34,6
26	73,1	68,0	23,3	22,8	31,8	33,5

Tabel 2. Hasil analisis deskriptif MCV

	N	Nilai MCV (fL)		Mean	Std. Deviation
		Minimum	Maximum		
<i>MCV Whole Blood</i>	26	72,8	94,3	84,819	5,8697
<i>MCV Pre Diluent</i>	26	67,5	87,7	79,112	5,5796

Tabel 3. Hasil analisis deskriptif MCH

	N	Nilai MCH (pg)		Mean	Std. Deviation
		Minimum	Maximum		
MCH Whole Blood	26	23,0	31,0	27,823	2,1528
MCH Pre Diluent	26	22,6	30,8	27,442	2,0845

Tabel 4. Hasil analisis deskriptif MCHC

	N	Nilai MCHC (g/dL)		Mean	Std. Deviation
		Minimum	Maximum		
MCHC Whole Blood	26	31,6	33,7	32,77 7	,5708
MCHC Pre Diluent	26	33,5	35,5	34,66 9	,5816

Dilanjutkan dengan uji normalitas *Shapiro Wilk* untuk mengetahui sebaran data pada 26 sampel.

Tabel 5. Hasil uji normalitas MCV

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MCV Whole Blood	,183	26	,025	,903	26	,018
MCV Pre Diluent	,180	26	,030	,902	26	,017

Berdasarkan tabel 5, hasil uji normalitas pada nilai MCV menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai *Sig.* metode *whole blood* sebesar 0,018 dan metode *pre diluent* sebesar 0,017, (nilai *Sig* < 0,05), maka data terdistribusi tidak normal. Karena data tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Wilcoxon Signed Rank Test*.

Tabel 6. Hasil uji normalitas MCH

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MCH Whole Blood	,188	26	,019	,907	26	,023
MCH Pre Diluent	,203	26	,007	,921	26	,048

Berdasarkan tabel 6, hasil uji normalitas pada nilai MCH menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai *Sig.* metode *whole blood* sebesar 0,023, dan metode *pre diluent* sebesar 0,048 (nilai *Sig* < 0,05), maka data terdistribusi tidak normal. Karena data tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Wilcoxon Signed Rank Test*.

Tabel 7. Hasil uji normalitas MCHC

	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>			<i>Shapiro-Wilk</i>		
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
<i>MCHC Whole Blood</i>	,093	26	,200*	,965	26	,494
<i>MCHC Pre Diluent</i>	,138	26	,200*	,923	26	,052

Berdasarkan tabel 7, hasil uji normalitas pada nilai MCHC menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai *Sig.* masing-masing metode yaitu sebesar 0,494 (nilai *Sig* > 0,05) dan 0,052 (nilai *Sig* > 0,05). Karena data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Paired Samples T-Test*.

Dikarenakan data pada parameter MCV dan MCH tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *wilcoxon*. Sedangkan parameter MCHC terdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji *Paired Samples T-Test*.

Tabel 8. Hasil uji *Wilcoxon* MCV

<i>MCV Pre Diluent - MCV Whole Blood</i>	
<i>Z</i>	-4,462 ^b
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	,000

Berdasarkan tabel 8, hasil menunjukkan nilai signifikan MCV 0,000. Karena $0,000 < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna pada nilai MCV metode *whole blood* dan metode *pre diluent*.

Tabel 9. Hasil uji *Wilcoxon* MCH

<i>MCH Pre Diluent - MCH Whole Blood</i>	
<i>Z</i>	-3,954 ^b
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	,000

Berdasarkan tabel 9, hasil menunjukkan nilai signifikan MCH 0,000. karena $0,000 < 0,05$, maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang

bermakna pada nilai MCH metode *whole blood* dan metode *pre diluent*.

Tabel 10. Hasil Uji *Paired Samples T-Test* MCHC

	<i>Std. Deviation</i>	<i>Std. Error Mean</i>	<i>Sig. (2-tailed)</i>
MCHC <i>Whole Blood</i> - MCHC <i>Pre Diluent</i>	,4445	,0872	,000

Berdasarkan tabel 10, nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ maka dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara metode *whole blood* dengan metode *pre diluent*.

Karena masing-masing parameter menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji statistik antara metode *whole blood* dengan metode *pre diluent*, maka dilanjutkan uji bias untuk mengetahui besarnya kesalahan yang menyebabkan pengaruh secara klinis.

Tabel 11. Hasil Uji Bias

Parameter Indeks Eritrosit	Nilai Indeks Bias <i>Pre Diluent</i>	Batas Bias (<i>Westgard, 2019</i>)	Kesimpulan
MCV	6,73%	1,26 %	Terdapat perbedaan secara klinis
MCH	1,37%	1,35%	Terdapat perbedaan secara klinis
MCHC	5,77%	0,4%	Terdapat perbedaan secara klinis

DISKUSI

Data yang diperoleh dalam penelitian ini diuji secara statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, uji *Wilcoxon Signed Rank Test*, uji *Paired Samples T-Test* dan uji bias. Pada tabel 8, 9, dan 10, menunjukkan terdapat perbedaan nilai MCV, MCH, dan MCHC pada metode *whole blood* dengan metode *pre diluent*. Hasil nilai MCV dan MCH cenderung lebih rendah pada metode *pre diluent*, sedangkan nilai MCHC pada metode *pre diluent* lebih tinggi.

Perbedaan nilai tersebut dipengaruhi oleh kadar hemoglobin, kadar hematokrit dan jumlah eritrosit, dimana pada metode *pre diluent* menghasilkan

nilai yang lebih rendah dibandingkan metode *whole blood*. Hal ini mungkin disebabkan oleh volume sampel pada metode *pre diluent* lebih sedikit dibandingkan dengan metode *whole blood* sehingga sel-sel darah yang terdapat di dalam sampel *pre diluent* akan lebih rendah.

Pada nilai MCV, metode *pre diluent* lebih rendah disebabkan oleh nilai hematokrit dan jumlah eritrosit yang menjadi unsur dalam perhitungannya mengalami penurunan. Peningkatan ataupun penurunan nilai hematokrit dalam darah akan berdampak pada viskositas darah. Semakin besar persentase hematokrit maka viskositas darah akan semakin meningkat (Rosita, 2015). Nilai hematokrit yang rendah pada metode *pre diluent* disebabkan karena darah dilakukan pengenceran sehingga viskositas darah menjadi rendah dan menyebabkan hasil yang rendah pada nilai hematokrit. Jumlah eritrosit pun akan mempengaruhi nilai hematokrit. Orang dengan polisitemia (eritrosit tinggi) memiliki peningkatan hematokrit, hemoglobin, atau jumlah sel darah merah di atas batas normal melebihi 6 juta/mm atau hemoglobinnya melebihi 18 gr/dl (Nuradi, 2020).

Nilai MCV yang menurun mengindikasikan keadaan mikrositik yang berarti ukuran rata-rata sel darah merah yang kecil; kemudian, nilai MCV yang berada pada rentang normal menggambarkan keadaan normositik atau ukuran rata-rata sel darah merah normal, sedangkan nilai MCV yang meningkat mengindikasikan gambaran makrositik yaitu ukuran rata-rata sel darah merah yang besar (Arika, 2016).

Pada nilai MCH, metode *pre diluent* lebih rendah dibandingkan metode *whole blood*. Nilai ini dipengaruhi oleh kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit. Karena metode *pre diluent* dilakukan pengenceran, maka darah yang mengalami pengenceran akan menyebabkan nilai hemoglobin lebih rendah (Wahdaniah, W., Tumpuk, S., 2018). Dalam hal ini bergantung pada ukuran sel darah merah. Ukuran sel darah merah yang kecil mengandung jumlah hemoglobin yang lebih sedikit dibandingkan dengan ukuran sel darah merah yang besar. Maka dalam hal ini, hasil MCH akan selalu melihat dari volume sel

(MCV). Jika MCV rendah, maka MCH pun akan rendah pula (Doig,K., & Zhang,B. 2017). Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini, nilai MCV pada metode *pre diluent* menghasilkan nilai yang rendah, maka MCH pun menghasilkan nilai yang rendah pula.

Pada nilai MCHC, metode *pre diluent* lebih tinggi dibandingkan metode *whole blood*. Hal ini dipengaruhi oleh kadar hemoglobin dan hematokrit. MCHC dapat meningkat jika salah satu parameter yang digunakan untuk menghitungnya terkena dampak yang salah, misalnya peningkatan hemoglobin atau penurunan hematokrit yang tidak proporsional. Jika kandungan hemoglobin pada eritrosit menurun maka ukuran eritrosit pun berkurang (Malka, R.,*et al.*, 2014). Penurunan hematokrit dapat menyebabkan peningkatan nilai MCHC (Doig,K., & Zhang,B. 2017). Karena nilai hematokrit pada metode *pre diluent* lebih rendah, maka didapatkan hasil MCHC yang lebih tinggi pada metode *pre diluent*.

Setelah didapatkan hasil yang terdapat perbedaan pada 2 kelompok data, maka dilanjutkan dengan uji bias. Uji bias dilakukan untuk mengetahui seberapa besar perbedaan hasil pemeriksaan yang menyebabkan perbedaan yaitu batas kesalahan tertinggi yang dapat menyebabkan perbedaan secara klinis pada suatu parameter pemeriksaan.

Berdasarkan %Bias MCV menurut *Westgard* (2019) adalah sebesar 1,26 %, sedangkan %Bias MCV dari hasil pemeriksaan metode *pre diluent* sebesar 6,73% ($6,73\% > 1,26\%$), maka secara klinis terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai MCV metode *whole blood* dan metode *pre diluent*.

%Bias MCH menurut *Westgard* (2019) adalah sebesar 1,35%, sedangkan %Bias MCH yang didapatkan dari pemeriksaan metode *pre diluent* sebesar 1,37%. Karena $1,37\% > 1,35\%$ maka secara klinis terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai MCH metode *whole blood* dan metode *pre diluent*.

Berdasarkan %Bias MCHC menurut *Westgard* (2019) adalah sebesar 0,4%, sedangkan %Bias MCHC dari hasil pemeriksaan metode *pre diluent* sebesar 5,77% ($5,77\% > 0,4\%$), maka secara klinis terdapat perbedaan yang bermakna antara

nilai MCHC metode *whole blood* dan metode *pre diluent*. Hasil pada penelitian ini terdapat perbedaan antara kedua metode secara statistik dan klinis, namun perbedaan tersebut masih dalam rentang nilai rujukan sehingga tidak mengubah interpretasi hasil.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian mengenai perbandingan nilai indeks eritrosit dari darah *whole blood* dan *pre diluent* pada *hematology analyzer* Medonic M32 yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa nilai rata-rata indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) menggunakan metode *whole Blood* yaitu masing-masing sebesar 84,819 fL, 27,823 pg, dan 32,777 g/dL sedangkan nilai rata-rata indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) menggunakan metode *Pre Diluent* yaitu masing-masing sebesar 79,112 fL, 27,442 pg, dan 34,669 g/dL. Terdapat perbedaan nilai indeks eritrosit pada metode *whole blood* dan metode *pre diluent* yang diuji secara statistik menggunakan uji *Wilcoxon signed rank test* dan uji *Paired Samples T-Test* dengan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ maka dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara metode *whole blood* dengan metode *pre diluent*. Dilanjutkan dengan uji bias, dan didapatkan pengaruh secara klinis untuk parameter MCV, MCH, MCHC.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Dr. Betty Nurhayati, S.Si., M.Si., yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, saran dan masukan dalam membantu penulis, serta kepada Ibu Eem Hayati, S.Pd, M.Kes dan Bapak Mamat Rahmat, ST. M.Si, yang selalu memberikan saran dan masukan kepada penulis. Tak lupa juga kepada kedua orang tua, keluarga, dan semua pihak yang telah memberikan dukungan serta motivasi kepada penulis dalam proses penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada potensi konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFERENSI

- Arika, W. M., Nyamai, D. W., Musila, M. N., Ngugi, M. P., & Njagi, E. N. M. (2016). *Hematological markers of in vivo toxicity. J Hematol Thrombo Dis* 4: 236.
- Arini, F. Y., Handayati, A., Astuti, S. S. E., & Anggraini, A. D. (2023). Uji Komparasi Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Menggunakan *Hematology Analyzer* dan Hemoglobin Meter pada Pasien Kadar Normal dan Abnormal Rendah. *Jurnal Penelitian Kesehatan" SUARA FORIKES"(Journal of Health 1Research" Forikes Voice)*, 14(1), 235-238.
- Doig, K., & Zhang, B. (2017). *A methodical approach to interpreting the red blood cell parameters of the complete blood count. American Society for Clinical Laboratory Science*, 30(3), 173-185.
- Hamadto, H. E. S. (2018). *Comparison between Pre-diluted Mode and Whole Blood Mode in Complete Blood Counts, Wad Medani Teaching Hospital, Gezira State, Sudan (2017)* (Doctoral dissertation, University of Gezira).
- Malka, R., Delgado, F. F., Manalis, S. R., & Higgins, J. M. (2014). *In vivo volume and hemoglobin dynamics of human red blood cells. PLoS computational biology*, 10(10), e1003839
- Medonic. (2016). Medonic M-series M32 Panduan Pengguna.
- Nugraheti, P. M., & Triyono, T. (2023). Evaluasi Penetapan Nilai Kritis Parameter Hematologi Di Instalasi Laboratorium Klinik Rsud Wates. *Jurnal Ilmiah Maksitek*, 8(2), 112-117.
- Nuradi, N., & Jangga, J. (2020). Hubungan Kadar Hemoglobin Dan Nilai Hematokrit Pada Perokok Aktif. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 11(2), 150-158.
- Prasetya, H.R., & Dentri, M. I., (2016) Perbedaan Hitung Jumlah Trombosit pada Darah vena dan darah kapiler. *Journal of Health*, 3(2), 62-117. Retrieved
- Rosita, A. (2015). Status hematologis (eritrosit, hematokrit, dan hemoglobin) ayam petelur fase layer pada temperature humidity index yang berbeda. *Students e-Journal*, 4(1).
- Rusminingsih, E., Marwanti, M., Febriyati, R. W., & Salasa, S. (2023). Pencegahan Anemia Sebagai Upaya Peningkatan Kesehatan Remaja di SMAN 4 Klaten. *Madaniya*, 4(1), 264-269.
- Sudaryati. (2020). GAMBARAN ANGKA TROMBOSIT MENGGUNAKAN SAMPEL *WHOLE BLOOD* DAN *PRE DILUTED* PADA DARAH VENA DENGAN *HEMATOLOGY ANALYZER SYSMEX XP-100*. Yogyakarta: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Suhartati, R. (2015). Gambaran Indeks Eritrosit Pada Pasien Tuberkulosis Paru. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 14(1), 29-33.

-
- Vives-Coron, Joan Lluís, Briggs, Carol, Simon-Lopez, Ramon, Alvaredo, Stephanie, Salle, Barbara de la, Flegar-Meatrui, Zlata, Nador, Aida, Guyard, Anne, Lipsic, Thomas, Nagai, Yukata, Patiu, Matiana, Piqueras, Joseph, Capel, Maria Jesus, Blerk, Marjan Van, Wang, Jianbio, & Marzac, Christophe. (2013). *Letter To The Editor: "Letter to the Editor."* *Internasional Journal of Phytoremediation*, 20(1), 135-136. <https://doi.org/10.1080/13518040701205365>
- Wahdaniah, W., & Tumpuk, S. (2018). Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K2EDTA DAN K3EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 1(2), 114-118.
- Westgard. (2019). *Desirable Biological Variation Database Specification*. Diakses [Online] pada <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- Yaqin, A. (2015). Analisis tahap pemeriksaan pra analitik sebagai upaya peningkatan mutu hasil laboratorium di RS. Muji Rahayu Surabaya. *Jurnal sains*, 5(10).
-

EKSTRAK UBI UNGU (*Ipomoea batatas L.*) SEBAGAI ZAT WARNA PADA PEMERIKSAAN TELUR CACING SOIL TRANSMITTED HELMINTHS (STH)

Yeli Hartuti^{1*}

¹Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medik, Akademi Kesehatan John Paul II
Pekanbaru, Indonesia
e-Mail : yelihartuti@akjp2.ac.id
No Tlp WA : 085271376755

Abstract

Worms are a disease caused by intestinal nematode parasites of the Soil Transmitted Helminths (STH) group. The diagnosis of Soil Transmitted Helminths can be made by examining feces using 2% eosin, so that the worm eggs appear more clearly. Natural dyes can come from tubers, one of which is purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) which has a high anthocyanin content of 282mg/100g which can provide red, blue and purple colors. The aim of the research was to determine the ability of purple sweet potato extract to color Soil Transmitted Helminths egg preparations. A true experimental research method with varying concentrations of purple sweet potato extract of 80%, 90% and 100% with distilled water and 96% ethanol as solvents. The results of the research showed that purple sweet potato extract at a concentration of 100% with distilled water was able to color Soil Transmitted Helminths (STH) worm egg preparations.

Keywords: Purple yam extract; 2% Eosin; Soil Transmitted Helminths (STH)

Abstrak

Kecacingan merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit nematoda usus golongan *Soil Transmitted Helminths* (STH). Penegakan Diagnosis *Soil Transmitted Helminths* dapat dilakukan dengan pemeriksaan feces menggunakan eosin 2%, agar telur cacing tampak lebih jelas. Zat warna alami dapat berasal dari umbi-umbian salah satunya ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) yang memiliki kandungan antosianin tinggi yaitu sebesar 282mg/100g mampu memberikan warna merah, biru, dan ungu. Tujuan penelitian mengetahui kemampuan ekstrak ubi ungu dalam mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths*. Metode penelitian *true eksperimental* dengan variasi konsentrasi ekstrak ubi ungu 80%, 90% dan 100% dengan pelarut akuades dan etanol 96%. Hasil penelitian diketahui ekstrak ubi ungu pada konsentrasi 100% dengan pelarut akuadest mampu mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH)

Kata Kunci : Ekstrak Ubi Ungu; Eosin 2%; *Soil Transmitted Helminths* (STH)

PENDAHULUAN

Kecacingan merupakan masalah kesehatan yang banyak ditemui di dunia dan umumnya infeksi kecacingan terjadi di daerah tropis dan sub tropis. Penyakit kecacingan di Indonesia memiliki prevalensi sebesar 45% - 65%. Kecacingan banyak ditemukan pada daerah yang memiliki sanitasi dan *hygiene* yang buruk, air yang terkontaminasi serta lingkungan dengan padat penduduk

(Lalangpuling et al., 2021). Penegakan Diagnosis kecacingan yang disebabkan oleh *Soil Transmitted Helminths* (STH) dilakukan dengan pemeriksaan feses menggunakan eosin 2% agar telur cacing tampak lebih jelas apabila diberikan zat warna (Daeli et al., 2021). Antosianin merupakan suatu pigmen yang larut dalam air dan banyak ditemukan pada buah, daun, umbi-umbian, kulit batang, dan kulit buah. Senyawa antosianin merupakan pigmen alami yang terkumpul pada vakuola tanaman serta senyawa ini mampu memberikan warna pada berbagai tanaman yaitu warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, bunga dan tumbuhan lainnya sehingga senyawa ini dapat digunakan sebagai pewarna alami (Ifadah et al., 2022). Penelitian sebelumnya sudah dilakukan oleh (Suraini & Sophia, 2022) dengan judul “Optimalisasi Air perasan ubi Ungu *Ipomea batatas L.* Pada Pemeriksaan Telur Cacing”, terdapat perbedaan pada penelitian tersebut yaitu berdasarkan pelarut ekstrak (Akuades dan etanol 96%) serta konsentrasi (80%, 90%, 100%) yang digunakan. Tujuan penelitian untuk mengetahui kemampuan Ekstrak Ubi Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dalam mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) serta mengetahui pelarut terbaik (akuades dan etanol 96%) dan konsentrasi terbaik (80%, 90%, 100%) dalam mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH)

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru. Populasi yaitu ubi ungu dengan sampel ekstrak ubi ungu dan feses positif mengandung telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH). Jenis penelitian *true eksperimental*. Variabel yang diamati adalah kejelasan bentuk dan warna telur cacing STH pada sediaan menggunakan ekstrak ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) dengan variasi konsentrasi 80%, 90%, 100%. Eosin 2% sebagai kontrol. Pengambilan sampel menggunakan *total sampling*.
Prosedur Penelitian sebagai berikut:

1. Pembuatan ekstrak ubi ungu menggunakan etanol 96%

Ekstrak ubi ungu konsentrasi 80% dengan cara ubi ungu ditimbang 8 gr, kemudian gerus ubi ungu, dan haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml. Ekstrak ubi ungu konsentrasi 90% dengan cara ubi ungu ditimbang 9 gr, kemudian gerus ubi ungu, dan haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml. Ekstrak ubi ungu konsentrasi 100% dengan cara ubi ungu ditimbang 10 gr, kemudian gerus ubi ungu, dan haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas 10ml

2. Pembuatan Ekstrak ubi ungu menggunakan akuades

Ekstrak ubi ungu konsentrasi 80% dengan cara ubi ungu ditimbang 8 gr, kemudian gerus ubi ungu, dan haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan akuades sampai tanda batas 10ml. Ekstrak ubi ungu Konsentrasi 90% dengan cara ubi ungu ditimbang 9 gr, kemudian gerus ubi ungu, dan haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan akuades sampai tanda batas 10 ml. Ekstrak ubi ungu konsentrasi 100% dengan cara ubi ungu ditimbang 10 gr, kemudian gerus ubi ungu, haluskan menggunakan mortar dan alu, larutkan menggunakan akuades sampai tanda batas 10 ml

3. Pembuatan preparat telur cacing STH sebagai control

Reagen eosin 2% diteteskan 1-2 tetes pada kaca objek, kemudian feses positif STH diambil seujung lidi dan dicampurkan dengan eosin 2% hingga homogen dan tutup dengan *cover glass*. Periksa dibawah mikroskop menggunakan lensa objektif 10x sampai 40x

4. Pembuatan preparat telur cacing STH dengan Ekstrak ubi ungu menggunakan pelarut etanol 96%

Ekstrak ubi ungu diteteskan 1-2 tetes pada kaca objek kemudian feses positif STH diambil seujung lidi dan dicampurkan dengan larutan ubi ungu

hingga homogen dan tutup dengan *cover glass*, periksa dibawah mikroskop menggunakan lensa objektif 10x sampai 40x

5. Pembuatan preparat telur cacing STH dengan Ekstrak ubi ungu menggunakan pelarut akuades

Larutan ubi ungu diteteskan 1-2 tetes pada kaca objek kemudiann feses positif STH diambil seujung lidi dan dicampurkan dengan larutan ubi ungu hingga homogen dan tutup dengan *cover glass*, Periksa dibawah mikroskop menggunakan Lensa Objektif 10x sampai 40x

Data dianalisa secara deskriptif kualitatif berdasarkan kualitas pewarnaan dengan *Likert Scale* 1, 2 dan 3

HASIL

Tabel 1. Data Hasil Penelitian pada Setiap Perlakuan berdasarkan *Likert Scale*

Konsetrasi	Ekstrak ubi ungu dengan akuades	Ekstrak ubi ungu dengan etanol 96%	Kontrol eosin 2%
80%	2	2	3
90%	2	2	3
100%	3	2	3

Keterangan :

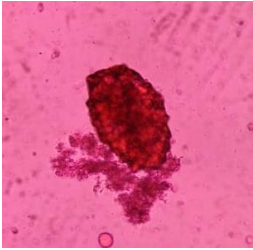
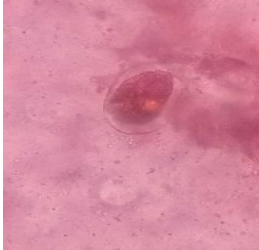
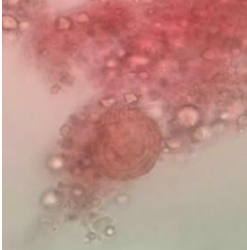
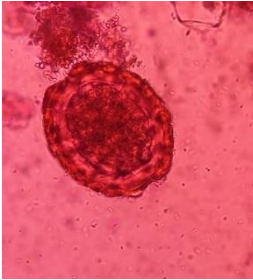

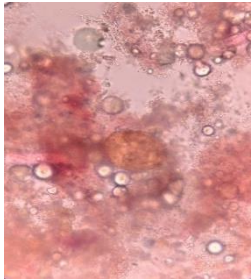

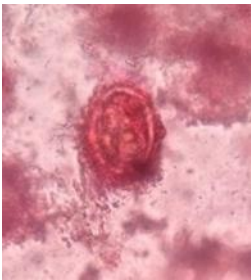
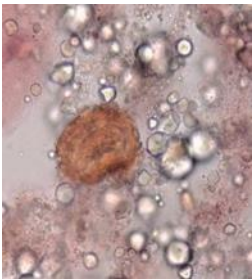
Kriteria penilaian :

- 1 : Lapang pandang tidak kontras, telur cacing tidak menyerap warna, bagian telur tidak jelas terlihat
- 2 : Lapang pandang kurang kontras, telur cacing kurang menyerap warna, bagian telur kurang jelas terlihat
- 3 : Lapang pandang kontras, telur cacing menyerap warna, bagian telur jelas terlihat

Ekstrak ubi ungu dengan etanol 96% konsentrasi 80%, 90%, 100% dan ekstrak ubi ungu dengan akuades konsentrasi 80%, 90% berdasarkan *Likert Scale* berada pada kriteria 2 yaitu Lapang pandang kurang kontras, telur cacing kurang

menyerap warna, bagian telur kurang jelas terlihat. Sedangkan ekstrak ubi ungu dengan akuades konsentrasi 100% berdasarkan *Likert Scale* berada pada kriteria 3 yaitu Lapang pandang kontras, telur cacing menyerap warna, bagian telur jelas terlihat

Tabel 2. Hasil pengamatan mikroskopis telur cacing STH dengan perbesaran 400x

Konsentrasi	Kontrol Eosin 2%	Ekstrak Ubi Ungu dengan Akuades	Ekstrak Ubi Ungu dengan Etanol 96%
80%	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> Infertil</p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> Dekortikasi</p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>
90%	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>
100%	 <p><i>Trichuris trichiura</i></p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>	 <p><i>Ascaris Lumbricoides</i> fertil</p>

DISKUSI

Hasil penelitian pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa ekstrak ubi ungu dengan etanol 96% konsentrasi 80%, 90%, 100% dan ekstrak ubi ungu dengan akuades konsentrasi 80%, 90% berdasarkan *Likert Scale* berada pada kriteri 2 yaitu Lapang pandang kurang kontras, telur cacing kurang menyerap warna, bagian telur kurang jelas terlihat, sedangkan ekstrak ubi ungu dengan akuades konsentrasi 100% berdasarkan *Likert Scale* berada pada kriteri 3 yaitu Lapang pandang kontras, telur cacing menyerap warna, bagian telur jelas terlihat.

Ubi ungu mengandung antosianin yang merupakan kelompok pigmen berwarna merah sampai biru yang tersebar luas pada tanaman. Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid yang pada umumnya larut dalam air, umumnya pigmen ini mampu dijadikan sebagai zat warna alami. Antosianin memiliki stabilitas yang dapat mempengaruhi hasil dari pewarnaan. Stabilitas antosianin yang terdapat pada ubi ungu dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, temperatur, cahaya dan oksigen dapat merusak warna antosianin selama proses pengambilan air dari buah (Nadilla & Hendrawan, 2020).

Ekstak ubi ungu dengan etanol 96% pada setiap konsentrasi tidak mampu mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) karena ekstrak tersebut banyak terdapat kotoran, hal tersebut disebabkan oleh sifat etanol sebagai zat pendehidrasi. Zat pendehidrasi berperan dalam pengendapan pektin, serta konsentrasi alkohol yang tinggi mampu menurunkan kelarutan dalam suatu larutan sehingga menyebabkan pengendapan dan terpisah dari larutan ekstrak (Nurbaya et al., 2018). Ekstrak ubi ungu dengan pelarut akuades baik digunakan karena Pelarut ini bersifat netral dan tidak berbahaya, akuades atau air yang telah disuling memiliki kadar mineral sangat minim serta pelarut yang paling mudah didapat dan murah (Dofianti & Yuniwati, 2018).

Penelitian oleh (Salnus et al., 2021) dengan judul “Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Sebagai Pewarna Alami Pada Pemeriksaan

Soil Transmitted Helminths (STH) Metode Natif (*Direct Slide*)” diketahui pada konsentrasi 80% dapat mewarnai telur cacing STH namun tidak sebaik eosin 2%, pada penelitian ini menambahkan tingkat konsentrasi dari ubi ungu menjadi 100%.

KESIMPULAN

Ekstrak ubi ungu konsentrasi 100% dengan pelarut akuades mampu mewarnai sediaan telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH)

REFRENSI

Jurnal

- Anugrah, R. M., & Suryani, E. (2020). Kandungan Gizi Donat dengan Penambahan Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Sebagai Makanan Jajanan Berbasis Pangan Lokal Bagi Anak Sekolah. *Jurnal Gizi*, 9(1), 150. <https://doi.org/10.26714/jg.9.1.2020.150-158>
- Daeli, B. A., Yulianti, F., & Rosmiati, K. (2021). Modifikasi Larutan Buah Bit (*Beta vulgaris* l.) sebagai Alternatif Pengganti Zat Warna Eosin 2% pada Pemeriksaan Telur Cacing STH (*Soil Transmitted Helminths*). *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(2), 223-226. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v3i2.2397>
- Dofianti, H., & Yuniwati, M. (2018). PEMBUATAN SERBUK PEWARNA ALAMI TEKSTIL DARI EKSTRAK DAUN JATI MUDA (*TECTONA GRANDIS* LINN. F.) METODE FOAM-MAT DRYING DENGAN PELARUT AQUADES Hanifa. *Jurnal Inovasi Proses*, 3(2), 59-66.
- Ifadah, R. A., Wiratara, P. R. W., & Afgani, C. A. (2022). Ulasan Ilmiah : Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(2), 11-21. <https://doi.org/10.35308/jtpp.v3i2.4450>
- Lalangpuling, I. E., Nikiulub, F. M., & Pinontoan, S. P. M. (2021). Identifikasi Telur *Soil Transmitted Helminths* (STH) Dan Hubungannya Dengan PHBS Pada Anak-Anak Yang Tinggal Disekitar Daerah Tempat Pembuangan Akhir Sampah Sumompo. *Kesehatan Lingkungan*, 11(2), 83-92. <https://doi.org/10.47718/jkl.v10i2.1172>
- Nadilla, S., & Hendrawan, A. (2020). Pengolahan Ubi Jalar Ungu Sebagai Pewarna Alami Tekstil Menggunakan Mordant. *E-Proceeding of Art & Design*, 7(2), 3621-3636.

<https://openlibrarypublications.telkomuniversity.ac.id/index.php/artdesign/article/view/12812%0Ahttps://openlibrarypublications.telkomuniversity.ac.id/index.php/artdesign/article/download/12812/12527>

Nurbaya, S. R., Putri, W. D. R., & Murtini, E. S. (2018). Pengaruh Campuran Pelarut Aquades-Etanol Terhadap Karakteristik Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 19(3), 153-160.

Salnus, S., Dzikra Arwie, & Zulfian Armah. (2021). Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Sebagai Pewarna Alami Pada Pemeriksaan Soil Transmitted Helminths (STH) Metode Natif (Direct Slide). *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*, 6(2), 188-194. <https://doi.org/10.37362/jkph.v6i2.649>

Suraini, & Sophia, A. (2022). Optimasi Air Perasan Ubi Jalar Ungu *Ipome batatas L.* Pada Pemeriksaan Telur Cacing. *Bioma : Jurnal Biologi Makasar*, 7(2), 8-13. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>

Prosiding

Nadilla, S., & Hendrawan, A. (2020). Pengolahan Ubi Jalar Ungu Sebagai Pewarna Alami Tekstil Menggunakan Mordant. *E-Proceeding of Art & Design*, 7(2), 3621-3636. <https://openlibrarypublications.telkomuniversity.ac.id/index.php/artdesign/article/view/12812%0Ahttps://openlibrarypublications.telkomuniversity.ac.id/index.php/artdesign/article/download/12812/12527>

JUMLAH TROMBOSIT MENGGUNAKAN METODE *OPTICAL* DAN METODE *FLUORESCENT* PADA ANEMIA MIKROSITIK

Devy Kartika Ningrum^{1*} . Eem Hayati¹ . Betty Nurhayati¹ . Ganjar Noviar¹

¹Program Studi D-III, Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : devykartikan@gmail.com

No. Telp Wa : 081296540465

Abstract

Microcytic anemia occurs due to deficiency in hemoglobin synthesis in erythroid precursors, causing a decrease in the mean corpuscular volume of red blood cells, namely <80 fL. In microcytic anemia, red blood cells are found to be fragmented so that their size is almost the same as the size of platelets. This has the potential to cause falsely increased platelet count results. The results of the platelet count must be accurate to help with appropriate treatment. The aim of the study was to determine the number of platelets using optical and fluorescent methods in microcytic anemia patients. The type of research is descriptive . The design of this study was to compare platelet counts using optical and fluorescent methods in microcytic anemia. The sample in this study was 30 microcytic anemia patients. The research data were processed statistically using the Paired T Test and the % bias test. Based on the results of statistical tests, a sig value of 0.000 <0.05 can be concluded that there is a significant difference between the platelet count of the optical method and the fluorescent method. Based on the % bias test, the difference obtained was 7.573% > 5.9%, so it can be interpreted that there is a clinical difference between the platelet count of the optical method and the fluorescent method.

Keywords: *Microcytic anemia, platelet count, optical method, fluorescent method*

Abstrak

Anemia mikrositik terjadi karena defisiensi sintesis hemoglobin (Hb) pada prekursor eritroid, menyebabkan penurunan *mean corpuscular volume* (MCV) sel darah merah yaitu < 80 fL. Pada anemia mikrositik ditemukan sel darah merah yang terfragmentasi sehingga ukurannya hampir sama dengan ukuran trombosit. Hal ini berpotensi menyebabkan hasil pemeriksaan jumlah trombosit meningkat palsu. Pemeriksaan jumlah trombosit digunakan untuk mengetahui adanya penyakit yang menyebabkan gangguan pembekuan darah dan kelainan perdarahan. Hasil pemeriksaan jumlah trombosit harus akurat agar membantu pengobatan yang tepat. Metode pemeriksaan jumlah trombosit bisa dilakukan secara manual atau otomatis. Tujuan penelitian untuk mengetahui jumlah trombosit metode *optical* dan *fluorescent* pada pasien anemia mikrositik. Jenis penelitian adalah deskriptif laboratorium. Desain penelitian membandingkan jumlah trombosit menggunakan metode *optical* dengan *fluorescent* pada anemia mikrositik. Sampel dalam penelitian ini adalah 30 orang pasien anemia mikrositik. Data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan uji *Paired T Test* dan uji % bias. Berdasarkan hasil uji statistik didapat nilai sig 0,000 < 0,05 disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah trombosit metode *optical* dan metode *fluorescent*. Berdasarkan uji % bias diperoleh hasil melebihi batas % bias yang diharapkan (7,573% > 5,9%), artinya terdapat perbedaan secara klinis antara jumlah trombosit metode *optical* dan metode *fluorescent*.

Kata Kunci : Anemia mikrositik, Jumlah Trombosit, Metode *Optical*, Metode *Fluorescent*

PENDAHULUAN

Anemia masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara-negara

berkembang di semua kelompok umur. Anemia adalah keadaan yang ditandai dengan berkurangnya hemoglobin dalam tubuh. Jenis anemia digolongkan berdasarkan etiologi dan morfologi. Berdasarkan etiologi anemia digolongkan dalam anemia defisiensi besi, hemoglobinopati, anemia penyakit menahun (kronis), dan anemia sideroblastik. Sedangkan berdasarkan morfologi, anemia dapat digolongkan dalam anemia makrositik, normositik normokrom, dan mikrositik hipokrom¹.

Anemia mikrositik adalah jenis anemia yang umum. Anemia mikrositik ditandai dengan sel darah merah yang bersirkulasi lebih kecil dari normal (nilai MCV kurang 80 fL) akibat penurunan produksi hemoglobin². Meskipun defisiensi zat besi merupakan penyebab utama anemia mikrositik, sifat thalassemia (yaitu kelainan pada sintesis hemoglobin), peradangan kronis (akibat kekurangan zat besi), dan hemoglobinopati lainnya (seperti anemia sideroblastik) juga termasuk ke dalam anemia mikrositik³. Pada anemia mikrositik dapat ditemukan sel darah merah yang berukuran kecil atau skistosit yang ukurannya hampir sama dengan trombosit, sehingga dapat menyebabkan terjadinya hasil peningkatan palsu pada hitung jumlah trombosit⁴.

Pemeriksaan jumlah trombosit digunakan untuk mengetahui adanya perdarahan pada pasien. Sehingga dibutuhkan hasil yang akurat untuk menentukan pengobatan yang tepat. Pemeriksaan jumlah trombosit ini dapat diperiksa dengan berbagai metode, yaitu metode manual, dan metode *impedans*, metode *optical* dan *fluorescent*⁵.

Metode *optical* menggunakan prinsip hamburan cahaya yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokuskan ke *Sensing Area* yang ada pada *Aperture/Orifice* yang memberikan informasi ukuran sel, kompleksitas, dan kandungan asam nukleat yang kemudian akan membentuk *scattergram*. Pada metode ini hitung jumlah trombosit dapat diketahui lebih baik dengan mengurangi faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah sebenarnya⁶.

Metode *fluorescent*, trombosit diberi label dengan antibodi monoklonal fluoresen. Suspensi sel dilewatkan melalui ruang aliran yang dilengkapi dengan sinar laser terfokus yang mengaktifkan fluorofor. Fluoresensi diukur untuk identifikasi

trombosit. Intensitas cahaya yang dipancarkan berbanding lurus dengan jumlah antibodi yang menempel pada reseptor/antigen trombosit. Keuntungan dari *flow cytometry* adalah prosedur yang sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi trombosit yang beristirahat dan teraktivasi serta mikropartikel turunan trombosit dibandingkan dengan metode *optical* dan *impedans*⁷.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Atsushi Wada, dkk. Tahun 2015 dengan judul “*Accuracy of a New Platelet Count System (PLT-F) Depends on Staining Property of Its Reagents*” yang berdasarkan uji statistik berpasangan didapatkan nilai p sama atau di bawah 0.05 yang menunjukkan adanya perbedaan signifikansi hasil jumlah trombosit metode *fluorescent* dengan metode *optical* dan *impedans*⁸. Penelitian yang dilakukan oleh tim peneliti berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan Atsushi Wada, dkk. terutama pada sampel penelitian. Sampel penelitian yang dilakukan peneliti yaitu sudah spesifik pasien anemia mikrositik, sedangkan pada penelitian Atsushi Wada, dkk. sampel penelitian diperoleh dari dua (2) orang donor yang masing-masing spesimen darahnya dipisahkan menjadi fraksi PRP dan fraksi eritrosit.

Penelitian ini bertujuan untuk untuk mengetahui adakah perbedaan jumlah trombosit metode *optical* dan *fluorescent* pada pasien anemia mikrositik.

BAHAN DAN METODE

BAHAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesimen darah vena pasien anemia mikrositik yang diambil sebanyak 3 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung penampung yang sudah mengandung antikoagulan K_3EDTA .

Reagen yang digunakan terdiri dari :

1. *Fluorocell* WNR, berfungsi untuk mewarnai sel berinti dalam sampel darah yang diencerkan dan dilisiskan untuk jumlah lekosit, jumlah sel eritrosit berinti, dan jumlah basofil.
2. *Fluorocell* WDF, berfungsi untuk mewarnai lekosit dalam sampel darah yang diencerkan dan dilisiskan untuk penentuan jumlah *diferensial* 4 bagian dalam darah.

3. *Fluorocell* RET, berfungsi untuk mewarnai retikulosit dalam sampel darah yang diencerkan untuk pengujian jumlah retikulosit, persentase retikulosit, dan jumlah trombosit.
4. *Fluorocell* PLT, berfungsi untuk mewarnai trombosit dalam sampel darah yang diencerkan untuk pengujian jumlah trombosit.
5. *Fluorocell* WPC, berfungsi untuk mewarnai lekosit dalam darah yang diencerkan dan dilisiskan untuk mendeteksi berbagai sel yang belum matang dalam darah.
6. *Lysercell* WPC, berfungsi jika digabungkan dengan *Fluorocell* WPC menghemolisis eritrosit dan mendeteksi keberadaan sel abnormal atau *immature*.
7. *Lysercell* WNR, berfungsi jika digabungkan dengan *Fluorocell* WNR menghemolisis eritrosit dan membedakan lekosit (non basofil), basofil, dan sel darah berinti.
8. *Lysercell* WDF, berfungsi untuk dikombinasikan dengan *Fluorocell* WDF menghemolisis eritrosit dan mewarnai komponen lekosit.
9. *Sulfolyser*, berfungsi untuk penentuan konsentrasi hemoglobin darah secara otomatis.
10. *Cellpack* DCL, berfungsi untuk mengukur jumlah dan ukuran eritrosit dan trombosit dengan *hydro dynamic ocusing (DC Detetction)*.
11. *Cellpack* DFL, berfungsi untuk analisis retikulosit atau dengan *Fluorocell* PLT untuk analisis trombosit dengan trombosit *flow cytometry* menggunakan laser semikonduktor.
12. *Quality Control (Low, Normal, dan High Level) Sysmex*.

Alat yang akan digunakan penelitian ini yaitu :

1. *Hematology Analyzer Sysmex XN1000*.
2. Tabung *vacutainer* EDTA.
3. *Holder vacutainer*.
4. Jarum suntik (*needle*).
5. *Tourniquet*.

Populasi penelitian ini adalah seluruh pasien anemia mikrositik dengan nilai MCV < 80 fL di Siloam Hospitals Kebon Jeruk.

Sampel penelitian terdiri dari 30 orang pasien anemia mikrositik dengan nilai MCV < 80 fL di Siloam Hospitals Kebon Jeruk.

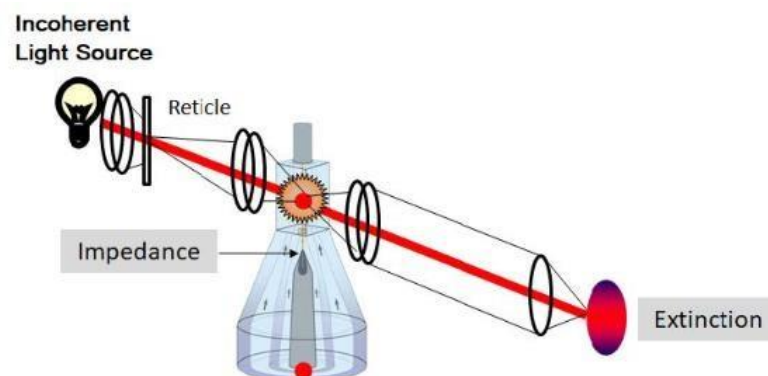
Metode berisikan detail tahapan dan prosedur penelitian, metode pengukuran, metode pemeriksaan, metode analisis data yang digunakan pada manuskrip yang diajukan.

METODE

Tahapan prosedur penelitian terdiri dari 4 tahap sebagai berikut:

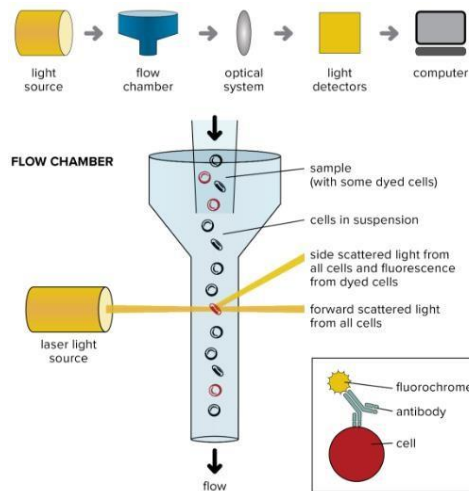
1. Pengambilan Darah Vena
2. Pemeriksaan Jumlah Trombosit Metode *Optical*
3. Pemeriksaan Jumlah Trombosit Metode *Fluorescent*
4. Analisis data

Prinsip pemeriksaan jumlah trombosit metode *optical* adalah hamburan cahaya yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokuskan ke *sensing area* yang ada pada *Aperture/Orifice*. Apabila cahaya mengenai sel maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan, atau dibiaskan ke semua arah. Kemudian hamburan cahaya yang mengenai sel akan ditangkap oleh detektor yang ada pada sudut-sudut tertentu sehingga menimbulkan pulsa. Pulsa cahaya yang berasal dari hamburan cahaya, intensitas warna atau fluoresensi, akan diubah menjadi pulsa listrik. Pulsa ini dipakai untuk menghitung jumlah, ukuran, maupun inti sel yang merupakan ciri dari masing-masing sel. Hamburan cahaya dengan arah lurus (*forward scattered light*) mendeteksi volume dan ukuran sel. Sedangkan cahaya yang dihamburkan dengan sudut 90° menunjukkan informasi dari isi granula sitoplasma. Ilustrasi prinsip pemeriksaan jumlah trombosit metode *optical* disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Prinsip Hitung Jumlah Trombosit Metode *Optical*
(Sysmex, 2011)

Metode *fluorescent*, trombosit diberi label dengan antibodi monoklonal fluoresen. Suspensi sel dilewatkan melalui ruang aliran yang dilengkapi dengan sinar laser terfokus yang mengaktifkan fluorofor. Fluoresensi diukur untuk identifikasi trombosit. Intensitas cahaya yang dipancarkan berbanding lurus dengan jumlah antibodi yang menempel pada reseptor/antigen trombosit. Ilustrasi prinsip pemeriksaan jumlah trombosit metode *optical* disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Prinsip Hitung Jumlah Trombosit Metode *Fluorescent*
(Sysmex, 2011)

Prosedur pengambilan darah vena dilakukan sesuai SOP darah vena menurut CLSI (2012).

Prosedur pemeriksaan jumlah trombosit metode *optical* dilakukan secara otomatis menggunakan *Hematology analyzer XN1000*, dimulai dengan persiapan instrumen, penambahan reagen-reagen yang digunakan, melakukan *Quality control* (QC) sebelum mengerjakan sampel dengan menggunakan 3 level bahan kontrol hematologi yaitu *low*, *normal*, dan *high* selanjutnya apabila QC nya sudah sesuai, maka dilanjutkan dengan *running* sampel yaitu tabung *barcode* berisi sampel *whole blood* EDTA dimasukkan ke dalam *tray* sampel, instrumen secara *automatic merunning* sampel dengan membaca *barcode* pada tabung berdasarkan orderlist pemeriksaan dan hasilnya secara otomatis tercetak dan ditransfer ke LIS (*Laboratory Information System*).

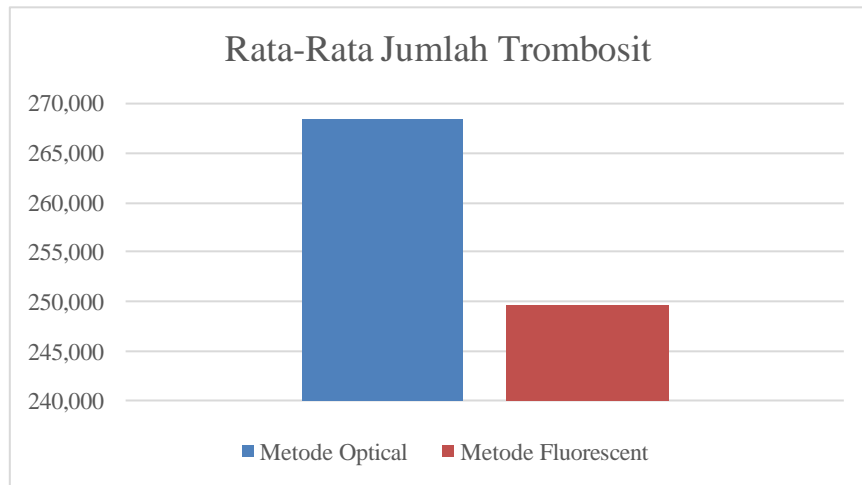
Prosedur pemeriksaan jumlah trombosit Metode *Fluorescent* dilakukan secara otomatis menggunakan *Hematology analyzer XN1000*, dimulai dengan persiapan

instrumen , penambahan reagen-reagen yang digunakan, melakukan *Quality control* (QC) sebelum mengerjakan sampel dengan menggunakan 3 *level* bahan kontrol hematologi yaitu *low*, *normal*, dan *high* selanjutnya apabila QC nya sudah sesuai, maka data pasien diisi lalu pemeriksaan PLT-F dipilih pada menu pemeriksaan yang dilakukan secara manual, selanjutnya tabung *barcode* berisi sampel *whole blood* EDTA dimasukkan ke dalam *tray* sampel, kemudian ditekan tombol *run* untuk *running* sampel. Hasil dari alat akan secara otomatis tercetak dan ditransfer ke LIS (*Laboratory Information System*).

Data yang digunakan adalah data primer berupa hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode *optical* dan metode *fluorescent* pada pasien anemia mikrositik. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji statistik dengan uji *Paired T Test* menggunakan aplikasi SPSS.

HASIL

Hasil penelitian yang dilakukan terhadap 30 orang pasien anemia mikrositik di salah satu Rumah Sakit yang sudah terakreditasi KARS dan JCI di Jakarta berdasarkan uji deskriptif diperoleh hitung jumlah trombosit menggunakan metode *optical* yaitu jumlah trombosit minimum 18.000 sel/ μ L, maksimum 678.000 sel/ μ L dan rerata (*mean*) 268.467 sel/ μ L. Sedangkan untuk metode *fluorescent* adalah jumlah trombosit minimum adalah 13.000 sel/ μ L, data maksimum adalah 654.000 sel/ μ L, hasil rata-rata (*mean*) adalah 249.567 sel/ μ L. Lebih jelasnya hasil disajikan pada gambar 3, tampak bahwa nilai rerata jumlah trombosit dengan metode *optical* cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan metode *fluorescent*.



Gambar 3. Grafik Rata-Rata Jumlah Trombosit Pada Metode *Optical* dan Metode *Fluorescent* Pada Anemia Mikrositik

Pengolahan data selanjutnya dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas yang disajikan pada tabel 1 dan tabel 2 berikut ini. Tabel 1 adalah hasil uji normalitas Saphiro-Wilk yang menunjukkan kelompok data jumlah trombosit dengan metode *optical* memiliki nilai signifikan 0,115 dan kelompok data jumlah trombosit dengan metode *fluorescent* memiliki nilai signifikan 0,060, kedua kelompok data nilai sig-nya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi normal. Selanjutnya pada tabel 2 adalah uji homogenitas yang menunjukkan nilai signifikan 0,813 lebih besar 0,05. Dengan demikian disimpulkan kelompok data homogen dan pengolahan data untuk uji beda dilakukan dengan uji parametrik yaitu uji *Paired T Test* yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 1. Uji Normalitas Data Shapiro - Wilk

Kelompok data	df	Nilai sig	Interpretasi Hasil
<i>Metode Optical</i>	30	0,115	Nilai sig > 0,05, Data terdistribusi normal
<i>Metode Fluorescent</i>	30	0,060	Nilai sig > 0,05, Data terdistribusi normal

Tabel 2. Uji Homogenitas

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah	Based on Mean	0,057	1	58	0,813
Trombosit	Based on Median	0,061	1	58	0,806
	Based on Median and with adjusted df	0,061	1	57,953	0,806
	Based on trimmed mean	0,056	1	58	0,813

Tabel 3. Uji Paired T-Test

		Paired Samples Test							
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
Pair 1					Lower	Upper			
	Metode Optical - Metode Fluorescent	18,90000	12,52680	2,28707	14,22242	23,57758	8,264	29	,000

Berdasarkan tabel 3, menunjukkan nilai Sig 2-tailed (0,000) < α (0,05), sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit yang diperiksa dengan metode *optical* dan metode *fluorescent*. Dengan adanya hasil terdapat perbedaan secara statistik maka dilakukan uji selanjutnya untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan secara klinis. Parameter mutu yang dipakai untuk uji ini digunakan persen bias yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar perbedaan hasil pemeriksaan yang menyebabkan perbedaan yaitu batas kesalahan tertinggi yang dapat menyebabkan perbedaan secara klinis pada suatu parameter pemeriksaan. Batas bias yang masih diperbolehkan untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit adalah 5,9 %⁹.

Adapun rumus perhitungan % bias jumlah trombosit metode *optical* adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Bias} = \frac{\text{Rerata Trombosit Metode Optical} - \text{Rerata Trombosit Metode Fluorescent}}{\text{Rerata Trombosit Metode Fluorescent}} \times 100 \%$$

$$= \frac{268.467 \text{ sel}/\mu\text{L} - 249.567 \text{ sel}/\mu\text{L}}{249.567 \text{ sel}/\mu\text{L}} \times 100 \%$$

$$= 7,573 \%$$

Dari rumus % bias didapatkan nilai bias untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode *optical* terhadap metode *fluorescent* pada anemia mikrositik sebesar 7,573 %. Nilai bias yang diperoleh mempunyai nilai lebih besar dari nilai batas yang diperbolehkan. Persen bias trombosit yang didapat 7,573% > 5,9% artinya perbedaan tersebut tidak diterima secara klinis. Dengan kata lain dapat disimpulkan terdapat perbedaan secara klinis antara jumlah metode *optical* dibandingkan dengan jumlah trombosit metode *fluorescent*.

DISKUSI

Pada penelitian ini terdapat perbedaan rata-rata jumlah trombosit metode *optical* dan metode *fluorescent* dengan rata-rata metode *optical* lebih besar dibandingkan rata-rata metode *fluorescent*. Jumlah trombosit menggunakan metode *optical* kurang spesifik karena menghitung trombosit berdasarkan ukuran sel sehingga memungkinkan eritrosit kecil (mikrositik) terhitung sebagai trombosit yang dapat menyebabkan jumlah trombosit menjadi lebih tinggi dibanding metode *fluorescent*. Sedangkan metode *fluorescent* lebih spesifik karena yang benar-benar trombosit yang akan diikat dengan fluoresensi yang terhitung sebagai trombosit.

Pada metode *fluorescent* trombosit diwarnai secara spesifik menggunakan zat warna fluoresensi *oxazine* dalam reagen fluorocell PLT. Membran trombosit dilubangi oleh reagensia kemudian asam nukleat yang terkandung di dalam trombosit diwarnai oleh pewarna spesifik yaitu *oxazine* dan dengan adanya sumber cahaya laser dan detektor, maka algoritma perangkat lunak akan mengubah data informasi 3 dimensi yaitu informasi ukuran sel (*forward scatter*), kompleksitas sel (*side scatter*) serta intensitas fluoresensi karena kandungan asam nukleat sel (*side fluorescence*) sehingga populasi trombosit matang maupun tidak matang mampu dikelompokkan (*gating*) dengan demikian diperoleh data jumlah trombosit matang maupun IPF (*Immature Platelet Fraction*)¹⁰.

Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu Margreet Schoorl pada tahun 2013 didapatkan kesimpulan bahwa jumlah trombosit menggunakan metode

fluorescent sangat baik untuk reproduktifitas dalam sampel dengan jumlah trombosit kurang dari $50 \times 10^3 / \mu\text{L}$. Jumlah trombosit dengan metode *fluorescent* dapat membantu dalam membuat keputusan yang lebih baik untuk dilakukannya tranfusi trombosit¹¹.

Dari data hasil pemeriksaan tersebut dilakukan uji statistik menggunakan uji paired dengan nilai Sig 2-tailed (0,000) < α (0,05), sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit yang diperiksa dengan metode *optical* dan metode *fluorescent*.

Bias adalah perbedaan antara hasil pengukuran alat dengan nilai bahan kontrol yang sudah diketahui. Biasanya digunakan untuk mengukur ketidakakuratan metode relatif terhadap metode komparatif dalam eksperimen metode¹². Standar nilai bias % untuk trombosit adalah 5,9 %. Nilai bias pada penelitian ini adalah sebesar 7,573 %. Nilai bias yang diperoleh mempunyai nilai lebih besar dari yang diperbolehkan. Proses bias trombosit yang diinginkan $7,573\% > 5,9\%$, sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan secara klinis antara jumlah metode *optical* dibandingkan dengan jumlah trombosit metode *fluorescent*.

Pemeriksaan trombosit metode *fluorescent* dilakukan secara sederhana, cepat, dan volume sampel yang dibutuhkan sedikit. Ini dapat digunakan untuk pengujian rutin untuk memberikan analisis cepat dan pelaporan selama 24 jam. Oleh karena itu, penganalisa akan memberikan kontribusi untuk pengambilan keputusan klinis yang lebih tepat seperti dalam tranfusi darah, karena menyediakan penghitungan trombosit yang sangat akurat dan cepat, dan akan berguna untuk pengoperasian laboratorium hematologi atau klinis yang efisien. Ini mendukung laporan sebelumnya tentang evaluasi kinerja seri XN, yang menyarankan bahwa penganalisa meningkatkan kepercayaan hasil dan efisien alur kerja di Laboratorium hematologi rutin¹³.

Evaluasi kinerja penghitungan trombosit metode *fluorescent*, fungsi baru dari penganalisa hematologi otomatis XN-Series, ini dapat memberikan presisi dan akurasi analisis yang lebih baik¹⁴.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan yaitu rata-rata jumlah trombosit metode *optical* pada pasien anemia mikrositik adalah 268.467 sel/ μ L, rata-rata jumlah trombosit metode *fluorescent* pada pasien anemia mikrositik adalah 249.567 sel/ μ L, secara statistik dan klinis terdapat perbedaan jumlah trombosit metode *optical* dan metode *fluorescent* pada pasien anemia mikrositik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Ibu Eem Hayati, SPd. MKes. Atas bimbingan dan arahnya, Ibu Dr. Betty Nurhayati, MSi. dan Bapak Ganjar Noviar, SST., M.Biomed. atas saran dan masukan yang objektif dan konstruktif.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada potensi konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- Tefferi, A. 2005. Complete Blood Cell Count in Adults. *Mayo Clinic Proc*, 80(July), 923-936.
- Sankar, V. H., Arya, V., Tewari, D., Gupta, U. R., Pradhan, M., & Agarwal, S. 2006. *Genotyping of alpha-thalassemia in microcytic hypochromic anemia patients from North India. Journal of applied genetics*, 47(4), 391-395.
- Sama, S. O., Chiamo, S. N., Taiwe, G. S., Njume, G. E., & Ngole Sumbele, I. U. 2021. *Microcytic and Malarial Anemia Prevalence in Urban Children ≤ 15 Years in the Mount Cameroon Area: A Cross-Sectional Study on Risk Factors. Anemia*, 2021, 5712309.
- Budnevsky Av, Voronina Ev, Ovsyannikov Es, Tsvetikova Ln, Zhusina Yg, Labzhaniya Nb. 2017. *Anemia Of Chronic Diseases As A Systemic Manifestation Of Chronic Pulmonary Obstructive Disease*. *Klin Med (Mosk)*.
- Mengko, Richard. 2013. *Instrumentasi Laboratorium Klinik*, Bandung : ITB.
- Saboor, M., Moinuddin, M., & Ilyas, S. 2013. *New horizons in platelets flow cytometry. Malaysian Journal of Medical Sciences*, 20(2), 63-67.

- Michelson AD, Linden MD, Barnard MR, Furman MI, Frelinger AL. 2007. *Flow cytometry*. In: Michelson, editor. *Platelets*. 2nd ed. San Diego (CA): Elsevier Academic Press.
- Wada A, Takagi Y, Kono M, Morikawa T. 2015. *Accuracy of a new platelet count system (PLT-F) depends on the staining property of its reagents*. *PLoS One*.
- Westgard, Q. 2019. *QC Design-Westgard*.
- Sinaga, Dwita Margareth., 2019. *Gambaran Nilai Immature Platelet Fraction pada Pasien dengan Trombositopenia di Departemen Penyakit Dalam RSUP Haji Adam Malik Medan*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Schoorl M, Schoorl M, Oomes J, Van Pelt J. 2013. *New fluorescent method (PLT- F) on sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting*. *Am J Clin Pathol*.
- Harr KE, Flatland B, Nabity M, Freeman KP. 2013. *ASVCP guidelines: allowable total error guidelines for biochemistry*. *Vet Clin Pathol*.
- Briggs C, Longair I, Kumar P, Singh D, Machin SJ. 2012. *Performance evaluation of the Sysmex haematology XN modular system*. *J Clin Pathol*;65:1024-1030.
- Yuzo Tanaka, Yumiko Tanaka, Kazumi Gondo. 2014. *Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers*. *Am J Clin Pathol*.

PENGARUH INDUKSI TIMBAL TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID PADA DARAH MENCIT (*Mus musculus*)

Liah Kodariah^{1*} . Aziz Ansori Wahid¹ . Viona Anissa Putri¹ . Tyas Ismi Fadilah¹

¹Program Studi D-3 Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali,
Jawa Barat, Indonesia
e-mail: liahliah72@gmail.com
No Telepon WA: 083869865452

Abstract

Background: Lead is a toxin that can enter the body through respiration, ingestion, and skin exposure. Lead is a compound derived from motor fuel combustion residues, industrial processes, and lead-containing paints. Absorption of lead into the body could increase the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) and reduce the body's antioxidant systems, causing oxidative stress due to an imbalance between oxidants and antioxidants with metabolism result as lipid peroxidation. Lipid peroxidation is measured as malondialdehyde (MDA) levels. **Research Objective:** To determine the effect of lead induction on MDA levels in mice (*Mus musculus*) plasma. **Research Method:** The method used was experimental on 25 male Swiss Webster mice divided into five groups, one control group, and four groups induced with oral lead acetate over different time periods. The samples were blood plasma obtained from mice hearts at exposure-specific time intervals. **Results:** The research results showed an MDA levels increase in plasma with a statistically significant average ($p < 0,005$). The MDA levels increased significantly between the control group and the groups of mice induced with lead acetate for 3 and 4 weeks. **Conclusion:** This study demonstrates that lead induction can increase plasma MDA levels in mice.

Keywords: Lead (Pb), Mice, Malondialdehyde, Oral

Abstrak

Latar Belakang: Timbal merupakan toksin yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui respirasi, pencernaan, dan kulit. Timbal merupakan senyawa yang terbuat dari sisa pembakaran bahan bakar motor, industri, serta cat yang mengandung timbal. Absorpsi timbal ke dalam tubuh dapat meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* dan mengurangi sistem antioksidan dalam tubuh, sehingga menyebabkan stress oksidatif karena ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dengan hasil metabolisme berupa peroksida lipid. Peroksida lipid diukur sebagai kadar *malondialdehyde (MDA)*. **Tujuan Penelitian:** Untuk mengetahui pengaruh induksi timbal pada kadar MDA plasma mencit. **Metode Penelitian:** Metode yang digunakan yaitu eksperimental pada 25 mencit *swiss webster* jantan yang dibagi menjadi lima kelompok, satu kelompok kontrol dan empat kelompok diinduksi Pb asetat secara oral dengan rentang waktu yang berbeda. Sampel merupakan plasma darah mencit yang diperoleh dari jantung dengan waktu pengambilan sesuai rentang waktu paparan. **Hasil:** Setelah mencit menerima perlakuan, hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA plasma dengan rata-rata secara statistik $p < 0,05$. Tingkat MDA meningkat secara signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 3 dan 4 minggu. **Kesimpulan:** Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi Pb dapat meningkatkan kadar MDA plasma pada mencit.

Kata Kunci: Timbal (Pb), Mencit, *Malondialdehyde*, Oral

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang yang warganya aktif menggunakan transportasi dan banyaknya sektor industri dalam berbagai bidang yang menggunakan bahan bakar utama minyak bumi sebagai bahan bakar utamanya. Minyak bumi berpotensi menyebabkan kualitas udara menurun karena memiliki produk sampingan berupa logam berat yang dapat mencemari lingkungan dan mengganggu kesehatan (Sembel, 2015). Menurut *World Database*, diperkirakan pada tahun 2020 penduduk Indonesia akan terkena polusi udara (Gunawan, 2015). Polusi udara disebabkan oleh hasil pembakaran minyak bumi yaitu kabut asap yang mengandung berbagai senyawa polutan, diantaranya adalah timbal (Pb).

Timbal (Pb) merupakan logam berat bersifat toksik yang dalam konsentrasi tertentu dipandang sebagai zat berbahaya. Timbal dapat berperan sebagai radikal bebas dalam tubuh atau dapat juga disebut sebagai oksidan. Kadar antioksidan dan oksidan yang tidak seimbang dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya kondisi stress oksidatif (Sinaga, 2016). Kondisi radikal bebas melebihi kadar normal dapat mengakibatkan penurunan antioksidan yang mampu menetralkan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang pada akhirnya dapat menurunkan kapasitas antioksidan total di dalam tubuh. Timbal dalam bentuk ioniknya (Timbal asetat) dapat menyebabkan *lipid peroxidation*. *Lipid peroxidation* termasuk ke dalam reaksi berantai yang menyuplai radikal bebas. Ketika kadar radikal bebas lebih tinggi dari antioksidan, maka tubuh akan mengalami instabilitas oksidan.

Lipid peroxidation menyebabkan rantai asam lemak terurai dan membentuk produk akhir dengan salah satu unsur karbon yang paling aktif, yaitu malondialdehyde (MDA). MDA menjadi biomarker dari kerusakan oksidatif karena MDA merupakan hasil akhir dari *Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)* dalam membran sel dan plasma lipoprotein melalui proses enzimatik maupun non enzimatik (Ayala, 2014). Peningkatan kadar MDA di dalam darah dapat mengindikasikan respon yang tinggi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh

dalam tubuh sehingga dapat digunakan sebagai salah satu biomarker aktivitas antioksidan dari stress oksidatif yang sejalan dengan tingginya kadar *lipid peroxidation* dalam tubuh (Shofia et al., 2013; Aora dkk., 2013). Peningkatan produksi radikal bebas memiliki efek jangka panjang berupa penyakit kronis pada manusia yang berhubungan dengan stress oksidatif (Bocci & Valacchu, 2013). Pada neuron, tingginya produksi ROS dianggap sebagai salah satu factor utama dalam perkembangan penyakit neuradegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Breitenbach et al., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Endrinaldi (2014) mengenai pengukuran kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan induksi timbal asetat secara oral selama 28 hari menunjukkan hasil bahwa peningkatan konsentrasi timbal asetat akan diikuti dengan meningkatnya kadar MDA serum dan penurunan berat badan tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan timbal terhadap kadar MDA yang berpotensi mengakibatkan instabilitas antioksidan pada 4 kelompok mencit (*Mus musculus*) dengan dosis sama namun lama paparan yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Populasi yang digunakan sebagai penelitian adalah seluruh mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss Webster dengan rata-rata berat 20 - 30 gram dan rentang usia dua hingga tiga bulan. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest sebagai pelarut; ketamin sebagai anestesi; padatan Pb asetat sebagai zat perlakuan; larutan 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP), *Thiobarbituric Acid* (TBA), dan *Trichloroacetic Acid* (TCA) untuk larutan standar MDA. Alat yang digunakan yaitu botol semprot, *centrifuge*, kandang mencit, labu ukur, spektrofotometer UV-VIS, spuit 1 cc, dan *waterbath*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 25 mencit *Swiss Webster*. Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental*

dengan desain *posttest only control design* pada mencit yaitu penelitian dilakukan setelah mencit mendapatkan perlakuan berupa pemberian larutan timbal asetat. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok control dengan kelompok perlakuan.

Sebelum dilakukan eksperimen, mencit diaklimasi selama tujuh hari dengan menerima pakan dan air yang cukup. Masing-masing kelompok berisikan lima ekor mencit. Kelompok control hanya menerima pakan standar tanpa induksi Pb asetat, kelompok P1 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 7 hari, kelompok P2 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 14 hari, kelompok P3 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 21 hari, kelompok P4 adalah kelompok mencit yang diinduksi Pb asetat selama 28 hari.

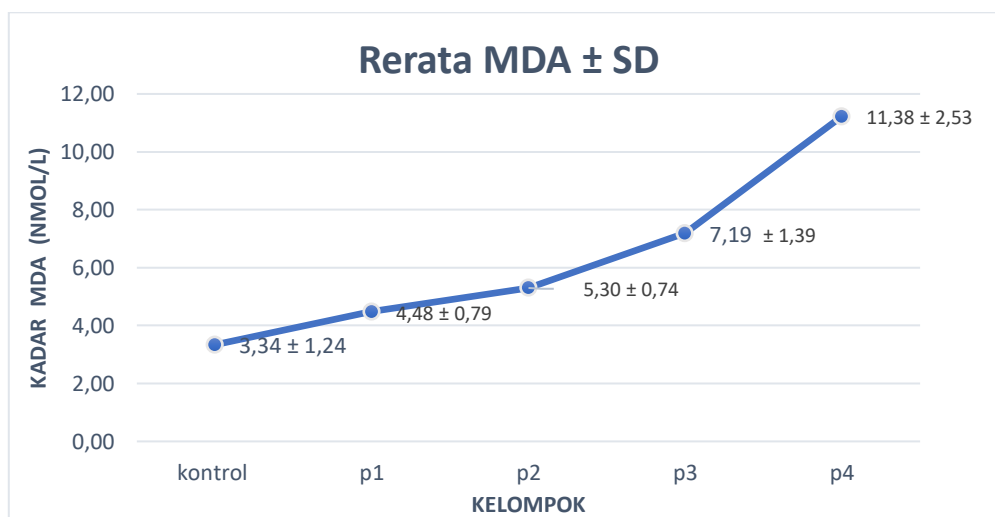
Larutan Pb asetat dibuat dengan cara menimbang 78 mg Pb asetat ke dalam 200 ml aquadest. Sebelum mencit diberikan perlakuan, mencit ditimbang untuk mengetahui beratnya. Perlakuan diberikan dengan memasukkan 0,5 ml larutan Pb asetat secara oral menggunakan sonde. Sonde dimasukkan melalui mulut hingga lambung secara hati-hati. Selama perlakuan, mencit diberi pakan dan minum secara teratur. Perlakuan dihentikan menurut kelompok paparan yaitu setelah 7, 14, 21, dan 28 hari. Setelah itu, mencit diberikan ketamin sebagai anestesi, serta dilanjutkan dengan pembedahan dan pengambilan darah dari jantung untuk mengukur MDA dalam plasma mencit.

Pengukuran kadar MDA plasma dilakukan dengan metode TBARS (*Thibarbituric Acid Reactive Substrance*). 100 µl plasma darah mencit dimasukkan ke dalam tabung, dimana sebelumnya telah dicampurkan 0,5 ml larutan TCA dan 1 ml larutan TBA 0,067% ke dalam tabung tersebut. Campuran plasma, TCA, dan TBA kemudian dipanaskan ke dalam *waterbath* dengan suhu 95^o C selama 1 jam. Campuran kemudian didinginkan hingga suhu ruang, lalu disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dipindahkan ke dalam kuvet, lalu absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. *One text Annova* digunakan

untuk memproses data dengan tingkat kepercayaan 95%. Lalu dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* jika terdapat perbedaan antara lima kelompok perlakuan ($P < 0,05$)

HASIL

Setelah dilakukan pengukuran kadar MDA, didapatkan hasil rata-rata perkelompok seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata Kadar MDA

Pada Gambar 1. Dapat dilihat data hasil rerata MDA mencit yang diberi perlakuan induksi Pb asetat secara oral mengalami peningkatan kadar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini terjadi karena mencit kelompok kontrol hanya diberi pakan saja, sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan kadar MDA yang mengalami peningkatan sesuai dengan lama waktu paparan yang diberikan. Pengujian selanjutnya adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-wilk* yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Data

Kelompok	Nilai p
Kontrol	0,182
P1	0,843
P2	0,627
P3	0,735
P4	0,488

Kesimpulan yang dapat diambil dari Tabel 1. yaitu bahwa kelima kelompok memiliki nilai $p \geq 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa distribusi data grup secara keseluruhan adalah normal. Selain itu, pengujian dilakukan juga untuk mengidentifikasi variasi data. Uji Homogenitas Varians menghasilkan nilai p sebesar 0,057 yang menandakan bahwa data varian yang sama atau memiliki distribusi dengan nilai $p \geq 0,05$. Uji perbandingan yang digunakan adalah uji *One Way Anova* dengan koreksi post hoc Bonferroni karena varian data yang diperlihatkan dan data yang didistribusikan secara normal atau memiliki varian yang sama (Dahlan, 2014). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan sebagaimana yang ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *One Way Anova* pada nilai MDA Plasma Rerata Kelompok Mencit

Kelompok	Rerata ($\mu\text{mol/L}$)	SD	<i>P</i>
Kontrol	3,34	1,24	
P1	4,48	0,79	
P2	5,30	0,74	0,000
P3	7,19	1,39	
P4	11,38	2,53	

Dengan tingkat kepercayaan 95%, analisis statistik menggunakan uji *One Way Anova* pada Tabel 2. Menghasilkan nilai $p = 0,000$ atau $p \leq 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat kelompok dengan rerata kadar MDA yang berbeda secara signifikan. Setelah hasil dianalisis, selanjutnya dilakukan Tes *Posthoc Bonferroni* untuk menentukan kelompok mana yang menunjukkan penyimpangan yang signifikan dari kadar MDA rata-rata. Tabel 3. menyajikan hasil analisis Posthoc.

Berdasarkan Tabel 3. dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kadar MDA kelompok Kontrol dengan kelompok P3 dan P4 serta perbedaan bermakna antara kelompok P4 dengan semua kelompok perlakuan. Namun hal tersebut tidak berpengaruh dari lamanya waktu paparan timbal terhadap kadar MDA. Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi Pb asetat memiliki pengaruh yang bermakna terhadap kadar MDA dan terdapat perbedaan yang bermakna antara rerata kadar MDA kelompok mencit yang diinduksi Pb selama 3 minggu dan kelompok mencit yang diinduksi Pb selama 4 minggu.

Tabel 3. Analisis Posthoc Perbandingan Kadar MDA Antar Kelompok

Kelompok	Kelompok	Nilai p
Kontrol	P1	1,000
	P2	0,506
	P3	0,006*
	P4	0,000*
Perlakuan 1	Kontrol	1,000
	P2	1,000
	P3	0,930
	P4	0,000*
Perlakuan 2	Kontrol	0,506
	P1	1,000
	P3	0,581
	P4	0,000*
Perlakuan 3	Kontrol	0,006*
	P1	0,093
	P2	0,581
	P4	0,003*
Perlakuan 4	Kontrol	0,000*
	P1	0,000*
	P2	0,000*
	P3	0,003*

DISKUSI

Peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuh dapat menimbulkan efek jangka panjang dan beberapa penyakit kronis pada manusia karena berkaitan dengan stress oksidatif (Boccin & Valacchi, 2013). Dalam sel saraf, peningkatan produksi ROS dianggap sebagai salah satu faktor utama yang bertanggung jawab untuk perkembangan gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Breitenbach et al., 2013).

Peningkatan kadar radikal ROS dapat disebabkan oleh turunnya aktivitas katalase intraseluler yang terhambat karena masuknya timbal ke dalam jalur heme. Timbal mampu menghambat reaksi enzim d-ALAD dengan cara megkhelat biosintesis heme yang menyebabkan enzim katalase mengalami penurunan. ROS yang tinggi dapat mengakibatkan proses oksidasi pada unsur

lipid, terutama lipid dengan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh dapat menjadi jembatan oksidasi dalam membentuk radikal bebas dalam suatu rantai. Salah satu produk yang terbentuk dari oksidasi lipid adalah *lipid peroxidation (ROOH)*. Kondisi *lipid peroxidation* yang tidak seimbang dapat mengakibatkan senyawa tersebut mudah untuk dipecah dan membentuk berbagai unsur, salah satunya adalah MDA. MDA merupakan toksikan aldehida hasil dari reaksi antara lipid dengan logam transisi bebas dalam darah seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} . Peningkatan kadar MDA di dalam darah dapat mengindikasikan respon yang tinggi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh, sehingga MDA dapat digunakan sebagai parameter untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam sel (Endrinaldi, 2014).

Hasil pengukuran kadar MDA menunjukkan bahwa peningkatan MDA terpantau pada kelompok P1, P2, P3, dan P4 serta kelompok kontrol tidak mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena kelompok control tidak diberikan paparan Pb asetat sehingga tidak memicu terjadinya stress oksidatif penyebab tingginya MDA. Kenaikan kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan ditunjukkan dengan rata-rata kenaikan kadar MDA setiap kelompok, yaitu kelompok P1 4,48 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P2 5,30 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P3 7,19 $\mu\text{mol/L}$; kelompok P4 11,38 $\mu\text{mol/L}$; dan kelompok kontrol 3,34 $\mu\text{mol/L}$.

Jumlah stress oksidatif yang dialami organ dinilai dengan mengukur kadar MDA dalam organ. Stress oksidatif meningkat secara langsung dengan jumlah MDA yang ada di organ tersebut. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar MDA sejalan dengan lamanya waktu paparan mencit oleh Pb Asetat yang ditunjukkan oleh temuan penelitian (Gambar 1.), MDA rata-rata pada kelompok kontrol memiliki kadar terendah yaitu 3,34 $\mu\text{mol/L}$. Hal ini terjadi karena mencit kelompok kontrol tidak menerima perlakuan induksi apapun. Sementara kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberikan perlakuan berupa induksi Pb asetat selama 4 minggu memiliki rata-rata kadar MDA paling tinggi yaitu 11,38 $\mu\text{mol/L}$. Hasil penelitian sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fitra Jajar (2020) yaitu induksi timbal asetat secara intraperitoneal dengan dosis 100mg/kg selama 14 hari dengan rerata kadar MDA

terbesar sebanyak $57,32 \pm 21,42$ nmol/mL. Hasil ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara timbal dengan kadar MDA.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar Malonaldehid (MDA) pada plasma mencit yang belum diinduksi timbal sebesar $3,34 \mu\text{mol/L}$, adapun kadar MDA yang diinduksi timbal selama 7, 14, dan 28 hari yaitu sebesar $4,48 \mu\text{mol/L}$, $5,30 \mu\text{mol/L}$, dan $11,38 \mu\text{mol/L}$. Dari penelitian yang telah dilakukan, terdapat pengaruh bermakna antara mencit yang diinduksi dengan timbal dan tidak diinduksi timbal terhadap kadar MDA berdasarkan variasi rentang waktu paparan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada LPPM Institut Kesehatan Rajawali yang senantiasa memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Ariati, F. J. (2020). *Pengaruh Induksi Logam Berat Timbal Asetat Terhadap Kadar Malondialdehid Serum dan Jaringan Otak Mencit (Mus musculus)* [Tesis].
- Ayala, A., Munoz, M. F., & Arguelles, S. (2014). *Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal*. *Oxid Med Cell Longev*.
- Bocci, V., & Valacchi, G. (2013). Free Radicals and Antioxidants: How to Reestablish Redox Homeostasis in Chronic Diseases? *Current Medicinal Chemistry*, 20(27), 3397-3415. <https://doi.org/10.2174/0929867311320270005>
- Breitenbach, M. (2013). Oxidative stress and neurodegeneration: the yeast model system. *Frontiers in Bioscience*, 18(3), 1174. <https://doi.org/10.2741/4171>
- Dahlan, M., & Sopiudin. (2014). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Epidemiologi Indonesia.

- Endrinaldi, & Asterina. (2014). Pengaruh Timbal (Pb) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Putih Jantan. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3).
- Sembel. (2015). *Toksikologi Lingkungan: Dampak Pencemaran dari Berbagai Bahan Kimia dalam Kehidupan Sehari-hari*. Penerbit Andi.
- Shofia, V., Aulanni'am, & Mahdi, C. (2013). Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Tipe 1. *Kimia Student Journal*, 1(1), 119-125.
- Sinaga, F. (2016). Stress Oksidatif dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *J Gener Kampus*, 9(2), 176-189. <https://doi.org/10.1042/BJ20091286>

PENGARUH REPLIKASI PEMANASAN MEDIA *Nutrient Agar* TERHADAP NUTRISI MEDIA, pH MEDIA DAN JUMLAH KOLONI BAKTERI

Dira Maharani^{1*} · Rafika² · Zulfikar Ali Hasan³ · Artati⁴

^{1,2,3,4}Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia
e-Mail : dira_maharani_2019@poltekkes-mks.ac.id

Abstract

Nutrient agar media is a frequently used basal media with the most important composition being carbohydrates and proteins as required by most bacteria. However, for practical reasons, the media is usually made in large volumes for one sterilization, the rest is placed in the refrigerator and then reheated when it will be used. The act of heating replication is thought to cause changes in the nutrient composition and pH of the media which have an impact on the growth of bacterial colonies. This research method is a laboratory experiment by measuring the nutrient content of the media, the pH of the media and the number of bacterial colonies that grow on Nutrient Agar media after replicate heating before use. Data were analyzed descriptively. The results showed that the carbohydrate and protein content of NA media after 1x heating was 0.72% and 0.35%, 2x heating was 0.85% and 0.66%, 3x heating was 0.90% and 0.44%. The pH of the media after 3x heating was 6.65, 6.63, and 6.59, respectively. The number of bacterial colonies that grew on NA media after 3x heating was 4819 CFU/ml, 4140 CFU/ml, and 1993 CFU/ml. Heating replication causes changes in the composition of nutrients in the media, namely the carbohydrate content of NA media has increased while the protein content has decreased. The pH of NA media decreases from 1x to 3x heating, and the number of bacterial colonies that grow decreases.

Keywords : *Nutrient Agar Media, Heating Replication, Nutrition, pH, Number of Bacterial Colonies*

Abstrak

Media *Nutrient Agar* merupakan media basal yang sering digunakan dengan komposisi terpenting adalah karbohidrat dan protein sesuai kebutuhan sebagian besar bakteri. Namun, untuk alasan kepraktisan media biasanya dibuat dalam volume besar untuk satu kali sterilisasi, sisanya diletakkan di lemari pendingin kemudian dipanaskan kembali bila akan digunakan. Tindakan replikasi pemanasan diduga akan menyebabkan perubahan komposisi nutrisi dan pH media yang berdampak pada pertumbuhan koloni bakteri. Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan mengukur kadar nutrisi media, pH media dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* setelah replikasi pemanasan sebelum digunakan. Data dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar karbohidrat dan protein media NA pemanasan 1x adalah 0.72% dan 0.35%, pemanasan 2x adalah 0.85% dan 0.66%, pemanasan 3x adalah 0.90% dan 0.44%. pH media setelah 3x pemanasan berturut-turut adalah 6.65, 6.63, dan 6.59. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA setelah 3x pemanasan adalah 4819 CFU/ml, 4140 CFU/ml, dan 1993 CFU/ml. Replikasi pemanasan menyebabkan perubahan komposisi nutrisi pada media yaitu kadar karbohidrat media NA mengalami peningkatan sedangkan kadar protein mengalami penurunan. pH media NA semakin menurun dari pemanasan 1x hingga 3x, serta jumlah koloni bakteri yang tumbuh semakin berkurang.

Kata kunci : *Media Nutrient Agar, Replikasi Pemanasan, Nutrisi, pH, Jumlah Koloni Bakteri*

PENDAHULUAN

Media pertumbuhan bakteri merupakan suatu substansi yang tersusun atas campuran unsur-unsur hara atau nutrisi yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Suatu media umumnya mengandung pepton dan ekstrak daging sebagai sumber nitrogen serta polisakarida sebagai sumber karbon, garam mineral, faktor pertumbuhan dan vitamin (Orekan et al., 2021).

Media pertumbuhan sebelum digunakan perlu dilakukan langkah sterilisasi dahulu karena kondisi steril menjadi persyaratan utama berhasil tidaknya suatu pekerjaan di laboratorium. Sterilisasi media dapat dilakukan dengan menggunakan *autoclave* yang bertujuan untuk mencegah penguraian atau dekomposisi karbohidrat berupa gula dan pembentukan formasi senyawa toksik yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Hafsan, 2014). Meskipun sterilisasi terbaik adalah dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C - 134°C, perlu diperhatikan bahwa proses pemanasan dapat merusak media, baik langsung disebabkan oleh panas itu sendiri maupun oleh karena produksi toksin yang terbantu akibat pemanasan. Maka dari itu, penting untuk mengoptimalkan proses pemanasan sehingga media menjadi steril dengan kerusakan seminimal mungkin (Mursalim dkk., 2022).

Penelitian Wati (2018) menyebutkan bahwa pemanasan media di atas tiga kali sudah tidak direkomendasikan untuk digunakan kembali karena kandungan nutrisi dalam media mengalami kerusakan sehingga bakteri yang tumbuh menjadi tidak optimal. Pemanasan berulang dapat menyebabkan perubahan komposisi pendukung pertumbuhan bakteri pada media berupa penguraian vitamin, asam lemak dan asam amino serta perubahan pH (Angraeni dkk., 2021). Hal ini didukung oleh pendapat Suprpti dkk. (2020) bahwa selama pemanasan dapat terbentuk produk beracun hasil dari proses kemooksidasi yang akhirnya dapat menyebabkan destruksi atau kerusakan nutrisi pada media. Oleh karena itu, dianggap perlu dilakukan analisis laboratorium untuk membuktikan dampak dari proses pemanasan terhadap kualitas media bila dilakukan secara berulang.

Angraeni dkk. (2021) telah melakukan penelitian tentang pengaruh pemanasan berulang terhadap kualitas media PCA (*Plate Count Agar*) dan diperoleh hasil bahwa pemanasan berulang media PCA memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan nilai pH dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini menandakan bahwa tindakan replikasi pemanasan media menyebabkan nilai pH semakin menurun dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh semakin berkurang. Terjadinya perubahan komposisi nutrisi pada media diduga akan menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri semakin sedikit. Namun, pada penelitian sebelumnya belum dilakukan pemeriksaan untuk mengetahui pengaruh pemanasan berulang media terhadap perubahan komposisi nutrisi pada media. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap nutrisi media yang meliputi kadar karbohidrat dan protein dengan menggunakan media yang berbeda dengan penelitian sebelumnya yakni media *Nutrient Agar* (NA).

Media NA merupakan media basal yang juga sering digunakan di laboratorium pada pemeriksaan hitung jumlah koloni bakteri sebagai pengganti media PCA. Media NA berbentuk padat karena memiliki kandungan agar sebagai bahan pematat (Nurhidayanti, 2022). Menurut Thohari dkk. (2019) komposisi terpenting pada media NA adalah karbohidrat dan protein yang berasal dari ekstrak daging dan pepton sesuai dengan kebutuhan sebagian besar bakteri.

Tindakan replikasi pemanasan media dalam aktivitas laboratorium hingga saat ini masih sering dijumpai. Media biasanya dibuat berlebih kemudian disterilisasi dalam volume yang besar. Sisa media tidak terpakai kemudian diletakkan dalam lemari pendingin. Jika akan digunakan kembali, sisa media akan dipanaskan di atas hot plate hingga berulang kali. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian tentang Pengaruh Replikasi Pemanasan Media *Nutrient Agar* terhadap Nutrisi Media, pH Media dan Jumlah Koloni Bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh replikasi pemanasan media *Nutrient Agar* terhadap nutrisi media, pH media dan jumlah koloni bakteri.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan mengukur kadar nutrisi media, pH media dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* setelah replikasi pemanasan sebelum digunakan. Sampel yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* yang telah dibuat dan disterilisasi pada *autoclave* lalu disimpan dalam lemari pendingin kemudian diberikan faktor perlakuan berupa replikasi pemanasan hingga 3x.

Penelitian dimulai dengan membuat media *Nutrient Agar* sebanyak 14 gram yang dilarutkan dengan aquadest 500 mL. Setelah dibuat dan disterilisasi pada *autoclave*, media dibiarkan hingga dingin pada suhu sekitar 45°C. Media kemudian dituang dalam beaker glass dan 6 buah cawan petri steril sebanyak 15 ml secara aseptik lalu ditutup dan dibiarkan sampai membeku sehingga terbentuk media *agar plate*. Sampel media NA dalam beaker glass digunakan untuk pengukuran pH, karbohidrat dan protein. Sedangkan sampel pada cawan petri digunakan untuk hitung jumlah koloni bakteri. Sisa media yang tidak digunakan kemudian disimpan dalam lemari pendingin selama 1x24 jam.

Pengukuran pH media dilakukan dengan melarutkan media NA sebanyak 10 gram dalam aquadest 100 mL, setelah homogen dilakukan pengukuran pH menggunakan alat pH meter. Sedangkan, untuk pengukuran kadar karbohidrat dan protein digunakan sebanyak masing-masing 5 gram media NA. Pengukuran kadar karbohidrat pada media dilakukan dengan menggunakan metode *Luff Schoorl*. Reagen yang digunakan meliputi HCl 3% untuk hidrolisis karbohidrat menjadi gula reduksi; NaOH untuk menetralkan pH; reagen *luff schoorl*, KI 20% dan HCl 25% untuk reaksi redoks; larutan natrium tiosulfat 0,1 N dan indikator amilum 1% untuk proses titrasi. Sedangkan pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode *Kjeldahl* melalui tiga tahapan yakni destruksi, destilasi, dan titrasi. Reagen yang digunakan meliputi katalis *Selenium reagen mixture*, H₂SO₄ 98% (p.a), indikator PP 0,1%, NaOH pellets, asam borat 2%, HCl 0,1 N dan indikator Conway.

Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah disetarakan dengan standar

McFarland 0,5 terlebih dahulu. Kemudian dilakukan pengenceran suspensi bakteri sebanyak 5 kali dengan NaCl fisiologis steril. Sebanyak 0,1 ml dari masing-masing pengenceran kemudian dimasukkan ke media Nutrient Agar Plate dalam 6 cawan petri (1 untuk kontrol kualitas), kemudian disebar menggunakan batang bengkok. Setelah kering media kemudian dimasukkan ke dalam incubator suhu 37° C secara terbalik selama 2x24 jam.

Media yang telah disimpan 1x24 jam dalam lemari pendingin selanjutnya dikeluarkan dan diberikan perlakuan pemanasan dengan menggunakan *hot plate* dan mengontrol suhu pemanasan sekitar 80° C. Perlakuan ini merupakan pemanasan 1x. Selanjutnya dilakukan uji kualitas media yang meliputi pH, nutrisi dan hitung jumlah koloni dengan langkah yang sama sebelumnya. Setelah itu, sisa media kembali disimpan dalam lemari pendingin selama 1x24 jam untuk selanjutnya dilakukan pemanasan 2x. Setelah pemanasan 2x dilakukan uji kualitas media kembali. Media selanjutnya disimpan selama 1x24 jam lalu dilanjutkan dengan pemanasan 3x. Melakukan uji kualitas media pada media yang telah diberi perlakuan pemanasan 3x.

Penelitian ini dilakukan berdasarkan kaidah etik dan telah mendapat persetujuan etik dari komisi etik penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar melalui surat nomor: 1154/KEPK-PTKMS/II/2023.

Pengumpulan data dilakukan dengan cara mengukur kadar pH, menghitung kadar nutrisi media meliputi karbohidrat dan protein, serta jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media setelah pemanasan 0x, 1x, 2x dan 3x tanpa pengulangan. Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian diolah dan dianalisis secara deskriptif dan hasil disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL

Media NA yang dijadikan sebagai sampel hingga akhir penelitian dibuat dengan volume 500 mL. Media yang telah dibuat dan disterilisasi pada autoklaf disebut sebagai media pemanasan 0x yang selanjutnya diberikan perlakuan replikasi pemanasan hingga pemanasan 3x. Media NA yang telah steril disimpan dalam lemari pendingin selama 1x24 jam, lalu dipanaskan kembali sebelum

digunakan menggunakan hot plate disebut Pemanasan 1x. Media NA dalam Erlenmeyer yang tidak terpakai disimpan kembali dalam lemari pendingin. Pemanasan 2x dan 3x dilakukan dengan langkah yang sama.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tanpa pengulangan diperoleh hasil yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pengukuran Nutrisi Media NA Setelah Replikasi Pemanasan

Perlakuan Media NA	Nutrisi	
	Karbohidrat (%)	Protein (%)
Pemanasan 0x	0.77	0.51
Pemanasan 1x	0.72	0.35
Pemanasan 2x	0.85	0.66
Pemanasan 3x	0.90	0.44

Tabel 2. Hasil Pengukuran pH Media NA Setelah Replikasi Pemanasan

Perlakuan Media NA	pH
Pemanasan 0x	6.73
Pemanasan 1x	6.65
Pemanasan 2x	6.63
Pemanasan 3x	6.59

Tabel 3. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada Media NA Setelah Replikasi Pemanasan

Perlakuan Media NA	Jumlah Koloni (CFU/ml)
Pemanasan 0x	4819
Pemanasan 1x	4140
Pemanasan 2x	2053
Pemanasan 3x	1993

DISKUSI

Pertumbuhan bakteri dalam suatu media pertumbuhan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah pH dan nutrisi. Terjadinya perubahan pH dan nutrisi pada media dapat disebabkan karena penggunaan media yang

kurang tepat, yaitu tindakan pemanasan berulang atau replikasi pemanasan sebelum media digunakan. Oleh karena itu, dilakukanlah penelitian untuk mengukur kadar nutrisi media dan pH media akibat replikasi pemanasan. Selanjutnya dilakukan hitung jumlah koloni bakteri untuk mengetahui efektifitas pertumbuhan bakteri akibat replikasi pemanasan yang dikaitkan dengan perubahan komposisi nutrisi dan pH pada media.

Penelitian ini menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) sebagai sampel yang kemudian diberikan perlakuan replikasi pemanasan. Media NA merupakan media kompleks yang memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Pernyataan tersebut diperjelas oleh Thohari dkk. (2019) yang menyatakan bahwa karbohidrat dan protein dari ekstrak daging dan pepton merupakan komposisi terpenting dalam media NA yang memenuhi kebutuhan sebagian besar bakteri. Oleh karena itu, nutrisi media NA yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar karbohidrat dan protein.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tabel 1., menunjukkan bahwa setelah replikasi pemanasan, kadar karbohidrat media NA cenderung mengalami peningkatan dari pemanasan 1x (0.72%) hingga 3x (0.90%). Tindakan pemanasan berulang pada media dapat merusak komposisi nutrisi yang terkandung dalam media. Semakin sering media dipanaskan, maka kadar karbohidratnya semakin meningkat.

Meningkatnya kadar karbohidrat pada pemanasan 1x hingga 3x disebabkan karena pada saat proses pemanasan kandungan air dalam media mengalami penguapan sedangkan komponen bahan organik termasuk karbohidrat dalam media NA bersifat tidak mudah menguap sehingga kadarnya meningkat. Hal serupa juga dilaporkan oleh Akbar dkk. (2019) bahwa diduga peningkatan nilai total karbohidrat terbaca pada hasil penelitian disebabkan oleh berat molekul pati yang meningkat sebagai akibat dari pembengkakan granula pati oleh air.

Berbeda dengan karbohidrat, hasil pengukuran kadar protein media NA diperoleh berbanding terbalik dengan hasil pengukuran kadar karbohidrat. Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan bahwa kadar protein media NA setelah dilakukan replikasi pemanasan cenderung mengalami penurunan dari

pemanasan 0x (0.51%) hingga pemanasan 3x (0.44%). Mengacu pada hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa semakin sering media dipanaskan, kadar protein yang terkandung dalam media semakin menurun.

Menurunnya kadar protein media NA setelah pemanasan disebabkan karena struktur protein mengalami kerusakan akibat pemanasan yang disebut dengan denaturasi protein. Selain itu, kadar protein dalam media menjadi sumber nutrisi bagi bakteri untuk pertumbuhan. Hal ini sejalan dengan literatur dalam penelitian Bhaskara dkk. (2021) yang menyatakan bahwa beberapa faktor, seperti panas, pH, bahan kimia, dan mekanik, dapat menyebabkan protein terdenaturasi.

Menurut Sundari dkk. (2015) pemanasan dapat menyebabkan penurunan kadar protein, hal ini karena penggunaan suhu tinggi dalam proses pengolahan bahan pangan menyebabkan protein terdenaturasi sehingga terjadi koagulasi dan daya kemampuan larut protein menurun. Reaksi yang terjadi pada proses tersebut mengakibatkan protein mengalami kerusakan yang berdampak pada penurunan kadar protein.

Karbohidrat dan protein sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri. karbohidrat merupakan substrat utama untuk proses metabolisme bakteri. Sementara protein dibutuhkan dalam proses pembentukan sel bakteri. Oleh karena itu, berkurangnya nutrisi berupa protein dalam media pertumbuhan dapat menyebabkan bakteri tidak dapat tumbuh secara optimal.

Selain aspek nutrisi, pH juga menjadi faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dalam suatu media. Nilai pH memengaruhi aktivitas enzim; pada kondisi pH ideal, aktivitas enzim akan maksimal.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2. pH media NA setelah dilakukan replikasi pemanasan menunjukkan tren penurunan ke arah pH asam. Nilai pH media pada pemanasan 0x diperoleh 6.73 dan setelah dipanaskan berulang hingga 3x pH media menjadi 6.59. Hal ini menandakan bahwa semakin sering media NA dipanaskan, maka pH media semakin menurun. Hasil pengukuran pH yang diperoleh sejalan dengan hasil penelitian Anggraeni dkk. (2021) yang menyatakan bahwa semakin sering media PCA dipanaskan, pH media menjadi lebih asam dan lebih kental selama proses penguapan.

Penurunan pH media setelah pemanasan dapat terjadi karena adanya pembentukan senyawa asam akibat hidrolisis karbohidrat. Asam piruvat akan dihasilkan melalui hidrolisis gula, yang kemudian berubah menjadi CO₂, asetaldehid, dan asam organik (Reli dkk., 2017). Hal ini sesuai dengan pernyataan Bachtiar dkk. (2019) bahwa pemanasan memungkinkan asam-asam organik dilepaskan lebih banyak pada media. Asam organik dapat menyebabkan terjadinya penurunan pH. Semakin tinggi produksi asam organik maka pH media akan semakin rendah. Hal ini terjadi karena adanya asam organik meningkatkan jumlah gugus H⁺ pada media.

Nilai pH media NA adalah $6.8 \pm 0,2$ yang berarti pH normal untuk media NA berkisar 6,6 - 7,0. Sedangkan pH optimal untuk pertumbuhan bakteri berada pada kisaran 6,5 - 7,5. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat dikatakan bahwa media dengan pemanasan 3x masih dapat dipertimbangkan untuk digunakan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Wati (2018) yang menyatakan jumlah mikroba yang tumbuh dan pH yang tetap netral menunjukkan bahwa pemanasan media berulang sebanyak tiga kali masih dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroba.

Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri terkait dengan aktivitas enzim. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan. Apabila pH media tidak ideal, maka akan berdampak pada pertumbuhan bakteri itu sendiri. Ketika pH meningkat atau menurun, sifat gugus asam amino akan berubah, yang menyebabkan bakteri tidak dapat berkembang secara optimal dan berdampak pada produk metabolisme yang akan dihasilkannya.

Replikasi pemanasan media juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 3. Jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media NA pada setiap perlakuan pemanasan semakin berkurang. Hasil perhitungan jumlah koloni pada pemanasan 1x adalah 4140 CFU/ml dan pada pemanasan 3x adalah 1993 CFU/ml. Hal ini menandakan bahwa semakin sering media NA dipanaskan, maka jumlah koloni bakteri yang tumbuh semakin berkurang. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wati (2018) tentang

pengaruh pemanasan berulang media PCA terhadap uji TPC; jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA dengan pemanasan 1x diperoleh 123 koloni/ml sedangkan pada pemanasan 5x jumlah yang diperoleh 83,67 koloni/ml.

Terjadinya penurunan jumlah koloni bakteri pada media NA dapat dikaitkan dengan perubahan pH media yang cenderung menurun setelah dilakukan replikasi pemanasan. Menurut hasil penelitian Riski dkk. (2017) nilai pH optimal untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 7,0 - 7,5 pada suhu 37° C. Mengacu pada literatur tersebut, apabila dihubungkan dengan hasil yang diperoleh maka dapat dikatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* tidak mampu tumbuh secara optimal pada lingkungan dengan pH asam. Hal ini ditandai dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA yang semakin berkurang seiring dengan seringnya media dipanaskan. Pada pH mendekati normal dalam hal ini 6.73, bakteri yang tumbuh adalah 4819 CFU. Sementara pada pH 6.59, bakteri yang tumbuh hanya 1993 CFU.

Selain faktor pH, berkurangnya jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA juga dapat dikaitkan dengan perubahan komposisi nutrisi pada media. Adanya penurunan kadar protein pada media NA akibat pemanasan dapat menyebabkan koloni bakteri yang tumbuh pada media berukuran kecil. Hal ini didukung oleh pendapat Arum & Wahyudi (2022) dalam penelitiannya yang menjelaskan bahwa untuk memperoleh energi yang diperlukan untuk pertumbuhan ukuran koloni maka bakteri akan menghidrolisis protein. Oleh karena molekul protein terlalu besar untuk melewati membran sel bakteri, bakteri mengeluarkan enzim protease untuk menghidrolisis protein menjadi peptide yang lebih sederhana. Kemudian, peptidase mengubah peptide yang terbentuk menjadi asam amino, yang memungkinkan asam amino untuk masuk ke dalam sel bakteri (Rahayu dkk., 2019). Di dalam sel bakteri asam amino yang terbentuk dikatalisis oleh enzim asam laktat dehydrogenase dan direduksi oleh NADH untuk menghasilkan energi, sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan ukuran koloni (Susanti dkk., 2022).

Menurut Thohari dkk. (2019) pada media dengan komposisi karbohidrat yang tinggi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, karena bakteri akan

mempunyai waktu yang lebih lama untuk mengurai komposisi tersebut. Selain itu, media yang kaya akan karbohidrat dapat memberikan peluang bagi jamur sebagai kontaminan untuk tumbuh, karena jamur sangat menyukai media dengan karbohidrat yang tinggi. Sedangkan protein merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh bakteri karena mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri. Namun, kajian terkait batas maksimal kadar karbohidrat dan protein yang dibutuhkan oleh bakteri belum tersedia, sehingga perlu dianalisis lebih lanjut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa replikasi pemanasan media Nutrient Agar memberikan pengaruh terhadap kualitas media. Replikasi pemanasan media *Nutrient Agar* menyebabkan perubahan komposisi nutrisi pada media berupa peningkatan kadar karbohidrat dan penurunan kadar protein akibat denaturasi. pH media mengalami penurunan ke arah pH asam. Akibat menurunnya nutrisi dan pH pada media NA tersebut, menyebabkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh juga semakin berkurang.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis tujukan pada segenap pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan untuk penerbitan prosiding ini.

REFERENSI

Akbar, I. A., Christiyanto, M., & Utama, C. S. (2019). Pengaruh Lama Pemanasan Dan Kadar Air Yang Berbeda Terhadap Nilai Glukosa Dan Total Karbohidrat Pada Pollard. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 17(1), 69-75. <https://doi.org/10.36762/litbangjateng.v17i1.773>

- Angraeni, P. D., Marhamah, & Djayasinga, R. (2021). Pengaruh Pemanasan Berulang Terhadap Kualitas Media Plate Count Agar (PCA) di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan. *Jurnal Medika Malahayati*, 6(4), 220-226.
- Arum, S. D. K., & Wahyudi, D. (2022). Pemanfaatan Ubi Jalar Putih dan Ubi Jalar Kuning Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *JUMANTIK (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, 7(4), 317-328. <https://doi.org/10.30829/jumantik.v7i4.11634>
- Bachtiar, T., Anas, I., Sutandi, A., & Ishak. (2019). Perbaikan Kualitas Bahan Pembawa *Rhizobium* dan Fungsi Pelarut Fosfat Melalui Sterilisasi Sinar Gamma Co-60 dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Kedelai (*Glycine Max.L*). *Ganendra Journal of Nuclear Science and Technology*, 22(1), 11-23. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17146/gnd.2019.22.1.4405>
- Bhaskara, D. N. A., Darmayanti, L. P. T., & Suparthana, I. P. (2021). Perubahan Karakteristik Pangan Tradisional Pesan Tlengis Selama Penyimpanan Suhu Ruang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(3), 448-458. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i03.p12>
- Hafsan. (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Alauddin University Press. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Mursalim, Hadijah, S., Hasnawati, & Rafika. (2022). *Modul Praktikum Bakteriologi II*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- Nurhidayanti. (2022). Perbandingan Media Alternatif Kacang Kedelai dan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Indobiosains*, 4(2), 47-53. <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v4i2.7997>
- Orekan, J., Barbe, B., Oeng, S., Ronat, J.-B., Letchford, J., Jacobs, J., Affolabi, D., & Hardy, L. (2021). Culture Media for Clinical Bacteriology in Low- and Middle-Income Countries: Challenges, Best Practices for Preparation and Recommendations for Improved Access. *Clinical Microbiology and Infection*, 27, 1400-1408. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
-

-
- Rahayu, W. P., Nurwitri, C., & Komalasari, P. (2019). *Mikrobiologi Pangan*. IPB Press.
- Reli, R., Warsiki, E., & Rahayuningsih, M. (2017). Modifikasi Pengolahan Durian Fermentasi (Tempoyak) dan Perbaikan Kemasan untuk Mempertahankan Mutu dan Memperpanjang Umur Simpan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 27(1), 43-54.
- Riski, K., Fakhurrazi, & Abrar, M. (2017). Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin Talang-Talang (*Scomberoides Commersonianus*) di Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar. *Jimvet*, 1(3), 366-374.
- Sundari, D., Almasyhuri, A., & Lamid, A. (2015). Pengaruh Proses Pemasakan Terhadap Komposisi Zat Gizi Bahan Pangan Sumber Protein. *Jurnal Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 25(4), 235-242. <https://doi.org/10.22435/mpk.v25i4.4590.235-242>
- Suprapti, L., Heruwati, A., Sukesi, A. D. B., Setiyono, H., Indahwati, T., & Handayani, W. (2020). *Pedoman Pembuatan Media dan Reagensia Racik*. Deepublish.
- Susanti, M., Khalimatusa'diah, S., & Rasyid, A. (2022). Pemanfaatan Variasi Sumber Karbohidrat Dari Palawija Sebagai Alternatif Media Sintetik Untuk Pertumbuhan Bakteri. *BIO EDUCATIO : (The Journal of Science and Biology Education)*, 7(2), 61-67. <https://doi.org/10.31949/be.v7i2.4365>
- Thohari, N. M., Pestariati, & Istanto, W. (2019). Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Sebagai Media Alternatif NA (Nutrient Agar) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Analisis Kesehatan Sains*, 8(2), 725-737.
- Wati, R. Y. (2018). Pengaruh Pemanasan Media Plate Count Agar (PCA) Berulang terhadap Uji Total Plate Count (TPC) di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Hasil Pertanian Unand. *Jurnal Universitas Andalas*, 1(2), 44-47.
-

KADAR VITAMIN D-25 OH PADA IBU HAMIL TRIMESTER PERTAMA DENGAN PROGNOSIS DIABETES MELLITUS GESTASIONAL

Citra Amaniah Anhar¹ · Dewi Inderiati^{1*} · Ragil Dwi Utari¹

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Indonesia

*email: dewi.inderiati@poltekkesjakarta3.ac.id

No Tlp WA: 08128132960

ABSTRACT

Vitamin D-25 OH helps to minimise the risk of gestational diabetes mellitus, which can harm the fetus's and the mother's development during pregnancy. This study aims to determine the level of vitamin D-25 OH and HbA1c in pregnant women with a prognosis of first-trimester gestational diabetes mellitus. This type of research is a correlation analytic study using primary data on pregnant women who conducted vitamin D-25 OH and HbA1c examinations during April - August 2023, a total of 57 people taken by purposive sampling at the Prodia Kramat Clinical Laboratory. The results showed that in the majority of subjects aged 25-35, as many as 36 people (63%), the average Vitamin D-25 OH level was 22.0 ng/mL, and the average HbA1c level was 5.2%. Vitamin D and HbA1c levels have a correction with a p-value of 0.012 and a correlation coefficient of -0.331. This study concludes a significant correlation between vitamin D 25-OH and HbA1c levels in pregnant women with a negative correlation direction, which means that the higher the vitamin D 25-OH level, the lower the HbA1c level. Vitamin D-25 OH and HbA1c examination is used as an early screening in pregnant women, minimising the risk of gestational diabetes mellitus.

Keywords: Gestational Diabetes Mellitus; HbA1c; Pregnant Women; First Trimester; Vitamin D-25 OH

ABSTRAK

Vitamin D-25 OH berperan meminimalisir terjadinya diabetes melitus gestasional yang dapat membahayakan perkembangan janin dan ibunya selama proses kehamilan. Penelitian ini bertujuan mengetahui kadar vitamin D-25 OH dan HbA1c pada ibu hamil dengan prognosis Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) trimester pertama. Jenis penelitian ini adalah penelitian analitik korelasi dengan menggunakan data primer pada ibu hamil trimester pertama yang melakukan pemeriksaan vitamin D-25 OH dan HbA1c selama April - Agustus 2023 sejumlah 57 orang yang diambil secara *purposive sampling* di Laboratorium Klinik Prodia Kramat. Hasil penelitian menunjukkan mayoritas subjek berusia 25-35 orang sebanyak 36 orang (63%), rerata kadar Vitamin D-25 OH sebesar 22,0 ng/mL, dan rerata kadar kadar HbA1c sebesar 5,2%. Kadar vitamin D dan kadar HbA1c memiliki koreksi dengan p-value 0,012 dan koefisien korelasi -0,331. Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat korelasi yang signifikan antara kadar vitamin D 25-OH dan HbA1c pada ibu hamil dengan arah korelasi negatif yang artinya semakin tinggi kadar vitamin D 25-OH maka semakin rendah kadar HbA1c. Pemeriksaan Vitamin D-25 OH dan HbA1c digunakan sebagai skrining awal pada ibu hamil yang berguna dalam meminimalisir risiko terjadinya diabetes melitus gestasional.

Kata Kunci: Diabetes Mellitus Gestasional; HbA1c; Ibu Hamil; Trimester pertama; Vitamin D-25 OH

PENDAHULUAN

Kehamilan merupakan proses alamiah dan terjadi secara fisiologis dimana seorang perempuan membawa janin yang sedang berkembang didalam rahimnya selama 40 minggu atau 10 bulan lunar atau 9 bulan menurut kalender internasional. Kehamilan terbagi dalam 3 trimester, dimana trimester pertama berlangsung dalam 12 minggu, trimester kedua 15 minggu (minggu ke-13 hingga ke-27) dan trimester ketiga 13 minggu (minggu ke-28 hingga ke-40) (WHO, 2016). Dalam proses kehamilan diperlukan upaya dalam meningkatkan kesehatan ibu dan anak. Program kesehatan ibu dan anak dapat dinilai melalui indikator utama Angka Kematian Ibu (AKI). AKI adalah rasio kematian ibu selama masa kehamilan, persalinan dan nifas per 100.000 kelahiran hidup (Kemenkes, 2020). Angka Kematian Ibu (AKI) yang tinggi merupakan permasalahan kesehatan di Indonesia yang belum selesai sampai saat ini. Data yang diperoleh dari Pusdatin Kemenkes RI Tahun 2019, AKI di Indonesia sampai dengan 2019 masih pada angka 305 per 100.000 kelahiran hidup. Angka tersebut masih tinggi jika dikaitkan dengan target *Sustainable Development Goals* (SDGs) Indonesia tahun 2030 yaitu penurunan AKI hingga 70 per 100.000 kelahiran hidup (Handayani & Nurjanah, 2021). Gangguan tersebut dapat diketahui melalui status vitamin D.

Vitamin D merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan mengandung struktur molekul steroid yang dibutuhkan untuk berbagai proses metabolisme dalam tubuh (Fiannisa, 2019). Vitamin D banyak memiliki peran dalam perkembangan janin dan kesehatan ibu, membuat vitamin D penting untuk diperhatikan kadarnya dalam darah (Aji, 2017). Status vitamin D dapat diketahui melalui pengukuran konsentrasi serum D-25 hidroksivitamin (D-25 OH) dengan yang dikategorikan normal yaitu 30-100 ng/ml. Wanita hamil memiliki risiko yang lebih besar mengalami kekurangan vitamin D; diperkirakan bahwa 18% wanita hamil di Inggris, 25% di Uni Emirat Arab, 80% di Iran, 42% di India Utara, dan 84% wanita non-barat di Belanda, memiliki konsentrasi D-25 OH di bawah 25 ng/mL (Courbebaisse et al., 2019).

Status vitamin D yang buruk atau dikenal sebagai defisiensi vitamin dapat menjadi masalah kesehatan masyarakat yang terjadi di berbagai belahan dunia terutama pada ibu hamil yang merupakan kelompok rentan terhadap masalah gizi. Defisiensi vitamin D pada ibu hamil dapat menyebabkan preeklamsia, persalinan prematur, bayi kecil untuk usia kehamilan (SGA), dan hipokalsemia neonatal (Elly et al., 2021). Vitamin D dapat juga berfungsi untuk menurunkan glukosa darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin, pengambilan glukosa jaringan perifer, dan sintesis glikogen di hati. Peningkatan vitamin D telah terbukti meningkatkan kontrol glikemik dan sensitivitas insulin pada penderita diabetes (Safarpour et al., 2020). Beberapa studi menyebutkan jika adanya hubungan signifikan antara kadar vitamin D-25 OH dengan terjadinya gangguan metabolisme glukosa atau sindrom metabolik dan terjadinya Diabetes Melitus Gestasional (DMG) (Boyle et al., 2016). Resiko DMG dapat meningkat ketika terjadi penurunan kadar vitamin D-25 OH pada ibu hamil selama trimester pertama (Yoon, 2017)

Diabetes Melitus Gestasional (DMG) adalah suatu keadaan intoleransi glukosa yang berkembang selama kehamilan dan akan dipulihkan setelah lahir. Prevalensi DMG terus meningkat selama 20 tahun terakhir, dimana sebanyak 21,3 juta ibu hamil yang mengalami hiperglikemia sebanyak 86,4% disebabkan oleh DMG, 6,2% disebabkan oleh DM tipe 1 atau DM tipe 2 bawaan sebelum hamil, dan 7,4% disebabkan DM tipe 1 atau DM tipe 2 yang baru terdeteksi selama kehamilan (Adli, 2021). Kadar glukosa darah yang bervariasi tersebut selama kehamilan disebabkan oleh perubahan fisiologi ibu hamil melalui adanya proses produksi hormone seperti estrogen, progesteron, kortisol, prolaktin, dan *human prolactin lactogen* (hPL) yang dapat berdampak menyebabkan abortus dan partus prematurus, pre-eklamsia, hidramnion, kelainan letak janin dan insufisiensi plasenta (Dewi et al., 2018; Susanti & Purnamasari, 2022). Dalam meminimalkan dampak yang terjadi pada peningkatan kadar glukosa ibu selama proses kehamilan, yaitu dilakukan dengan pemantauan kontrol glikemik (Rafat & Ahmad, 2017). Selain glukosa darah dan konsentrasi glukosa urin, indikator kontrol glikemik dapat ditentukan dari konsentrasi hemoglobin glukosa darah (HbA1c). HbA1c adalah komponen glikemik utama dan banyak

penelitian mengaitkannya dengan gula darah rata-rata (Susiloet al., 2020). Pada penelitian Bozkurt *et al.*, (2020) disebutkan bahwa wanita dengan HbA1c trimester pertama 5,7%-6,4% dapat meningkatkan risiko DMG sebesar 50% dibandingkan wanita dengan kadar HbA1c normal.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kadar vitamin D-25 OH dan HbA1c pada ibu hamil dengan prognosis diabetes mellitus gestastional trimester pertama yang melakukan pemeriksaan darah di Laboratorium Klinik Prodia Kramat.

BAHAN DAN METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan nomor: KEPK/UMP/49/IV/2023. Penelitian ini merupakan penelitian analitik korelasi dengan menggunakan data primer pada ibu hamil dengan usia kandungan trimester pertama yang melakukan pemeriksaan vitamin D-25 OH dan HbA1C di Laboratorium Klinik Prodia Kramat. Penelitian dilaksanakan dari bulan April - Agustus 2023 di Laboratorium Klinik Prodia Kramat. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 57 orang dengan teknik pengambilan secara *purposive sampling* yang sesuai kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusinya adalah ibu hamil yang memiliki usia kandungan 0-12 minggu, melakukan pemeriksaan vitamin D-25 OH dan HbA1C. Kriteria eksklusinya adalah ibu hamil yang usia kandungannya diatas 13 minggu dan mengkonsumsi suplemen vitamin D dengan kadar tinggi atau sedang menjalani terapi vitamin D.

Alat, Bahan, Prosedur Penelitian

a. Pemeriksaan Vitamin D-25 OH

Semua ibu hamil yang masuk dalam kriteria inklusi dan sedang melakukan pemeriksaan di Laboratorium Klinik Prodia Kramat dilakukan pengambilan darah dari pembuluh darah vena. Darah yang selesai disampling, ditampung pada tabung vakum dengan *clot activator* (tabung vakum dengan tutup

berwarna kuning). Sampel yang telah terkumpul dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum. Pengukuran serum vitamin D-25 OH diukur secara kuantitatif yang menggunakan alat Architect C 8000 dengan metode Chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA). Proses pemeriksaan sampel terdiri dari pemipetan 300 μ L sampel serum yang dimasukkan ke dalam sampel cup, meletakkan sampel cup berisi serum pada rak sampel alat yang sesuai, dan alat akan bekerja secara otomatis dengan mengeluarkan hasil di layar. Hasil pemeriksaan sampel berdasarkan hasil reaksi pencampuran reaksi antara mikropartikel antivitamin D dengan pengencer yang mengandung paramagnetic anti-vitamin D yang diinkubasi dan dibaca dengan sistem optic architect berdasarkan relative light units (RLU). Hasil kadar vitamin D-25 OH dalam bentuk angka dengan satuannya ng/mL. Kadar vitamin D-25 OH merupakan bentuk utama Vitamin D yang beredar dalam darah dan sebagai penanda terbaik untuk mengidentifikasi status vitamin D seseorang. Hasil pada pemeriksaan Vitamin D-25 OH diinterpretasikan menjadi 3 kategori yaitu defisiensi (< 10 ng/mL), insufisiensi ($10- < 30$ ng/mL), dan sufisiensi ($30- 100$ ng/mL)

b. Pemeriksaan HbA1c

Semua ibu hamil yang masuk dalam kriteria inklusi dan sedang melakukan pemeriksaan di Laboratorium Klinik Prodia Kramat dilakukan pengambilan darah dari pembuluh darah vena. Darah yang selesai disampling, ditampung pada tabung vakum dengan antikoagulan K3EDTA (tabung vakum dengan tutup berwarna ungu). Pengukuran HbA1c pada sampel *whole blood* yang menggunakan alat Bio-Rad Varian II Turbo Hemoglobin A1c dengan metode High Performance Liquid Chromatografi (HPLC). Sampel diperiksa dengan meletakkan pada rak sampel di dalam alat dan akan menganalisisnya secara otomatis. Hasil sampel dihitung berdasarkan waktu retensi dari puncak yang terdeteksi dan kromatogram yang dihasilkan oleh CDM pada sampel. Setelah itu menghitung area puncak A1 yang berwarna gelap dengan menggunakan algoritma modifikasi Gaussian secara eksponensial (EMG) yang memisahkan area puncak A1c yang labil dan karbamilasi dari area puncak. Hasil kadar HbA1c

dalam bentuk angka dengan satuannya %. Kadar HbA1c merupakan proses glikasi dan sebagai penanda terbaik untuk mengidentifikasi diabetes mellitus. Hasil pada pemeriksaan HbA1c diinterpretasikan menjadi 3 kategori yaitu Normal (<5,7%), pre-Diabetes (5,7-6,5%), dan diabetes (>6,5%).

Analisis Data

Data hasil penelitian berupa kadar vitamin D-25 OH dan HbA1c dilakukan analisa korelasi menggunakan uji pearson apabila data berdistribusi normal atau uji spearman apabila data tidak berdistribusi normal. Jika hasil uji menunjukkan nilai $p < 0,05$, maka secara statistik dapat disimpulkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara kadar vitamin D-25 OH dan HbA1c, dan jika $p > 0,05$ maka tidak terdapat hubungan bermakna antara kadar vitamin D-25 OH dan HbA1c.

HASIL

1. Karakteristik Usia Subjek Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah sebanyak 57 ibu hamil dengan usia kandungannya pada trimester pertama. Analisa deskriptif tentang sebaran subjek yang diteliti adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Usia Subjek Penelitian

Karakteristik	Total	
	N	%
Usia Ibu Hamil		
<25 tahun	4	7
25-35 tahun	36	63
> 35 tahun	18	30

Berdasarkan Tabel 1 diatas, persebaran usia pada subjek penelitian digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu < 25 tahun sebanyak 4 orang (7%), 25-35 tahun sebanyak 36 orang (63%), dan >35 tahun sebanyak 18 orang (30%).

2. Kadar Vitamin D-25 OH pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Kadar vitamin D-25 OH dalam serum ibu hamil terbagi menjadi 3 yaitu defisiensi, insufisiensi, dan kecukupan. Penggolongan kategori tersebut melalui pemeriksaan menggunakan alat Architect C 8000. Gambaran distribusi frekuensi kadar vitamin D dalam serum ibu hamil trimester pertama dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar Vitamin D-25 OH pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Variabel	Total	
	N	%
Interpretasi Kadar Vitamin D 25-OH		
Defisiensi (< 10 ng/mL)	1	2
Insufisiensi (10-30 ng/mL)	53	93
Sufisiensi (30-100ng/mL)	3	5
Variabel	Mean \pm SD	Min - Max
	(ng/mL)	(ng/mL)
Kadar Vitamin D-25 OH	22,0 \pm 5,9	4,3-33,4

Pada tabel 2, menunjukkan hasil pengukuran kadar Vitamin D-25 OH didapatkan kadar tertinggi 33,4 ng/mL, kadar terendah 4,3 ng/mL, dan rerata kadarnya 22,0 ng/mL yang masuk ke dalam kategori insufisiensi. Hasil tersebut sesuai dengan jumlah terbanyak Ibu hamil masuk dalam kategori insufisiensi sebanyak 53 orang (93%) yang diikuti oleh kategori sufisiensi sebanyak 3 orang (5 %) dan defisiensi sebanyak 1 orang (2%).

3. Kadar HbA1c pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Kadar HbA1c dalam serum ibu hamil terbagi menjadi 3 yaitu normal, pre-diabetes, dan diabetes. Penggolongan kategori tersebut berdasarkan pemeriksaan menggunakan alat Bio-Rad Varian II Turbo Hemoglobin A1c. Gambaran distribusi frekuensi kadar HbA1c pada dalam serum ibu hamil trimester pertama dapat dilihat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar HbA1c pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Variabel	Total	
	N	%
Interpretasi Kadar HbA1c		
Normal (<5,7%)	54	95
Pre-Diabetes (5,7-6,5%)	2	3
Diabetes (>6,5%)	1	2
Variabel	Mean \pm SD	Min-Max
	(%)	(%)
Kadar HbA1c	5,2 \pm 0,35	4,6-6,7

Pada tabel 3 menunjukkan hasil pengukuran kadar HbA1c didapatkan kadar tertinggi 6,7 %, kadar terendah 4,6%, dan rerata kadarnya 5,2 yang masuk ke dalam kategori normal. Hasil tersebut sesuai dengan jumlah terbanyak Ibu hamil masuk dalam kategori normal sebanyak 54 orang (95%) yang diikuti oleh kategori pre-diabetes sebanyak 2 orang (3 %) dan diabetes sebanyak 1 orang (2 %).

4. Korelasi kadar vitamin D-25 OH dengan kadar HbA1c pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Dalam mendeteksi faktor resiko terjadinya diabetes melitus gestasional pada ibu hamil trimester pertama, maka dapat dilakukan dengan menganalisa korelasi antara kadar vitamin D-25 OH dengan HbA1c. Analisis uji korelasi menggunakan uji spearman dengan $\alpha < 0,05$ yang dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Korelasi Vitamin D 25-OH dan HbA1c pada Ibu Hamil Trimester Pertama

Varibel	p-value	Koefisien Korelasi (r)
Vitamin D- 25 OH - HbA1c	0,012	-0,331

Pada tabel 4, menunjukkan hasil adanya korelasi antara kadar vitamin D-25 OH dengan HbA1c dengan nilai ($0,012 < 0,05$) dan nilai koefisiennya -0,331. Hasil tersebut menandakan bahwa terdapat korelasi signifikan dengan arah korelasi negatif yang artinya adalah semakin rendah kadar Vitamin D-25 OH maka dapat menyebabkan peningkatan kadar HbA1c, sehingga dapat membahayakan perkembangan janin dan ibunya selama proses kehamilan.

DISKUSI

Ibu hamil yang menjadi subjek dalam penelitian ini adalah ibu hamil yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Mayoritas ibu hamil yang berpartisipasi dalam penelitian ini adalah sebanyak 36 orang (63%) berada di kelompok usia 25-35 tahun. Kelompok usia tersebut merupakan usia produktif untuk hamil dan melahirkan. Pada usia tersebut organ-organ reproduksi telah berfungsi dengan baik dan siap untuk hamil dan melahirkan (Amini et al., 2018). Usia kehamilan yang dipilih untuk menjadi subjek penelitian ini adalah trimester pertama.

Mayoritas ibu hamil yang menjadi subjek penelitian mengalami insufisiensi (kadar vitamin D-25 OH 10-30 ng/mL) sejumlah 53 orang (93%) dengan rerata kadarnya 22,0 ng/mL. Pada kehamilan trimester pertama, seorang ibu hamil memerlukan mikronutrisi yang salah satunya adalah vitamin D (Miliku et al., 2016). Vitamin D dengan bentuk aktifnya adalah D-25 OH memiliki fungsi sebagai sistem kekebalan tubuh dan dapat mengurasi kerusakan oksidatif pada plasenta melalui ekspresi reseptor vitamin D (VDR). Kadar vitamin D yang rendah (defisiensi/insufisiensi) terutama pada ibu hamil selama trimester pertama dapat menurunkan fungsi transkripsi dan translasi HOXA10 karena produksi Vitamin D-25 OH hanya dibantu oleh hormon kehamilan (Ji et al., 2017). Status vitamin D pada ibu hamil berhubungan dengan kualitas selama proses kehamilan yang dapat mempengaruhi perkembangan janin dan kesehatan ibu. Kondisi kekurangan vitamin D yang demikian dapat mengakibatkan pra-konsepsi Polycystic Ovarian Syndrome (POCS), In Vitro

Fertilization (IVF), preeklampsia, Diabetes Mellitus Gestasional, kesehatan tulang, dan berakhir terjadinya aboortus spontan (Aji et al., 2019).

Mayoritas ibu hamil yang menjadi subjek penelitian masuk memiliki rerata kadar HbA1c sebesar 5,2% dan hasil tersebut masuk dalam kategori normal. Walau demikian, ditemukan sebanyak 2 orang (3,5%) mengalami pre-diabetes dengan kadar HbA1cnya 5,8% dan 1 orang (5,8%) mengalami diabetes dengan kadar HbA1cnya 6,7%. Kadar HbA1c pada usia kehamilan trimester pertama dapat memberikan gambaran metabolisme glukosa pada ibu hamil sebelum terjadi perubahan hormonal secara signifikan dan dapat berfungsi sebagai kontrol glikemik. Apabila kadar HbA1c meningkat sejak trimester pertama dapat mencerminkan gangguan dari fungsi sel beta pankreas dan meningkatkan resiko lebih besar terjadinya diabetes meliitus gestasional yang berdampak buruk selama proses kehamilan. Ibu hamil trimester pertama dengan kadar HbA1c 5,7%-6,4% akan memiliki resiko 50% mengalami diabetes melitus gestasional dan resiko bayi lahir dengan *Large of Age Gestational* (LGA) (Bozkurt et al., 2020).

Seorang ibu hamil yang mengalami penurunan kadar Vitamin D-25 OH (defisiensi/sufisiensi), maka dapat meningkatkan kadar HbA1c dan merupakan salah satu indikasi resiko terjadinya Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) yang diketahui berdasarkan dari uji korelasi antara kadar vitamin D-25 OH dengan HbA1c dengan -value ($0,012 < 0,05$) dan nilai koefisiennya -0,331. Hasil tersebut sependapat dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Abudawood *et al.*, (2018) menunjukkan korelasi negatif yang signifikan antara vitamin D dan HbA1c ($r = -0,06$, $p < 0,05$ pada pria; $r = 0,13$, $p < 0,001$ pada wanita). Ibu hamil dengan kekurangan vitamin D mengalami peningkatan risiko yang signifikan untuk terjadinya DMG (Al-Musharaf et al., 2018). Korelasi antara kekurangan vitamin D dan resiko terjadinya DMG dapat terjadi karena vitamin D berfungsi dalam meningkatkan sekresi insulin pankreas melalui reseptor vitamin D sel beta yang mampu merangsang ekspresi reseptor insulin dengan demikian meningkatkan transportasi glukosa di dalam sel. Kekurangan vitamin D dapat memperburuk resistensi insulin yang sudah ada sebelumnya dengan memperburuk terjadinya

gangguan kompensasi akibat kehamilan, sehingga berdampak terjadinya DMG (Salakos et al., 2021).

Subjek penelitian dalam penelitian ini adalah ibu hamil yang memiliki riwayat mengalami diabetes melitus, sehingga diperlukan pemeriksaan vitamin D-25 OH dan HbA1C dengan tujuan sebagai screening awal dan meminimalisir resiko terjadinya diabetes melitus gestasional. Meskipun hasil menunjukkan terdapat hanya 2 orang yang mengalami prediabetes dan 1 orang mengalami diabetes berdasarkan kadar HbA1Cnya, namun secara analisis statistik menunjukkan adanya korelasi yang signifikan. Analisis data ini berdasarkan uji kuantitatif antara variabel kadar vitamin D-25OH dan kadar HbA1C. Pada penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, jumlah vitamin D yang dikonsumsi selama kehamilan, tidak ada informasi mengenai tingkat paparan sinar matahari, yang bergantung pada pakaian dan aktivitas di luar ruangan yang dapat mempengaruhi kadar Vitamin D-25 OH. Selain itu adanya faktor perancu yang berpotensi lainnya seperti aktivitas fisik, merokok, asupan alkohol, status sosioekonomi, dan riwayat diabetes dalam keluarga tidak dipertimbangkan dalam desain penelitian ini. Secara keseluruhan penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan dalam screening awal pada ibu hamil trimester pertama untuk meminimalisir resiko selama proses kehamilan terutama terjadinya diabetes mellitus gestasional.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis data dan pembahasan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi yang signifikan ($0,012 < 0,05$) dan nilai koefisiennya -0,331 antara kadar vitamin D-25 OH dengan kadar HbA1c pada pasien ibu hamil trimester pertama. Hal tersebut menjadikan dasar bahwa perlunya dilakukan pemeriksaan Vitamin D 25-OH dan HbA1c sebagai skrining awal untuk ibu hamil trimester pertama dengan prognosis diabetes melitus gestasional, sehingga dapat meminimalisir gangguan pada perkembangan janin dan ibunya selama proses kehamilan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi yang signifikan dalam penyelesaian penelitian ini. Kami mengucapkan terima kasih kepada Poltekkes Kemenkes Jakarta III dan Laboratorium Klinik Prodia Kramat yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian ini dan menggunakan fasilitasnya.

REFERENSI

- Abudawood, M., Tabassum, H., Ansar, S., Almosa, K., Sobki, S., Ali, M. N., & Aljohi, A. (2018). Assessment of gender-related differences in vitamin D levels and cardiovascular risk factors in Saudi patients with type 2 diabetes mellitus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(1), 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.04.001>
- Adli, F. K. (2021). Diabetes Melitus Gestasional : Diagnosis dan Faktor Risiko. *Jurnal Medika Hutama*, 03(01), 1545-1551.
- Aji, A. S. (2017). Vitamin D pada Kehamilan. *Vitamin D Pada Kehamilan*.
- Aji, A. S., Erwinda, E., Yusrawati, Y., Malik, S. G., & Lipoeto, N. I. (2019). Vitamin D deficiency status and its related risk factors during early pregnancy: a cross-sectional study of pregnant Minangkabau women, Indonesia. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 19(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12884-019-2341-4>
- Al-Musharaf, S., Fouda, M. A., Turkestani, I. Z., Al-Ajlan, A., Sabico, S., Alnaami, A. M., Wani, K., Hussain, S. D., Alraqebah, B., & Al-Serehi, A. (2018). Vitamin D deficiency prevalence and predictors in early pregnancy among Arab women. *Nutrients*, 10(4), 489. <https://doi.org/10.3390/nu10040489>
- Amini, A., Pamungkas, C. E., & Harahap, A. P. H. P. (2018). Usia Ibu Dan Paritas Sebagai Faktor Risiko Yang Mempengaruhi Kejadian Anemia Pada Ibu Hamil Di Wilayah Kerja Puskesmas Ampenan. *Midwifery Journal: Jurnal Kebidanan UM. Mataram*, 3(2), 108-113. <https://doi.org/10.31764/mj.v3i2.506>.
- Boyle, V. T., Thorstensen, E. B., Mourath, D., Jones, M. B., Mccowan, L. M. E., Kenny, L. C., Baker, P. N., & Consortium, S. (2016). The relationship between 25-hydroxyvitamin D concentration in early pregnancy and pregnancy outcomes in a large, prospective cohort. *British Journal of Nutrition*, 1(116), 1409-1415. <https://doi.org/10.1017/S0007114516003202>
- Bozkurt, L., Göbl, C. S., Leitner, K., Pacini, G., & Kautzky-Willer, A. (2020). HbA1c during early pregnancy reflects beta-cell dysfunction in women developing GDM. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 8(2), 1-7.

<https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-001751>

- Courbebaisse, M., Souberbielle, J.-C., Baptiste, A., Taieb, J., Tsatsaris, V., Guibourdenche, J., Senat, M.-V., Haidar, H., Jani, J., & Guizani, M. (2019). Vitamin D status in a large prospective French cohort during pregnancy and in cord blood. *Clinical Nutrition*, 38(5), 2136-2144.
- Dewi, A. M. S., Tiho, M., & Kaligis, S. H. M. (2018). Gambaran Kadar Glukosa Darah Sewaktu Pada Ibu Hamil Trimester III di Rumah Sakit Robret Wolter Mongisidi Manado. *Jurnal Medik Dan Rehabilitasi (JMR)*, 1(2), 1-4.
- Elly, N., Indaryani, I., & Lasmadasari, N. (2021). Studi Prevalensi dan Faktor-Faktor yang Berpengaruh terhadap Status Defisiensi Vitamin D pada Ibu Hamil. *Jurnal Kebidanan Dan Keperawatan Aisyiyah*, 16(2), 206-216. <https://doi.org/10.31101/jkk.1902>
- Fiannisa, R. (2019). Vitamin D Sebagai Pencegahan Penyakit Degeneratif Hingga Keganasan. *Medula*, 9(3), 385-392.
- Handayani, S., & Nurjanah, S. (2021). Hubungan Indeks Massa Tubuh Dengan Kejadian Preeklamsia Pada Ibu Hamil Di Rsud Trikora Salakan. *Jurnal Kebidanan*, 13(02), 212. <https://doi.org/10.35872/jurkeb.v13i02.469>
- Ji, J., Muyayalo, K. P., Zhang, Y., Hu, X., & Liao, A. (2017). Immunological function of vitamin D during human pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 78(2), e12716. <https://doi.org/10.1111/aji.12716>
- Kemenkes. (2020). Health Information Systems. *Profil Kesehatan Indonesia*, 48(1), 6-11. <https://doi.org/10.1524/itit.2006.48.1.6>
- Miliku, K., Vinkhuyzen, A., Blanken, L. M. E., McGrath, J. J., Eyles, D. W., Burne, T. H., Hofman, A., Tiemeier, H., Steegers, E. A. P., & Gaillard, R. (2016). Maternal vitamin D concentrations during pregnancy, fetal growth patterns, and risks of adverse birth outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 103(6), 1514-1522.
- Rafat, D., & Ahmad, J. (2017). HbA1c in pregnancy. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 6(1), 59-64. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2012.05.010>
- Safarpour, P., Daneshi-Maskooni, M., Vafa, M., Nourbakhsh, M., Janani, L., Maddah, M., Amiri, F.-S., Mohammadi, F., & Sadeghi, H. (2020). Vitamin D supplementation improves SIRT1, Irisin, and glucose indices in overweight or obese type 2 diabetic patients: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *BMC Family Practice*, 21(26), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12875-020-1096-3>
- Salakos, E., Rabeony, T., Courbebaisse, M., Taieb, J., Tsatsaris, V., Guibourdenche, J., Senat, M. V., Haidar, H., Jani, J. C., Barglazan, D., Maisonneuve, E., Haguët, M. C., Winer, N., Masson, D., Elie, C., Souberbielle, J. C., & Benachi, A. (2021). Relationship between vitamin D

status in the first trimester of pregnancy and gestational diabetes mellitus - A nested case-control study. *Clinical Nutrition*, 40(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.028>

Susanti, A. M., & Purnamasari, W. (2022). Analisis Kadar Glukosa pada Ibu Hamil di Rumah Sakit ST. Khadijah Kota Makassar. *J-HEST Journal of Health Education Economics Science and Technology*, 3(1), 33-37. <https://doi.org/10.36339/jhest.v3i1.46>

Yoon, H. K. (2017). Gestational diabetes mellitus, fetal growth and vitamin D. *Journal of Bone Metabolism*, 24(3), 155-159. <https://doi.org/10.11005/jbm.2017.24.3.155>

IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH PADA PASIEN DI LABORATORIUM KLINIK PRODIA BLITAR

Ratna megawati¹ · Didik Prasetya^{2*} · Anak Agung Sri Sanjiwani³

¹ Laboratorium Klinik Prodia Blitar, Jawa Timur, Indonesia

² Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Diploma Tiga STIKes Wira Medika Bali, Indonesia

³ Program Studi Keperawatan, Program Sarjana, STIKes Wira Medika Bali, Indonesia

e-Mail: ddprasetya@stikeswiramedika.ac.id

No Tlp WA: 085333147594

Abstract

The main cause of urinary tract infection (UTI) is the presence of microorganisms in the urinary tract, including the bladder, prostate, kidneys. The urinary tract that can be infected is the urethra, ureter bladder, kidney tissue, prostate gland, nephron, kidney inflammation. It is declared as a urinary tract infection if the number of bacteria > 100,000 / mL of urine is found, with urine sampling in the middle portion. The purpose of this study was to determine the bacteria causing UTI in urine samples of patients with a diagnosis of UTI who underwent examination at Prodia Blitar Clinical Laboratory. The research method used in this study was descriptive analytic with a cross sectional approach, the number of respondents was 56 respondents. Data collected using urine samples then urine culture, Gram staining, and bacterial identification using the Vitek tool. Based on the results of the research conducted, the most common cause of UTI is Escherichia coli bacteria (60%), then Klebsiella pneumoniae bacteria (16%), Enterococcus faecalis (7%), Pseudomonas aeruginosa (5%), then Pseudomonas putida, Acinetobacter baumannii, Shigella sp., Staphylococcus aureus, and Proteus mirabilis which each have a percentage of 2%. The identified bacteria will then be examined for antibiotic sensitivity tests.

Keywords: Urinary Tract Infection, Bacteria, Microorganisms

Abstrak

Penyebab utama Infeksi saluran kemih (ISK) adalah adanya mikroorganisme pada saluran kemih, termasuk kandung kemih, prostat, ginjal. Saluran kemih yang bisa terinfeksi adalah urethra, kandung kemih ureter, jaringan ginjal, kelenjar prostat, nefron, peradangan ginjal. Dinyatakan sebagai infeksi saluran kemih apabila ditemukan jumlah bakteri > 100.000/mL urine, dengan pengambilan sampel urine porsi tengah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bakteri penyebab ISK pada sampel urin pasien dengan diagnosis ISK yang melakukan pemeriksaan di Laboratorium Klinik Prodia Blitar. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan cross sectional, jumlah responden sebanyak 56 responden. Data yang dikumpulkan menggunakan sample urin kemudian dilakukan kultur urin, pewarnaan Gram, serta identifikasi bakteri menggunakan alat Vitek. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan penyebab ISK terbanyak yaitu bakteri *Escherichia coli* (60%), kemudian bakteri *Klebsiella pneumoniae* (16%), *Enterococcus faecalis* (7%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), kemudian bakteri *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii*, *Shigella* sp., *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus mirabilis* yang masing - masing memiliki persentase 2%. Bakteri yang teridentifikasi selanjutnya akan dilakukan pemeriksaan uji sensitifitas antibiotik.

Kata kunci: Infeksi Saluran Kemih, Bakteri, Mikroorganisme

PENDAHULUAN

World Health Organization (2013) menyatakan bahwa terdapat sebanyak 25 juta kematian diseluruh dunia, sepertiganya disebabkan oleh penyakit ISK. Sedangkan menurut (Kemenkes RI, 2018) jumlah penderita ISK di Indonesia masih cukup banyak, mencapai 90-100 kasus per 100.000 penduduk pertahunnya atau sekitar 180.000 kasus baru pertahun. Kejadian ISK di wilayah Jawa Timur jumlah kasus ISK mencapai 3-4 kasus per 100.000 penduduk per tahun.

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan keadaan patologis yang sering di jumpai dan ditandai dengan hasil mikroskopis atau sedimen urine menunjukkan nitrit, leukosit dan bakteri positif (Haryanto *et al.*, 2019). Infeksi saluran kemih adalah peradangan nonspesifik yang berkembang di ginjal, ureter, kandung kemih atau uretra, yang pada sebagian besar kasus disebabkan oleh infeksi oleh bakteri usus. Seringkali, bakteri masuk melalui lubang uretra eksternal, naik ke saluran kemih, dan menyebabkan infeksi pada kandung kemih atau ginjal (Sari & Muhartono, 2018). Pemeriksaan kultur urin penting untuk memastikan diagnosis infeksi saluran kemih. Pasien dikatakan positif mengidap infeksi saluran kemih apabila jumlah bakteri dalam urin $> 10^5$ CFU/ml (Wijaya & Purbowati, 2022)

Penyakit ISK dapat menginfeksi pasien dari segala usia mulai bayi baru lahir hingga orang tua. ISK pada anak dapat diakibatkan karena tidak disirkumsisi, kebiasaan membersihkan genetalia yang kurang baik, menggunakan popok sekali pakai dengan frekuensi penggantian popok sekali pakai ≤ 4 kali/hari dan durasi penggunaan popok yang lama serta kebiasaan menahan buang air kecil (BAK). Sedangkan kejadian ISK pada orang tua dikarenakan peningkatan usia seseorang berbanding lurus dengan kemungkinan terkena ISK, hal tersebut terkait dengan fungsi kelenjar prostat pada pria dan degenerasi fungsi esterogen pada wanita menopause (Mangiri *et al.*, 2020)

ISK disebabkan oleh berbagai macam bakteri diantaranya *Escherechia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Providensia*, *Citrobacter*, *P.aeruginosa*,

Acinetobacter, *Enterococcus faecali*, dan *Staphylococcus saprophyticus* namun, sekitar 90% ISK secara umum disebabkan oleh *E.coli* (Sari & Muhartono, 2018).

Enterobacteriaceae (termasuk *Escherichia coli*) dan *Enterococcus faecalis* merupakan agen utama yang menyebabkan 95% ISK. *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* merupakan kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamases*) yang paling banyak ditemui. Pada penelitian sebelumnya Yashir & Apriani (2019) menyatakan bakteri yang teridentifikasi pada sampel urine penderita ISK adalah *Escherichia coli* (31%), *Klebsiella pneumoniae* (24%), dan *Enterococcus faecalis* (9%).

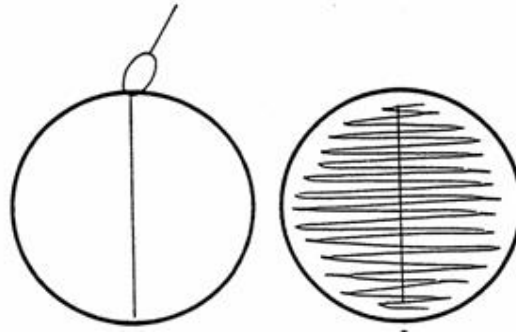
Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies bakteri penyebab infeksi saluran kemih pada pasien di laboratorium klinik Prodia Blitar Jawa Timur.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode deskriptif analitik dengan pendekatan cross sectional, dengan melakukan pengumpulan data sekaligus dalam sekali waktu. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia Blitar. Populasi penelitian ini adalah pasien yang didiagnosa ISK yang melakukan pemeriksaan kultur urin pada bulan Januari - Desember 2022 sebanyak 43 responden. Pengumpulan sampel menggunakan teknik total sampling yaitu dengan melakukan pemeriksaan kultur urin pada semua sampel urin di Laboratorium Klinik Prodia Blitar. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan STIKes Wira Medika Bali (Keterangan layak etik nomor 16/E1.STIKESWIK/EC/I/2023).

Pengambilan sampel diambil dengan cara menampung urine midstream, dan spesimen urine harus diantar ke laboratorium dalam 30 menit. Langkah selanjutnya adalah inokulasi spesimen pada media Chromagar dengan cara menghomogenkan spesimen urine, buka tutup pot urine dan dengan menggunakan calibrated loop steril 1 μ l (0.001 ml) celupkan secara vertical (pencelupan calibrated loop dilakukan sampai batas tertentu), kemudian

dikeluarkan dengan arah vertical juga. Inokulasikan urin pada media Chromagar Orientation secara aseptis dengan calibrated loop 1 µl dengan cara membuat garis tengah pada media Chromagar Orientation dari atas hingga bawah lalu goreskan urine secara merata dari bagian atas media pada seluruh permukaan agar, kemudian inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.



Gambar 1. Cara inokulasi sampel urine pada media Chromagar Orientation
(Sumber : IKA Kultur Urin - Prodia, 2021)

Pengamatan hasil dilakukan pada media Chromeagar Orientatation jika terdapat pertumbuhan kuman maka dilakukan hitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar dan dilakukan pengecatan gram terhadap koloni tersangka. Kemudian dilakukan inokulasi kuman tersangka pada media agar darah atau Mac Conkey, dan inkubasi ipada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Pengamatan terhadap koloni yang tumbuh dengan melakukan identifikasi pada koloni tersangka pada media Mac Conkey. Mengacu pada hasil pengecatan gram, langkah selanjutnya yaitu dengan menggunakan kartu identifikasi Gram Positif (GP) dan Kartu Gram Negatif (GN) dan dilanjutkan dengan penggunaan alat Vitek.

HASIL

Karakteristik Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodia Blitar terhadap sampel urin pasien yang melakukan pemeriksaan laboratorium di Prodia sebanyak 43 responden total yang diambil. Data yang

diperoleh merupakan data sekunder dari Laboratorium Klinik Prodia dan melalui persetujuan untuk dapat diambil sebagai responden dan sampel terkait pemeriksaan urin kultur.

Tabel 1. Karakteristik Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Karakteristik responden	Kategori	Jumlah	Presentase (%)
Jenis kelamin	Laki - laki	18	42
	Perempuan	25	58

Jumlah responden pada tabel 1 penelitian ini sebanyak 43 orang dengan frekuensi 18 orang (42%) berjenis kelamin laki - laki, serta 25 orang (58%) berjenis kelamin perempuan. Dilihat dari hasil penelitian ini, responden perempuan yang lebih banyak daripada laki - laki.

Karakteristik Responden berdasarkan usia

Tabel 2. Karakteristik Responden Berdasarkan Usia

Usia	Kategori	Jumlah	%
0 - 4	Balita	4	9
5 - 11	Kanak Kanak	0	0
12 - 16	Remaja awal	0	0
17 - 25	Remaja Akhir	4	9
26 - 35	Dewasa Awal	4	9
36 - 45	Dewasa Akhir	8	19
46 - 54	Lansia awal	6	14
55 - 64	Lansia akhir	5	12
> 65	Manula	12	28
Jumlah akhir		43	100

Pada tabel 2, diketahui bahwa dari 43 responden yang menunjukkan hasil pada kultur urin didapatkan mayoritas responden berusia > 65 tahun atau golongan manula sebanyak 12 responden (28%). Terdapat masing - masing responden yang usia 0 - 4 tahun (balita) sebanyak 4 responden (9%), usia 17 - 25 tahun (remaja akhir) sebanyak 4 responden (9%), usia 26 - 35 tahun (dewasa awal) sebanyak 4 responden (9%), usia 36 - 45 tahun sebanyak 8 responden (19%), usia 46 - 54 tahun sebanyak 6 responden (14%), dan usia

55 - 64 tahun sebanyak 5 responden (12%).

Identifikasi bakteri

Hasil identifikasi koloni dari kultur urine yang telah dilakukan mendapatkan isolate bakteri yang disajikan pada tabel 3. Adapun hasil dari bakteri yang diidentifikasi menunjukkan bahwa bakteri penyebab ISK bisa disebabkan oleh bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif. Terdapat bakteri yang paling banyak ditemukan yaitu bakteri dengan sifat Gram negatif.

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri kultur urin

No	Spesies bakteri	Jumlah	Persentase (%)
1	<i>Escherichia coli</i>	26	60
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	16
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	5
4	<i>Pseudomonas putida</i>	1	2
5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	2
6	<i>Shigella sp.</i>	1	2
7	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	2
8	<i>Proteus mirabilis</i>	1	2
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	3	7
Total		43	100

DISKUSI

Dilihat dari hasil penelitian ini, responden yang diduga terinfeksi ISK jumlah perempuan yang lebih banyak daripada laki - laki. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian (Yashir & Apriani, 2019) dengan total 33 pasien ISK didapatkan 17 pasien perempuan (52%) terinfeksi ISK. Dilihat dari banyaknya perempuan yang rentan terkena ISK, ini disebabkan secara anatomis dan fisiologis uretra perempuan lebih pendek dan terletak lebih dekat dengan anus. Uretra perempuan memiliki panjang sekitar 4 cmdan terletak di dekat anus. Hal ini menjadikannya lebih rentan untuk terkena kolonisasi bakteri basil gram negatif. Karenanya, perempuan lebih rentan terkena ISK. Berbeda

dengan laki-laki yang struktur uretranya lebih panjang dan memiliki kelenjar prostat yang sekretnya mampu melawan bakteri (Triyani *et al.*, 2023)

Berdasarkan epidemiologi, ISK terjadi paling sering disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan usia yang sering terinfeksi ISK adalah usia 50 tahun keatas. Pada laki-laki, infeksi saluran kemih disebabkan oleh beberapa faktor, seperti pembesaran kelenjar prostat, batu ginjal, diabetes, penggunaan kateter atau selang kencing, dan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Faktor lainnya adalah kebersihan diri, baik kebersihan pada organ vital maupun kebersihan diri akan mempermudah terjadinya infeksi saluran kemih. Dikarenakan bakteri patogen saluran kemih berasal dari rektum dan vagina sehingga ketika kebersihan diri terjaga dengan baik akan menyebabkan bakteri patogen tidak dapat menetap dan berkolonisasi pada saluran kemih. Faktor lainnya adalah individu yang memiliki kebiasaan menahan buang air kecil akan mengganggu fungsi pertahanan tubuh pada saluran kemih dalam melawan infeksi yaitu akan terganggunya fungsi pengeluaran urin yang merupakan mekanisme untuk mengeluarkan mikroorganisme secara alami. Kebiasaan menahan buang air kecil juga akan menyebabkan stasis urin dan menyebabkan infeksi saluran kemih (Sari & Muhartono, 2018)

Berdasarkan hasil identifikasi, dari 43 sampel urin yang diperiksa menunjukkan adanya pertumbuhan koloni (jumlah koloni $>10^5$ cfu/ml porsi tengah). Telah teridentifikasi 9 jenis spesies bakteri dari hasil kultur urin pasien ISK. Sebagian besar adalah bakteri Gram negatif (7 jenis), dan sisanya adalah bakteri Gram positif (2 jenis). Pada tabel diatas dapat disimpulkan bahwa persentase bakteri penyebab ISK terbanyak yaitu bakteri *Escherichia coli* (60%), *Klebsiella pneumoniae* (16%), *Enterococcus faecalis* (7%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), kemudian bakteri *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus mirabilis* yang masing - masing memiliki persentase 2%.

Pemeriksaan sampel yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme. Dari sampel yang diperiksa tersebut ditemukan bahwa *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme terbanyak

penyebab ISK. Sebagai jenis bakteri penyebab ISK, lebih dari 90% ISK tanpa komplikasi disebabkan infeksi *Escherichia coli*, tingkat kekambuhan setelah terinfeksi *Escherichia coli* pertama adalah 44% selama 12 bulan. *Uropathogenic Escherichia coli* (UPEC) adalah agen penyebab sebagian besar ISK, termasuk sistitis dan pielonefritis, dan komplikasi infeksi yang dapat menyebabkan gagal ginjal akut pada individu sehat serta pada pasien transplantasi ginjal (Yashir & Apriani, 2019). Hasil diatas didukung oleh penelitian Skrzat-Klapaczyńska *et al*, (2018) yang menyatakan bahwa ISK adalah infeksi yang paling sering didapat di masyarakat dunia dan patogen yang paling umum adalah *Escherichia coli*.

Brooks *et al*, (2013) dalam bukunya menyatakan bahwa *Escherichia coli* adalah mikroorganisme yang biasa ditemukan secara alami di saluran pencernaan. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk berkembang dengan cepat baik dalam lingkungan aerob maupun anaerob. Sebagian besar Kejadian ISK disebabkan oleh infeksi yang terjadi ketika bakteri memasuki saluran kemih melalui uretra, kemudian mengalami multiplikasi dan berikatan di dalam kandung kemih, selanjutnya bakteri akan masuk ke ginjal (Basuki *et al.*, 2021). *Escherichia coli* memiliki strain uropatogen yang memicu timbulnya ISK. Strain uropatogen ini memiliki elemen pengikat yang dikenal sebagai P fimbriae atau pili, yang berinteraksi dengan P blood group antigen. Pili tersebut berfungsi sebagai mediator dalam proses adherensi *Escherichia coli* pada sel uroepitel. Pasien yang terdapat *Escherichia coli* dengan P fimbriae memiliki risiko lebih tinggi terinfeksi ISK (Nur *et al.*, 2022). Gambaran bakteri pada hasil penelitian ini sejalan dengan bakteri hasil penelitian yang dilakukan di Ethiopia bahwa bakteri penyebab ISK terbanyak adalah *Escherichia coli*. Mikroorganisme yang paling sering ditemukan dari pasien ISK asimtomatik maupun simtomatik adalah *Escherichia coli* (Brooks *et al.*, 2013)

Pada penelitian ini ISK yang disebabkan oleh *Klebsiella sp* sebanyak 7 pasien (16%). *Klebsiella* yang paling banyak menyebabkan ISK adalah *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella pneumoniae* mempunyai pili tipe 1 yang digunakan dalam pembentukan biofilm dan kolonisasi di kandung kemih. Pili

tersebut yang memediasi adhesi pada permukaan inang dan lingkungan, membantu proses invasi ke dalam jaringan inang dan mendorong interaksi antibakteri untuk membentuk biofilm (Bravo *et al.*, 2015)

Bakteri lain penyebab ISK adalah *Shigella* sp yaitu sebanyak 1 pasien (2%). Bakteri ini dapat meningkat pada penderita diabetes (Canada Environment and Climate Change Canada Health, 2018). Menurut Chen *et al.* (2019) *Shigella* sp dapat menghasilkan fimbriae tipe 1. Produksi fimbriae mengakibatkan peningkatan 50 kali lipat dalam kemampuan bakteri untuk melekat dan menyerang sel-sel epitel. Bakteri yang melekat pada sel epitel pada kandung kemih dapat menyebabkan ISK. Pada penelitian ini persentase penyebab ISK yang disebabkan oleh *Shigella* sp memiliki persentase lebih sedikit dibandingkan penelitian yang dilakukan di Manado pada tahun 2014 oleh (Chandra *et al.*, 2014)

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan penyebab ISK terbanyak yaitu bakteri *Escherichia coli* (60%), kemudian diikuti oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* (16%), *Enterococcus faecalis* (7%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), kemudian bakteri *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii*, *Shigella* sp., *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus mirabilis* yang masing - masing memiliki persentase 2%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Klinik Prodia Blitar, Provinsi Jawa timur

KONFLIK KEPENTINGAN

Penelitian ini tidak memiliki konflik kepentingan

REFRENSI

- Basuki, H. A., Samsul, E., & Rusli, R. (2021). Jurnal Sains dan Kesehatan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(1), 242-247.
- Bravo, V., Puhar, A., Sansonetti, P., Parsot, C., & Toro, C. S. (2015). Distinct Mutations Led to Inactivation of Type 1 Fimbriae Expression in *Shigella* spp. *PLoS ONE*.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2013). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* (26th ed.). Mc graw Hill Medical.
- Canada Environment and Climate Change Canada Health. (2018). *Final Screening Assessment of Enterobacter aerogenes strain ATCC 13048*. March, 1-54.
- Chandra, M. P., Waworuntu, O., & Buntuan, V. (2014). Pola Bakteri Pada Urin Pasien Yang Menggunakan Kateter Uretra Di Ruang Perawatan Intensif Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 2(2), 501-508. <https://doi.org/10.35790/ebm.2.2.2014.5048>
- Chen, J., Zhao, J., Cao, Y., Zhang, G., Chen, Y., Zhong, J., Huang, W., Zeng, J., & Wu, P. (2019). Relationship between alterations of urinary microbiota and cultured negative lower urinary tract symptoms in female type 2 diabetes patients. *BMC Urology*, 19(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12894-019-0506-0>
- Haryanto, E., Pestariati, Handayati, A., & Astuti, S. S. E. (2019). Pengaruh Penyimpanan Urine Terhadap Jumlah Leukosit Dan Eritrosit Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih Dengan Metode Sy (Standard Yeild). *JURNAL PENELITIAN KESEHATAN*, 13(1), 39-44.
- Kemendes RI. (2018). Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2017. In *Kementerian Kesehatan RI*. Kementerian Kesehatan RI Indonesia. <https://doi.org/10.3997/2214-4609.201409363>
- Mangiri, N. V., Muzuni, & Syarif, S. (2020). Deteksi Bakteri E.Coli Dan Enterotoxigenic (Etec) Pada Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (Isk) Dengan Metode Multiplex Pcr Di Rs Bhayangkara Kendari. *MediLab Mandala Waluya*, 3(2).
- Nur, Z., Mardhia, M., & Mahyarudin. (2022). Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih Pada Urin Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Majalah Kedokteran Andalas*, 45(2), 173-184. <http://jurnalmka.fk.unand.ac.id>
- Sari, R. P., & Muhartono. (2018). Angka Kejadian Infeksi Saluran Kemih (ISK) dan Faktor Resiko Yang Mempengaruhi Pada Karyawan Wanita di Universitas Lampung Rani. *Majority*, 7(3), 115-120.
- Skrzat-Klapaczyńska, A., Matłoz, B., Bednarska, A., Paciorek, M., Firląg-Burkacka, E., Horban, A., & Kowalska, J. D. (2018). Factors associated with urinary tract infections among HIV-1 infected patients. *PLoS ONE*, 13(1), 1-

10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190564>
- Triyani, N. N., Arsana, I. N., & Sudaryati, N. luh G. (2023). Infeksi Saluran Kemih Pada Pasien Diabetes Melitus. *Jurnal Widya Biologi*, 13, 64-70. <https://doi.org/10.32795/widyabiologi.v13i02.3565>
- Wijaya, I. G. H. A., & Purbowati, R. (2022). *Identifikasi Pola Bakteri Pada Urine Pengguna Kateter Dengan Infeksi Saluran Kemih Di Rsud Dr. Soetomo Surabaya*. 5(3), 244-254.
- World Health Organization. (2013). World Health Statistics 2013. In *The World Health Organization*. World Health Organization.
- Yashir, M., & Apriani. (2019). Variasi Bakteri Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih (Isk). *Jurnal Media Kesehatan*, 12(2), 102-109. <https://doi.org/10.33088/jmk.v12i2.441>
-

FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KANDUNGAN NIKOTIN DALAM URINE PADA PEROKOK AKTIF

Andyanita Hanif Hermawati^{1*} · Qurrotu A'yunin Lathifah²

¹D3 Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Hutama Abdi Husada Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia

e-Mail: andya.nita@yahoo.com

No Tlp WA : 087846262781

Abstract

The chemical content in cigarettes consists of several groups, one of which is the alkaloid group. The source of alkaloid chemicals in cigarettes is tobacco leaves. The alkaloid compound found in tobacco leaves is nicotine. The aim of this study was to analyze the factors that influence the nicotine content in the urine of active smokers. The sample in this study were active smokers, both cigarette and vapor smokers in the Tulungagung sub-district. The data obtained from this research was analyzed descriptively. The nicotine content in the urine of active smokers was checked using the Immunochromatography Assay method. The results showed that the majority of respondents who tested positive for nicotine were aged 22-25 years (60%), had consumed cigarettes for 3-5 years (65%), consumed 8-15 cigarettes per day (70%), and consumed liquid cigarettes. vapor >3 ml per day (60%). The conclusion of this study is that the nicotine content in urine can be influenced by factors such as age, length of smoking, amount of cigarette consumption, and use of liquid.

Keywords : (3 sampai 5 kata, font Trebuchet MS uk. 10)

Abstrak

Kandungan zat kimia dalam rokok terdiri dari beberapa golongan, salah satunya adalah golongan alkaloid. Sumber zat kimia golongan alkaloid dalam rokok adalah daun tembakau. Senyawa alkaloid yang terdapat pada daun tembakau adalah nikotin. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan nikotin dalam urine perokok aktif. Sampel dalam penelitian ini adalah perokok aktif, baik perokok sigaret ataupun vapor di kecamatan Tulungagung. Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif. Kandungan nikotin dalam urine perokok aktif diperiksa menggunakan metode *Immunochromatography Assay*. Hasil penelitian menunjukkan mayoritas responden yang positif nikotin berusia 22-25 tahun (60%), telah mengonsumsi rokok selama 3-5 tahun (65%), mengonsumsi rokok sigaret sebanyak 8-15 batang per hari (70%), dan mengonsumsi liquid rokok vapor >3 ml per hari (60%). Kesimpulan dari penelitian ini adalah kandungan nikotin dalam urine dapat dipengaruhi oleh faktor usia, lama merokok, jumlah konsumsi rokok, dan penggunaan liquid.

Kata Kunci : nikotin, rokok sigaret, rokok vapor

PENDAHULUAN

Rokok merupakan salah satu produk tembakau yang dimaksudkan untuk dibakar, dihisap dan dihirup asapnya. Perokok aktif adalah orang yang mengonsumsi rokok secara langsung baik rutin atau tidak rutin walaupun hanya 1 batang dalam sehari. Paparan asap rokok dapat menurunkan kualitas hidup seseorang karena asap rokok mengandung 4.000 bahan kimia seperti *Carbon Monoksida (CO)*, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*, Tar, dan Nikotin. Nikotin dapat menimbulkan ketagihan baik pada perokok aktif maupun pasif (Lathifah et al., 2020). Nikotin murni termasuk zat yang berbahaya bagi manusia. Pada kadar rendah nikotin bersifat membius. Nikotin dengan cepat masuk ke dalam otak pada saat seseorang merokok (Muslimin, 2017).

Nikotin merupakan salah satu zat yang terkandung dalam rokok, baik rokok sigaret maupun rokok elektrik yang memegang peranan penting dalam memberikan efek candu bagi penggunanya. Salah satu hasil dari metabolisme nikotin yang dapat ditemukan pada urine adalah kotinin (*cotinine*) (BPOM, 2017). Konsentrasi kotinin di dalam urine cukup tinggi antara 10-15% (Razak, 2017). Secara kualitatif *cotinine* dalam urine dapat dideteksi menggunakan immunochromatography assay (Achilihu et al., 2019).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Manan (2019), dengan jumlah 314 responden yang terdiri dari 171 (54,5%) laki-laki dan 143 (45,5%) perempuan. Sebesar 10,8% dari jumlah responden tersebut positif nikotin dan hasil itu hanya ditemukan pada responden laki-laki, 8% dari responden telah merokok di 7 hari sebelumnya. Pemeriksaan nikotin pada penelitian tersebut menggunakan alat *cotinine strip tes*.

Mual dan muntah adalah gejala yang paling umum dari keracunan nikotin akut. Dosis yang berlebihan akan menyebabkan tremor, diikuti oleh kejang. Dosis minimum acute lethal oral yang tidak dapat ditoleransi manusia diperkirakan sekitar 0,5-0,75 mg per kg berat badan, pada orang dewasa rata-rata sekitar 40-60 mg. Nikotin telah terbukti memiliki efek buruk pada proses

reproduksi, berat badan janin dan perkembangan janin (BPOM, 2017).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan nikotin pada urine perokok aktif

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian melibatkan urine dan strip test cotinine sebagai instrumen analisis. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh perokok sigaret dan perokok vapor di kecamatan Tulungagung. Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian perokok sigaret dan perokok vapor di daerah kecamatan Tulungagung yang diambil dengan teknik purposive sampling. Adapun kriteria sampel dalam penelitian ini adalah perokok vapor yang menggunakan *device POD system* dan menggunakan jenis *liquid salt nic* serta perokok sigaret yang menggunakan satu merek rokok yang sama. Diperoleh 10 perokok sigaret dan 10 perokok vapor yang memenuhi kriteria tersebut.

Pemeriksaan nikotin dalam urine menggunakan metode *Immunochemistry Assay* dengan alat strip test cotinine yang akan mendeteksi keberadaan kotinin dalam urine sebagai biomarker pemeriksaan. Analisis dilakukan dengan pendekatan deskriptif untuk memahami faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan nikotin dalam urine perokok aktif di wilayah tersebut.

HASIL

1. Karakteristik Responden

Tabel 1. Tabel distribusi responden berdasarkan usia

Usia (tahun)	Frekuensi	Persentase (%)
18 - 21	8	40
22 - 25	12	60
Total	20	100

Berdasarkan tabel 1 didapatkan hasil distribusi usia perokok sigaret dan

perokok elektrik (vapor) di kecamatan Tulungagung kabupaten Tulungagung adalah, berusia 22-25 tahun berjumlah 12 orang (60%), dan usia 18-21 tahun berjumlah 8 orang (40%).

Tabel 2. Tabel distribusi responden berdasarkan lama merokok

Lama merokok (tahun)	Frekuensi	Persentase (%)
1 - 2	7	35
3 - 4	13	65
Total	20	100

Berdasarkan tabel 2 didapatkan hasil distribusi lama merokok pada perokok sigaret dan perokok elektrik (vapor) di kecamatan Tulungagung kabupaten Tulungagung adalah, 3-4 tahun berjumlah 13 orang (65%), dan 1-2 tahun berjumlah 7 orang (35%).

Tabel 3. Tabel distribusi responden berdasarkan konsumsi rokok per hari (untuk perokok sigaret)

Jumlah Rokok per hari (batang)	Frekuensi	Persentase (%)
1 - 7	3	30
8 - 14	7	70
Total	10	100

Berdasarkan tabel 3 didapatkan hasil distribusi konsumsi rokok per hari perokok sigaret di kecamatan Tulungagung kabupaten Tulungagung adalah, 8-14 batang rokok per hari berjumlah 7 orang (70%), dan 1-7 batang rokok per hari berjumlah 3 orang (30%).

Tabel 4. Tabel distribusi responden berdasarkan konsumsi liquid rokok vapor per hari (untuk perokok vapor)

Jumlah liquid (ml)	Frekuensi	Persentase (%)
< 3	4	40
> 3	6	60
Total	10	100

Berdasarkan tabel 4 didapatkan hasil distribusi Konsumsi liquid pada perokok elektrik (vapor) di kecamatan Tulungagung kabupaten Tulungagung adalah, > 3ml berjumlah 6 orang (60%), dan < 3ml berjumlah 4 orang (40%).

2. Hasil pemeriksaan *cotinine* urine perokok aktif

Tabel 5. Tabel hasil pemeriksaan *cotinine* urine perokok aktif

Hasil	Frekuensi	Persentase (%)
Positif	18	90
Negatif	2	10
Total	20	100

Berdasarkan tabel 5 didapatkan hasil positif *cotinine* sebanyak 18 orang (90%) dan negatif *cotinine* sebanyak 2 orang (10%).

DISKUSI

Mayoritas perokok sigaret maupun perokok elektrik (*Vapor*) di kecamatan Tulungagung kabupaten Tulungagung berusia 21-24 tahun sebanyak 12 orang (60%), yang mana masuk dalam kategori dewasa. Seseorang pada usia 21-24 adalah pada rentang masa bergaul yang lebih luas untuk mencari relasi baik dalam pendidikan maupun pekerjaan. Banyaknya relasi tersebut maka semakin banyak bertemu khalayak dengan berbagai karakter termasuk para perokok (Wijayanti et al., 2017). 65% responden telah melakukan kebiasaan merokok selama lebih dari 3 tahun. Merokok menjadi tren bagi remaja dan dewasa dengan berbagai alasan dengan dilandasi beberapa faktor, yaitu: pengaruh teman dimana seseorang yang memiliki teman-teman perokok, kemungkinan dia mengikuti menjadi perokok akan semakin besar. Selanjutnya adalah kepribadian dimana seseorang mulai merokok karena ada rasa penasaran dan keingintahuan, merokok untuk menghilangkan rasa stres dan kebosanan (Wijayanti et al., 2017). 70% responden mengkonsumsi 5-14 batang rokok dalam sehari. Jumlah tersebut termasuk dalam kategori perokok sedang. Seseorang yang mempunyai kebiasaan merokok sudah menjadi bagian dari kesehariannya

sehingga rasanya tidak enak bila sehari saja tidak merokok. Banyaknya rokok yang dikonsumsi tersebut juga akan berdampak pada kandungan rokok yang terhisap oleh tubuh, seperti nikotin (Villela, 2014). 60% responden mengkonsumsi lebih dari 3 ml liquid dalam sehari. pengguna rokok elektrik tetap berpotensi terhadap ketergantungan karena tabung dengan tegangan tinggi pada rokok elektrik dapat mengalirkan nikotin dalam jumlah yang besar ke dalam tubuh. Nikotin yang terkandung dalam liquid rokok elektrik (*Vapor*) dapat menyebabkan ketergantungan (Kusno, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan nikotin dalam urine perokok aktif meliputi usia, lama merokok, jumlah konsumsi rokok, dan penggunaan liquid. Peneliti selanjutnya dapat mengadakan penelitian untuk membandingkan kandungan nikotin dalam urine antara perokok sigaret dan perokok vapor menggunakan metode *colorimetric* atau ELISA. Harapannya adalah agar masyarakat dapat mengurangi kebiasaan merokok, baik sigaret maupun vapor, sebagai upaya meningkatkan kesehatan dan kualitas hidup mereka.

REFRENSI

- Achilihu, H., Feng, J., Wang, L., & Bernert, J. T. (2019). Tobacco Use Classification by Inexpensive Urinary Cotinine Immunoassay Test Strips. *J Anal Toxicol*, 43(2), 149-153. <https://doi.org/10.1093/jat/bky075>.
- BPOM. (2017). *Kajian Rokok Elektronik di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Narkotika, Psikotropika dan Zat Adiktif.
- Kusno, G. M. I. (2017). *Hubungan Perilaku Merokok dan Vaping Terhadap Kejadian Gejala Depresi Pada Pelajar SLTA di Provinsi Banten*. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Lathifah, Q. A., Hermawati, A. H., & Putri, A. Y. (2020). Gambaran Nikotin Pada Perokok Pasif Di Kabupaten Tulungagung. *Borneo Journal of Medical*

Laboratory Technology, 3(1), 178-183.
<https://doi.org/DOI:10.33084/bjmlt.v3i1.1594>

- Manan. (2019). Self-reported Smoking Among Adolescents: How Accurate Is It With The Urine Cotinine Strip Test. *International Journal Of Pediatrics And Adolescents Medicine*. Vol. 1
- Muslimin, W. . (2017). *Pengaruh Nikotin Rokok Terhadap Kadar Nikotin Urine pada Perokok Aktif Mahasiswa Angkatan 2015 Fakultas Hukum Universitas Hasanuddin Tahun 2017*. Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Razak, D. S. (2017). Dampak Nikotin Pada Ibu Hamil Terhadap Berat Badan Bayi Baru Lahir. In *KTI*. Progam Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makasar.
- Sharma, P., Sane, N., Anand, S. D., Marimuttu, P., & Benegal, V. (2019). Assessment of cotinine in urine and saliva of smokers, passive smokers, and nonsmokers: Method validation using liquid chromatography and mass spectrometry. *Indian Journal of Psychiatry*, 61(3).
https://doi.org/10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry_61_18
- Villela. (2014). Hubungan Role Model Ayah dan Teman Sebaya Perokok terhadap Perilaku Merokok pada Remaja. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699.
- Wijayanti, E., Dewi, C., & Rifqatussa'adah. (2017). Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Merokok pada Remaja Kampung Bojong Rawalele. *Global Medical & Health Communication*, 5(3), 194-198.
<https://doi.org/10.29313/gmhc.v5i3.2298>
-

DESAIN PRIMER DAN PROBE MELALUI PENDEKATAN BIOINFORMATIKA UNTUK DETEKSI GEN GAG HIV-1 MENGGUNAKAN qRT-PCR

Asryadin^{1*} · Nur Aini Hidayah Khasanah² · Nilasari Indah Yuniati³

¹Program Studi D4 TLM, STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia
e-Mail: asryadin@stikesbch.ac.id
No Tlp WA : 085338179323

Abstract

Testing for HIV viral load confirmation using qRT-PCR is a test that must be carried out for therapy monitoring. Developing a qRT-PCR-based HIV detection method targeting conserved gene sequences in HIV-1, such as the HIV-1 Gag gene, could be an alternative to developing molecular-based detection methods. This study aims to design primers and probes of the HIV-1 Gag gene suitable for qRT-PCR through a bioinformatics technique. The HIV-1 Gag gene sequence was downloaded from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) nucleotide database GenPeptd (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Next, quality and homology tests were carried out on the primer pair sequences and the HIV-1 Gag gene probe. Based on the research results, a primer pair sequence for the HIV-1 Gag gene was obtained that met the requirements, namely 5'-GACATCAAGCAGCCATGC-3' (forward) and 3'-CCAATCCAGGACGTACGTG 5' (reverse), with the probe sequence 5'-GGAAGCTGCAGAATGGGACAG-3'. The primer sequence has a length of 18 bases (forward), 19 bases (reverse), and 21 bases (probe) with a primary GC content of 57% (reverse), 55% (forward), and probe (57%). The melting temperature (T_m) of the primers was 59°C (forward), 61°C (reverse), and 66°C (probe). No hairpin loops and dimers were formed both in primers and probes, and the gag gene had 100% homology with HIV-1. It can be concluded that the primer and probe pair sequences meet the requirements and can be used to amplify the HIV-1 Gag gene using qRT-PCR.

Keywords : bioinformatics, Gag HIV-1, primer, probe, qRT-PCR

Abstrak

Pemeriksaan konfirmasi viral load HIV dengan qRT-PCR merupakan pemeriksaan yang wajib dilakukan untuk monitoring terapi. Pengembangan metode deteksi HIV berbasis qRT-PCR dengan target sekuen gen lestari pada HIV-1, seperti gen Gag HIV-1 dapat menjadi alternatif pengembangan metode deteksi berbasis molekuler. Penelitian ini bertujuan merancang desain primer dan probe gen Gag HIV-1 yang sesuai untuk qRT-PCR melalui pendekatan bioinformatika. Sekuen gen Gag HIV-1 diunduh dari National Center for Biotechnology Information (NCBI) nucleotide database GenPeptd (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Selanjutnya dilakukan uji kualitas dan uji homologi terhadap sekuen pasangan primer dan probe gen Gag HIV-1. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh sekuen pasangan primer gen Gag HIV-1 yang memenuhi persyaratan, yaitu 5'-GACATCAAGCAGCCATGC-3' (*forward*) dan 3'-CCAATCCAGGACGTACGTG -5' (*reverse*), dengan sekuen probe 5'-GGAAGCTGCAGAATGGGACAG-3'. Sekuen primer memiliki panjang 18 basa (*forward*) dan 19 basa (*reverse*) dengan GC content primer 57% (*reverse*), 55% (*forward*) dan 57% (*probe*), suhu leleh (T_m) primer sebesar 59°C (*forward*), 61°C (*reverse*) dan 66°C (*probe*), tidak terbentuk *hairpin loop* dan dimer pada pasangan primer maupun probe, dan gen *gag* memiliki homologi 100% dengan HIV-1. Dapat disimpulkan bahwa sekuen pasangan primer dan probe memenuhi persyaratan dan dapat digunakan pada amplifikasi gen Gag HIV-1 menggunakan qRT-PCR.

Kata Kunci : bioinformatika, Gag HIV-1, primer, probe, qRT-PCR

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah virus dengan materi genetik RNA yang menyerang sistem kekebalan tubuh. HIV merupakan agen penyebab utama terjadinya *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS) setelah lima hingga sepuluh tahun atau lebih terinfeksi HIV. HIV dapat dibedakan atas tipe 1 dan tipe 2. Material genetik HIV-1 berupa dua buah positif *single-strand* RNA pengkode 3 poliprotein utama yaitu Gag (antigen spesifik kelompok), Pol (polymerase) dan Env (envelope), dua protein pengatur Tat (transaktivator transkripsi) dan Rev (pengatur ekspresi virion) serta empat protein tambahan yaitu Vif (faktor infektivitas virion), Vpu (protein virus u), Vpr (protein virus r) dan Nef (faktor regulasi negatif). Gag berperan penting dalam replikasi HIV-1, terutama selama perakitan dan pelepasan partikel infeksi (Marie and Gordon, 2022).

Kasus HIV-1 banyak ditemukan di seluruh dunia, sedangkan HIV-2 lebih umum ditemukan di daerah endemis Afrika Barat. HIV-1 memiliki 9 subtipe, yaitu subtipe A, B, C, D, F, G, H, J, K. Dalam kasus tertentu, 2 virus dengan subtipe berbeda dapat ditemukan di sel tubuh orang yang terinfeksi dan kedua material genetik tersebut akan bercampur membentuk virus hibrida baru (Wibowo, Setiawaty and Salwati, 2011). Penegakan diagnosa yang tepat serta pemberian terapi pengobatan yang adekuat pada pasien terinfeksi sangat penting dilakukan.

Gold standard skrining awal penegakan diagnosa HIV di Indonesia dilakukan menggunakan *rapid test antibody*, namun pemeriksaan konfirmasi *viral load* HIV dengan qRT-PCR merupakan pemeriksaan yang wajib dilakukan untuk monitoring terapi. Pada pengujian dengan PCR, sebagian besar deteksi menargetkan sekuen gen Gag HIV-1 (Liu *et al.*, 2017). Hal ini dikarenakan gen Gag HIV-1 merupakan gen paling lestari (*conserved*) pada HIV-1 dan diduga berperan penting dalam menentukan kapasitas replikasi virus (Kapaata *et al.*, 2021). Untuk itu, perlu dilakukan pengembangan metode deteksi HIV berbasis qRT-PCR dengan target

sekuen gen *Gag* HIV-1 sehingga dapat menjadi alternatif metode deteksi berbasis molekuler dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Teknik ini memerlukan primer dan probe dengan persyaratan tertentu yang akan menentukan keberhasilan deteksi fragmen spesifik (Effendi, 2019). Pada penelitian ini dilakukan perancangan desain sekuen pasangan primer dan probe qRT-PCR menggunakan gen *Gag* HIV-1 melalui teknik bioinformatika. Bioinformatika merupakan perpaduan antara ilmu biologi molekuler dan komputasi. Salah satu peran penting bioinformatika yaitu untuk merancang dan menghasilkan sekuen primer (Saraswati and Dwi Wahyuni, 2019).

Desain primer dan probe menjadi faktor paling penting yang mempengaruhi keberhasilan dan kualitas analisis qRT-PCR karena kuantifikasi yang akurat bergantung pada penggunaan primer dan probe yang efisien. Desain primer dan probe harus memenuhi beberapa kriteria untuk menemukan primer dan probe potensial untuk pengujian qRT-PCR diantaranya panjang pasangan primer 15-30 basa, sekuen probe 20-30 basa, *temperature melted* (T_m) primer 50-60°C, T_m probe 68-70°C (8-10°C di atas T_m primer) kandungan basa guanin (G) dan sitosin (C) (*GC content*) 30-80%, ukuran amplicon 50-150 bp, tidak terjadi *repeats* dan *runs* lebih dari 2 basa yang sama, serta menghindari terbentuknya struktur sekunder (*self*, *cross*, heterodimer) dan *hairpin loop* (Rodríguez *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan mengetahui kualitas sekuen primer dan probe gen *Gag* HIV-1 yang dapat digunakan dalam metode deteksi dengan qRT-PCR menggunakan teknik bioinformatika.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas seperangkat komputer dengan software *Bioedit sequences alignment editor* versi 7.2.5.0, NCBI *gene bank database*, dan aplikasi Perl Primer.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan populasi dan sampel penelitian adalah sekuen gen *Gag* HIV-1 yang diunduh dari *National Center for Biotechnology Information (NCBI) nucleotide database GenPeptd*

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>).

Sekuen gen *Gag* HIV-1 diambil pada serotipe maupun isolat HIV-1 dan disimpan dalam format *FASTA* selanjutnya dilakukan analisis pensejajaran sekuen (*multiple sequences alignment/MSA*) gen menggunakan algoritma *clustaW* software *Bioedit sequences alignment editor* versi 7.2.5.0.. Sebagai acuan dalam menentukan kandidat pasangan primer dan probe digunakan *Region* lestari gen yang diperoleh. Sekuen probe sendiri dipilih pada lokasi diantara sekuen pasangan primer gen *Gag* HIV-1.

Sekuen pasangan primer dan probe yang telah dipilih selanjutnya dilakukan uji kualitas yang terdiri dari: Penentuan *T_m*, *temperature annealing (T_a)*, *GC content*, *GC clamp*, *repeats* dan *runs*, serta penentuan/uji untuk melihat terbentuknya struktur sekunder (*self*, *cross*, heterodimer). Selanjutnya dilakukan pengamatan terbentuknya *hairpin loop* serta kesesuaian *T_m* pasangan primer menggunakan *Perl Primer*. Setelah dilakukan uji kualitas pasangan primer dan probe, kemudian dilakukan analisis kesesuaian pasangan primer dengan organisme target yaitu HRV-1 menggunakan *primer blast nucleotide sequences* NCBI.

HASIL

Urutan gen *gag* HIV-1 yang diunduh dari *NCBI nucleotide database GenPeptd* sebanyak 52 sekuen. Gen *Gag* HIV-1 merupakan gen dengan *conserved region* di antara serotipe HIV. Protein *Gag* sendiri memiliki peran utama dalam perakitan, pelepasan, dan pematangan partikel virus, dan juga berfungsi dalam pembentukan infeksi (Waheed and Freed, 2012).

Posisi sekuen pasangan primer dan probe gen Gag dapat dilihat pada Gambar

1.



Gambar 1. Multiple sequences alignment gen Gag HIV-1 dengan lokasi sekuen pasangan primer dan probe

Sekuen primer forward berada di posisi basa 581 hingga 598, sedangkan sekuen primer reverse berada di posisi basa 655 hingga 673 serta sekuen probe berada diantara sekuen pasangan primer yaitu pada posisi basa 624 hingga 644 (Reference sequence HIV-1 accession number MK479872.1). Panjang amplikon yang diperoleh yaitu 93 pasang basa (Gambar 1). Urutan basa dan hasil uji kualitas pasangan primer gen Gag HIV dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Pasangan Primer gen Gag HIV-1

Pasangan Primer	Panjang Primer (basa)	Ukuran fragment (bp)	Kandungan GC (%)	T _m (°C)	Repeat and runs	Struktur sekunder
Forward 5'- GACATCAAGCAGCCATGC-3'	18	93	55	56	No	No
Reverse 3'- CCAATCCAGGACGTACGTG-5'	19		57	58	No	

Tabel 2. Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Probe gen Gag HIV-1

<i>Probe</i>	Panjang Primer (basa)	Ukuran fragment (bp)	Kandungan GC (%)	T _m (°C)	Repeat and runs	Struktur sekunder
<i>Probe</i> 5'- GGAAGCTGCAGAATGGGACAG-3'	21	93	57	66	No	No

Berdasarkan pengujian kemungkinan terjadinya reaksi silang (*avoid cross homology*) dengan organisme selain HIV-1, sekuen pasangan primer dan probe gen Gag HIV-1 menunjukkan homologi 100% dengan HIV-1 yang dapat dilihat pada gambar 2 hingga Gambar 4.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
HIV-1 isolate GX19032 from China .partial genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8887	OQ696751
HIV-1 isolate GX19017 from China .partial genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8846	OQ696756
Tetrademus obliquus strain DOE0152z chromosome 4a	Tetrademus obl...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	7755718	CP126194
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-E04-TAOK1 from Belgium nonfunctional gag.protein (gag).gene.co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	4756	OQ596930
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C06-KANSL1 from Belgium gag.protein (gag).gene_complete cds...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	5112	OQ596927
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C02-TAOK1 from Belgium nonfunctional gag.protein (gag).gene.co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8499	OQ596920
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G08 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9087	OQ596958
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G07-PTEN from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9098	OQ596957
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-C06-MGAT4A from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9085	OQ596947
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MCB-B08-KIF1B from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9055	OQ596938
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MCB-B07-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596934
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-D05 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9045	OQ596928
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-D02-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596928
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C09-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596928
HIV-1 isolate CIS06042-V1-CD4-26 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9043	OQ596841
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G04-LOC100506639 from Belgium nonfunctional gag.protein (gag).ge...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8683	OQ596958
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G03 from Belgium gag.protein (gag).gene_complete cds_pol.protein (p...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9060	OQ596955
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-F07-RABGAP1 from Belgium nonfunctional gag.protein (gag).gene.co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8880	OQ596954
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-F05-SLC6A16 from Belgium gag.protein (gag).gene_complete cds_pol...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9013	OQ596955

Gambar 2. Hasil Pensejajaran Sekuen Forward Primer Gen Gag HIV-1 dengan BLAST NCBI

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
HIV-1 isolate GX19032 from China, partial genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8887	OQ696751
HIV-1 isolate GX19017 from China, partial genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8846	OQ696750
Tetrademus obliquus strain DOE0152z chromosome 4a	Tetrademus obl...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	7755718	CP126194.1
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-E04-TAOK1 from Belgium nonfunctional gag protein (gag).gene_co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	4756	OQ596930
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C06-KANSL1 from Belgium gag protein (gag).gene_complete cds:...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	5112	OQ596922
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C02-TAOK1 from Belgium nonfunctional gag protein (gag).gene_co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8499	OQ596920
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G08 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9087	OQ596958
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G07-PTEN from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9098	OQ596957
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-C06-MGAT4A from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9085	OQ596947
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MCB-B08-KIF1B from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9055	OQ596935
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MCB-B07-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596934
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-D05 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9045	OQ596928
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-D02-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596926
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC008-HG-MBJ-C09-Chr22-36444750 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9058	OQ596925
HIV-1 isolate CIS06042-V1-CD4-26 from Belgium complete genome	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9043	OQ596841
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G04-LOC100506639 from Belgium nonfunctional gag protein (gag).ge...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8683	OQ596956
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-G03 from Belgium gag protein (gag).gene_complete cds: pol protein (p...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9060	OQ596955
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-F07-RABGAP1 from Belgium nonfunctional gag protein (gag).gene_co...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	8880	OQ596954
HIV-1 isolate STIPSEQ-MRC021-MDW-F05-SLC6A16 from Belgium gag protein (gag).gene_complete cds: pol...	Human immuno...	36.2	36.2	100%	34	100.00%	9013	OQ596952

Gambar 3. Hasil Pensejajaran Sekuen Reverse Primer Gen Gag HIV-1 dengan BLAST NCBI

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Melanotus villosus genome assembly_chromosome_X	Melanot...	NA	346801	38.2	38.2	100%	8.6	100.00%	43658339	OY720427.1
Dryomyza anilis genome assembly_chromosome_X	Dryomy...	NA	169445	38.2	38.2	100%	8.6	100.00%	82254885	OX638135.1
Chionomys nivalis genome assembly_chromosome_15	Chiono...	Europea...	269649	38.2	38.2	100%	8.6	100.00%	71441066	OX465463.1
Bruchidius silligastri genome assembly_chromosome_X	Bruchidi...	NA	1649775	38.2	38.2	100%	8.6	100.00%	22912655	OX438538.1
Acomys russatus genome assembly_chromosome_16	Acomys...	golden s...	60746	38.2	38.2	100%	8.6	100.00%	47487087	LR877227.1
Felis catus Senuz DNA_chromosome_D2_American Shorthair breed	Felis cat...	domesti...	9685	36.2	36.2	94%	34	100.00%	90643714	AP023162.1
Pseudochaenichthys georgianus genome assembly_chromosome_15	Pseudo...	South G...	52239	36.2	36.2	94%	34	100.00%	39528010	LR792560.1
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7181	XM_032768687
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7226	XM_032768686
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7229	XM_032768685
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7235	XM_032768684
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7286	XM_032768683
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7292	XM_032768682
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7295	XM_032768681
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7334	XM_032768680
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7337	XM_032768679
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7397	XM_032768678
PREDICTED: Chelonoidis abingdonii multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex c...	Chelono...	Abingdo...	106734	36.2	36.2	94%	34	100.00%	7397	XM_032768677

Gambar 4. Hasil Pensejajaran Sekuen Probe Gen Gag HIV-1 dengan BLAST NCBI

DISKUSI

Pada pengujian kualitas sekuen pasangan primer gen Gag HIV-1 diperoleh hasil yang baik dan sesuai dengan persyaratan untuk qRT-PCR (Tabel 1). Sekuen primer forward memiliki panjang 18 basa, sedangkan sekuen reverse sepanjang 19 basa. Panjang sekuen pasangan primer tersebut memenuhi syarat yaitu antara 15-30 pasang basa (Rodríguez *et al.*, 2015). Primer yang memiliki panjang kurang

atau lebih dari basa yang dipersyaratkan dapat menyebabkan penempelan primer pada tempat yang tidak diinginkan atau tidak spesifik (*mispriming*) (Sasmitha, Yustiantara and Yowani, 2018).

Efisiensi PCR sangat ditentukan oleh jumlah basa pada sekuen primer. Primer yang baik mempunyai persentase G dan C sekitar 40-60% (Saraswati and Dwi Wahyuni, 2019). Komponen GC memenuhi persyaratan komponen basa sekuen primer reverse yaitu sebesar 57%, begitu pula sekuen forward primer sebesar 55% memenuhi standar. Basa G dan C memiliki 3 ikatan hidrogen sehingga memiliki ikatan yang lebih kuat dan lebih stabil dibandingkan basa adenin (A) dan timin (T) yang hanya diikat oleh 2 ikatan hidrogen. Jumlah GC yang terlalu tinggi dapat menghambat proses pemisahan untai ganda pada DNA template dan primer, namun jumlah GC yang terlalu rendah pada primer menyebabkan primer tidak mampu menempel secara efektif pada DNA target sehingga akan menurunkan efisiensi proses PCR (Sasmitha, Yustiantara and Yowani, 2018).

Hasil pengujian menunjukkan T_m primer *forward* sebesar 56°C, lebih rendah 2°C dibandingkan primer *reverse* yang memiliki nilai T_m 58°C. Nilai T_m primer dan selisih T_m antara pasangan primer telah memenuhi persyaratan, yaitu antara 50-65°C dengan selisih T_m tidak lebih dari 5°C. T_m penting ditentukan karena menjadi acuan suhu yang digunakan dalam menentukan suhu *annealing* (T_a). T_m yang lebih tinggi dari 65°C dapat mengurangi efektifitas *annealing* yang menyebabkan amplifikasi DNA berjalan kurang maksimal. Lebih lanjut, selisih T_m lebih dari 5°C dapat mengakibatkan penurunan proses amplifikasi, bahkan memungkinkan proses amplifikasi tidak berlangsung (Sasmitha, Yustiantara and Yowani, 2018).

Pasangan primer menghasilkan amplifikasi PCR dengan ukuran ampikon sepanjang 93 pasang basa. Panjang ampikon memenuhi persyaratan optimal untuk kuantitatif PCR (qPCR) yaitu dalam kisaran 50-150 pasang basa. Ampikon yang lebih pendek beramplifikasi lebih efisien dibandingkan ampikon yang lebih panjang dan lebih toleran terhadap kondisi reaksi suboptimal (Rodríguez *et al.*, 2015). Selain itu, pada sekuen pasangan primer tidak ditemukan pengulangan urutan basa (*repeat and runs*) yang berlebihan. Pengulangan basa lebih dari tiga

basa dapat mengakibatkan terbentuknya struktur *hairpin*, yaitu kondisi dimana ujung-ujung primer saling berkomplemen. *Hairpin* pada primer ini harus dihindari. Sekuen pasangan primer dan probe juga tidak memiliki urutan basa dengan pengulangan terus-menerus sehingga dapat dikatakan bahwa primer dan probe memenuhi persyaratan (Tabel 1 dan Tabel 2). Pengulangan basa G atau C tiga kali atau lebih dapat mengakibatkan kesalahan penempelan primer (*false priming*) pada proses amplifikasi (Saraswati and Dwi Wahyuni, 2019).

Hasil uji kemungkinan terbentuknya struktur sekunder dengan menggunakan Perl primer menunjukkan tidak terbentuknya *hairpin loop* dan dimer pada sekuen pasangan primer maupun probe yang ditunjukkan dengan besar energi untuk memecah struktur *hairpin* (ΔG) pada ujung 3' lebih kecil dari -3 kcal/mol. Terbentuknya struktur sekunder pada primer maupun probe dapat menghalangi penempelan primer pada DNA template (Rodríguez *et al.*, 2015).

Pada pengujian kualitas sekuen probe gen Gag HIV-1 diperoleh hasil yang baik dan sesuai dengan persyaratan untuk qRT-PCR (Tabel 2). Probe dirancang untuk mengikat salah satu untai target, berada dekat dengan forward dan reverse primer, namun tidak tumpang tindih dengan tempat pengikatan primer pada untai yang sama. Panjang sekuen probe diperoleh 21 basa, dengan komponen GC sebanyak 57% seperti halnya komponen GC pada primer, serta T_m 66°C yang lebih tinggi dari T_m pasangan primer sehingga memenuhi standard sebagai probe. Pada Sekuen probe juga tidak terjadi pengulangan 2 basa lebih dari 4 kali dan tidak terjadi pengulangan basa lebih dari 4 kali serta tidak terbentuk struktur sekunder yang dapat mempengaruhi proses annealing dan hasil amplifikasi qRT-PCR (Rodríguez *et al.*, 2015).

Hasil uji homologi menunjukkan pasangan primer dan probe gen Gag HIV-1 memiliki homologi 100% dengan HIV-1 (Gambar 2, 3, dan 4). Hal ini juga dapat diartikan bahwa tidak terdapat kemungkinan terjadinya reaksi silang (*avoid cross homology*) antara primer dan probe dengan organisme selain HIV-1. Dengan demikian, primer dan probe memenuhi persyaratan.

KESIMPULAN

Sekuen pasangan primer dan probe gen *Gag* HIV-1 yang diperoleh adalah 5'-GACATCAAGCAGCCATGC-3' (*forward*), 3'-CCAATCCAGGACGTACGTG-3' (*reverse*), dan 5'-GGAAGCTGCAGAATGGGACAG-3' (*probe*). Hasil uji kualitas dan uji homologi menunjukkan sekuen pasangan primer dan probe memenuhi syarat dan dapat digunakan untuk amplifikasi gen *Gag* HIV-1 menggunakan qRT-PCR.

Perlu dilakukan uji sensitifitas dan spesifisitas pada sekuen pasangan primer dan probe serta pengujian menggunakan sampel klinis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada UP2M STIKES Bina Cipta Husada Purwokerto atas segala fasilitas yang diberikan sehingga riset ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan.

REFRENSI

- Effendi, I. (2019) 'Pemeriksaan Molekular *Treponema pallidum*', *Jurnal Kedokteran Meditek*, 24(68). doi: 10.36452/jkdoktmeditek.v24i68.1706.
- Kapaata, A. *et al.* (2021) 'Hiv-1 gag-pol sequences from ugandan early infections reveal sequence variants associated with elevated replication capacity', *Viruses*, 13(2), pp. 1-14. doi: 10.3390/v13020171.
- Liu, Y. *et al.* (2017) 'HIV-1 Sequence Necessary and Sufficient to Package Non-viral RNAs into HIV-1 Particles', *Journal of Molecular Biology*, 429(16), pp. 2542-2555. doi: 10.1016/j.jmb.2017.06.018.
- Marie, V. and Gordon, M. L. (2022) 'The HIV-1 Gag Protein Displays Extensive Functional and Structural Roles in Virus Replication and Infectivity', *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), pp. 1-15. doi: 10.3390/ijms23147569.
- Rodríguez, A. *et al.* (2015) 'Design of Primers and Probes for Quantitative Real-Time PCR Methods', 1275, pp. 31-56. doi: 10.1007/978-3-030-03389-7_14.
- Saraswati, H. and Dwi Wahyuni, F. (2019) 'Desain Primer Secara In Silico untuk

Amplifikasi Gen cryIII dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal', *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(1), pp. 33-38.

Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S. and Yowani, S. C. (2018) 'Desain DNA Primer secara In Silico sebagai Pendeteksi Mutasi Gen gyrA *Mycrobacterium tuberculosis* untuk Metode Polimerase Chain Reaction', *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 6(1), pp. 63-69.

Waheed, A. A. and Freed, E. O. (2012) 'HIV type 1 Gag as a target for antiviral therapy', *AIDS Research and Human Retroviruses*, 28(1), pp. 54-75. doi: 10.1089/aid.2011.0230.

Wibowo, H. A., Setiawaty, V. and Salwati, E. (2011) 'EPIDEMOLOGI MOLEKULER GENOTIPE Human Immunodeficiency Virus -1 (HIV-1) PADA ORANG DENGAN HIV/AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) atau ODHA di JAWA TIMUR DAN DKI JAKARTA', *Bul. Penelit. Kesehat*, 3(1), pp. 1-9.

PROFIL NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO PADA DEMAM TIFOID

Dian Nurmansyah^{1*} · Silfanida Putri¹ · Rizka Ayu Wahyuni¹ · Nafila¹

¹Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains
Teknologi, Universitas Borneo Lestari, Kalimantan Selatan, Indonesia
e-Mail : dian.nurmansyah@unbl.ac.id
No Tlp WA : +62 87816953523

Abstract

Typhoid fever is an acute or chronic systemic infectious disease caused by the gram-negative bacteria Salmonella typhi. WHO stated that the incidence of typhoid fever reached 21 million cases with a mortality rate of 161,000 in Southeast Asia and South Asia. Cases of typhoid fever can be fatal due to low awareness and inadequate treatment, so adequate examination or diagnostic support is needed. Typhoid fever has typical hematological abnormalities, namely anemia, leukopenia, eosinophilia, thrombocytopenia and subclinical disseminated intravascular coagulation. Typhoid fever can affect the hematopoietic system including neutrophils and lymphocytes. Neutropenia is a clinical picture that is often found in cases of typhoid fever. This hematological picture can be used as a tool to aid diagnosis and management of the patient's condition appropriately. NLR is thought to have high diagnostic and better sensitivity than CRP as a marker of sepsis. The aim of this research is to obtain an overview of the results of calculating the number of neutrophils, lymphocytes and NLR. Descriptive survey research design with a large sample using the purposive sampling method. The number of neutrophils and lymphocytes was measured using a Sysmex XN-450 hematology analyzer. The mean neutrophil count was 59.98, the lymphocyte count was 32.36, and the mean NLR value was 2.74. NLR can be used as a marker of inflammation but requires other supporting examinations.

Keywords : Typhoid fever, Neutrophil, Lymphocyte, Neutrophil to Lymphocyte Ratio

Abstrak

Demam tifoid adalah penyakit infeksi sistematis akut atau kronis yang disebabkan oleh bakteri gram negatif Salmonella typhi. WHO menyatakan bahwa kasus angka kejadian demam tifoid mencapai 21 juta kasus dengan angka mortalitas mencapai 161.000 di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Kasus Demam tifoid dapat menjadi fatal karena rendahnya awareness dan penanganan yang tidak adekuat, sehingga diperlukan pemeriksaan atau penunjang diagnosis yang memadai. Demam tifoid memiliki ciri khas kelainan hematologis yaitu anemia, leukopenia, eosinofilia, trombositopenia serta koagulasi intravaskular diseminat subklinis. Demam tifoid dapat mempengaruhi sistem hematopoiesis termasuk netrofil dan limfosit. Neutropenia adalah gambaran klinis yang sering ditemukan pada kasus demam tifoid. Gambaran hematologis ini dapat digunakan sebagai alat bantu diagnosis dan penatalaksanaan kondisi pasien dengan tepat. NLR diduga memiliki diagnostik yang tinggi dan sensitivitas yang baik daripada CRP untuk penanda sepsis. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan gambaran hasil penghitungan jumlah netrofil, limfosit dan NLR. Design penelitian survey deskriptif dengan besar sampel menggunakan metode purposive sampling. Pengukuran jumlah netrofil dan limfosit menggunakan hematology analyzer Sysmex XN-450. Rerata jumlah netrofil adalah 59.98, jumlah limfosit 32.36, dan nilai rerata NLR adalah 2.74. NLR dapat digunakan sebagai penanda inflamasi namun memerlukan pemeriksaan penunjang lain. Abstrak menggambarkan dan berisikan ringkasan penelitian yang telah diselesaikan.

Kata Kunci : Demam tifoid, netrofil, limfosit, Netrofil to Limfosit Ratio

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit infeksi sistemik akut atau kronis yang disebabkan oleh bakteri gram negatif *Salmonella typhi* (Camp & Shorman, 2018). Demam tifoid adalah penyakit yang ditransmisikan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (foodborne disease) melalui jalur fecal - oral (Widodo, 2006; Amicizia, Arata, Zangrillo, Panatto, & Gasparini, 2017). Penularan secara vertikal juga dapat terjadi melalui jalur plasenta dari ibu ke bayi melalui perantara darah ibu ke bayi pada saat proses kelahiran (Guirguis, et al., 2017; Saraswati & Junaidi, 2012). WHO menyatakan bahwa kasus angka kejadian demam tifoid mencapai 21 juta kasus dengan angka mortalitas mencapai 161.000 di Asia Tenggara dan Asia Selatan sebagai wilayah dengan kasus terpadat. Kasus Demam tifoid dapat menjadi fatal karena rendahnya awareness dan penanganan yang inadkuat, sehingga diperlukan pemeriksaan atau penunjang diagnosis yang memadai dalam penanganannya (Zhou & Pollard, 2010).

Analisis parameter hematologis dapat digunakan sebagai early detection dalam pemantauan patogenesis penyakit dan respon pemberian terapi obat. Demam tifoid memiliki ciri khas kelainan hematologis yaitu anemia, leukopenia, eosinofilia, trombositopenia serta koagulasi intravaskular diseminatasubklinis (Ifeanyi, 2014). Demam tifoid dapat mempengaruhi sistem hematopoiesis termasuk netrofil dan limfosit. Neutropenia adalah gambaran klinis yang sering ditemukan pada kasus demam tifoid (Khan, 2012). Gambaran hematologis ini dapat digunakan sebagai alat bantu diagnosis dan penatalaksanaan kondisi pasien dengan tepat (Qamar & Aijaz, 2013). Perhitungan rasio Netrofil terhadap Limfosit (NLR) dapat dijadikan sebagai test sederhana untuk mendiagnosis infeksi yang terjadi dan status inflamasi atau proses peradangan (Forget, et al., 2017), karena NLR diduga memiliki diagnostik yang tinggi dan sensitivitas yang baik daripada CRP untuk penanda sepsis (Zhang, Chen, Lan, & Ma, 2016). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan gambaran hasil penghitungan jumlah netrofil, limfosit dan NLR.

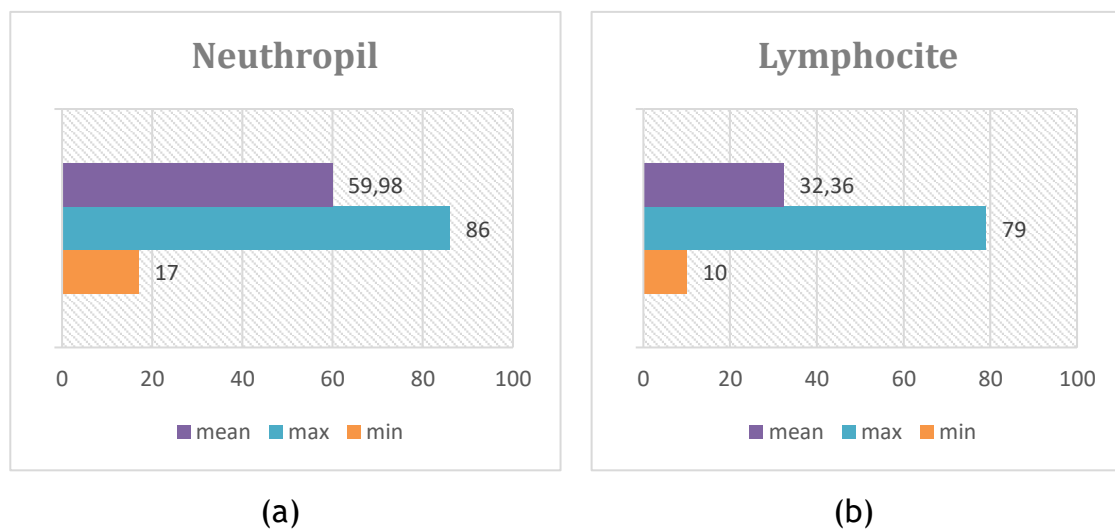
BAHAN DAN METODE

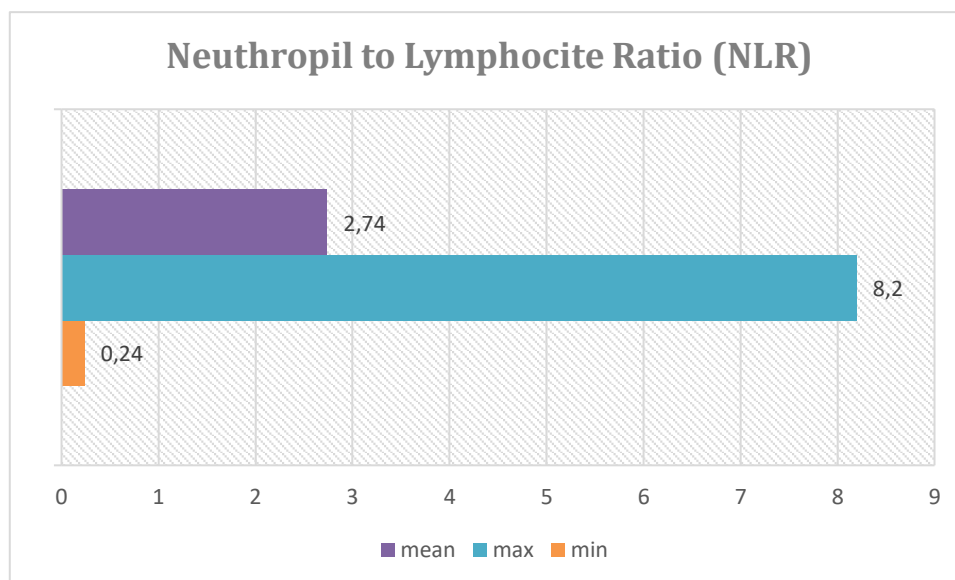
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesimen darah EDTA, reagen *cell pack DCL*, *cellpack DST*, *cellpack DFL*, *sufolyser WDF*, *flurocell WDF* dan *cellclean auto*. Instrumen yang digunakan adalah tourniquet, tabung *vacuum EDTA*, *hematology analyzer sysmex XN-450*.

Jenis penelitian adalah survei deskriptif, besar sampel ditentukan dengan metode *purposive sampling* sebanyak 66 orang responden yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

HASIL

Penelitian dilaksanakan pada Februari 2023 di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Daerah Idaman Kota Banjarbaru. Sampel penelitian sebanyak 66 pasien demam tifoid yang diukur jumlah netrofil dan limfosit menggunakan *hematology analyzer Sysmex XN-450*. Didapatkan hasil sebagai berikut :





(c)

Gambar 1. (a) jumlah neutrofil, (b) jumlah limfosit, (c) jumlah NLR

Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa rerata jumlah neutrofil adalah 59.98 %, berada pada ambang batas normal jumlah netrofil. Rerata limfosit pada hasil adalah 32.3, berada pada ambang batas normal. Pada parameter NLR, rerata NLR adalah 2.74 dan berapa pada ambang batas normal. Demam tifoid adalah penyakit infeksi sistemik dengan manifestasi klinis ringan, sedang hingga parah (Subhan & Sadiq, 2017). Perubahan pada parameter pemeriksaan hematologi sering dijumpai pada demam tifoid positif. Pada demam tifoid, infeksi disebabkan oleh invasi *Salmonella typhi* sehingga akan memicu respon sel-sel imun untuk mengeliminasi bakteri patogen tersebut. Gangguan jumlah leukosit adalah kelainan yang umum ditemui, karena *Salmonella typhi* memiliki kemampuan memperlambat laju hematopoiesis (Rana, 2016).

Pada hasil penelitian, nilai netrofil dan limfosit sebenarnya secara rerata berada pada ambang batas normal, namun jika dilihat dari batas atas nilai masing-masing parameter ditemukan abnormalitas. Kondisi neutropenia dan limfositosis adalah kondisi yang sering ditemui, hal ini dapat disebabkan akibat dari peningkatan margin dan granulopoiesis yang rusak (Uplaonkar, Kauser, & Tengli, 2017) Limfositosis yang dapat disertai dengan neutropenia adalah kondisi yang dapat ditemui pada demam tifoid, meskipun kondisi yang menjadi ciri khas adalah leukositosis neutrofilik (Ifeanyi, 2014).

Nilai NLR pada hasil penelitian reratanya adalah 2.74. NLR dapat digunakan sebagai prediktor tingkat keparahan dan masa kritis perembesan plasma pada infeksi mikroorganisme yang menyebabkan gangguan pada sistem hematopoietik (Philipose & Umaskar, 2016). Tanda umum infeksi demam tifoid biasanya adalah terjadi penurunan jumlah leukosit. *Salmonella typhi* dapat mensekresikan zat pirogen yang dapat menginduksi makrofag untuk mengaktivasi neutrofil sehingga akan terjadi peningkatan jumlah neutrofil dalam jaringan (Aru, 2009). Rasio neutrofil pada penelitian ini masih dalam batas normal jika mengacu pada nilai rerata, namun pada batas atas terjadi peningkatan diatas ambang batas normal, dapat dinyatakan bahwa pada dasarnya NLR dapat digunakan sebagai penanda inflamasi (Nurhidayah, Arfijanto, Widodo, & Kholili, 2021), namun masih memerlukan pemeriksaan pendukung lain agar nilai akurasinya meningkat untuk dapat dinyatakan sebagai gold standar penanda inflamasi.

KESIMPULAN

Rerata jumlah netrofil adalah 59.98, jumlah limfosit 32.36, dan nilai rerata NLR adalah 2.74. NLR dapat digunakana sebagai penanda inflamasi namun memerlukan pemeriksaan penunjang lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih yang kepada RSD Idaman Kota Banjarbaru terkhusus Bagian Patologi Klinik atas fasilitas dan izin yang diberika Lembaga atau personal yang memiliki sumbangsih ilmiah dalam penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh peneliti menyatakan tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- Amicizia, D., Arata, L., Zangrillo, F., Panatto, D., & Gasparini, R. (2017). Vivotif review. *J Prev Med Hyg*, 1-8.
- Aru, W. (2009). *Buku Ajar Ilmu penyakit Dalam, Jilid II*. Jakarta: Interna Publishing.
- Camp, R. V., & Shorman, M. (2018). *Typhoid Vaccine*. StatPearls Publishing.
- Forget, P., Khalifa, C., Defour, J., Latinne, D., Pel, M. V., & Kock, M. D. (2017). What is the normal value of the neutrophil to lymphocyte ratio ? *BMC Research Notes*, 1-4.
- Guirguis, G., Patel, K., Gittens-Williams, L., Apuzzio, J., Martimucci, K., & Williams, S. (2017). Salmonella enterica serotype typhi bacteremia complicating pregnancy in the third trimester. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology*, 1-3.
- Ifeanyi, O. (2014). Changes in some haematological parameters in typhoid patients attending University of Michael Okpara University of Agriculture Nigeria. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 670 - 674.
- Khan, M. (2012). A Plausible explanation for male dominance in typhoid ileal perforation. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 213-217.
- Nurhidayah, M., Arfijanto, M., Widodo, A., & Kholili, U. (2021). Profil Rasio Neutrofil terhadap Limfosit pada pasien dengan dugaan demam tifoid di RSUD DR SOETOMO Surabaya. *Care : Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 38 - 49.
- Philipose, C., & Umaskar, T. (2016). The role of haematological parameters in predicting malaria with special emphasis on neutrophil lymphocyte ratio : A single institutional experience. *Tropical parasitology*, 147 - 150.
- Qamar, U., & Aijaz, J. (2013). Haematological changes associated with typhoid fever . *Rawal Medical Journal*, 32-35.
- Rana, P. (2016). Haematological parameters of Salmonella typhi and paratyphi culture positive patients from Kathmandu Valley Nepal. *Journal of Institute of Medicine*, 40 - 46.
- Saraswati, N., & Junaidi, A. (2012). Karakteristik tersangka demam tifoid pasien rawat inap di Rumah Sakit Muhammadiyah Palembang Periode Tahun 2010. *Syifa' MEDIKA*.
- Subhan, M., & Sadiq, W. (2017). case of enteric fever with bicytopenia. *Cureus*, 10 - 12.

- Uplaonkar, S., Kauser, S., & Tengli, M. (2017). Haematological profile in typhoid fever. *Indian Journal of Pathology and Oncology*, 263-265.
- Widodo, D. (2006). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid 3*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI.
- Zhang, H., Chen, J., Lan, Q., & Ma, X. (2016). Diagnostic values of red cell distribution width, platelet distribution width and neutrophil lymphocyte ratio for sepsis. *Experimental and therapeutic medicine*, 2215-2219.
- Zhou, L., & Pollard, A. (2010). A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of *Salmonella enterica* serovar typhi. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 1-7.

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SAMPEL DARAH RESIPIEN TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN UJI SILANG SERASI (CROSSMATCH) METODE GEL TEST

Aisyah Arrosyada¹ · Bastian^{1*} · Nurhidayanti¹ · Firna Kamilatun Nuha¹

¹Program Studi S.Tr Teknologi Laboratorium Medis, IKesT Muhammadiyah Palembang

e-Mail: bastiandarwin51@gmail.com

No Tlp WA : 0813-6914-1311

Abstract

Compatible cross test is a pre-transfusion blood examination which aims to test the compatibility between donor blood and recipient blood samples. Storage of recipient blood samples can occur because donor supplies cannot be fulfilled within an earlier period, so recipient blood samples need to be stored for a longer period of time. Research objective to determine the effect of storage time for recipient samples on the results of the crossmatch test using the gel method. Research Method Experimental, this research was carried out in the Blood Transfusion Unit Laboratory of Dr Mohammad Hoesin Hospital, Palembang. The samples used in this research were 29 samples with the sampling technique being Random Sampling. Results there was a 0% difference in results using day 0 recipient blood samples, a 10.3% difference in results using day 3 recipient blood samples and a 44.8% difference in results using day 5 recipient blood samples and the average difference results occur as much as 45%. The percentage results were obtained using descriptive analysis. There is an influence on the storage of recipient blood samples on the results of the crossmatch test using the gel test method.

Keywords: Transfusion, Compatibility Test, Crossmatch, Storage Time

Abstrak

Uji silang serasi merupakan salah satu pemeriksaan Pra-Transfusi darah yang bertujuan untuk menguji kompatibilitas antara darah donor dan sampel darah resipien. Penyimpanan sampel darah resipien dapat terjadi karena penyediaan donor yang belum dapat terpenuhi dalam kurun waktu yang lebih awal, sehingga sampel darah resipien perlu disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan sampel resipien terhadap hasil uji silang serasi (*crossmatch*) dengan metode gel. Metode yang digunakan adalah *Experimental*, penelitian ini dilakukan di Laboratorium Unit Transfusi Darah RSUP dr Mohammad Hoesin Palembang. Sampel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 29 sampel dengan teknik pengambilan adalah *Random Sampling*. Terdapat 0% perbedaan hasil menggunakan sampel darah resipien hari ke-0, 10,3% perbedaan hasil menggunakan sampel darah resipien hari ke-3 dan 44,8% perbedaan hasil menggunakan sampel darah resipien hari ke -5 dan rata-rata perbedaan hasil terjadi sebanyak 45%. Hasil persentase didapatkan dengan analisis deskriptif. Terdapat pengaruh penyimpanan sampel darah resipien terhadap hasil uji *crossmatch* metode *gel test*.

Kata Kunci : Transfusi, Uji Silang Serasi, *Crossmatch*, Waktu Penyimpanan

PENDAHULUAN

Transfusi darah adalah suatu prosedur untuk menambah atau mengganti komponen darah yang tidak mencukupi untuk mencegah kekurangan komponen darah tersebut. Pemberian transfusi yang tepat melibatkan transfusi komponen darah tertentu sesuai kebutuhan dan berdasarkan pedoman yang berlaku (Wahidiyat PA, 2017).

Tes pra-transfusi dilakukan untuk memastikan bahwa transfusi tidak akan menimbulkan reaksi pada penerimanya. Pengujian pra transfusi meliputi verifikasi golongan darah ABO dan Rh serta pengujian *crossmatch* antara darah donor dan resipien. Meski golongan darah donor dan resipien sama, ketidakcocokan tetap bisa terjadi saat *crossmatch*. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis penyebab ketidakcocokan dalam uji kesesuaian antara darah donor dengan darah resipien (Situmorang et al., 2023).

Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2022, sekitar 118,54 juta darah didonorkan di seluruh dunia, WHO juga menyebutkan jumlah kebutuhan darah minimal di Indonesia adalah 5,1 juta kantong per tahun (2% penduduk Indonesia) (*World Health Organization, 2022*). Data PUSDATIN Kemenkes menunjukkan produksi kantong darah wilayah Sumatera Selatan adalah 91.475 sedangkan untuk permintaan kantong darah di wilayah Palembang mencapai 7000 kantong darah perbulan (Kemenkes, 2018).

Data Sistem Donor Darah RSUP dr Moh Hoesin menunjukkan adanya laporan reaksi transfusi sebanyak 63 kasus selama 6 bulan terakhir (Juni-Desember 2022). Menurut Standar Pelayanan Minimal yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia menyatakan kejadian reaksi transfusi di rumah sakit yang melakukan pelayanan transfusi harusnya kurang atau sama dengan 0,01%. Angka yang kecil ini mengharuskan pemeriksaan sebelum transfusi harus dilakukan sesuai dengan standar pelayanan transfusi darah seperti pemeriksaan *crossmatch* (PERMENKES, 2019).

Crossmatch merupakan pemeriksaan utama yang dilakukan sebelum dilakukan transfusi darah, dengan memeriksa kesesuaian reaksi in vitro antara

darah pasien dengan darah donor untuk memastikan bahwa darah yang ditransfusikan benar-benar bermanfaat bagi proses kesembuhan pasien (Permenkes, 2015). Ketidakcocokan (inkompabilitas) reaksi crossmatch dapat dipengaruhi oleh standar yang tidak dipenuhi pada saat melakukan pemeriksaan seperti kelayakan sampel. Sampel darah resipien dikatakan memenuhi standar jika dalam kondisi yang baik, pemilihan jenis tabung yang benar dan sesuai dengan batas usia sampel. Usia sampel adalah jarak waktu antara darah diambil dengan pemeriksaan uji silang serasi (*crossmatch*) (Permenkes, 2015).

Sampel yang baik untuk pemeriksaan uji silang serasi yaitu sampel darah yang baru saja diambil, namun kenyataan di lapangan berbeda. Faktor ketersediaan stok darah menyebabkan sampel darah harus disimpan berhari-hari sampai stok darah didapatkan (Maharani, 2018).

Berdasarkan PMK No 91 Tahun 2015 tentang Standar Transfusi Darah, sampel darah EDTA yang akan digunakan untuk pemeriksaan uji silang serasi (*crossmatch*) dapat disimpan di suhu ruang (22-25°C) selama 24 jam. (Permenkes, 2015). Usia sampel yang digunakan untuk uji pratransfusi tidak boleh lebih dari 3 hari dengan perhitungan tanggal pengambilan sampel merupakan hari ke-0. Penyimpanan sampel bertujuan untuk memudahkan dalam pemeriksaan kembali jika ada permintaan berulang sehingga tidak diperlukan untuk pengambilan sampel ulang.

Menurut penelitian oleh Baffour (2017) penyimpanan sampel darah EDTA dapat menyebabkan perubahan morfologi dan kerapuhan sel darah, terutama eritrosit, jika disimpan lebih lama. Hal ini dapat mempengaruhi lama hidup sel darah merah dan sangat mempengaruhi hasil tes sel darah merah. Oleh karena itu, direkomendasikan untuk analisis sampel darah pada parameter hematologi maksimal 4 jam setelah pengambilan (Antwi-Baffour, 2017). Waktu penyimpanan sampel yang direkomendasikan maksimal 3 hari di suhu kulkas (4-6°C) (Permenkes, 2015).

Tujuan dari penelitian ini dilakukan adalah untuk mengetahui apakah terdapat waktu penyimpanan sampel darah resipien terhadap hasil pemeriksaan uji silang serasi (*crossmatch*) metode gel test.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan studi *Experimental Laboratory* dengan rancangan penelitian *pretest posttest design*, yaitu dengan melihat pengaruh waktu penyimpanan sampel pada hasil pemeriksaan uji silang serasi (*crossmatch*) metode *Gel Test*.

Populasi dalam penelitian ini adalah sampel darah resipien yang melakukan permintaan uji silang serasi di RSUP dr. Moh Hoesin Palembang. Jumlah sampel didapatkan melalui perhitungan menggunakan rumus *Slovin* yaitu sebanyak 29 sampel. Sampel yang digunakan yaitu sampel pasien dengan permintaan *Packed Red Cell*. Bahan pemeriksaan berupa sampel darah EDTA calon resipien di RSUP dr Moh Hoesin Palembang. Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik random sampling (*probalitivy samples*).

Penelitian ini telah dinyatakan layak etik sesuai dengan tujuh Standar WHO, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan *Privacy*, 7) Persetujuan setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016.

Prinsip pemeriksaan *crossmatch* metode gel adalah penambahan suspensi sel dan serum atau plasma dalam microtube yang berisi gel di dalam buffer berisi reagen (Anti-A, Anti-B, Anti-D, enzim, Anti-Ig G, Anti komplement). Microtube selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37° C dan disentrifus. Aglutinasi yang terbentuk akan terperangkap di atas permukaan gel. Aglutinasi tidak terbentuk apabila eritrosit melewati pori-pori gel, dan akan mengendap di dasar microtube. (Study et al., 2012)

Sebelum dilakukan uji analisa data dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan Uji *Kolmogorov Smirnov* dan dilanjutkan dengan analisa data dengan menggunakan Uji Non-Parametrik *Kruskall-Wallis*.

HASIL

Uji Validitas dilakukan untuk mengetahui hasil yang diperoleh pada uji *crossmatching* dengan benar. Uji validitas dilakukan dengan menambahkan CCC (*Coomb's Control Cell*) sebanyak 1 tetes ke dalam *gel card*. Penambahan

CCC akan memberikan hasil positif yang menunjukkan hasil pemeriksaan yang valid dan *gel card* dapat dipakai. Hasil uji validitas dapat dilihat pada hasil uji nilai bias pada tabel 1 dan hasil uji presisi pada tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Nilai Bias *Crossmatch*

Pengulangan Penambahan CCC	Hasil <i>Crossmatch</i>
1	+4
2	+4
3	+3
4	+4
5	+3
6	+4
7	+4
N	26
Mean	3.71
Range	3.5

Berdasarkan hasil persentase pemeriksaan *crossmatch* diperoleh nilai bias (%) pada tabel 1 yaitu = 0.06%. Keakuratan dihitung dari hasil pengujian bahan acuan berupa nilai deviasi (d%). Nilai akurasi dapat dinyatakan baik jika nilai d% tidak melebihi 5%, karena menurut standar (ISO 15197, 2013), akurasi dinyatakan baik jika $d\% < 5\%$ (Yayuningsih et al., 2020).

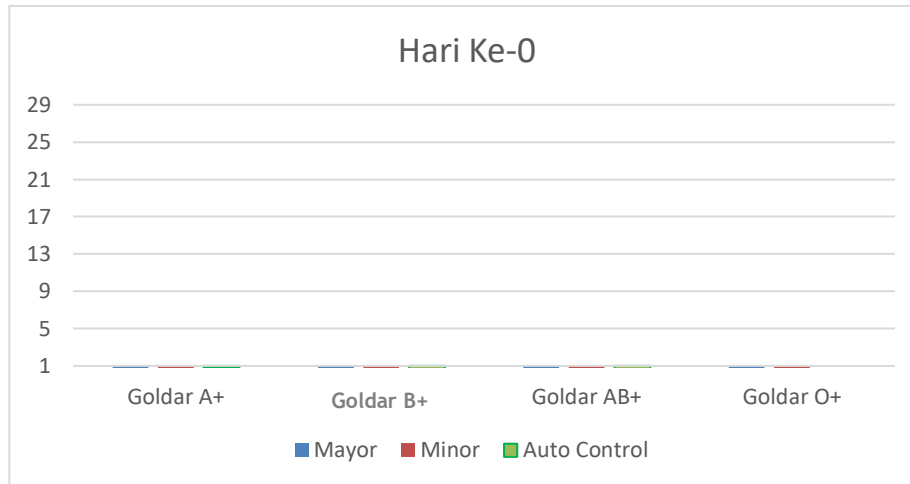
Tabel 2. Hasil Uji Presisi *Crossmatch*

Data	Hasil <i>Crossmatch</i> QC
1	+4
2	+4
3	+3
4	+4
5	+3
6	+4
7	+4
Jumlah	26
Rata	3.71
SD	0,48
CV(%)	0.13

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan hasil uji presisi dengan pengukuran nilai SD sebesar 0,48 dan nilai CV sebesar 0.13% . Hasil analisis nilai SD dan CV memenuhi syarat presisi yang telah ditetapkan dengan batas rentan $< 1\%$ dengan tingkatan sangat teliti.

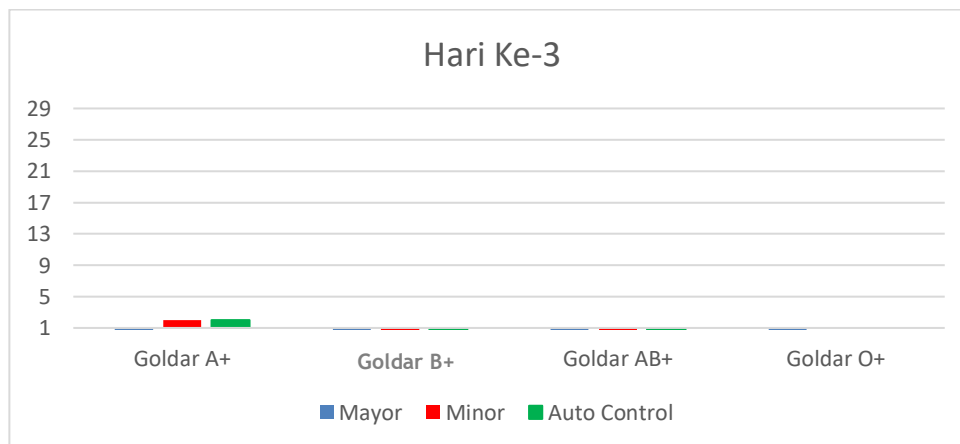
Pemeriksaan *crossmatch* terdiri dari mayor, minor, dan auto kontrol.

Sampel yang digunakan pada masing-masing tahapan yaitu sebanyak 29 sampel, yang dikelompokkan sesuai dengan golongan darah A+ sebanyak 9 sampel, golongan darah B+ sebanyak 5 sampel, golongan darah AB+ sebanyak 3 sampel, dan golongan darah O+ sebanyak 12 sampel.



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan *Crossmatch* Menggunakan Sampel Hari Ke-0

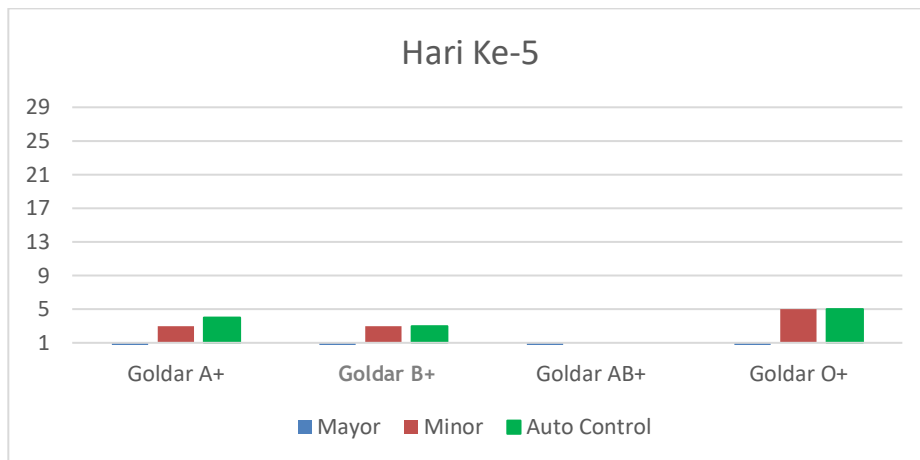
Berdasarkan Gambar 1 maka di dapatkan bahwa hasil pemeriksaan *crossmatch* menggunakan sampel yang disimpan selama 0 hari memiliki hasil keseluruhan negatif pada mayor, minor dan *auto control*.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan *Crossmatch* Menggunakan Sampel Hari Ke-3

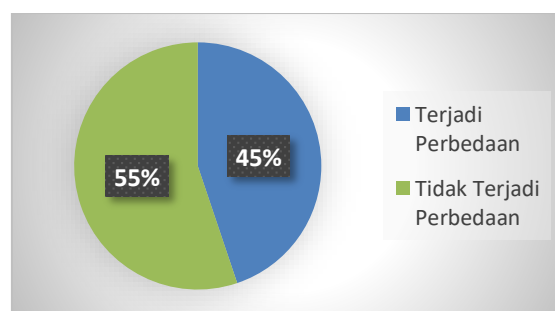
Berdasarkan Gambar 2 maka di dapatkan bahwa hasil pemeriksaan *crossmatch* menggunakan sampel yang disimpan selama 3 hari memiliki hasil mayor secara keseluruhan negatif sedangkan pada minor dan auto control terjadi perubahan hasil yaitu menjadi positif aglutinasi yakni pada golongan

darah A+ sebanyak 2 sampel dan golongan darah O+ sebanyak 1 sampel atau 10,3% dari jumlah sampel keseluruhan.



Gambar 3. Hasil Pemeriksaan *Crossmatch* Menggunakan Sampel Hari Ke-5

Hasil pemeriksaan *crossmatch* menggunakan sampel yang disimpan selama 5 hari memiliki hasil mayor secara keseluruhan negatif, pada minor terjadi perubahan sampel menjadi aglutinasi yakni pada golongan darah A+ sebanyak 3 sampel, B+ sebanyak 3 sampel, AB+ sebanyak 1 sampel, O+ sebanyak 5 sampel. Pada auto kontrol terjadi perubahan sampel menjadi aglutinasi yakni terjadi pada golongan darah A+ sebanyak 4 sampel, B+ sebanyak 3 sampel, AB+ sebanyak 1 sampel, dan O+ sebanyak 5 sampel. Total perubahan secara keseluruhan adalah 44,8%.



Gambar 4. Rata-Rata Perbedaan Hasil Uji Silang Serasi Hari Ke 0, 3 dan 5

Didapatkan hasil rata-rata perbedaan hasil menggunakan sampel darah resipien yang disimpan selama 0, 3 dan 5 hari lalu dilakukan uji silang dengan menggunakan metode gel adalah 45% terjadi perubahan hasil. Namun hasil

akan di analisis lagi lebih lanjut menggunakan program SPSS menggunakan uji Non-parametrik Uji *Kruskal Wallis* diperoleh hasil nilai $p= 1.000$ pada hasil mayor, nilai $p= 0.000$ pada hasil minor, dan nilai $p= 0.000$ pada hasil auto control. Dari hasil uji tersebut menunjukkan bahwa hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh lama penyimpanan sampel darah resipien terhadap hasil uji *crossmatch*.

DISKUSI

Penelitian menggunakan sampel sebanyak 29 sampel darah EDTA, kemudian dilakukan pemeriksaan *crossmatch* atau uji silang serasi menggunakan metode *gel test*. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan sampel darah resipien terhadap hasil pemeriksaan uji silang serasi atau *crossmatch*. Hasil penelitian pemeriksaan uji silang serasi menggunakan sampel darah yang disimpan pada hari ke 0, 3 dan 5 didapat rata-rata yang berbeda yaitu 0%, 10,3% dan 44,8% sehingga terdapat pengaruh umur simpan sampel selama 3 hari dan 5 hari terhadap hasil uji *crossmatch*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan sampel siap pakai dan sampel disimpan pada suhu lemari es dengan umur simpan 3 hari dan 5 hari digunakan untuk *cross check* keadaan sampel untuk uji silang serasi. Kandungan seluler diketahui memiliki stabilitas terbatas dalam darah dengan antikoagulan EDTA. Menyimpan sampel darah pada suhu rendah diketahui dapat meningkatkan stabilitas beberapa parameter darah (Puspitasari & Aliviameita, 2022).

Uji silang ini merupakan interaksi antara antigen dan antibodi di luar tubuh (In Vitro) yang meliputi uji silang mayor, minor, dan auto kontrol. Pada uji *crossmatch* mayor, serum yang diuji bereaksi dengan sel donor. Aglutinasi yang terjadi pada uji *crossmatch* mayor menunjukkan bahwa serum yang diuji mengandung antibodi terhadap antigen sel donor, sehingga dapat merusak sel donor dan menyebabkan penggumpalan atau aglutinasi. Dalam uji *crossmatch* minor, serum donor bereaksi dengan sel uji. Aglutinasi yang terjadi pada uji *crossmatch* minor menunjukkan bahwa serum donor mengandung antibodi

terhadap antigen sel yang diuji. Penggumpalan yang terjadi pada *auto control* dapat menunjukkan bahwa yang menjadi masalah terletak pada serum resipien (Oktari et al., 2022).

Aglutinası sel darah merah dapat terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama antibodi berikatan dengan permukaan sel darah merah, tahap kedua antibodi berinteraksi dengan sel darah merah sehingga sel beragregasi dan terjadi aglutinasi. Tahap awal aglutinasi dipengaruhi oleh suhu, pH medium, umur serum dan sel darah merah dalam sampel, konstanta afinitas antibodi, waktu inkubasi, kekuatan ion dalam medium dan rasio antibodi-antigen. Tahap aglutinasi kedua dipengaruhi oleh jarak antar sel, muatan molekul dan suspensi, deformasi membran, molekuleritas permukaan membran, dan struktur molekul (Hayati et al., 2023)

Aglutinası yang terjadi pada hasil uji silang dapat disebabkan karena sampel darah terkontaminasi sehingga menyebabkan adanya dua populasi antigen, yaitu antigen yang ada dalam darah dan antigen asing yang merangsang respon antigen-antibodi pada darah. Antibodi yang ada dalam sampel melawan antigen asing yang ada dalam sampel darah hingga menyebabkan reaksi aglutinasi (Oktari dkk, 2022)

Perubahan hasil yang terjadi dari hari ke-0, ke hari ke-3 dan ke, 5 terjadi karena semakin lama eritrosit berada di luar sistem peredaran darah maka jumlah hitung sel-sel darah merah makin berkurang. Hal ini dikarenakan sel-sel darah merah mengalami perubahan biokimiawi, biomekanis, dan reaksi imunologis. Eritrosit merupakan sel darah yang paling mudah mengalami kerusakan ini. (Arviananta dkk., 2020)

Terdapat perbedaan hasil antara crossmatch mayor, minor dan auto control disebabkan pada crossmatch mayor tidak menggunakan eritrosit sampel yang telah dilakukan penyimpanan melainkan menggunakan eritrosit dari kantong darah donor, sedangkan crossmatch minor dan auto control menggunakan eritrosit sampel darah resipien yang telah disimpan.

Pengujian menggunakan analisis statistik dengan aplikasi SPSS didapatkan bahwa terdapat pengaruh waktu pemeriksaan *crossmatch* menggunakan sampel darah resipien yang disimpan selama 3 dan 5 hari dan

disarankan untuk melakukan uji *crossmatch* tidak melebihi dari 0 hari karena akan mempengaruhi hasil pemeriksaan *crossmatch*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang Pengaruh waktu penyimpanan sampel darah resipien terhadap hasil uji silang serasi (*crossmatch*) dengan menggunakan metode gel dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh ditundanya waktu pemeriksaan terhadap sampel darah resipien yang disimpan selama 3 hari dan 5 hari yang memiliki pengaruh sebanyak 45% dalam pemeriksaan uji silang serasi (*crossmatch*).

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Laboratorium Unit Tansfusi Darah Rumah Sakit Dr. Mohamad Hoesin Palembang yang telah menjadi tempat penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Antwi-Baffour, S. (2017). Prolong Storage of Blood in EDTA Has an Effect on the Morphology and Osmotic Fragility of Erythrocytes. *International Journal of Biomedical Science and Engineering*, 1(2), 20. <https://doi.org/10.11648/j.ijbse.20130102.11>
- Arviananta, R., Syuhada, S., & Aditya, A. (2020). Perbedaan Jumlah Eritrosit Antara Darah Segar dan Darah Simpan. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 686-694. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.388>
- Hayati, E., Alim, S., Durachim, A., & Noviar, G. (2023). the Influence of Blood Storage Time and Tube Type on. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4, 30-37.
- Kemenkes. (2018). *Infodatin Donor Darah*.
- Maharani, E. A. & N. (2018). *Imunohematologi dan Bank Darah* (Pusat, B. P. dan Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, & P. S. D. M. Kesehatan (eds.)). Kementerian Kesehatan RI.

- Oktari, A., Mulyati, L., Kesehatan, A., Tinggi Analis Bakti Asih, S., & Barat, J. (2022). Pengaruh Waktu Dan Suhu Penyimpanan Sampel Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Cross Match). *JolMedLabS*, 3(2), 133-145.
- PERMENKES. (2015). *Standar Pelayanan Transfusi Darah* (Patent No. 90).
- PERMENKES. (2019). *Standar Teknis Pemenuhan Mutu Pelayanan Dasar Pada Standar Pelayanan Minimal Bidang Kesehatan* (Patent No. 4).
- Puspitasari, P., & Aliviameita, A. (2022). Stabilitas Sampel Darah Terhadap Profil Hematologi Dengan Metode Otomatis. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.12667>
- Setyati J, S. A. (2012). *Transfusi Darah Yang Rasional*. Pelita Insani.
- Situmorang, P. R., Napitupulu, D. S., & Sibarani, A. (2023). ANALISIS INCOMPATIBLE PADA PEMERIKSAAN UJI SILANG SERASI (CROSS MATCHING) DENGAN METODE GEL TEST DI UTD PALANG MERAH INDONESIA KOTA MEDAN TAHUN 2023. 4(September), 3169-3177.
- Study, C., Blood, O. F., Gel, U., & Technique, C. T. (2012). *A Dissertation On Comparative Study Of Blood Crossmatching Using Gel And Conventional Tube Technique Department Of Transfusion Medicine*. April.
- Wahidiyat PA, Rahmartani LD, P. S. (2017). Pemakaian klinis produk darah pada kasus transfusi berulang. *RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo Divisi Hematologi-Onkologi, Departement Ilmu Kesehatan Anak*.
- World Health Organization. (2022). *Global status report on blood safety and availability, 2022*.
- Yayuningsih, D., Aristianti, A. R., Farihatun, A., Sukma, F., & Setiawan, D. (2020). RESULTS OF INTERNAL QUALITY CONTROL OF HbA1c EXAMINATION. *JURNAL KESEHATAN STIKes MUHAMMADIYAH CIAMIS*, 7(2), 44-50.

NATRIUM SITRAT 3,2% SEBAGAI ANTIKOAGULAN ALTERNATIF PEMERIKSAN HEMOGLOBIN PADA SPESIMEN DARAH AV-SHUNT PASIEN HEMODIALISA

Frisqila Amalia Rizka² · Gilang Nugraha^{1*}

¹Prodi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Jawa timur, Indonesia

e-Mail : gilang@unusa.ac.id
No Tlp WA : 082233441232

Abstract

EDTA and Sodium citrate 3.2% most frequently used anticoagulants in hematology. EDTA used in hemoglobin levels test, problems occur when EDTA specimens are not available. This research is aimed at finding out differences in the results of EDTA and 3.2% sodium citrate using a population of hemodialysis patients who are prone to anemia. If there is a significant difference in the hemoglobin levels obtained from the two anticoagulants mentioned, this will affect the diagnosis and therapy given. The samples was the blood of 28 hemodialysis patients with complications of anemia who were selected using the technique Purposive sampling that was collected in EDTA tubes and 3.2% sodium citrate obtained from AV-Shunt access and analyzed using Hematology analyzer. Blood collection from the AV-Shunt access is intended to maintain the comfort of patients who do not wish to be stabbed multiple times, thereby reducing the risk of problems occurring during sampling. The results showed that the average hemoglobin level in EDTA blood was 9.2 g/dL, while in 3.2% sodium citrate blood it was 9.3 g/dL. Statistical test results with Independent Sample T-test Based on these data, it can be concluded that there is no significant difference in the two blood hemoglobin levels of hemodialysis patients in EDTA tubes and 3.2% sodium citrate. 3.2% sodium citrate anticoagulant tube can be used as an alternative for AV-shunt blood hemoglobin examination in certain conditions. However, further research is still needed regarding the accuracy of the examination results.

Keywords : Anemia, Anticoagulants, Hemoglobin, EDTA, Sodium citrate 3.2%.

Abstrak

EDTA dan Natrium sitrat 3,2% merupakan antikoagulan paling sering digunakan di bidang hematologi. EDTA digunakan dalam pemeriksaan kadar hemoglobin, permasalahan dapat terjadi saat tidak tersedianya spesimen dengan antikoagulan tersebut. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil pada darah EDTA dan Natrium sitrat 3,2% saat digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan populasi pasien hemodialisa yang rentan mengalami kondisi anemia. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar hemoglobin yang didapat pada kedua antikoagulan yang disebutkan akan mempengaruhi diagnosa maupun terapi yang diberikan. Sampel penelitian ini merupakan darah pasien hemodialisa dengan komplikasi anemia sebanyak 28 orang yang dipilih menggunakan teknik *Purposive sampling*. Darah pasien ditampung dalam tabung EDTA dan Natrium sitrat 3,2% yang didapatkan dari akses AV-Shunt dan dianalisa menggunakan *Hematology analyzer*. Pengambilan darah dari akses AV-Shunt ditujukan demi menjaga kenyamanan pasien yang tidak berkenan dilakukan penusukan berkali-kali hingga mengurangi resiko terjadinya permasalahan saat sampling. Hasil pemeriksaan didapatkan rata-rata kadar hemoglobin darah EDTA sebesar

9,2 g/dL sedangkan pada darah Natrium sitrat 3,2% sebesar 9,3 g/dL. Hasil uji statistik dengan *Independent Sample T-test* pada data tersebut dapat disimpulkan tidak adanya perbedaan signifikan pada kedua kadar hemoglobin darah pasien hemodialisa pada tabung EDTA maupun Natrium sitrat 3,2%. Penggunaan tabung antikoagulan Natrium sitrat 3,2% dapat dijadikan alternatif untuk pemeriksaan hemoglobin darah AV-shunt dalam kondisi tertentu. Tetapi masih diperlukan penelitian lanjutan terkait akurasi hasil pemeriksaan tersebut.

Kata Kunci : Anemia, Antikoagulan, Hemoglobin, EDTA, Natrium sitrat 3,2%.

PENDAHULUAN

Kesalahan pada tahap pra analitik di laboratorium memiliki pengaruh terbesar pada hasil pemeriksaan dengan presentase mencapai 60-70% (Siregar *et al.*, 2018). Seperti halnya kesalahan dalam menentukan penggunaan tabung vacutainer yang tidak sesuai dengan pemeriksaan yang diminta (Sari, 2023). Antikoagulan merupakan zat aditif yang ditambahkan untuk mencegah pembekuan darah yang akan terjadi sehingga antikoagulan tersebut tetap menjaga reabilitas spesimen maupun validitas hasil dari suatu pemeriksaan (Fitria *et al.*, 2017).

Jenis yang paling sering digunakan untuk pemeriksaan hematologi yaitu antikoagulan *Ethylen Diamine Tetracetic Acid* (EDTA) untuk pemeriksaan darah lengkap, apusan darah maupun *Crossmatch test* dan Natrium sitrat (Na-sitrat) 3,2% untuk pemeriksaan *Prothombin Time* maupun *Activated Partial Thromboplastin Time* (Kiswari, 2014). Antikoagulan EDTA maupun Na-sitrat 3,2% memiliki mekanisme yang sama dalam mencegah pembekuan spesimen darah, yaitu dengan cara mengikat ion kalsium menjadi bentuk garam kalsium sehingga ion kalsium tersebut tidak dapat melakukan pengaktifan faktor-faktor koagulasi (Adrianus *et al.*, 2020).

Beberapa permasalahan yang dapat ditemukan terkait jenis antikoagulan tersebut dalam bidang hematologi seperti pada pemeriksaan hemoglobin (Hb) dalam situasi tertentu tidak tersedianya spesimen darah dengan jenis antikoagulan yang sesuai yaitu EDTA karena kesulitan flebotomi, permintaan mendadak atau berkaitan dengan aturan urutan tabung dalam pengambilan darah dalam mencegah terjadinya kontaminasi silang, dimana tabung Na-sitrat

3,2% ada pada urutan sebelum EDTA sehingga tidak didapatkannya darah EDTA (Strasinger *et al.*, 2016).

Terdapat penelitian yang membandingkan hasil pemeriksaan darah lengkap pada populasi normal atau sehat dengan menggunakan 3 jenis antikoagulan berbeda yaitu EDTA, Natrium sitrat 3,2% dan Heparin yang dilakukan oleh Putra & Hernaningsih, (2022). Perbedaan yang signifikan pada ketiga tabung hanya ditemukan pada parameter trombosit, dimana jumlah trombosit pada tabung heparin dan natrium sitrat 3,2% lebih rendah dibandingkan dengan jumlah trombosit pada tabung EDTA. Penelitian lain yang dilakukan oleh Dima *et al.*, (2020) yang membandingkan dua antikoagulan yaitu EDTA dan Natrium sitrat 3,2% juga didapatkan hasil dengan perbedaan yang signifikan pada parameter trombosit. Jumlah trombosit pada tabung natrium sitrat 3,2% didapatkan hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan tabung EDTA. Hal ini dapat disebabkan karena adanya adhesi ataupun mikro agregasi yang tidak terlihat oleh alat (Putra & Hernaningsih, 2022). Persamaan pada kedua penelitian ini, disebutkan bahwa parameter hemoglobin tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Terkait permasalahan tersebut perlu dilakukannya penelitian terkait penggunaan antikoagulan EDTA dan Na-sitrat 3,2% dalam hasil pemeriksaan kadar Hb dengan populasi berbeda yaitu pada populasi abnormal. Pada penelitian ini digunakan populasi abnormal yaitu pasien hemodialisa, pasien hemodialisa sering mengalami berbagai komplikasi salah satunya komplikasi hematologis seperti anemia (Utami *et al.*, 2020). Kondisi ini disebabkan karena menurunnya fungsi ginjal untuk produksi hormon eritropietin yang diperlukan dalam hematopoiesis sehingga kadar hemoglobin dalam darah juga mengalami penurunan (Amalia & Apriliani, 2021). Anemia pada pasien hemodialisa juga dapat disebabkan karena hal lain seperti adanya pendarahan tersembunyi (*occult blood loss*), kehilangan darah saat proses hemodialisis hingga seringnya pengambilan darah yang diperlukan untuk pemeriksaan laboratorium (Garini, 2018).

Evaluasi kadar hemoglobin pasien hemodialisa dengan komplikasi anemia

harus selalu dilakukan, pasien dengan kadar hemoglobin ≤ 7 g/dL memerlukan tindakan transfusi (Ladesvita & Mulyani, 2021). Transfusi darah juga harus dihentikan saat hemoglobin pasien sudah mencapai target yang diinginkan (7-9 g/dL) serta tidak direkomendasikan melebihi target (10-12 g/dL) karena terbukti tidak memberikan manfaat yang berarti (Ismatullah, 2015). Apabila hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pasien hemodialisa yang didapatkan pada kedua antikoagulan yang disebutkan memiliki perbedaan yang signifikan, hal ini akan menjadi salah satu kemungkinan kesalahan baik dalam diagnosa maupun terapi yang akan diberikan pada pasien tersebut (Dwitra, 2021).

Pada penelitian ini spesimen darah diambil melalui akses Arteriovenous Shunt (AV-Shunt) untuk kedua tabung antikoagulan yang digunakan. AV-shunt merupakan akses hemodialisis yang diperoleh dari tindakan pembedahan untuk menyambungkan arteri dan vena pada lengan pasien (Palin *et al.*, 2019). Pada beberapa rumah sakit pemilihan proses sampling pada akses AV-Shunt tersebut biasanya dipilih karena tidak memungkinkannya untuk sampling pada vena demi menjaga kenyamanan pasien karena penolakan pasien untuk dilakukan penusukan kedua kalinya. Sehingga pemilihan darah AV-Shunt dijadikan suatu kepraktisan dalam memperoleh spesimen darah pasien hemodialisa. Tetapi belum banyak penelitian tentang penggunaan spesimen darah tersebut dalam pemeriksaan hemoglobin. Terkait latar belakang permasalahan yang disebutkan, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pasien hemodialisa pada dua tabung antikoagulan yaitu EDTA dan natrium sitrat 3,2%.

BAHAN DAN METODE

Populasi penelitian ini merupakan pasien hemodialisa Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya bulan Mei 2023 dengan komplikasi anemia. Responden yang bersedia dan memenuhi kriteria dipilih dengan besar sampel ditentukan dengan rumus slovin sehingga didapatkan jumlah responden sebanyak 28 pasien. Setiap

pasien dilakukan pengambilan sampel darah pada akses selang *AV-Shunt* dan ditampung pada dua tabung yaitu EDTA sebanyak 3cc dan Natrium sitrat 3,2% sebanyak 1,8cc. Pemilihan populasi maupun sampel pada penelitian ini telah melewati proses uji layak etik yang sesuai standar instansi yang bersangkutan dengan nomor etik 052/KEPK-RSISJS/IV/2023.

Penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh dari analisis kadar Hb sampel darah kedua tabung yang didapat menggunakan *Hematology analyzer Celldyn Ruby*. Data hasil pemeriksaan kadar hemoglobin yang didapat dari kedua antikoagulan tersebut dilanjutkan pada uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk*. Data dengan distribusi normal ($p > 0,05$) diuji menggunakan *independent Sample T-test*. Apabila data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilakukan uji non parametrik dengan uji *Mann Whitney*. Jika hasil uji hipotesis tersebut memiliki $p\text{-value} > 0,05$ maka dinyatakan bahwa kadar hemoglobin pada kedua tabung dari hasil penelitian tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Sebaliknya, apabila $p\text{-value} < 0,05$ maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan yang signifikan.

HASIL

Responden atau pasien hemodialisa Rumah Sakit Jemursari Surabaya dengan komplikasi anemia pada penelitian ini didapatkan sebanyak 28 pasien yaitu 10 orang merupakan pasien perempuan dan 18 orang merupakan pasien laki-laki. Adapun karakteristik responden yang dikategorikan berdasarkan usia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik responden berdasarkan usia (N=28)

Usia	Frekuensi	Presentase %
Dewasa	8	28%
Lansia	17	61%
Manula	3	11%
Total	28	100

Pada Tabel 1 responden yang dikategorikan sesuai usia menurut perspektif

kesehatan oleh kemenkes tahun 2017 (Hakim, 2020), didapatkan presentase sebesar 28% pada rentang usia dewasa (26-45 tahun), 61% pada rentang usia lansia (46-65 tahun) dan 11% pada rentang usia manula (>65 tahun).

Pasien yang telah bersedia menjadi responden dan diambil darahnya, dilakukan pemeriksaan untuk mengetahui kadar hemoglobinnya. Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin sampel darah masing-masing pasien pada kedua tabung antikoagulan EDTA dan Natrium sitrat 3,2% dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan kadar Hemoglobin responden

Jenis Antikoagulan	N	Kadar Hemoglobin	
		Mean (g/dL)	SD
EDTA	28	9,2	1,81
Na Sitrat 3,2%	28	9,3	1,65

Tabel diatas menunjukkan kadar hemoglobin seluruh sampel pasien mengalami anemia dengan nilai normal pemeriksaannya yaitu <13,2 g/dL pada pasien laki-laki dan <11,7 g/dL untuk pasien perempuan. Dari tabel tersebut dapat dijelaskan bahwa nilai rerata sampel tabung EDTA sebesar 9,2 g/dL dengan standar deviasi sebesar 1,81 dan pada sampel tabung Na-sitrat 3,2% didapatkan nilai rerata 9,3 g/dL dengan standar deviasi sebesar 1,65.

Tabel 3. Hasil uji statistik *Independent samples T-test*

Df	<i>p-value</i>	Keterangan
54	0,856	Tidak terdapat perbedaan

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada kedua kadar hemoglobin baik pada tabung EDTA dan natrium sitrat 3,2% dengan *p-value* >0,05 yaitu sebesar 0,856 yang menunjukkan bahwa H0 diterima yang menyatakan tidak adanya perbedaan dan H1 ditolak yang menyatakan adanya perbedaan.

DISKUSI

Sebanyak 28 pasien yang bersedia menjadi responden penelitian ini didapatkan 8 orang dengan kategori usia dewasa, 17 orang lansia dan 3

merupakan pasien dengan kategori usia manula. Berdasarkan hasil pemeriksaan menggunakan *Hematology analyzer Celldyn Ruby* didapatkan rata-rata kadar hemoglobin pasien sebesar 9,2 g/dL ($\pm 1,81$) pada tabung EDTA dan 9,3 g/dL ($\pm 1,65$) pada tabung Natrium sitrat 3,2%. Keseluruhan data yang didapat, dilakukan uji statistik atau *Independent Sample T-test* menggunakan *software* SPSS. Hasil uji menunjukkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada kedua tabung yaitu EDTA dan Natrium sitrat 3,2% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan *p-value* = 0,856.

Hasil tersebut selaras dengan penelitian yang dilakukan Putra & Hernaningsih, (2022) dan Dima *et al.*, (2020) yang menggunakan populasi sehat, dimana hasil pemeriksaan kadar hemoglobinnya tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada tabung antikoagulan yang digunakan yaitu EDTA dan Natrium sitrat 3,2%. Zat antikoagulan EDTA dan Natrium sitrat 3,2% yang ditambahkan pada tabung vacutainer akan bekerja dalam menghambat pembentukan bekuan spesimen darah dengan kinerja yang sama. Kedua antikoagulan ini akan mengikat ion kalsium menjadi bentuk garam kalsium yang nonaktif sehingga faktor koagulasi seperti prothombin yang terdapat dalam darah tidak akan berikatan dan membentuk trombin yang akan mengaktifkan fibrinogen dan membentuk benang fibrin (Nugraha, 2017).

Mekanisme kerja antikoagulan EDTA maupun Natrium sitrat 3,2% tersebut tidak mempengaruhi kadar hemoglobin yang ada pada sel eritrosit. Antikoagulan yang mengikat faktor pembekuan akan menjaga komponen darah seperti profil eritrosit tetap stabil dalam waktu <4 jam setelah sampling dan harus segera dilakukan pemeriksaan (Nugraha, 2022).

Terkait penggunaan spesimen darah AV-Shunt pada penelitian ini masih perlu dilakukan uji lanjutan untuk membandingkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin antara spesimen darah vena dan AV-Shunt tersebut. Meskipun terdapat penjelasan oleh Ghanem *et al.*, (2018) bahwa kondisi setelah pemasangan AV-Shunt akan mempengaruhi beberapa parameter pemeriksaan

seperti hemoglobin hingga ureum pada 8-12 minggu pasca proses pembedahan. Sebayang & Hidayat, (2020) juga memaparkan setelah waktu tersebut kondisi akan kembali normal, oleh karena itu proses hemodialisa pada pasien yang dilakukan pemasangan AV-Shunt harus menunggu proses maturasi internal jaringan pasca operasi.

Konsentrasi antikoagulan EDTA cair yang digunakan dalam sampel darah umumnya sebesar 10% atau setara dengan 10 μ l EDTA dalam 1 ml darah dengan jumlah total darah yang tertampung pada tabung sebanyak 3cc. Sedangkan natrium sitrat 3,2% pada tabung vacutainer memiliki volume total darah yang dapat ditampung sebanyak 2,7cc dengan perbandingan 1 bagian antikoagulan natrium sitrat 3,2% dan 9 bagian darah (Nugraha, 2017). Adanya perbedaan tersebut dapat menjadi kekurangan penelitian karena menyebabkan kemungkinan pengenceran darah pada kedua tabung. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait akurasi pemeriksaan hingga terkait perbedaan sampel darah yang digunakan antara sampel darah vena dengan darah AV-shunt.

KESIMPULAN

Kadar hemoglobin pada sampel darah AV-shunt pasien hemodialisa yang mengalami anemia baik dengan antikoagulan EDTA maupun natrium sitrat 3,2% tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Natrium sitrat 3,2% dapat dijadikan alternatif dalam pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan darah AV-shunt.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada perawat Ruang Hemodialisa dan petugas laboratorium Patologi Klinik RSI Jemursari Surabaya yang telah banyak membantu secara teknis dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak adanya konflik kepentingan dari awal penulisan hingga hasil penelitian ini didapatkan.

REFRENSI

- Adrianus, O. (2020). *Hematologi : Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta : EGC
- Amalia, A., & Apriliani, N. (2021). Analisis Efektivitas Single Use dan Reuse Dialyzer pada Pasien Gagal Ginjal Kronik di RSUD Mardi Waluyo Kota Blitar. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(5), 679-686.
- Dima, F., Salvagno, G. L., Danese, E., Veneri, D., & Lippi, G. (2020). An unusual case of sodium citrate-dependent artifactual platelet count. *Interventional Medicine and Applied Science*, 11(3), 193-196. <https://doi.org/10.1556/1646.11.2019.24>
- Dwitra, F. D. P. H. (2021). Gambaran Kadar Hemoglobin Pasien Gagal Ginjal Kronik Sesudah Melakukan Hemodialisis. *Jurnal Medika Hutama*, 2(4), 1040-1046. <https://jurnalmedikahutama.com/index.php/JMH/article/view/212/140>
- Fitria, L., Illiy, L. L., & Dewi, I. R. (2017). Pengaruh Antikoagulan dan Waktu Penyimpanan Terhadap Profil Hematologis Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar. *Biosfera*, 33(1), 22. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2016.33.1.321>
- Garini, A. (2018). Kadar Hemoglobin Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Hemodialisis. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, 13(2), 111-116. <https://doi.org/10.36086/jpp.v13i2.234>
- Ghanem, S., Somogyi, V., Tanczos, B., Szabo, B., Deak, A., & Nemeth, N. (2018). Modulation of micro-rheological and hematological parameters in the presence of artificial carotid-jugular fistula in rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 71(3), 325-335. <https://doi.org/10.3233/CH-180411>
- Hakim, L. N. (2020). The Urgency of The Elderly Welfare Law Revision. *Aspirasi: Jurnal Masalah-Masalah Sosial*, 11(1), 43-55. <https://doi.org/10.22212/aspirasi.v11i1.1589>

- Ismatullah, A. (2015). Manajemen Terapi Anemia pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Manage. *Jurnal Kedokteran UNLA*, 4, 7-12. <https://jke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/medula/article/download/775/pdf>
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi*. Erlangga.
- Ladesvita, F., & Mulyani, L. (2021). Hubungan Laju Filtrasi Glomerulus Dengan Kadar Hemoglobin Dan Kalsium Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Hemodialisis. *Indonesian Journal of Health Development*, 3(2), 272-284. <https://doi.org/10.52021/ijhd.v3i2.101>
- Nugraha, G. (2017). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium : Hematologi Dasar*. Trans Info Media.
- Nugraha, G. (2022). Teknik Pengambilan dan Penanganan Spesimen Darah Vena Manusia untuk Penelitian. In *Teknik Pengambilan dan Penanganan Spesimen Darah Vena Manusia untuk Penelitian*. <https://doi.org/10.14203/press.345>
- Palin, A. W., Tjandra, D. E., & Sumangkut, R. M. (2019). Korelasi Blood Flow Rate Intraoperasi dan Enam Minggu Pascaoperasi Arteriovenous Fistula Brakiosefalika Dihubungkan dengan Maturitas di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 11(2), 123-130. <https://doi.org/10.35790/jbm.11.2.2019.23325>
- Putra, A. A. M. S., & Hernaningsih, Y. (2022). Comparison of Complete Blood Count Parameters using EDTA, Sodium Citrate, and Heparin Anticoagulants. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(10), 4687-4691. <https://doi.org/10.52711/0974-360x.2022.00786>
- Sari, I. (2023). Edukasi Pengaruh Volume Sampel Darah pada Teknik Flebotomi terhadap Pemeriksaan Laboratorium. 5(April), 116-123.
- Sebayang, A. N. O., & Hidayat, N. A. (2020). Arteriovenous Shunt (AV Shunt) Sebagai Akses Hemodialisis Pada Pasien Chronic Kidney Disease (CKD). *JIMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 8(2), 111-116. <https://doi.org/10.53366/jimki.v8i2.102>
- Siregar, M. tuntun, Wulan, W. S., Setiawan, D., & Nuryati, A. (2018). *Bahan Ajar TLM : Kendali Mutu*. Departemen Kesehatan RI.
- Strasinger, S. K., Lorenzo, M. S., Barrid, B., & Ester, M. (2016). *Intisari Flebotomi : Panduan Pengambilan Darah*. EGC.
- Utami, I. A. A., Santhi, D. G. D. D., & Lestari, A. A. W. (2020). Prevalensi dan

komplikasi pada penderita gagal ginjal kronik yang menjalani hemodialisa di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar tahun 2018. *Intisari Sains Medis*, 11(3), 1216-1221. <https://doi.org/10.15562/ism.v11i3.691>

LIMBAH AMPAS TAHU SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF PERTUMBUHAN BAKTERI GRAM NEGATIF

Prima Nanda Fauziah^{1*}, Rahmawati Tri Handayani¹, Syarifah Miftahul El Jannah², Imas Latifah¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kesehatan, Universitas Mohammad Husni Thamrin, DKI Jakarta, Indonesia

²Poltekes Kemenkes II, DKI Jakarta, Indonesia

e-Mail: primanandafauziah@gmail.com

No Tlp WA : +62 857 2136 8609

Abstract

*The high price of media and the lack of awareness regarding the potential economic value of tofu dregs has prompted researchers to find innovations in the utilization of tofu dregs as an alternative media product for bacterial growth. This study aims to determine the ability of alternative tofu dregs media to grow Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), as well as to analyze the number of colonies and characteristics of Gram-negative bacteria in alternative tofu dregs media. The study was conducted using experimental methods in the laboratory using concentration levels of tofu dregs media 1%, 2%, 3%, 4% and 5%. The results of counting the number of colonies showed that the number of *Escherichia coli* ATCC 25922 colonies on tofu dregs media concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, 5% respectively were 64, 86, 105, 165, 171; the number of *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 colonies in tofu dregs media with concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, 5% respectively were 37, 55, 72, 89, 125; and the number of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 colonies in tofu dregs media with concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, 5% was 45, 78; 84; 150; 164. Colony characteristics of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 on alternative tofu waste media are in accordance with the control but the colony size is smaller. Characteristics of Gram staining observations found Gram negative, bacilli, monobacilli, red. Based on the ANAVA test, the result was 0.0031 ($P < 0.005$). Duncan's test showed that the minimum concentration of tofu dregs that could grow the three Gram-negative bacteria was a concentration of 3%. However, the optimum concentration of tofu pulp media that is good for the growth of the three Gram-negative bacteria in this study is a concentration of 5%. In conclusion, Gram negative bacteria are able to grow on alternative media of tofu waste. However, further research needs to be carried out so that alternative media for tofu dregs waste become a common medium for bacterial growth that is more environmentally friendly at an affordable price.*

Keywords: *Alternative media, bacteria, Gram-negative, tofu-dreg*

Abstrak

Mahalnya harga media serta minimnya kesadaran terkait potensi nilai ekonomi limbah ampas tahu mendorong peneliti untuk menemukan inovasi pemanfaatan limbah ampas tahu menjadi produk media alternatif pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan media alternatif ampas tahu dalam menumbuhkan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), serta menganalisa jumlah koloni dan karakteristik bakteri Gram negatif pada media alternatif ampas tahu. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental di laboratorium menggunakan tingkatan konsentrasi media ampas tahu 1%, 2%, 3%, 4% dan 5%. Hasil hitung jumlah koloni didapatkan jumlah *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media ampas tahu konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5% secara berurutan adalah 64, 86,

105, 165, 171; jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 pada media ampas tahu konsentrasi 1%, 2%,3%,4%,5% secara berurutan adalah 37, 55, 72, 89, 125; dan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media ampas tahu konsentrasi 1%, 2%,3%,4%,5% adalah 45, 78; 84; 150; 164. Karakteristik koloni *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media alternatif ampas tahu sesuai dengan kontrol namun ukuran koloni lebih kecil. Karakteristik pengamatan pewarnaan Gram didapatkan Gram negatif, basil, monobasil,merah. Berdasarkan uji ANAVA didapatkan hasil 0,0031 ($P < 0,005$). Uji Duncan menunjukkan hasil konsentrasi ampas tahu minimum yang dapat menumbuhkan ketiga bakteri Gram negatif tersebut adalah konsentrasi 3%. Namun, konsentrasi optimum media ampas tahu yang baik untuk pertumbuhan ketiga bakteri Gram negatif pada penelitian ini adalah konsentrasi 5%. Simpulan, bakteri Gram negatif mampu tumbuh pada media alternatif limbah ampas tahu. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar media alternatif limbah ampas tahu menjadi media umum untuk pertumbuhan bakteri yang lebih ramah lingkungan dengan harga terjangkau.

Kata Kunci : Ampas tahu, bakteri, Gram negatif, media alternatif

PENDAHULUAN

Bakteri membutuhkan suatu media pertumbuhan yang dapat memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkannya. Nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^{+} , K^{+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} dan Fe, Vitamin air, dan energi (Danela, S., dkk, 2019). Media umum digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di laboratorium seperti bakteri adalah media *Nutrient Agar* (NA) atau *Plate Count Agar* (PCA) dan media selektif seperti *Mac Conkey Agar* (MCA). Mahalnya harga media, pemanfaatan limbah yang kurang maksimal, kandungan nutrisi yang masih ada di dalam ampas tahu, serta potensi memanfaatkan limbah yang menguntungkan sebagai media alternatif pertumbuhan mikroorganisme. Mendorong para peneliti untuk menemukan inovasi dari bahan-bahan yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Bahan yang digunakan harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri seperti karbohidrat dan protein (Juariah, S., dkk, 2018).

Penelitian terdahulu menemukan potensi protein dari sisa makanan dan tanaman untuk media alternatif pertumbuhan bakteri, namun masih harus diteliti lebih lanjut. Kacang kedelai (*Glycine max L. Merr*) merupakan bahan dasar pengolahan tahu, tempe, kecap dan produk olahan lainnya. Salah satu makanan populer dikalangan masyarakat Indonesia adalah tahu. Proses produksi

tahu berasal dari sari kacang kedelai (*Glycine max L. Merr*) yang diolah dengan cara penggilingan, pemanasan dan penyaringan guna memanfaatkan sifat protein yang akan menggumpal bila bereaksi dengan asam disertai pengaruh tekanan dalam proses pembuatannya (Marlien, R. A., dkk, 2020). Produk olahan dari kacang kedelai (*Glycine max L. Merr*) sangat beragam dan bernilai gizi tinggi yakni sebagai sumber protein nabati, lemak, vitamin A, E, K serta beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, dan Zn (Danela, S., dkk, 2019). Berdasarkan riwayat catatan Badan Pusat Statistik (BPS) 2021 di Indonesia, sekitar 87% kacang kedelai (*Glycine max L. Merr*) digunakan untuk produksi bahan pangan kebutuhan akan produk pangan olahan kacang kedelai (*Glycine max L. Merr*) akan meningkat seiring bertambahnya jumlah penduduk serta permintaan para konsumennya.

BPS (2021) menyebutkan bahwa prediksi rata-rata konsumsi tahu di Indonesia pada tahun 2020-2022 sebesar 8,13 kg/kapita/tahun. Angka tersebut bisa dikatakan bukanlah angka yang sedikit, banyaknya angka rata-rata konsumsi akan berpengaruh terhadap produksi tahu yang meningkat pula. Sehingga limbah dari pembuatan tahu secara tidak langsung akan ikut meningkat keberadaannya. Oleh sebab itu momentum yang sangat tepat ini perlu dijadikan sebagai landasan awal untuk terciptanya inovasi agar limbah produksi tahu yang berasal dari produksi pembuatan tahu bisa memiliki nilai jual dan menjadi hal yang lebih bermanfaat. Dalam proses pembuatan tahu tidak hanya menghasilkan produk akhir berupa tahu akan tetapi juga menghasilkan produk sampingan yakni limbah cair dan limbah padat (ampas tahu). Kandungan gizi pada ampas tahu cukup lengkap dan dapat diolah menjadi sesuatu hal yang lebih berguna. Menjadikan seringkali ampas tahu yang berasal dari produksi tahu dimanfaatkan sebagai pakan ternak yang bernilai ekonomis dalam segi gizi bagi hewan ternak. Aktivitas produksi tahu membuat ketersediaan limbah ampas tahu menjadi melimpah dan sayang rasanya apabila tidak dimanfaatkan dengan optimal. Di dalam ampas tahu terdapat kandungan serat yang tinggi yaitu 28,4 gram, kalium 21,5 mili gram (Brilliant 2018), protein 10,80% (Yustina, I., dkk 2020). Hal

tersebut bisa dikaitkan dengan pemanfaatan ampas tahu sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri (mikroorganisme).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim Daffa Samudera tahun 2020 menyatakan pertumbuhan bakteri menggunakan media alternatif ampas tahu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh di media tersebut. Penelitian serupa yang dilakukan Rindi Antika Putri tahun 2021 menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* terjadi di media alternatif ampas tahu.

Pada peneliti sebelumnya yang dilakukan oleh Siti Danela,dkk (2019) yakni bahan kacang kedelai yang dijadikan tepung kacang kedelai dapat digunakan sebagai alternatif sumber protein dalam pembuatan media *Nutrient Agar Plate* (NAP). Hal tersebut dapat dibuktikan dengan tumbuhnya koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media alternatif kacang kedelai dengan variasi konsentrasi yaitu 2%, 3%, 4%, 5% dan waktu inkubasi dalam waktu 24 jam dan 48 jam. Walaupun terjadi perbedaan karakteristik pengamatan pertumbuhan koloni pada media yang seharusnya yakni media *Natrium Agar* (NA). Berdasarkan uraian diatas keberadaan protein nabati yang terkandung di dalam tepung ampas tahu dapat digunakan menjadi sumber protein untuk pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian tentang pemanfaatan limbah ampas tahu sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri Gram negatif. Penelitian ini bertujuan untuk untuk mengetahui kemampuan media alternatif ampas tahu dalam menumbuhkan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), serta menganalisa jumlah koloni dan karakteristik bakteri Gram negatif pada media alternatif ampas tahu.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode cawan agar sebar (*Spread Plate*), yaitu media terlebih dahulu dituang kedalam cawan petri hingga mengeras. Selanjutnya, larutan sampel dipipet sebanyak 0,1 ml secara aseptis diletakkan di atas media dan diratakan pada permukaan media Agar menggunakan *Spreader*

atau batang L. Alasan peneliti menggunakan metode ini dikarenakan ada salah satu bakteri uji Gram negatif yang bersifat obligat aerobik, yaitu *Pseudomonas aeruginosa*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu NaCl fisiologis 0,9% steril, Aquadest, Bakteri: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Tepung ampas tahu, *Agar Powder Microbiology*, MCA, Alkohol 70%, Spirtus, BaCl 1% dan H₂SO₄ 1%. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ampas tahu yang diambil dari limbah produksi tahu di industri rumahan milik “Home Industri Tahu Ciracas” di daerah Poncol, Ciracas Jakarta Timur.

Data yang didapat di dalam penelitian ini adalah menggunakan data primer berdasarkan uji eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Mohammad Husni Thamrin. Penelitian ini dilakukan dengan cara menambahkan tepung ampas tahu dengan beberapa tingkatan konsentrasi dengan *Agar Powder Microbiology*. Kemudian tahapan penanaman bakteri disesuaikan dengan standar kerapatan kuman 0,5 McFarland dengan jumlah koloni berkisar $1,5 \times 10^8$ sel/ml, Selanjutnya standar kerapatan kuman tersebut menjadi acuan awal proses pengenceran suspensi kuman yang akan ditanamkan ke media pertumbuhan bakteri di penelitian ini. Sehingga diharapkan jumlah koloni yang tumbuh berkisar 10^2 koloni. Hal ini dilakukan karena faktor kondisi yang kurang memungkinkan yang dialami oleh peneliti yakni kesulitan mengamati pertumbuhan koloni apabila tidak diencerkan dan sifat dari ketiga bakteri Gram negatif tersebut yang tumbuh menjalar sulit terpisah antar koloni. Kemudian koloni yang tumbuh dihitung dari masing masing media ampas tahu dan setelah itu dilakukan pembuatan preparat Gram untuk selanjutnya diamati gambaran mikroskopisnya. Variasi konsentrasi sampel terdiri dari 5 tingkatan 1%, 2%, 3%, 4%, 5%. Pengulangan sampel menggunakan Rumus *Federer* untuk *Randomize Block Design*.

HASIL

Pada penelitian ini dilakukan uji pertumbuhan koloni bakteri Gram negatif yang meliputi: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media limbah ampas tahu dengan 5 konsentrasi yaitu 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% (media uji) media MCA sebagai media kontrol. Terhadap media uji dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali dan dianalisa hasil pertumbuhan bakteri, selanjutnya dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri pada media kontrol. Hasil pertumbuhan bakteri pada media kontrol (PDA) dan media uji secara makroskopis dan mikroskopis ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pertumbuhan tiga bakteri Gram negatif pada media kontrol (MCA) dan Media Uji (Limbah Ampas Tahu) Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Hasil Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis				
No	Media	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
1	MCA (Kontrol)	Koloni bulat, diameter 3 mm, warna merah muda, cembung, kering	Koloni bulat, diameter 4 mm, warna merah muda, cembung, basah	Koloni bulat, diameter 3 mm, warna merah muda, cembung, basah
		Gram negatif kokobasil	Gram negatif kokobasil	Gram negatif basil
2	Media Limbah Ampas Tahu 1%	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, kering	Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, basah	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, basah
		Gram negatif kokobasil	Gram negatif kokobasil	Gram negatif basil
3	Media Limbah Ampas Tahu 2%	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, kering	Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, basah	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, basah
		Gram negatif kokobasil	Gram negatif kokobasil	Gram negatif

			basil
4	Media Limbah Ampas Tahu 3%	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, kering Gram negatif kokobasil	Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif kokobasil
			Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif basil
5	Media Limbah Ampas Tahu 4%	Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, kering Gram negatif kokobasil	Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif kokobasil
			Koloni bulat, diameter 1 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif basil
6	Media Limbah Ampas Tahu 5%	Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, kering Gram negatif kokobasil	Koloni bulat, diameter 3 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif kokobasil
			Koloni bulat, diameter 2 mm, warna merah muda, cembung, basah Gram negatif basil

Pertumbuhan ketiga bakteri Gram negatif pada media kontrol MCA seperti pada Tabel 1, memiliki banyak persamaan dengan koloni yang tumbuh pada media alternatif limbah ampas tahu. Namun, terdapat perbedaan di ukuran koloni. Ukuran koloni pada media kontrol lebih besar dibandingkan pada media uji. Hasil analisis statistika ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis ANAVA dan Dilanjutkan Duncan

Hasil Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis				
No	Ampas Tahu	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
1	Media Limbah Ampas Tahu 1%	<i>p-value</i> 0,0031	<i>p-value</i> 0,0031	<i>p-value</i> 0,0031
2	Media Limbah Ampas Tahu 2%			
3	Media Limbah Ampas Tahu 3%			
4	Media Limbah Ampas Tahu 4%			
5	Media Limbah Ampas Tahu 5%			

Berdasarkan uji ANAVA didapatkan hasil 0,0031 ($P < 0,005$). Uji Duncan menunjukkan hasil konsentrasi ampas tahu minimum yang dapat menumbuhkan ketiga bakteri Gram negatif tersebut adalah konsentrasi 3%. Namun, konsentrasi optimum media ampas tahu yang baik untuk pertumbuhan ketiga bakteri Gram negatif pada penelitian ini adalah konsentrasi 5%.

DISKUSI

Pada media ampas tahu diameter koloni umumnya lebih kecil dikarenakan, tepung ampas tahu mengandung protein sebesar 10,8%, kadar air 5,74%, lemak 14,49%, abu 9,02% dan karbohidrat 59,95%, sedangkan kandungan protein pada media MCA memiliki kandungan protein dan sumber karbon yang sangat kompleks untuk pertumbuhan bakteri, sehingga proses metabolisme bakteri berlangsung optimal. Nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme yaitu karbon, nitrogen, unsur nonlogam (sulfur, fosfor), unsur

logam (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Fe^{3+}), vitamin, air, energi. Bakteri agar dapat berkembang biak harus mendapatkan nutrisi yang mengandung sumber karbon dan nitrogen. Karbon merupakan substrat utama untuk metabolisme bakteri, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber nutrisi bakteri. Sumber karbon dapat diperoleh dari karbohidrat, protein dan lemak. Kandungan nutrisi tersebut dapat menyebabkan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tumbuh pada media ampas tahu meskipun ukurannya tidak konsisten dibanding dengan media MCA dikarenakan jenis protein pada ampas tahu dan MCA berbeda (Juriah, dkk, 2018).

Jenis protein yang terkandung di dalam tepung ampas tahu tergolong protein nabati dan pada media MCA tergolong sebagai protein hewani. Pada media MCA terdapat asam amino esensial yang umum digunakan bakteri Gram negatif sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya sedangkan pada media alternatif ampas tahu terkandung protein nabati yang terbukti dapat dipergunakan bakteri Gram negatif sebagai sumber karbon untuk menopang pertumbuhannya. Pada media ampas tahu terdapat asam amino esensial lisin, metionin dan mineral yang dapat dipergunakan sebagai sumber karbon untuk nutrisi pertumbuhannya (Yustina, I., dkk 2020).

Pada saat penelitian ini berlangsung terdapat keterbatasan penelitian yaitu lama nya waktu pembuatan tepung ampas tahu mulai dari pengeringan hingga penyaringan (pengayakan) partikel tepung ampas tahu. Kemudian masih ditemukan pertumbuhan koloni yang tidak terpisah, koloni tidak tersebar rata dan menumpuk. Teknik inokulasi yang kurang maksimal bisa menjadi faktor pencetus terjadinya hal tersebut dalam hal ini peneliti menggunakan metode *Spread plate*. Timbulnya pigmen hijau pada media ampas tahu membuktikan bahwa pigmen khas Pyocyanin (Biru- hijau) dapat larut dalam agar dan dapat didistribusikan ke dalam media ampas tahu. Ini merupakan bukti potensial media alternatif ampas tahu sebagai media alternatif untuk mencari keberadaan bakteri Gram negatif, termasuk *Pseudomonas aeruginosa*. Namun tetap perlu

adanya tahapan lebih lanjut (uji biokimia) untuk memastikan hasil yang sudah didapat dari media alternatif ampas tahu tersebut.

KESIMPULAN

Bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) mampu tumbuh pada media alternatif limbah ampas tahu. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar media alternatif limbah ampas tahu menjadi media umum untuk pertumbuhan bakteri yang lebih ramah lingkungan dengan harga terjangkau.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Anggraeni, D. N., & Rahmiati, R. (2016). Pemanfaatan Ampas Tahu Sebagai Pakan Ikan Lele (*Clarias batrachus*) Organik. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(1), 53-57.
- Badan Pusat Statistik Indonesia.(2021) diakses pada 2 Agustus 2023 dari <https://bps.go.id>.
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New microbes and new infections*, 34, 100622.
- Danela, S., Gede, L. S., & Ariami, P. (2019). Kacang Kedelai Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Analisis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), 73-80.
- Fadlun A., Firdauz M & Ariyanti, V. (2015). "Pelor Pasta"(Pelet Organik Ampas Tahu) Peluang Usaha Hasil Pemanfaatan Limbah Ampas Tahu di Desa Tempel

- Sari, Wonosobo. PKM-Kewirausahaan, Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Juariah, S., & Sari, W. P. (2018). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus sp.* . *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, 6(1), 24-29.
- Marlien, R. A., Poerwati, T., & Prabowo, R. E. (2020). Pelatihan Pemanfaatan Limbah Ampas Tahu Menjadi Pelet Ikan Untuk Meningkatkan Laba Usaha Pabrik Tahu di Desa Sijeruk, Kecamatan Sragi, Kabupaten Pekalongan. *Jurnal Penamas*, 4(2), 99-105.
- Maysura, M. D., Rangkuti, K., & Fuadi, M. (2019). Pemanfaatan Limbah Ampas Tahu Dalam Upaya Diversifikasi Pangan. *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(2), 52-54.
- Suhartati, R. (2018). Pemanfaatan Serbuk Kacang Kedelai (*Glycine max*) Sebagai Bahan Pembuatan Media Manitol Salt Agar (MSA) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*. In *Prosiding Seminar Nasional dan Penelitian Kesehatan 2018* (Vol. 1, No. 1).
- Ulinuha, I. (2021). Campuran Tepung Singkong (*Manihot Escullenta Crantz*) Dan Tepung Kacang Kedelai (*Glycine max (L) Merr.*) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Eschericia coli ATCC 25922* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta).
- Yustina, I., Istiqomah, N., & Abadi, F. R. (2020). Some Physical Characteristics and Protein Content of Soybean for Instant Soymilk. *agriTech*, 40(2), 102-109.

HUBUNGAN KADAR HbA1C DENGAN NILAI LAJU ENDAP DARAH PADA PENDERITA DIABETES MELITUS DI RSUD HAJI PROVINSI JAWA TIMUR

Kholisoh Tri Febriana¹ · Ellies Tunjung Sari Maulidiyanti^{2*} · Rahma Widyastuti³ · Rinza Rahmawati⁴ · Waras Budiman⁵

¹Teknologi Laboratorium Medis, FIK, UM Surabaya, Jawa Timur, Indonesia
e-Mail : kholisohtri19@gmail.com
No Tlp WA : 082334283352

Abstract

HbA1c is a metabolic control parameter in Diabetes Mellitus (DM) sufferers to reduce the risk of cardiovascular complications. Vascular complications in DM sufferers are caused by atherosclerosis. This can occur due to hyperglycemia and inflammation which is characterized by increased fibrinogen levels and causes Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) values to increase. The aim of this study was to determine the relationship between HbA1c and Erythrocyte Sedimentation Rate values in DM sufferers. This research method is observational analytical. The research sample was 35 samples of DM patients who underwent examinations at the Haji Hospital, East Java Province. The data analysis technique uses the Shapiro-Wilk normality test followed by a statistical significant difference test. The research results showed that the average HbA1c value was 8.5%, the average normal ESR was 16 mm/hour, and the average abnormal ESR of 62 mm/hour. The correlation test results show $\text{sig } 0.453 > 0.05$. the conclusion of this study is that there is no relationship between HbA1c and the ESR value. which states that there is no relationship between the two.

Keywords : Diabetes Mellitus, HbA1c, ESR

Abstrak

HbA1c merupakan parameter kontrol metabolik pada penderita Diabetes Mellitus (DM) untuk mengurangi resiko terjadinya komplikasi kardiovaskuler. Komplikasi vaskuler pada penderita Diabetes mellitus disebabkan oleh aterosklerosis. Hal ini dapat terjadi karena hiperglikemia dan inflamasi yang ditandai dengan peningkatan kadar fibrinogen dapat menyebabkan nilai Laju Endap Darah (LED) meningkat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan HbA1c dengan nilai laju endap darah pada penderita diabetes mellitus. Metode penelitian ini adalah observasional analitik. Sampel penelitian sebanyak 35 pasien diabetes mellitus yang melakukan pemeriksaan di RSUD Haji Provinsi Jawa Timur. Teknik analisis data menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk yang dilanjutkan dengan uji statistik beda bermakna. Hasil penelitian didapatkan nilai rata-rata HbA1c 8,5%, rata-rata LED normal 16 mm/jam, dan rata-rata LED tidak normal 62 mm/jam. Hasil uji korelasi menyatakan $\text{sig } 0,453 > 0,05$. Kesimpulan penelitian ini adalah tidak ada hubungan antara HbA1c dengan Nilai Laju Endap Darah.

Kata Kunci : Diabetes Mellitus, HbA1c, LED

PENDAHULUAN

Pada 2021, *International Diabetes Federation (IDF)* mencatat 537 juta orang dewasa (umur 20-79 tahun) atau 1 dari 10 orang hidup dengan diabetes di

seluruh dunia. Diabetes juga menyebabkan 6,7 juta kematian atau 1 kematian tiap 5 detik. Tiongkok menjadi negara dengan jumlah orang dewasa pengidap diabetes terbesar di dunia. Sebanyak 140,87 juta penduduk Tiongkok hidup dengan diabetes pada 2021. Selanjutnya, India tercatat memiliki 74,19 juta pengidap diabetes, Pakistan memiliki 32,96 juta pengidap diabetes, dan Amerika Serikat memiliki 32,22 juta pengidap diabetes. Indonesia berada di posisi kelima dengan jumlah pengidap diabetes sebanyak 19,47 juta penduduk. Dengan jumlah total penduduk sebanyak 179,72 juta, ini berarti prevalensi diabetes di Indonesia sebesar 10,6% (Pahlevi et al., 2021).

Pada pasien Diabetes Melitus (DM) dapat terjadi komplikasi vaskuler yang disebabkan oleh disfungsi endotel dan berlanjut menjadi aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan proses inflamasi kronis yang terjadi karena adanya penumpukan lemak pada pembuluh darah. Aterosklerosis pada penderita DM dapat terjadi karena hiperglikemia dan inflamasi. Hal ini ditandai dengan meningkatnya kadar fibrinogen yang dapat mempercepat pembentukan rouleaux dan menyebabkan nilai Laju Endap Darah (LED) meningkat (Sitepu, 2018).

Inflamasi berperan penting dalam patogenesis DM. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Guo et al, 2020 bahwa LED secara independen berkaitan dengan tingkat dan keparahan komplikasi pada pasien DM. Selain itu, penelitian Bikramjit et al, 2017 menyebutkan bahwa pasien dengan kadar HbA1c dan LED yang tinggi menyebabkan tingginya resiko untuk dilakukan amputasi ekremitas bawah. Oleh sebab itu nilai HbA1c sangat mempengaruhi LED terutama pada penderita DM (Nita et al, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Aliviameita et al., (2021) juga menunjukkan terdapat hubungan yang signifikan antara LED dan glukosa darah. Hal ini menandakan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara inflamasi dan kontrol glikemik pada penderita DM.

Pemantauan status glikemik pada penderita DM dapat dilakukan dengan pemeriksaan HbA1c, dimana akan dilakukan suatu pengukuran protein terglikasi HbA1c dan akan diketahui kualitas pengendalian gula darah dalam jangka waktu 2-3 bulan. Hal ini dilakukan untuk mengurangi resiko terjadinya komplikasi kardiovaskuler dan meningkatkan kualitas hidup penderitanya (Supri, 2016).

Pemeriksaan HbA1c dan LED pada penderita DM merupakan pemeriksaan rutin yang dilakukan di laboratorium rumah sakit khususnya di Laboratorium RSUD Haji Provinsi Jawa Timur. Keterangan diatas sesuai dengan tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui hubungan kadar HbA1c dengan nilai laju endap darah dengan jumlah sampel dan metode yang berbeda dari penelitian terdahulu.

BAHAN DAN METODE

Populasi pada penelitian ini adalah penderita DM yang melakukan pemeriksaan HbA1c dan LED di Laboratorium RSUD Haji Provinsi Jawa Timur. Sampel terdiri dari 35 sampel dengan kriteria pasien yang melakukan pemeriksaan HbA1c dan LED dan usia diatas 30 tahun. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan HbA1c adalah darah vena yang kemudian dimasukkan dalam tabung vakum yang berisi *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) dan reagen Kit khusus pemeriksaan HbA1c (SOP Lab. RSUD Haji). Pada pemeriksaan LED bahan yang digunakan adalah NaCl fisiologis, tabung vakum EDTA yang kemudian dicampurkan dengan darah vena. Perbandingan antara darah EDTA dengan NaCl fisiologis adalah 4:1 (Triyani, 2018)

Pada pemeriksaan HbA1c metode yang digunakan ialah immunoassay. Prosedurnya yaitu darah EDTA dimasukkan kedalam cuvette khusus LED yang sudah berisi reagen sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Cuvette dibiarkan mengendap dengan bantuan sensor digital yang secara otomatis menentukan tingkat endapan eritrosit.

Hasil yang diperoleh dari pemeriksaan ini kemudian dianalisis menggunakan analisis bivariat untuk mengetahui adanya hubungan antara HbA1c dan LED. Sebelum dilakukan uji bivariat dilakukan uji normalitas, jika hasilnya berdistribusi normal maka dilanjutkan ke uji korelasi pearson, jika hasilnya berdistribusi tidak normal maka dilanjutkan ke uji korelasi Spearman.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari hasil pemeriksaan HbA1c dan LED pada penderita DM, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil pemeriksaan HbA1c dan LED pada penderita DM di RSUD Haji Provinsi Jawa Timur

Hasil	HbA1C		LED	
	Total	Rata-rata (%)	Total	Rata-rata (mm/jam)
Normal	-	-	9	16 mm/jam
Tidak Normal	35	8,5%	26	62 mm/jam

Tabel 2. Hasil uji normalitas

Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HbA1c	.127	35	.169	.924	35	.019
LED	.116	35	.200*	.913	35	.009

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Setelah mendapatkan hasil kadar HbA1c dan nilai LED selanjutnya dilakukan pengujian data menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan didapatkan hasil bahwa data tidak berdistribusi normal. Setelah diketahui bahwa data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan menggunakan uji korelasi Spearman untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan atau korelasi antara HbA1c dengan nilai LED.

Tabel 3. Hasil uji korelasi

Uji Korelasi

		HbA1c	LED
Spearman's rho	HbA1c	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.131
		N	35
LED		Correlation Coefficient	.131
		Sig. (2-tailed)	.453
		N	35

Dari tabel korelasi didapatkan hasil sig 0,453 > 0,05 yang berarti bahwa tidak ada korelasi antara kadar HbA1c dengan nilai Laju Endap Darah.

DISKUSI

Analisis statistik antara kadar HbA1c dengan nilai LED pada penderita DM di RSUD Haji Provinsi Jawa Timur didapatkan hasil bahwa tidak terdapat korelasi atau hubungan antara kedua variabel tersebut.

Peningkatan LED pada penderita DM salah satunya dapat disebabkan oleh peradangan atau infeksi akibat penyakit yang disebabkan oleh tingginya kadar glukosa darah seperti ganggren. Sesuai dengan pernyataan dari *International Diabetes Federation*, (2015) yang menyatakan bahwa hiperglikemia akibat DM yang tidak terkontrol dapat menyebabkan komplikasi berupa gangguan pada mata, penyakit jantung, penyakit ginjal, kerusakan syaraf, komplikasi pada kehamilan, dan ganggren.

Nilai LED yang tinggi pada penderita DM tidak selalu dikarenakan ganggren, bisa juga disebabkan oleh peradangan atau infeksi lain yang tidak berhubungan dengan penyakit DM seperti autoimun, gangguan tiroid, atau bahkan karena menstruasi dan kehamilan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Triyani, 2009 yang menyatakan selain pada keadaan patologik, LED yang cepat juga dapat dijumpai pada keadaan-keadaan fisiologik seperti pada waktu haid, dan kehamilan setelah bulan ketiga atau bahkan karena faktor usia (Triyani, 2018).

Untuk hasil LED normal namun HbA1c tinggi menandakan bahwa adanya gangguan metabolisme glukosa dalam tubuh seperti diabetes atau pradiabetes namun individu tersebut tidak mengalami infeksi atau peradangan. HbA1c yang meningkat juga disebabkan oleh pola hidup yang tidak sehat seperti tidak menjaga pola makan, kurangnya olahraga, penggunaan obat-obatan serat obesitas (Supri, 2016). Untuk penderita DM dengan hasil HbA1c normal atau mendekati normal disebabkan oleh pengaruh obat terapi DM yang sudah dilakukan sebelumnya mengingat sampel yang digunakan berasal dari ruang rawat inap.

KESIMPULAN

Tidak ada hubungan antara HbA1c dengan nilai LED pada penderita DM di RSUD Haji Provinsi Jawa Timur dengan hasil sig 0,453 > 0,05.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Universitas Muhammadiyah Surabaya dan Laboratorium RSUD Haji Provinsi Jawa Timur yang telah berperan dalam penelitian ini sehingga penelitian ini dapat dituangkan dalam bentuk tulisan dan informasi kepada tenaga laboratorium medis di Indonesia.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak adanya konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Triyani, D. (2018), 'Perbedaan Darah Sitras Dan Edta Dengan Pengencer NaCl 0,9% Terhadap Nilai Laju Endap Darah Metode Westergreen Pada Pasien Tuberkulosis Di RSUD Wongsonegoro. *Journal of chemical information and modelling*, 8(9). 1-58
- Aliviameita, A., Purwanti, Y., Fani, K. A., & Desyi, I. (2021). Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Profil Hematologi pada Pasien Diabetes Melitus dengan Ulkus Diabetikum. *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1(4), 791-799.

-
- Nita et al. (2022). Hubungan Kadar HbA1c dengan Nilai Laju Endap Darah Pada Penderita Diabetes Melitus di RSUD Dharma Husada Kota Kediri. *Jurnal Sintesis Penelitian Sains Terapan Dan Analisisnya*, 3(2), 1-8.
- Pahlevi, R., Fredlina, K. Q., & Utami, N. W. (2021). Penerapan Algoritma ID3 Dan SVM Pada Klasifikasi Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2. *Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Sains & Teknologi (SNAST) 2021*, 2, 64-75.
- Sitepu, B. (2018). Analisa Laju Endap Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Dirawat Inap Di RSUP H. Adam Malik Medan. *Poltekes Kemenkes RI Medantekes Kemenkes RI Medan*, 53(1), 1-8.
- Supri, H. (2016). Hubungan HbA1c Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Di RSUD Abdul Wahab Syahrani Samarinda Tahun 2016. *Jurnal Husada Mahakam*, IV(3), 171-180.
- Guo, S., Wang, M., Yu, Y., Yang, Y., Zeng, F., Sun, F., Zhang, Z. (2020). The Association of Erythrocyte Sedimentation Rate, High-Sensitivity C-Reactive Protein and Diabetic Kidney Disease In Patients With Type 2 Diabetes. *BMC Endocrine Disorders*, 20(103), 1-8.
- Bikramjit, P., Raveender, N., & Sudipta, P. (2017). The Importance of HbA1c and Erythrocyte Sedimentation Rate as Prognostic Factors in Predicting The Outcome of Diabetic Foot Ulcer Disease. *International Journal of Advances in Medicine*, 4(1), 137- 142.
- Marbun, K. (2018). Pemeriksaan Kadar HbA1c Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Dirawat Jalan Di RSUP H. Adam Malik Medan. *Poltekes Kemenkes RI Medantekes Kemenkes RI Medan*, 1-13.
-

ANALISIS PCR-RFLP ENZIM *HaeIII* SECARA *IN SILICO* PADA FRAGMENT D-Loop DNA MITOKONDRIA DEMI KEPENTINGAN FORENSIK

Ni Putu Senshi Septiasari^{1*}

¹Program Studi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Bali Internasional

e-Mail : senshiseptia@iikmpbali.ac.id

No Tlp WA : 087861850831

Abstract

DNA fingerprinting is the most accurate diagnostic tool in forensic cases. This method can be used to identify and differentiate between individuals. The D-loop region of mitochondrial DNA is a useful polymorphic fragment to study. The Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Long Polymorphism (PCR-RFLP) technique will be developed to support the analysis of DNA fingerprinting with mitochondrial DNA markers. The most important component of this technique is the determination of the restriction enzymes. This study aims to analyze in silico to detect restriction sites of mitochondrial D-loop DNA fragments, analyze the HaeIII enzyme by PCR-RFLP in silico and test the HaeIII enzyme by the PCR-RFLP in vitro method. In this study the determination of the human mitochondrial genome sequence from rCRS (revision of the Cambridge Reference Sequence) obtained from the NCBI reference sequence with accession number NC_012920.1, analysis of enzyme types with FasPCR software, and in silico PCR-RFLP analysis of HaeIII enzymes on The Web Server as well as in vitro tests with HaeIII enzymes. The results of in silico PCR-RFLP analysis on the HaeIII enzyme showed that the enzyme has 2 restriction site positions at bases 16457 and 323. The restriction enzyme HaeIII cuts the mitochondrial D-Loop DNA fragment into 3 DNA fragments. These results have been tested in silico and in vitro which yielded lengths of 106 bp, 435 bp and 318 bp. The success of digestion process in mitochondrial DNA fragments with the HaeIII restriction enzyme is the first step in the DNA fingerprinting method to obtain a DNA profile of the Balinese people for forensic purposes.

Keywords: *DNA Fingerprinting, in silico, D-loop region, PCR*

Abstrak

*DNA fingerprinting merupakan alat diagnostik paling akurat dalam kasus forensik. Metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan membedakan antar individu. Daerah D-loop DNA mitokondria merupakan fragmen polimorfis yang berpeluang untuk diteliti. Teknik *Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) akan dikembangkan untuk menunjang analisis *DNA fingerprinting* dengan penanda DNA mitokondria. Komponen yang paling penting pada teknik ini adalah penentuan enzim restriksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *restriction site* secara *in silico* fragmen D-loop DNA mitokondria. Prosedur pengerjaan dimulai dengan analisis secara *in silico* untuk mendeteksi *restriction site* fragmen D-loop DNA mitokondria, analisis enzim *HaeIII* secara PCR-RFLP *in silico* dan menguji enzim *HaeIII* tersebut dengan metode PCR-RFLP secara *in vitro*. Penentuan sekuen genom mitokondria manusia dari rCRS (*revised Cambridge Reference Sequence*) yang diperoleh dari NCBI *reference sequence* dengan nomor akses NC_012920.1, analisis jenis enzim dengan *software* FasPCR, dan*

analisis PCR-RFLP enzim *HaeIII* secara *in silico* pada laman *The Web Server* serta uji *in vitro* dengan enzim *HaeIII*. Hasil analisis PCR-RFLP secara *in silico* pada enzim *HaeIII* didapatkan enzim tersebut memiliki 2 posisi *restriction site* pada basa ke 16457 dan 323. Enzim restriksi *HaeIII* memotong fragmen D-Loop DNA mitokondria menjadi 3 fragmen DNA. Hasil ini telah diuji secara *in silico* dan *in vitro* yang menghasilkan panjang yaitu 106 bp, 435 bp, dan 318 bp. Keberhasilan pemotongan fragmen DNA mitokondria dengan enzim restriksi *HaeIII* merupakan Langkah awal metode DNA fingerprinting untuk mendapatkan profil DNA Masyarakat Bali untuk kepentingan forensik.

Kata Kunci : D-loop, PCR-RFLP, DNA *fingerprinting*, Enzim *HaeIII*, *in silico*

PENDAHULUAN

Ilmu kedokteran forensik memiliki ruang lingkup yang luas bukan hanya tentang otopsi, tetapi juga berhubungan dengan kasus *clinical forensic* seperti identifikasi personal. Identifikasi personal dengan analisis DNA atau sering dikenal dengan istilah *DNA fingerprinting* merupakan alat diagnostik paling akurat dalam kasus forensik (Firliana & Daniati, 2014; Yudianto, 2020). *DNA fingerprinting* adalah salah satu metode identifikasi terbaik untuk hampir semua makhluk hidup. Metode ini didasarkan pada sekuen DNA unik yang menjadi ciri khas dari individu tersebut. Sehingga dengan menggunakan metode ini kita dapat mengidentifikasi dan membedakan antar individu. Identifikasi secara personal juga berguna dari aspek medis dalam hal pendonoran darah atau transplantasi organ (Virnarenata, 2018).

Fragmen DNA yang polimorfis merupakan sumber identifikasi genetik manusia (Yudianto, 2020). Fragmen tersebut salah satunya terdapat pada daerah D-Loop (*displacement loop*) DNA mitokondria (mtDNA) (Junitha, 2012; Septiasari, 2022b; Septiasari et al., 2023). Pada studi keragaman genetik mengatakan bahwa daerah D-loop mtDNA merupakan daerah *non coding* yang memiliki polimorfisme tertinggi dalam genom DNA. Penanda mtDNA memiliki kelebihan yaitu sifat pewarisan secara maternal maka penanda ini dapat diaplikasikan jika terdapat kasus yang tidak memiliki pembanding dari kedua orang tua (Siti et al., 2013).

Teknik analisis DNA fingerprinting telah dilaporkan secara umum

menggunakan *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTRs). Teknik ini memiliki tahapan yaitu (1) mengekstraksi DNA tubuh, (2) DNA didigesti dengan enzim restriksi, (3) fragmen di separasi dengan gel elektroforesis, (4) *single stranded* DNA yang diseparasi di *transfer* ke *nylon membrane*, (5) menggunakan DNA *probes radioactive* untuk menentukan fragmen yang komplemen (*Southern Blotting*) dan (6) *exposed* fragmen DNA yang telah dihibridisasi dengan *X-ray film* sehingga *band* DNA yang terhibridisasi akan berwarna gelap dan dapat dijadikan *DNA profile* (Garcia & Miño, 2017). Teknik ini memiliki kekurangan yaitu tahapan yang terlalu panjang serta banyak laboratorium yang tidak memiliki alat khusus untuk melakukan Teknik ini. Maka perlu dikembangkan Teknik lain yang sekiranya mampu dilakukan pada laboratorium dengan metode yang lebih cepat dan sederhana yaitu Teknik *Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

Prinsip PCR-RFLP ini terdapat tiga tahapan penting yaitu (1) melakukan penggandaan DNA pada gen yang spesifik, (2) memotong untai DNA dalam pola tertentu dengan menggunakan enzim restriksi dan (3) visualisasi hasil pemotongan dengan elektroforesis yang akan menghasilkan fragmen yang panjangnya berbeda-beda (Andrew, 2013). Teknik ini baik digunakan karena sampel DNA yang diperlukan sedikit namun dapat menghasilkan data yang akurat. (Budiarto, 2015; Yudianto, 2020). Komponen yang diperlukan pada tahapan ini yaitu: *template* DNA, primer, KIT PCR dan KIT enzim restriksi (Septiasari et al., 2023).

Enzim restriksi merupakan endonuklease yang dapat memotong molekul DNA dengan memutuskan ikatan fosfodiester antara nukleotida satu dengan nukleotida lainnya (Fatchiah et al., 2011). Setiap enzim memiliki *restriction site* atau tempat pemotongan yang spesifik. Pemilihan enzim merupakan tahapan yang sangat krusial karena enzim yang spesifik dapat mengenali urutan fragmen DNA sehingga akan menentukan keberhasilan proses digesti atau pemotongan enzim. Enzim *HaeIII* merupakan enzim restriksi yang sangat

komersial digunakan untuk deteksi mutasi pada analisis molekuler. Enzim ini juga dilaporkan dapat menganalisis polimorfisme dan mutasi dari berbagai gen dari beberapa organisme (Fathi et al., 2022; Mankai et al., 2020; Özdemir et al., 2020)

Analisis secara *in silico* diperlukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui posisi *restriction site* dari enzim *HaeIII* dan perkiraan panjang fragmen yang dihasilkan setelah digesti/pemotongan. Penelitian *in silico* merupakan laboratorium kering yang melibatkan percobaan yang merujuk pada hasil fiktif namun pembuktiannya dapat diuji kembali pada laboratorium basah (*in vitro*), begitu juga hasil penelitian laboratorium basah ada pula yang melibatkan analisis data dari laboratorium kering. Jadi sebenarnya laboratorium kering dan basah sangat berkaitan erat untuk dapat menghasilkan suatu penelitian yang berkualitas dan terukur. Berdasarkan latar belakang tersebut maka diperlukan adanya studi tentang analisis PCR-RFLP enzim *HaeIII* secara *in silico* pada fragmen D-loop mtDNA dan menguji enzim *HaeIII* tersebut dengan metode PCR-RFLP secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui *Posisi Restriction site* enzim *HaeIII* dan perkiraan panjang fragmen hasil digesti sehingga dapat digunakan sebagai penelitian pendahuluan untuk mendapatkan profil DNA Masyarakat Bali demi kepentingan Forensik.

BAHAN DAN METODE

a. Deteksi *Restriction Site* Enzim *HaeIII* dengan Metode PCR-RFLP secara *In silico*

Sekuen genom MtDNA yang akan diujikan ditentukan dengan *software* NCBI dengan laman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Reverensi yang digunakan adalah reverensi dari *rCRS (revised Cambridge Reference Sequence)* dengan nomor akses NC_012920.1.

Fragmen daerah D-loop di mtDNA distimulasi dengan menganalisis secara *in silico* untuk menentukan penempelan primer, posisi *restriction site* enzim

Haelll dan perkiraan ukuran panjang fragmen hasil digesti/pemotongan pada *software* FastPCR (<http://primerdigital.com/tools/pcr.html>) dan Web server (*In silico simulation of molecular biology experiments*)

b. Uji *In vitro* Fragmen D-Loop DNA Mitokondria dengan Enzim *Haelll*

Sampel penelitian berupa *swab* mukosa mulut dari 2 orang Masyarakat Bali yang diambil dengan metode *random sampling*. Tahapan penelitian meliputi ekstraksi DNA dengan metode fenol-kloroform yang telah dimodifikasi (Junitha et al., 2012). DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan primer daerah D-loop mtDNA (Septiasari, 2022a). Hasil amplifikasi DNA divisualisasi dengan gel agarose 1% dengan tegangan listrik sebesar 50 *volt* selama 1 jam (Septiasari et al., 2017).

Produk PCR dipotong dengan enzim restriksi *Hae III* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam dan inaktifasi enzim pada suhu 80°C selama 20 menit. Hasil pemotongan enzim restriksi dielektroforesis menggunakan gel agarose 2% dengan tegangan listrik sebesar 50 *volt* selama 1 jam (Septiasari et al., 2017, 2023).

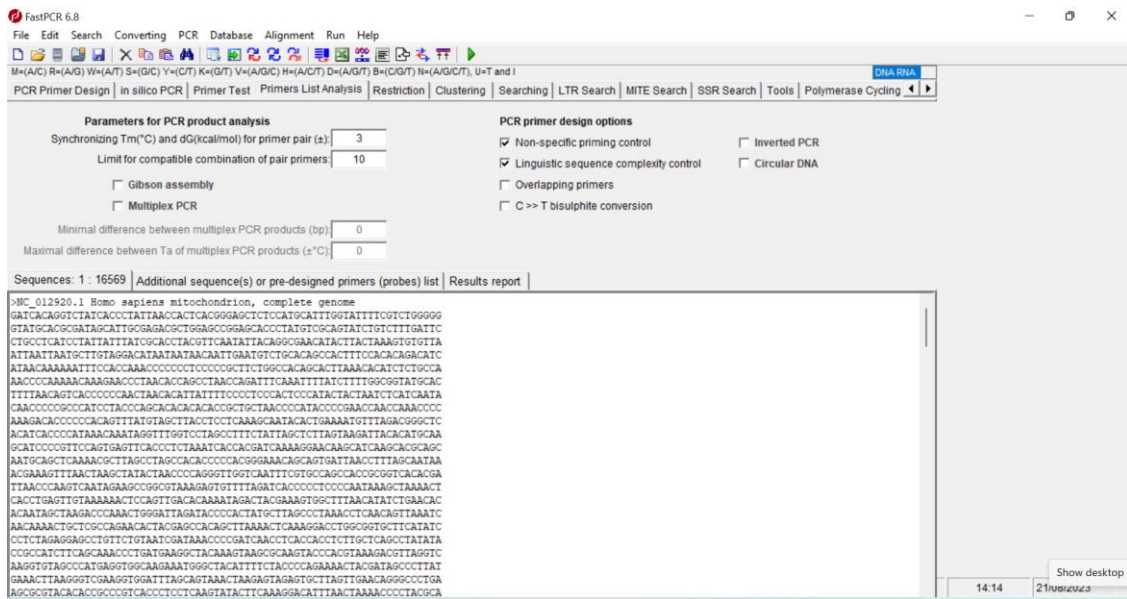
c. Analisis Data

Data yang dihasilkan berupa ukuran panjang fragmen-fragmen DNA. Ukuran pita DNA yang didapatkan kemudian dihitung dengan menggunakan kertas semilog. Fragmen DNA ladder diukur jarak migrasinya, lalu diplot pada kertas semilog sebagai sumbu X sedangkan ukuran ladder DNA yang telah diketahui diplot pada sumbu Y lalu ditarik garis dan dibuat kurva standar. Ukuran DNA dapat diketahui dengan mengukur jarak migrasi DNA dan memasukkannya ke dalam plot kurva standar yang telah dibuat pada kertas semilog maka akan didapatkan perkiraan panjang fragmen/pita DNA dalam ukuran *base pair* (bp) (Septiasari et al., 2017). Ukuran Pita DNA yang didapatkan akan dikonfirmasi dengan akan dibandingkan dengan analisis *restriction site* pada tahapan *in silico*.

HASIL

a. Analisis Sekuen DNA Mitokondria secara *In silico*

Sekuen genom DNA mitokondria yang akan diujikan ditentukan dengan *software* NCBI dengan laman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Referensi yang digunakan adalah referensi dari *rCRS (revised Cambridge Reference Sequence)* dengan nomor akses NC_012920.1 dengan panjang sekuen sebanyak 16569 bp. Sekuen mtDNA yang didapatkan disimpan dalam bentuk *format* fasta dan di *input* pada *software* FastPCR. Berikut adalah gambaran *software* FastPCR yang telah ditambahkan sekuen mtDNA (Gambar 1).



Gambar 1. Software FastPCR yang telah diinput sekuen genom DNA mitokondria

Tahapan *in silico primer* dilakukan dengan menambahkan sekuen primer khusus untuk mengamplifikasi daerah D-Loop mtDNA. Pada tahapan ini, dapat diketahui perkiraan panjang DNA hasil amplifikasi secara *in silico* yaitu sebesar 859 bp (Gambar 2).

```

In silico Primer(s) search for: 1
r 5'-ctgttaaaagtgcataccgccca
Position: 148->169 100% Tm = 60,7°C

5-ctgttaaaagtgcataccgccca->
|||||
gactgttaaaagtgcataccgcccaaaag

f 5'-tacttgaccacctgtagtac
Position: 987<-1006 100% Tm = 56,4°C

<-catgatgtccaccagttcat-5
|||||
atgtactacagtggtcaagtattta

>r 148->169
5'-ctgttaaaagtgcataccgccca
>f 987<-1006
5'-tacttgaccacctgtagtac

Amplicon size: 859bp Ta=63°C

```

Gambar 2. Tahapan *in silico* Primer pada *software* FastPCR

Restriction analysis pada *software* FastPCR akan menentukan jenis enzim restriksi yang dapat memotong daerah D-Loop mtDNA. Pada hasil analisis didapatkan jenis enzim restriksi yang memiliki *restriction site* pada daerah D-Loop mtDNA sebanyak 48 jenis enzim dan jumlah enzim restriksi yang tidak memiliki *restriction site* pada daerah D-Loop MtDNA sebanyak 110 enzim.

Dari 48 jenis enzim yang memiliki *restriction site* pada daerah D-Loop mtDNA, maka dipilih satu jenis enzim yang digunakan untuk uji PCR-RFLP secara *in silico*, yaitu enzim *HaeIII*. Uji PCR-RFLP dilakukan pada *software* Web server (*In silico simulation of molecular biology experiments*). Berikut adalah hasil penelusuran enzim *HaeIII* secara PCR-RFLP *in silico* (Tabel 1) dan pada Gambar 3 akan ditampilkan ilustrasi posisi *restriction site* pada urutan basa D-Loop mtDNA.

Tabel 1. Hasil penelusuran PCR-RFLP secara *in silico* Enzim *HaeIII* pada *software* The Web server

Panjang Amplikon (bp)	Situs Pemotongan Enzim <i>HaeIII</i>	<i>Restriction Site</i>	Ukuran Fragmen Digesti (bp)
859	5` ...GG [↓] CC... 3`	16457	106 435 318
	3` ...CC _↓ GG... 5`	323	


```

16081 accgctatgt atttcgtaca ttactgccag ccacatgaa tattgtacgg taccataaat
16141 acttgaccac ctgtagtada taaaaacca atccacatca aaaccccctc cccatgctta
16201 caagcaagta cagcaatcaa ccctcaacta tcacacatca actgcaactc caaagccacc
16261 cctcaccac taggatacca aaaaacctac ccacccttaa cagtacatag tacataaagc
16321 catttacgt acatagcaca ttacagtcaa atcccttctc gtcccattgg atgaccccc
16381 tcagataggg gtcccttgac caccatcctc cgtgaaatca atatcccgca caagagtgtc
16441 actctcctcg ctccgggccc ataacacttg ggggtagcta aagtgaactg tatccgacat
16501 ctggttctta cttcagggtc ataaagccta aatagcccac acgttcccct taaataagac
16561 atcacgatg

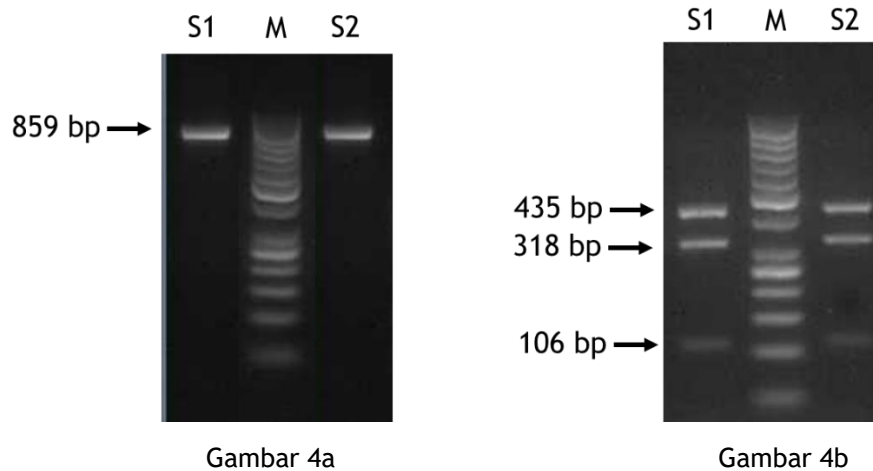
  1 gatcacaggt ctatcacct attaaccact cacgggagct ctccatgcat ttggtatfff
  61 cgtctggggg gtatgcacgc gatagcattg cgagacgctg gagccggagc acctatgtc
 121 gcagtatctg tctttgatcc ctgcctcacc ctattattta tcgcacctac gttcaatatt
 181 acaggcgaac ataacttacta aagtgtgtta attaattaat gcttgtagga cataataata
 241 acaattgaat gtctgcacag ccactttcca cacagacacc ataacaaaaa atttcacca
 301 aacccccct ccccgcttc tggccacagc acttaaaccac atctctgcca aacccccaaa
 361 acaagaacc ctaacaccag ctaaccaga tttcaaattt tatcttttgg cggtatgcac
 421 ttttaacagt

```

Gambar 3. Ilustrasi Posisi *Restriction Site* Enzim Hae III pada Sekuen Daerah D-Loop mtDNA

b. Uji PCR-RFLP secara *In Vitro*

Hasil analisis secara *in silico* diujikan langsung pada sampel di laboratorium. Berikut gambar elektroforesis hasil digesti dengan menggunakan enzim *HaeIII* (Gambar 4)



Gambar 4. a. Gambar Hasil Amplifikasi pada proses PCR; b. Gambar Hasil Digesti dengan pemotongan enzim *HaeIII* (Ket. M =Ladder DNA 50 bp; S1=Sampel No. 1; S2=Sampel No. 2)

Pada gambar diatas diketahui bahwa hasil produk PCR yang amplifikasi pada daerah DNA mitokondria memiliki panjang amplicon 859 bp (gambar 4a) dan telah sesuai dengan analisis *in silico* pemotongan enzim restriksi yaitu sebesar 859 bp (tabel 1). Sedangkan hasil digesti dengan enzim *HaeIII* mendapatkan panjang 435 bp, 318 bp dan 106 bp dan telah sesuai dengan analisis secara insilico baik pada sampel S1 dan sampel S2 (Tabel 1)

DISKUSI

Analisis PCR-RFLP adalah salah satu teknik laboratorium penting yang digunakan dalam biologi molekuler, genetika dan diagnostik molekuler. Keberhasilan metode berbasis PCR-RFLP tergantung pada kebenaran penentuan DNA, primer dan enzim restriksi yang digunakan. Analisis secara *in silico* menentukan keberhasilan reaksi sebelum proses *in vitro* dilakukan. Disini peneliti melaporkan perkembangan dibidang bioinformatika berbasis web yang tersedia untuk uji secara *in silico*. Sebagian besar perhitungan PCR *in silico* yang dapat ditelusuri melalui web atau *software* bersifat heuristik dan sedikit diantaranya berdiri sendiri, yang berarti perlu banyak *software* dan web untuk menghubungkan tahapan-tahapan yang ingin dilakukan secara *in silico*.

Software yang baik untuk PCR *in silico* harus memiliki kemampuan cepat dalam memilih primer atau probe dari urutan target, dapat menghitung suhu TM (*Temperature Melting*) primer, memungkinkan untuk validasi primer dan dapat memprediksi ukuran produk PCR (Kalendar et al., 2017). Maka dari itu, penelitian ini menggunakan beberapa *software* untuk dapat menghasilkan analisis yang sesuai. Penentuan urutan sekuen basa DNA diperoleh dari GenBank NCBI, penentuan jenis enzim restriksi dilakukan pada *software* FastPCR dan uji PCR-RFLP secara *in silico* dilakukan pada *The web server*.

Analisis PCR-RFLP secara *in silico* pada daerah D-loop mtDNA pada penelitian ini terdiri dari 4 tahapan yaitu (1) penentuan sekuen DNA yang diperoleh dari laman NCBI dengan mencari penelusuran sekuen rCRS DNA mitokondria (Gambar 1); (2) melakukan uji primer dengan melakukan tahapan *in silico* primer dengan memasukkan data primer F dan R (Septiasari, 2022a) yang mampu mengamplifikasi daerah D-loop DNA mitokondria pada *software* FastPCR (Gambar 2); (3) mengetahui jenis-jenis enzim restriksi yang dapat memotong fragmen D-Loop DNA mitokondria dengan *software* FastPCR; (4) dan uji PCR-RFLP secara *in silico* dengan enzim *HaeIII* pada fragmen D-Loop DNA mitokondria dengan menggunakan *The Web Server* (Tabel 1).

Pada tahapan *Restriction analysis* pada *software* FastPCR didapatkan jenis-jenis enzim restriksi yang memiliki *restriction site* pada daerah D-Loop mtDNA yaitu sebanyak 48 jenis enzim pada *software* telah dianalisis juga mengenai spesifisitas enzim yang diuji dan posisi pemotongan enzimnya. Dari 48 jenis enzim yang memiliki *restriction site* pada daerah D-Loop mtDNA, maka dipilih enzim *HaeIII* untuk diuji lebih lanjut pada tahapan PCR-RFLP yang dilakukan pada *The Web server* (*In silico simulation of molecular biology experiments*). Tabel 1 dan gambar 3 menunjukkan posisi *restriction site* pada enzim *HaeIII* adalah basa nomor 16457 dan 323 dengan perkiraan hasil pemotongan enzim restriksi menjadi 3 fragmen DNA yaitu dengan ukuran 106 bp, 435 bp, dan 318 bp.

Enzim *HaeIII* merupakan enzim restriksi yang sangat mudah didapatkan secara komersial karena merupakan enzim umum yang digunakan untuk mendeteksi mutasi fragmen DNA. Enzim *HaeIII* dihasilkan oleh bakteri *Haemophylus aegyptius* dan mengenali sisi pemotongan pada sekuen GG↓CC dengan tipe pemotongan *blunt end*, yaitu tipe pemotongan yang menghasilkan sekuen dengan ujung tumpul karena pemotongannya bersifat simetris. Enzim ini bekerja dengan memotong-motong DNA pada lokasi-lokasi yang spesifik mengenali daerah atau urutan DNA pendek dalam molekul DNA dimana urutan DNA yang dikenali tersebut bersifat *palindrome* (Dimy Arta & Rahayu, 2013). Digesti dimulai dari pengikatan secara non spesifik dengan DNA makromolekuler, yang diikuti dengan perjalanan difusi acak suatu enzim restriksi menuju DNA. Pengenalan situs oleh enzim restriksi dapat mengaktifkan pusat katalik dan terjadilah pemotongan ikatan fosfodiester pada untai DNA dan menghasilkan dua untai potongan fragmen (Bandelt et al., 2014)

Uji *in vitro* dilakukan untuk mengetahui kebenaran penentuan enzim, posisi *restriction site* dan ukuran fragmen DNA hasil digesti. Pada Gambar 4a menunjukkan hasil ampifikasi primer daerah D-Loop mtDNA yang memiliki ukuran *amplicon* sepanjang ± 859 bp. Sedangkan Gambar 4b merupakan gambar hasil digesti dari pemotongan dengan enzim *HaeIII*. Hasil digesti diperkirakan memiliki ukuran 435 bp, 318 bp dan 106 bp. Hal ini sesuai dengan uji *in silico* PCR-RFLP dan dapat membuktikan bahwa fragmen D-Loop mtDNA yang didigesti oleh enzim *HaeIII* yang awalnya memiliki ukuran 859 bp, memiliki 2 situs pemotongan enzim pada urutan DNA (gg↓cc) sehingga terdapat 3 potongan fragmen yang ukurannya berbeda dari fragmen awal yaitu dengan ukuran 435 bp, 318 bp dan 106 bp. Enzim *HaeIII* dilaporkan digunakan juga untuk dapat melakukan digesti DNA spesifik untuk identifikasi isolat *Thermoactinomyces* dan *Staphylococcus aureus* (Fathi et al., 2022; Mankai et al., 2020) serta studi genetik tentang polimorfisme gen rs2067477 pada populasi masyarakat Turki (Özdemir et al., 2020). Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk

mendapatkan profil DNA Masyarakat Bali. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk menguji enzim ini ke lebih banyak sampel untuk dapat mewakili Masyarakat Bali, sehingga akan mendapatkan keanekaragaman alel/profil masyarakat Bali dengan menggunakan enzim *HaeIII*. Keanekaragaman DNA mitokondria ini dapat dijadikan sebagai *data base* untuk kepentingan Forensik.

KESIMPULAN

Analisis PCR-RFLP secara *in silico* pada enzim *HaeIII* didapatkan enzim *HaeIII* memiliki tipe pemotongan GG[↓]CC dan memiliki 2 posisi *restriction site* pada basa ke 16457 dan 323. Enzim restriksi *HaeIII* memotong fragmen D-Loop DNA mitokondria menjadi 3 fragmen DNA. Hasil ini telah diuji secara *in silico* dan *in vitro* yang menghasilkan panjang yaitu 106 bp, 435 bp, dan 318 bp.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Drs. I Ketut Junitha, M.S., dan Dra. Ni Nyoman Wirasiti, M. Repro atas bantuan dan masukan selama penelitian ini dilakukan. Penulis juga berterimakasih kepada responden yang telah bersedia membantu peneliti dalam penyediaan sampel sehingga penelitian ini bisa berjalan dengan baik.

REFRENSI

- Andrew, N. M. (2013). *TITLE: Assignment of Haplotypes groups by Mitochondrial DNA in BTN323 Population using PCR-RFLP analysis.*
- Bandelt, H.-J., Kloss-Brandstätter, A., Richards, M. B., Yao, Y.-G., & Logan, I. (2014). The case for the continuing use of the revised Cambridge Reference Sequence (rCRS) and the standardization of notation in human mitochondrial DNA studies. *Journal of Human Genetics*, 59(2), 66-77. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.120>
- Budiarto, B. R. (2015). *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) : PERKEMBANGAN DAN PERANNYA DALAM DIAGNOSTIK KESEHATAN.* <http://www.scienceguardian.com/blog/a->
- Dimy Arta, P., & Rahayu, S. (2013). ANALISIS POLIMORFISME GEN Growth

- Differentiation Factor 9 (GDF-9) dan HUBUNGANNYA DENGAN KEBERHASILAN INSEMINASI BUATAN pada SAPI PO. In *Jurnal Biotropika* | (Vol. 1, Issue 3).
- Fatchiah, E., Arumingtyas, L., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Biologi Molekuler, Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga.
- Fathi, J., Hashemizadeh, Z., Javadi, K., & Hosseini-Nave, H. (2022). Evaluation of aminoglycoside modifying enzymes, SCCmec, coagulase gene and PCR-RFLP coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in Shiraz, southwest of Iran. *Heliyon*, 8(8).
- Firliana, R., & Daniati, E. (2014). IDENTIFIKASI PERSONAL BERDASARKAN 16 FITUR GEOMETRI TANGAN. *Nusantara of Engineering (NOE)*, 1(1).
- Garcia, D., & Miño, K. (2017). DNA fingerprinting. In *Bionatura* (Vol. 2, Issue 4, pp. 477-480). Centro de Biotecnología y Biomedicina, Clinical Biotec. Universidad Católica del Oriente (UCO), Univesidad Yachay Tech. <https://doi.org/10.21931/RB/2017.02.04.12>
- Junitha, I. K. (2012). Peranan Analisis DNA dalam Penyelesaian Masalah Sosial di Masyarakat. In *Orasi Ilmiah*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.
- Junitha, I. K., Pharmawati, M., & Rosiana, W. (2012). Genetic Diversity of Soroh Celagi (Pasek Catur Sanak Clan) Base don Y-chromosomal Microsatellites DNA. *The 4th International Conferences on Biosciences and Biotechnology*, 239-243.
- Kalendar, R., Khassenov, B., Ramankulov, Y., Samuilova, O., & Ivanov, K. I. (2017). FastPCR: An in silico tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis. *Genomics*, 109(3-4), 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.05.005>
- Mankai, H., Wende, W., Slama, N., Ayed, A., Roberts, R. J., & Limam, F. (2020). Biochemical and molecular characterization of a restriction endonuclease Tvu2HI from *Thermoactinomyces vulgaris* 2H and study of its R-M system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 3105-3113. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.151>
- Özdemir, F., Kir, Y., Tok, K. C., Baskak, B., & Süzen, H. S. (2020). A novel genotyping method for detection of the muscarinic receptor M1 gene rs2067477 polymorphism and its genotype/allele frequencies in a Turkish population. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(6), 653-658. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.46793>
- Septiasari, N. P. S. (2022a). Desain Primer Secara In Silico untuk Amplifikasi Fragmen D-Loop DNA Mitokondria demi Kepentingan Tes DNA. *Kongres IV Satu Dasa Warsa AIPTLMI*, 310-321.
- Septiasari, N. P. S. (2022b). Optimasi PCR dengan Penanda Daerah D-loop DNA Mitokondria untuk Metode Tes DNA. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences (IJLFS)*, 12(2), 76. <https://doi.org/10.24843/ijlfs.2022.v12.i02.p03>
- Septiasari, N. P. S., Junitha, I. K., & Wirasiti, N. N. (2023). Optimasi digesti

enzim restriksi untuk deteksi mutasi daerah D-loop DNA mitokondria dengan metode PCR-RFLP. *Jurnal Biologi Udayana*, 27(1), 65. <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2023.v27.i01.p07>

Septiasari, N. P. S., Ketut Junitha, I., & Nyoman Wirasiti, N. (2017). RAGAM ALEL DNA MITOKONDRIA MASYARAKAT SOROH PANDE DI BALI DENGAN METODE PCR-RFLP ALLEL VARIATIONS OF MITOCHONDRIAL DNA (mtDNA) OF PANDE CLAN IN BALI WITH PCR-RFLP METHOD. 2, 210-217. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Siti, H. H., Gun Gumilar, G., Natalia, D., & Saifuddin Noer, A. (2013). *Variasi Urutan nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria Manusia pada Dua Populasi Asli Indonesia Tenggara*.

Yudianto, A. (2020). *Buku Referensi Pemeriksaan Forensik DNA Tulang dan Gigi* (M. Kurniati, Ed.).

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) TERHADAP STABILITAS MEMBRAN SEL DARAH MERAH

Dwi Murti Zaputri¹ · Wahdaniah¹ · Linda Triana¹ · Mujtahidah¹

¹Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Pontianak, Indonesia
e-Mail: dwimurti029@gmail.com
No Tlp WA: 081345967804

Abstract

Inflammation can cause a temporary decrease in tissue function, which can contribute to the pathogenesis of diseases of altered homeostasis. One plant that has potential as an anti-inflammatory is dayak onion leaves (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.), which contain secondary metabolite compounds, namely flavonoids, tannins, saponins, phenols, alkaloids, and triterpenoids. The purpose of this study was to determine the difference between the anti-inflammatory activity of *Eleutherine bulbosa* leaf extract (Mill.) Urb.) and the stability of red blood cell membranes at each concentration in vitro. This research design uses a quasi-experimental method, and the sampling technique used is purposive sampling with samples of dayak onion leaf extract concentrations of 0.005%, 0.01%, 0.02%, 0.04%, and 0.08% with repetition 3 times for each concentration, and the number of samples is 15 samples, so the number of samples is 15 samples with the measurement of hemoglobin absorption values using the Uv-Vis spectroscopic photometer. The results of the anti-inflammatory activity test showed that the ethanol extract of 70% of dayak onion leaves had the lowest anti-inflammatory activity at a concentration of 0.005%, that is 33.60%, whereas the highest activity was at a concentration of 0.08%, that is 62.87%. The conclusion of this study is that there is a difference in the anti-inflammatory activity of *Eleutherine bulbosa* leaf extract (Mill.) Urb.) against the stability of red blood cell membranes at each concentration.

Keywords: Anti-Inflammatory, Red Blood Cell, Dayak Onion

Abstrak

Inflamasi merupakan salah satu respon terhadap cedera jaringan atau infeksi. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, fenol, alkaloid dan triterpenoid. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui perbedaan aktivitas antiinflamasi pada ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi secara in vitro. Desain penelitian ini adalah quasi eksperimental dan teknik sampling yang digunakan ialah purposive sampling dengan sampel ekstrak daun bawang dayak konsentrasi 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,04%, dan 0,08% dengan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali setiap konsentrasinya, sehingga jumlah sampelnya sebanyak 15 sampel dengan pengukuran nilai absorbansi hemoglobin menggunakan alat Spektrofotometer Uv-Vis. Hasil uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan ekstrak etanol 70% daun bawang dayak yang memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling rendah pada konsentrasi 0,005% yaitu sebesar 33,60% sedangkan untuk aktivitas yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 0,08% yaitu sebesar 62,87%. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ada perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi.

Kata Kunci: Antiinflamasi, Sel Darah Merah, Bawang Dayak

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan proses tubuh dalam merespons infeksi atau kerusakan jaringan, yang ditandai dengan calor (panas), rubor (merah), tumor (bengkak), dolor (sakit), dan gangguan fungsi. Protein plasma dan sirkulasi leukosit, serta sel fagosit jaringan, adalah komponen pertahanan tubuh terhadap benda asing. Infeksi dapat terjadi secara lokal atau sistemik (Harlim, 2018). Inflamasi dapat menyebabkan berbagai penyakit salah satunya yaitu rheumatoid arthritis. Berdasarkan data dari Riskesdas (2018), jumlah penderita rheumatoid arthritis di Indonesia mencapai 7,30%. Penyakit ini merupakan gangguan inflamasi sistemik yang berlangsung lama dan dapat mempengaruhi beberapa jaringan organ, terutama jaringan yang fleksibel di sendi (Fahrizal & Alfikrie, 2021).

Obat yang sering digunakan untuk mengatasi terjadinya inflamasi adalah golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid. AINS memiliki efek analgesik dan antipiretik yang dapat menghambat prostaglandin. Obat AINS memiliki dua jenis yaitu semi selektif contohnya diklofenak dan meloksikam sedangkan yang non-selektif contohnya naproxen dan ibuprofen. Proses terapi inflamasi penggunaan obat steroid dan non-steroid yang menghambat enzim siklooksigenase (COX) digunakan untuk mengobati peradangan akut, tetapi tidak berhasil untuk menyembuhkan penyakit inflamasi kronis, seperti rheumatoid arthritis atau osteoarthritis, selain itu dapat mengakibatkan efek samping yang tidak diinginkan jika digunakan dalam jangka panjang. Oleh karena itu, diperlukan obat alternatif lain yang memiliki kandungan senyawa yang lebih aman (Setia & Tjitiaremi, 2016).

Daun bawang dayak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan polifenol (Kumalasari et al., 2020). Daun bawang dayak telah terbukti secara empiris dan dijadikan sebuah produk kapsul sebagai suplemen alami yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi yang dapat menangkal radikal bebas dari lingkungan dan makanan (Untari et al., 2016).

Kandungan flavonoid dapat berperan sebagai antiinflamasi yaitu dapat mempengaruhi reaksi inflamasi melalui beberapa mekanisme yaitu dengan menghambat makrofag dalam memproduksi NO (*Nitric Oxide*) dan menghambat jalur siklooksigenase. Hal ini menyebabkan pembentukan prostaglandin (PGE) sehingga vasodilatasi tidak terjadi dan permeabilitas pembuluh darah meningkat, yang dapat mengurangi gejala peradangan (Fadilaturahmah *et al.*, 2022).

Pengujian aktivitas antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan pada membran sel darah merah mirip dengan membran lisosom yang bisa mempengaruhi proses inflamasi, dengan cara mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi, sehingga stabilisasi membran lisosom penting dalam membatasi respon inflamasi. Terlepasnya enzim dalam lisosom selama inflamasi (akibat teraktivasinya neutrofil) akan menyebabkan berbagai gangguan yang dapat dikaitkan dengan terjadinya inflamasi akut atau kronis (Kumar dalam ((Hardy *et al.*, 2018).

Penelitian Hardy *et al.*, (2018) telah dilakukan pengujian menggunakan ekstrak umbi bawang dayak yang dibandingkan dengan natrium diklofenak dengan konsentrasi 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,04% dan 0,08% didapatkan hasilnya yaitu ekstrak bawang dayak memiliki aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada konsentrasi 0,08% yaitu 72,74% dengan konsentrasi paling efektif yaitu 0,02% sebesar 59,58%.

Berdasarkan uraian di atas, daun bawang dayak belum pernah diteliti sebagai antiinflamasi sebelumnya sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antiinflamasi ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.*) terhadap stabilitas membran sel darah merah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.*) terhadap stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bawang dayak, etanol 70%, aquades, dapar fosfat pH 7,4 (0,15M), natrium sitrat, asam sitrat, dekstrosa, NaCl, natrium diklofenak, suspensi sel darah merah. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.*). Sampel dari penelitian ini adalah daun bawang dayak yang dibuat ekstrak dengan konsentrasi 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,04%, dan 0,08%. Kriteria sampel daun bawang dayak yaitu berumur 3 bulan, berwarna hijau, tidak berlobang dan tidak busuk .

Tempat pengambilan sampel di daerah Jl. KH. Abdurahman Wahid, Kuala Dua Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai dengan Agustus 2023. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah sampling purposive. Sampel daun bawang dayak diambil sebanyak 2 kg yang kemudian dikeringkan dan didapatkan simplisia sebesar 488,6 gram. Simplisia tersebut dilakukan uji kadar air. Kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak kental didapatkan sebanyak 55,1 gram.

Untuk persen stabilitas membran sel darah merah dapat dihitung menggunakan rumus dibawah ini (Hardy et al., 2018):

% Stabilitas Larutan Uji

$$100 - \left(\frac{\text{Abs Larutan Uji} - \text{Abs Larutan Kontrol Uji}}{\text{Abs Larutan Kontrol Negatif}} \right) \times 100\%$$

Untuk perhitungan dimasukkan rumus diatas, yang kemudian dimasukkan nilai absorbansi yang didapatkan pada pengukuran absorbansi larutan uji, larutan kontrol uji dan kontrol negatif. Analisis data yang digunakan yaitu menggunakan analisis data statistik uji beda dua variabel.

HASIL

Tabel 1. Hasil Uji Metabolit Sekunder

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
1	Alkaloid	Dragendroff	Endapan merah	+
2	Flavonoid	NaOH+asam encer	Kuning hilang saat penambahan asam encer	+
3	Fenol	FeCl ₃	Hitam kebiruan	+
4	Saponin	Air	Busa	+
5	Tanin	FeCl ₃ 10%	Hitam kehijauan	+
6	Triterpenoid	Kloroform + (CH ₃ CO) ₂ O + H ₂ SO ₄	Cincin berwarna kecoklatan atau violet	+

Berdasarkan hasil uji metabolit pada Tabel 1, diketahui ekstrak daun bawang dayak mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, fenol, saponin, tanin dan triterpenoid.

Tabel 2. Karakteristik Simplisia

Jenis Karakteristik		Hasil
Organoleptis	Bentuk	Lanset
	Bau	Khas
	Warna	Hijau
Kadar Air		5,86%

Berdasarkan Tabel 2, karakteristik simplisia dilakukan untuk melihat parameter spesifik seperti pada pemeriksaan organoleptis (bentuk, bau dan warna) dan uji kadar air.

Tabel 3. Hasil Uji Stabilitas Membran Sel Darah Merah Terhadap Ekstrak dan Kontrol Positif

No	Larutan	Konsentrasi (%)	Rata-rata Stabilitas (%)
1.	Ekstrak daun bawang dayak (<i>Eleutherine bulbosa</i> (Mill.) Urb.)	0,005	33,60
		0,01	35,78
		0,02	41,46
		0,04	48,89
		0,08	62,87
2.	Kontrol Positif (Natrium Diklofenak)	0,005	45,39
		0,01	63,74

	0,02	70,73
	0,04	73,79
	0,08	82,96

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan hasil rata-rata persen stabilitas ekstrak daun bawang dayak pada konsentrasi 0,005% sebesar 33,60%, konsentrasi 0,01% sebesar 35,78%, konsentrasi 0,02% sebesar 41,46%, konsentrasi 0,04% sebesar 48,89% dan konsentrasi 0,08% yaitu sebesar 62,87%. Sedangkan untuk kontrol positifnya yaitu pada konsentrasi 0,005% sebesar 45,39%, konsentrasi 0,01% sebesar 63,74%, konsentrasi 0,02% sebesar 70,73%, konsentrasi 0,04% sebesar 73,79% dan konsentrasi 0,08% sebesar 82,96%.

Tabel 4. Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk melihat sebaran pada suatu kelompok atau variabel berdistribusi normal atau tidak.

Perlakuan	Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	
Stabilitas	Konsentrasi Sampel 0,005%	0,750	3	0,001
	Konsentrasi Sampel 0,01%	0	3	0
	Konsentrasi Sampel 0,02%	0,750	3	0,001
	Konsentrasi Sampel 0,04%	0	3	0
	Konsentrasi Sampel 0,08%	0,750	3	0,001

Berdasarkan hasil data di atas menunjukkan bahwa semua data berdistribusi tidak normal. Hal ini dapat terlihat dari nilai signifikansi $<0,05$. Dikarenakan data berdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan analisis data non parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis.

Tabel 5. Hasil Analisis Data Kruskal-Wallis

	Stabilitas
Kruskal-Wallis H	13,770
Df	4
Asymp. Sig.	0,008

Berdasarkan hasil Tabel 5, diperoleh nilai signifikansi pada ekstrak yaitu 0,008 lebih kecil dari nilai signifikansi 0,05 yang artinya ada perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak daun bawang dayak pada konsentrasi 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,04% dan 0,08%.

DISKUSI

Stabilisasi membran sel darah merah digunakan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Sel darah merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel darah merah normal yang dicampur dengan larutan hipotonik sehingga dapat terjadinya hemolisis (Armadany et al., 2019). Campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan ekstrak daun bawang dayak untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menstabilkan membran sel darah merah. Dari hasil penelitian nilai persentase stabilitas ekstrak daun bawang dayak yang terendah terdapat pada konsentrasi 0,005% yaitu sebesar 33,60%, sedangkan untuk hasil tertinggi yaitu pada konsentrasi 0,08% sebesar 62,87%.

Aktivitas antiinflamasi pada ekstrak daun bawang dayak dapat dilihat dari penurunan nilai absorbansi pada campuran larutan uji. Ketika nilai absorbansi yang dihasilkan oleh suatu ekstrak semakin kecil dan nilai persen stabilitas semakin besar, maka semakin kecil pula hemolisis yang terjadi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antiinflamasi yang dihasilkan oleh ekstrak dalam menstabilkan sel darah merah semakin besar. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi tiap konsentrasi pada larutan uji dan memiliki nilai persen stabilitas semakin meningkat.

Ekstrak daun bawang dayak setelah dilakukan pengujian skrining fitokimia, terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, fenol dan triterpenoid. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun bawang dayak ini memiliki peranan dalam aktivitas antiinflamasi. Mekanisme antiinflamasi yang terjadi pada flavonoid dapat melalui beberapa rangkaian yaitu menghambat aktivitas enzim COX dan lipooksigenase secara mengakibatkan penghambatan biosintesis prostaglandin dan leukotriene yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase. Selanjutnya, dapat menghambat akumulasi leukosit dan degranulasi neutrofil sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh neutrofil, serta menghambat pelepasan histamin. Ketika kondisi normal, leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel (Wardani, 2020).

Saponin dan flavonoid memberikan efek stabilisasi yang mendalam pada membran lisosom baik *in vivo* maupun *in vitro*. Aktivitas antioksidan tanin berfungsi sebagai anti inflamasi dengan menghambat produksi oksidan (O_2) oleh neutrofil, monosit, dan makrofag. Penghambatan produksi O_2 mengurangi pembentukan H_2O_2 , yang selanjutnya menghambat produksi asam hipoklorida (HOCl) dan OH. Tanin juga menghambat langsung oksidan reaktif seperti radikal hidroksi (OH) dan asam hipoklorida (HOCl) (Sukmawati dalam Garakia et al., 2020).

Mekanisme senyawa saponin sebagai antiinflamasi yaitu dapat berinteraksi dengan berbagai membran lipid termasuk fosfolipid, prekursor prostaglandin serta mediator-mediator inflamasi lainnya serta menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vaskular (Dewi Arbitya Belinda, Setianto Rony, 2020). Mekanisme senyawa alkaloid yang berperan dalam antiinflamasi yaitu dengan cara menekan pelepasan histamin oleh sel mast, mengurangi sekresi IL-1 oleh monosit dan PAF pada trombosit (Luliana et al., 2017).

Selanjutnya yaitu senyawa fenolik mampu menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan yang akan memicu terjadinya biosintesis asam arakidonat menjadi mediator inflamasi yaitu prostaglandin (Khotimah S, N, 2017). Selain senyawa fenolik, daun bawang dayak mengandung triterpenoid. Triterpenoid berperan sebagai antiinflamasi dengan mencegah enzim siklooksigenase mengubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin, mediator inflamasi (Wiranto et al., 2016). Ekstrak daun bawang dayak memiliki aktivitas antiinflamasi pada tiap konsentrasinya. Hal ini dikarenakan peranan dari kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun bawang dayak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan yaitu ada perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak daun bawang dayak

(*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih untuk kampus Poltekkes Kemenkes Pontianak yang telah mensupport kami untuk mengikuti lomba ini dan panitia Rakernas AIPTLM yang sudah memfasilitasi kegiatan lomba artikel ilmiah ini.

REFERENSI

- Armadany, F. I., Wahyuni, W., Ardianti, M., & Mallarangeng, A. N. T. A. (2020). Uji Potensi Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Bambu-Bambu (*Polygonum pulchrum* Blume) Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara In Vitro. *Majalah Farmasetika.*, 4(Suppl 1), 144-151. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v4i0.25873>
- Dewi Arbitya Belinda, Setianto Rony, R. F. (2020). Uji Aktivitas Tanaman Pangotan (*Microsorium beurgerianum* (Miq.) Ching) Sebagai Antiinflamasi Secara Invitro dengan Metode HRBC (Human Red Blood Cell). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 1(1), 15-20.
- Fadilaturahmah, F., Syukri, F., Afriani, Y., & Santoso, P. (2022). Anti-Inflammatory Effects of Miang Bean Leaves (*Mucuna pruriens*). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 6(1), 76-83. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v6i1.284>
- Fahrizal, I., & Alfikrie, F. (2021). *Penerapan Terapi Relaksasi Otot Progresif Pada Penderita Hipertensi Dengan Nyeri Akut*. 25-29.
- Garakia, C. S. H., Sangi, M., & Koleangan, H. S. J. (2020). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2), 60. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28709>
- Hardy, R. S., Slamet, S., & Kamilla, L. (2018). Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* L. Merr) terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 2(1), 30. <https://doi.org/10.30602/jlk.v2i1.324>

- Harlim, D. A. (2018). *Buku Ajar Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin : Immunologi Inflamasi*. FK UKI.
- Khotimah S, N, A. M. (2017). Riview Artikel: Beberapa Tumbuhan Yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi. *Farmaka, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran*, 14(2), 28-40.
- Kumalasari, E., aina, aina, ayu checaria, noverda, & aisyah, noor. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia (L.) Merr*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(2), 261-270. <https://doi.org/10.36387/jifi.v3i2.584>
- Luliana, S., Susanti, R., & Agustina, E. (2017). Antiinflammatory Activity Test of Aqueous Extracts Herb of Ciplukan (*Physalis angulata L.*) in Caragenan Inducted Wistar Rat (*Rattus norvegicus L.*). *Majalah Obat Tradisional*, 22(3), 199. <https://doi.org/10.22146/mot.31556>
- Setia, A. I. D., & Tjitiaremi, A. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Dari Berbagai Tanaman : Sebuah Review. *Farmaka*, 14(3), 77-86.
- Wardani, I. G. A. A. K. (2020). Efektivitas Gel Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Sebagai Antiinflamasi Terhadap Mencit Yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1), 66-71. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i1.808>
- Wiranto, E., Wibowo, M. A., & Ardiningsih, P. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Secara In-Vitro Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota Brandt*) Dari Pulau Lemukutan. *Jkk*, 5(1), 52-57.

UJI DAYA HAMBAT FERMENTASI KOMBUCHA TEH BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Fitri Rahmi Fadhilah^{1*} · Suyarta Efrida Pakpahan¹ · Firman Rezaldi²,
Liah Kodariah³ · Aziz Ansori Wahid¹ · Olvia Julinda³

¹Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa barat, Indonesia

²Program Studi DIII Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mangku Wiyata, Jawa barat, Indonesia

³Program Studi DIII Analisis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa barat, Indonesia

e-Mail : ffitirahmi@gmail.com

No Tlp WA : 082214014319

Abstract

*Kombucha is a probiotic drink resulting from fermentation by SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). The substrate for making kombucha drinks can use leaves, flowers or natural ingredients that contain flavonoid compounds and also use sugar as a substrate. Variations in sugar concentration have the ability to inhibit bacterial growth. The aim of this research was to determine the effect of kecombrang flower tea kombucha (*Etilingera elatior*) on gram-positive and gram-negative antibacterial activity at sugar concentrations of 20%, 30%, 40% and 50%, where each treatment was repeated 3 times. A sample of 500 grams of kecombrang flowers was taken with the criteria being red, long-stemmed with oblong-shaped protective leaves. Determination of the inhibitory power of kombucha kecombrang flower tea against bacteria was carried out using the disc diffusion method. The results of the study showed that different sugar concentrations had an effect in inhibiting bacterial growth, which was characterized by the formation of a clear zone for *Escherichia coli* at concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% respectively are 9,6 mm, 8,6 mm, 10,3 mm and 6,3 mm while *Staphylococcus aureus* at concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% respectively are 8,6 mm, 9.3 mm, 14 mm and 7,3 mm. The best sugar concentration is at a concentration of 40% because it has the largest clear zone results. Based on the results of this research, it was concluded that fermented kombucha from kecombrang flower tea (*Etilingera elatior*) using sugar concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% could inhibit the growth rate of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with maximum inhibitory power at a concentration of 40% and can act as a probiotic drink to increase the body's immunity.*

Keywords: antibacterial activity, kombucha, combrang flower, sugar concentration

Abstrak

Kombucha merupakan minuman probiotik hasil fermentasi yang dilakukan oleh SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Substrat dalam pembuatan minuman kombucha dapat menggunakan dedaunan, bunga atau bahan alami yang mengandung senyawa flavonoid dan juga menggunakan gula sebagai substrat. Variasi dari konsentrasi gula memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombucha teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) terhadap aktivitas antibakteri gram positif dan gram negatif pada konsentrasi gula 20%, 30%, dan 40% dan 50%, dimana setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Sampel bunga kecombrang diambil sebanyak 500 gr dengan kriteria berwarna merah, bertangkai panjang dengan daun pelindung bentuk jorong.

Penentuan daya hambat kombucha teh bunga kecombrang terhadap bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gula yang berbeda-beda berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% dan 50% berturut-turut yaitu 9,6 mm, 8,6 mm, 10,3 mm dan 6,3 mm sedangkan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% berturut-turut yaitu 8,6 mm, 9,3 mm, 14 mm dan 7,3 mm. Konsentrasi gula terbaik terdapat pada konsentrasi 40% karena memiliki hasil zona bening paling besar. Berdasarkan hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) yang menggunakan konsentrasi gula 20%, 30%, 40%, dan 50% dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat maksimal pada konsentrasi 40% dan dapat berperan sebagai minuman probiotik untuk meningkatkan kekebalan tubuh.

Kata Kunci : aktivitas antibakteri, kombucha, bunga kecombrang, konsentrasi gula

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan minuman teh fermentasi yang dikembangkan melalui konsorsium bakteri dan ragi yang dikenal dengan nama *Scoby* (Symbiotic Culture/Colony Bacteria & Yeast) sebagai kultur awal yang membantu proses fermentasi, serta menghasilkan aroma dan rasa asam. (Prasis Nursyam Suhardini, 2016)

Kombucha memiliki khasiat antara lain sebagai sumber antioksidan, antibakteri, meningkatkan mikroflora usus, menurunkan tekanan darah dan imunomodulator. (Prasis Nursyam Suhardini, 2016)

Khasiat kombucha sebagai minuman penambah imunitas sangat cocok untuk dikembangkan bahkan dikonsumsi di era pandemi COVID-19 dimana pasien COVID-19 internasional per 6 April 2021 mencapai 131.020.967 orang dan mengalami penambahan sebanyak 1.534.225 dengan rincian penambahan jumlah pasien sebanyak 6.731 orang. (Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, 2021) (Naland, 2008). Sifat dasar kombucha sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri juga membuka peluang besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku kosmetik halal dari sudut pandang bioteknologi. Kandungan asam organik pada kombucha berupa asam asetat berperan sebagai antibakteri. (Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, 2021)

Pada penelitian ini digunakan bahan dasar kombucha yang berasal dari bunga kecombrang (*Etilingera elatior*). Hal ini dikarenakan bunga kecombrang mengandung senyawa antioksidan alami yaitu flavonoid yang baik untuk kesehatan. Proses fermentasi kombucha juga dapat meningkatkan nilai gizi dan cita rasa teh bunga kecombrang dengan adanya asam organik, mineral dan vitamin hasil fermentasi oleh bakteri dan ragi yang ada pada budidaya. Selain itu bunga kecombrang juga mengandung senyawa antosianin. Pada dasarnya antosianin akan lebih stabil jika difermentasi menggunakan BAL (Bakteri Asam Laktat), sehingga menyebabkan kestabilan pada suhu, pH, dan enzim. Hunaefi et al., (2013) menyatakan bahwa proses fermentasi terbukti mampu meningkatkan aktivitas antioksidan kubis merah dari 154,87 ppm menjadi 43,56 ppm dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-picrlhydrazyl). (Dase Hunaefi, 2013)

Proses fermentasi kombucha juga dapat meningkatkan nilai gizi dan berbagai hasil penelitian yang dikembangkan mengenai fermentasi kombucha bunga kecombrang mendorong penulis untuk melakukan penelitian tentang perbedaan konsentrasi gula. Proses pembuatan kombucha pada dasarnya dipengaruhi oleh konsentrasi gula. (Marwati & Syahrumsyah, 2013) Pertumbuhan mikroba patogen yang dihambat oleh kombucha dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi gula yang mempengaruhi kandungan senyawa kimia organik berupa asam organik pada kombucha sehingga menyebabkan kadar asam menjadi lebih tinggi, dan berpotensi menghambat pertumbuhan mikroba patogen. (Rosnawyta Simanjuntak, 2011), (Kumar Vikas, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Yanti dkk., (2020) disimpulkan bahwa kombucha daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri yang baik untuk digunakan sebagai minuman kesehatan dan konsentrasi gula 20% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Rata-rata diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* adalah 17,08 pada kategori kuat, dan 16,28 mm merupakan rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Sedangkan kombucha bunga

kecombrang yang difermentasi belum diketahui potensinya sebagai antibakteri. Hingga saat ini belum ada penelitian yang menguji antibakteri. (Nur Arfa Yanti*), Sri Ambardini, Ardiansyah, Wa Ode Leni Marlina, 2020)

Uraian latar belakang mengenai hasil penelitian yang mendukung penelitian ini membuat penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul Uji Penghambatan Fermentasi Bunga Kombucha Kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap Pertumbuhan Bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*). *Escherichia coli* dipilih sebagai bakteri yang mewakili bakteri Gram negatif, sedangkan *Staphylococcus aureus* dipilih sebagai bakteri yang mewakili bakteri Gram positif. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh kombucha teh bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap aktivitas antibakteri gram positif dan gram negatif pada konsentrasi gula 20%, 30%, dan 40%.

BAHAN DAN METODE

1. Pembuatan Bahan Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) dan Scoby

Bunga kecombrang diperoleh dari daerah kota Bandung, diambil sebanyak 500 gram untuk pembuatan fermentasi kombucha teh bunga kecombrang sebanyak 1 L. dalam keadaan segar dengan kriteria berwarna merah, bertangkai panjang dengan daun pelindung bentuk jorong. Bunga kemudian dicuci sampai bersih, dan dikeringkan di udara. Bunga kecombrang yang sudah kering disimpan dalam wadah bersih untuk direbus dan juga difermentasi oleh Scoby.

2. Uji Fitokimia Bunga Combrang

Bunga kecombrang terlebih dahulu diuji fitokimianya untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya.

3. Membuat Bunga Kecombrang Kombucha (*Etlingea elatior*)

Langkah-langkah pembuatan kombucha bunga kecombrang fermentasi adalah 1) menyiapkan bahan utama seperti toples kaca, gula sebagai substrat, dan kultur awal kombucha bersama baby Scoby dalam bentuk kombucha cair; 2) menimbang bunga kecombrang 17,2% dalam 1 liter; 3) timbang 7,2% air hingga

tersisa 2,4% air; penambahan gula pasir sesuai perlakuan yaitu 20%, 30% dan 40%; 5) panaskan gula pasir hingga mendidih selama 10 menit kemudian masukkan ke dalam toples kaca pada setiap perlakuan untuk memekatkan larutan gula; 6) air matang dimasukkan ke dalam toples kaca yang telah ditambahkan gula pasir berdasarkan konsentrasi masing-masing larutan gula; 7) dinginkan air matang pada suhu 25°C kemudian tambahkan 8% (v/v) starter kombucha berumur 7 hari pada setiap perlakuan; 8) tutup toples kaca dengan penutup kain agar proses fermentasi berjalan statis selama 12 hari pada suhu ruangan hingga mencapai pH 3-4. (Nur Arfa Yanti*), Sri Ambardini, Ardiansyah, Wa Ode Leni Marlina, 2020)

4. Uji Antimikroba Difusi Cakram

Untuk Bakteri

Siapkan 15 cawan petri untuk menuangkan 15 mL Mueller Hinton Agar (MHA) ke dalam setiap cawan petri; 2) diamkan media hingga memadat. 3) celupkan kapas steril ke dalam suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah diencerkan hingga 0,5 Mc Farland sehingga konsentrasinya menjadi 10⁸ CFU/ml. 4) usapkan pada media MHA sampai permukaan tertutup seluruhnya, 5) tempelkan piringan yang sudah direndam ke dalam larutan fermentasi kombucha bunga kecombrang dengan variasi konsentrasi tertentu yaitu pada cawan I 20%, cawan II 30%, cawan III 40%, cawan Gelas IV diisi kontrol positif berupa antibiotik basitrasin dan amoksisilin, dan Gelas V diisi kontrol negatif berupa aquades; 6) ulangi 3 kali; 7) inkubasi selama 24 jam. (Pertiw, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, 2022)

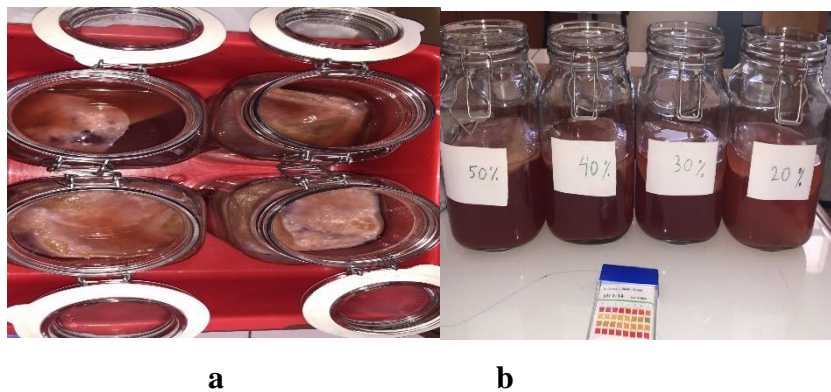
HASIL

Bunga kecombrang terlebih dahulu harus diuji determinasinya untuk mengetahui spesies atau nama ilmiahnya. Setelah dilakukan uji determinasi maka diperoleh hasil berupa *Etilangia elatior*. Setelah itu dilanjutkan dengan uji fitokimia untuk melihat kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Hasil yang diperoleh dari uji fitokimia adalah bunga kecombrang mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, steroid/terpenoid, saponin.

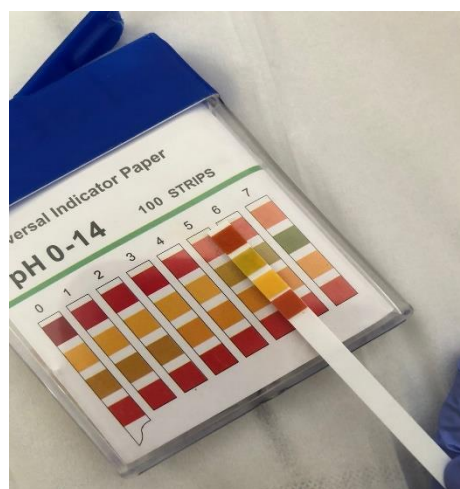
(Tabel 1)

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Bunga Kecombrang

Compounds	Present (+)
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Steroid/terpenoids	+
Saponin	+



Gambar 1. a) Fermentasi Kombucha b) Hasil fermentasi setelah 14 hari
Uji daya hambat kombucha bunga kecombrang sebagai antimikroba

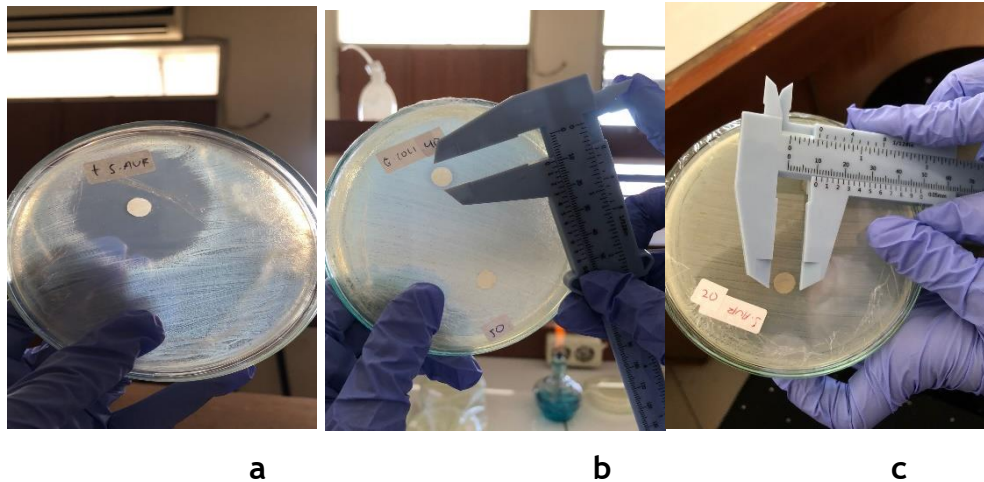


Gambar 2. pH hasil fermentasi mencapai 4

Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat Bunga Kombucha Kecombrang

No	Ulangan	Kontrol negatif (mm)	Kontrol positif (mm)	Diameter Zona Hambat (mm)			
				20%	30%	40%	50%
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0 mm	30 mm	9 mm	10 mm	13 mm	7 mm
	II	0 mm	30 mm	9 mm	9 mm	15 mm	8 mm
	III	0 mm	30 mm	8 mm	9 mm	14 mm	7 mm
	rerata	0 mm	30 mm	8,6 mm	9,3 mm	14 mm	7,3 mm
<i>Escherichia coli</i>	I	0 mm	20 mm	10 mm	10 mm	11 mm	6 mm
	II	0 mm	20 mm	10 mm	8 mm	10 mm	6 mm
	III	0 mm	20 mm	9 mm	8 mm	10 mm	7 mm
	rerata	0 mm	20 mm	9,6 mm	8,6 mm	10,3 mm	6,3 mm

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh positif dari penggunaan bunga kecombrang hasil fermentasi kombucha dengan konsentrasi gula 20%, 30%, 40% dan 50% sebagai anti bakteri gram positif dan gram negatif yang digunakan sebagai bakteri uji. Hal tersebut terlihat pada hasil zona hambat yang menghasilkan daya hambat terbesar pada konsentrasi gula 40% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. (Tabel 2.)



Gambar 2. Hasil pengukuran zona hambat: a) Kontrol + *S.Aureus*; b) *E.coli*; c) *S.aureus*

Kombucha bunga kecombrang mempunyai aktivitas farmakologi secara in vitro sebagai antimikroba. Terlihat dari terbentuknya zona hambat yang dihasilkan pada setiap konsentrasi gula yaitu konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

DISKUSI

Hasil uji daya hambat fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) menunjukkan adanya daya hambat pada setiap konsentrasi yaitu 20%, 30%, 40%, dan 50% terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai zona hambat yang berbeda-beda. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dan menambahkan fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) dengan konsentrasi gula yang berbeda-beda, amoxicillin 250 mg sebagai kontrol positif berspektrum luas, dan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan sampel uji diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

Pada penelitian ini didapati hasil rata-rata tiap pengulangan dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% untuk uji daya hambat fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) terhadap *Escherichia coli* secara berturut-turut adalah 9,6 mm, 8,6 mm, 10,3 mm, dan 6,3 mm. Hasil

rata-rata tiap pengulangan dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% untuk uji daya hambat fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut adalah 8,6 mm, 9,3 mm, 14 mm, dan 7,3 mm. Zona hambat untuk kontrol positif terhadap *Escherichia coli* adalah 20 mm dan untuk *Staphylococcus aureus* adalah 30 mm. Zona hambat terbesar yang dihasilkan oleh fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) untuk *Escherichia coli* 10,3 mm dan *Staphylococcus aureus* 14 mm yang didapat dari konsentrasi 40%.

Menurut Nur et al, (2018) hasil pada zona bening dapat dikategorikanke dalam beberapa kategori, yaitu lemah (≤ 5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20 mm). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa konsentrasi 40% fermentasi kombucha dari teh bunga kecombrang mempunyai kemampuan daya hambat kategori sedang pada bakteri *Escherichia coli* dan untuk *Staphylococcus aureus* termasuk ke dalam kategori kuat. (Nur YM, Sri Indrayati, Periadnadi Periadnadi, 2018), (Fadillah, M. F., Hariadi, H., Kusumiyati, K., Rezaldi, F., & Setyaji, 2022)

Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Kolo et al, 2022 yang didapat fermentasi dari kombucha bunga telang memiliki kemampuan daya hambat maksimal terhadap pada konsentrasi 40% larutan gula stevia. (Yuliana Kolo, Muhammad Faizal Fathurrohman, Firman Rezaldi, Endang Safitri, Diyan Yunanto Setyaji, Fitri Rahmi Fadhilah, M. Fariz Fadillah, 2022)

Berdasarkan hasil penelitian terjadi penurunan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50% yang dapat disebabkan oleh tingginya kadar gula pada fermentasi kombucha teh bunga kecombrang. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Sizka, (2017) yang menyatakan bahwa konsentrasi gula yang terlalu tinggi pada minuman probiotik dapat menurunkan aktivitas antibakterinya. Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Firman dkk (2022) tentang Analisis Potensi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan Konsentrasi Gula Stevia sebagai Inhibitor Pertumbuhan Bakteri Patogen, didapatkan zona hambat terbesar pada konsentrasi gula 40% yaitu 23,83 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan gula 40% yaitu 23,83 mm untuk *Escherichia coli* 20,90 mm lebih tinggi dari besarnya zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha

bunga kecombrang pada penelitian ini yaitu pada konsentrasi gula 40% yaitu 14 mm untuk *Stapylococcus aureus* dan gula 40% yaitu 10,3 mm untuk *Escherichia coli*. (Yuliana Kolo, Muhammad Faizal Fathurrohimi, Firman Rezaldi, Endang Safitri, Diyan Yunanto Setyaji, Fitri Rahmi Fadhilah, M. Fariz Fadillah, 2022)

Kombinasi bakteri dan ragi yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kombucha dapat meningkatkan fungsinya sebagai agen anti bakteri patogen. Mekanisme selulernya adalah menghancurkan komponen peptidoglikan di dalam dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kandungan peptidoglikan dinding sel bakteri Gram positif lebih tinggi dibandingkan bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri positif lebih mudah dirusak oleh kombucha sebagai agen antibakteri. Kombucha memiliki aktivitas tertinggi melawan bakteri Gram positif, terutama *S.Aureus*. (Rezaldi, Firman, Retna Yulrosly Ningtyas & Ma'ruf, 2021), (Kunnaryo, H. J. B., & Wikandari, 2021).

KESIMPULAN

Teh kombucha yang difermentasi dengan bunga kecombrang (*Etlangia elatior*) mempunyai daya hambat pada konsentrasi gula 20%, 30%, 40% dan 50% berturut-turut sebesar 9,6 mm, 8,6 mm, 10,3 mm dan 6,3 mm terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi gula 20%, 30%, 40% dan 50% berturut-turut sebesar 8,6 mm, 9,3 mm, 14 mm dan 7,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Fermentasi kombucha bunga kecombrang berpotensi dijadikan minuman probiotik untuk menjaga kesehatan

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Penelitian Institut Kesehatan Rajawali. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ibu Mira Miraturrofi'ah, S.ST., M.Kes selaku plt.Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Ikes Rajawali.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Abdilah, N. A., Rezaldi, F., Kusumiyati, K., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) yang Difermentasi Dengan Gula Aren Pada Konsentrasi Berbeda. *Tirtayasa Medical Journal*, 1(2), 29-39. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.52742/tmj.v1i2.15139>
- Dase Hunaefi, D. N. A. & I. S. (2013). Effect of Fermentation on Antioxidant Properties of Red Cabbages. *Food Biotechnology*, 27(1), 66-85. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/08905436.2012.755694>
- Fadillah, M. F., Hariadi, H., Kusumiyati, K., Rezaldi, F., & Setyaji, D. Y. (2022). Karakteristik biokimia dan mikrobiologi pada larutan fermentasi kedua kombucha bunga telang (*Clitoria Ternatea* L) sebagai inovasi produk bioteknologi terkini. *Jurnal Biogenerasi*, 7(2), 19-34. <https://doi.org/https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v7i2.1765>
- Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, F. F. (2021). Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara In Silico. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 10(1), 77-85.
- Kumar Vikas, J. V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6(1), 13-24. <https://doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>
- Kunnaryo, H. J. B., & Wikandari, P. R. (2021). Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 24-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p24-36>
- Marwati, H., & Syahrumsyah, R. H. (2013). Pengaruh Konsentrasi Gula dan Starter terhadap Mutu Teh Kombucha (Effects of Sugar Concentration and Starter on Quality of Kombucha Tea). *JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN*, 8(2), 49-53.
- Naland, H. (2008). *Kombucha : Teh Dengan Seribu Khasiat (ed.Revisi)*. Agro Media Pustaka.

- Nur Arfa Yanti*), Sri Ambardini, Ardiansyah, Wa Ode Leni Marlina, K. D. C. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Konsentrasi Gula Berbeda. *BERKALA SAINSTEK*, 8(2), 35-40.
- Nur YM, Sri Indrayati, Periadnadi Periadnadi, N. N. (2018). Pengaruh Penggunaan Beberapa Jenis Ekstrak Tanaman Beralkaloid terhadap Produk Teh Kombucha. *Jurnal Biologi UNAND*, 6(1), 55-62.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCETROPIC)*, 7(2), 57-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Prasis Nursyam Suhardini, E. Z. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 221-229.
- Rezaldi, Firman, Retna Yulrosly Ningtyas, S. D. A., & Ma'ruf, A. (2021). PENGARUH METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI ANTIBAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF. *Jurnal BIOTEK*, 9(2), 169. <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>
- Rosnawyta Simanjuntak, N. S. (2011). Pengaruh konsentrasi gula dan lama fermentasi terhadap mutu teh kombucha. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Tinggi*, 4(2), 81-91.
- Yuliana Kolo, Muhammad Faizal Fathurrohlim, Firman Rezaldi, Endang Safitri, Diyan Yunanto Setyaji, Fitri Rahmi Fadhilah, M. Fariz Fadillah, F. H. (2022). Analisis Potensi Fermentasi Kombucha Bunga Kecombrang (*Clitoria ternatea*L.) dengan Konsentrasi Gula Stevia sebagai Inhibitor Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Jurnal Jeumpa*, 9(2), 729-738.
-

HUBUNGAN KADAR C-Reactive Protein DENGAN Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR) PADA PENDERITA DEMAM TIFOID

Herlinda Djohan^{1*}. Ari Nuswantoro¹. Harno¹

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia

email: herlinda.dj@gmail.com

No Telepon : 082254150308

Abstract

Typhoid fever is an acute systemic disease of the gastrointestinal tract caused by the bacterium Salmonella thymi. The diagnosis can be known from the neutrophil lymphocyte ratio (NLR) as a simple parameter to easily assess the inflammatory state of the subject. C-reactive protein (CRP) will increase sharply during inflammation and during systemic inflammation. This study aimed to determine the correlation of C-reactive protein with neutrophil lymphocyte ratio (NLR) in typhoid fever patients. The sample used in this study included hospitalized or outpatient typhoid fever patients and patient registration at Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak Hospital in May 2023, with a total of 41 patients. On the NLR examination, there were 24 respondents (58.53%) who had NLR <3, 10 respondents (24.39%) who had NLR 3-5, Respondents who have NLR 3-5 are 10 people (24.39%) and 7 respondents (17.07%) who had NLR >5. In the CRP examination, there were 18 respondents (43.90%) who had CRP <10 mg/dl. Respondents who had CRP 10-20 mg/dl were 4 people (9,76%). Respondents who had CRP 20-50 mg/dl were 12 people (29,27%) with average 28,24 Respondents who had CRP > 50 mg/dl were 7 people (17,07%).

Keywords: Typhoid, NLR, C-Reactive Protein

Abstrak

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik akut pada saluran cerna yang disebabkan oleh bakteri Salmonella typhi. Diagnosis dapat ditentukan dari rasio neutrofil leukosit (NLR) untuk memudahkan menilai status inflamasi subjek. Protein C-reaktif (CRP) akan meningkat tajam pada saat inflamasi maupun pada saat inflamasi sistemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar protein C-reaktif dengan rasio neutrofil leukosit (NLR) pada manusia penderita demam tifoid. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien demam tifoid yang terdaftar sebagai pasien pada bulan Mei 2023 di RS Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak yang berjumlah 41 pasien. Pada pemeriksaan NLR responden yang memiliki NLR <3 adalah 24 orang (58,53%), NLR 3-5 adalah 10 orang (24,39%), NLR >5 adalah 7 orang (17,07%). Pada pemeriksaan CRP responden yang memiliki CRP <10 mg/dl adalah 18 orang (43,90%), CRP 10-20 mg/dl sebanyak 4 orang (9,76%), CRP 20-50 mg/dl sebanyak 12 orang (29,27%), CRP > 50 mg/dl adalah 7 orang (17,07%).

Kata Kunci: Tifoid; NLR; C-Reactive Protein

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik akut pada saluran cerna dan terus menjadi masalah kesehatan global bagi masyarakat global. Angka kejadian tifus di seluruh dunia diperkirakan antara 11 dan 20 juta kasus, dan sekitar 128.000 hingga 161.000 orang meninggal karena penyakit ini setiap tahunnya (WHO,2018). Demam tifoid merupakan penyakit menular yang menyerang semua usia, baik pria maupun wanita. Penyakit ini tersebar luas di daerah tropis dan subtropis, dimana kualitas air tidak memadai dan standar sanitasi buruk. Di Indonesia, penyakit ini bersifat endemik (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2006).

Angka kejadian penyakit tipus di Indonesia diperkirakan mencapai 350 hingga 810 per 100.000 penduduk, dan angka kejadiannya cenderung meningkat setiap tahunnya sekitar 500 hingga 100.000 orang dengan angka kematian sekitar 0,6 hingga 5%. . Angka kejadian penyakit tipus tiap daerah berbeda- beda, misalnya di Kota Semarang pada tahun 2014 sebanyak 9.721 kasus dan pada tahun 2015 sebanyak 9.748 kasus. (Dinkes 2014; Dinkes 2015). Berdasarkan data tersebut, terlihat bahwa angka kejadian demam tifoid masih tinggi sehingga memerlukan diagnosis yang akurat dengan memeriksa manifestasi klinis pasien yang dibuktikan dengan pemeriksaan laboratorium. Manifestasi klinis penyakit tifus sangat bervariasi dan tidak unik pada setiap individu. Gejalanya meliputi demam tinggi, diare, sakit kepala, menggigil, bradikardia relatif, hepatosplenomegali, atau kehilangan kesadaran ringan.

Di Indonesia jumlah kasus penyakit tipus berkisar antara 350 hingga 810 per 100.000 penduduk, angka kejadian penyakit ini di Indonesia sebesar 1,6% dan menempati urutan ke 5 penyakit menular yang terjadi pada semua umur di Indonesia yaitu sebesar 6,0% dan menempati urutan ke 5 dalam hal penyakit tipus. Penyebab angka kematian semua umur di Indonesia setara dengan 1,6% (Khairunnisa et al., 2020).

Penyakit demam tifoid di Kalimantan Barat masih merupakan asalah kesehatan. Berdasarkan Laporan seksi Pencegahan & Pengendalian Penyakit Menular Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat pada tahun 2022, tercatat jumlah semua kasus suspek deman tifoid sebanyak 3.388 kasus. Di Kota

Pontianak jumlah penderita demam tifoid setiap tahunnya terus meningkat. Pada tahun 2021 tercatat sebanyak 368 kasus, tahun 2022 sebanyak 932 kasus kemudian pada tahun 2023 tercatat dari minggu pertama hingga minggu ke-36 terdapat sebanyak 916 kasus. Berdasarkan laporan tahunan RS Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak tahun 2018 sebanyak 848 pasien, tahun 2019 sebanyak 731 pasien, 2020 sebanyak 252 pasien kemudian mengalami peningkatan pada tahun 2021 tercatat jumlah kasus demam tifoid dan paratifoid yaitu pada pasien rawat inap sebanyak 57 pasien dan rawat jalan sebanyak 444 pasien. Kasus meningkat kembali di tahun 2022 yaitu pada pasien rawat inap sebanyak 411 pasien dan rawat jalan sebanyak 1050 pasien. Pada tahun 2023 dari Januari hingga Februari tercatat kasus demam tifoid yaitu pada pasien rawat inap sebanyak 66 pasien dan rawat jalan sebanyak 78 pasien.

Prosedur diagnostik penyakit tipus dan paratifoid biasanya meliputi pemeriksaan tanda dan gejala klinis, penanda serum, kultur bakteri, dan penelusuran DNA *S. typhi* dan *S. paratyphi*. Kultur darah, sumsum tulang, dan tinja memberikan diagnosis yang dapat diandalkan, namun prosedur ini mahal dan sensitivitasnya menurun bila pasien diobati dengan antibiotik (Hayat, 2011). Diagnosis serologis yang paling umum digunakan di negara-negara berkembang selama hampir satu abad adalah tes Widal. Meskipun kita tahu bahwa tes ini kurang spesifik, namun tes Widal masih umum dilakukan karena tes ini cukup praktis dan murah (Lalremruata ., 2014). Uji Widal merupakan uji aglutinasi yang menggunakan suspensi bakteri *S. typhi* dan *S. paratyphi* sebagai antigen untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap bakteri *Salmonella* dalam serum pasien. Pemeriksaan ekstensif sering dilakukan di layanan kesehatan primer, dimana sumber daya masih terbatas (Ohanu ., 2019).

Selain pemeriksaan Widal, pemeriksaan laboratorium yang dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit demam tifoid dengan pemeriksaan penunjang yang bisa diperoleh yaitu pemeriksaan jumlah sel Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) dan C-Reactive Protein. Manifestasi hematologi dapat membantu memantau respons terhadap pengobatan dan perkembangan tifus (Qamar and Aijaz, 2013). Perubahan hematologi yang umum termasuk anemia, leukopenia, eosinofilia, trombositopenia, dan koagulasi intravaskular diseminata subklinis. Demam tifoid mempengaruhi semua sistem termasuk sumsum tulang, menyebabkan penurunan

PCV dan neutrofil namun meningkatkan limfosit. (Ndako ., 2020). Neutropenia pada demam tifoid berhubungan dengan peningkatan amplitudo dan granulositosis. Limfositosis relatif diikuti oleh neutropenia selama fase pemulihan, namun neutropenia dianggap sebagai ciri demam tifoid yang rumit. Parameter hematologi dapat digunakan untuk mendiagnosis tipus secara efektif dan dapat memberikan diagnosis yang andal dan dini, sehingga membantu pengobatan penyakit secara dini dan cepat. (Qamar and Aijaz, 2013). Pengobatan yang diperlukan tergantung dari faktor penyebab frekuensi infeksi ini.

Penderita tifus seringkali mengalami penurunan jumlah sel darah putih karena bakteri *Salmonella typhi* melepaskan pirogen endotoksin eksogen dalam bentuk lipopolisakarida, yang merangsang makrofag untuk mengaktifkan neutrofil (bagian dari sel darah putih), sehingga menyebabkan terbentuknya sel darah putih. darah masuk ke dalam tubuh. jaringan. akan menyebabkan leukopenia bersirkulasi. (Sudoyo ., 2010). Ifeanyi O E (2014) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa Nilai mean (median) jumlah limfosit pada penderita demam tifoid sebesar 61% yang berarti terjadi peningkatan jumlah limfosit (limfositosis) pada 42 penderita demam tifoid. Kegagalan sumsum tulang sering dikaitkan dengan demam tifoid yang menyebabkan peningkatan jumlah limfosit atau limfositosis (Bill, 2009). Beberapa faktor lain yang menyebabkan penurunan jumlah limfosit adalah adanya infeksi lain yang dapat mengganggu fungsi sumsum tulang, kondisi kekebalan tubuh pasien, dan invasi bakteri *Salmonella typhi* (Handojo, 2004).

Diagnosis dapat ditentukan dari rasio jumlah neutrofil/limfosit, karena rasio neutrofil/limfosit (NLR) dapat digunakan sebagai parameter sederhana untuk memudahkan penilaian, menilai status inflamasi subjek. Kegunaannya telah terbukti sebagai stratifikasi kematian pada kejadian kardiovaskular utama, sebagai faktor prognostik penting pada jenis kanker tertentu, atau sebagai prediktor dan penanda peradangan atau infeksi (seperti radang usus buntu pada anak-anak) dan komplikasi setelah operasi (Forget ., 2017).

Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* yang masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan peradangan. Peradangan adalah mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan diri terhadap benda asing, seperti

invasi mikroba, trauma, bahan kimia, faktor fisik, dan alergi. Pelepasan berbagai sitokin inflamasi disebabkan oleh invasi bakteri, yang kemudian merangsang hepatosit untuk mensintesis protein fase akut seperti protein C-reaktif (CRP). CRP akan meningkat tajam pada saat inflamasi dan pada saat inflamasi sistemik (Ameista Tahumuri, M. C. P. Wongkar, 2017). Kinetika metabolisme CRP bergantung pada derajat inflamasi dan derajat penyembuhan luka yang terjadi. Oleh karena itu CRP sangat efektif dalam menilai aktivitas penyakit dalam situasi akut. Tes ini relatif murah dan dapat memperoleh hasil dengan cepat serta tidak memerlukan darah dalam jumlah besar (Utami .,2019).

Pada penelitian yang di lakukan oleh (Nuraeni, Fadillah and Saputra, 2022) hasil pemeriksaan CRP pada pasien demam tifoid yaitu dari 40 sampel berdasarkan usia diperoleh hasil tinggi sebanyak 30 sampel (75%) pada usia 21-30 tahun dan hasil tinggi sebanyak 7 sampel (17,5%) pada usia 10-20 tahun.

Berangkat dari gambaran umum diatas, , maka dilakukan penelitian mengenai “Hubungan Kadar C-Reactive Protein Dengan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) Pada Penderita Demam Tifoid”.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif analisis dengan pendekatan *cross-sectional* dengan teknik pengambilan sampel populasi. Populasi penelitian ini adalah seluruh pasien yang terdiagnosis demam tifoid di Rumah Sakit Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien demam tifoid yang terdaftar sebagai pasien pada Mei 2023 sebanyak 41 pasien dengan melakukan tes pemeriksaan widal dan dinyatakan positif terinfeksi Salmonella. Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah *flow cytometry* untuk mengukur rasio neutrofil/limfosit (NLR) dan *immunofluorescence assay* untuk mengukur kadar *C-reaktif protein*. Penelitian ini telah mendapat kode etik dengan nomor 147/KEPK-PK.PKP/VI/2023 dari Poltekkes Kemenkes Pontianak.

HASIL

Penelitian dilakukan dari tanggal 1-30 Mei 2023 di RS Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak. Penelitian ini dilakukan terhadap 41 pasien yang terdiagnosa demam tifoid di untuk diambil darahnya kemudian diperiksa Kadar C-Reactive Protein dan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR).

Nilai NLR	Derajat Klinis
<3	Ringan
3 – 5	Sedang
>5,5	Berat

Setelah mendapatkan persetujuan dari pasien melalui informed consent. Hasil dari penelitian kemudian dilakukan analisa univariat dan bivariat.

1. Analisa Univariat

Data yang didapatkan dari hasil penelitian dianalisa secara univariat berupa distribusi frekuensi dari Kadar C-Reactive Protein dengan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) pasien yang terdiagnosa demam tifoid di RS Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak dan dilakukan uji normalitas data.

Distribusi Frekuensi NRL

NLR	N	%	Min	Max	Mean
<3	24	58,53%	1,17	2,70	1,97
3-5	10	24,39%	3,20	4,81	4,15
>5	7	17,07%	5,57	12,90	8,79

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa distribusi frekuensi responden yang memiliki NLR <3 adalah 24 orang (58,53%) dengan, nilai minimum 1,17 dan maksimum 3,20. Responden yang memiliki NLR 3 - 5 adalah 10 orang (24,39%) dengan nilai minimum 3,20 dan maksimum 4,81. Responden yang memiliki NLR >5 adalah 7 orang (17,07%) dengan nilai minimum 5,57 dan maksimum 12,9.

Distribusi Frekuensi CRP

CRP	N	%	Min	Max	Mean
<10 mg/dl	18	43,90 %	5,02	7,56	5,76
10 - 20 mg/dl	4	9,76 %	10,60	15,10	13,32
20 - 50 mg/dl	12	29,27 %	20,3	38,2	28,24
>50 mg/dl	7	17,07 %	67,40	161,8	98,84

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa distribusi frekuensi responden yang memiliki CRP <10 mg/dl adalah 18 orang (43,90%) dengan nilai minimum 5,02 dan maksimum 7,56. Responden yang memiliki CRP 10-

20 mg/dl adalah 4 orang (9,76%) dengan nilai minimum 10,60 dan maksimum 15,10. Responden yang memiliki CRP 20-50 mg/dl adalah 12 orang (29,27%) dengan nilai minimum 20,30 dan maksimum 38,20. Responden yang memiliki CRP > 50 mg/dl adalah 7 orang (17,07%) dengan nilai minimum 67,40 dan maksimum 161,80.

Hasil Uji Normalitas Data

	Statistic	Df	Shapiro-Wilk	
				Sig.
CRP	0,642	41		0,000
NLR	0,359	41		0,000

Berdasarkan tabel 5.4 diketahui bahwa distribusi data hasil uji normalitas CRP $p\text{ value} = 0,000 < \alpha 0,05$. Hasil uji normalitas NLR $p\text{ value} = 0,000 < \alpha 0,05$. Berdasarkan hasil tersebut dinyatakan berdistribusi tidak normal.

2. Analisa Bivariat

Analisis bivariat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji Korelasi Kendall's Tau-b.

Hasil Analisis Bivariat uji korelasi Kendalls tau-b

		Correlations		
		CRP		NLR
Kendall's tau-b	CRP	Correlation Coefficient	1,000	0,301**
		Sig. (2-tailed)	.	0,000
		N	41	41
	NLR	Correlation Coefficient	0,301**	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,000	.
		N	41	41

Berdasarkan hasil uji korelasi Kendall's Tau b pada Tabel 5.5 diatas, diketahui nilai signifikansi CRP dan NLR yaitu sebesar $0,000 < \alpha 0,05$. Terdapat hubungan antara variabel Kadar C-Reactive Protein dengan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR). Nilai koefisien korelasinya yaitu sebesar 0,301 yang menandakan bahwa kekuatan hubungan Kadar C-Reactive Protein dengan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) adalah cukup.

DISKUSI

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat bahwa pasien yang memiliki CRP < 10 mg/dl adalah 18 orang (43,90%), pasien yang memiliki CRP 10-20 mg/dl adalah 4 orang (9,76%), pasien yang memiliki CRP 20-50 mg/dl adalah 12 orang (29,27%) dan pasien yang memiliki CRP > 50 mg/dl adalah 7

orang (17,07%). Kemudian pasien yang memiliki NLR < 3 adalah 24 orang (58,53%), pasien yang memiliki NLR 3 - 5 adalah 10 orang (24,39%), pasien yang memiliki NLR > 5 adalah 7 orang (17,07%). Pada pemeriksaan kadar CRP dari 41 sampel yang diperiksa, semua sampel menunjukkan hasil positif dengan kadar yang berbeda-beda.

Sistem imun non spesifik yang berperan terhadap *Salmonella thypi* adalah fagosit, yang salah satunya yaitu neutrofil dan penurunan jumlah limfosit menunjukkan infeksi yang sedang terjadi adalah dalam fase akut. Sebaliknya, peningkatan jumlah limfosit menunjukkan infeksi yang terjadi berada pada fase kronis. Penelitian ini bersifat cross sectional sehingga tidak memungkinkan peneliti untuk mengetahui kapan tepatnya pasien terpapar oleh bakteri *Salmonella thypi*.

Tubuh merespon masuknya bakteri *Salmonella thypi* dengan mengeluarkan fagosit yaitu monosit dan neutrofil sebagai respon awal. Pelepasan berbagai sitokin pro-inflamasi terjadi karena invasi bakteri yang selanjutnya menginduksi sel hati untuk mensintesis protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP). CRP akan meningkat tajam beberapa saat terjadinya inflamasi dan selama proses inflamasi sistemik berlangsung.

Berdasarkan hasil penelitian pasien demam tifoid menggunakan metode widal yaitu pasien pada pasien infeksi *Salmonella thypi* dengan titer widal 1/80 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 4 orang, NLR < 3 dan CRP 10-20 mg/dl sebanyak 4 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 1 orang. Titer widal 1/160 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 9 orang, NLR < 3 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 2 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 3 orang, NLR > 5 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 2 orang. Titer widal 1/320 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 5 orang, NLR < 3 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR < 3 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 3 orang, NLR > 5 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 2 orang. Sedangkan pada infeksi *Salmonella parathypi* dengan titer widal 1/80 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 6 orang, NLR < 3 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR < 3 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR > 5 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 2 orang. Titer widal 1/160 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 9 orang, NLR < 3 dan CRP 10-20

mg/dl sebanyak 3 orang, NLR < 3 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 3 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 2 orang, NLR >5 dan CRP 20-30 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR >5 dan CRP >50 mg/dl sebanyak 3 orang. Titer widal 1/320 NLR < 3 dan CRP < 10 mg/dl sebanyak 4 orang, NLR < 3 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 2 orang, NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 1 orang, NLR > 5 dan CRP > 50 mg/dl sebanyak 1 orang. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan NLR disertai peningkatan CRP lebih banyak ditemukan pada infeksi *Salmonella thypi* dengan titer 1/160 dengan NLR 3-5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 3 orang, titer 1/320 dengan NLR > 5 dan CRP 20-50 mg/dl sebanyak 3 orang.

Berdasarkan hasil penelitian pasien dengan derajat klinis ringan yaitu NLR <3 sebanyak 24 orang (58,53%) dengan nilai minimum 1,17 dan maksimum 3,20. Pasien dengan derajat klinis sedang yaitu NLR 3 - 5 sebanyak 10 orang (24,39%) dengan nilai minimum 3,20 dan maksimum 4,81. Pasien dengan derajat klinis berat yaitu NLR >5 sebanyak 7 orang (17,07%) dengan nilai minimum 5,57 dan maksimum 12,9. Pasien yang mengalami peningkatan CRP > 50 mg/dl dengan NLR derajat klinis berat (> 5) sebanyak 6 orang (14,63%), peningkatan CRP 10-20 mg/dl dengan NLR derajat klinis berat (> 5) sebanyak 1 orang (2,43%). Pasien yang mengalami peningkatan CRP 20-50 mg/dl dengan NLR derajat klinis sedang (3-5) sebanyak 9 orang (21,95%). Pasien yang tidak mengalami peningkatan CRP (<10 mg/dl) dengan NLR derajat klinis ringan (< 3) sebanyak 17 orang (41,46%). Peningkatan kadar CRP sejalan dengan peningkatan NLR, namun ada beberapa pula yang tidak menunjukkan peningkatan NLR meskipun mengalami kenaikan CRP. Peningkatan CRP dapat terjadi terlebih dahulu daripada peningkatan leukosit pada pasien yang baru terpapar. Hal ini sesuai dengan penelitian Harno (2018) dari 25 sampel yang dihitung jumlah leukosit yang mengalami peningkatan dan penurunan leukosit pada penderita typhoid didapatkan rata-rata yaitu 6708. Jumlah leukosit yang mengalami peningkatan yaitu 8%, yang mengalami penurunan 16% dan yang normal 76%. Hal ini dikarenakan oleh endotoksin *Salmonella typhi* yang menekan haemopoiesis disussum tulang. Oleh sebab itu leukositnya normal. Hal ini dikarenakan pada awal infeksi terjadi peningkatan jumlah leukosit yang sangat tinggi, sehingga walaupun sudah diserang oleh

endotoksin. *Salmonella typhi* penurunan jumlah leukosit hanya sampai pada batas normal yaitu, 4.000-10.000 sel/mm³.

Penderita tifus seringkali mengalami penurunan jumlah sel darah putih karena bakteri *Salmonella typhi* melepaskan pirogen endotoksin eksogen dalam bentuk lipopolisakarida, yang merangsang makrofag untuk mengaktifkan neutrofil (bagian dari sel darah putih), sehingga menyebabkan terbentuknya sel darah putih. darah masuk ke dalam tubuh. jaringan. akan menyebabkan leukopenia bersirkulasi. (Sudoyo ., 2010). Peningkatan jumlah neutrofil disebabkan oleh demarginasi, tertundanya apoptosis neutrofil, dan aktivasi sel punca faktor pertumbuhan, sedangkan limfositopenia disebabkan oleh redistribusi limfosit, marginasi dalam sistem limfatik, dan dibedakan dengan peningkatan apoptosis (Kashif Raza et al., 2022).

Menurut Ifeanyi O E (2014) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa Nilai mean (median) jumlah limfosit pada penderita demam tifoid sebesar 61% yang berarti terjadi peningkatan jumlah limfosit (limfositosis) pada 42 penderita demam tifoid. Kegagalan sumsum tulang sering dikaitkan dengan demam tifoid yang menyebabkan peningkatan jumlah limfosit atau limfositosis (Bill, 2009). Peningkatan dan penurunan nilai NLR dapat disebabkan oleh peningkatan jumlah neutrofil atau penurunan jumlah limfosit. Faktor-faktor seperti inflamasi, stress fisik, stress psikologis dan penggunaan kortikosteroid dapat mengubah jumlah neutrofil limfosit, kemudian mempengaruhi NLR (Nusa dan Widyastiti, 2016).

Neutrofilia dan limfositopenia adalah penanda infeksi bakteri yang parah. Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR) mudah diukur sebagai parameter yang menunjukkan tingkat keparahan peradangan sistemik dan sepsis. Lebih-lebih lagi, NLCR adalah parameter yang berguna untuk memprediksi bakteremia pada pengaturan perawatan darurat (Li, 2020). NLR digunakan untuk memprediksi prognosis kanker, dalam beberapa tahun terakhir terdapat bukti bahwa NLR merupakan indikator ideal peradangan sistemik, dapat mencerminkan tingkat keparahan penyakit. Pemeriksaan NLR dikombinasikan dengan hs-CRP, WBC, PCT pada tingkat keparahan CAR mempunyai penilaian yang baik dan hasil yang tinggi pada NLR, hs-CRP, WBC, PCT memprediksi tingkat keparahan penyakit dan prognosis yang buruk (Zhang et al., 2017).

Peningkatan NLR terjadi akibat peningkatan neutrofil dan penurunan limfosit akibat respon inflamasi yang dapat merangsang produksi neutrofil dan mempercepat apoptosis limfosit. (Raharjo, Sari and Mufida, 2021). Peningkatan neutrofil dapat mengindikasikan respon inflamasi akut atau kronis. Fungsi neutrofil ini didukung oleh kemampuan limfosit sebagai imunitas adaptif untuk menghilangkan patogen tertentu dan sel yang terinfeksi. Hal ini mendasari penggunaan NLR sebagai penanda peradangan. Peradangan kronis dapat merangsang sumsum tulang untuk melepaskan sel penekan imunomodulator yang berasal dari granulosit dari sumsum tulang, yang dapat meningkatkan jumlah leukosit perifer hingga 10%.

Tubuh merespon masuknya bakteri *Salmonella thypi* dengan mengeluarkan fagosit yaitu monosit dan neutrofil sebagai respon awal. Pelepasan berbagai sitokin inflamasi disebabkan oleh invasi bakteri, yang kemudian merangsang hepatosit untuk mensintesis protein fase akut seperti protein C-reaktif (CRP). CRP akan meningkat tajam pada saat inflamasi dan pada saat inflamasi sistemik. (Ameista Tahumuri, M. C. P. Wongkar, 2017). Selama respon inflamasi akut, peningkatan konsentrasi komponen akan bervariasi tergantung penyebabnya. Oleh karena itu, pasien demam mungkin memiliki kadar CRP yang berbeda. Variasi ini menunjukkan bahwa produksi protein fase akut bergantung pada perbedaan sitokin spesifik dan patofisiologi yang mendasarinya (Idhayu et al., 2017).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan menggunakan uji statistik Kendall tau-b diperoleh nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,005$ yang berarti terdapat hubungan antara variabel kadar protein C-reaktif dengan rasio neutrofil (NLR) pada pasien demam tifoid dengan korelasi sebesar 0,301 yang menunjukkan hubungan kedua variabel cukup.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang diperoleh, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Dari pemeriksaan kadar C-Reactive Protein (CRP) yang telah dilakukan

dilakukan terhadap 41 sampel dapat diketahui bahwa pasien yang memiliki CRP <10 mg/dl adalah 18 orang (43,90%) dan pasien yang memiliki CRP >10 mg/dl adalah 23 orang (56,09%).

2. Dari pemeriksaan Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) yang telah dilakukan terhadap 41 sampel, didapatkan pasien dengan derajat klinis ringan yaitu NLR <3 sebanyak 24 orang (58,53%) dengan nilai minimum 1,17 dan maksimum 3,20 dengan. Pasien dengan derajat klinis sedang yaitu NLR 3 - 5 sebanyak 10 orang (24,39%) dengan nilai minimum 3,20 dan maksimum 4,81. Pasien dengan derajat klinis berat yaitu NLR >5 sebanyak 7 orang (17,07%) dengan nilai minimum 5,57 dan maksimum 12,9.
3. Analisa yang dilakukan dengan menggunakan uji statistik Kendall tau-b diperoleh nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,005$ yang berarti terdapat hubungan antara variabel kadar protein C-reaktif dengan rasio neutrofil (NLR) pada pasien demam tifoid dengan korelasi sebesar 0,301 yang menunjukkan hubungan kedua variabel cukup.

REFERENSI

- Ameista Tahumuri, M. C. P. Wongkar, L. W. A. R. (2017). Gambaran Laju Endap Darah Dan C-Reactive Protein Pada Pasien Tuberkulosis Paru Di Manado 2016. *JKK (Jurnal Kedokteran Klinik)*, 1(3), 16-20.
- Bill, L. (2009). Gambaran Leukosit Dan Hitung Jenis Leukosit Pada Pasien Rawat Inap Demam Tifoid Dengan Gall Culture Positif Di RS Immanuel Periode Januari 2007-Juni 2008.
- Forget, P., Khalifa, C., Defour, J. P., Latinne, D., Van Pel, M. C., & De Kock, M. (2017). What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Research Notes*, 10(1), 1-4. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2335-5>
- Harno. (2018). Gambaran Jumlah Leukosit pada Penderita Demam Typhoid dengan Uji Widal Positif di Rumah Sakit Bhayangkara Anton Soedjarwo Pontianak.
- Idhayu, A. T., Chen, L. K., Suhendro, S., & Abdullah, M. (2017). Perbedaan Kadar C-Reactive Protein pada Demam Akut karena Infeksi Dengue dan Demam Tifoid. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 3(3), 138. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v3i3.24>
- Ifeanyi O E. (2014). Changes in some haematological parameters in typhoid patients attending University Health Services Department of Michael

Okpara University of Agriculture, Nigeria. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(1), 246-248.

Kashif Raza, S., Javaid, H., Bajwa, H., Saleem, K., & Hashim, M. (2022). Evaluation of haematological variables in patients with typhoid in Pakistan. *Pakistan Journal of Health Sciences*, 73-77.

<https://doi.org/10.54393/pjhs.v3i06.104>

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2006). *Pedoman Pengendalian Demam Tifoid*.

Lalremruata, R., Chadha, S., & Bhalla, P. (2014). Retrospective audit of the widal test for diagnosis of typhoid fever in pediatric patients in an endemic region. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(5), 22-25.

<https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/7819.4373>

Li, X., Liu, C., Mao, Z., Xiao, M., Wang, L., Qi, S., & Zhou, F. (2020). Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*, 24(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03374-8>

Ndako, J. A., Dojumo, V. T., Akinwumi, J. A., Fajobi, V. O., Owolabi, A. O., & Olatinsu, O. (2020). Changes in some haematological parameters in typhoid fever patients attending Landmark University Medical Center, Omuaran-Nigeria. *Heliyon*, 6(5), e04002.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04002>

Nuraeni, H. S., Fadillah, M. A., & Saputra, T. (2022). Reserch Article Gambaran C-Reaktif Protein (CRP) Pada Pasien Demam Tifoid di Laboratorium Klinik Pinang Sari 2 Description of C-Reactive Protein (CRP) in Tyfoid Fever Patients in Clinic Laboratory of Pinang Sari 2. 1(1), 13-18.

Ohanu, M. E., Iroezindu, M. O., Maduakor, U., Onodugo, O. D., & Gugnani, H. C. (2019). Typhoid fever among febrile Nigerian patients: Prevalence, diagnostic performance of the widal test and antibiotic multi-drug resistance. *Malawi Medical Journal*, 31(3), 184-192.

<https://doi.org/10.4314/mmj.v31i3.4>

Profil Kesehatan Kalimantan Barat 2019. (2020). Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat.

Qamar, U., & Aijaz, J. (2013). Haematological changes associated with typhoid fever. *Rawal Medical Journal*, 38(1), 32-35.

Raharjo, A. M., Sari, E. D., & Mufida, D. C. (2021). Correlation Between Leukocyte Differential Counts with The Severity and Outcome of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients In Jember. *Jurnal Respirologi Indonesia*, 41(3), 187-195.

<https://doi.org/10.36497/jri.v41i3.186>

- Sudoyo, A. W., Alwi, I., Setiati, S., Simadibrata K, M., & Setiyohadi, B. (2010). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I (II). Interna Publishing.
- Utami, A. P., Durachim, A., Nurhayati, B., & Noviar, G. (2019). Waktu Simpan Darah Antikoagulan K2EDTA Dan K3EDTA Terhadap Parameter Eritrosit. 11(2), 175-182.
- WHO. (2018). Typhoid. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/typhoid#:~:text=WHO estimates the global typhoid,safe water and adequate sanitation.>
- Zhang, X.-L., Wang, Z., Lv, S.-H., & Jing, H.-J. (2017). Clinical application of neutrophil / lymphocyte ratio combined with high sensitive C reactive protein in evaluation of community acquired pneumonia. Journal of Hainan Medical University, 23(3), 61-63. <http://www.hnykdxxb.com>

OPTIMASI ANTOSIANIN PADA BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI ZAT WARNA PADA PEMERIKSAAN SOIL-TRANSMITTED HELMINTH

A.R.Pratiwi Hasanuddin^{1*} · Rahmat Aryandi¹ · Andi Suswani² · Andi Harmawati¹

¹Prodi DIII Analisis Kesehatan, STIKes Panrita Husada, Sulawesi Selatan, Bulukumba

²Prodi SI Keperawatan, STIKes Panrita Husada, Sulawesi Selatan, Bulukumba

e-Mail: a.r.pratiwihasanuddin@gmail.com

No Tlp WA : 082292221606

Abstract

The background of this research is STH (*Soil-Transmitted Helminth*), which is a group of worms whose life cycle requires soil with certain conditions to reach the infective stage. Anthocyanins are a group of red to blue pigments that are widely distributed in plants. Anthocyanins are called flavonoid pigments, including flavonoid compounds. Polar compounds can be extracted with polar solvents as well. This research aims to determine the ability of anthocyanins in red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) to be used as a dye in STH (*Soil-Transmitted Helminth*) examinations. The research method was carried out using categorical descriptive laboratory observations where the samples used were positive feces using the sedimentation method. The extract from red dragon fruit obtained was then varied in concentration, namely: 100%; 80%; 60%; 40%; and 20%. The results obtained were that the concentration was 80% effective in coloring STH (*Soil-Transmitted Helminth*) eggs when compared with the control. So, it can be concluded that anthocyanin dyes are effectively used as natural dyes to replace eosin in STH (*Soil-Transmitted Helminth*) examinations.

Keywords: STH (*Soil-Transmitted Helminth*); Anthocyanin; Red Dragon Fruit

Abstrak

Penelitian ini berlatar belakang STH (*Soil-Transmitted Helminth*) yaitu kelompok cacing yang siklus hidupnya memerlukan tanah dengan kondisi tertentu untuk mencapai stadium infeksi, antosianin merupakan kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar luas pada tanaman, antosianin disebut pigmen flavonoid, senyawa flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan antosianin pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat digunakan sebagai zat warna pada pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*). Metode Penelitian dilakukan secara observasi laboratorium yang bersifat deskriptif kategorik di mana sampel yang digunakan adalah feses positif dengan metode sedimentasi. Ekstrak dari buah naga merah yang didapatkan kemudian dibuat variasi konsentrasinya, yaitu: 100%; 80%; 60%; 40%; 20%. Hasil yang didapatkan adalah konsentrasi 80% efektif dalam mewarnai telur STH (*Soil-Transmitted Helminth*) jika dibandingkan dengan kontrol. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa zat warna antosianin efektif digunakan sebagai pewarna alami pengganti eosin pada pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

Kata Kunci: STH (*Soil-Transmitted Helminth*); Antosianin; Buah Naga Merah

PENDAHULUAN

Daerah tropis maupun sub tropis sering terjadi penyakit infeksi yaitu kecacingan. *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2022 menyebutkan bahwa populasi di dunia mengalami kecacingan sebanyak 24%. Angka kejadian

terbesar terjadi mulai daerah Sub-Sahara, Amerika, Afrika, Cina, dan Asia Timur. Di Indonesia, penyakit kecacingan memiliki prevalensi sebesar 45%-65%. Daerah yang memiliki sanitasi dan higienitas yang buruk, sumber air yang kotor, lingkungan yang padat penduduk, serta cuaca yang panas dan lembab dapat dijumpai infeksi kecacingan. Kecacingan dalam dampak jangka panjang berisiko menyebabkan defisiensi gizi yang dapat mengakibatkan buruknya status gizi, menurunnya kemampuan kognitif hingga pertumbuhan terhambat (Puteri *et al.*, 2019).

Menurut *World Health Organization* (WHO) tanda-tanda seseorang mengalami kecacingan yaitu terjadinya diare, mual, dan sakit perut. Tanda-tanda tersebut memberikan efek lain seperti penurunan status gizi, nafsu makan, dan pendarahan usus yang dapat menyebabkan anemia. Parasit pada usus manusia seperti *Ascaris lumbricoides* (cacing gelang), *Trichuris trichiura* (cacing cambuk), dan cacing tambang sangat erat kaitannya dengan kejadian anemia. Penelitian di Manado menyebutkan bahwa seseorang yang terkena kecacingan memiliki kadar hemoglobin yang tidak normal (Puteri *et al.*, 2019).

Kejadian kecacingan di Indonesia masih dinyatakan tinggi, sangat rentang terjadi pada masyarakat miskin dan bermukim di lingkungan padat penduduk dengan buruknya tingkat sanitasi, tidak memiliki jamban yang bersih, dan air bersih yang tidak tercukupi. Departemen Kesehatan Republik Indonesia telah melakukan survei di beberapa provinsi di Indonesia dengan hasil bahwa kejadian kecacingan untuk semua umur di Indonesia berkisar antara 45%-65%. Sedangkan kejadian kecacingan tertinggi terjadi pada anak usia 1-6 tahun atau usia 7-12 tahun, yaitu sekitar 30% hingga 90%. Data tersebut menunjukkan masih pentingnya sosialisasi tentang bahaya cacing yang dapat menginfeksi manusia (Rosyidah & Prasetyo, 2018). Cacing yang dapat menginfeksi beberapa diantaranya dari golongan STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

Soil-Transmitted Helminth (STH) adalah sekelompok cacing yang daur hidupnya di tanah dengan kondisi lingkungan tertentu untuk mencapai stadium infeksi. Cacing dalam kelompok ini antara lain *Ascaris lumbricoides* (cacing gelang), *Trichuris trichiura* (cacing cambuk), *Necator americanus* dan

Ancylostoma duodenale (cacing tambang), *Strongyloides stercoralis* dan beberapa spesies *Trichostongylus* (Widjaja, 2013).

Metode pemeriksaan telur cacing STH (*Soil-Transmitted Helminth*) terdapat beberapa cara, salah satunya menggunakan metode sedimentasi dengan prinsip larutan berat jenis yang lebih rendah dari organisme parasit, sehingga parasit dapat mengendap di bawah, yang menggunakan gaya sentrifugal (Regina *et al.*, 2018).

Pemeriksaan telur cacing menggunakan pewarna eosin 2% pada umumnya, tetapi pewarna eosin memiliki kelemahan yaitu bersifat tidak mudah terurai dan dapat menimbulkan limbah yang berbahaya dan mudah terbakar. Di era global saat ini, kesadaran masyarakat terhadap bahan-bahan organik dan alami yang ramah lingkungan (*eco-friendly*) semakin tinggi, oleh karena itu perlu adanya metode pewarnaan, sebagai gantinya menggunakan bahan-bahan alami seperti menggunakan pewarna antosianin yang diambil dari bahan alam.

Senyawa antosianin merupakan zat yang berwarna merah hingga biru yang terdapat banyak pada tanaman. Senyawa antosianin tergolong zat yang disebut flavonoid, senyawa golongan flavonoid bersifat polar, dan diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang bersifat polar pula. Senyawa antosianin merupakan zat yang penting, memiliki pigmen yang berwarna kuat dalam air memiliki penampakan warna merah jambu, merah marak, merah senduduk, ungu, dan biru yang terdapat dalam bunga, daun, dan buah pada tumbuhan tinggi. Pewarna antosianin memiliki sifat yang hampir sama dengan pewarna eosin, yaitu memiliki sifat asam dan dapat memberi warna merah (Simanjuntak *et al.*, 2014).

Penelitian ini menggunakan buah naga merah karena pada buah naga merah diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, salah satunya adalah antosianin. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki warna merah yang sifatnya mirip dengan pewarna eosin. Antosianin tersebut diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi (Widyasanti *et al.*, 2021).

Beberapa tanaman yang mengandung antosianin telah dimanfaatkan sebagai pewarna alami, salah satunya pada penelitian yang dilakukan oleh Sari pada tahun 2019. Penelitian yang berjudul optimasi rendaman batang pohon jati

(*Tectona grandis*) dalam pemeriksaan *Soil-Transmitted Helminth* menyebutkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan rendaman batang pohon jati dengan eosin 2% dengan 9 kali pengulangan terwarnai semua (Sari *et al.*, 2019). Hasil yang berbeda pada penelitian yang dilakukan oleh Khatimah *et al.* (2022), meneliti tentang ekstrak daun jati sebagai pewarna alternatif dalam pemeriksaan STH. Hasil yang didapatkan telur cacing positif terlihat jelas pada konsentrasi 60% jika dibandingkan dengan kontrol.

Adapun tujuan pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui optimasi pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai zat warna pada pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*), serta mengetahui pada konsentrasi berapa yang efektif digunakan sebagai pewarna pada pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

Penelitian ini merupakan penelitian dalam bidang parasitologi karena dilakukan pemeriksaan feses positif kecacingan menggunakan bahan alam dalam hal ini ekstrak buah naga merah yang didalamnya terkandung antosianin sebagai pewarna alternatif pengganti eosin.

BAHAN DAN METODE

DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan *cross sectional study*. Dalam penelitian ini digunakan variabel berupa STH (*Soil-Transmitted Helminth*) yang diperoleh dari feses pasien yang dinyatakan positif kecacingan dan zat warna antosianin dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat: Pipet tetes (*pyrex*), Pipet pasteur, Beaker gelas (*pyrex*), Rak tabung, Neraca analitik, *Sentrifuge*, tabung reaksi (*Pyrex*), Objek gelas (*pyrex*), Cover gelas, Pinset, Mikroskop (*boeco*), Spiritus wadah, pisau, sendok tanduk, neraca digital (*Henherr Scale*), statif, corong (*Pyrex*), saringan, labu erlenmeyer (*Pyrex*), gelas kimia (*Pyrex*), hotplate (IKA C-MAG HS 7), klem, labu destilat (*Pyrex*), kondensor, *heating mantle*, thermometer (GEA Medical), selang

destilat, pipet volume (*Pyrex*), *bulf*, tabung reaksi (*Pyrex*), batang pengaduk (*Pyrex*), botol reagen, pot feses.

Bahan: Ekstrak antosianin buah naga merah, feses pasien yang dinyatakan positif kecacingan, eosin 2%, Aquabidest, HCL pekat, Metanol, Kertas saring (*whatmann*), dan Kertas pH universal (*suncare*).

METODE

Pra analitik

Disiapkan alat dan bahan, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi buah naga merah menggunakan metode dekantasi dan destilasi. Metode dekantasi dengan penetes HCL pekat dengan pH 4 pada buah naga merah yang telah dihaluskan kemudian didiamkan dalam wadah tertutup rapat. Setelah 24 jam didiamkan, dilakukan penyaringan dan dibiarkan mengendap kembali hingga terbentuk endapan dan larutan. Larutan tersebut diambil dan dilakukan destilasi hingga pearut menguap dan ekstrak menjadi kental. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan konsentrasi (100%; 80%; 60%; 40%; 20%) dengan rumus (Prasetyo *et al.*, 2013):

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

V1 = Volume yang dicari

V2 = Volume yang diinginkan

Analitik

Setelah didapatkan ekstrak dan dibuat tingkat konsentrasi, kemudian dilakukan pemeriksaan kecacingan dengan menggunakan metode sedimentasi. Feses ditambahkan aquades dan dihomogenkan, lalu disentrifuse. Suspensi yang terbentuk diambil dengan cara dipipet lalu diletakkan di atas kaca objek kemudian dilanjutkan dengan ditetesi zat warna antosianin yg telah dibuat. Cara sedimentasi tersebut diulang dengan menggunakan eosin 2% sebagai pembanding (kontrol positif). Penelitian ini dilakukan 3 kali replikasi, agar data yang didapatkan lebih akurat. Kemudian masing-masing preparat yang telah dibuat

diamati di bawah mikroskop untuk melihat keberadaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

Pasca Analitik

Pembacaan preparat dilakukan dengan menggunakan skor yang telah ditentukan. Penentuan skor berdasarkan pengamatan panelis terhadap preparat yang telah diberikan zat warna antosianin dan eosin 2% sebagai kontrol. Adapun skor yang dimaksud adalah sebagai berikut:

- 3 = telur cacing menyerap warna, lapang pandang kontras, telur cacing jelas terlihat, bentuk telur cacing jelas.
- 2 = telur cacing cukup menyerap warna, lapang pandang cukup kontras, telur cacing cukup jelas terlihat, bentuk telur cacing cukup jelas.
- 1 = Lapang pandang tidak kontras, lapang pandang tidak menyerap warna, telur cacing tidak jelas terlihat, bentuk telur cacing tidak jelas, dan banya terdapat debris.

ETIK PENELITIAN

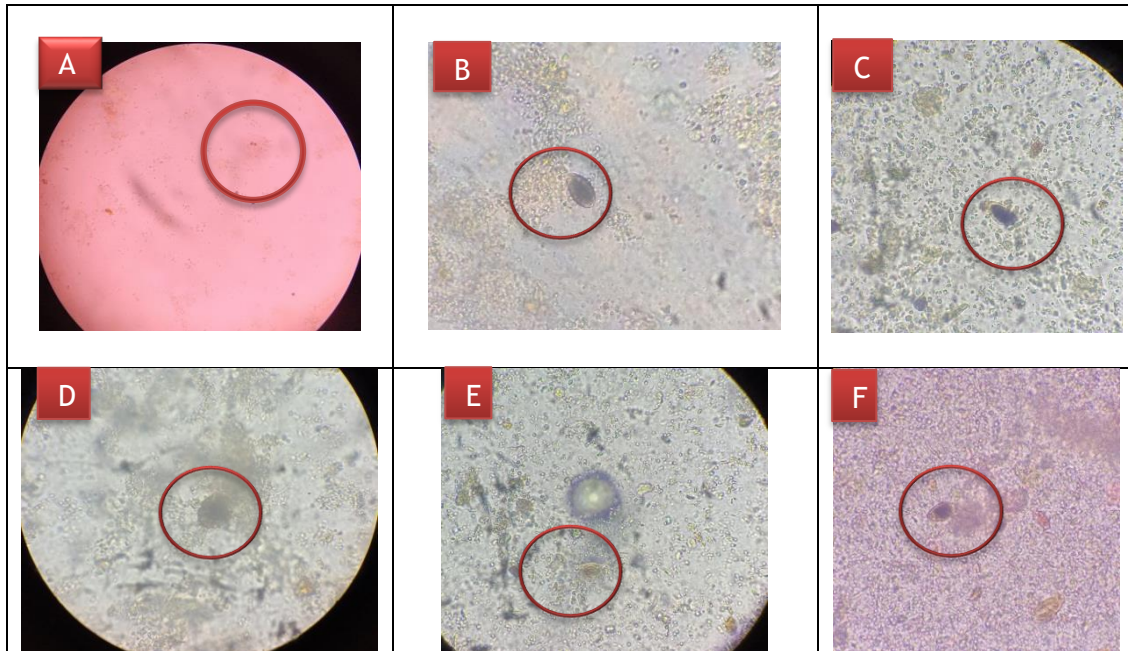
Penelitian ini telah mendapatkan ijin penelitian dari komisi etik penelitian STIKes Panrita Husada Bulukumba dengan nomor protokol No:000359/KEP Stikes Panrita Husada Bulukumba/2023.

ANALISIS STATISTIK

Data pada penelitian ini diolah menggunakan SPSS. Data dinormalkan terlebih dahulu dengan fungsi log 10, data yang didapatkan tidak terdistribusi normal. Sehingga uji yang dilakukan adalah uji *Kruskal Wallis*, dan untuk mengetahui setidaknya ada perbedaan rerata antar kelompok perlakuan maka dilanjutkan ke uji *post hoc*.

HASIL

Hasil penelitian yang didapatkan dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Pengamatan telur cacing STH (*Soil-Transmitted Helminth*) di bawah mikroskop pembesaran 40x menggunakan zat warna antosianin dari buah naga merah, (A) konsentrasi 100%, lapang pandang tidak kontras, lapang pandang tidak menyerap warna, telur cacing tidak jelas terlihat, bentuk telur cacing tidak jelas, dan banyak terdapat debris; (B) konsentrasi 80%, telur cacing cukup menyerap warna, lapang pandang cukup kontras, telur cacing cukup jelas terlihat, bentuk telur cacing cukup jelas; (C) konsentrasi 60%, lapang pandang tidak kontras, lapang pandang tidak menyerap warna, telur cacing tidak jelas terlihat, bentuk telur cacing tidak jelas, dan banyak terdapat debris; (D) konsentrasi 40%, lapang pandang tidak kontras, lapang pandang tidak menyerap warna, telur cacing tidak jelas terlihat, bentuk telur cacing tidak jelas, dan banyak terdapat debris; (E) konsentrasi 20%, lapang pandang tidak kontras, lapang pandang tidak menyerap warna, telur cacing tidak jelas terlihat, bentuk telur cacing tidak jelas, dan banyak terdapat debris; (F) kontrol (eosin 2%), Lapang pandang kontras, telur cacing menyerap warna, telur cacing jelas terlihat, bentuk telur cacing jelas.

Tabel.1 Hasil Pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*) dengan Zat Warna Antosianin dari Buah Naga Merah

Perlakuan	Konsentrasi	Pengamatan Panelis			Rerata \pm SD	P
		I	II	III		
Zat Warna Antosianin	100%	1	1	1	1 \pm 0 ^a	<0,05*
	80%	3	3	2	2.6 \pm 0.47	
	60%	1	2	2	1.6 \pm 0.47	
	40%	2	1	1	1.3 \pm 0.47 ^b	
	20%	1	1	1	1 \pm 0 ^c	
Eosin 2%	Kontrol (+)	3	3	3	3 \pm 0 ^{abc}	

* Uji Kruskal Wallis; abc = p<0,05, Uji Kruskal Wallis dilanjutkan uji *post hoc* Mann Whitney U test
Sumber: data primer, 2023

Berdasarkan tabel di atas, nilai rerata diperoleh dari jumlah skor dibagi 3

kali pengulangan. Terlihat bahwa diantara semua konsentrasi yang memiliki skor yang baik adalah pada konsentrasi 80% dan kontrol (+) dalam hal ini eosin 2%, sedangkan skor yang rendah pada konsentrasi 20%. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna secara statistik maka dilakukan uji statistik.

Berdasarkan uji statistik didapatkan uji normalitas dengan nilai ($p < 0.05$), oleh karena itu dapat ditarik kesimpulan bahwa data tidak normal. Karena data tidak normal sehingga perlu dilakukan fungsi log 10, namun data yang didapatkan tetap tidak normal dengan nilai ($p < 0.05$). Karena sebaran data tidak normal, sehingga tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One Way Anova*, dengan demikian uji yang dipakai adalah uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai ($p < 0.05$), sehingga ditarik kesimpulan bahwa paling tidak terdapat kelompok perlakuan yang mempunyai rerata skor yang berbeda bermakna.

Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan bahwa nilai ($p < 0.05$), maka nilai rerata antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan signifikan atau berbeda bermakna. Untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan tersebut, maka selanjutnya dilakukan uji *post hoc*.

Uji *post hoc* yang dilakukan adalah Uji *Mann Whitney U test*. Dari hasil uji didapatkan kelompok konsentrasi 100%; 40%; dan 20% memiliki nilai ($p < 0.05$) sehingga ditarik kesimpulan bahwa kelompok tersebut yang memiliki perbedaan bermakna dengan control. Sedangkan, kelompok konsentrasi 80% dan 60% memiliki nilai ($p > 0.05$).

DISKUSI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan zat warna antosianin pada buah naga merah dalam pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*) dan juga untuk mengetahui pada konsentrasi berapa yang efektif digunakan sebagai pewarna pada pemeriksaan STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

Penelitian ini menggunakan buah naga merah yang akan diekstrak untuk mendapatkan zat warna antosianin. Buah naga merah memiliki warna merah yang

sangat menarik yang di sebut antosianin, antosianin yang terkandung di dalam buah naga berkisar 8,8 mg/100 gr buah naga, buah naga dapat menjadi alternatif pewarna karna mengandung Beta-karoten dengan pigmen berwarna dominan merah-jingga, dalam 100 g buah naga mengandung Beta-karoten 0,005-0,012 mg. Buah naga diketahui memiliki aktivitas antioksidan sebesar 67,45 ppm (Widianingsih, 2016).

Senyawa antosianin merupakan kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar luas pada tanaman, antosianin tergolong pigmen yang di sebut flavonoid, senyawa golongan flavonoid termaksud senyawa polar mengandung dua cincin benzen yang di hubungkan oleh tiga atom karbon dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar, diantaranya metanol, etanol, dan asam asetat. Kondisi asam akan mempengaruhi hasil ekstraksi, keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak (Simanjuntak *et al.*, 2014).

Secara kimia antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal yaitu sianidin dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi dan glikosilasi, antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter yaitu memiliki kemampuan bereaksi baik dengan asam maupun dengan basa, warna yang di berikan oleh antosianin berdasarkan susunan ikatan rangkap terkonjungasinya yang panjang sehingga mampu menyerap cahaya pada rentang cahaya tampak, sistem ikatan rangkap terkonjungasi ini juga yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal (Widianingsih, 2016).

Pada penelitian ini pertama kali dilakukan adalah pembuatan ekstrak antosianin. Ekstrak antosianin diproses dengan menggunakan metode destilasi dengan pelarut metanol yang telah di asamkan dengan HCl pekat hingga mencapai pH 4, buah naga yang di timbang sebanyak 1 kg kemudian di rendam pada pelarut metanol selama 24 jam proses perendaman dengan pelarut yang asam bertujuan agar dinding sel vakuola pecah sehingga pigmen antosianin pada buah naga semakin banyak yang terekstrak, kemudian di lakukan penyaringan

untuk di lanjutkan ke proses destilasi (Dragon *et al.*, 2021; Widyasanti *et al.*, 2021).

Hal pertama yang di lakukan adalah merangkai alat destilasi, di masukkan sampel ke dalam labu destilasi, di sambungkan dengan alat kondensor untuk aliran uap hasil reaksi dan untuk aliran air keran, kemudian di pasang termometer untuk mengatur suhu uap zat cair yang di destilasi selama proses destilasi berlangsung, temperatur optimum ekstraksi adalah 50°C semakin tinggi temperatur maka kelarutan zat warna yang di ekstraksi didalam pelarut akan meningkat bersamaan dengan kenaikan suhu sehingga ekstrak yang di peroleh semakin besar, hal ini di sebabkan adanya peningkatan kecepatan difusi zat warna kedalam pelarut tetapi ekstraksi pada suhu tinggi dapat merusak pigmen antosianin jika dilakukan pada jangka waktu lama, ekstrak antosianin semakin berkurang seiring dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan hal ini disebabkan terjadinya perubahan struktur antosianin menjadi senyawa kalkon, ekstraksi antosianin buah naga super merah stabil pada pH 4 dan di simpan pada temperatur rendah (Kwartiningsih *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini di lakukan pemeriksaan telur cacing STH (*soil transmited helmint*) pada feses dengan menggunakan metode sedimentasi, lalu diberikan zat warna antosianin dari buah naga merah dengan berbagai konsentrasi, yaitu konsentrasi 100%; 80%; 60%; 40%; dan 20% dengan 3 (tiga) kali pengulangan serta digunakan juga eosin 2% sebagai kontrol.

Hasil penelitian yang didapatkan, semua konsentrasi yang digunakan dianggap mampu mewarnai telur STH (*Soil-Transmitted Helminth*). Namun, telur cacing STH (*Soil-Transmitted Helminth*) cukup jelas terlihat pada konsetrasi 80% dengan lapang pandang cukup kontras, telur cacing cukup menyerap warna, dan bentuk telur cacing cukup jelas. Sementara kelompok konsentrasi lainnya tidak terlalu jelas baik dari segi lapang pandang, telur tidak terlalu menyerap warna, serta terdapat banyak debris (**Gambar 1.**).

Data didapatkan berdasarkan pengamatan panelis lalu pemberian skor pada preparat yang dibuat 3 kali replikasi. Kemudian skor tersebut dijumlahkan dan dirata-ratakan. Untuk mengetahui keefektifan zat warna yang digunakan

dibandingkan dengan kontrol maka data diolah secara statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS. Didapatkan hasil bahwa diantara semua konsentrasi yang memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan kontrol adalah preparat dengan konsentrasi 100%; 40%; dan 20% ($p < 0.05$). sementara konsentrasi 80% yang secara kualitatif menunjukkan hasil yang baik justru tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol.

Penelitian ini merupakan penelitian terbaru dalam hal penggunaan buah naga merah untuk mendapatkan zat warna antosianin. Penggunaan zat warna antosianin sebagai pewarna STH (*Soil-Transmitted Helminth*) telah banyak dilakukan namun bukan menggunakan buah naga merah, seperti penelitian yang dilakukan oleh Permatasari *et al.* (2021) yang menggunakan daun miana untuk mendapatkan zat warna antosianin dalam pemeriksaan STH. Hasil yang didapatkan, perasan daun miana dapat dijadikan pewarna STH sebagai pengganti eosin 2%. Penelitian yang dilakukan oleh Salnus (2021) juga menggunakan zat warna antosianin sebagai pewarna STH dan hasil yang didapatkan adalah telur STH jelas terlihat dengan penggunaan zat warna antosianin konsentrasi 80%.

KESIMPULAN

Dapat ditarik kesimpulan bahwa semua konsentrasi dapat mewarnai telur STH (*Soil-Transmitted Helminth*), namun yang menonjol adalah konsentrasi 80% dengan cukup jelas dan bisa dijadikan pewarna alternatif pengganti eosin 2% pada pemeriksaan telur cacing STH (*Soil-Transmitted Helminth*).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses pembuatan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Dragon, T., Hylocereus, F., & Application, I. (2021). *Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga (Hylocereus costaricensis) dan Pemanfaatannya sebagai Indikator Alami Titrasi Asam-Basa*. 41(3), 278-284.
- Khatimah, H., Hasanuddin, A. R. P., Analis, J., Stikes, K., Husada, P., Panrita, S., Bulukumba, H., Panrita, S., Bulukumba, H., & Helminth, S. T. (2022). *VOLUME 7. 7, 37-44*.
- Kwartiningsih, E., K, A. P., & Triana, D. L. (2016). *Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Naga Super Merah (Hylocereus costaricensis)*. 1-7.
- Permatasari, R., Suriani, E., & Chania, P. (2021). *Potensi Daun Miana (Plectranthus scutellaroides) sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Eosin dalam Pemeriksaan Telur Cacing Soil Transmitted Helminth (STH)*. 4(2), 30-36.
- Prasetyo, H., Padaga, M. C., & Sawitri, M. E. (2013). *Kajian kualitas fisiko kimia daging sapi di pasar kota malang*. 8(2), 1-8.
- Puteri, P. pradipta, Nuryanto, & Candra, A. (2019). Hubungan Kejadian Kecacingan Terhadap Anemia Dan Kemampuan Kongnitif Pada Anak Sekolah Dasar di kelurahan Bandarhorjo,semarang. *Jurnal of Nutrition College*, 8.
- Regina, M. P., Halleyantoro, R., & Bakri, S. (2018). *PERBANDINGAN PEMERIKSAAN TINJA ANTARA METODE SEDIMENTASI BIASA DAN METODE SEDIMENTASI FORMOL- ETHER DALAM MENDETEKSI SOIL-TRANSMITTED HELMINTH*. 7(2), 527-537.
- Rosyidah, H. N., & Prasetyo, H. (2018). Journal of Vocational Health Studies PREVALENCE OF INTESTINAL HELMINTHIASIS IN CHILDREN AT NORTH KEPUTRAN SURABAYA AT 2017. *Jurnal Penelitian*, 01, 117-120. <https://doi.org/10.20473/jvhs>.
- Sari, Y. E. S., Artanti, D., & Rozi, F. (2019). OPTIMASI RENDAMAN BATANG POHON JATI (Tectona grandis) DALAM PEMERIKSAAN Soil Transmitted Helminth. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medis*, 1-6.
- Simanjuntak, L., Sinaga, C., & Fatimah. (2014). EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (Hylocereus polyrhizus). *Teknik Kimia Usu*, 3(2), 25-29.
- Tinggi, S., Kesehatan, I., & Husada, P. (n.d.). *Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (Ipomoea Batatas L .) Sebagai Pewarna Alami Pada Pemeriksaan Soil Transmitted Helminths (STH) Metode Natif (Direct Slide) Sekolah Tinggi*

Ilmu Kesehatan Panrita Husada Bulukumba Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehat. 2.

Widianingsih, M. (2016). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose) hasil maserasi dan dipekatkan dengan kering angin. *Jurnal Wiyata*, 3(2), 146-150.

Widjaja, J. (2013). *Kejadian penyakit cacing usus di Kota Palu dan Kabupaten Donggala , Sulawesi Tengah*. 4(4), 181-187.

Widyasanti, A., Arsyad, M. Z., & Wulandari, E. (2021). *EKSTRAKSI ANTOSIANIN KULIT BUAH NAGA MERAH (Hylocereus polyrhizus) MENGGUNAKAN METODE MASERASI ANTHOCYANIN EXTRACTION OF RED DRAGON FRUIT PEELS (Hylocereus polyrhizus) USING MACERATION METHOD*. 11(2), 72-81.

DETEKSI *Candida albicans* PADA SALIVA PASIEN DIABETES MELITUS DI PUSKESMAS I DENPASAR TIMUR

I Ngurah Ketut A.N Baskara Jelantik¹ · Ni Wayan Desi Bintari^{1*} · Ni Luh Nova Dilisca Dwi Putri¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Diploma Tiga STIKES Wira Medika Bali, Indonesia

e-Mail: desibintari@gmail.com
No Tlp WA : 085737449337

Abstract

High and uncontrolled glucose levels in diabetes mellitus patients can increase the growth of pathogenic microorganisms in the oral cavity. In patients with diabetes mellitus, salivary secretions containing excess sugar will support the growth of fungi, especially Candida albicans. Excessive growth of C. albicans can be at risk of causing candidiasis. This study aims to identify the presence of C. albicans in saliva samples of diabetes mellitus patients at the Public Health Centre East Denpasar (I). Type of this research is descriptive with a purposive sampling technique. Respondents in this study amounted to 30 people who met the inclusion and exclusion criteria. Examinations were carried out at the Bacteriology and Mycology Laboratory of STIKes Wira Medika Bali in January-April 2022. The results of this study found that 4 positive respondents had C. albicans in their saliva samples with a percentage of 13.33%, while 26 respondents had negative results with a percentage of 86.67%. Positive examination results are expressed through fungal culture, macroscopic examination and germ tube test. It is hoped that the community, especially people with diabetes mellitus, will continue to maintain the cleanliness of the oral cavity area and always maintain blood sugar levels to prevent the growth of C. albicans.

Keywords: Blood glucose, candidiasis, germ tube test

Abstrak

Kadar glukosa tinggi dan tidak terkontrol pada pasien diabetes melitus dapat memicu peningkatan pertumbuhan mikroorganisme patogen salah satunya pada rongga mulut. Pada pasien diabetes melitus sekresi saliva yang mengandung gula berlebih akan mendukung pertumbuhan jamur khususnya *Candida albicans*. Pertumbuhan *C. albicans* yang berlebih dapat berisiko menimbulkan infeksi kandidiasis atau kandidosis oral. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya *C. albicans* pada sampel saliva pasien dengan diabetes melitus yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas I Denpasar Timur. Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini secara deskriptif dengan teknik pengambilan sampel secara *purposive*. Responden penelitian ini berjumlah 30 orang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi STIKes Wira Medika Bali pada Januari-April 2022. Hasil dari penelitian ini didapatkan isebanyak 4 responden positif terdapat *C. albicans* pada sampel salivanya dengan persentase sebesar 13,33%, sedangkan hasil negatif sebanyak 26 responden dengan persentase sebesar 86,67%. Hasil pemeriksaan positif dinyatakan melalui pemeriksaan secara makroskopis berupa kultur jamur dan mikroskopis dengan pewarnaan gram dan uji lanjutan berupa uji *germ tube*. Diharapkan bagi masyarakat khususnya penderita diabetes melitus agar tetap menjaga kebersihan area rongga mulut dan selalu menjaga kadar gula didalam darah untuk mencegah terjadinya pertumbuhan *C. albicans*.

Kata kunci: glukosa darah, kandidiasis, uji germ tube

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik akibat dari berkurangnya sekresi insulin dari sel beta pancreas atau penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Penurunan jumlah dan fungsi insulin menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah. Penyakit diabetes melitus ditandai dengan kadar glukosa darah sewaktu sama atau lebih dari 200 mg/dl atau sama dengan 126 mg/dl. Secara umum diabetes melitus terdiri dari 2 tipe yaitu tipe 1 dan tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 merupakan hasil dari reaksi autoimun terhadap sel pulau pankreas. Sedangkan diabetes melitus tipe 2 terjadi karena turunnya kemampuan insulin bekerja pada jaringan perifer dan disfungsi sel β pankreas (Ozougwu, 2013).

Kadar glukosa darah yang tidak terkontrol pada penderita diabetes melitus dapat meningkatkan resiko penurunan sistem imun pada penderita. Kondisi tersebut menyebabkan meningkatnya kejadian infeksi sekunder pada penderita yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pada pasien dengan diabetes mellitus dapat terjadi disfungsi saliva yang menyebabkan terjadinya komplikasi oral yang disebabkan oleh mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme penyebab infeksi oral adalah jamur *Candida albicans* yang dapat menyebabkan infeksi kandidiasis (Fatimah, 2017).

Infeksi kandidiasis oral pada pasien diabetes melitus terjadi karena sekresi saliva yang mengandung gula lebih akan mendukung pertumbuhan jamur dan memperkuat perlekatan *Candida albicans* pada rongga mulut. Kondisi tersebut juga dapat melemahkan fungsi sel darah putih yang menyebabkan berkurangnya kemampuan perlawanan tubuh terhadap kuman penyebab infeksi. Pasien diabetes melitus juga dapat mengalami kelainan fungsi kelenjar saliva. Kondisi tersebut menyebabkan berkurangnya volume saliva (hiposalivasi) yang menyebabkan kondisi mulut kering atau xerostomia. Penurunan laju saliva menyebabkan penurunan aktivitas pembersihan rongga mulut yang memungkinkan *C. albicans* tetap melekat pada permukaan rongga

mulut (Ok et al., 2021).

Berdasarkan hasil studi pendahuluan yang dilakukan peneliti di Puskesmas I Denpasar Timur, pada bulan September hingga bulan November tahun 2021 terdapat sebanyak 439 pasien. Berdasarkan jenis kelamin pasien perempuan sebanyak 207 orang dan pasien laki-laki sebanyak 232 orang. Dengan masih tingginya prevalensi diabetes mellitus di masyarakat maka resiko adanya infeksi oleh *C. albicans* juga semakin meningkat. Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka peneliti melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui gambaran *Candida albicans* pada saliva penderita diabetes melitus di Puskesmas 1 Denpasar Timur dengan menggunakan metode pemeriksaan kultur jamur, pewarnaan gram dan *uji germ tube*.

BAHAN DAN METODE

a. Jenis, lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif. Pengambilan sampel dilakukan di rumah responden yang merupakan pasien diabetes melitus yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas I Denpasar Timur. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wira Medika, Denpasar. Penelitian dilakukan pada bulan Januari - April 2022.

b. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi adalah pasien diabetes melitus yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas I Denpasar Timur pada bulan Desember 2021 sampai Januari 2022. Berdasarkan data rekam medis jumlah populasi sebanyak 146 pasien. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebesar 20% dari populasi berdasarkan Arikunto (2013), sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 29,2 dibulatkan menjadi 30 sampel. Teknik sampling dengan *purposive sampling* dengan mempertimbangkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi : 1) Pasien penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2; 2) Pasien bersedia menjadi responden yang dinyatakan dengan *informed consent*. Kriteria

eksklusi meliputi : 1) Pasien sedang melakukan perawatan gigi dan mulut; 2) Pasien sedang mengkonsumsi obat antibiotik dalam 48 jam terakhir.

c. Prosedur Pemeriksaan

1. Pengambilan spesimen : Responden diberikan informasi terkait tindakan yang dilakukan dan diminta persetujuan melalui *informed consent*. Sebelum dan selama kurun waktu 90 menit sebelum pengumpulan saliva, responden tidak diperkenankan makan, minum maupun membersihkan rongga mulut. Responden diminta duduk dengan nyaman dengan sandaran tegak, kepala ditundukkan serta tangan kanan memegang tabung pengumpul saliva. Pengumpulan saliva dilakukan selama 5 menit dengan setiap interval 1 menit pasien diminta mengeluarkan saliva yang terkumpul dalam mulut ke dalam pot penampung yang bersih dan steril. Sampel diberi identitas responden kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* untuk segera ditransport ke laboratorium.

2. Prosedur pemeriksaan : Sampel saliva diambil dengan *cotton swab* steril kemudian digoreskan pada media *Sabouraud dextrose agar* (SDA) secara aseptis. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, setelah masa inkubasi selesai dilakukan pengamatan pertumbuhan koloni secara makroskopis. Koloni pada media SDA kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis. Koloni dilakukan pengecatan Gram dan diamati ada tidaknya blastospora dan pseudohifa. Pemeriksaan germ tube dilakukan pada isolat yang dicurigai *C. albicans*. Diambil satu ose isolat kemudian diinokulasikan pada media cair serum dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1,5-2 jam. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan untuk mengamati ada atau tidaknya bentuk sel yang berkecambah seperti raket.

d. Analisa Data

Analisa data dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan ada tidaknya jamur *C. albicans* dari hasil pemeriksaan yang diperoleh. Data yang didapat disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL

Responden penelitian berjumlah 30 orang pasien diabetes melitus yang rutin melakukan pemeriksaan di Puskesmas I Denpasar Timur. Karakteristik responden dalam penelitian ini dibagi menjadi empat yaitu berdasarkan jenis kelamin (Tabel 1), usia (Tabel 2), lama menderita DM (Tabel 3) dan kadar gula darah sewaktu (Tabel 3). Berdasarkan jenis kelamin diketahui sebagian besar responden adalah perempuan (86%) dengan karakteristik usia lansia awal (34%), lansia akhir (53%) dan manula (10%). Berdasarkan data diketahui sebanyak 90% responden telah menderita diabetes melitus selama 2-10 tahun (Tabel 3). Berdasarkan hasil pemeriksaan darah sewaktu diketahui bahwa sebanyak 53,3% responden memiliki kadar gula darah tidak terkontrol dan sebanyak 46,7% memiliki kadar gula darah terkontrol (Tabel 4).

Tabel 1. Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin

Karakteristik	Jumlah	Persentase (%)
Laki-laki	4	14
Perempuan	26	86
Total	30	100

Tabel 2. Karakteristik responden berdasarkan usia

No	Kategori Berdasarkan Usia	Jumlah	Persentase
1.	Anak -anak (6-11 tahun)	0 orang	0%
2.	Remaja (12-25 tahun)	0 orang	0%
3.	Dewasa (26-45 tahun)	1 orang	3%
4.	Lansia Awal (46-55 tahun)	10 orang	34%
5.	Lansia akhir (56-65 tahun)	16 orang	53%
6.	Manula (66-atas)	3 orang	10%

Tabel 3. Karakteristik responden berdasarkan lama menderita Diabetes mellitus.

Karakteristik	Jumlah	Persentase (%)
2-10 tahun menderita	27	90
11-20 tahun menderita	3	10
Total	30	100

Tabel 4. Karakteristik responden berdasarkan kadar gula darah

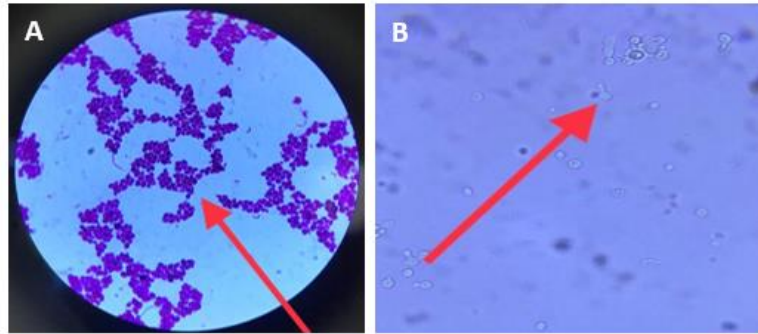
Karakteristik	Jumlah	Persentase (%)
Terkontrol	14 orang	46,7
Tidak terkontrol	16 orang	53,3
Total	30 orang	100

Berdasarkan hasil pemeriksaan dengan metode kultur jamur teramati pada 4 sampel terdapat pertumbuhan jamur dengan karakteristik dari genus *Candida* yaitu pada kode sampel 4, sampel 6, sampel 13 dan sampel 19. Pemeriksaan secara mikroskopis isolate pada keempat sampel tersebut menunjukkan pertumbuhan koloni jamur berwarna putih kekuningan, permukaan licin dan halus dan memiliki karakteristik pertumbuhan yeast/ragi. Selanjutnya keempat isolate dilakukan pemeriksaan dengan pewarnaan Gram dan uji germ tube.

Hasil pengamatan secara mikroskopis pengecatan Gram didapatkan bahwa keempat isolat bersifat Gram positif, memiliki struktur blastospora berbentuk oval dan hifa semu atau pseudohifa (Gambar 1A). Hasil uji germ tube pada isolate 4, 6, 13 dan 19 didapatkan hasil positif ditandai adanya sel ragi atau blastospora yang membentuk kecambah atau berbentuk seperti raket (Gambar 1B). Berdasarkan hasil identifikasi tersebut maka diketahui bahwa dari 30 sampel saliva yang dilakukan pemeriksaan terdapat 4 sampel (13,33%) yang positif teridentifikasi terdapat jamur *C. albicans* (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil pemeriksaan identifikasi *C. albicans*

Hasil pemeriksaan	Jumlah responden	Persentase (%)
Positif <i>C. albicans</i>	4 orang	13,3
Negatif <i>C. albicans</i>	26 orang	86,67
Jumlah	30 orang	100



Gambar 1. Hasil Pengamatan *C. albicans*. (A) Pengecatan Gram tampak blastospora (B) Uji *germ tube* tampak sel berbentuk raket

DISKUSI

Berdasarkan hasil identifikasi jamur *Candida albicans* pada 30 sampel saliva pasien Diabetes melitus di Pukesmas I Denpasar Timur dengan pemeriksaan kultur jamur, pewarnaan gram, dan uji *germ tube* didapatkan hasil positif sebanyak 4 sampel dengan persentase sebesar 13,3% dan hasil negatif sebanyak 26 dengan persentase sebesar 86,67%. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan tiga tahap yaitu, kultur jamur, pewarnaan gram kemudian dilanjutkan dengan uji *germ tube*.

Kultur jamur merupakan teknik pengembangbiakan jamur dengan menggunakan media yang berisi nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur. Pada 30 sampel saliva didapatkan sebanyak 4 sampel positif *Candida albicans* yaitu dengan kode 4,6,13, dan 19 pada ke 4. Sampel tersebut diamati karakteristik makroskopis yang terlihat tumbuhnya yeast yang menunjukkan kumpulan mikroorganisme berwarna putih kekuningan dengan permukaan licin serta berbau ragi. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan pernyataan peneliti sebelumnya yang menyatakan koloni dari jamur *Candida albicans* berwarna putih kekuningan dan timbul di atas permukaan media serta memiliki permukaan yang halus, licin dengan bau seperti ragi (Mutiawati, 2016).

Pemeriksaan Gram bertujuan untuk mempermudah melihat mikroorganisme secara mikroskopik dan memperjelas ukuran dan bentuk. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan terhadap ke 4 sampel dengan cara pewarnaan gram,

ditemukan hasil jamur *Candida albicans* gram positif berupa yeast dan blastofora yang berbentuk oval serta bewarna ungu (Bulele et al., 2019). Pemeriksaan untuk identifikasi *Candida albicans* dapat dilakukan dengan uji germ tube. Metode ini dapat membedakan *C. albicans*, dengan *Candida non C. albicans*. Uji *germ tube* biasanya dilakukan menggunakan media yang mengandung protein seperti serum, dan plasma (Munawaroh, 2018). Dari hasil pemeriksaan yang dilakukan di dapatkan hasil positif *Candida albicans* pada ke 4 sampel dengan menunjukkan adanya blastofora yang menyerupai raket. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa *Candidaalbicans* dinyatakan positif jika psada pemeriksaan mikroskopis ditemukan sel berbentuk kecambah seperti raket.

Hasil positif *Candida albicans* pada pasien diabetes melitus dapat disebabkan oleh kadar gula pada saliva yang cukup tinggi, sekresi saliva yang menurun, system kekebalan tubuh yang menurun, kurangnya menjaga kebersihan rongga mulut, dan merokokdapat memudahkan perkembangan *Candida albicans*. Hasil pemeriksaan positif juga disebabkan oleh faktor predisposisi (kecenderungan) yang dialami oleh pasien timbulnya kandidiasis pada rongga mulut adalah kelainan endokrin, gangguan nutrisi keganasan, gangguan hematologi, imun menurun, mulut kering, penggunaan antibiotik, perokok dan kehamilan (Hikmah, 2021).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelian oleh Jon & Dewa (2017) yang melakukan pemeriksaan di RS dr. Muhammad Yunus Kota Bengkulu. Berdasarkan hasil penelitiannya diketahui bahwa sebanyak 52% pasien dengan diabetes melitus positif dapat diisolasi *C. albicans* pada sampel salivanya. Adanya pertumbuhan *C. albicans* pada saliva penderita diabetes melitus juga dilaporkan oleh Suraini (2023). Hasil penelitiannya yang dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Mohammad Natsir Kota Solok menyatakan bahwa sebanyak 60% sampel positif mengandung jamur *C. albicans* pada sampel salivanya. Penelitian oleh Sumintarti & Rahman (2015) menyatakan terdapat hubungan antara kadar glukosa saliva dengan kadar glukosa darah pada penderita DM.

Kadar glukosa darah tinggi diikuti oleh kadar saliva yang tinggi. Kondisi inilah yang nantinya menjadi faktor pendukung pertumbuhan mikroorganisme dalam rongga mulut termasuk *Candida albicans*.

Pada penelitian ini dari 4 responden dengan hasil pemeriksaan positif *C. albicans* diketahui bahwa 3 diantaranya telah menderita diabetes melitus selama 11-20 tahun. Sedangkan 1 orang responden dengan hasil positif diketahui menderita diabetes melitus selama 2-10 tahun. Sementara itu ditinjau dari hasil pemeriksaan kadar gula darah sewaktu diketahui bahwa keempat responden dengan hasil positif tersebut memiliki kadar gula darah yang tidak terkontrol. Kondisi tersebut diduga berpengaruh dalam meningkatkan kolonisasi *C. albicans* pada saliva. Keterbatasan pada penelitian ini adalah belum dilakukan analisa hubungan terkait kolonisasi *C. albicans* dengan kadar gula darah pasien diabetes melitus dan lama menderita diabetes melitus. Penelitian lebih lanjut terkait hubungan ini perlu dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan dan faktor resiko variabel tersebut dalam meningkatkan kolonisasi *C. albicans* pada saliva penderita diabetes melitus.

Berdasarkan hasil dari penelitian ini diharapkan bagi penderita diabetes mellitus agar selalu menjaga *hygienitas* area rongga mulut dengan rutin gosok gigi, menggunakan obat kumur dengan rutin, menjaga kadar gula agar kadar pH di dalam saliva terkendali. Selain itu, diharapkan penderita diabetes melitus untuk selalu menjaga pola hidup guna meningkatkan imunitas tubuh serta rutin melakukan pemeriksaan untuk mencegah terjadinya infeksi jamur *Candida albicans* yang nantinya bisa menjadi komplikasi kandidiasis yaitu pseudomembran, eritematosa, dan *cheilitis angularis*.

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan terhadap spesimen saliva pada pasien penderita diabetes melitus di Puskesmas 1 Denpasar Timur menunjukkan dari 30 orang responden terdapat 4 pasien (13,3%) positif terdapat pertumbuhan *C. albicans* pada sampel salivanya berdasarkan pemeriksaan kultur jamur, pengecatan Gram dan

uji *germ tube*. Sedangkan sebanyak 26 orang pasien atau 86,67 % didapatkan hasil negatif. Saran bagi peneliti selanjutnya diharapkan melakukan penelitian terhadap lama hubungan lama menderita diabetes melitus terhadap keberadaan jamur *C. albicans* pada rongga mulut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Puskesmas I Denpasar Timur yang telah memberikan ijin penelitian dan memfasilitasi data yang diperlukan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dan tersusun laporan dengan baik.

REFRENSI

- Arikunto, S. 2013. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Edisi Vii. Jakarta. Rineka Cipta, P:177 Diakses Tanggal 13 Januari 2022
- Bulele, T., Rares, F. E. S., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 7(1), 30-36. <https://doi.org/10.35790/ebm.7.1.2019.22820>
- Fatimah, V. N. (2017). Identifikasi *Candida albicans* Dalam Urine Wanita Lansia dengan Inkontinensia. In *Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang*.
- Hikmah, N. (2021). *Identifikasi Candida Albicans Pada Saliva Penderita Diabetes Mellitus Menggunakan Pemeriksaan Mikroskopis Naskah Publikasi Oleh: Stikes Ngudia Husada Mataram*.
- Jon, F., & Dewa, E. A. R. S. (2017). Identifikasi Jamur *Candida Albicans* Pada Saliva Penderita Diabetes Melitus. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(2), 68-74.
- Munawaroh, U. (2018). Identifikasi Keberadaan Jamur *Candida* Pada Feses Anak Autiism Spectrum Disorder (ASD) yang Menjalani Diet Karbohidrat. In *Skripsi. Universitas Jember*.
- Mutiawati, V. K. (2016). Pemeriksaan Mikrobiologi Pada *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 16(1), 53-63. [https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(03\)90055-1](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(03)90055-1)

- Ok, S. M., Ho, D., Lynd, T., Ahn, Y. W., Ju, H. M., Jeong, S. H., & Cheon, K. (2021). Candida infection associated with salivary gland—A narrative review. *Journal of Clinical Medicine*, 10(1), 1-18. <https://doi.org/10.3390/jcm10010097>
- Ozougwu, O. (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4), 46-57. <https://doi.org/10.5897/jpap2013.0001>
- Sumintarti, S., & Rahman, F. (2015). Korelasi kadar glukosa saliva dengan kadar glukosa darah terhadap terjadinya kandidiasis oral pada penderita diabetes melitus (Correlation of salivary glucose level and blood glucose level with oral candidiasis in diabetes mellitus patient). *Dentofasial*, 14(1), 29-31. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v14i1.422>
- Suraini, A. S. (2023). Prevalensi *Candida albicans* pada saliva penderita diabetes melitus di RSUD Mohammad Natsir Kota Solok. *Bioma*, 8(1), 51-59.

PERBANDINGAN PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans* PADA MEDIA *Potato Dextrose Agar* DAN MEDIA ALAMI DARI JAGUNG MANIS (*Zea Mays Saccharata L.*)

Ardini Damayanti^{1*}

¹Diploma III Analis Kesehatan, Universitas MH Thamrin, Jakarta, Indonesia

e-Mail : ardinidamayanti26@gmail.com

No Tlp WA : 081776626295

Abstract

PDA (Potato Dextrose Agar) is one of the media used for the growth of Candida albicans. PDA media is made by the factory in the form of ready-to-use preparations, is expensive, and is only obtained in certain places. The abundance of natural resources such as sweet corn (Zea mays saccharate L.), can be used as an alternative medium for the growth of microorganisms. The purpose of the study was to determine the growth and comparison of the number of colonies and diameter of Candida albicans on natural media sweet corn and PDA. This study used the spread plate method, the results showed that the average diameter of colonies on PDA media was 1.5 mm while on sweet corn media had a diameter of 1 mm. The results of the statistical test of sweet corn media obtained a sig value <0.05, which means there are differences in mushroom growth at each concentration. It can be concluded that 30% and 60% concentration of sweet corn natural media can be used as an alternative media.

Keywords : Sweet corn (*Zea Mays Saccharata L.*), *Candida albicans*, natural media, PDA (*Potato Dextrose Agar*).

Abstrak

PDA (Potato Dextrose Agar) merupakan salah satu media yang digunakan untuk pertumbuhan jamur Candida albicans. Media PDA dibuat pabrik dalam bentuk sediaan siap pakai, harganya mahal, dan hanya diperoleh pada tempat tertentu. Melimpahnya sumber daya alam seperti jagung manis (Zea mays saccharate L.), dapat digunakan sebagai media alternatif pertumbuhan mikroorganisme. Tujuan penelitian untuk mengetahui pertumbuhan dan perbandingan jumlah koloni dan diameter jamur Candida albicans pada media alami jagung manis dan PDA. Penelitian ini menggunakan metode spread plate (cara sebar), hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata diameter koloni pada media PDA adalah 1,5 mm sedangkan pada media jagung manis memiliki diameter 1 mm. Hasil uji statistik media jagung manis didapatkan nilai sig<0,05 yang berarti terdapat perbedaan pertumbuhan jamur pada masing-masing konsentrasi. Dapat disimpulkan media alami jagung manis konsentrasi 30% dan 60% dapat digunakan sebagai media alternatif.

Kata Kunci : Jagung manis (*Zea Mays Saccharata L.*), *Candida albicans*, media alami, PDA (*Potato Dextrose Agar*).

PENDAHULUAN

Seringkali jamur menginfeksi masyarakat yang tinggal di daerah tropis salah satunya adalah Indonesia, sebagai salah satu contohnya ialah jamur *Candida albicans*.

Jamur tersebut dapat menjadi penyebab dari infeksi kandidiasis (Jiwintarum et al., 2017). Ketika masa pertumbuhan, jamur memerlukan media yang baik. Tempat baik untuk berkembangnya jamur harus memiliki pH yang selaras, tidak adanya campuran zat yang bisa memperlambat pertumbuhan jamur, steril serta memiliki nutrisi yang lengkap (Nurdin & Nurdin, 2020).

Media yang baik dapat di definisikan sebagai tempat yang memiliki nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme. Contoh dari pertumbuhan jamur yang dipakai di laboratorium yaitu media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Menurut Gandjar takaran media PDA untuk aquades 1000 ml yaitu potato 4,0 gram, dimana potato mempunyai total karbohidrat sebanyak 19,10 gram, dextrose 20,0 gram, dan agar 15 gram (Wulandari, 2022). Akan tetapi, PDA hanya diproduksi oleh perusahaan tertentu, sehingga dalam pemasarannya media PDA sudah siap digunakan. Media PDA juga memiliki harga yang mahal, susah didapat, dan dapat diperoleh di tempat tertentu. Octavia & Wantini (2017) mengatakan adapun yang menjadi permasalahan yakni PDA tidak tersedia di setiap toko kimia, padahal PDA semakin banyak diperlukan.

Melimpahnya sumber daya alam sebagai bahan dasar pembuatan media, sehingga peneliti memilih media pengganti yang berasal dari alam yang banyak tersedia dan biaya yang tidak mahal. Bahan yang dipakai harus memiliki nutrisi, yakni memiliki kandungan karbohidrat juga protein tinggi (Cappucino, 2014).

Adapun penelitian mengenai penggunaan media alternatif dari sumber alam telah dilakukan. Hasil penelitian yang dilakukan Octavia & Wantini (2017) menunjukkan bahwa media dari sumber karbohidrat yaitu singkong (*Manihot esculenta crantz*) bisa digunakan sebagai tempat pengganti untuk menumbuhkan jamur *Aspergillus flavus*. Penelitian yang dilakukan Asmarani et al., (2018) menyebutkan bahwa tumbuhnya jamur *Aspergillus flavus* dapat memakai media ubi madu dan ubi ungu. Penelitian Listyani et al., (2019) talas bisa digunakan sebagai media pengganti untuk menumbuhkan *Candida albicans* dan *Aspergillus sp.* Penelitian Rohmi et al., (2019) menggunakan ubi jalar putih (*Ipomoea batatas L.*) sebagai media alternatif untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan

Leo P (2022) menggunakan media alamiah dari ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Mengacu pada hasil penelitian yang telah dijalankan tentang penggunaan sumber karbohidrat yakni dengan jenis umbi sebagai alternatif dari PDA bisa didapat hasil jika media pengganti itu bisa digunakan untuk bertumbuhnya jamur.

Jagung manis (*Zea mays saccharate L.*) Adalah suatu produk hortikultura dan memiliki rasa manis. Jagung manis juga mengandung karbohidrat 96,3 gram dan protein 12,9 gram, energi, vitamin, kalsium, fosfor, serta zat besi. Disamping itu, jagung manis tidak sulit dijumpai di lingkungan masyarakat, dan juga harga yang lebih terjangkau. Dengan itu hal ini lebih memberikan untung jika pemanfaatan jagung manis dimaksimalkan sebagai alternatif pengganti PDA (Hasanah, 2018) Pada penelitian sebelumnya media alternatif jagung manis banyak digunakan untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus*. Mengacu pada penjelasan dan penelitian sebelumnya, maka dilakukan penelitian yang membahas tentang media alami dari jagung manis untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu jagung manis, agar, dextrose, kapas, aquades, NaCl 0,85%, H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1%, *emersi oil*, mikroskop, kloramfenikol, media PDA, jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

Cara pemeriksaan sampel dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D-III Analis Kesehatan Universitas MH Thamrin. Cara kerja pengujian sebagai berikut :

Sterilisasi alat yang digunakan:

Mengsterilkan peralatan yang digunakan yakni berbahan dasar kaca, seperti tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, dan batang pengaduk. Peralatan yang akan disterilisasi dibungkus menggunakan kertas, kemudian dimasukkan ke dalam oven selama ± 60 menit dengan suhu 160 °C (Aini & Rahayu, 2018)

Pembuatan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB)

Nur Safitri & Qurrohman (2022) menjelaskan jika dalam membuat LPCB dilakukan dengan menyiapkan 1 *beaker glass*. Ditimbang 20 gr kristal fenol lalu dilarutkan dengan aquades. Larutan asam laktat 20 ml, gliserol 40 ml, dan aquades 20 ml dimasukkan kedalam *beaker glass* kemudian dihomogenkan. Dipanaskan diatas uap panas dengan hati-hati. Ditambahkan bubuk *cotton blue* secukupnya sampai larutan menjadi warna biru.

Pembuatan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5

Nur Safitri & Qurrohman (2022) memaparkan bahwa pembuatan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5 dilakukan dengan cara menyiapkan 1 tabung reaksi. Selain itu, larutan BaCl 1% sebanyak 0,05 ml dan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml. Kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dihomogenkan.

Pembuatan suspensi *Candida albicans* dengan kekeruhan *Mc Farland* 0,5

Nur Safitri & Qurrohman (2022) mendeskripsikan bahwa dalam membuat suspensi *Candida albicans* dengan menyiapkan 1 tabung reaksi. Diambil koloni *Candida albicans* dengan ose tumpul yang sudah dipijarkan dan larutan NaCl 0,85% sebanyak 9 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Setelah itu, dibandingkan dengan standarisasi kekeruhan *Mc Farland* 0,5. Jika terlalu keruh tambahkan NaCl 0,85% sampai tingkat kekeruhan sama dengan kekeruhan *Mc Farland* 0,5.

Pembuatan media sebagai kontrol negatif

Menurut Nur Safitri & Qurrohman (2022) dalam pembuatan media sebagai kontrol negatif dilaksanakan dengan cara menambahkan 1,5 gr agar dan 1 gr *dextrose* ke dalam erlenmeyer. Setelah itu, 100 ml aquadest ditambahkan ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Media ditambahkan ke dalam autoclave selama 15 menit dalam suhu 121 °C. Sebanyak 0,1 gram kloramfenikol dimasukan ke dalam erlenmeyer ketika media telah hangat kuku dan dihomogenkan. Selanjutnya media dimasukan ke dalam cawan petri yang telah disiapkan dan tunggu sampai dingin serta memadat.

Pembuatan media PDA sebagai kontrol positif

Menurut Nur Safitri & Qurrohman (2022) dalam membuat media PDA dilaksanakan dengan cara menambahkan 3,9 gram media PDA ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya dimasukkan 100 ml aquades ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Lalu media dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit dalam suhu 121°C dan sebanyak 0,1 gr kloramfenikol dimasukkan ke dalam erlenmeyer ketika media sudah hangat kuku dan dihomogenkan. Setelah itu, media dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah disediakan dan tunggu hingga dingin serta memadat.

Persiapan jagung manis untuk dibuat media

Jagung manis yang masih dalam bentuk bonggol dikupas dan dibersihkan dari daun dan serabutnya.

Pembuatan media jagung manis (Nur Safitri & Qurrohman, 2022):

Persiapan bahan pembuat media alternatif yaitu jagung manis sebanyak 75 gr dipisahkan bulir dari bonggol jagung, lalu ditimbang sesuai dengan konsentrasi 30% (30 gram), konsentrasi 60% (60 gram), konsentrasi 90% (90 gram), lalu dihaluskan kemudian ditambahkan aquades 100 ml lalu dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih, setelah itu tunggu jagung hingga dingin lalu diperas dan diambil sari patinya dengan cara disaring menggunakan kain saring lalu dimasukkan kedalam masing-masing erlenmeyer. Sari pati jagung yang didapat volumenya di sesuaikan menjadi 100 ml dengan ditambahkan aquades. Kemudian masing-masing ditambahkan agar-agar 1,5 gr, *dextrose* 1 gr, dan kloramfenikol 0,1 gr kemudian dihomogenkan pH diukur dengan menggunakan pH strip hingga pH 5, jika terlalu asam maka ditambahkan beberapa tetes NaOH 0,01N , jika terlalu basa maka ditambahkan HCl 0,01N hingga pH sesuai, erlenmeyer ditutup dengan kapas steril yang dilapisi alumunium foil (Fachniar et al., 2022).

Setelah itu, media dimasukkan kedalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Media dituangkan kedalam cawan petri steril didekat bunsen yang telah disiapkan. Ditunggu hingga dingin dan memadat.

Prosedur kultur jamur *Candida albicans* pada media jagung manis:

Metode penanaman *Candida albicans* menggunakan metode *spread plate* dengan kepadatan suspensi bahan uji 1×10^7 CFU/ml (Prasetya & Ade, 2021).

Tahap pengujian media alternatif dengan cara kultur jamur *Candida albicans* pada media jagung manis dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90% yang diulang sebanyak 6 kali, media PDA (kontrol positif) dan media kontrol negatif.

Inokulasi jamur *Candida albicans* dilakukan dengan suspensi *Candida albicans* dengan kepadatan 1×10^7 CFU/ml dipipet sebanyak 0,1 ml menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan diatas permukaan media, diratakan menggunakan *drygalski* atau ose. Setiap konsentrasi media jagung manis dilakukan kultur pada 6 media agar plate sebagai pengulangan.

Kultur suspensi *Candida albicans* pada media kontrol positif (media PDA) dan media kontrol negatif, dilakukan sama seperti inokulasi pada media uji tetapi tanpa pengulangan. Seluruh kultur diinkubasi pada suhu ruang 28°C selama 2-5 hari.

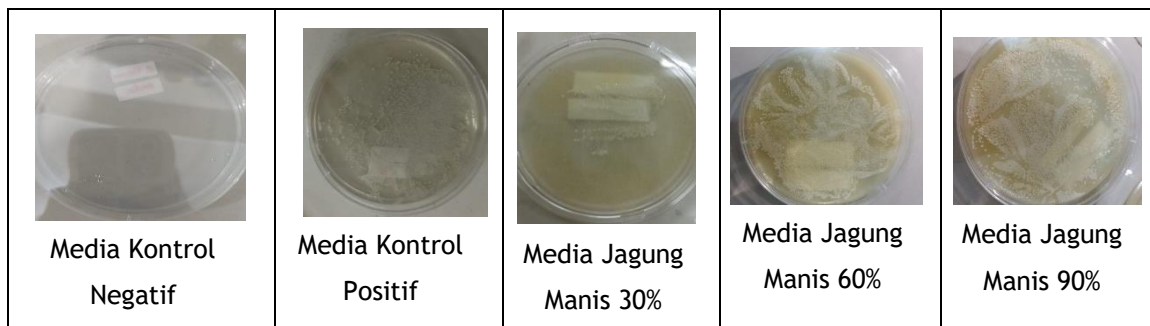
Pengamatan jamur *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* diamati melalui hasil dari inokulasi jamur di tempat alamiah setelah inkubasi 48 jam. Pengamatan meliputi ada tidaknya pertumbuhan koloni jamur, identifikasi jamur secara makroskopis dan mikroskopis, lalu dilaksanakan perhitungan terhadap total keseluruhan koloni dan diameter jamur *Candida albicans*. Data yang diperoleh ditambahkan ke dalam tabel hasil pengamatan (Kiswari, 2014).

HASIL

Dalam penelitian ini dilakukan uji perkembangan koloni jamur *Candida albicans* pada media jagung manis dengan 3 konsentrasi yaitu 30%, 60% dan 90%, untuk mengetahui konsentrasi terbaik yang dapat digunakan sebagai media alami jagung manis, serta sebagai media kontrol yakni media PDA. Terhadap media uji dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali dan dilakukan analisa hasil pertumbuhan jamur selanjutnya yang dibandingkan dengan pertumbuhan jamur

pada media kontrol.



Gambar 1. Hasil pengamatan Makroskopis jamur *Candida albicans* setelah inkubasi 48 jam

Identifikasi jamur *Candida albicans* secara makroskopis juga dilakukan secara kuantitatif dengan menghitung jumlah koloni dan diameter koloni pada media jagung manis setelah inkubasi 48 jam (tabel 1).

Tabel 1. Hasil Hitung Jumlah dan Pengukuran Diameter Jamur *Candida albicans* pada Media Jagung Manis dan Media PDA (kontrol)

Pengulangan	Jumlah Koloni Media Jagung Manis Setelah Inkubasi 48 jam			
	30%	60%	90%	PDA
1	192	568	>1000	580
2	128	460	>1000	
3	52	>1000	680	
4	140	>1000	668	
5	92	>1000	716	
6	192	>1000	>1000	
Rata-rata Jumlah Koloni	132,6	838	844	96,6
Rata-rata Diameter Koloni (mm)	1 mm	1 mm	1 mm	1,5 mm

Hasil penelitian pada tabel 1 di atas menunjukkan hasil hitung jumlah koloni dan diameter jamur *Candida albicans* pada media jagung manis dan PDA setelah inkubasi 48 jam. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama 48 jam diperoleh rata-rata jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada media jagung manis berkisar antara $132,6 \times 10^8$ sampai 844×10^8 CFU/mL, sedangkan pada media PDA $96,6 \times 10^8$ CFU/mL.

Perhitungan berdasarkan diameter koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media jagung memiliki diameter 1 mm sedangkan pada media kontrol PDA

memiliki rata-rata diameter 1,5 mm (Santos et al., 2020).

Hasil dari mengamati jumlah koloni, selanjutnya diuji normalitas memakai uji Saphiro-wilk dan diperoleh hasil dengan konsentrasi 30% dan 90% memiliki nilai $\text{sig} > 0,05$ yang memperlihatkan data terdistribusi normal. Sedangkan, dengan konsentrasi 60% memiliki nilai $\text{sig} < 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi tidak normal. Selanjutnya data diuji homogenitas dan diperoleh hasil $\text{sig} < 0,05$, memperlihatkan data tidak homogen. Setelah itu, dilakukan uji Anova dan diperoleh nilai $\text{sig} < 0,05$, artinya ada yang berbeda pada proses tumbuhnya jamur pada setiap konsentrasi. Mengacu pada total keseluruhan koloni jamur *Candida albicans* konsentrasi paling baik adalah konsentrasi 90%. Berdasarkan diameter koloni pada media jagung manis konsentrasi 30%, 60% dan 90% memiliki diameter yang sama yaitu 1 mm, sedangkan pada media kontrol PDA memiliki rata-rata diameter 1,5 mm. Menurut Octavia & Wantini (2017) terdapat faktor yang berpengaruh terhadap tumbuhnya jamur, misalnya faktor nutrisi, media, serta kondisi fisik (suhu, oksigen, pH, lingkungan). Dalam penentuan konsentrasi terbaik yang dapat digunakan untuk media alami jagung manis adalah konsentrasi 30% dan 60%, karena pada hasil uji annova kedua konsentrasi tersebut memiliki perbedaan rata-rata signifikan pada tingkat 0,05 (Armstrong, 2019).

Pengamatan mikroskopis secara langsung yaitu dengan larutan KOH. Hasil pengamatan dari uji KOH menggunakan mikroskop lensa objektif 10x dan 40x didapatkan hasil bahwa blastospora berbentuk bulat hingga oval, kecil, hifa semu, dan memiliki pseudohifa serta klamidospora.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media jagung manis dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90%. Media terbaik yang dapat digunakan sebagai media alternatif jagung manis adalah konsentrasi 30% dan 60%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan Universitas MH Thamrin, sekaligus dosen pembimbing KTI saya dan semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat adanya konflik kepentingan dalam penelitian yang telah dilakukan.

REFRENSI

- Aini, N., & Rahayu, T. (2018). Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 3(5), 855-860.
- Armstrong, D. (2019). *Malory and character*. (pp. 144-163). <http://jrs.ft.unand.ac.id/index.php/jrs/pages/view/guide>
- Asmarani, E., Humairoh, D., & Kurniawati, D. (2018). Identification of *Candida* sp. Fungus in The Water of Toilet Tube At Tour Places at Kediri With Centrifugation Method. *Prosiding SINTESIS (Seminar Nasional Sains, Teknologi Dan Analisis)*, 2009, 146-155.
- Cappucino, J. (2014). *Manual Laboratorium Biologi*. EGC.
- Fachniar, G., Koentjoro, M. P., Isdiantoni, Ekawati, I., & Prasetyo, E. N. (2022). Effect of laccase oxidation on phenol content and antioxidant capacity of roasted coffe. *The 3rd International Conference On Mathematics and Science Education (ICoMSE) 2019 Strengthening Mathematics and Science Education Research for the Challenge of Global Society*, (Vol. 2215, 282. <https://doi.org/https://doi.org/10.1063/5.0000775>
- Hasanah, Y. (2018). *Kemampuan Biji Jagung Manis (Zea mays saccharata) Sebagai Media Pengganti PDA terhadap pertumbuhan Aspergillus niger*. Banjarbaru : Poltekkes Banjarmasin.
- Jiwintarum, Y., Urip, Wijaya, A. F., & Diarti, M. W. (2017). Media alami untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans* penyebab kandidiasis dari tepung biji

kluwih (*Artocarpus communis*). *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(2), 158-170. <https://poltekkes-mataram.ac.id/wp-content/uploads/2018/01/10.-Yunan-Jiwintarum.pdf>

Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi*. Erlangga.

Listyani, I. L., Hayati, D. N., Amanah, R. N., & Iswara, A. (2019). Koro Benguk (*Mucuna pruriens*) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri Pengganti Nutrient Agar. *Proceeding of The URECOL*, 91-94. repository.urecol.org

Nur Safitri, A., & Qurrohman, M. T. (2022). PERBANDINGAN PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans* PADA MEDIA ALAMI JAGUNG, SINGKONG DAN UBI JALAR KUNING. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 3(2), 97-107. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i2.76>

Nurdin, E., & Nurdin, G. M. (2020). Perbandingan Variasi Media Alternatif dengan Berbagai Sumber Karbohidrat Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Bionature*, 21(1), 1-5. <https://doi.org/10.35580/bionature.v21i1.13920>

Octavia, A., & Wantini, S. (2017). Perbandingan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* pada media PDA (potato dextrose agar) dan media alternatif dari singkong (*Manihot esculenta crantz*). *Jurnal Analis Kesehatan*, 6(2), 625-631.

Prasetya, & Ade, Y. (2021). Formulasi Jagung Manis Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 9(2), 103-109. <https://doi.org/10.33992/m.v9i2.1574>

Rohmi, R., Fikri, Z., & Pujasari, N. K. R. (2019). Ubi Jalar Putih (*Ipomoea Batatas L.*) Media Alternatif Pertumbuhan *Aspergillus Niger*. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), 143. <https://doi.org/10.32807/jkp.v13i2.234>

Santos, H. O., Earnest, C. P., Tinsley, G. M., Izidoro, L. F., & Macedo, R. C. (2020). *Small dense low-density lipoprotein-cholesterol (sdLDL-C): Analysis, effects on cardiovascular endpoints and dietary strategies*. *Progress in Cardiovascular Diseases*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8866335/>

WULANDARI, V. A. (2022). EFEKTIVITAS JAGUNG MANIS (*Zea mays L.*) SEBAGAI MEDIA PENGGANTI PDA (Potato Dextrose Agar) UNTUK PERTUMBUHAN JAMUR *Aspergillus flavus*. <https://repository.poltekkes-tjk.ac.id/id/eprint/3981/>

GAMBARAN KADAR ALBUMIN MURNI SKALA MIKROGRAM YANG DIUKUR SECARA SPEKTROFOTOMETER UV SETELAH DIADSORPSI MAGNETIT (Fe_3O_4)

Muhamad Rifky Fauzi^{1*} · Ayi Furqon² · Ellsie Viendra Permana³

¹Teknologi Laboratorium Medis (D3), Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan,
Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail: rifqi2650@gmail.Com

No Tlp WA: 085524692306

Abstract

Urinalysis is one type of examination to asses kidney function abnormalities, one of which is proteinuria. Analytical methods for protein diagnosis should cover the presece of protein in urine ranging from 0,01 mg/dL to 10 mg/dL. Before the validation of the magnetite adsorbent-based protein quantification methode in patient urine, research was first carried out on pure analytes, albumin. This study aims to determine the level of albumin by UV spectrophorometer method after adsorption of magnetite (Fe_3O_4). The research method used is a descriptive method with the sample used being albumin dissolved in TRIS Buffer pH 7,4 0,05 M with a concentration of 5 - 40 mg/dL. The results of measuring albumin levels in the range of 5 - 40 mg/dL with a wavelength of 280 nm using the UV spectrophotometer method obtained linear curve results as evidenced by the coefficient (R^2) $y = 0,0188x + 0,0131$ and adsorption by magnetite (Fe_3O_4) with an average amount of adsorption of 17,5%. Based on the results of measuring albumin levels in the range of 5 - 40 mg/dL with a wavelength of 280 nm using the UV spectrophotometer, a linear curve and adsorption by magnetite (Fe_3O_4) with an average adsorption of 17,5% were obtained.

Keywords: Albumin, Magnetite, Proteinuria

Abstrak

Urinalisis adalah salah satu jenis pemeriksaan untuk menilai kelainan fungsi ginjal salah satunya adalah proteinuria. Metode analitik diagnosis protein harus mencakup keberadaan protein dalam urin mulai dari 0,01 mg/dL hingga 10 mg/dL. Sebelum validasi metode kuantifikasi protein berbasis adsorben magnetit pada urin pasien, terlebih dahulu dilakukan penelitian pada analit murni yaitu albumin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar albumin dengan metode spektrofotometer UV setelah diadsorpsi magnetit (Fe_3O_4). Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif dengan sampel yang digunakan adalah albumin yang dilarutkan dalam buffer TRIS pH 7,4 0,05 M dengan konsentrasi 5 - 40 mg/dL. Hasil pengukuran kadar albumin pada rentang 5 - 40 mg/dL dengan panjang gelombang 280 nm menggunakan metode spektrofotometer UV diperoleh hasil kurva linear yang dibuktikan dengan koefisien (R^2) $y=0,0188x + 0,0131$ serta adsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4) dengan besaran rata-rata adsorpsi 17,5%. Berdasarkan hasil pengukuran kadar albumin pada rentang 5 - 40 mg/dL dengan panjang gelombang 280 nm menggunakan metode spektrofotometer UV diperoleh hasil kurva linear serta adsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4) dengan besaran rata-rata adsorpsi 17,5%.

Kata Kunci: Albumin, Magnetit, Proteinuria

PENDAHULUAN

Urin adalah cairan di dalam tubuh yang dapat digunakan untuk diagnosis medis pasien. Urinalisis adalah salah satu jenis pemeriksaan bagi pasien untuk menilai kelainan fungsi ginjal, karena penelitian medis telah menunjukkan bahwa orang dengan konsentrasi protein tinggi dalam urinnnya menderita berbagai jenis penyakit ginjal yang dikenal sebagai proteinuria (Aitekenov dkk., 2020).

Beberapa peneliti sulit menganalisis urin karena mengandung campuran kompleks komponen anorganik dan organik, mulai dari molekul dengan massa molar kecil hingga polimer (Barratt & Topham, 2013). Metode analitik untuk diagnosis proteinuria harus mencakup keberadaan protein dalam urin mulai dari 0,01 mg/dL hingga 10 mg/dL (Huang dkk., 2020).

Terdapat dua metode dalam pemeriksaan proteinuria, yaitu metode kualitatif dan metode kuantitatif. Keberadaan protein dalam urin secara sederhana dengan menggunakan metode kualitatif dapat dilakukan dengan cara carik celup, tetapi metode ini hanya bisa mendeteksi keberadaan protein secara kualitatif atau juga semi kuantitatif (-, +1, +2, atau +3) (Untari, 2022). Sehingga, dibutuhkan metode kuantitatif dalam pemeriksaan protein urin untuk mengetahui kadar protein dalam urin tersebut, deteksi kadar protein dalam urin yang umum dipakai adalah menggunakan Pyrogallol Red (Yalamati dkk., 2015). Tetapi, metode Pyrogallol red memiliki limit deteksi yaitu 1 mg/dL.

Partikel nano magnetit (Fe_3O_4) atau *Black Iron Oxide* yang dikenal sebagai oksida besi hitam, adalah oksida logam paling magnetit dan merupakan bahan magnetit dengan ukuran kurang dari 100 nanometer (Kurniawan dkk., 2017). Partikel nano magnetit (Fe_3O_4) yang direkayasa untuk aplikasi biomedis dirancang untuk mengikat protein, protein ini teradsorpsi pada permukaan partikel nano magnetit (Fe_3O_4) dengan membentuk lapisan yang disebut "Protein Corona" (Calatayud dkk., 2014).

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analitik yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible (sinar tampak) sebagai daerah serapan untuk mengidentifikasi suatu senyawa, pemeriksaan yang dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis relatif cepat dibandingkan metode lainnya (Handoyo Sahumena dkk., 2020).

Berdasarkan penelitian (Rahdar, dkk., 2019) mengatakan bahwa *Bovine Serum Albumin* (BSA) murni dapat diikat oleh adsorben magnetit dengan ukuran <100 nm dalam waktu 120 menit. Sedangkan pada penelitian (Furqon & Puspa Kania, 2022) mengatakan bahwa partikel magnetit dengan ukuran *submicron* dapat menangkap molekul protein serum secara cepat.

Namun, sebelum validasi metode kuantifikasi protein berbasis adsorben magnetit pada urin pasien, terlebih dahulu dilakukan penelitian pendahuluan adsorpsi pada analit murni. Penelitian ini menggunakan albumin murni sebagai analit murni.

Terdapat tujuan dalam penelitian ini meliputi tujuan umum yaitu untuk mengetahui kadar albumin dengan metode spektrofotometer UV setelah diadsorpsi magnetit (Fe_3O_4) dan tujuan khusus yaitu menentukan kurva linearitas pengukuran albumin murni rentang 5 - 40 mg/dL pada pengukuran panjang gelombang 280 nm serta menghitung persentase adsorpsi albumin murni oleh adsorben magnetit dalam waktu 15 menit.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan langkah-langkah penelitian dimulai dengan pelarutan albumin dalam buffer TRIS pH 7,4 0,05 M, kemudian penambahan magnetit (Fe_3O_4) submicron ukuran (<10.000 nm), selanjutnya proses adsorpsi albumin oleh magnetit (Fe_3O_4) dibantu oleh rotator, dilanjutkan dengan proses pemisahan magnetit menggunakan magnet *neodymium* dengan membuang supernatan dan menyisakan *pellet* berupa magnetit (Fe_3O_4) yang sudah mengadsorpsi albumin, setelah itu dilakukan elusi menggunakan NaCl 1 M,

kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 280 nm, dan terakhir dilakukan linearitas pengujian.

Populasi dalam penelitian ini adalah larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang dilarutkan dalam buffer TRIS pH 7,4 0,05 M. Sedangkan untuk sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dalam buffer TRIS pH 7,4 0,05 M dengan konsentrasi 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL, 20 mg/dL, 25 mg/dL, 30 mg/dL, 35 mg/dL, dan 40 mg/dL.

Data pada penelitian ini merupakan data primer yang diperoleh dari pengukuran albumin menggunakan alat spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 280 nm yang kemudian hasil absorbansi masing-masing variasi konsentrasi dicatat dan diolah menggunakan Uji Regresi Linear serta disajikan dalam bentuk kurva garis lurus (*XY Scatter*). Apabila nilai koefisien (R^2) > 0,9 menunjukkan linearitas pengukuran yang baik.

HASIL

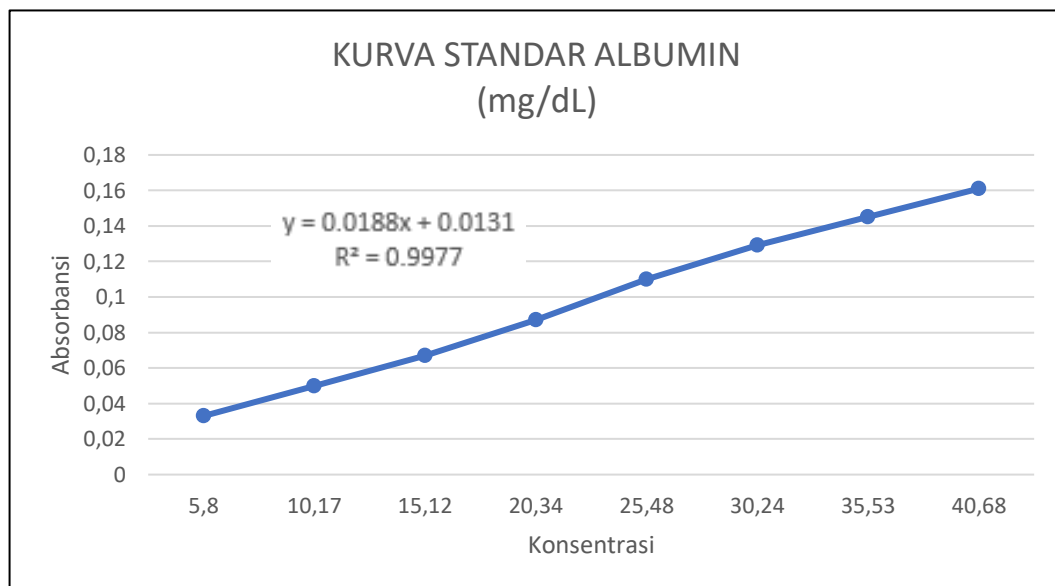
Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan menggunakan albumin sebagai sampel dalam penelitian ini kemudian dilarutkan dalam buffer TRIS pH 7,4 0,05 M dengan konsentrasi albumin terdiri dari 5 - 40 mg/dL.

Larutan albumin dibuat dalam larutan stok dengan konsentrasi 40 mg/dL kemudian dilakukan pengenceran gradual sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan. Selanjutnya, dilakukan pengukuran pada albumin tersebut dengan menggunakan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang 280 nm sebelum diadsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4). Hasil absorbansi pengukuran albumin sebelum teradsorpsi dengan magnetit (Fe_3O_4) disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 1. Absorbansi Pengukuran Albumin Sebelum Diadsorpsi
Magnetit (Fe_3O_4)

Konsentrasi Albumin (mg/dL)	Pengukuran Ke-1	Pengukuran Ke-2	Rata-Rata Absorbansi
5,8	0,026	0,039	0,033
10,17	0,041	0,059	0,050
15,12	0,065	0,068	0,067
20,34	0,083	0,090	0,087
25,48	0,109	0,110	0,110
30,24	0,127	0,130	0,129
35,53	0,145	0,145	0,145
40,68	0,159	0,163	0,161

Hasil pengukuran albumin murni tersebut dibuat menjadi kurva linearitas dan diperoleh persamaan garis linear. Kurva linearitas dan persamaan garis linear disajikan dalam bentuk gambar tersebut:



Gambar 1. Kurva Standar Albumin

Berdasarkan kurva tersebut, maka diperoleh persamaan garis yaitu $y = 0,0188x + 0,0131$ serta kurva linearitas diperoleh hasil yang linear dengan nilai koefisien (R^2) sebesar 0,9977. Setelah itu, kurva standar dan persamaan tersebut digunakan untuk menentukan kadar albumin yang

teradsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4). Hasil kadar albumin setelah bereaksi dengan magnetit (Fe_3O_4) disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Adsorpsi Albumin Oleh Magnetit (Fe_3O_4)

Kadar Albumin Sebelum Adsorpsi (mg/dL)	Kadar Albumin yang Teradsorpsi (mg/dL)	% Albumin yang Teradsorpsi	<i>p-value</i>
5,8	0,6	11,1	0,001
10,17	1,7	17,2	
15,12	2,4	16,3	
20,34	3,4	17,0	
25,48	5,2	20,6	
30,24	6,0	19,8	
35,53	6,8	19,3	
40,68	7,4	18,5	

DISKUSI

Albumin adalah protein paling melimpah dalam sirkulasi darah dan merupakan komponen utama yang bertanggung jawab untuk adsorpsi asam lemak, anion, ion logam, antioksidan, dan molekul kecil serta partikel nano lainnya yang bersirkulasi (Jahanban Esfahlan dkk., 2019). Salah satu jenis albumin yang berasal dari hewan adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan ketersediaannya yang melimpah, biaya rendah, dan penggunaan umum yang memudahkan hasil standarisasi oleh seorang peneliti (Elsadek & Kratz, 2013).

Pada penelitian kadar albumin skala mikrogram sampel yang digunakan berupa *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang kemudian dilarutkan dalam Buffer TRIS pH 7,4 0,05 M. Protein seperti albumin memiliki lingkungan yang optimal salah satunya adalah pH, buffer TRIS dengan pH 7,4 dalam molekul yang kompleks seperti albumin tetap stabil dibandingkan dengan larutan buffer yang lain serta penggunaan pH 7,4 juga

dapat memberikan kondisi pada parikel menjadi netral (Rahdar dkk., 2019).

Berdasarkan metode dari Warburg-Christian bahwa uji protein dapat dilakukan dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV pada panjang gelombang 280 nm (Gunarti dkk., 2020). Metode ini hanya dapat membaca protein yang mengandung triptofan, sehingga metode ini memiliki kelemahan yaitu, ketika terdapat protein yang kandungan triptofannya sedikit, maka kadar protein keseluruhan akan terbaca lebih rendah dibanding kadar sebenarnya. Albumin mengandung asam amino jenis triptofan sebesar 60%, triptofan mengandung molekul yang berbentuk cincin sehingga sinar polikromatis yang ditembakkan diserap oleh cincin aromatis yang terdapat dalam larutan (Wahjuni, 2014).

Hasil dari rata-rata pengukuran albumin dibuat dalam kurva standar sehingga diperoleh persamaan garis. Berdasarkan hasil pembuatan kurva standar diperoleh persamaan garis $y=0,0188x + 0,00131$ dan diperoleh hasil yang linear dengan nilai koefisien (R^2) sebesar 0,9977. Hasil nilai koefisien (R^2) yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan yang baik antara konsentrasi dengan absorbansi pada rentang tersebut (Sugiyono, 2017). Kurva standar dan persamaan garis yang diperoleh tersebut digunakan untuk menentukan kadar albumin yang teradsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4) dengan nilai y adalah absorbansi yang terukur setelah diadsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4) dan nilai x adalah kadar albumin setelah diadsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4).

Larutan albumin yang telah ditambahkan magnetit (Fe_3O_4) sebanyak 0,1 gram selanjutnya dilakukan proses *shaking* dengan rotator selama 15 menit. Magnetit (Fe_3O_4) yang direkayasa dalam aplikasi biomedis dirancang untuk mengikat protein, protein tersebut akan teradsorpsi pada permukaan magnetit (Fe_3O_4) dengan membentuk lapisan pada dinding magnetit (Fe_3O_4) membentuk lapisan yang disebut dengan "*Protein Corona*" (Calatayud dkk., 2014). Penggunaan magnetit (Fe_3O_4) dalam penelitian ini karena magnetit merupakan anorganik yang awet, protein seperti albumin dapat diadsorpsi sekaligus dipisahkan dengan mudah.

Penggunaan magnetit yang berukuran submicron juga berguna agar albumin lebih cepat diikat karena memiliki permukaan yang lebih luas dibanding dengan ukuran yang lebih kecil seperti nano.

Proses *shaking* dengan menggunakan rotator selama 15 menit diperoleh hasil adsorpsi yang signifikan dengan besaran adsorpsi rata-rata sebesar 17,5%. Waktu pada saat proses *shaking* dengan menggunakan rotator sangat berpengaruh terhadap albumin yang teradsorpsi pada magnetit (Fe_3O_4), hal ini dibuktikan oleh penelitian (Rahdar dkk., 2019) diperoleh hasil adsorpsi yang signifikan sebesar 90% pada konsentrasi 50 mg/dL dengan waktu reaksi antara albumin dan magnetit (Fe_3O_4) selama 120 menit.

Setelah dilakukan proses *shaking* dengan menggunakan rotator, ditempelkan magnet pada bagian luar tabung reaksi dan supernatan pada larutan tersebut dibuang kemudian dilakukan elusi dengan menggunakan NaCl 1 M serta diukur dengan spektrofotometer UV. Proses pengerjaan seharusnya dilakukan pengukuran pada supernatan yang telah dilakukan *shaking* karena hal tersebut akan memperoleh hasil yang lebih optimal.

Ikatan yang terjadi pada albumin dengan magnetit (Fe_3O_4) merupakan ikatan hidrogen. OH^- pada magnetit (Fe_3O_4) akan berikatan dengan albumin sehingga menjadi Fe_3O_4 -Albumin (Nguyen dkk., 2021). Penggunaan NaCl 1 M pada proses elusi karena NaCl merupakan larutan garam yang memiliki ikatan ionik paling kuat serta dapat mengganggu ikatan antara magnetit (Fe_3O_4) dengan albumin, sehingga pada proses elusi ion klorida pada NaCl akan berikatan magnetit (Fe_3O_4) sehingga albumin akan dilepas di dalam larutan tersebut (Calatayud dkk., 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengukuran kadar albumin pada rentang 5 mg/dL - 40 mg/dL dengan pengukuran pada panjang gelombang 280 nm menggunakan metode spektrofotometer UV diperoleh hasil kurva linear serta adsorpsi oleh magnetit (Fe_3O_4) dengan besaran rata-rata 17,5%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu penulis dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan

REFERENSI

- Aitekenov, S., Gaipov, A., & Bukasov, R. (2020). Review: Detection and quantification of proteins in human urine. *Journal of Talanta* (Vol. 223).
- Barratt, J., & Topham, P. (2013). Urine proteomics: The present and future of measuring urinary protein components in disease. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* (Vol. 177, No.4, 361-368).
- Calatayud, M. P., Sanz, B., Raffa, V., Riggio, C., Ibarra, M. R., & Goya, G. F. (2014). The Effect of Surface Charge of Functionalized Fe₃O₄ Nanoparticles On Protein Adsorption and Cell Uptake. *Biomaterials* (Vol.35, NO.24, 6389-6399).
- Elsadek, B., & Kratz, F. (2013). Impact of albumin on drug delivery - New applications on the horizon. *Journal of Controlled Release* (Vol.157, No.1, 4-28).
- Furqon, A., & Puspa Kania, P. (2022). Magnetite Beads Binding to Human Serum Protein. *KnE Medicine* (Vol.2, No.2, 343-350).
- Gunarti, D. R., Kartika, M., & Sadikin, M. (2020). Properties of a Thiamine Binding Protein Purified From Mung Bean. *Pharmacognosy Journal* (Vol.12, No.2, 266-270).
- Handoyo Sahumena, M., Ruslin, R., Asriyanti, A., & Nurrohwiata Djuwarno, E. (2020). Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research* (Vol.2, No.2, 65-72).
- Huang, Y., Yang, X., Zhang, Y., Yue, S., Mei, X., Bi, L., Zhai, W., Ren, X., Ding, Y., Zhang, S., Deng, Z., & Sun, Y. (2020). Correlation of Urine Protein/Creatinine Ratios To 24-h Urinary Protein For Quantitating Proteinuria in Children. *Pediatric Nephrology* (Vol.35 No,3, 463-468).
- Jahanban Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Jahanban-Esfahlan, R., Roufegarinejad, L., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2019). Recent developments in the detection of bovine serum albumin. *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol.138, 602-617).

-
- Kurniawan, R. A., Astuti, A., & Muldarisnur, M. (2017). Pengaruh Penambahan Asam Laurat Terhadap Sifat Fisis dan Magnetik Nanopartikel Fe₃O₄. *Jurnal Fisika Unand*, (Vol.6, No.4, 362-367).
- Nguyen, M. D., Tran, H., Xu, S., & Lee, T. R. (2021). Fe₃O₄ Nanoparticles: Structures, Synthesis, Magnetic Properties, Surface Functionalization, and Emerging Applications. *Applied Science*.
- Rahdar, S., Rahdar, A., Ahmadi, S., & Trant, J. F. (2019). Adsorption of Bovine Serum Albumin (BSA) by Bare Magnetite Nanoparticles With Surface Oxidative Impurities That Prevent Aggregation. *NRC Research Press*.
- Sugiyono. (2017). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, R & D*. Bandung: Alfabeta.
- Untari, J. (2022). Analisis Pemeriksaan Protein Bence Jones pada Urin Lansia dengan Metode Osgood Untari. *Penelitian Kesehatan Suara Forikes* (Vol.13, 362-364).
- Wahjuni, S. (2014). *Dasar-Dasar Biokimia Edisi Pertama*. Denpasar: Udayana University Press.
- Yalamati, P., Bhongir, A. V., Karra, M., & Beedu, S. R. (2015). Comparative Analysis of Urinary Total Proteins by Bicinchoninic Acid and Pyrogallol.
-

PERBEDAAN INDEKS ENTOMOLOGI *Aedes aegypti* SEBELUM DAN SETELAH PEMASANGAN LETHAL OVITRAP DI KELURAHAN JOYOSURAN KOTA SURAKARTA

Ni Putu Asvini¹ · Tri Mulyowati^{1*} · Rinda Binugraheni¹

¹Program Studi D4 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

e-Mail: trimulyowati@setiabudi.ac.id

Abstract

The presence of Aedes aegypti larvae in an area can be a potential occurrence of DHF. The prevention of DHF that has been carried out so far is PSN 3M. One of the control measures recommended by WHO is the installation of a modified ovitrap with the addition of temephos, known as lethal ovitrap. PSN with lethal ovitrap as a plus, is recommended to be carried out when the number of cases is low and before the rainy season arrives as a measure to anticipate an increase in cases. The purpose of this study was to determine differences in the entomological index of Aedes aegypti before and after lethal ovitrap installation in Joyosuran Village, Surakarta City. This type of research is an experiment with a cross sectional approach. This research was conducted in the Joyosuran Village, Surakarta City by conducting a survey of residents' homes in selected locations. The sample for this study was 100 houses selected based on dengue cases, namely in RW 01, RT 05, RT 06, and RT 07, 2 of them were installed ovitrap. Data analysis was performed with SPSS using test Paired Sampel T-Tes and test Wixococon. The results showed that there was no significant difference in the entomological index differences of Aedes aegypti before and after lethal ovitrap installation for HI, CI, BI, ABJ and DF indicators with significant values $p=0.184$, $p=0.180$, $p=0.0180$, $p=0.184$ and $p=0.317$ (significant > 0.05). The conclusion of this study is that there is no difference in entomological index Aedes aegypti before and after installation lethal ovitrap in Joyosuran Village, Surakarta City.

Keywords: Entomology Index, Aedes aegypti, Lethal Ovitrap

Abstrak

Keberadaan jentik *Aedes aegypti* di suatu wilayah dapat menjadi potensi terjadinya DBD. Pencegahan penyakit DBD yang telah dilakukan sampai saat ini yaitu PSN 3M. Upaya pengendalian yang juga direkomendasikan WHO salah satunya pemasangan ovitrap yang dimodifikasi dengan penambahan temephos yang dikenal dengan lethal ovitrap. PSN dengan lethal ovitrap sebagai nilai plus, direkomendasikan dilakukan pada saat jumlah kasus rendah dan sebelum musim penghujan tiba sebagai tindakan antisipasi terjadinya peningkatan kasus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan lethal ovitrap di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta. Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan pendekatan cross sectional. Penelitian ini dilakukan di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dengan melakukan survei ke rumah warga di lokasi terpilih. Sampel penelitian ini sebanyak 100 rumah yang dipilih berdasarkan kasus DBD yaitu di RW 01 RT 05, RT 06, dan RT 07 dipasang sebanyak 2 ovitrap. Analisis data dilakukan dengan SPSS menggunakan uji Paired Sampel T-Tes dan uji Wixococon. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan lethal ovitrap untuk indikator HI, CI, BI, ABJ dan DF dengan nilai

signifikan $p=0.184$, $p=0.180$, $p=0.0180$, $p=0.184$ dan $p=0.317$ ($sig.p>0.05$). Kesimpulan penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta.

Kata Kunci: Indeks Entomologi, *Aedes aegypti*, *Lethal Ovitrap*

PENDAHULUAN

Demam berdarah *dengue* (DBD) pertama kali ditemukan di Manila, Filipina, pada tahun 1953, dan kemudian meluas ke negara lain (Asep, 2014). Kasus pertama di Indonesia ditemukan tahun 1968 di Surabaya dan sejak itu kasus DBD terus meningkat (Kemenkes RI, 2021). Jumlah kasus DBD di tahun 2020 tercatat sebanyak 108.303 kasus dan sebanyak 747 meninggal dunia (Beyer *et al.*, 2020). Tahun 2021 tercatat sebanyak 73.518 kasus dengan jumlah kematian 705 kasus (Kemenkes RI, 2021). Kasus infeksi DBD pada minggu ke-23 tahun 2022 secara nasional tercatat sebanyak 52.313 kasus, diantaranya 488 meninggal dunia (Kemenkes, 2022).

Surakarta merupakan salah satu daerah endemis penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) di Jawa Tengah. Surakarta memiliki 5 kecamatan dan semuanya merupakan daerah endemis. Tahun 2021 jumlah kasus DBD sebanyak 41 kasus dan sebanyak 6 kasus meninggal dunia. Sebaran data kasus DBD menurut puskesmas di wilayah Surakarta terdapat diantara 17 Puskesmas yaitu Puskesmas Pajang, Penumping, Purwosari, Jayengan, Kraton, Gajahan, Sangkrah, Purwodiningaratan, Ngoresan, Sibela, Pucangsawit, Nusukan, Manahan, Gilingingan, Banyuanyar, Setabelan dan Gambirsari (Dinkes Kota Surakarta, 2021).

Berdasarkan data dari puskesmas gajahan terdapat 4 kelurahan yang memiliki kasus DBD salah satunya adalah kelurahan Joyosuran. Tahun 2022 terdapat sebanyak 3 kasus DBD di kelurahan Joyosuran lebih tinggi dibandingkan tahun 2021 yang tidak memiliki kasus DBD. Kelurahan Joyosuran juga merupakan kawasan yang memiliki jumlah penduduk paling tinggi diantara kelurahan yang bernaung di Puskesmas Gajahan.

Kegiatan pemberantasan sarang nyamuk (PSN) 3M Plus merupakan salah satu upaya pencegahan penyakit DBD yang efektif dan efisien sampai saat ini. PSN 3M adalah gerakan menguras, menutup dan mengubur. Plus dalam PSN 3M yaitu

bentuk kegiatan pencegahan seperti menabur bubuk larvasida pada TPA yang sulit dibersihkan (Merlynaningrum *et al.*, 2016).

Upaya pengendalian yang direkomendasikan WHO adalah dengan pemasangan *ovitrap* dikenal juga sebagai perangkap telur. *Ovitrap* merupakan metode sensitif dan ekonomis untuk mendeteksi keberadaan nyamuk *Aedes*. *Ovitrap* terbuat dari toples bermulut lebar yang bagian luarnya diberi cat hitam dan diisi air bersih, kemudian ditempatkan ditempat yang terlindung dari hujan, di luar ruangan serta dekat pemukiman (World Health Organization, 2016). Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga telah mengembangkan modifikasi *ovitrap* menjadi *lethal ovitrap* sebagai upaya “plus” pada 3M di masyarakat. *Ovitrap* dimodifikasi dengan menambahkan *temephos* di dalam air untuk mematikan jentik (Pujiyanti *et al.* 2021).

Keberadaan jentik *Aedes aegypti* di suatu wilayah dapat menjadi potensi terjangkitnya penyakit DBD (Bestari, 2020). Demam Berdarah *Dengue*, juga dikenal sebagai DBD, disebabkan oleh virus *Dengue* yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*, yang sering hidup di iklim tropis dan subtropis. (Hasyim *et al.*, 2015). Iklim tersebut berkaitan dengan perubahan musim hujan dan kemarau (Priesley *et al.*, 2018).

Lingkungan, perilaku masyarakat, mobilitas, dan kepadatan penduduk adalah faktor lain yang mendukung perindukan nyamuk *Aedes aegypti*, dan penyakit DBD meningkat selama musim hujan (Dinkes, 2021). Nyamuk *Aedes aegypti* penular DBD hidup dekat dengan manusia. Nyamuk ini berkembangbiak pada TPA yang ada di rumah (Bestari, 2020). TPA yang berpotensi mempengaruhi nyamuk dalam pemilihan untuk bertelur dapat dilihat dari jenis/bahan, tempat peletakannya, bentuk, warna, kedalaman air serta asal air (Selni, 2020).

Secara nasional, indikator Angka Bebas Jentik (ABJ $\geq 95\%$) digunakan untuk mengidentifikasi presentase rumah yang tidak ditemukan jentik. Daerah yang dikatakan beresiko tinggi terhadap penularan DBD memiliki *House Index* (HI) $\geq 10\%$ dan *Container Index* (CI) lebih dari 5%. Suatu daerah dikatakan beresiko tinggi terhadap penyebaran, jika memiliki nilai *Breteau Index* (BI) $\geq 50\%$ (Perwitasari *et al.*, 2018).

Pada uraian yang terdapat di latar belakang, peneliti tertarik untuk mengajukan judul mengenai “Perbedaan Indeks Entomologi *Aedes aegypti*

Sebelum Dan Setelah Pemasangan *Lethal Ovitrap* Di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta”

Mengacu pada pemaparan di atas, peneliti mengajukan rumusan penelitian yaitu apakah ada perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta.

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimen dengan pendekatan *cross sectional* untuk mengetahui pengaruh *lethal ovitrap* terhadap indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di RW 01 RT 05, RT 06 dan RT 07, Kelurahan Joyosuran, Kota Surakarta.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - Mei 2023 dan tempatnya berlokasi di kelurahan Joyosuran Kota Surakarta, untuk identifikasi larva dilakukan di Laboratorium Parasitologi Universitas Setia Budi.

Populasi pada penelitian ini adalah 100 rumah di RW 01 RT 05, RT 06 dan RT 07, Kelurahan Joyosuran, Kota Surakarta. Sampel yang digunakan adalah 100 rumah, di RW 01 RT 05 sebanyak 26 rumah, RT 06 sebanyak 18 rumah dan RT 07 sebanyak 56 rumah, di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta, kemudian dilakukan survei larva dan dilakukan pemasangan *lethal ovitrap* di tempat tersebut untuk mengetahui perbedaan sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* dengan indeks entomologi nyamuk *Aedes aegypti*.

Variabel penelitian yang digunakan yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemasangan *lethal ovitrap*. Variabel terikat dari penelitian ini adalah indeks entomologi (HI, BI, CI dan ABJ). Alat dan bahan yang digunakan berupa gelas plastik, plastik warna hitam, ember, kertas saring, senter, objek glass, deck glass, *temephos (abate)* 1%, air, formalin, entelan, xylol dan alkohol.

Prosedur penelitian

1. Survei Jentik

Survei jentik dilakukan sebelum pemasangan *lethal ovitrap* dengan metode *single* larva dan visual. Pemantauan ini berlokasi di RW 01 RT 05, RT 06 dan RT 07, di Kelurahan Joyosuran, Kota Surakarta. Peneliti melakukan pengamatan pada semua tempat penampungan air di rumah warga yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakkan nyamuk *Aedes aegypti*, kemudian mencatat keberadaan larva pada TPA. Pengamatan keberadaan jentik dilakukan di dalam maupun pada tempat penampungan air dengan menggunakan senter. Jentik nyamuk yang terdapat pada tempat penampungan air diambil untuk dilakukan identifikasi di Laboratorium Parasitologi Universitas Setia Budi.

2. Persiapan Temephos (abate) 1%

Larvasida yang mengandung *temephos (abate)* 1% ditimbang sebanyak 10 gram dan dilarutkan dalam 10 liter air.

3. Pembuatan Lethal Ovitrap Dari Bahan Gelas Plastik

Gelas plastik dibungkus atau dilapisi dengan plastik berwarna hitam dibagian luar gelas. Gelas diisi larutan air yang sudah tercampur *temephos (abate)* ke dalam gelas tersebut. Kertas saring ditempelkan disekeliling dinding permukaan dalam gelas, biarkan setengah kertas saring terendam campuran larutan air dan *temephos*.

4. Aplikasi PSN 3M Dengan Lethal Ovitrap

Lethal ovitrap diletakkan di dalam rumah (terutama tempat gelap dan lembab seperti di bawah meja, kursi dan tempat tidur). *Lethal ovitrap* dipasang selama 25 hari, namun setiap 5 hari sekali *lethal ovitrap* dipantau.

5. Survei Jentik

Survei jentik dilakukan kembali setelah 25 hari pemasangan *lethal ovitrap* dengan menggunakan metode *single* larva dan visual. Peneliti melakukan pengamatan pada tempat penampungan air di rumah warga, kemudian keberadaan larva pada TPA dicatat. Pengamatan keberadaan jentik dilakukan dengan menggunakan senter. Jentik nyamuk yang terdapat pada *lethal ovitrap* dan tempat penampungan air diambil untuk dilakukan identifikasi di Laboratorium Parasitologi Universitas Setia Budi.

6. Pengambilan Larva

- a. Melihat bak/kontainer air yang ada di rumah tersebut.
- b. Melakukan pengamatan visual dengan lampu senter/cahaya lain.
- c. Melakukan pengamilan larva dengan pipet untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis di laboratorium.

7. Pemeriksaan Larva

- a. Direndam formalin selama 1 menit bertujuan untuk mengawetkan larva.
- b. Direndam larutan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95% (10 menit setiap tahapannya). Tahapan ini disebut dengan tahap dehidrasi.
- c. Dimasukkan ke dalam xylol selama 1 menit. Tahapan ini disebut dengan tahapan *clearing*.
- d. Larva yang sudah diawetkan, diletakkan di atas objek glass.
- e. Ditetesi entelan dan ditutup deck glass. Tahapan ini disebut dengan tahap mounting.
- f. Dilakukan pengamatan mikroskopis.

Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer. Data primer yaitu dengan melakukan survei larva nyamuk *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di RW 01 RT 05, RT 06 dan RT 07, di Kelurahan Joyosuran, Kota Surakarta. Teknik survei larva yang digunakan yaitu *visual larva method* dan *single larva*. Metode visual larva dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya larva pada setiap tempat air bersih, sedangkan pada metode *single larva* yaitu larva diambil untuk diamati di laboratorium. Metode visual larva dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya larva pada setiap tempat air bersih, sedangkan pada metode *single larva* yaitu larva diambil untuk diamati di laboratorium.

Teknik Analisis Data

Analisis data yang dilakukan secara observasional yaitu membandingkan perbedaan indeks entomologi vektor DBD sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap*. Data hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji SPSS yaitu uji *Paired Sample T-Test* dan uji *Wilcoxon*.

HASIL

Hasil Identifikasi Jentik

Berdasarkan hasil identifikasi jentik di laboratorium yang dilakukan secara mikroskopis ditemukan larva jenis *Aedes aegypti* dengan ciri - ciri siphon berbentuk pendek dan gemuk, serta pada abdomen kedelapan terdapat satu baris gigi sisir (comb teeth).

Hasil Indeks Entomologi *Aedes aegypti* Sebelum dan Setelah Pemasangan *Lethal Ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Keberadaan jentik nyamuk di suatu tempat atau daerah dapat diketahui dengan beberapa indikator yaitu HI (*House Index*), CI (*Container Index*), BI (*Breteau Index*), ABJ (*Angka Bebas Jentik*) dan DF (*Density Figure*).

Tabel 1. Hasil House Index (HI) sebelum dan setelah pemasangan lethal ovitrap di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Lokasi (RT)	Total rumah yang diperiksa	Total rumah positif jentik	
		Sebelum	Setelah
05	26	3	1
06	18	0	0
07	56	4	2
Total	100	7%	3%

Hasil survei larva sebelum dan setelah pemasangan lethal ovitrap di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dapat dilihat pada tabel 1. yang menunjukkan nilai HI sebelum pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 7% dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 3%.

$$\text{Rumus HI} = \frac{\text{Jumlah rumah positif jentik}}{\text{Jumlah rumah yang diperiksa}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{HI Sebelum} &= \frac{7}{100} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HI Setelah} &= \frac{3}{100} \times 100\% \\ &= 3\% \end{aligned}$$

Tabel 2. Hasil Container Index (CI) sebelum dan setelah pemasangan lethal ovitrap di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Lokasi (RT)	Total <i>container</i> yang diperiksa	Total <i>container</i> positif jentik	
		Sebelum	Setelah
05	63	3	2
06	43	0	0
07	130	4	2
Total	236	7	4

$$\text{Rumus CI} = \frac{\text{Jumlah } \textit{container} \text{ positif jentik}}{\text{Jumlah } \textit{container} \text{ yang diperiksa}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{CI Sebelum} &= \frac{7}{236} \times 100\% \\ &= 3\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CI Setelah} &= \frac{4}{236} \times 100\% \\ &= 2\% \end{aligned}$$

Hasil survei larva sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dapat dilihat pada tabel 2. yang menunjukkan nilai CI sebelum pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 3% dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 2%.

Tabel 3. Hasil Breteau Index (BI) sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Lokasi (RT)	Total rumah yang diperiksa	Total <i>container</i> positif jentik	
		Sebelum	Setelah
05	26	3	2
06	18	0	0
07	56	4	2
Total	100	7%	4%

Hasil survei larva sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dapat dilihat pada tabel 3. yang menunjukkan nilai BI sebelum pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 7% dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 4%.

$$\text{Rumus BI} = \frac{\text{Jumlah } \textit{container} \text{ positif jentik}}{\text{Jumlah rumah yang diperiksa}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{BI Sebelum} &= \frac{7}{100} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BI Setelah} &= \frac{4}{100} \times 100\% \\ &= 4\% \end{aligned}$$

Tabel 4. Angka Bebas Jentik (ABJ) sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Lokasi (RT)	Total rumah yang diperiksa	Total rumah negatif jentik	
		Sebelum	Setelah
05	26	23	25
06	18	18	18
07	56	56	54
Total	100	93	97

Hasil survei larva sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dapat dilihat pada tabel 3. yang menunjukkan nilai ABJ sebelum pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 93% dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* sebesar 97%.

$$ABJ = \frac{\text{Jumlah rumah negatif jentik}}{\text{Jumlah rumah diperiksa}} \times 100\%$$

$$ABJ \text{ Sebelum} = \frac{93}{100} \times 100\% \\ = 93\%$$

$$ABJ \text{ Setelah} = \frac{97}{100} \times 100\% \\ = 97\%$$

Tabel 5. Hasil density figure sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap*

Density Figure	House Index	Container Index	Breteau Index	Keterangan
1	1-3	1-2	1-4	Setelah
2	4-7	3-5	5-9	Sebelum
3	8-17	6-9	10-19	
4	18-28	10-14	20-34	
5	29-37	15-20	35-49	
6	38-49	21-27	50-74	
7	50-59	28-31	75-99	
8	60-76	32-40	100-199	
9	77+	41+	200+	

Berdasarkan hasil perolehan nilai HI, CI dan BI, sehingga memperoleh nilai DF seperti pada tabel 5. yang menunjukkan hasil DF sebelum pemasangan *lethal ovitrap* menunjukkan nilai DF 2, jika dilihat dari kategorinya termasuk dalam kepadatan jentik sedang. Nilai DF setelah pemasangan *lethal ovitrap* yaitu sebesar 1 yang termasuk dalam kategori kepadatan jentik rendah.

Tabel 6. Perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta

Indeks Entomologi	Total Persentase (%)		p*
	Sebelum	Setelah	
HI	93	97	0,184
CI	3	2	0,180
BI	7	3	0,180
ABJ	7	4	0,184
DF	2	1	0,317

Hasil analisis perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta pada tabel 6. menunjukkan perbedaan rerata HI $p=0.184$, CI $p=0.180$, BI $p=0.180$, ABJ $p=0.184$, dan DF $p=0.317$.

DISKUSI

Berdasarkan observasi di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta dari total 100 rumah, sebelum dipasang *lethal ovitrap* didapat total rumah yang positif larva sebanyak 7 rumah dan negatif larva sebanyak 93 rumah. *Container* yang ada di wilayah tersebut kebanyakan bak mandi dan ember, serta beberapa rumah yang memiliki tempat minum burung. *Container* yang positif sebanyak 7 *container* dan *container* yang banyak positif yaitu bak mandi yang terbuat dari semen atau keramik. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Tomia (2021) menyatakan bahwa *container* berbahan dasar semen lebih banyak ditemukan larva *Aedes aegypti*, karena *container* dengan bahan yang memiliki permukaan kasar dan berpori - pori pada dindingnya lebih sulit dibersihkan sehingga disukai nyamuk betina untuk meletakkan telurnya..

Berdasarkan pemantauan setelah pemasangan *lethal ovitrap* pada 100 rumah di wilayah Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta didapatkan rumah yang positif larva sebanyak 3 rumah dan negatif sebanyak 97 rumah serta *container* yang positif jentik sebanyak 4. *Container* yang lebih banyak positif juga adalah bak mandi yang terbuat dari semen. Keberadaan *Aedes aegypti* di Kelurahan

Joyosuran Kota Surakarta sebelum penggunaan *lethal ovitrap* tergolong sedang, dilihat dari indeks entomologinya yaitu HI 7%, CI 3%, BI 7%, ABJ 93% dan DF 2. Berdasarkan hasil keseluruhan dari nilai indeks entomologi tersebut tidak melampaui standar yang telah ditetapkan oleh WHO dan Kemenkes. *World Health Organization* (WHO) menetapkan HI <10%, <5% dan BI <50%.

Beberapa faktor mempengaruhi populasi *Aedes aegypti* yang masih ada, seperti partisipasi masyarakat dalam pemberantasan sarang nyamuk (PSN) yang kurang tepat, di mana saat melakukan survei jentik ada beberapa masyarakat yang lupa membersihkan bak mandi secara teratur atau cara membersihkan bak mandi yang kurang tepat serta kurang menjaga kebersihan seperti suka menumpuk pakaian yang tidak terpakai, sehingga memudahkan dan memberi peluang untuk nyamuk melakukan perindukan. Bak mandi yang menjadi tempat perindukan larva adalah bak mandi yang terbuat dari semen, serta bak berwarna gelap. Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ashar *et al* (2022) yang menyatakan bahwa nyamuk suka beristirahat di tempat yang gelap dan agar tidak menggantung pakaian yang tidak terpakai karena akan berpotensi menjadi perindukan nyamuk.

Keberadaan populasi nyamuk *Aedes aegypti* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta setelah penggunaan *lethal ovitrap* yaitu nilai HI 3%, CI 2%, BI 4%, ABJ 97% dan DF 1, nilai ini mengalami penurunan dibandingkan sebelum pemasangan *lethal ovitrap*. Penurunan kepadatan populasi *Aedes aegypti* di daerah perlakuan ini menunjukkan *lethal ovitrap* berfungsi sebagai perangkap yang menarik nyamuk untuk bertelur pada *ovitrap* dan juga sebagai surveilans vektor demam berdarah, sesuai dengan hasil identifikasi telur yang ditemukan pada kertas saring. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahayuningsih *et al* (2019) menyatakan bahwa pemasangan *ovitrap* efektif dalam menurunkan indeks entomologi. Penurunan ini juga dipengaruhi oleh perilaku masyarakat yang sudah banyak mengganti bak mandi dengan ember, sehingga air habis pakai serta lebih mudah dalam mengurasnya dan saat melakukan survei masyarakat telah melakukan pengurasan bak mandi.

Analisis data menggunakan SPSS dengan metode *Paired Sampel T-tes* dan *wilxocon* maka didapat hasil HI $p=0.184$, CI $p=0.180$, BI $p=0.180$, ABJ $p=0.184$, dan DF $p=0.317$. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa tidak ada

perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta.

Faktor dari curah hujan juga berpengaruh terhadap keberadaan jentik. Selama aplikasi *lethal ovitrap* yang dilakukan di bulan Mei 2023, tidak dilaporkan adanya kasus maupun suspek DBD di lokasi penelitian. Menurut data BMKG, curah hujan di wilayah penelitian pada bulan Mei berkisar antara 101-200 mm. Curah hujan dan kelembaban berkorelasi positif terhadap meningkatnya populasi nyamuk. Ovitrap berguna sebagai deteksi dini untuk upaya pengendalian vektor DBD. PSN dengan *lethal ovitrap* sebagai nilai plus, direkomendasikan dilakukan pada saat jumlah kasus rendah dan sebelum musim penghujan tiba sebagai tindakan antisipasi terjadinya peningkatan kasus (Pujiyanti, 2019).

Sesuai dengan rekomendasi WHO dan KEMENKES RI untuk menggunakan *ovitrap* sebagai pengendalian vektor dengan menerapkannya dalam jangka waktu satu minggu, kemudian dievaluasi untuk mencegah perkembangan telur nyamuk, *ovitrap* ini dapat membatasi atau mengurangi jumlah kepadatan telur nyamuk, seperti yang ditunjukkan oleh nilai perhitungan ABJ, HI, BI, CI, dan DF (Utami *et al.*, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data pada bab sebelumnya maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan indeks entomologi *Aedes aegypti* sebelum dan setelah pemasangan *lethal ovitrap* di Kelurahan Joyosuran Kota Surakarta.

REFERENSI

- Asep, Sukohar. 2014. "Demam Berdarah *Dengue* (DBD)." *Medula* 2(2): 1-15.
- Beyer, Mario, Richard Lenz, dan Klaus A. Kuhn. 2006. 48 IT - Information Technology *Health Information Systems*.
- Dinkes, Jawa Tengah. 2021. "*Profil Kesehatan Jawa Tengah Tahun 2021*."
- Dinkes Kota Surakarta. 2021. "*Profil Kesehatan Kota Surakarta*."
- Hasyim, Deddy Maulana, Sitti S. P. Kamuh, Arthur E. Mongan, dan Maya F. Memah. 2015. "Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Tindakan Pemberantasan Sarang Nyamuk." *Jurnal Kesehatan* 3(3): 738-42.

- Kemenkes RI. 2021. *Profil Kesehatan Indonesia 2021*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kemenkes RI. 2022. *Infodatin Wamenkes Dante Lepas Mobil Edukasi Dengue*. <https://www.kemkes.go.id/article/view/22070600002/wamenkes-dante-lepas-mobil-edukasi-dengue.htm>
- Merlynaningrum, Dina *et al.* 2016. "Efektifitas Aplikasi Larvsida *Temephos* 1% Sistem Membran dan Sistem Tabur Terhadap Larva *Aedes sp*" *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 7:117-24
- Perwitasari, Dian, Roy Nusa RES, dan Jusniar Ariati. 2018. "Indeks Entomologi Dan Sebaran Vektor Demam Berdarah *Dengue* Di Provinsi Maluku Utara Tahun 2015." *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* 28(4): 279-88.
- Priesley, Fuka, Mohamad Reza, dan Selfi Renita Rusdji. 2018. "Hubungan Perilaku Pemberantasan Sarang Nyamuk Dengan Menutup, Menguras Dan Mendaur Ulang Plus (PSN M Plus) Terhadap Kejadian Demam Berdarah *Dengue* (DBD) Di Kelurahan Andalas." *Jurnal Kesehatan Andalas* 7(1): 124.
- Pujiyanti, Aryani. 2019. "Uji Coba Efektivitas *Lethal Ovitrap* Untuk Pengendalian Vektor Demam Berdarah *Dengue* Di Kota Salatiga." : 1-59.
- Rahayu, Diah Fitri, dan Adil Ustiawan. 2013. "Taksonomi *Aedes*." *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara* 9(1): 7-10.
<http://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/blb/article/download/691/271>.
- Selni, Priska Selni Mayela. 2020. "Faktor - Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Demam Berdarah *Dengue* Pada Balita." *Jurnal Kebidanan* 9(2): 89-96.
- Tomia, Amalan. 2020. Gambaran Tingkat Kepadatan Nyamuk *Aedes Aegypti* Berdasarkan Indeks Ovitrap di Kota Ternate. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. Vol 16, No 2
- Utami Asri, Mutiara Suci, Eka Nofita, dan Lili Irawati. 2020. "Perbedaan Rerata Kepadatan Populasi *Aedes Spp* Sebelum Dan Sesudah Penggunaan *Ovitrap* Di Kelurahan Korong Gadang, Kecamatan Kuranji, Kota Padang." *Jurnal Kesehatan Andalas* 9(15): 156-64.
- World Health Organization. 2016. "Entomological Surveillance for *Aedes Spp.* in the Context of Zika Virus. Interim Guidance for Entomologists." *WHO Press, World Health Organization*: 1-10.
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/204624>

UMBI TALAS BOGOR (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF PERTUMBUHAN JAMUR *Aspergillus niger*

Imas Latifah¹ · Mulyati² · Muhammad Rizky Abucher¹ · Prima Nanda Fauziah^{1*}

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kesehatan, Universitas Mohammad Husni Thamrin, DKI Jakarta, Indonesia

²Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, DKI Jakarta, Indonesia

e-Mail: primanandafauziah@gmail.com

No Tlp WA : +62 857 2136 8609

Abstract

Good microorganism growth media is media that contains all the nutrients needed by the microorganisms to be grown. The high cost of commercial SDA and PDA media has encouraged researchers to find out the possibility of using other materials from natural resources owned by the Indonesian. One of the abundant natural resources in this country is Umbi Talas Bogor. This study aimed to determine the ability of *Aspergillus niger* to grow on alternative growth media derived from umbi talas Bogor. This study used the single dot method to stimulate fungal growth in conditions of lack of oxygen or anaerobic. The results showed that the fungi of *Aspergillus niger* could grow on umbi talas Bogor media and PDA media. Fungal growth on PDA concentration of 3.9% was better than umbi talas Bogor media in concentration of 3.9% ($T > 0.005$), then on umbi talas Bogor media was better than PDA media at concentration of 7.8% ($T < 0.005$). In conclusion, the *A. niger* fungi has the ability to grow well in alternative media from umbi talas Bogor at a concentration of 7.8%.

Keywords: *Aspergillus niger*, alternative media, Potato Dextrose Agar (PDA). Umbi talas Bogor (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

Abstrak

Media pertumbuhan mikroorganisme yang baik adalah media yang mengandung semua nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme yang akan ditumbuhkan. Mahalnya media SDA dan PDA komersial mendorong para peneliti untuk mengetahui kemungkinan penggunaan bahan lain dari sumber daya alam yang dimiliki Negara Indonesia. Salah satu sumber daya alam melimpah di negara ini adalah umbi talas Bogor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh jamur *Aspergillus niger* pada media alternatif pertumbuhan jamur yang berasal dari umbi talas bogor. Penelitian ini menggunakan metode *single dot* (cara tusuk) untuk menstimulasi pertumbuhan jamur pada keadaan kekurangan oksigen atau anaerobik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada media talas Bogor dan pada media PDA. Pertumbuhan jamur pada PDA konsentrasi 3,9% lebih baik dari media umbi talas Bogor konsentrasi 3,9% ($T > 0,005$), sedangkan pertumbuhan jamur pada media umbi talas Bogor lebih baik dari PDA pada konsentrasi 7,8% ($T < 0,005$). Simpulan, jamur *Aspergillus niger* memiliki kemampuan untuk tumbuh dengan baik pada media alternatif umbi talas bogor pada konsentrasi 7,8%.

Kata Kunci: *Aspergillus niger*, media alternatif, Potato Dextrose Agar (PDA). Umbi talas Bogor (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

PENDAHULUAN

Dalam mempelajari sifat-sifat mikroorganisme seperti jamur, diperlukan suatu media pertumbuhan yang dapat mencukupi nutrisi, sumber energi dan kondisi lingkungan tertentu. Suatu media untuk dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan baik diperlukan persyaratan antara lain: media harus mempunyai pH yang sesuai, media tidak mengandung zat-zat penghambat, media harus steril, dan media harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroorganisme (Aini N dan Rahayu T, 2015).

Media merupakan material nutrisi yang dipersiapkan untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium. Media pertumbuhan yang baik adalah media yang mengandung semua nutrisi yang diperlukan oleh organisme yang akan ditumbuhkan (Murwani, 2015). Nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, Fe, vitamin air dan energi. Salah satu media dapat digunakan untuk pertumbuhan jamur adalah *Saburout Dextroxa Agar* (SDA) dan *Potato Dextorse Agar* (PDA) (Wen dkk., 2022).

Media Sabarout Dextroxa Agar (SDA) memiliki pH yang rendah yaitu pH 4,5- 5,6 yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan pH 7,0 dan suhu optimum untuk pertumbuhan antara 25° C -30° C. Komposisi media *Sabarout Dextroxa Agar* (SDA) yaitu glukosa 40g, pepton 10g dan agar 15g yang dapat digunakan untuk menumbuhkan jamur.

Potato Dextrose Agar (PDA) adalah media yang umum untuk pertumbuhan jamur di laboratorium karena memiliki pH yang rendah (pH 4,5 sampai 5,6), sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan pH 7,0 dan suhu optimum untuk pertumbuhan antara 25-30° C (Cappucino, 2014; Wen dkk., 2022).

Berdasarkan komposisinya PDA termasuk dalam media semi sintetik karena tersusun atas bahan alami (kentang) dan bahan sintesis (dextrose dan agar), kentang merupakan sumber karbon (karbohidrat), vitamin dan energi, dextrose sebagai sumber gula dan energi, selain itu komponen agar berfungsi untuk

memadatkan medium PDA. Masing-masing dari ketiga komponen tersebut sangat diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakkan mikroorganisme terutama jamur (Sri Wantini, 2017; Wen dkk., 2022).

Media PDA instan/ komersil dibuat oleh pabrik-pabrik atau perusahaan tertentu sudah dalam bentuk sediaan siap pakai, namun harganya mahal, higroskopis, dan hanya dapat diperoleh pada tempat tertentu. Mahalnya harga media instan serta melimpahnya sumber alam yang dapat digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme mendorong para peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan-bahan yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal dan sekaligus dapat mengurangi keseluruhan biaya yang harus dikeluarkan dalam penelitian. Bahan yang digunakan harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan seperti dari bahan yang kaya akan karbohidrat dan protein (Sri Wantini, 2017). Hal tersebut mendorong peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan yang relatif murah dan mudah didapatkan, bahan baku tersebut adalah tepung talas dari umbi talas Bogor.

Talas merupakan tanaman pangan berupa herba menahun. Talas termasuk dalam suku talas-talasan (*Araceae*), berperawakan tegak, tingginya 1 m atau lebih dan merupakan tanaman semusim atau sepanjang tahun. Indonesia dikenal sebagai negara yang subur, tak salah jika banyak tanaman dari keluarga umbi-umbian bisa tumbuh. Salah satunya yaitu talas Bogor yang dikenal sebagai salah satu camilan tradisional andalan dan memiliki tiga jenis (Ramadi F, 2017). Talas memiliki nama ilmiah *Colocasia esculenta*. Tanaman ini tak mengenal musim, ia tumbuh sepanjang tahun, sehingga selalu tersedia dan memiliki beberapa jenis yaitu talas mentega, talas ketan dan talas pandan wangi. Selain enak untuk dimakan ternyata talas juga memiliki banyak manfaat untuk tubuh (Adhiwidharta T, 2021). Kandungan zat gizi umbi talas Bogor per 100g antara lain: Air 72,4 g, Besi (Fe) 0,7 mg, Energi (kkal) 108 kalori, Fosfor (P) 67 mg, Kalium (K) 448 mg, Kalsium (Ca) 47 mg, Karbohidrat 25 g, Lemak (Fat) 0,4 g, Natrium (Na) 10 mg, Protein 1,4 g, Vitamin B2 0,07 mg, Seng (Zn) 0,7 mg, Serat 0,9 g, Vitamin B10,06 mg, Vitamin C 4 mg (Data kemenkes RI, TKPI 2019).

Kapang memerlukan nutrisi dengan komposisi tertentu untuk tumbuh dan

membelah diri. Salah satu jenis kapang yang populer dan banyak digunakan secara komersial dalam suatu produksi yaitu *Aspergillus niger* (Sulistiyarsi dan Ardhi, 2016). Selain itu, *Aspergillus niger* juga dapat menghasilkan alergen yang menyebabkan reaksi alergi pada manusia. Ketika terhirup, *Aspergillus niger* dapat menyebabkan reaksi *hipersensitivitas* seperti asma dan *alveolitis* (Rohmi dkk, 2019).

Aspergillus niger merupakan salah satu spesies kapang potensial yang memiliki kemampuan selulolitik. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, diantaranya digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat, pembuatan enzim amylase, pektinase, amiloglukosidase, dan selulase. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan suhu 35°C - 37°C (optimum), 6°C - 8°C (minimum), 45°C - 48°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (Cahyani, 2014).

Pembuatan media pertumbuhan jamur memiliki syarat-syarat yang harus dipenuhi, seperti media harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba, memiliki tekanan osmosis, pH yang sesuai, tegangan permukaan yang sesuai, tidak mengandung zat penghambat (inhibitor) dan steril (Cahyani, 2014). Salah satu nutrisi yang dibutuhkan adalah karbohidrat yang merupakan substrat utama untuk metabolisme karbon pada jamur (Fikri Z, 2019).

Dalam penelitian ini digunakan jamur *Aspergillus niger* dengan pertimbangan jamur *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada suhu 35°C-37°C (optimum), 6°C-8°C (minimum), 45°C-47°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (aerobik) (Yunasfi dkk, 2020).

Aspergillus niger juga sangat tahan panas sehingga mereka dapat tumbuh subur di suhu ekstrem termasuk kondisi sangat rendah dan sangat tinggi. Ditambah dengan bentuk reproduksi aseksualnya yang membuatnya tumbuh di lingkungan apa pun ketika kondisinya menguntungkan, dan karena itu *Aspergillus niger* bersifat oportunistik (Iman M, 2021).

Berdasarkan dari uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai umbi talas Bogor (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) sebagai media alternatif pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. Umbi talas Bogor yang

digunakan dalam penelitian ini adalah jenis talas mentega, talas ketan, dan talas pandan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh jamur *Aspergillus niger* pada media alternatif pertumbuhan jamur yang berasal dari umbi talas bogor.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Umbi talas Bogor jenis talas mentega, talas ketan, dan talas pandan, agar, media PDA (Merck), kultur *Aspergillus niger*, LPCB (*Lactophenol cotton blue*), alkohol 70%, aquades, aluminium foil, antibiotik Chlorampenicol, kapas.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi talas Bogor jenis; talas mentega, talas pandan, dan talas ketan, serta kultur jamur *Aspergillus niger* dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Indonesia sebagai jamur uji yang digunakan untuk media alternatif dan media kontrol (PDA Merck) dengan jumlah masing-masing sampel dengan konsentrasi 3,9% dan konsentrasi 7,8% sebanyak 4 cawan serta dilakukan pengulangan dua kali.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental di Laboratorium Bakteriologi Prodi Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Kesehatan Universitas Mohammad Husni Thamrin Jakarta. Penelitian ini bersifat *quasi experimental design* (penelitian semu) yaitu membandingkan pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media PDA dan media alternatif dari umbi talas Bogor yang merupakan variabel bebas. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* sebagai variabel terikat. Pengolahan dan analisa data pengukuran diameter koloni dan pengamatan sporulasinya disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Data dianalisa dengan uji statistik beda rata-rata (Mean) untuk mengetahui perbandingan antara media talas Bogor (talas mentega, talas ketan dan talas pandan) terhadap media kontrol PDA.

HASIL

Pada penelitian ini dilakukan uji pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus niger* pada media umbi talas mentega, talas ketan dan talas pandan dengan 2

konsentrasi yaitu 3,9 % dan 7,8 % (media uji) media PDA sebagai media kontrol. Terhadap media uji dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali dan dianalisa hasil pertumbuhan jamur, selanjutnya dibandingkan dengan pertumbuhan jamur pada media kontrol. Hasil pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media kontrol (PDA) secara makroskopis dan mikroskopis ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media kontrol (PDA)
Secara Makroskopis dan Mikroskopis

No.	Media Kontrol	Hasil Pengamatan Makroskopis (Koloni)	Hasil Pengamatan Mikroskopis (Sporulasi)	Keterangan
1	Media PDA 3,9 %	Koloni <i>Powdery</i> , Warna hitam pada seluruh koloni	<i>Aspergillus</i> bulat berwarna hitam, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)
2	Media PDA 7,8 %	Koloni <i>Powdery</i> , warna hitam pada seluruh koloni	<i>Aspergillus</i> bulat berwarna hitam, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)

Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media kontrol PDA 3,9% dan 7,8% seperti pada Tabel 1, memiliki persamaan dengan didapatkan hasil makroskopis koloni *powdery* berwarna hitam dan hasil mikroskopis sporulasi terdapat *Aspergillus* bulat berwarna hitam, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis. Adapun hasil pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega secara makroskopis dan mikroskopis ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media Talas Mentega
Secara Makroskopis dan Mikroskopis

No	Media Uji	Hasil Pengamatan Makroskopis (Koloni)	Hasil Pengamatan Mikroskopis (Sporulasi)	Keterangan
1	Media Talas Mentega 3,9 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)
2	Media Talas Mentega 7,8 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)

Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega 3,9% dan 7,8% seperti pada Tabel 2, memiliki persamaan dengan didapatkan hasil makroskopis koloni powdery berwarna coklat tua bagian tepi warna hitam dan hasil mikroskopis sporulasi terdapat *Aspergillus* bulat berwarna coklat tua, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis. Selanjutnya hasil pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas ketan secara makroskopis dan mikroskopis ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media Talas Ketan Secara Makroskopis dan Mikroskopis

No	Media Uji	Hasil Pengamatan Makroskopis (Koloni)	Hasil Pengamatan	
			Mikroskopis (Sporulasi)	Keterangan
1	Media Talas Mentega 3,9 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)
2	Media Talas Mentega 7,8 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)

Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas ketan 3,9% dan 7,8% seperti pada Tabel 3, memiliki persamaan dengan didapatkan hasil makroskopis koloni powdery berwarna coklat tua bagian tepi warna hitam dan hasil mikroskopis sporulasi terdapat *Aspergillus* bulat berwarna coklat tua, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis. Kemudian hasil pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas pandan secara makroskopis dan mikroskopis ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media Talas Pandan Secara Makroskopis dan Mikroskopis

No	Media Uji	Hasil Pengamatan Makroskopis (Koloni)	Hasil Pengamatan	
			Mikroskopis (Sporulasi)	Keterangan
1	Media Talas Mentega 3,9 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)
2	Media Talas Mentega 7,8 %	- Koloni <i>powdery</i> - Warna koloni coklat tua dan bagian tepi warnahitam.	- <i>Aspergillus</i> bulat berwarna coklat tua - konidiospora tebal - sterigma 2 lapis	<i>Aspergillus niger</i> (+)

Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media talas pandan 3,9% dan 7,8% seperti pada Tabel 6, memiliki persamaan dengan didapatkan hasil makroskopis koloni *powdery* berwarna coklat tua bagian tepi warna hitam dan hasil mikroskopis sporulasi terdapat *Aspergillus* bulat berwarna coklat tua, konidiospora tebal, sterigma 2 lapis.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan inokulasi dengan jamur *Aspergillus niger* terhadap media talas mentega, talas ketan, talas pandan dan media kontrol PDA, semuanya menunjukkan hasil positif tumbuh jamur *Aspergillus niger*. Pada media kontrol PDA tumbuh jamur *Aspergillus niger* dengan ciri-ciri membentuk koloni *powdery* dengan warna hitam, sedangkan pada media talas mentega, talas ketan, dan talas pandan memiliki persamaan hasil *Aspergillus niger* dengan ciri-ciri warna koloni coklat tua dan bagian tepi warna hitam (Tabel 2, 3, dan 4).

Pengamatan mikroskopis bertujuan untuk mengamati sporulasi jamur *Aspergillus niger* baik pada media PDA maupun media talas Bogor dan hasil pengamatan pada media talas mentega, media talas ketan dan media talas pandan tampak bahwa jamur *Aspergillus niger* memiliki morfologi yang berbeda. Pada media uji (media talas) yaitu kepala *Aspergillus* bentuk bulat, berukuran besar berwarna coklat tua terdiri atas vesikel bulat dan di atasnya terdapat sterigma 2 lapis serta konidia bulat dan tebal, sedangkan pada (media PDA) yaitu kepala *Aspergillus* bentuk bulat, berukuran besar berwarna kehitaman terdiri atas vesikel bulat dan di atasnya terdapat sterigma 2 lapis serta konidia bulat dan tebal. Adapun pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega, talas ketan, talas pandan, dan media kontrol PDA konsentrasi 3,9% setelah inkubasi 3 x 24 jam berdasarkan ukuran diameter koloni ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega, talas ketan, talas pandan dan media kontrol PDA konsentrasi 3,9% setelah inkubasi 3 x 24 jam Berdasarkan ukuran diameter koloni

Pengulangan	Diameter Koloni <i>Aspergillus niger</i> (mm)			
	Talas Mentega 3,9 %	Talas Ketan 3,9 %	Talas Pandan 3,9 %	PDA 3,9 %
1	15	12	12	20
2	13	11	14	19
Total	28	23	26	39
Rata-rata (mm)	14	11,5	13	19,5

Pertumbuhan diameter koloni jamur *Aspergillus niger* dengan konsentrasi 3,9% seperti pada Tabel 5, didapatkan hasil talas mentega dengan rerata 14 mm, talas ketan dengan rerata 11,5 mm, talas pandan dengan rerata 13 mm sedangkan pada media kontrol dengan rerata 19,5 mm. Kemudian pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega, talas ketan, talas pandan, dan media kontrol PDA konsentrasi 7,8% setelah inkubasi 3 x 24 jam berdasarkan ukuran diameter koloni ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus niger* pada media talas mentega, talas ketan, talas pandan dan media kontrol PDA konsentrasi 7,8% setelah inkubasi 3 x 24 jam Berdasarkan ukuran diameter koloni

Pengulangan	Diameter Koloni <i>Aspergillus niger</i> (mm)			
	Talas Mentega 7,8 %	Talas Ketan 7,8 %	Talas Pandan 7,8 %	PDA 7,8 %
1	20	18	18	23
2	17	16	15	22
Total	37	34	33	45
Rata-rata (mm)	18,5	17	16,5	22,5

Pertumbuhan diameter koloni jamur *Aspergillus niger* dengan konsentrasi 7,8% seperti pada Tabel 6, didapatkan hasil talas mentega dengan rerata 18,5 mm, talas ketan dengan rerata 18 mm, talas pandan dengan rerata 16,5 mm sedangkan pada media kontrol dengan rerata 22,5 mm. Selanjutnya perbandingan pengukuran diameter media talas dan media kontrol (PDA) konsentrasi 3,9% ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Perbandingan pengukuran diameter media talas dan media kontrol (PDA) pada konsentrasi 3,9%.

Media	Diameter Rata-rata	Nilai statistik (T)
Mentega	14	χ^2
PDA	19,5	$T > 0,005$
Ketan	11,5	χ^2
PDA	19,5	$T > 0,005$
Pandan	13	χ^2
PDA	19,5	$T > 0,005$

Pada Perbandingan pengukuran diameter media talas dan media PDA (kontrol) pada konsentrasi 3,9% dengan menggunakan Uji Statistik Beda Rata-rata (*Mean*) seperti pada Tabel 7, menunjukkan hasil yang sama yaitu nilai $T > 0,005$ yang disimpulkan bahwa Media PDA konsentrasi 3,9% lebih baik dari media talas mentega, talas ketan dan talas pandan konsentrasi 3,9%. Kemudian perbandingan pengukuran diameter media talas dan media kontrol (PDA) konsentrasi 7,8% ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Perbandingan pengukuran diameter media talas dan media kontrol (PDA) pada konsentrasi 7,8%.

Media	Diameter Rata-rata (mm)	Nilai statistik (P)
Mentega	18,5	χ^2
PDA	22,5	$T < 0,005$
Ketan	17	χ^2
PDA	22,5	$T > 0,005$
Pandan	16,5	χ^2
PDA	22,5	$T < 0,005$

Pada Perbandingan pengukuran diameter media talas dan media PDA (kontrol) pada konsentrasi 7,8% dengan menggunakan Uji Statistik Beda Rata-rata (*Mean*) seperti pada Tabel 8, menunjukkan hasil nilai $T < 0,005$ pada talas mentega dan talas pandan, yang menunjukkan bahwa Media PDA konsentrasi 7,8% lebih baik dari media talas talas ketan 7,8%, sedangkan talas mentega dan talas pandan konsentrasi 7,8% sama baiknya dengan media PDA konsentrasi 7,8%. Adapun perbandingan pengukuran diameter media talas konsentrasi 7,8% dengan media kontrol (PDA) 3,9% ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Perbandingan pengukuran diameter media talas konsentrasi 7,8% dengan media kontrol (PDA) 3,9%

Media	Diameter Rata-rata (mm)	Nilai statistik (P)
Mentega	18,5	χ^2
PDA	19,5	T > 0,005
Ketan	17	χ^2
PDA	19,5	T > 0,005
Pandan	16,5	χ^2
PDA	19,5	T > 0,005

Pada Perbandingan pengukuran diameter media talas 7,8% dan media PDA (kontrol) pada konsentrasi 3,9% dengan menggunakan Uji Statistik Beda Rata-rata (*Mean*) seperti pada Tabel 9, menunjukkan hasil nilai yang sama yaitu T < 0,005 yang menunjukkan bahwa Media PDA konsentrasi 3,9% sama baiknya dengan media talas mentega, talas ketan dan talas pandan konsentrasi 7,8%.

DISKUSI

Penelitian yang dilakukan bersifat quasi experimental design (penelitian semu) yaitu peneliti menggunakan kelompok eksperimen dan kelompok kontrol, tetapi kelompok-kelompok ini dibentuk tanpa randomisasi acak. kelompok kontrol media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan kelompok uji yaitu media talas mentega, media talas ketan, dan media talas pandan. Hasil penelitian dengan pengamatan secara makroskopis menunjukkan perbedaan pada warna koloni media talas mentega, media talas ketan dan media talas pandan yaitu coklat tua dan bagian tepi warna hitam. Sedangkan pada media kontrol PDA berwarna hitam pada seluruh koloni.

Berdasarkan hasil warna koloni masing-masing media akan mempengaruhi juga warna dari sporulasinya jamur *A.niger*. Pada media uji (media talas) yaitu kepala *Aspergillus* bentuk bulat, berukuran besar berwarna coklat tua terdiri atas vesikel bulat dan di atasnya terdapat sterigma 2 lapis serta konidia bulat dan tebal, sedangkan pada (media PDA) yaitu kepala *Aspergillus* bentuk bulat, berukuran besar berwarna kehitaman terdiri atas vesikel bulat dan di atasnya terdapat sterigma 2 lapis serta konidia bulat dan tebal.

Aspergillus niger adalah salah satu spesies jamur dari genus *Aspergillus* yang

sering ditemukan dalam lingkungan, terutama di tempat-tempat yang lembab dan dekat sumber makanan. Warna koloni *Aspergillus niger* yang coklat tua hingga hitam dapat dijelaskan oleh produksi pigmen spesifik oleh jamur ini (Noura dan Wesam Eldin, 2022; Wen dkk., 2022).

Pigmen dalam jamur dapat mempengaruhi warna koloni yang dihasilkan saat tumbuh di media pertumbuhan. *Aspergillus niger* menghasilkan pigmen gelap yang disebut melanin. Melanin adalah pigmen yang sering dihasilkan oleh organisme hidup dan bisa hadir dalam berbagai nuansa coklat hingga hitam (Noura dan Wesam Eldin, 2022). Beberapa fungsi melanin pada jamur termasuk melindungi sel-sel dari kerusakan akibat radiasi ultraviolet (UV) matahari, suhu ekstrem, dan stres oksidatif. Selain itu, melanin juga membantu dalam proses pertahanan terhadap patogen atau kompetisi dengan organisme lain di lingkungan tempat jamur tersebut hidup.

Jadi, melanin yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* adalah alasan utama mengapa koloni jamur ini biasanya memiliki warna coklat tua hingga hitam. Namun, perlu diingat bahwa warna koloni juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis media pertumbuhan, suhu, kelembaban, dan kondisi pertumbuhan lainnya.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengukuran diameter koloni *A. niger* yang terbentuk untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan ukuran baik pada media uji maupun media kontrol. Hasil pengukuran pada media talas Bogor konsentrasi 3,9% menunjukkan rentang diameter koloni 11 mm-15 mm sedangkan pada media talas konsentrasi 7,8% memiliki rentang diameter koloni 15 mm - 20 mm. Bila dibandingkan dengan media kontrol pada konsentrasi 3,9% rentang diameter koloni 19 mm - 20 mm dan pada konsentersasi 7,8% rentang diameter 22mm - 23 mm.

Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan uji beda rata-rata (*Mean*) dengan rumus uji T pada konsentrasi 3,9% menunjukkan hasil yang sama yaitu nilai $T > 0,005$ yang disimpulkan bahwa Media PDA konsentrasi 3,9% lebih baik dari media talas mentega, talas ketan dan talas pandan konsentrasi 3,9%. Pada Perbandingan pengukuran diameter media talas dan media PDA (kontrol) pada

konsentrasi 7,8% menunjukkan hasil nilai $T < 0,005$ pada talas mentega dan talas pandan, yang menunjukkan bahwa Media PDA konsentrasi 7,8% lebih baik dari media talas ketan 7,8%, sedangkan talas mentega dan talas pandan konsentrasi 7,8% sama baiknya dengan media PDA konsentrasi 7,8%. Pada Perbandingan pengukuran diameter media talas 7,8% dan media PDA (kontrol) pada konsentrasi 3,9% menunjukkan hasil nilai yang sama yaitu $T < 0,005$ yang menunjukkan bahwa Media PDA konsentrasi 3,9% sama baiknya dengan media talas mentega, talas ketan dan talas pandan konsentrasi 7,8%.

Untuk kelangsungan hidup fungi *Aspergillus niger* memerlukan protein sebagai sumber nutrisi, karbohidrat sebagai sumber energi, serta mineral dan vitamin sebagai bahan untuk pertumbuhan. Selain itu fungi *A. niger* juga memerlukan kondisi habitat yang mempunyai kelembaban yang tinggi dan ketersediaan oksigen yang cukup (Roosheroe dkk., 2014 dalam Tuty Y dan Anita R, 2018). Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) adalah media pertumbuhan paling baik untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dari pada media alternatif karena PDA sumber karbohidrat utamanya adalah kentang, kentang dalam 100 gr memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 19,10gr (Direktorat Gizi, Depkes, 2009 dalam Zainal F, 2019).

Pada penelitian ini media talas Bogor memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 25 gr dan protein 1,4 gr (Data kemenkes RI, TKPI 2019). Berdasarkan analisa pertumbuhan diameter koloni jamur *A. niger*, maka media talas mentega lebih baik daripada talas ketan dan pandan, karena memiliki ukuran diameter koloni yang paling besar daripada umbi talas lainnya yaitu 15 mm pada konsentrasi 3,9% dan 20 mm pada konsentrasi 7,8%, sedangkan media kontrol memiliki ukuran diameter sebesar 20 mm pada konsentrasi 3,9% dan 23 mm pada konsentrasi 7,9%.

Salah satu faktor yang menyebabkan ukuran diameter lebih besar pada media umbi talas mentega adalah umbi talas yang digunakan lebih matang dalam usia masa panen dan ukuran umbi nya lebih besar daripada umbi lainnya, karena perbedaan kadar karbohidrat pada umbi sangat berhubungan dengan tingkat kematangan umbi sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Umbi yang sudah matang memiliki nutrisi yang lebih tinggi dari pada umbi yang masih

muda Selain itu umbi talas mentega memiliki serat tidak terlalu banyak sehingga karbohidrat yang terkandung mudah terlarut saat proses ekstraksi (Cahyani, 2014).

Pada media berbahan dasar umbi talas Bogor *A. niger* menggunakan waktu 12 - 24 jam sebagai fase adaptasi (fase lag). Dalam fase adaptasi ini, jamur dalam tahap penyesuaian terhadap lingkungan baru. Kondisi ini terjadi karena adanya perubahan media serta lingkungannya dari media umbi talas Bogor. Mikroorganisme yang dipindahkan ke dalam suatu medium mula-mula akan mengalami fase adaptasi, melakukan penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat ditandai dengan adanya perkembangan diameter, kesuburan spora, dan warna miselium nya. Setelah fase adaptasi pada hari ke-4, jamur mengalami fase akselerasi, fase lag menjadi fase aktif, jamur *Aspergillus niger* membelah dengan cepat dan akan mengalami pertumbuhan terus menerus ke fase eksponensial yang merupakan fase perbanyak jumlah sel. Aktivitas sel akan meningkat dan dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti kandungan nutrisi dan kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Tuty Y dan Anita R, 2018). Hal ini membuktikan bahwa syarat-syarat pertumbuhan mikroorganisme khususnya *A. niger* seperti konsentrasi substrat baik protein, karbohidrat, mineral dan vitamin pada modifikasi media umbi talas Bogor memenuhi untuk pertumbuhan *A. niger*.

KESIMPULAN

Jamur *Aspergillus niger* memiliki kemampuan untuk tumbuh dengan baik pada media alternatif umbi talas bogor pada konsentrasi 7,8%.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Aini, N. (2015). Naskah Publikasi. *Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda*, 1-13. Surakarta.
- Ani Sulistyarsi, P. M. (2016). Proceeding Biology Education Conference. *Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein*, 13 (1), 781-786. Madiun.
- Adhiwidharta, T. (2021). *Mengenal 3 Jenis Talas Bogor yang Menjadi Camilan Tradisional Andalan*.
<https://hortikultura.sariagri.id/81209/mengenal-3-jenis-talas-Bogor-yang-menjadi-camilan-tradisional-andalan>. Bogor.
- Azzahra, d. (2020). Jurnal Mikologi Indonesia. *Perbandingan Pertumbuhan Aspergillus fumigatus pada Media Instan Modifikasi Carrot Sucrose Agar dan Potato Dextrose Agar*, 168-174. Tangerang.
- Basil A, et al. (2021) Poultry Feed Fungi a Practical Guide University of Basrah, Iraq. <https://www.researchgate.net/publication/352889250>
- Elfianis, R. (2022). *Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Talas*. Retrieved Mei 08, 2023, from agrotek.id: <https://agrotek.id/klasifikasi-dan-morfologi-tanaman-talas/>.
- El Noura and Wesam Eldin. (2022) ejournal. Natural Melanin: Current Trends, and Future Approaches, with Especial Reference to Microbial Source. Switzerland.
- Handarini, d. (2018). ejournal. *Potensi Medium Air Cucian Beras Agar Sebagai Medium Pertumbuhan Aspergillus niger* , 17-26. Stikes Rajawali Bandung.
- Irma. (2015). Skripsi. *Optimasi Pertumbuhan Aspergillus niger dengan menggunakan Tepung Singkong*, 1-51. UIN Alauddin Makassar.
- Lenggo Geni. (2020). Laporan Hasil Penelitian Dosen Mandiri. *Penggunaan Media Alternatif Ubi jalar Putih dan Orange Terhadap Petumbuhan Jamur Rhizopus oligosporus* ,1-57.
- Marchantia Sarah Nur Awalia Fajari, M. T. (2021). Efektivitas Variasi Konsentrasi Tepung Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Journal of Indoensian Medical Laboratory and Science* , 185-197. Sukoharjo, Jawa Tengah.
- Mokobi, F. (2021). *Aspergillus niger - An Overvie.*, from Microbe Notes:

<https://microbenotes.com/aspergillus-niger/> North Carolina, USA.

Nur, M. (2021). *Laporan Resmi Praktikum Mikrobiologi Lingkungan Teknik Inokulasi Mikroorganisme*. Surabaya: Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil, Perencanaan dan Kebumihan.

Rifai, A. (2020, Agustus 4). Karya Tulis Ilmiah. *Prospektif Ubi atau Umbi-Umbian sebagai Media Pertumbuhan Jamur*, 1-70, Jombang.

Rohmi, d. (2019). Jurnal Kesehatan Prima. *Ubi Jalar Putih (Ipomoea Batatas L.) Media Alternatif Pertumbuhan Aspergillus Niger* , 1-8. Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia.

Wen, J., Samuel, K.O., Shu, W. (2022). Endophytic Fungi: An Effective Alternative Source of Plant-Derived Bioactive Compounds for Pharmacological Studies. *Fungi*, 8(205):1-45.

HUBUNGAN GEN RESEPTOR ANGIOTENSIN II TIPE 1 DENGAN KADAR PROTEIN DALAM URIN IBU HAMIL DI PUSKESMAS DALU X B KABUPATEN DELI SERDANG

Suparni¹ · Liza Mutia² · Nita Andriani Lubis^{3*}

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Medan
e-Mail jurusantlm23@gail.com
No Tlp WA : 081376677665

Abstract

The angiotensin II type 1 receptor gene (AT 1R) may play a role in reperfusion of arrhythmias following restoration of blood flow to myocardial ischemia or infarction. Activation of the AT1 receptor causes vasoconstriction, water and salt retention, neurohumoral activation and increased production of ROS. (AT1R) gene polymorphism will increase angiotensin II activity so that it is susceptible to essential hypertension. This hypertension incident causes protein levels in the urine to increase. The purpose of this study was to determine the relationship between (AT 1R) gene and protein in the urine of pregnant women in Dalu X B village, Deli Serdang district. The Examination of urine protein using a stick and examination of (AT 1R) gene was analysed using RFLP PCR method. The results show that the genotype distribution of the (AT 1R) gene in the control group as many as 36 people (100%) had a genetic variant of AA. In the pre-eclampsia group 31 people (86.1%) had genetic variation of AA and 5 people (13.9%) had genetic variation of AC. There is a relationship between (AT 1R) polymorphisms with protein levels in the urine in hypertensive pregnant women and non hypertensive pregnantwomen in this study (p= 0.049).

Keywords : (Pregnancy, Urine protein, Angiotensin II type 1)

Abstrak

Gen reseptor angiotensin II tipe 1 (AT 1) memainkan peran dalam aritmia reperfusi menyusul pemulihan aliran darah menjadi iskemik miokardium atau infark. Aktivasi reseptor AT1 menyebabkan vasokonstriksi, retensi air dan garam, aktivasi neurohumoral dan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Polimorfisme gen Reseptor AT 1 akan meningkatkan aktivitas angiotensin II sehingga terjadi kerentanan terhadap kejadian hipertensi esensial. Kejadian hipertensi ini menyebabkan kadar protein dalam urine meningkat. Penelitian ini bertujuan melihat hubungan gen reseptor Angiotensin II tipe 1 dengan protein pada urin ibu hamil di Desa Dalu X B Kabupaten Deli Serdang. Penelitian observasi analitik dengan *desain case control*, pemeriksaan protein urin dengan menggunakan stik dan pemeriksaan gen reseptor angiotensin II tipe 1 menggunakan metode RFLP PCR. Analisa data menggunakan uji *Chi-square* (χ^2). *Odds Ratio*) dengan batas kepercayaan 95% dan $\alpha=0,05$. Hasil: Distribusi genotipe gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 pada kelompok kontrol sebanyak 36 orang (100%) memiliki variasi genetik AA. Pada kelompok Preeklampsia 31 orang (86,1%) memiliki variasi genetik AA dan 5 orang (13,9%) dengan variasi genetik AC. Terdapat hubungan antara polimorfisme reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil hipertensi dan ibu hamil tidak hipertensi di Desa Dalu X B Kab. Deli Serdang (p=0,049).

Kata Kunci : Kehamilan, Protein urin, Angiotensin II tipe

PENDAHULUAN

Kemampuan pelayanan kesehatan suatu negara ditentukan dengan perbandingan tinggi rendahnya kematian ibu dan angka kematian perinatal. Dikemukakan bahwa angka kematian ibu dan perinatal lebih mencerminkan kegagalan suatu negara untuk memberikan pelayanan kesehatan khususnya kesehatan ibu dan anak. WHO memperkirakan di seluruh dunia setiap tahun lebih dari 500.000 ibu yang meninggal pada saat hamil/bersalin. Pada tahun 2015, angka kematian ibu di Indonesia mencapai 305 per 100.000 kelahiran hidup sedangkan angka kematian neonatal pada 2017 mencapai 15 per 1.000 kelahiran hidup (Riskesmas, 2018).

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) Nomor 39 Tahun 2016 tentang Pedoman Penyelenggaraan Program Indonesia Sehat, bahwa angka kematian ibu sudah mengalami penurunan, namun masih jauh dari target *Millenium Development Goals* (MDGs) tahun 2015. Sementara itu, menurut Menteri kesehatan sebagaimana dipublikasikan depkes.go.id, bulan Agustus 2017, bahwa "angka kematian ibu (AKI) turun dari 4.999 tahun 2015, menjadi 4.912 di tahun 2016, dan di tahun 2017 (semester I) sebanyak 1.712." Meskipun jumlah AKI terlihat sudah menurun dari tahun ke tahun, namun angkanya belum bisa ditekan secara drastis, oleh karena itu Kementerian Kesehatan melakukan berbagai upaya strategis untuk mewujudkannya. Penyebab utama kematian ibu adalah hipertensi dalam kehamilan dan perdarahan post partum. Penyebab ini dapat diminimalkan apabila kualitas *Antenatal Care* (ANC) dilaksanakan dengan baik (RI Kemenkes, 2020).

Hipertensi merupakan salah satu masalah kesehatan yang sering muncul selama kehamilan dan dapat menimbulkan komplikasi pada 2-3% kehamilan. Kejadian hipertensi pada kehamilan sekitar 5-15%, dan merupakan satu di antara 3 penyebab mortalitas dan morbiditas ibu bersalin di samping infeksi dan perdarahan. Hipertensi pada kehamilan juga dapat berlanjut menjadi preeklamsia dan eklamsia yang dapat menyebabkan kematian pada ibu maupun janin. Indikasi terjadinya preeklampsia dapat dilihat dari tingginya kadar protein dalam urine ibu hamil (Irmitasari et al., 2018).

Penetapan kadar protein dalam urine biasanya dinyatakan berdasarkan timbulnya kekeruhan pada urine. Karena padat atau kasarnya kekeruhan itu menjadi satu ukuran untuk jumlah protein yang ada, maka menggunakan urine yang jernih menjadi syarat yang penting. Kandungan urine bergantung keadaan kesehatan dan makanan sehari-hari yang dikonsumsi oleh masing-masing individu. Individu normal mempunyai pH antara 5-7. Banyak faktor yang mempengaruhi pH urine seseorang adalah makanan sehari-hari dan ketidak seimbangan hormonal. Warna urine adalah kuning keemasan. Selama kehamilan normal terdapat kenaikan hemodinamika ginjal dan diikuti dengan tekanan venarenalis. Pembentukan urine dimulai dalam glomerulus, apabila filtrasi glomerulus mengalami kebocoran hebat, molekul protein besar akan terbuang dalam urine sehingga menyebabkan proteinuria (Setyawan et al., 2019).

Preeklampsia adalah sindrom yang ditandai dengan tekanan darah tinggi, peningkatan kadar protein urine (Proteinuria), komplikasi dan kerusakan sel darah merah, gangguan fungsi hati dan ginjal serta beberapa pembengkakan pada tungkai (edema) pada ibu hamil. Patofisiologi yang mendukung terjadinya preeklampsia adalah disfungsi endothelial, jalur inflamasi, stress oksidatif, aktivasi trombosit dan *Renin Angiotensin Aldosterone System* (RAAS) Dalam *Renin Angiotensin Aldosterone System* (RAAS), renin yang dihasilkan oleh *Fuxtoglomerular apparatus* memacu produksi angiotensin I dari substrat yang disintesa oleh hepar. Prekursor angiotensin adalah angiotensinogen yang disekresi oleh hati, yang akan berubah menjadi angiotensin I dan oleh enzim "Angiotensin Convertizing Enzim" akan diubah menjadi Angiotensin II (Fajar et al., 2019). Angiotensin II diatur oleh dua reseptor yaitu reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1) dan reseptor angiotensin II tipe 2 (AT2). Aktivasi reseptor AT1 menyebabkan vasokonstriksi, retensi air dan garam, aktivasi neurohumoral dan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Yang akan mengakibatkan peningkatan tekanan darah. Gen reseptor angiotensin II tipe 1 ini berperan dalam aritmia reperfusi menyusul pemulihan aliran darah menjadi iskemik miokardium atau infark. Polimorfisme gen Reseptor Angiotensin II Tipe 1 (AT1R) akan meningkatkan aktivitas angiotensin II sehingga terjadi

kerentanan terhadap kejadian hipertensi esensial (Fajar et al., 2019; Li, Yingxue; Zhu, Ming; Hu, Rong; Yan, 2015).

Banyak Penelitian tentang polimorfisme gen AT2R 1166 A/C telah dilakukan diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh (Fajar et al., 2019) pada tiga populasi yang berbeda (Afrika, Asia dan Eropa). Dengan jumlah sampel 236 ibu hamil yang preeklamsia dan 426 ibu hamil sehat dimana jenis penelitiannya adalah penelitian retrospektif dengan desain *case control*. Dari penelitian tersebut ditemukan bahwa ada hubungan preeklamsia dengan genotipe GG pada AT2R pada wanita afrika. Penelitian yang dilakukan oleh Salimi *et al.* mulai Januari 2008 sampai Februari 2010 dengan 125 kasus ibu hamil preeklamsia dan 132 ibu hamil sehat di Iran mendapatkan hasil bahwa polimorfisme gen ACE I/D memberikan peranan penting dalam meningkatkan resiko terjadinya preeklamsia namun tidak ditemukan hubungan yang berarti antara polimorfisme gen AT1R 1166 A/C dengan kejadian preeklamsia. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmadyanti E dkk (2014) di Palembang dengan 35 kasus ibu hamil dengan preeklamsia dan 35 sampel sebagai kontrol ibu hamil sehat menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara polimorfisme genotip dan alotipe reseptor angiotensin II tipe 1 1166 A/C dengan kejadian preeklamsia pada ibu hamil (Li, Yingxue; Zhu, Ming; Hu, Rong; Yan, 2015; Rahmadhayanti et al., 2014).

Berdasarkan penjelasan yang telah diuraikan di atas serta belum dijumpai penelitian tentang gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berhubungan dengan gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil di Desa Dalu X B Kabupaten Deli Serdang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain penelitian *case control*. Subyek penelitian adalah ibu hamil tanpa hipertensi (kelompok kontrol) dan ibu hamil dengan hipertensi (kelompok kasus) dengan Teknik pengambilan sampel *consecutive sampling*. Jumlah subjek penelitian kelompok kontrol dan kasus masing-masingnya 36 orang diminta kesediaanya

dengan mengisi *informed consent* setelah penjelasan penelitian dilakukan di Puskesmas Dalu X B Deli Serdang. Pemeriksaan kadar protein urine dilakukan di puskesmas Dalu X B sedangkan pemeriksaan polimorfisme reseptor Angiotensin II tipe 1 dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan September 2020. Penelitian telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Medan.

Tahap penelitian dilakukan dengan menentukan subyek penelitian sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi berdasarkan data pasien dari puskesmas Dalu X B, Subjek yang terpilih diberikan penjelasan penelitian dan wawancara. Peneliti kemudian melakukan pengambilan sampel urin dan sampel darah. Pemeriksaan protein urin menggunakan metode deep stick, Stick dicelupkan dalam urine, kadar protein diukur berdasarkan perubahan warna yang terbentuk. Derajat perubahan warna ditentukan oleh kadar protein dalam urine, sehingga perubahan warna itu menjadi ukuran semikuantitatif pada proteinuria. Indikator yang terdapat dalam carik celup ialah tetrabromphenolblue yang berwarna kuning pada pH 3 dan berubah warna menjadi hijau sampai hijau-biru sesuai dengan banyaknya protein dalam urine (Gandasoebrata, 2013).

Pemeriksaan polimorfisme terdiri dari beberapa tahapan, isolasi DNA, *polymerase chain reaction* (PCR), dan RFLP (*Restriction Fragment Length Polimorphism*). Untuk isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit Promega DNA Ekstraktion, dengan menggunakan darah lengkap 200µl dengan EDTA. Isolasi fragment gen reseptor angiotensin II tipe 1 1166 A/C menggunakan nukleotida primer *forward* 5'-AATGCTTG TAGCCAAAGTACCT-3' dan *reverse*: 5'-GGCTTTGCTTTGTCTTGTTG-3'. Kit PCR yang digunakan adalah *Go Taq Green Master Mix Promega* (Rahmadhayanti et al., 2014).

Parameter yang diteliti adalah adanya genotipe dan distribusi alel polimorfisme gen reseptor angiotensin II tipe 1 1166 A/C pada kelompok preeklampsia. Seluruh data yang diperoleh dicatat dan ditabulasi, data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS.16.00, Distribusi polimorfisme gen angiotensin II tipe 1 dan kadar protein dalam urine pada ibu hamil akan disajikan dalam bentuk table frekuensi dan persentase

sedangkan untuk menilai hubungan polimorfisme gen reseptor angiotensin II tipe 1 dengan kadar protein dalam urine menggunakan uji *Chi-square* (χ^2). *Odds Ratio* dengan batas kepercayaan 95% dan $\alpha=0,05$.

HASIL

Sebanyak 36 pasien wanita hamil dengan Riwayat hipertensi terlibat di dalam penelitian ini. Pasien yang terlibat adalah wanita hamil yang berobat di Puskesmas Dalu X B Tanjung Morawa. Karakteristik subjek penelitian pada kelompok kontrol dan preeklampsia tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian pada kelompok Kontrol dan Preeklampsia (n=36)

Karakteristik Subjek Penelitian		(n)	Mean	\pm SD
Umur	Kontrol	36	30.5556	5.63887
	Preeklampsia	36	32.4722	5.92084
Berat Badan	Kontrol	36	63.1667	6.81385
	Preeklampsia	36	68.4167	11.44521
Tinggi Badan	Kontrol	36	155.7500	5.17894
	Preeklampsia	36	154.6389	6.26625

Berdasarkan data pada Tabel 1. diketahui bahwa rata-rata usia pada kelompok kontrol adalah $30,6 \pm (5,6)$ tahun, sementara rata-rata usia pada kelompok Preeklampsia adalah $32,5 \pm (5,9)$ tahun. Rata-rata berat badan pada kelompok kontrol adalah $63,2 \pm (6,8)$ Kg, sementara rata-rata berat badan pada kelompok Preeklampsia adalah $68,4 \pm (11,4)$ Kg. Rata-rata tinggi badan pada kelompok kontrol adalah $155,7 \pm (5,1)$ cm, Sementara rata-rata tinggi badan pada kelompok Preeklampsia adalah $154,6 \pm (6,2)$ cm.

Kadar Protein dalam urin dinyatakan dalam bentuk 0 (negatif); +1; dan +2; +3. Rerata Kadar Protein dalam urine pada subjek penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Kadar Protein dalam urine Pada Kelompok Kontrol dan Preeklampsia

	Kelompok	(n)	Mean	\pm SD	p
Kadar Protein	Kontrol	36	0,0000	0,00000	0,000
	Preeklampsia	36	1,5833	0,60356	

Berdasarkan data pada Tabel 2. diketahui rata-rata kadar protein pada kelompok kontrol adalah 0 (negatif) $\pm (0.0)$, sementara rata-rata kadar protein pada kelompok Preeklampsia adalah $1,58 \pm (0.6)$. Berdasarkan data

yang ada diketahui hasil uji t-independen, diperoleh nilai $p = 0,000 (< 0,05)$, maka terdapat perbedaan kadar protein yang signifikan antara kelompok kontrol dan preeklampsia.

Selain itu pada penelitian ini dilakukan analisis korelasi antara Kadar protein dalam urin dengan karakteristik subjek penelitian (umur, berat badan dan tinggi badan. Analisis korelasi tersebut disajikan pada Tabel 3.

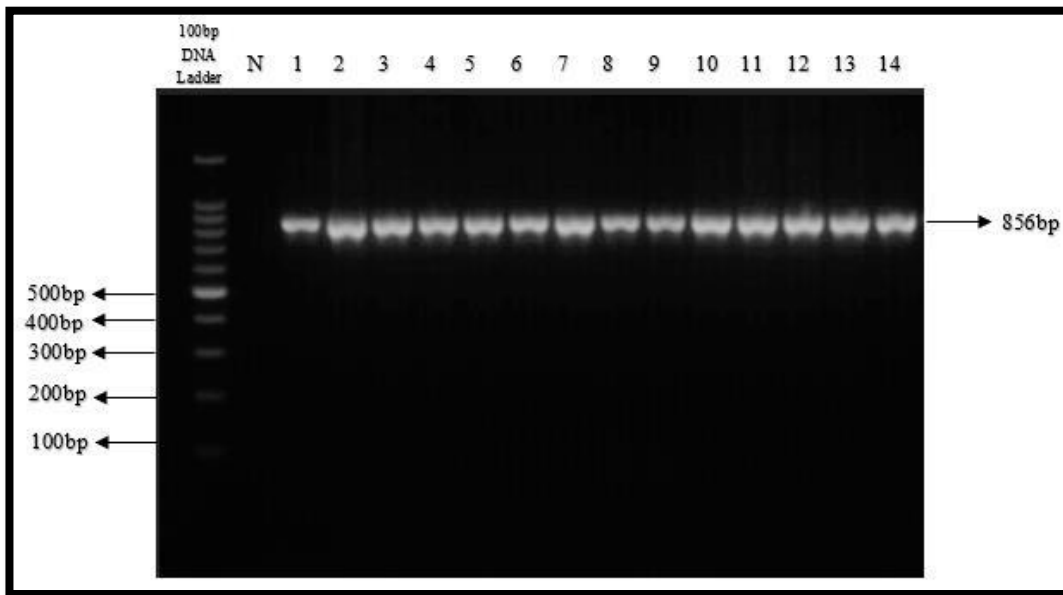
Tabel 3. Analisis Korelasi Kadar Protein terhadap Umur, Berat Badan dan Tinggi Badan Subjek Penelitian

		Umur	Berat Badan	Tinggi Badan
Kadar Protein	Pearson Correlation	0.278	0.351	-0.003
	p	0.018	0.002	0.980
	N	72	72	72

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa berkorelasi signifikan. Selain itu nilai korelasi antara berat badan dan kadar protein adalah 0,351, dengan nilai $p = 0,002$, maka berat badan dan kadar protein nilai korelasi antara umur dan kadar protein adalah 0,278, dengan nilai $p = 0,018$ maka umur dan kadar protein juga berkorelasi signifikan. Namun nilai korelasi antara tinggi badan dan protein adalah -0,003, dengan nilai $p = 0,980$, maka tinggi badan dan kadar protein tidak berkorelasi signifikan.

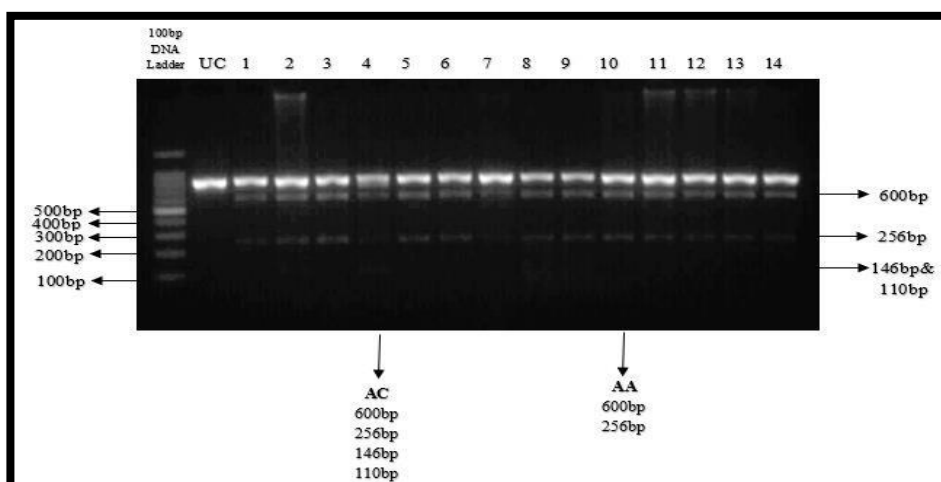
Pemeriksaan genoTipe polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 pada subjek penelitian dilakukan dengan Teknik PCR-RFLP pada DNA yang sudah diisolasi.

Tahapannya diawali dengan isolasi DNA kemudian dilanjutkan dengan PCR dan divisualisasikan dengan metode elektroforesis. Gambaran elektroforesis produk PCR akan terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Elektroforesis Produk PCR Gen Reseptor Angiotensin II Tipe 1

Gambar 1. Menyajikan visualisasi hasil elektroforesis dari gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan pita DNA pada posisi 856bp. Dalam proses ini digunakan 100bp DNA Step Ladder yang diletakkan pada posisi sumur agarose pertama, control negative pada sumur nomor dua, dan dilanjutkan mengisi produk PCR dari sampel penelitian pada sumur selanjutnya. Dari hasil penelitian terbentuk pita DNA pada posisi 856bp yang berada di antara 800- 900bp, sehingga dapat diketahui bahwa semua sampel DNA teramplifikasi dengan baik. Tahapan selanjutnya yaitu proses RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Selanjutnya gambaran elektroforesis hasil RFLP tampak pada gambar 2.



Gambar 2. Elektroforesis produk RFLP gen Reseptor Angiotensin II Tipe 1

Gambar 2. menjelaskan bahwa pada sampel no 4 merupakan individu mutan heterozigot (AC) dimana terpotong menjadi 4 pita yaitu 600bp, 256bp, 146bp dan 110bp. Pada sampel no 10 merupakan individu wild Tipe (AA) dimana amplicon terpotong pada 600bp dan 256bp. Pada elektroforesis produk RFLP ini tetap menggunakan DNA Step Ladder 100bp sehingga pada sampel dengan mutan heterozigot untuk 146bp dan 100bp terlihat seperti terletak pada satu band yang sama.

Pada penelitian ini distribusi genotipe gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 untuk kelompok kontrol memiliki variasi genetik AA, yakni sebanyak 36 orang (100%). Sementara, pada kelompok Preeklampsia, terdapat 31 orang (86,1%) dengan variasi genetik AA dan terdapat 5 orang (13,9%) dengan variasi genetik AC. Kmskm (AA) merupakan gen individu wild type dimana amplicon terpotong pada 600 bp dan 256 bp, dan (AC) merupakan gen individu mutan heterozigot dimana terpotong menjadi 4 pita yaitu 600 bp, 256 bp, 146 bp dan 110 bp. Perbandingan frekuensi genotipe pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Genotipe gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 pada Subjek Penelitian

Genotipe	Kelompok			
	Preeklampsia		Kontrol	
	n	%	n	%
AA	31	86,1	36	100
AC	5	13,9	0	0
Jumlah	36	100	36	100

Hubungan Polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan Kadar Protein dalam urin pada Subjek Penelitian

Pada kelompok kontrol, diketahui sebanyak 36 orang (100%) atau seluruh subjek penelitian memiliki kadar protein 0 (negatif) dan memiliki variasi genetik AA (wild type). Pada kelompok Preeklampsia, terdapat 17 subjek penelitian dengan kadar protein +1 dan memiliki variasi genetik AA. Selain itu terdapat 12 subjek penelitian pada kelompok preeklampsia dengan kadar protein +2, dengan variasi genetik AA dan 5 orang dengan variasi genetik AC (mutan heterozigot). Selain itu terdapat 2 subjek penelitian dengan kadar protein +3 juga memiliki variasi genetik AA. Dari data yang telah diperoleh pada kelompok Preeklampsia ada hubungan signifikan ($p= 0,049$) antara

polimorfisme reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil hipertensi dan ibu hamil tidak hipertensi di Desa Dalu X B Kec. Tanjung Morawa. Hubungan Antara Polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan Kadar Protein dalam urin tersaji pada Table 5.

Tabel 5. Hubungan Antara Polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan Kadar Protein dalam urin

Kelompok	Kadar Protein		n	Variasi Genetik		Total	p
				AA	AC		
Kontrol	0 (Negatif)	n	36	0	36	100.0	
		%	100.0				
Kontrol	Total	n	36	0	36	100.0	
		%	100.0				
Preeklampsia	Kadar Protein	+1	n	17	0	17	0,049
			%	100.0	.0	100.0	
		+2	n	12	5	17	
			%	70.6	29.4	100.0	
		+3	n	2	0	2	
	%	100.0	.0	100.0			
Preeklampsia	Total	n	31	5	36	86.1	13.9
		%	86.1	13.9	100.0		

DISKUSI

Karakteristik Subjek Penelitian

Penyebab preeklampsia belum diketahui secara pasti. Ada beragam faktor risiko salah satunya adalah faktor usia yang merupakan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi. Dari segi usia, wanita hamil dengan usia <20 tahun dan >35 tahun dianggap berisiko untuk mengalami preeklampsia (Ertiana & Wulan, 2019). Penelitian ini menghimpun subjek penelitian dengan rentang usia 22 hingga 40 tahun. Berdasarkan hasil penelitian ini rata-rata usia pada kelompok Preeklampsia adalah $32,5 \pm (5,9)$ tahun. Hal ini berarti bahwa dari seluruh kasus, kelompok usia yang dominan adalah 20-35 tahun yang bukan merupakan faktor risiko. Sama halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Asmana, et al tahun 2016 yang menunjukkan bahwa 59,26% ibu hamil dengan preeklampsia berada pada usia 20-35 tahun. Berbeda dengan data *German Perinatal Quality Registry*, yang mendapatkan bahwa angka kejadian preeklampsia lebih tinggi pada usia di atas 35 tahun, yakni 2,6%, dan pada usia di bawah 35 tahun hanya berkisar 2,2% - 2,3% (Karta Asmana et al., 2016; Ertiana & Wulan, 2019).

Umur merupakan bagian dari status reproduksi yang penting. Umur

berkaitan dengan peningkatan atau penurunan fungsi tubuh sehingga mempengaruhi status kesehatan seseorang. Usia yang baik untuk hamil adalah 20 sampai 35 tahun. Sedangkan usia yang berisiko mengalami preeklamsia adalah usia <20 tahun dan >35 tahun. Pada kehamilan <20 tahun, keadaan reproduksi yang belum siap untuk menerima kehamilan akan meningkatkan keracunan kehamilan dalam bentuk preeklamsia. Sedangkan pada usia 35 tahun atau lebih akan terjadi perubahan pada jaringan dan alat reproduksi serta jalan lahir tidak lentur lagi. Pada usia tersebut cenderung didapat penyakit lain dalam tubuh ibu, salah satunya preeklamsia (Merta, 2017).

Kadar Protein Urin

Penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein pada kelompok Preeklamsia adalah $(+1,58) \pm (0.6)$. hal ini sejalan dengan penelitian Arsani, dkk (2017) yang menemukan pada 10 responden dengan status protein urin positif ditemukan (+1) 17,95%, (+2) 5,13% dan (+3) 2,56%. Namun bertentangan dengan penelitian Setyawan, et al yang mendapatkan bahwa terdapat 61 sampel dimana semua pasien (100%) menderita preeklamsia berat dengan kadar protein urine yang bervariasi yakni terdapat kadar protein urine (-) sebanyak 9,8%, kadar protein urine (+1) sebanyak 21,3%, kadar protein urine (+2) sebanyak 13,1% dan (+3) sebanyak 36,1% (Setyawan et al., 2019).

Hal ini sesuai karena preeklamsia berat tidak selalu disertai proteinuria, karena syarat diagnosis preeklamsia berat (adanya protein urine >5g/dL atau (+4)), namun dapat ditegakkan jika diikuti satu atau lebih tanda preeklamsia berat lain. Sehingga apabila ibu hamil tidak mengalami proteinuria, belum tentu ibu hamil tidak akan mengalami preeklamsia, ini dipengaruhi oleh multifaktor, periode 2006 - 2008 dengan 366 responden yang menyatakan bahwa didapatkan 12,84% kasus preeklamsia dengan proteinuria negatif. Proteinuria merupakan proses akhir preeklamsia (Setyawan et al., 2019; Merta, 2017).

Hasil proteinuria yang signifikan dalam kehamilan ditunjukkan melalui pemeriksaan urin dipstik dengan hasil proteinuria $\geq 1+$. Pada ibu hamil yang menderita hipertensi sebelum kehamilan, diagnosis preeklamsia ditegakkan jika terdapat hipertensi yang resisten dan munculnya proteinuria atau kondisi

proteinuria yang semakin memburuk. Jika hipertensi baru diderita pada saat kehamilan (hipertensi gestasional), diagnosis preeklampsia ditegakkan jika ditemukan proteinuria dengan onset baru. Proteinuria dalam kehamilan juga dapat disebabkan karena dilatasi saluran kemih. Dilatasi ini sering terjadi selama kehamilan, terutama di trimester akhir. Bagian ginjal yang sering mengalami dilatasi adalah ginjal kanan dan banyak terjadi pada nulipara. Proteinuria positif dengan urin dipstik yang ditemukan pada responden perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan lanjutan untuk memastikan apakah hasilnya benar menunjukkan proteinuria atau tidak. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa dibanding dengan urin dipstik, rasio kreatinin lebih reliabel untuk mendeteksi proteinuria pada ibu hamil yang menderita hipertensi dalam kehamilan (Kurniadi et al., 2017).

Distribusi Frekuensi Gen Reseptor AT R1

Distribusi frekuensi genotype dari gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 untuk seluruh penelitian ini adalah terdapat 31 orang (86,1%) dengan variasi genetik AA dan terdapat 5 orang (13,9%) dengan variasi genetik AC dan tidak ditemukan variasi genetik CC. Terdapat perbedaan distribusi frekuensi genotype pada berbagai hasil penelitian di beberapa negara yang berbeda yaitu Indonesia (n=35) AA (32/91,4%); AC (3/8,6%); CC (0). Mesir (n=83) AA (55/66,3%); AC (21/25,3%); CC (7/8,4%). Italia (n=420) AA (207/49%); AC (183/44%); CC (30/7%). Distribusi frekuensi genotype dari polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 di beberapa negara. Penelitian ini sejalan dengan penelitian lain baik di Indonesia, Mesir dan Italia varian genotype AA paling banyak dijumpai pada populasi penelitian dibandingkan dua varian lainnya yaitu AC dan CC (Suharto et al., 2015; Rahmadhayanti et al., 2014; Fajar et al., 2019).

Hubungan Antara Polimorfisme Gen Reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan Kadar Protein dalam Urin pada Ibu Hamil

Pada penelitian ini tidak ada hubungan signifikan antara polimorfisme reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil hipertensi dan ibu hamil tidak hipertensi di Desa Dalu X B Kec. Tanjung Morawa. Baik kelompok kontrol maupun preeklampsia variasi genetik paling banyak adalah AA. Pada kelompok kontrol 100% memiliki kadar protein 0

(negatif) dan memiliki variasi genetik AA (*wild type*). Pada kelompok Preeklampsia, terdapat 17 subjek penelitian dengan kadar protein +1 dan memiliki variasi genetik AA, 12 subjek penelitian pada kelompok preeklampsia dengan kadar protein +2, dengan variasi genetik AA dan 5 orang dengan variasi genetik AC (mutan heterozigot), serta 2 subjek penelitian dengan kadar protein +3 juga memiliki variasi genetik AA. Dari data yang telah diperoleh pada kelompok Preeklampsia ada hubungan signifikan ($p = 0,049$) antara polimorfisme reseptor Angiotensin II Tipe 1 dengan kadar protein dalam urine pada ibu hamil hipertensi dan ibu hamil tidak hipertensi di Desa Dalu X B Kec. Tanjung Morawa.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian lain diketahui terdapat hubungan yang signifikan polimorfisme A1166C dari gen AT1R terhadap preeklampsia. Juga terdapat hubungan antara AT1R dan hipertensi pada wanita hamil yang dilaporkan pada populasi Jepang (Li, Yingxue; Zhu, Ming; Hu, Rong; Yan, 2015). Hasil dari polimorfisme AT1R terhadap preeklampsia sangat kontroversi, dalam penelitian lain menyatakan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AT1R dan AT2R pada kelompok kontrol dan preeklampsia. Namun apabila dikombinasikan antara AT1R/AT2R mengindikasikan ada perbedaan signifikan antara kelompok sehat dan preeklampsia. Kombinasi AC/AG secara signifikan menurun, sementara kombinasi CC/AA secara signifikan meningkat dibanding pada kelompok sehat ($p < 0,01$) (Soltani-Zangbar et al., 2018). Perbedaan ini menunjukkan bahwa variasi etnis dan perbedaan lingkungan berperan dalam kontroversi tersebut.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan terdapat perbedaan kadar protein yang signifikan antara kelompok kontrol dan preeklampsia dengan nilai $p = 0,000$ ($< 0,05$). Distribusi genotipe gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 pada kelompok kontrol semuanya memiliki variasi genetik AA, kelompok Preeklampsia AA (86,1%) dan AC (13,9%) ($p = 0,049$). Ada hubungan antara kadar protein dengan polimorfisme gen reseptor Angiotensin II Tipe 1 pada ibu hamil di Puskesmas Dalu X B Kabupaten Deli Serdang.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Medan, Dinas Kesehatan Deli Serdang, Kepala Puskesmas Dalu X B, Laboratorium terpadu FK USU dan semua pihak yang membantu penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat komplik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Ertiana, D., & Wulan, S. R. (2019). Hubungan Usia dengan Kejadian Preeklamsia pada Ibu Hamil di RSUD Kabupaten Kediri Tahun 2018. *Midwiferia Jurnal Kebidanan*, 5(2), 1-7. <https://doi.org/10.21070/mid.v5i2.2765>
- Fajar, J. K., Susanti, M., Pikir, B. S., Saka, P. N. B., Sidarta, E. P., Tamara, F., Akbar, R. R., Hutama, S. A., Gunawan, A., & Heriansyah, T. (2019). The association between angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism and the risk of essential hypertension: a meta-analysis. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s43042-019-0016-3>
- Gandasoebrata, R. (2013). *Penuntun Laboratorium Klinis*. Dian Rakyat.
- Irmitasari, I., Nurdiati, D. S., & Hadiati, D. R. (2018). Pengaruh Preeklamsia dan Hipertensi Kronis terhadap Kejadian Bayi Kecil Masa Kehamilan (KMK). *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 5(3), 139. <https://doi.org/10.22146/jkr.39137>
- Karta Asmana, S., Syahredi, S., & Hilbertina, N. (2016). Hubungan Usia dan Paritas dengan Kejadian Preeklamsia Berat di Rumah Sakit Achmad Mochtar Bukittinggi Tahun 2012 - 2013. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3), 640-646. <https://doi.org/10.25077/jka.v5i3.591>
- Kurniadi, A., Tanumihardja, T., & Pradiptaloka, E. (2017). STATUS PROTEINURIA DALAM KEHAMILAN DI KABUPATEN SUMBA BARAT DAYA, NUSA TENGGARA TIMUR TAHUN 2016 Proteinuria Status in Pregnancy in Southwest Sumba District, East Nusa Tenggara in 2016. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 8(1), 53-61. <https://doi.org/10.22435/kespro.v8i1.6332.53-61>
- Li, Yingxue; Zhu, Ming; Hu, Rong; Yan, W. (2015). The effects of gene polymorphisms in angiotensin II receptors on pregnancy-induced hypertension and preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension in Pregnancy*, 34(2), 241-260. <https://doi.org/10.3109/10641955.2015.1009543>

- Merta, W. (2017). Kadar Protein Urin Pada Ibu Hamil Trimester Ii Dan Iii Di Puskesmas Ii Denpasar Barat. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 5(1), 31-44. <https://doi.org/10.33992/m.v5i1.108>
- Rahmadhayanti, E., Hayati, L., & Saleh, M. (2014). Hubungan polimorfisme gen reseptor angiotensin II tipe 1 1166 A/C dengan kejadian preeklampsia. *Jurnal Kedokteran*, 46(1), 52-58.
- RI Kemenkes. (2020). *PROFIL KESEHATAN INDONESIA TAHUN 2019* (M. Boga Hardhana, S.Si, Ms. P. Farida Sibuea, SKM, & M. Winne Widiyanti, SKM (eds.)). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Riskesdas. (2018). Potret sehat indonesia dari riskesdas 2018. *Riskesdas*.
- Setyawan, J. F. D., Wiryanthini, I. A. D., & Tianing, N. W. (2019). Gambaran Kadar Protein Urine pada Ibu Hamil Preeklampsia dan Eklampsia di RSUP Sanglah Denpasar Tahun 2017. *Jurnal Medika Udayana*, 8(12), 1-5. <https://ojs.unud.ac.id>
- Soltani-Zangbar, M. S., Pahlavani, B., Zolghadri, J., & Gharesi-Fard, B. (2018). Angiotensin type 2 receptor gene polymorphisms and susceptibility to Preeclampsia. *Journal of Reproduction and Infertility*, 19(2), 95-99.
- Suharto, F., Saleh, I., & Subandrate. (2015). Identifikasi Polimorfisme Glu298Asp Gen eNOS pada Penderita Preeklampsia di Rumah Sakit Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(OKTOBER), 61-66.

PERBEDAAN HASIL IDENTIFIKASI TELUR *SOIL TRANSMITTED HELMINTH* PADA SELADA ANTARA METODE SEDIMENTASI NaOH 0,2% DAN FLOTASI NaCl

Stefia Shofila Mada¹ · Dita Pratiwi Kusuma Wardani^{1*} · Ikhsan Mujahid¹ · Muhammad Luthfi Almanfaluthi²

¹Prodi Teknologi Laboratorium Medik D4, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

²Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
e-Mail: ditapратиwi@ump.ac.id
No Tlp WA : 082227284679

Abstract

Lettuce (Lactuca sativa) is one of the staple foods that contains a lot of protein, vitamins, and minerals. The leaves of lettuce can come into direct contact with the soil, increasing the risk of the transmission of soil-transmitted helminths. The purpose of this study was to determine the difference between 0.2% NaOH sedimentation and NaCl flotation methods based on the results of STH egg identification in lettuce in the Randudongkal District Traditional Market. The study was conducted with a cross-sectional design. The research was conducted in May-June 2022 at the Medical Laboratory Technology Laboratory D4 at Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Samples were taken at the Randudongkal District Traditional Market. Sampling was done three times over three consecutive weeks. Identification of soil-transmitted Helminth eggs using 0.2% NaOH sedimentation and NaCl flotation methods. The data were analyzed with Cohen's Kappa. The results of the study found only one positive Ascaris lumbricoides egg, both from the 0.2% NaOH sedimentation method and NaCl flotation. The results of the Cohen's kappa test showed a correlation between the 0.2% NaOH sedimentation method and NaCl flotation (K = 1.000). There is a difference in STH egg identification results between the 0.2% NaOH sedimentation method and NaCl flotation.

Keywords : 0.2% NaOH Sedimentation, Lettuce, NaCl Flotation, Soil Transmitted Helminth

Abstrak

Selada (*Lactuca sativa*) merupakan salah satu makanan pendamping makanan pokok yang banyak mengandung protein, vitamin dan mineral. Selada (*L. sativa*) berkontak langsung dengan tanah sehingga meningkatkan risiko penularan cacing Soil Transmitted Helminth. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan metode sedimentasi NaOH 0,2% dan flotasi NaCl terhadap hasil identifikasi telur STH pada sayur selada di pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal. Penelitian dilakukan dengan rancangan *cross-sectional*. Penelitian dilakukan pada bulan Mei - Juni 2022 di Laboratorium Teknologi Laboratorium Medik D4 Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Sampel diambil di Pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal yang terdiri dari Pasar Kalimas dan Pasar Randudongkal dengan jumlah sampel 12 sampel selada. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali selama tiga minggu berturut-turut. Identifikasi telur Soil Transmitted Helminth menggunakan metode Sedimentasi NaOH 0,2% dan Flotasi NaCl. Data dianalisis dengan *Cohen's Kappa*. Hasil penelitian ditemukan positif 1 telur *Ascaris lumbricoides* pada selada yang dijual di Pasar Tradisional Randudongkal baik diidentifikasi melalui metode sedimentasi NaOH 0.2% maupun flotasi NaCl. Hasil uji cohens kappa menunjukkan adanya korelasi antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dengan flotasi NaCl (K= 1.000). Terdapat perbedaan hasil identifikasi telur STH antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dengan flotasi NaCl.

Kata Kunci: Flotasi NaCl, Sedimentasi NaOH 0,2%, Selada, *Soil Transmitted Helminth*

PENDAHULUAN

Sayur selada (*Lactuca sativa*) termasuk salah satu sayuran yang sering ditemukan pada makanan yang dijual pada masyarakat kota, baik makanan khas Indonesia maupun internasional yang dikonsumsi dalam kondisi mentah, sebagai contoh mie ayam, gado-gado, tahu campur, hamburger, salad, ayam dan ikan bakar yang memakai sayur selada (Adrianto, 2018). Konsumsi sayuran mentah termasuk hal umum yang dilakukan oleh masyarakat demi mempertahankan rasa alami dari sayuran tersebut, serta menjaga keutuhan nutrisi yang tidak tahan terhadap panas seperti vitamin A dan C (Sunil et al., 2014).

Selada (*L. sativa*) tergolong makanan pendamping makanan pokok yang banyak mengandung protein, vitamin dan mineral (Widarti, 2018). Selain itu, selada mengandung vitamin A, vitamin K, zat besi, kalsium, folat, dan serat. Selada bermanfaat membantu mengurangi risiko kanker, katarak, stroke, meringankan insomnia dan mengurangi gangguan anemia (Setiawan et al., 2017). Sayuran juga diketahui dapat berperan sebagai sumber potensial penyebaran berbagai penyakit infeksi dan parasit. Penyakit kecacingan dapat dianggap sebagai salah satu penyakit paling umum yang ditularkan ke manusia melalui air, tanah, dan bahan makanan seperti sayuran (Sunil et al., 2014).

Kondisi pertumbuhan sayur selada mempunyai risiko kontaminasi oleh cacing karena tumbuh pada posisi duduk, dengan daun berkontak langsung dengan tanah sehingga meningkatkan risiko penularan cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH). Kontaminasi telur STH dapat juga disebabkan karena pedagang pasar dalam menjual sayuran dekat dengan tanah dan berdebu karena lokasinya dipinggir jalan raya hal tersebut akan berpotensi menjadi transmisi dari telur STH. Parasit cacing yang sering ditemukan pada sayuran mentah yang terkontaminasi adalah cacing STH meliputi *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, dan *Necator americanus* (Adrianto, 2018).

Beberapa tahun terakhir terjadi peningkatan jumlah penyakit infeksi yang berhubungan dengan konsumsi buah dan sayuran segar. Konsumsi sayuran yang langsung dimakan tanpa diolah terlebih dahulu berisiko terkontaminasi berbagai

jenis parasite selama proses penanaman, pemanenan, dan pemasaran yang berpotensi untuk penularan infeksi kepada manusia (Alsakina et al., 2018). Sayuran yang disimpan di tempat terbuka dan tidak bersih dapat tercemar oleh telur cacing. Telur tersebut dapat terbawa oleh angin dan menempel pada sayuran ketika sayuran tersebut diletakkan di tanah atau kondisi berdebu. Transmisi telur cacing dapat juga melalui lalat yang sebelumnya hinggap di tanah/kotoran sehingga telur cacing terbawa melalui kaki-kaki dan mencemari sayuran yang tidak tertutup (F. Hidayati et al., 2016).

Identifikasi telur STH dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, antara lain flotasi NaCl jenuh, sedimentasi NaOH 0,2%, eosin 1% (Mardhiyah et al., 2019; Qomariyah et al., 2021; Satria & Yulfi, 2021; Setiawan et al., 2017). Hasil identifikasi telur STH dari 104 sayuran kubis, kemangi, dan selada di pasar tradisional dan pasar modern Kota Jambi dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% ditemukan 19 sampel positif STH, antara lain kubis sebanyak 2 sampel (1,92%), kemangi sebanyak 10 sampel (9,62%), selada sebanyak 7 sampel (6,73%). Spesies yang ditemukan, antara lain telur *A. lumbricoides* sebanyak 17 sampel (16,36%) dan telur *T. trichiura* sebanyak 2 sampel (1,92%) (Merselly et al., 2021). Telur *A. lumbricoides* fertil ditemukan pada satu sampel kubis dengan metode flotasi NaCl sedangkan telur *A. lumbricoides* infertil ditemukan pada satu sampel kubis dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% (Yulianti et al., 2022).

Telur *A. lumbricoides* ditemukan pada sayuran kubis (*Brassica oleracea*) yang dijual di pasar tradisional dan warung makan sedangkan tidak ditemukan adanya telur STH pada supermarket di Gresik. Identifikasi dilakukan dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% (Angraini & Kristiawan, 2018). Telur *A. lumbricoides* ditemukan pada sayur bayam sebanyak 3 sampel (14.3%), sayur kangkung sebanyak 2 sampel (9.5%), dan sayur sawi sebanyak 3 sampel (14.3%) di Pasar Banjarbaru dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% (F. Hidayati et al., 2016).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan metode sedimentasi NaOH 0,2% dan flotasi NaCl terhadap hasil identifikasi telur STH pada sayur selada

di Pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini berjenis observasional analitik dengan rancangan *cross-sectional*. Pengambilan sampel sayur selada dilakukan di Pasar Kalimas dan Pasar Randudongkal Kecamatan Randudongkal, Kabupaten Pemalang sedangkan identifikasi STH dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% dan flotasi NaCl dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi Teknologi Laboratorium Medik D4 Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2022.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu terdiri dari beaker glass, sentrifuge, tabung sentrifus, tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung, pinset, object glass, cover glass, mikroskop, kertas label, pisau, gelas ukur 100 ml, timer, timbangan analitik, batang pengaduk, gelas plastik, tatakan, pipet volume, bola penghisap, pipet pasteur. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel sayur selada, larutan NaOH 0,2%, NaCl jenuh, aquades, kertas tisu.

Pengambilan sampel selada (Adrianto, 2018)

Pengambilan sampel selada dilakukan dengan teknik *total sampling* dan dilakukan selama 3 minggu berturut-turut. Pengambilan sampel dilakukan di Pasar tradisional Kalimas dan Pasar tradisional Randudongkal Kecamatan Randudongkal, Kabupaten Pemalang sehingga seluruh sampel yang digunakan sebanyak 108 ikat. Selada yang diperoleh dari lokasi penelitian kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label kode sampel.

Identifikasi STH metode Sedimentasi NaOH 0.2% (Adrianto, 2018)

Identifikasi telur STH dengan metode sedimentasi NaOH 0,2% dilakukan dengan cara selada dipotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Selada sebanyak 50 gr selada direndam dalam 500 ml larutan NaOH 0,2% selama 30 menit kemudian dikeluarkan dan diambil air endapan sebanyak 10-15 ml masukkan ke dalam tabung sentrifus. Suspensi disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan diambil endapan

menggunakan pipet lalu diteteskan pada *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Preparat diamati dibawah mikroskop perbesaran 40x10 dan spesies yang ditemukan dicocokkan dengan buku Atlas Parasitologi.

Identifikasi STH metode Flotasi NaCl (Widarti, 2018)

Identifikasi telur STH dengan metode flotasi NaCl jenuh dilakukan dengan membuat larutan NaCl jenuh dengan cara garam dimasukkan pada 500 ml aquades sampai garam tidak bisa larut. Selada dipotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil dan masukkan larutan NaCl sampai sampel terendam sempurna. Suspensi diaduk selama 10-15 menit hingga tercampur merata. Suspensi dimasukkan ke dalam tabung reaksi hingga terisi penuh kemudian tutup dengan *cover glass* dan diamkan selama 1 jam. *Cover glass* diambil dan diletakkan di atas *objek glass*. Preparat diamati di bawah mikroskop perbesaran 40x10 dan spesies yang ditemukan dicocokkan dengan buku Atlas Parasitologi.

Analisis Data

Perbedaan hasil identifikasi STH pada selada dengan metode sedimentasi NaOH 0,2% dan Flotasi NaCl dianalisis dengan uji Cohen's Kappa.

HASIL

Dari sebanyak 216 slide yang diperiksa dengan metode yang berbeda dalam penelitian ini. Diketahui bahwa ditemukan adanya telur *A. lumbricoides* masing-masing sebanyak 1 sampel baik pada metode sedimentasi NaOH 0.2% dan flotasi NaCl. Prevalensi telur STH yang ditemukan pada Selada di Pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Prevalensi STH pada selada (*L. sativa*) di Pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal

Spesies	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Telur <i>Ascaris lumbricoides</i> fertil	2	0.93
Negative	214	99.07
Total	216	100



Gambar 1. Telur *A. lumbricoides* fertil

Perbedaan hasil identifikasi antara metode sedimentasi NaOH 0,2% dengan flotasi NaCl disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan hasil identifikasi Antara Metode Sedimentasi NaOH 0,2% dengan Flotasi NaCl

		Flotasi NaCl		Total	P value	Kappa
		Positif	Negatif			
Sedimentasi NaOH 0.2%	Positif	1	0	1 (0.9%)	0,009	1,000
	Negatif	0	107	107 (99.1%)		
Total		1	107	108 (100%)		

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa hanya 1 sampel (0.9%) positif STH antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dan flotasi NaCl sedangkan 107 sampel (99.1%) negatif STH. Terdapat perbedaan hasil identifikasi antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dan flotasi NaCl ($p= 0,009$, $K= 1,000$). Nilai kappa = 1 mengindikasikan bahwa terdapat hubungan kuat antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dengan flotasi NaCl.

DISKUSI

Hasil penelitian ini yang menunjukkan ditemukan adanya telur *A. lumbricoides* pada selada dengan metode sedimentasi NaOH 0.2% selaras dengan hasil penelitian Faziqin *et al.* yang menunjukkan sebanyak 12 sampel (25,5%) sayuran mentah di warung makan kaki lima dan sebanyak 8 sampel (24,2%) di rumah makan dari 80 total sayuran positif mengandung telur *A. lumbricoides* dengan metode sedimentasi NaOH 0,2% (Faziqin *et al.*, 2021). Didukung juga melalui hasil penelitian Anindita *et al.* yang menunjukkan bahwa telur *A.*

lumbricoides ditemukan pada 3 sampel (25%) dari 12 sampel kubis dan 3 sampel (22.22%) dari 9 sampel kemangi yang dijual di Pasar Baru, Bekasi (Anindita et al., 2022).

Hasil penelitian ini yang menunjukkan ditemukan adanya telur *A. lumbricoides* pada selada dengan metode flotasi NaCl selaras dengan hasil penelitian Hidayati & Dewi yang menunjukkan prevalensi telur *A. lumbricoides* paling banyak ditemukan pada kemangi dengan metode flotasi NaCl sebanyak 57 sampel (62.6%), telur *T. trichiura* sebanyak 31 sampel (34.1%), dan *hookworm* sebanyak 3 sampel (3.3%) (L. Hidayati & Dewi, 2023). Berbanding terbalik dengan hasil penelitian Qomariyah *et al.* yang menunjukkan tidak ditemukan adanya telur STH pada 20 sampel caisim di Pasar Patikraja, Kabupaten Banyumas (Qomariyah et al., 2021). Tidak ditemukan adanya kontaminasi telur nematoda usus pada 10 sampel sayur kol di Pasar Tradisional Kota Makassar dengan metode flotasi NaCl (Widarti, 2018).

Hasil penelitian Loganathan *et al.* yang menunjukkan bahwa telur *A. lumbricoides* ditemukan pada selada dengan metode sedimentasi NaCl sebanyak 1 sampel (6.7%) di Pasar Ampang dan 5 sampel (40%) di Pasar Tanjungsari serta spesies STH lainnya sebanyak 1 sampel (26.7%) di Pasar Jatinangor (Loganathan et al., 2016). Telur *A. lumbricoides* ditemukan sebanyak 2 sampel (1.8%) pada sayuran kubis dan 1 sampel (0.9%) pada bawang yang diidentifikasi menggunakan metode sedimentasi NaCl (Sunil et al., 2014). Terdapat perbedaan hasil identifikasi telur STH antara sedimentasi NaCl dan flotasi NaCl pada daun kemangi (L. Hidayati & Dewi, 2023).

Identifikasi telur STH dengan metode sedimentasi memiliki kekurangan yaitu banyak kotoran yang menutupi parasit karena proses pengendapan (Harviantari et al., 2018). Pemeriksaan telur cacing menggunakan larutan NaOH 0,2% bersifat korosif terhadap kulit. Adanya sifat korosif tersebut bila dilarutkan dalam air akan menimbulkan reaksi eksotermis dapat membantu penghancuran feses dan melepaskan beberapa telur cacing yang menempel pada feses yang keras, hancurnya feses mengubah bentuk feses yang semula keras menjadi butiran halus hingga sulit mengendap dan membutuhkan waktu tambahan 15 menit untuk

mengendapkan telur cacing (Nezar et al., 2014). Pada metode flotasi NaCl memiliki kekurangan yaitu membutuhkan waktu yang lama dalam pemeriksaan, terbentuk endapan, dan mengandung zat terlarut dalam jumlah maksimal pada suhu tertentu (Qomariyah et al., 2021).

Kebersihan dalam pengolahan sayuran seperti pencucian sayuran menggunakan air mengalir secara lembar per lembar merupakan salah satu faktor untuk mengurangi kontaminasi telur STH (Widarti, 2018). Pencucian sayuran hanya dengan direndam dan dikucek-kucek saja dalam ember memungkinkan telur STH terlepas dari sayuran, namun tetap berada di dalam ember dan menggenang. Pencucian sayuran dengan air mengalir dan mencuci setiap lembaran sayuran tidak ditemukan kontaminasi telur STH. Selain itu, penyajian sayuran tanpa sarung tangan atau tanpa menggunakan sendok juga memungkinkan adanya peningkatan risiko kontaminasi telur STH (Alsakina et al., 2018).

Faktor lain penyebab tidak ditemukannya telur STH meliputi sampel selada yang diteliti dalam keadaan segar, sayuran diletakkan pada tempat yang bersih, dan adanya plastik pembungkus antar sayuran sehingga dapat mencegah kontaminasi silang (Merselly et al., 2021). Kontaminasi parasit usus pada sayuran selada keriting, lobak, bayam dan pokchoy diduga berkaitan dengan bentuk permukaan daun yang tidak rata sehingga telur cacing mudah menempel pada daun ketika penyiraman dengan air terkontaminasi parasit maupun ketika proses pengolahan sayuran tersebut di area perkebunan. Sayuran yang memiliki permukaan lebih licin dan bentuk beraturan memiliki tingkat kontaminasi rendah (Satria & Yulfi, 2021).

KESIMPULAN

Telur *A. lumbricoides* ditemukan pada selada yang dijual di Pasar Tradisional Kecamatan Randudongkal. Terdapat perbedaan hasil identifikasi telur STH antara metode sedimentasi NaOH 0.2% dan flotasi NaCl.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Prodi Teknologi Laboratorium Medik D4 Fakultas Ilmu

Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah memfasilitasi penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Adrianto, H. (2018). Kontaminasi Telur Soil Transmitted Helminth pada Sayur Selada (*Lactuca sativa*) di Pasar Tradisional. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30(2), 163-167. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2018.030.02.16>
- Alsakina, N., Adrial, A., & Afriani, N. (2018). Identifikasi Telur Cacing Soil Transmitted Helminths pada Sayuran Selada (*Lactuca sativa*) yang Dijual oleh Pedagang Makanan di Sepanjang Jalan Perintis Kemerdekaan Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 314. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i3.879>
- Angraini, D. A. dan, & Kristiawan, A. (2018). Identifikasi Telur Nematoda Usus Pada Sayuran Kubis (*Brassica oleracea*) di Pasar Tradisional, Supermarket, dan Warung Makan Gresik Tahun 2018. *Jurnal Sains*, 8(16), 42-48.
- Anindita, R., Lerrick, V. D. P., & Inggraini, M. (2022). Pemeriksaan Telur Soil Transmitted Helminth (STH) Pada Kubis (*Brassica oleracea*) dan Kemangi (*Ocimum basilicum*) di Pasar Tradisional Bekasi. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 10(2). <https://doi.org/10.33992/meditory.v10i2.2280>
- Faziqin, L. medianto, Dalilah, Handayani, D., Anwar, C., & Susilawati. (2021). Contamination of Soil Transmitted Helminths (STH) Eggs in Raw Vegetables at Street Food Stalls and Restaurant in Lorok Pakjo Village, Palembang. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, 5(6), 599-607. <https://doi.org/10.32539/bsm.v5i6.397>
- Harviantari, E., Ariyadi, T., & Santosa, B. (2018). *Perbedaan Metode Sedimentasi Dan Flotasi Terhadap Hasil Telur Soil Transmitted Helminth Pada Sayuran Selada Di Pasar Johar Semarang*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Hidayati, F., Rifqoh, & Nurmansyah, D. (2016). Cemaran Telur Cacing Soil Transmitted Helminths (STH) Pada Sayur Bayam, Kangkung, dan Sawi Yang Dijual Di Pasar Banjarbaru Tahun 2015. *Jurnal ERGASTERIO*, 04(01), 25-33.
- Hidayati, L., & Dewi, S. R. (2023). Perbandingan telur cacing soil transmitted helminths pada daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dengan metode flotasi dan sedimentasi. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 11(1), 13-18. <https://doi.org/10.37304/jkupr.v11i1.8685>
- Loganathan, R., Agoes, R., & Arya, I. F. D. (2016). Vegetables contamination by Parasitic Helminth Eggs in Malaysia and Indonesia. *Althea Medical Journal*,

- 3(2), 190-194. <https://doi.org/10.15850/amj.v3n2.796>
- Mardhiyah, F. A., Dewi, R., & Astuti, I. (2019). Identification of Contamination *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* Egg in The Lettuce (*Lactuca sativa*) in Food Stalls Around Bandung Islamic University 2018. *Prosiding Pendidikan Dokter*, 5(1), 249-254.
- Merselly, F., Hanina, H., & Iskandar, M. M. (2021). Identifikasi Telur Soil Transmitted Helminths Pada Sayuran Kubis, Kemangi, Dan Selada Di Pasar Tradisional Dan Pasar Modern Di Kota Jambi. *Medical Dedication (Medic): Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat FKIK UNJA*, 4(1), 131-139. <https://doi.org/10.22437/medicaldedication.v4i1.13460>
- Nezar, M. R., Susanti, R., & Setiati, N. (2014). Jenis Cacing Pada Feses Sapi di TPA Jatibarang Dan KTT Sidomulyo Desa Nongkosawit Semarang. *Unnes Journal of Life Science*, 3(2), 93-102.
- Qomariyah, N., Wardani, D. P. K., & Sulistiyowati, R. (2021). Identifikasi Telur Soil Transmitted Helminths Pada Caisim (*Brassica chinensis*) di Pasar Patikraja Kabupaten Banyumas. *Herb-Medicine Journal*, 4(4), 1-6. <https://doi.org/10.30595/hmj.v4i4.10448>
- Satria, A., & Yulfi, H. (2021). Gambaran Pencemaran Sayuran Organik Oleh Soil Transmitted Helminths (STH). *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 5(2), 8-13.
- Setiawan, A., Indrawati, A., & Syarif, J. (2017). Identifikasi telur Soil Transmitted Helminths Pada Lalapan Mentimun Di Warung Makan Jalan Abdul Kadir Kota Makassar. *Jurnal Media Laboran*, 7(2), 16-21.
- Sunil, B., Thomas, D. R., Latha, C., & Shameem, H. (2014). Assessment of parasitic contamination of raw vegetables in Mannuthy, Kerala state, India. *Veterinary World*, 7(4), 253-256. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.253-256>
- Widarti, W. (2018). Identifikasi Telur Nematoda Usus Pada Kol (*Brassica oleraceae*) di Pasar Tradisional Kota Makassar. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 1(1), 78-82. <https://doi.org/10.32382/mak.v1i1.226>
- Yulianti, F., Lasmini, T., Aritonang, B. N. R. S., & Batu, E. L. (2022). Identifikasi Telur Cacing Soil Transmitted Helminths Pada Sayur Kubis di Pasar Kota Pekanbaru. *Jurnal Sains Dan Teknologi Laboratorium Medik*, 8(1), 13-20. <https://doi.org/https://doi.org/10.52071/jstlm.v8i1.95>
-

PEMERIKSAAN KOLESTEROL TOTAL METODA *POINT OF CARE TESTING* DAN METODA FOTOMETRI TERHADAP PASIEN HIPERTENSI

Dinar Rahaju Pudjiastuty*¹ · Tuti Rustiana¹ · Diat Rukhiat¹ · Dedi Kurnia¹

¹Program Studi D3 Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, Bandung

e-mail: rahayu_dinar_9@yahoo.com

No.Telpon: 081572561528

ABSTRACT

Total cholesterol needs to be monitored because it is an analyte that can predict the incidence of cardiovascular disease. The results of measuring cholesterol levels can be obtained quickly, making it easier to make decisions, treat disease, or carry out initial screening tests. The Point Of Care Testing POCT or Near Patient Testing (NPT) tool for measuring cholesterol is usually a tool that is quite small, light, with the advantage that the patient is not too bothered so that the patient can be calmer and the examination results are satisfactory. The results of the examination using this POCT tool must be consistent. evaluated so that the results of the examination can still be accounted for as an effort to monitor disease and regulate drug administration. Research has been carried out to check total cholesterol in hypertensive patients at the Pekalangan Community Health Center UPT, Cirebon using a POCT device and using a photometer using the CHOD-PAP method. The data obtained was then processed using the T test statistical test to check whether there were significant differences in the average measurements by the two different methods. The average result of total cholesterol measurements using the POCT device was 193.8 mg/dL and the average result of total cholesterol measurement using the CHOD-PAP method photometer was 195.35 mg/dL. There was no significant difference between the two measurements.

Keywords: POCT, total cholesterol, photometer, CHOD-PAP method

ABSTRAK

Kolesterol total perlu diawasi karena merupakan analit yang dapat memprediksi kejadian penyakit kardiovaskular. Pengukuran kadar kolesterol hasilnya bisa didapat secara cepat akan mempermudah pengambilan keputusan, penanganan penyakit, atau pemeriksaan penyaring awal. Alat *Point Of Care Testing* POCT atau *Near Patient Testing* (NPT) untuk pengukuran kolesterol biasanya merupakan alat yang cukup kecil, ringan, dengan keuntungan bahwa pasien tidak terlalu direpotkan sehingga pasien bisa lebih tenang dan hasil pemeriksaan pun memuaskan Hasil pemeriksaan oleh alat POCT ini harus tetap dievaluasi sehingga hasil pemeriksaannya masih dapat dipertanggungjawabkan sebagai upaya pengawasan penyakit dan pengaturan pemberian obat. Telah dilaksanakan penelitian pemeriksaan kolesterol total pada pasien hipertensi di UPT Puskesmas Pekalangan, Cirebon dengan menggunakan alat POCT dan menggunakan alat fotometer metoda CHOD-PAP. Data yang didapatkan kemudian diolah dengan uji statistika uji T untuk memeriksa ada tidaknya perbedaan bermakna dari rata-rata pengukuran oleh kedua metoda berbeda tersebut. Didapatkan hasil rata-rata pengukuran kolesterol total dengan alat POCT sebesar 193,8 mg/dL dan hasil rata-rata pengukuran kolesterol total dengan alat fotometer metoda CHOD-PAP adalah 195,35 mg/dL. Tidak ada perbedaan bermakna dari kedua pengukuran tersebut.

Kata kunci: POCT, kolesterol total, fotometer, metoda CHOD-PAP

PENDAHULUAN

Kolesterol total perlu diawasi karena merupakan analit yang dapat memprediksi kejadian penyakit kardiovaskular, yang menyebabkan rusaknya endotel dan hilangnya fungsi vasomotor, beberapa studi menunjukkan adanya hubungan antara kadar kolesterol dan lipid yang abnormal dengan hipertensi. (Umar & Mariana, 2021)

Tekanan darah sistolik 120 sampai 139 mmHg atau tekanan darah diastolik 80-89 mmHg dikategorikan pra-hipertensi, sementara tekanan darah sistolik \geq 140 mmHg dan/atau tekanan darah diastolik \geq 90 mmHg dan mengonsumsi obat antihipertensi pada berbagai tingkat, merupakan faktor resiko penyakit kardiovaskuler. (Chan et al., 2016)

Pengukuran kadar kolesterol yang hasilnya bisa didapat secara cepat akan mempermudah pengambilan keputusan, penanganan penyakit, atau pemeriksaan penyaring awal. (Suklan et al., 2022)

Alat *Point Of Care Testing* POCT atau *Near Patient Testing* (NPT) untuk pengukuran kolesterol biasanya merupakan alat yang cukup kecil, ringan, dan bisa dioperasikan dengan satu tangan dengan keuntungan bahwa pasien tidak terlalu direpotkan sehingga pasien bisa lebih tenang dan hasil pemeriksaan pun memuaskan (Umar & Mariana, 2021)

Hasil pemeriksaan analit dalam darah, termasuk juga hasil pemeriksaan kolesterol total oleh alat POCT ini harus tetap dievaluasi sehingga hasil pemeriksaannya masih dapat dipertanggungjawabkan sebagai upaya pengawasan penyakit dan pengaturan pemberian obat. (Bolodeoku & Pinkney, 2019)

Prinsip pengukuran kolesterol baik pada metoda POCT ataupun metoda fotometri CHOD-PAP hampir sama, yaitu reaksi enzimatis dan pembentukan warna. Pada POCT, reaksi pada bantalan berpori yang mengandung enzim kolesterol esterase dan kolesterol oksidase menghasilkan H_2O_2 yang kemudian mengoksidase senyawa pewarna. Bertambahnya intensitas warna diharapkan berbanding lurus dengan konsentrasi kolesterol dan dideteksi oleh alat dan

diubah menjadi data dalam bentuk angka yang diinterpretasikan sebagai kadar kolesterol total. Metoda ini murah dan efektif. (Litbang et al., 2019)

Pada penelitian Nining Kurniawati dkk (2023), ditemukan tidak ada perbedaan antara hasil pemeriksaan kolesterol total dengan menggunakan POCT dengan hasil pemeriksaan kolesterol total menggunakan metoda fotometri CHOD-PAP pada pemeriksaan kolesterol total dari 30 responden mahasiswa TLM Poltekkes Banten dengan nilai rata-rata kolesterol total menggunakan POCT adalah 175 mg/dL, dan hasil rata-rata kolesterol total dari metoda fotometri CHOD-PAP adalah 176,77 mg/dL (hasil uji T didapatkan $p=0,884>0,05$). (Kurniati, N. dkk, 2023)

Pada penelitian Heru Setiawan (2022) didapatkan ada perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan kolesterol total menggunakan POCT dengan hasil pemeriksaan kolesterol total menggunakan metoda fotometri CHOD-PAP pada 70 pasien hipertensi di poliklinik Ditjen KI Kemenkumham, yaitu hasil pemeriksaan kolesterol dengan menggunakan POCT adalah 232,66 mg/dL, sedangkan hasil pemeriksaan kolesterol dengan menggunakan alat fotometer adalah 214,97 mg/dL (hasil uji T didapatkan $p=0,003,0,005$). (Setiawan & Nurbayati, 2022)

Variasi biologis dalam suatu pemeriksaan analit berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan, begitu pula performa analitik suatu alat, akan berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan. Sementara itu data mengenai impresi alat pengukur lipid dan kolesterol masih sangat sedikit. (Bolodeoku & Pinkney, 2019)

Dari latar belakang dan beberapa hasil penelitian di atas maka telah dilaksanakan penelitian mengenai pemeriksaan kadar kolesterol total dengan menggunakan POCT dan fotometer metoda CHOD PAP terhadap dua puluh responden pasien hipertensi yang memenuhi syarat inklusi sampel di UPT Puskesmas Pekalangan, Cirebon.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 sampel darah kapiler dan darah vena dari responden pasien hipertensi yang memenuhi kriteria inklusi sampel. Pasien mengisi kesediaan berpartisipasi dalam penelitian secara

sukarela (*informed consent*) dan sudah diberikan penjelasan secara menyeluruh ketika wawancara.

Metode yang dipakai adalah metoda analitik pendekatan *cross-sectional*.

Alat yang dipakai untuk memeriksa sampel adalah alat POCT merk FamilyDR, tes strip pemeriksaan kolesterol, autoclick, dan jarum lancet, alat fotometer Mindray BA-88A, dengan reagen CHOD-PAP dan larutan standar kolesterol total (metoda enzimatik-kolorimetrik).

Sampel darah lengkap dari darah vena kemudian disentrifus untuk mendapatkan serum yang akan dipakai pada pemeriksaan kolesterol total metoda CHOD-PAP. Darah lengkap dari pembuluh darah kapiler yang keluar setelah ditusuk dengan autoclick ditempelkan ke tes strip kemudian kadar kolesterol total ditentukan dengan alat POCT.

Hasil pemeriksaan akan dianalisis menggunakan Uji Normalitas Data dari Kolmogorov-Smirnov, Uji Homogenitas dari Lavene, dan Uji Independent T Test.

HASIL

Tabel 1 Hasil pengukuran kolesterol total dengan menggunakan alat POCT dan fotometer metoda CHOD-PAP

Kode sampel	Usia (tahun)	Tekanan darah (mmHg)	Kadar kolesterol	
			POCT (mg/dL)	CHOD-PAP (mg/dL)
001H	60	188/108	184	209
002SM	58	156/75	204	164
003R	51	148/77	229	187
004R	57	121/71	216	186
005K	53	150/82	197	239
006S	51	153/82	221	208
007J	47	191/108	209	155
008H	66	141/70	201	147
009S	45	154/94	226	209
010LL	64	106/59	191	220
011DN	48	128/86	173	238

Kode sampel	Usia (tahun)	Tekanan darah (mmHg)	Kadar kolesterol	
			POCT (mg/dL)	CHOD-PAP (mg/dL)
012NS	69	160/67	188	187
013KA	46	134/89	155	204
014W	70	175/77	212	224
015B	60	147/68	167	191
016NK	68	147/78	148	173
017SM	59	135/60	183	162
018S	54	127/73	202	182
019YF	49	180/101	152	239
020N	45	128/86	218	183
Rata-rata			193,8	195,35

Uji Homogenitas

Tabel 2. Uji Homogenitas

		Levene's Test for Equality of Variances	
		F	Sig.
Hasil Kolestrol Total	Equal variances assumed	.419	.521
	Equal variances not assumed		

Uji homogenitas memiliki hasil $\text{sig} > 0,05$, $0,521 > 0,05$, maka dapat dikatakan data homogen dan dapat dilanjutkan ke uji T untuk melihat bagaimana perbedaan hasil antara kadar kolestrol total POCT dengan kadar kolestrol total metode spektrofotometri (CHOD PAP).

Uji Normalitas

Tabel 3. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Residual for Hasil Kolestrol Total
N		40
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000
	Std. Deviation	26.04126
Most Extreme Differences	Absolute	.084
	Positive	.061
	Negative	-.084
Kolmogorov-Smirnov Z		.531
Asymp. Sig. (2-tailed)		.941

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

Uji normalitas bertujuan untuk melihat data bersifat normal atau tidak. Hasil uji normalitas memiliki $\text{sig} > 0.05$; $0,941 > 0.05$; data bersifat normal.

Uji T

Tabel 4 Error! No text of specified style in document.. Uji T

		t-test for Equality of Means			
		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Hasil Kolesterol Total	Equal variances assumed	.186	38	.854	1.55000
	Equal variances not assumed	.186	37.466	.854	1.55000

Ketentuan :

Sig<0,05: hasil kadar kolestrol total POCT berbeda signifikan dengan kadar kolestrol total metode spektrofotometri (CHOD PAP).

Sig>0,05; hasil kadar kolestrol total POCT tidak berbeda signifikan dengan kadar kolestrol total metode spektrofotometri (CHOD PAP).

Didapatkan $p=0,854>0,05$ sehingga kadar kolesterol total hasil pengukuran dengan menggunakan alat POCT tidak berbeda dengan kadar kolesterol total hasil pengukuran dengan menggunakan alat fotometer metoda CHOD-PAP.

DISKUSI

Sejalan dengan insidensi penyakit kardiovaskuler, maka pemeriksaan kolesterol total semakin penting untuk pengawasan harian kadar kolesterol seseorang. POCT semakin berkembang karena kemudahan penggunaan, pemeriksaan analit bisa dilaksanakan di tempat tidur pasien/pasien tidak perlu mengunjungi klinik atau laboratorium, sehingga pasien merasa lebih nyaman.

Hasil POCT sendiri harus tetap dievaluasi terhadap pemeriksaan rujukan kolesterol dalam hal ini adalah metoda fotometri CHOD-PAP karena ketidakakuratan dalam hasil pengukuran POCT dapat mengakibatkan salah interpretasi hasil pengukuran kolesterol.

Pada penelitian ini, berdasarkan hasil statistika dengan melakukan uji T terhadap kadar kolesterol yang diukur menggunakan POCT dan kadar kolesterol yang diukur menggunakan metoda fotometri CHOD-PAP didapatkan bahwa rata-rata kedua hasil pengukuran kolesterol tidak berbeda signifikan. Artinya hasil pengukuran kolesterol total pada pasien hipertensi dengan menggunakan alat POCT masih dapat dipertanggungjawabkan.

Nilai rata-rata kolesterol total pada penelitian ini dengan alat POCT sebesar 193,8 mg/dL dengan rata-rata kolesterol yang diukur dengan alat fotometer metoda CHOD-PAP sebesar 195,35 mg/dL menunjukkan bahwa alat POCT yang dipergunakan masih sejalan dengan metoda rujukan.

Hasil pengukuran dipengaruhi oleh variasi biologis dari sampel. Dalam hal ini, sampel untuk alat POCT adalah darah lengkap (*whole blood*) dari darah kapiler sedangkan sampel untuk fotometri adalah serum, tetapi uji T dengan

nilai $p = 0,854 (> 0,05)$ menunjukkan hasil yang masih dalam kategori sesuai dengan metoda rujukan.

Studi validitas analitik sebenarnya bisa membantu untuk menilai akurasi POCT. Studi validitas ini bisa memberikan nilai bias dan presisi suatu alat. Studi perbandingan juga dapat dilakukan untuk membandingkan hasil pengukuran suatu analit tertentu dari berbagai merk alat POCT yang dibandingkan

KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan bermakna antara hasil kolesterol total pada pasien hipertensi yang diperiksa dengan menggunakan alat POCT, yaitu sebesar 193,80 mg/dL, dengan hasil kolesterol total pada pasien yang sama yang diperiksa dengan fotometer metoda CHOD-PAP yaitu sebesar 195,35 mg/dL. Artinya alat POCT pemeriksa kolesterol total di UPT Puskesmas Pekalangan, Cirebon masih dapat dipergunakan untuk memberikan hasil pemeriksaan kolesterol total yang dapat dipertanggungjawabkan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Program Studi D3 Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih dan UPT Puskesmas Pekalangan, Cirebon yang telah memfasilitasi penelitian ini sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar, kepada Panitia Rakernas AIPTLMI VIII.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis mendeklarasikan bahwa tidak ada konflik kepentingan dengan pihak manapun.

REFERENSI

- Kurniati, N., dkk, (2023). *Perbandingan Kadar Kolesterol Darah Kapiler Metode POCT dengan Serum Metode Enzimatik CHOD-PAP pada Mahasiswa TLM Poltekkes Banten*. 1(2), 45-49.
- Bolodeoku, J., & Pinkney, S. (2019). Imprecision Evaluation of Self-Monitoring of Blood Cholesterol (SMBC) Handheld Point of Care Testing Devices:

- Elemark™ and Cardiochek PA. *Ann Clin Lab Res*, 7(1), 290. <https://doi.org/10.21767/2386-5180.100290>
- Chan, Q., Stamler, J., Oude Griep, L. M., Daviglius, M. L., Van Horn, L., & Elliott, P. (2016). An update on nutrients and blood pressure summary of INTERMAP study findings. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 23(3), 276-289. <https://doi.org/10.5551/jat.30000>
- Litbang, B., Tanah, K., Lokalitbang, J., & Gunung, K. (2019). *Medical Laboratory*. 5(1), 24-31. <https://doi.org/10.31964/mltj.v>
- Setiawan, H., & Nurbayati, F. (2022). Hasil Tes Kolesterol Total Antara Alat Poct Dan Fotometer Pada Pasien Hipertensi Di Poliklinik Ditjen Ki Kemenkumham. *Jurnal Fisioterapi Dan Kesehatan Indonesia*, 2(2), 2807-8020.
- Suklan, J., Mutepfa, C., Dickinson, R., Hicks, T., Harrison, N., Jones, W. S., Lendrem, C., & Neely, D. (2022). *Point of care testing for cholesterol measuring : A rapid review and presentation of the scientific evidence*.
- Umar, T. P., & Mariana, M. (2021). Correlation Between Total Cholesterol Level with Blood Pressure of Hypertensive Patients in Kalidoni, Palembang. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, 6(1), 207-212. <https://doi.org/10.14710/jekk.v6i1.8398>

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN DI PERAIRAN PANTAI PANGANDARAN

Ditya Fitriani Sukmawan¹ • Rochmanah Suhartati¹ • Korry Novitriani^{1*}

¹Program Studi D-III Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bakti Tunas Husada, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : korrynovitriani@universitas-bth.ac.id

ABSTRACT

Pathogenic bacteria are bacteria that cause disease in living things (humans, plants and animals). Pathogenic bacteria can attack living organisms, especially humans with weak immune systems. Pangandaran Beach is a marine tourism attraction that is most popular with tourists. Pathogenic bacteria must not be present in the waters of marine tourism objects. The aim of this research is to isolate and identify pathogenic bacteria in the waters of Pangandaran Beach. The method used in this research is by physically measuring seawater quality including pH and temperature, as well as carrying out microbiological analysis by means of isolation and identification using Mac Conkey selective media followed by biochemical tests such as the Triple Sugar Iron Agar (TSIA) test, Sulfid Indole Motility (SIM), Simmon's Citrate (SC), Nutrient Agar (NA) slants, and catalase test. The results of this research identified several pathogenic bacteria in the waters of Pangandaran Beach, including 10% Salmonella typhi, 10% Salmonella paratyphi, 10% Klebsiella sp, 10% Pseudomonas aeruginosa and 60% Escherchia coli. The conclusion is that the bacteria identified in Pangandaran beach waters consist of Salmonella typhi, Salmonella paratyphi, Klebsiella sp, Pseudomonas aeruginosa and Escherchia coli.

Keywords: Sea water, pathogenic bacteria, biochemical tests, physics analysis

ABSTRAK

Bakteri patogen merupakan bakteri penyebab penyakit pada makhluk hidup (manusia, tumbuhan dan hewan). Bakteri patogen dapat menyerang organisme hidup terutama manusia dengan sistem imun yang lemah. Pantai Pangandaran merupakan objek wisata bahari yang paling banyak diminati oleh wisatawan. Bakteri patogen tidak boleh ada pada perairan objek wisata bahari. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri patogen yang berada di perairan Pantai Pangandaran. Metode yang dilakukan pada penelitian ini dengan melakukan pengukuran kualitas air laut secara fisika meliputi pH dan suhu, serta melakukan analisis mikrobiologi dengan cara isolasi dan identifikasi menggunakan media selektif *Mac Conkey* dilanjutkan dengan uji biokimia seperti uji *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Sulfid Indol Motility (SIM)*, *Simmon's Citrate (SC)*, *Nutrient Agar (NA)* miring, dan uji katalase. Hasil dari penelitian ini teridentifikasi beberapa bakteri patogen diperairan Pantai Pangandaran diantaranya adalah 10% *Salmonella typhi*, 10% *Salmonella paratyphi*, 10% *Klebsiella sp*, 10% *Pseudomonas aeruginosa* dan 60% *Escherchia coli*. Kesimpulan bakteri yang teridentifikasi diperairan pantai pangandaran terdiri dari *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherchia coli*.

Kata kunci : Air laut, bakteri patogen, uji biokimia, Analisis fisika

PENDAHULUAN

Pantai Pangandaran merupakan pantai terbaik di Kabupaten Pangandaran. Terletak diujung paling selatan Jawa Barat dan berbatasan dengan Samudera Hindia. Tidak heran apabila destinasi ini menjadi wisata wajib bagi wisatawan lokal maupun mancanegara. Pantai ini merupakan *icon* pariwisata Kabupaten Pangandaran dan biasanya banyak orang yang melakukan aktivitas seperti berenang, bermain bola, dan menaiki perahu (Rahma, 2018). Pantai Pangandaran tidak hanya digunakan untuk tujuan wisata, tetapi juga digunakan sebagai tempat mata pencaharian masyarakat lokal seperti nelayan, pengusaha dan pedagang di pesisir pantai Pangandaran (Komariah dkk, 2016).

Semakin meningkatnya aktivitas para wisatawan dan para penduduk maka menyebabkan ekosistem pesisir pantai dan laut menjadi terganggu dan menyebabkan pencemaran air laut. Salah satu yang dapat mencemari air laut adalah keberadaan bakteri patogen (Mallewai, 2013).

Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang Baku Mutu Wisata Bahari mencantumkan bahwa kawasan wisata bahari harus bebas dari bakteri penyebab penyakit (patogen).

Bakteri patogen adalah bakteri penyebab penyakit pada makhluk hidup (manusia, tumbuhan dan hewan). Salah satu bakteri patogen adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Putri (2019), menemukan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas monteilii*, dan *Pseudomonas fluorescens* di Perairan Laut Dumai.

Keberadaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada air laut disebabkan oleh aktivitas manusia, lalu lintas perahu, dan limbah (domestik, industri, pengolahan ikan, dan lain-lain). Sehingga bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bisa tumbuh dan berkembang biak di air laut (Dirjen PRL, 2020).

Berdasarkan gambaran di atas, peneliti tertarik untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri patogen gram negatif pada perairan Pantai Pangandaran.

BAHAN DAN METODE

Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah Alat gelas, Neraca analitik (Ohaus), BSC (1300 Series A2), Autoclave (memmert), Inkubator (Memmert), Dry Sterilisator (Corona ZTP80A.7), pH meter (Hanna), thermometer.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah media MC (Himedia), Media SIM (Oxoid), Media TSIA (Oxoid), Media SC (Oxoid), media TSB (Oxoid), media NA (Oxoid).

Metode yang dilakukan pada penelitian ini dengan melakukan pengukuran kualitas air laut secara fisika meliputi pH dan suhu, serta melakukan analisis mikrobiologi dengan cara isolasi dan identifikasi menggunakan media selektif *Mac Conkey* dilanjutkan dengan uji biokimia seperti uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfid Indol Motility* (SIM), *Simmon's Citrate* (SC), *Nutrient Agar* (NA) miring, dan uji katalase. Penentuan lokasi dan titik pengambilan sampel penelitian ini ditentukan dengan cara *purposive sampling* yang merujuk pada kondisi lingkungan di pesisir Pantai Barat Pangandaran. Lokasi untuk pengambilan sampel dilakukan di 5 titik yang berbeda dengan kedalaman 50 cm dan waktu pengambilan pukul 08.00 - 09.00 WIB pagi.

HASIL DAN DISKUSI

Gambaran Umum Lokasi Sampling

Lokasi pengambilan sampel terletak di daerah pantai barat karena wilayah pantai tersebut merupakan daerah yang dapat dipergunakan untuk berenang sehingga banyak aktivitas yang terjadi dilokasi tersebut (Kurniasih *et al.*, 2020). Kriteria titik yang dipergunakan untuk pengambilan sampel adalah sebagai berikut: banyaknya aktifitas orang berenang, dekat dengan perahu pariwisata dan dekat dengan saluran pembuangan limbah (perhotelan, rumah tangga, dan lain-lain).

Sampel diambil pada pukul 08.00-09.00 WIB dengan kedalaman 50 cm (SNI 6964.8:2015).

Analisis Secara Fisika

Observasi dilakukan bersamaan dengan pengambilan sampel dengan parameter pemeriksaannya adalah suhu dan pH (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengukuran pH dan suhu

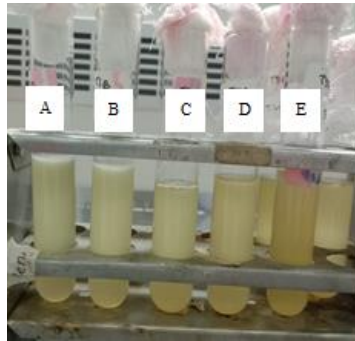
	Titik 1	Titik 2	Titik 3	Titik 4	Titik 5
pH	8,6	8,7	8,7	8,6	8,6
Suhu (°C)	29	29	29	30	30

Keberadaan bakteri pada air laut sangat didukung oleh pH dan suhu lingkungan yang optimum. Pengukuran suhu yang dilakukan didapat bahwa nilai suhu yang cukup untuk pertumbuhan bakteri, yaitu berkisar antara 29-30°C (Safitriani, Dkk, 2017). Pada umumnya bakteri dapat hidup dan berkembang biak pada pH 5,5-9,0. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai pH 8,6-8,7, pH ini cukup untuk pertumbuhan bakteri. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Masdini (2017) yang menemukan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada suhu antara 30-30,7 °C dan pH antara 6-8 di perairan Laut Dumai. Teknik penentuan pH sesuai dengan SNI 06-6989.11-2019,7, sedangkan teknik penentuan suhu menggunakan SNI 06-6989.23.2005,7.

Analisis secara Mikrobiologi

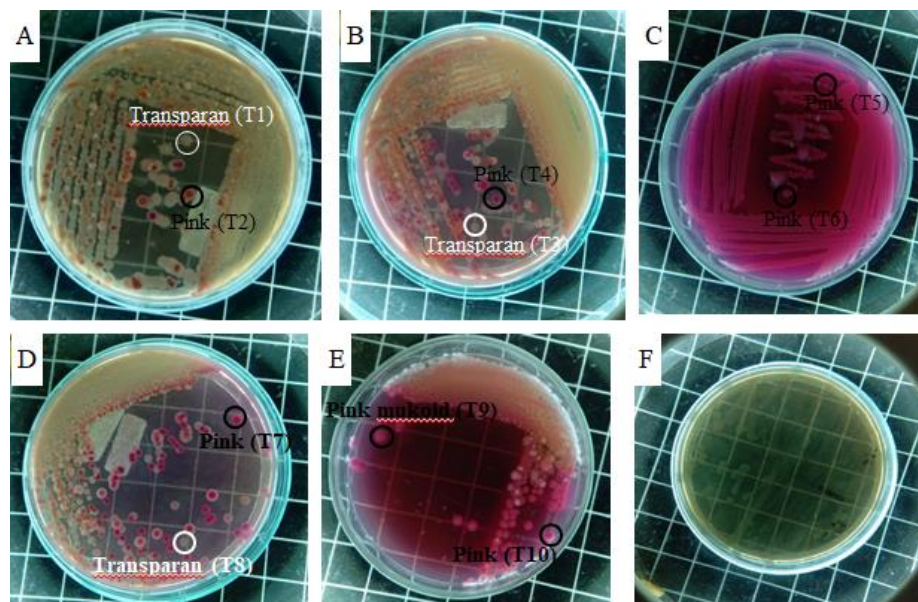
Media *Trypticase Soy Broth* (TSB) yang merupakan media *enrichment* dipergunakan sebagai suspensi untuk mengembangbiakkan bakteri. Media TSB dapat digunakan untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri terutama bakteri aerob dan fakultatif aerob. Di dalam media TSB terdapat enzim yang bersifat mencerna kasein dan *soyben* untuk menyediakan asam amino dan substansi nitrogen lainnya. Medium TSB mengandung glukosa dalam bentuk dekstrosa sebagai sumber energi dan melindungi keseimbangan osmotik. Mengandung NaCl sebagai agen dan kalium fosfat sebagai buffer untuk menjaga

keseimbangan pH (Arianda, 2016). Adanya pertumbuhan bakteri pada media TSB ditandai dengan adanya perubahan media dari bening menjadi keruh (Gambar 1)



Gambar 1. Pertumbuhan Bakteri dalam media TSB berdasarkan titik pengambilan. (A) Titik 1, (B) titik 2, (C) titik 3, (D) titik 4, (E) titik 5

Kultur bakteri dari Media TSB dipindahkan kedalam media MC menggunakan metode *4-ways streak* sesuai dengan titiknya masing-masing. Media MC ini digunakan karena merupakan media selektif untuk mengisolasi bakteri Gram negatif. Medium ini mengandung garam empedu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Arianda, 2016).



Gambar 2. Koloni bakteri pada media MC. (A) titik 1, (B) titik 2, (C) titik 3, (D) titik 4, (E) titik 5, (F) kontrol

Isolasi bakteri Gram negatif pada media MC terdapat dua sifat koloni yang tumbuh diantaranya non laktosa fermenter (transparan) dan laktosa fermenter (*pink*) (Gambar 2). Warna koloni yang tumbuh berbeda karena media MC mengandung laktosa dan indikator warna (*neutral red*) sehingga dapat membedakan bakteri yang memfermentasikan laktosa dengan bakteri yang tidak dapat memfermentasikan laktosa. Sifat koloni non laktosa fermenter menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat memfermentasikan laktosa yang terkandung pada media MC ditandai dengan warna koloni yang transparan dan mediana berwarna kuning. Sedangkan untuk sifat koloni laktosa fermenter menunjukkan bakteri yang memfermentasikan laktosa sehingga warna koloni dan mediana berwarna *pink* (Arianda, 2016).

Analisis dilanjutkan dengan mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada media MC dengan melakukan pemeriksaan morfologi koloni dan uji biokimia. Pengamatan yang dilakukan meliputi warna, bentuk, tepian koloni, elevasi atau permukaan koloni dan struktur dalam koloni. Hasil identifikasi koloni bakteri pada media MC dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik koloni bakteri pada media MC

Kode	Warna	Tepian	Bentuk	Elevasi	Ukuran	Sifat	Tersangka
T1	Transparan	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	NLF	<i>Pseudomonas sp</i>
T2	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	LF	<i>Eschericia sp</i>
T3	Transparan	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	NLF	<i>Pseudomonas sp</i>
T4	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	LF	<i>Eschericia sp</i>
T5	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Kecil	LF	<i>Eschericia sp</i>
T6	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	LF	<i>Eschericia sp</i>
T7	Transparan	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	NLF	<i>Pseudomonas sp</i>
T8	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	LF	<i>Eschericia sp</i>
T9	Pink Mukoid	Rata	Bulat	Cembung	Kecil	LF	<i>Klebsiella sp</i>
T10	Pink	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	LF	<i>Eschericia sp</i>
Kontrol	Transparan , pigmen hijau	Rata	Bulat	Cembung	Sedang	NLF	<i>Pseudomonas sp</i>

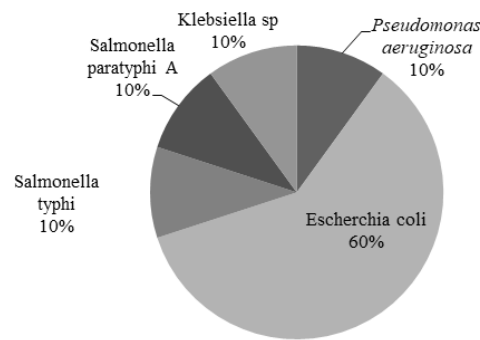
Keterangan: LF = Laktosa Fermenter
NLF = Non Laktosa Fermenter

Uji biokimia dilakukan untuk mengkonfirmasi koloni yang dihasilkan dari media MC sesuai dengan Tabel 2. Uji biokimia digunakan untuk melihat aktivitas metabolisme mikroorganisme dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia dan kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia

Kode	TSIA	SIM	SC	AN	Katalase	Tersangka
T1	M/M, H ₂ S (-), G (-)	-, -, +	+	Terdapat pigmen hijau	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
T2	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
T3	K/M, H ₂ S (+), G (-)	+, -, +	-	Tidak ada pigmen hijau	+	<i>Salmonella typhi</i>
T4	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
T5	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
T6	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
T7	K/M, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	+	Tidak ada pigmen hijau	+	<i>Salmonella paratyphi A</i>
T8	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
T9	K/K, H ₂ S (-), G (+)	-, -, -	+	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Klebsiella pneumonia</i>
T10	K/K, H ₂ S (-), G (-)	-, +, +	-	Tidak ada pigmen hijau	-	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol	M/M, H ₂ S (-), G (-)	-, -, +	+	Terdapat pigmen hijau	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 3. didapatkan beberapa jenis bakteri pada sampel air laut Pantai Barat Pangandaran. Pada titik 1 (T1 dan T2) ditemukan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*, pada titik 2 (T3 dan T4) ditemukan bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*, pada titik 3 (T5 dan T6) ditemukan bakteri *Escherichia coli*, pada titik 4 (T7 dan T8) ditemukan bakteri *Salmonella paratyphi A* dan *Escherichia coli* dan pada titik 5 (T9 dan T10) ditemukan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella sp.* Sehingga didapatkan presentase keberadaan bakteri sesuai dengan gambar 3.



Gambar 3. Persentase keberadaan bakteri pada air laut Pantai Pangandar

Keberadaan bakteri kelompok *Enterobacteriaceae* merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang yang habitat alaminya berada pada sistem usus manusia dan hewan. Keluarga *Enterobacteriaceae* meliputi banyak jenis diantaranya bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella sp*, dan lain-lain

Bakteri *Escherichia coli* ditemukan hampir pada semua titik pengambilan sampel. Bakteri *Escherichia coli* ini merupakan bakteri Gram negatif yang berhabitat diusus besar makhluk berdarah panas, bersifat patogen dan dijadikan bakteri bioindikator pencemaran lingkungan. Bakteri *Escherichia coli* berasal dari kotoran hewan atau manusia yang masuk ke perairan laut melalui saluran-saluran pembuangan limbah. Dalam penelitian terdapat 2 saluran pembuangan limbah yang langsung merujuk ke pantai, sehingga air limbah bercampur dengan air laut. Menurut PPRI tentang Baku Mutu Wisata Bahari mencantumkan keberadaan bakteri *Escherichia coli* di perairan wisata bahari tidak boleh lebih dari 1000 CFU/100 mL.

Bakteri *Salmonella sp* ditemukan di dua titik pengambilan sampel di titik 2 dan titik 4 dengan karakteristik sama terdapat saluran limbah yang langsung merujuk ke pantai. Bakteri *Salmonella sp* ini termasuk bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia. Pada titik 2 ditemukan bakteri *Salmonella typhi* dengan karakteristik termasuk bakteri Gram negatif, koloni pada media MC bulat, rata, transparan, sedang, dan non laktosa fermenter. Hasil uji biokimianya yaitu uji katalase positif, bersifat motil, memproduksi H₂S, tidak menghasilkan indol, tidak

menghasilkan gas, tidak memproduksi sitrat, pada uji TSIA didapatkan hasil *slant* alkali dan *butt* asam. Sedangkan pada titik 4 ditemukan bakteri *Salmonella paratyphi A* dengan karakteristik termasuk Gram negatif, koloni pada media MC bulat, rata, transparan, sedang, dan non laktosa fermenter. Hasil uji biokimianya yaitu uji katalase positif, bersifat motil, tidak memproduksi H₂S, tidak menghasilkan indol, tidak menghasilkan gas, memproduksi sitrat, pada uji TSIA didapatkan hasil *slant* alkali dan *butt* asam.

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ditemukan pada titik ke 5. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri oportunistik yang menginfeksi manusia dan hewan. Bakteri ini menyebabkan pneumonia, menginfeksi saluran kemih dan infeksi nosokomial. Habitatnya terdapat pada manusia, hewan, air, limbah, dan air tanah yang tercemar. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki karakteristik termasuk bakteri Gram negatif, koloni pada media MC bulat, rata, pink mukoid, sedang, dan laktosa fermenter. Hasil uji biokimianya yaitu uji katalase negatif, bersifat non-motil, tidak memproduksi H₂S, tidak menghasilkan indol, tidak menghasilkan gas, memproduksi sitrat, pada uji TSIA didapatkan hasil *slant* alkali dan *butt* asam.

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai ciri-ciri berbentuk batang, berwarna merah, pada media MC koloni bulat, sedang, transparan, rata, non laktosa fermenter. Pada media NA miring terdapat pigmen hijau atau *pyocyanin* yang merupakan pigmen khas yang diproduksi oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Karakteristik uji biokimia yang dihasilkan yaitu katalase positif, produksi indol, bersifat motil, uji TSIA didapatkan hasil *slant* berwarna merah dan *butt* berwarna merah dan tidak terjadi pembentukan gas dan H₂S. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik yang artinya penyakit yang disebabkan bakteri pada manusia dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Bakteri ini penyebab utama infeksi pneumonia nosokomial. Meskipun begitu bakteri ini dapat berkolonisasi pada manusia normal tanpa menyebabkan penyakit. Selain itu

Pseudomonas aeruginosa dapat menyebabkan penyakit terlokalisasi dan sistemik. Menurut Masdini (2017), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berada di Perairan Laut disebabkan oleh aktivitas manusia, limbah organik, polutan kimia, minyak dan lain-lain.

Keberadaan bakteri patogen selain bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berhasil diidentifikasi pada sampel air laut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Edho (2018), dalam penelitiannya menemukan bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, dan *Salmonella sp* di Air Laut Pulau Barrang.

Padahal menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 22 tahun 2021 tentang Baku Mutu Wisata Bahari menyebutkan bahwa tidak boleh ada bakteri patogen di kawasan wisata bahari.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri yang teridentifikasi diperairan pantai pangandaran terdiri dari *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Agar kualitas air laut selalu terjaga perlu dilakukan uji kualitas baku mutu air laut secara menyeluruh di perairan Pantai Pangandaran sesuai Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 22 Tahun 2021 tentang Baku Mutu Air Laut Wisata Bahari.

REFRENSI

- Arianda, D. (2016). *Buku Bakteriologi*. Jakarta: AM-publishing
- Badan Standarisasi Nasional. (2005). Cara uji suhu dengan termometer. *SNI 06-6989.23.2005*, 7.
- Badan Standarisasi Nasional. (2015). Metode pengambilan contoh uji air laut. *SNI 6964.8.2015*.
- Badan Standarisasi Nasional. (2019). Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. *Sni 06-6989.11-2019*, 7.

- Ditjen PRL. (2020). *Keputusan Direktur Jenderal Pengelolaan Ruang Laut Nomor 28 Tahun 2021 tentang Pedoman Teknis Evaluasi Efektivitas Pengelolaan Kawasan Konservasi*. 49.
- Edho, R. C. (2018). Identifikasi Bakteriologis Pada Air Laut Pulau Barrang Lompo Kecamatan Kepulauan Sangkarrang Kota Makassar. *Pakistan Research Journal of Management Sciences* 7(5):1-2.
- Komariah, Kokom, and Priyo Subekti. (2016). Peran Humas Dalam Pengembangan Kawasan Pantai Pangandaran Sebagai Ekowisata Melalui Kearifan Lokal Masyarakat Pangandaran. *Jurnal Kajian Komunikasi* 4(2):172. doi: 10.24198/jkk.v4i2.7741.
- Kurniasih, I., Atikah, N., Lantun, P. D., Achmad, R. (2020). Potensi Wisata Bahari Di Kabupaten Pangandaran. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* 10(1):8-19.
- Mallewai, I. (2013). Perilaku Masyarakat Pesisir Terhadap Pengelolaan Lingkungan Hidup di Pantai Teluk Palu Provinsi Sulawesi Tengah. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sam Ratulangi.
- Masdini, A. (2017). Densitas Bakteri *Pseudomonas* sp dan Bakteri Heterotrofik Di Perairan Laut Dumai, Provinsi Riau. *Universitas Riau*, 1(69), 9-10.
- Peraturan Pemerintah. (2021). Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup. *Sekretariat Negara Republik Indonesia*, 1(078487A), 483.
- Putri, A. I. (2019). "Karakteristik Genotip Bakteri *Pseudomonas* Sp Yang Diisolasi Dari Perairan Laut Dumai." 45(45):95-98.
- Rahma, A. M. (2018). Analisis Kepuasan Wisatawan Dalam Melakukan Aktivitas Wisatawan Pantai Pangandaran. *Jurnal Manajemen Resort Dan Leisure*, 15(1), 75-78.
- Safitriani, A.T., Elvi, Y., Suryani., & Yopi. (2017). "Pertumbuhan Optimal Bakteri Laut *Pseudomonas Aeruginosa* LBF-1-0132 Dalam Senyawa Piren." *Jurnal Biologi Indonesia* 13(1):107-16. doi: 10.47349/jbi/13012017/107.

PENGOBATAN SOIL TRANSMITTED HELMINTHS DENGAN RESPON IMUN CEPAT RAPID TES IGE SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK TEH HITAM DI SOCAH BANGKALAN MADURA

Dwi Aprilia Anggraini^{1*} · Dwi Nur Hidayanti¹ · Nurul Hikmah¹ ·
Nia Ramadhani Putri¹

¹D-III Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudia Husada Madura,
Jawa Timur, Indonesia

e-mail: dwiapriliaanggraini2021@gmail.com
No Tlp WA : 082141414952

Abstract

Indonesia is a country with a history of very high helminth infections and a higher risk of contracting STH (Soil Transmitted Helminth) disease. Researchers use black tea extract because it contains phenolics. Problem Formulation : Does the formulation of black tea extract in the preparation have good antimicrobial effectiveness as an immunomodulator in worm patients and How is the antimicrobial effectiveness in various formulations of black tea extract in this research preparation aims to determine the reaction of immunoglobulin E in worm patients after administration of tea extract black. for the manufacture of the extract, the researchers used the maceration method with 96% ethanol solvent which yielded 40 ml, then the treatment on 16 week old white mice weighing 20 grams, the mice were divided into 2 groups, where group 1 consisted of 15 mice which were given black tea extract in 0.5% CMC Na while in group 2 consisted of 15 white mice which were only given 0.5% CMC Na as a dick. then every 2 weeks for 6 weeks, immunoglobulin E is examined. The results of the experiment using mice (Mus musculus) after being given feed mixed with Taenia saginata eggs, positive results were obtained for worm eggs, while random examinations with blood samples of farmers obtained positive IgE results. where after giving black tea extract the allergic response to helminthiasis decreased. Black tea extract has an effect on the immune globulin E response in worm patients.

Keywords : Black tea (*Camellia sinensis*), White mice, IgE. immune response

Abstrak

Indonesia negara dengan riwayat infeksi kecacingan sangat tinggi dan resiko lebih tinggi terjangkitnya penyakit STH (Soil Transmitted Helminth). Peneliti menggunakan ekstrak teh hitam karena mengandung fenolik. Rumusan Masalah : Apakah formulasi ekstrak teh hitam dalam sediaan memiliki efektivitas anti mikroba yang baik sebagai imunomodulator pada penderita kecacingan dan Bagaimana efektivitas anti mikroba pada variasi formulasi ekstrak teh hitam dalam sediaan. Tujuan untuk mengetahui reaksi imunoglobulin E pada penderita kecacingan setelah pemberian ekstrak teh hitam. Pembuatan ekstrak, peneliti menggunakan metode maserasi pelarut etanol 96%, hasil rendamannya 40 ml, perlakuan pada mencit putih berusia 16 minggu dengan bobot 20 gram. Mencit dibagi 2 kelompok, kelompok 1 yaitu 15 ekor mencit diberikan ekstrak teh hitam dalam CMC Na 0,5% sedangkan kelompok 2 yaitu 15 ekor mencit putih yang hanya diberikan CMC Na 0,5% sebagai kontrol. Setiap 2 minggu sekali dalam 6 minggu dilakukan pemeriksaan imunoglobulin E. Hasil penelitian pada percobaan menggunakan mencit (*Mus musculus*) setelah diberikan pakan bercampur telur *Taenia saginata* didapatkan hasil positif telur cacing, sedangkan pada pemeriksaan acak dengan sampel darah para petani peternak didapatkan hasil positif IgE dimana setelah pemberian ekstrak teh hitam adanya respon alergi kecacingan yang menurun. ekstrak teh hitam berpengaruh dalam respon imunoglobulin E pada penderita kecacingan.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki iklim tropis, kecacingan masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dengan populasi yang sangat tinggi, resiko lebih tinggi untuk terjangkitnya penyakit SHT (*Soil Transmitted Helminth*) terjadi pada karsa atau golongan masyarakat yang kurang mampu. Di Indonesia sendiri untuk persentase terjangkitnya kecacingan kurang lebih berkisar 45-65%, bahkan di wilayah-wilayah tertentu yang mungkin lingkungannya buruk jauh lebih besar persentase terjangkitnya penyakit (Ulum et al., 2016). Mikroorganisme atau mikroba merupakan organisme hidup yang berukuran sangat kecil (diameter kurang dari 0,1mm) dan hanya dapat diamati dengan menggunakan mikroskop. Mikroorganisme ada yang tersusun atas satu sel (uniseluler) dan ada yang tersusun beberapa sel (multiseluler). Organisme yang termasuk ke dalam golongan mikroorganisme adalah bakteri, archaea, protozoa, alga mikroskopis, dan virus. Parasit adalah mikroorganisme yang hidup dan menggantungkan hidup dari organisme lain. Sebagian parasite tidak berbahaya, sedangkan sebagian lain dapat hidup dan berkembang didalam tubuh manusia kemudian menyebabkan infeksi (Yusmaniar et al., 2017).

SHT (*Soil Transmitted Helminth*) cacing golongan nematoda yang memerlukan tanah untuk perkembangan bentuk infeksinya. Di Indonesia golongan cacing yang paling penting dan menyebabkan masalah kesehatan masyarakat *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trihiura*, dan cacing tambang: *Necator americanus* dan *Ancylostoma duodenale* (Atikah, 2013). Dari penelitian terdahulu, Provinsi Sumatra Utara merupan daerah yang terdata kecacingan tertinggi berkisar 85% dengan rincian cacing *Trichuris trihiuria* 17,74%, *Ascaris lumbricoides* 17,75%, dan cacing Hookworm 6,46%, untuk NTB 83,5%, dan pada angka nasional Indonesia mencapai 28,21% (Efendi et al., 2020). Infeksi kecacingan pada anak sekolah memberikan dampak yang kurang baik. Dampak infeksinya berupa kurangnya darah (anemia), lemas, mengantuk, malas belajar, IQ menurun, produktivitas menurun, terganggunya perkembangan fisik, dan mental serta kekurangan gizi (Sianipar et al., 2021).

Faktor-faktor yang dapat menyebabkan terjadinya resiko terjangkitnya penyakit kecacingan pada anak sekolah dasar yakni dapat melalui makanan yang terkontaminasi oleh telur cacing, berjalan nyeker, kebiasaan membuang air besar (BAB) di sembarang tempat, kebiasaan mencucitangan yang kurang tepat, kebersihan kuku, dan lain-lain (Mujipradhana, 2018). Kemampuan alergen lingkungan menstimulasi respons imunoglobulin E (IgE) dan akhirnya menimbulkan penyakit alergi cenderung menutupi kenyataan bahwa parasit cacing merupakan inducer paling poten dari imunoglobulin ini (Maligan et al., 2016). Meskipun terdapat perdebatan tentang hubungan antara infeksi cacing dan respons IgE terdapat bukti bahwa antibodi IgE merupakan komponen penting dari perlindungan kekebalan tubuh terhadap parasit ini. Edukasi sistem imun oleh mikroba dan parasit tertentu diduga dapat Universitas Sumatera Utara mencegah

2 perkembangan penyakit inflamasi. Penurunan infeksi dengan adanya peningkatan layanan kesehatan dan higiene individu serta berkurangnya paparan oleh mikroorganisme akibat urbanisasi menyebabkan kurangnya stimulasi sistem imun. Terdapatnya kemiripan antara respons imun terhadap parasit cacing dan penyakit alergi yang diperantarai IgE menimbulkan diskusi tentang hubungan antara parasit dan alergi. Terdapat 5 kemungkinan: cacing sebagai proteksi, (2) cacing menyebabkan alergi, (3) penderita alergi lebih resisten terhadap cacing, (4) penderita alergi lebih rentan terhadap cacing, atau (5) tidak ada hubungan sebab akibat (Delfita, 2014). Upaya pencegahan dan penanggulangan kecacingan pada masyarakat dengan cara meningkatkan pengetahuan kesehatan, pola hidup bersih, dalam penelitian ini menggunakan ekstrak teh hitam untuk pencegahan dan pengobatan STH untuk petani peternak di Socah Bangkalan Madura (Himawan et al., 2015).

Rumusan masalah dari penelitian ini di antaranya:

1. Apakah formulasi ekstrak teh hitam dalam sediaan memiliki efektivitas anti mikroba yang baik sebagai imunomodulator pada penderita kecacingan?
2. Bagaimana efektivitas anti mikroba pada variasi formulasi ekstrak teh hitam dalam sediaan ?

Manfaat dari penelitian ini di antaranya:

1. Sebagai upaya pemanfaatan teh hitam sebagai pengobatan cacingan yang di uji dengan adanya tes IgE sebagai respon imun.
2. Sebagai kandidat produk sediaan tes IgE, sebagai respon imun setelah pemberian ekstrak teh hitam.
3. Sebagai sumber informasi ilmiah bagi masyarakat mengenai pemanfaatan teh hitam sebagai pengobatan kecacingan.

BAHAN DAN METODE

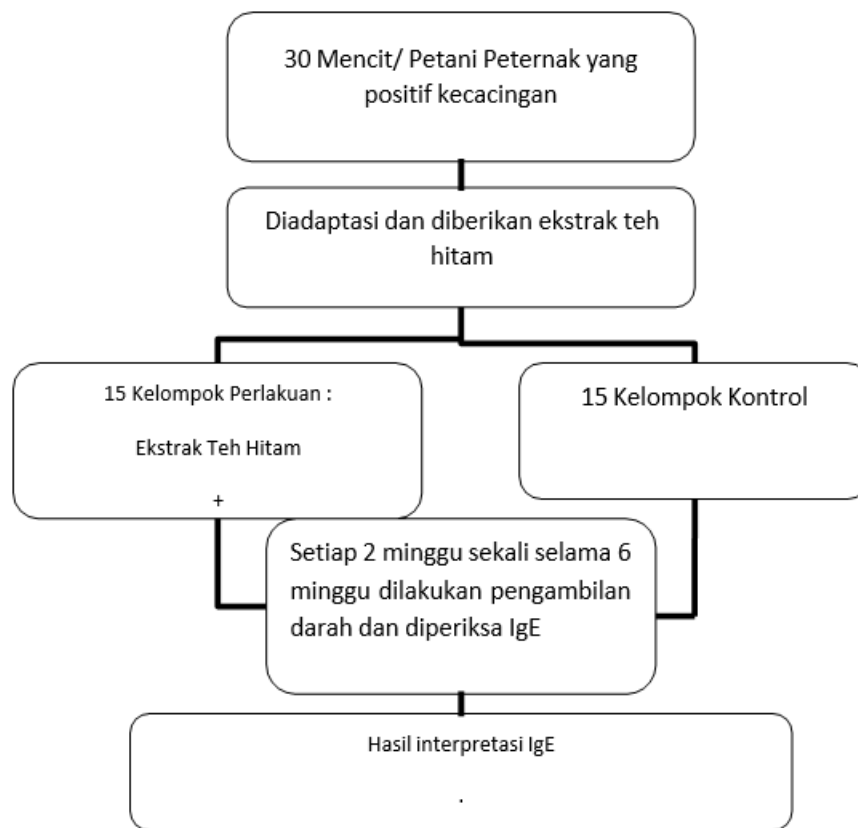
Alat dan bahan yang digunakan yakni, timbangan digital (Adventurer Ohaus, Ohaus corp. Pine Brook, NJ, USA) untuk menimbang ekstrak dan CMC Na 0,5 % serta penimbangan berat badan mencit menggunakan timbangan digital (ACIS). Seperangkat alat bedah yaitu gunting, pinset, skapel, box pendingin. Pemberian ekstrak dan CMC Na 0,5 % intragastrik dengan alat sonde intragastrik, spuit disposable 1 ml dan 3 ml. Untuk pembuatan larutan suspensi ekstrak dan CMC Na 0,5 % diperlukan mortir dan alat penggerus, pemanas inkubator, gelas ukur, erlenmeyer, beaker gelas dan kandang percobaan.

Prosedur penelitian di antaranya sebagai berikut: Teh Hitam (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) yang tumbuh di beberapa daerah yang ada di Asia. Koleksi

simplisia meliputi pemilihan daun secara acak, pengeringan daun menjadi serbuk kering, penyaringan dan penguapan hingga diperoleh ekstrak etanolnya. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) dewasa. Sebanyak 30 mencit berusia 16 minggu dengan berat badan rata-rata 20gram dibagi menjadi 2 kelompok (kelompok penelitian yaitu 15 ekor kelompok pemberian ekstrak Teh Hitam dilarutkan dalam CMC Na 0,5% dan 15 ekor kelompok pemberian kontrol CMC Na 0,5%).

Tahap Ekstraksi Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Ekstrak teh hitam Tanaman *Camellia sinensis* yang akan diberikan pada hewan coba disuspensikan dalam air hangat suhu 80 derajat Celcius, dengan suspending agen CMC Na 0.5% dalam mortir. Pembuatan larutan CMC Na 0,5%. Pembuatan larutan CMC Na 0,5% dengan cara mencampur kan CMC Na 0,5 g dalam aquades tilata hangat sebanyak 100ml lalu diaduk dengan mortarstirer sampai larut. Perlakuan dilakukan pada 30 mencit (*Mus musculus*) dewasa berusia 16 minggu dengan berat badan rata-rata 19 - 20gram. Setelah masa adaptasi hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 15 ekor kelompok pemberian ekstrak teh 7 hitam dilarutkan dalam CMC Na 0,5% dan 15 ekor kelompok pemberian kontrol CMC Na 0,5%.

Pengelompokan hewan coba dalam kotak kandang sesuai dengan kelompok perlakuan dan kontrol. Pemberian ekstrak teh hitam pada kelompok perlakuan dan CMC Na 0,5% pada kelompok kontrol setiap hari selama enam minggu. Pemberian ekstrak dilakukan secara intragastrik dan pemberian CMC Na 0,5%. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan Interleukin pada organ jantung dengan pemeriksaan imunohistokimia. Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan analisa untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan terhadap perubahan yang diamati.



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

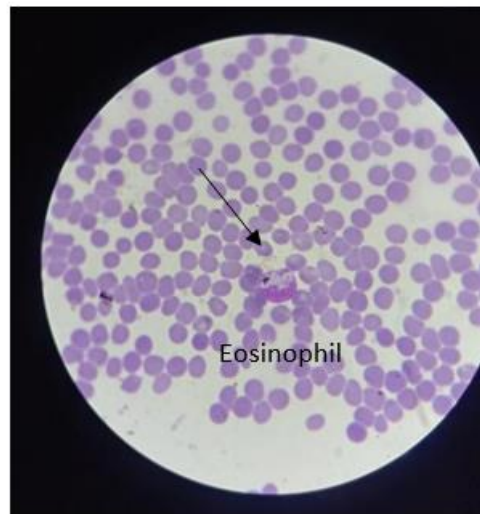
HASIL

Hasil penelitian seperti terdapat pada Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa:

1. **Metode Maserasi:** Metode maserasi yang digunakan dalam pembuatan ekstrak teh hitam menghasilkan rendemen sebesar 40ml, yang menunjukkan efisiensi metode tersebut dalam mengekstrak komponen-komponen yang diinginkan dari teh hitam.
2. **Pengaruh Ekstrak Teh Hitam pada Mencit:** Dalam percobaan dengan mencit (*Mus musculus*), dua kelompok berbeda diberikan perlakuan. Kelompok pertama, yang diberi ekstrak teh hitam dalam CMC Na 0,5%, menunjukkan penurunan jumlah telur cacing *Taenia saginata* yang positif setelah diberikan pakan yang tercemar telur cacing. Kelompok kedua, yang

hanya diberikan CMC Na 0,5% sebagai kontrol, tidak menunjukkan penurunan yang signifikan, yang menunjukkan bahwa ekstrak teh hitam mungkin memiliki efek positif dalam mengurangi infeksi cacing pada mencit.

3. **Pengaruh Ekstrak Teh Hitam pada Petani Peternak:** Petani peternak yang diberikan minuman teh hitam selama 3 hari menunjukkan penurunan respon alergi terhadap cacing, yang ditunjukkan dengan penurunan tingkat IgE positif dalam sampel darah mereka, mengindikasikan bahwa konsumsi teh hitam membantu mengurangi respon alergi terhadap cacing pada manusia.



Gambar 2. Eosinofil 1



Gambar 3. Telur *Taenia Saginata* Penyeba 1 (Kiri), Larva Filariform Bersifat Perk (Kanan)

DISKUSI

Hasil penelitian ini memberikan temuan dalam dua aspek utama. Pertama, dalam konteks pembuatan ekstrak teh hitam, metode maserasi terbukti efisien dalam menghasilkan rendemen yang tinggi, yang menandakan potensi metode ini dalam produksi ekstrak teh hitam dalam skala besar. Kedua, dalam konteks kesehatan, hasil percobaan dengan mencit dan petani peternak mengindikasikan konsumsi ekstrak teh hitam berhubungan dengan penurunan infeksi cacing dan penurunan respon alergi terhadap cacing. Temuan ini mendukung penelitian lebih lanjut dalam mengidentifikasi komponen aktif dalam teh hitam yang bertanggung jawab atas efek-efek ini.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan beberapa hal. Pertama, metode maserasi yang digunakan dalam pembuatan ekstrak teh hitam menghasilkan rendemen sebesar 40ml. Selanjutnya, dalam percobaan menggunakan mencit (*Mus musculus*), kelompok yang diberikan ekstrak teh hitam

dalam CMC Na 0,5% menunjukkan penurunan jumlah telur cacing *Taenia saginata* yang positif setelah diberikan pakan yang tercemar telur cacing. Hal ini menandakan bahwa ekstrak teh hitam mungkin memiliki efek positif terhadap infeksi cacing pada mencit.

Selain itu, pada petani peternak yang diberikan minuman teh hitam selama 3 hari, terdapat penurunan respon alergi terhadap cacing, yang ditunjukkan dengan penurunan tingkat IgE positif dalam sampel darah mereka. Ini mengindikasikan bahwa konsumsi teh hitam mungkin membantu mengurangi respon alergi terhadap cacing pada manusia.

Secara keseluruhan, penelitian ini memberikan temuan tentang potensi penggunaan ekstrak teh hitam dalam mengurangi infeksi cacing dan dampak alergi terkait cacing pada manusia. Namun, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi potensi manfaat kesehatan lebih lanjut dari teh hitam.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ucapkan terimakasih kepada PT Sekolah Ilmu Kesehatan Ngudia Husada Madura, yang telah memberikan hibah dan support dalam pelaksanaan penelitian ini. Terwujudnya penelitian ini tidak lepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak, di antaranya: Dr. Hasin Dien, S.Kep. Ns., M.Kep selaku Ketua STIKes Ngudia Husada Madura, drh. Dwi Aprilia, M. Vet selaku Dosen Pembimbing penelitian riset esakta, Qurrotul Aini, S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dosen S1 Keperawatan, Rahmad Wahyudi, S.Kep.,Ns.,M.AP.,M.Kep selaku Dosen S1 Keperawatan, Norma Farizah Fahmi, S.ST.,M.Imun selaku kepala prodi D3 Analisis Kesehatan, Devi Anggraini Putri, S.Si.,M.Si.selaku Dosen Analisis Kesehatan, Dhimas Pramayoga Sinatra, A.Md.Kes selaku Dosen Analisis Kesehatan, Bapak atau Ibu Dosen dan Staff STIKes Ngudia Husada Madura yang telah memberikan semangat dan dorongan moral kepada peneliti untuk penyelesaian PKM- Riset Esakta.

REFRENSI

- Atikah, N. (2013). *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/24317>
- Efendi, R., Adriansyah, A. A., & Ibad, M. (2020). Hubungan Personal Hygiene dengan Kejadian Scabies Pada Santri di Pondok Pesantren. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 15(2), 25. <https://doi.org/10.26714/jkmi.15.2.2020.25-28>
- Himawan, V. B., Endharti, A. T., & Rahayu, I. D. (2015). Uji Daya Antihelminik Dekok Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Ascaris suum* secara In Vitro. *Majalah Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*, 2(1), 1-7. <https://majalahfk.ub.ac.id/index.php/mkfkub/article/view/47>
- Maligan, J. M., Adhianata, H., & Zubaidah, E. (2016). Production and Identification of Antimicrobial Compounds from Microalgae *Tetraselmis chuii* with Ultrasound Assisted Extraction Method (Study Type of Solvent and Total Cycle Extraction). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 17(3), 203-212. <https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/view/585/910>
- Mujipradhana, V. N. (2018). AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK ASCIDIAN *Herdmania momus* PADA MIKROBA PATOGEN MANUSIA. *Pharmacon*, 7(3), 338-347. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/pharmacon/article/view/20601/20212>
- Sianipar, E., Ridwan, M., Ibnu, I. N., Guspianto, G., & Reskiaddin, L. O. (2021). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Cuci Tangan Pakai Sabun (CTPS) pada Mahasiswa Universitas Jambi Selama Pandemi COVID-19. *Jurnal Kesmas Jambi*, 5(2), 55-62. <https://doi.org/10.22437/jkmj.v5i2.13693>
- Ulum, A. N., Ulfah, M., & Sasmito, E. (2016). Uji Aktivitas Immunomodulator Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha Terhadap Fagositosis Makrofag Mencit Galur Balb/C Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*, 13(2), 24-31. <https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/Farmasi/article/view/1696/1767>
- Yusmaniar, Y., Wardiyah, W., & Nida, K. (2017). *Bahan Ajar Farmasi: Mikrobiologi dan Parasitologi* (1st ed.). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

<https://library.unibba.ac.id/2020/06/24/mikrobiologi-dan-parasitologi-keperawatan/>

PENURUNAN KADAR Fe^{2+} DENGAN PENAMBAHAN SPON OYONG (*Luffa acutangula*) MENGGUNAKAN VARIASI LAMA PEMANASAN

Andriana Kusuma Putri¹ · Stefano Argyata Pradana^{2*} · Lintang Fajar Dwi Amanda³

^{1,2,3}Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Surakarta, Central Java, Indonesia
e-mail: stefanoargyatapradana@gmail.com
WhatsApp Phone Number : +62 82144635701

Abstract

Clean water must be free from bacterial contamination, chemical substances, and toxic substances. High levels of iron in water should be considered in the provision of clean water for the community, as excessive iron in the body can have toxic effects. This study aimed to determine the reduction in Fe^{2+} concentration using Chinese Okra sponge with heating duration variations. The research was conducted at the Technical Executive Unit (UPT) of Health Laboratory of Karanganyar Regency. This study used an experimental method with Chinese Okra sponge as the research subject. The Chinese Okra sponge used in this study was obtained from *Pasar Gede* Traditional Market in Surakarta. The reduction in iron concentration was determined using a UV-Vis Spectrophotometer at a maximum wavelength of 510 nm and an operating time of 10 minutes. The results of the study showed that, with the addition of 1 gram of Chinese Okra sponge and heating duration variations of 1, 2, 3, 4, and 5 minutes at 100°C, the Fe^{2+} concentrations obtained were 61.00%, 63.40%, 64.77%, 67.31%, and 69.84%, respectively. Regression analysis showed a relationship between the heating duration of Fe^{2+} solution with the addition of Chinese Okra sponge and the Fe^{2+} concentration. A longer heating duration of the Fe^{2+} solution with the addition of Chinese Okra sponge will increase the surface area for Fe^{2+} absorption by the Chinese okra sponge, leading to better binding of Fe^{2+} ions and a decrease in Fe^{2+} concentration in the solution.

Keywords: Chinese Okra Sponge, Iron, Heating, UV-Vis Spectrophotometer.

Abstrak

Air bersih harus bebas kontaminasi kuman, bebas substansi kimia dan zat beracun. Kadar besi yang tinggi pada air harus diperhatikan dalam penyediaan air bersih untuk masyarakat. Kadar besi dalam tubuh yang melebihi ambang batas menyebabkan efek toksik. Penelitian ini bertujuan mengetahui penurunan kadar larutan Fe^{2+} yang ditambahkan spon oyong dengan variasi lama pemanasan. Penelitian ini dilakukan di UPT. Laboratorium Kesehatan Kabupaten Karanganyar. Metode yang digunakan adalah eksperimental dengan subjek penelitian spon oyong. Spon oyong yang digunakan didapatkan dari Pasar Gede Surakarta. Penurunan kadar ditentukan dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 510 nm dan dengan operating time 10 menit. Hasil penelitian menunjukkan kadar besi dengan penambahan 1 gram spon oyong dan pemanasan selama 1, 2, 3, 4, dan menit pada suhu 100°C diperoleh kadar Fe^{2+} sebesar 61,00%, 63,40%, 64,77%, 67,31%, dan 69,84% dari hasil analisis regresi menunjukkan adanya hubungan antara perlakuan lama pemanasan larutan Fe^{2+} yang ditambah dengan spon oyong terhadap kadar Fe^{2+} . Semakin lama waktu pemanasan larutan Fe^{2+} dengan penambahan spon oyong akan memperluas permukaan absorben dari spon oyong sehingga dapat mengikat ion Fe^{2+} lebih baik dan menurunkan kadar Fe^{2+} dalam larutan.

Kata Kunci : Spon Oyong, Besi, Pemanasan, Spektrofotometer UV-Vis

PENDAHULUAN

Air merupakan sumber daya yang dapat diperbaharui tetapi kualitas air tanah yang ada tergantung pada sistem akifer dalam tanah dan kondisi lingkungan. Kenyataannya di lapangan dijumpai bahwa pencemaran air tanah lebih cepat dibanding upaya pengolahan air tercemar menjadi air yang memenuhi syarat sehat (Mashadi et al., 2018). Kualitas dan potensi air tanah pada suatu wilayah sangat ditentukan oleh sifat kimia air tanah serta penyebaran sistem akuifer yang dapat diketahui melalui suatu penelitian. Kualitas tersebut mencakup fisika, kimia dan biologi (Putra & Mairizki, 2019). Bahan kimia pencemar air tanah sangat beragam yang biasanya terdiri dari komponen anorganik seperti logam berat yang berbahaya. Logam berat yang paling sering dijumpai dan mencemari lingkungan adalah merkuri (Hg), timbal (Pb), tembaga (Cu), kadmium (Cd), arsenik (As), kromium (Cr), nikel (Ni) dan besi (Fe). Logam berat dapat memberikan dampak negatif terhadap manusia yang menggunakan air tersebut dan organisme yang ada di perairan (Putra & Mairizki, 2020).

Zat besi atau Fe merupakan salah satu zat gizi mikro yang berperan dalam perkembangan otak, terutama dalam sistem penghantar syaraf (Wadhani & Yogeswara, 2017). Pada proses mielinasi, zat besi dibutuhkan oleh oligodendrosit sebagai pembentuk selubung mielin agar dapat berfungsi secara optimal (Jhelum et al., 2020). Zat besi juga dibutuhkan untuk oksigenasi dan produksi energi pada parenkim serebral serta sintesis neurotransmitter. Zat besi berperan penting dalam transpor dan penyimpanan oksigen. Defisiensi zat besi secara kronis dapat menyebabkan hipoksia pada serebral dan penurunan kognitif serta terjadinya anemia kekurangan zat besi (Cherbuin et al., 2014).

Besi terlarut dalam air dapat berbentuk kation ferro (Fe^{2+}) atau kation ferri (Fe^{3+}). Hal ini tergantung kondisi pH dan oksigen terlarut dalam air. Besi terlarut dapat berbentuk senyawa tersuspensi, sebagai butir koloidal seperti $\text{Fe}(\text{OH})_3$, FeO , Fe_2O_3 dan lain-lain (Firmansyaf et al., 2013).

Apabila konsentrasi besi terlarut dalam air melebihi batas akan

menyebabkan berbagai masalah yaitu gangguan teknis berupa endapan korosif, gangguan fisik berupa timbul warna, bau, dan rasa yang tidak enak, serta gangguan kesehatan berupa menimbulkan rasa mual, merusak dinding usus, dan iritasi pada mata dan kulit (Firmansyaf et al., 2013). Menurut PERMENKES tahun 1990 menyatakan bahwa batas maksimum yang diperbolehkan untuk kadar Fe dalam air bersih adalah 1,0 mg/L.

Air yang mengandung kadar besi yang melebihi ambang batas terdapat di kecamatan Jaten dan Kebak Kramat Kabupaten Karanganyar dengan kadar 1-1.5 ppm, daerah tersebut berada di kawasan industri. Sehingga perlu dilakukan pengolahan air untuk menurunkan kadar besi untuk mendapatkan air yang aman untuk digunakan masyarakat.

Luffa acutangula atau yang dikenal masyarakat sebagai oyong, dalam keadaan kering dan sudah tidak dapat lagi dikonsumsi terbukti mampu menjadi alternatif yang murah, tidak beracun untuk menghilangkan berbagai jenis polutan dalam larutan berair salah satunya seperti logam berat (Khadir et al., 2021). oyong dalam keadaan kering dapat membantu memperbaiki kualitas air karena mengandung serat utama yaitu hemiselulosa (84%), dan selulosa (66%) (Anbukarasi & Kalaiselvam, 2015).

Penerapan oyong dalam mereduksi besi dengan memberikan pemanasan. Pemanasan bahan alam sebagai adsorben bertujuan membuka pori-pori adsorben sehingga lebih mengaktifkan adsorben dalam menyerap logam berat (Fatmawati et al., 2021).

BAHAN DAN METODE

Karya tulis ilmiah ini menggunakan jenis penelitian eksperimen. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Oktober-November tahun 2016. Tempat penelitian dilaksanakan di UPT Dinas Kesehatan Kabupaten Karanganyar. Langkah penelitian meliputi:

1. Persiapan Spon Oyong

Oyong yang sudah tua dan berwarna kuning dicuci dengan aquades kemudian

dikeringkan dengan oven selama 15 menit pada suhu 40°C, spons kering di potong-potong dengan massa 1 gram.

2. Pembuatan larutan blanko dan pengukuran serapannya

Dipipet aquades 50,0 ml masukkan pada beker glass, tambahkan 3 tetes HCL pekat, tambahkan hidrosilamin 1 ml kemudian dipanaskan selama 5-10 menit dan dinginkan. Menambahkan buffer ammonium acetat 2 ml dan 10-fenantrolin 0,1% 2 ml, mencampur diamkan selama 5-10 menit diukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510nm.

3. Penentuan panjang gelombang maksimal

Dibuat larutan standar yang sudah diketahui kadarnya, kemudian dilakukan pemeriksaan kadar Fe kemudian dibaca pada panjang gelombang 500-560 nm. Dibuat grafik untuk masing-masing pengukuran

4. Penentuan operating time

Dari larutan standar yang sudah diketahui kadarnya kemudian dilakukan pemeriksaan kadar Fe dengan panjang gelombang maksimal dengan kisaran waktu 6 - 12 menit

5. Pembuatan kurva standar

Dibuat larutan deret standar Fe(II) 0,2 ppm; 0,4 ppm; 0,6 ppm; 0,8 ppm; 1,0 ppm; 1,2 ppm ke dalam labu takar 50,0 ml. Masing-masing dipindahkan pada beker glass 100 ml. Dipipet sampel masing-masing 50 ml masukkan pada beker glass, tambahkan 3 tts HCL pekat dan hidrosilamin 1 ml memanaskan 5-10 menit kemudian didinginkan. Ditambahkan buffer ammonium acetat 2 ml dan 10-fenantrolin 0,1% 2 ml mencampur kemudian didiamkan lagi 5-10 menit dan diukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

6. Pemeriksaan sampel

Larutan Fe²⁺ 1,5 ppm sebanyak 50,0 ml dan dimasukkan ke dalam beaker glass 500 mL, tambahkan 1 gram spon oyong dan dipanaskan mendidih dengan variasi lama waktu pendidihan 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 menit. Tambahkan 3 tetes HCL pekat dan hidrosilamin 1 ml dipanaskan 5-10 menit, kemudian

di dinginkan. Tambahkan buffer ammonium acetat 2 ml dan fenantrolin 0,1% sebanyak 2 ml. homogenkan dan diamkan 5 - 10 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal.

HASIL

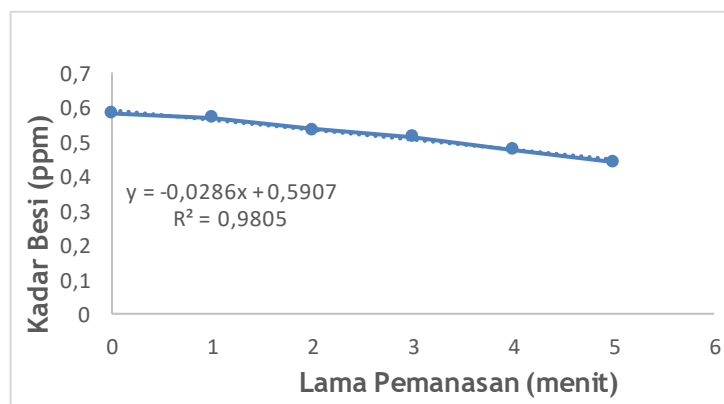
Penelitian ini menggunakan sampel air yang dibuat dari larutan induk Fe^{2+} dengan kadar 1,5 ppm. Spon yang digunakan dicuci bersih dengan aquades untuk menghilangkan kotoran kemudian dioven pada suhu 40° selama 15 menit untuk menghilangkan kadar air pada spon suhu ini dipilih berdasarkan penelitian (Nugraha et al., 2015). Semakin kering spon oyong akan meningkatkan daya serap terhadap cairan, dengan semakin kecil molekul air dalam adsorben maka halangan molekul lain untuk masuk akan semakin kecil (Nurhasni et al., 2014). Spon oyong dipilih yang sudah kering diharapkan mampu untuk mencegah pertumbuhan jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Saskiawan, 2015).

Sampel air sebanyak 100 ml ditambahkan 1 gram spon oyong yang sudah dicuci bersih dan dikeringkan. Analisis kualitatif untuk mengetahui adanya Fe^{2+} di dalam air adalah dengan menggunakan metode fenantrolin dan diperiksa menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 510 nm dengan operating time pada menit ke 10. Penelitian ini menunjukkan adanya penurunan kadar Fe^{2+} dalam air dengan penambahan spon oyong dan dipanaskan seperti tersaji pada tabel dibawah ini :

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kadar besi setelah ditambahkan spon oyong dan dipanaskan

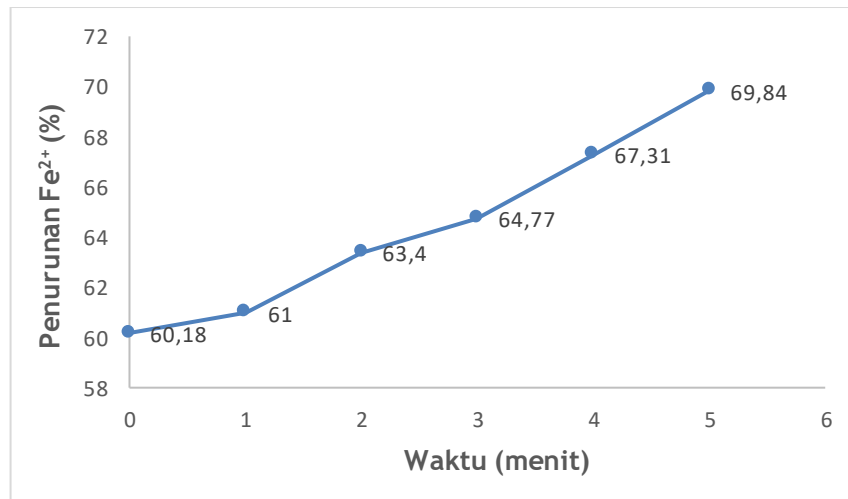
Kadar Fe ²⁺ (ppm)	Lama Pemanasan (menit)	Kadar Fe ²⁺ setelah dipanasakan	Absorbansi	Prosentase Penurunan
1,459	0	0,581	0,262	60,18
1,459	1	0,569	0,256	61,00
1,459	2	0,534	0,246	63,40
1,459	3	0,514	0,231	64,77
1,459	4	0,477	0,214	67,31
1,459	5	0,440	0,197	69,84

Grafik penurunan kadar besi setelah penambahan spon oyong 1 gram dan dipanaskan sesuai waktu yang di inginkan disajikan pada gambar dibawah ini :



Gambar 1. Hasil penurunan kadar ion besi

Persamaan regresi $y = bx + a$ nilai R^2 yang diperoleh sebesar 0,980. Nilai R^2 sebesar 0,980 dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara variasi lama pemanasan Fe²⁺ ditambah spon oyong dengan kadar Fe²⁺. Nilai koefisien regresi (b) negative menyatakan bahwa semakin lama waktu pemanasan Fe²⁺ ditambah spon oyong maka kadar Fe²⁺ semakin menurun. Grafik persentase penurunan kadar Fe²⁺ dengan penambahan spon oyong dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Penurunan kadar ion besi (%) pada variasi waktu pemanasan

Didapatkan hasil presentase penurunan kadar Fe²⁺ setelah ditambahkan spon oyong 1 gram dengan variasi lama pemanasan. Pemanasan 0 menit didapatkan presentase penurunan 60,18%; 1 menit 61,00%; 2 menit 63,40%; 3 menit 64,77%; 4 menit 67,31% dan 5 menit 69,84%. Penambahan spon oyong dengan lama pemanasan 5 menit didapatkan penurunan yang paling tinggi yaitu dengan nilai 69,84% pada penelitian ini.

DISKUSI

Sampel yang digunakan berasal dari larutan induk Fe²⁺ yang dibuat oleh peneliti karena mengurangi adanya cemaran logam lainnya yaitu Ion Ni²⁺, Cd²⁺ dan Cr²⁺ yang dapat mengganggu dalam pemeriksaan dan lebih efisien waktu.

Penelitian ini menggunakan variasi waktu pemanasan 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 menit, dikarenakan meningkatnya suhu dan lamanya waktu pemanasan dapat membuat selulosa menjadi terdegradasi (Khadir et al., 2021). Larutan ion besi yang akan diteliti ditambahkan pereduksi hidroksilamin HCl yang bertujuan untuk mereduksi senyawa Fe³⁺ menjadi Fe²⁺

Pemanasan larutan Fe²⁺ dan spon oyong berfungsi Pemanasan ini bertujuan membuka pori-pori absorben sehingga lebih mengaktifkan adsorben dalam menyerap logam berat (Fatmawati et al., 2021). Kandungan di dalam spon

oyong yang berfungsi sebagai adsorben adalah selulosa. Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri dari β -1,4 poli glukosa, dengan berat molekul sangat besar. Kemampuan selulosa untuk mengadakan interaksi dengan ion logam disebabkan senyawa tersebut mengandung gugus fungsional yaitu gugus hidroksil dan asam karboksilat. Prinsip dasar dalam mekanisme pengikatan antara polisakarida dan logam berat yang terkandung dalam air adalah penukaran ion gugus hidroksil dan asam karboksilat khususnya gugus hidroksil dalam polisakarida akan bereaksi dan mengikat logam (Thuraidah et al., 2015).

Suhu yang digunakan dalam pemanasan ini adalah 100°C . Suhu 100°C dipilih untuk menghindari kerusakan selulosa pada spon oyong yang berfungsi sebagai adsorben. Pemanasan dengan suhu lebih dari 105°C dapat mengakibatkan penyusutan volume, penutupan pori-pori adsorben dan dapat mengurangi kapasitas adsorpsi adsorben (Mandasari & Purnomo, 2016).

KESIMPULAN

Terdapat Penurunan kadar Fe^{2+} dalam larutan yang ditambahkan spon oyong dengan variasi lama pemanasan, dengan presentase penurunan kadar Fe^{2+} dalam larutan selama 1 menit sebesar 61,00%; 2 menit sebesar 63,40%; 3 menit 64,77%; 4 menit sebesar 67,31% dan 5 menit sebesar 69,84%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada STIKES Nasional yang memberikan vasilitas serta dukungan dalam penelitian ini

KONFLIK KEPENTINGAN

REFRENSI

- Amor Nurdila, F., Sumawati Asri, N., & Suharyadi, E. (2015). Adsorpsi Logam Tembaga (Cu), Besi (Fe), dan Nikel (Ni) dalam Limbah Cair Buatan Menggunakan Nanopartikel Cobalt Ferrite (CoFe_2O_4) (Halaman 23 s.d. 27). *Jurnal Fisika Indonesia*, 19(55). <https://doi.org/10.22146/jfi.24368>
- Anbukarasi, K., & Kalaiselvam, S. (2015). Study of effect of fibre volume and dimension on mechanical, thermal, and water absorption behaviour of luffa reinforced epoxy composites. *Materials & Design (1980-2015)*, 66, 321-330. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2014.10.078>
- Cherbuin, N., Kumar, R., Sachdev, P. S., & Anstey, K. J. (2014). Dietary Mineral Intake and Risk of Mild Cognitive Impairment: The PATH through Life Project. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00004>
- Fatmawati, S., Syar, N. I., Suhartono, S., Maulina, D., & Ariyadi, R. (2021). Arang Aktif Gambut sebagai Filter Logam Berat Mercury (Hg). *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(1), 63. <https://doi.org/10.35799/jis.21.1.2021.32908>
- Firmansyaf, D., Yulianto, B., & Sedjati, S. (2013). Studi Kandungan Logam Berat Besi (Fe) Dalam Air, Sedimen Dan Jaringan Lunak Kerang Darah (Anadara Granosa Linn) Di Sungai Morosari Dan Sungai Gonjol Kecamatan Sayung, Kabupaten Demak. *Journal of Marine Research*, 2(2), 45-54.
- Jhelum, P., Santos-Nogueira, E., Teo, W., Haumont, A., Lenoël, I., Stys, P. K., & David, S. (2020). Ferroptosis Mediates Cuprizone-Induced Loss of Oligodendrocytes and Demyelination. *The Journal of Neuroscience*, 40(48), 9327-9341. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1749-20.2020>
- Khadir, A., Motamedi, M., Pakzad, E., Sillanpää, M., & Mahajan, S. (2021). The prospective utilization of Luffa fibres as a lignocellulosic bio-material for environmental remediation of aqueous media: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1), 104691. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104691>
- Mandasari, I., & Purnomo, A. (2016). Penurunan Ion Besi (Fe) dan Mangan (Mn) dalam Air

- dengan Serbuk Gergaji Kayu Kamper. *Jurnal Teknik ITS*, 5(1). <https://doi.org/10.12962/j23373539.v5i1.15113>
- Mashadi, A., Surendro, B., Rakhmawati, A., & Amin, M. (2018). Peningkatan Kualitas Ph, Fe Dan Kekeruhan Dari Air Sumur Gali Dengan Metode Filtrasi. *Jurnal Riset Rekayasa Sipil*, 1(2), 105. <https://doi.org/10.20961/jrrs.v1i2.20660>
- Nugraha, A. A., Kawiji, & Atmak, W. (2015). Kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan variasi teknik pengeringan dan warna kain penutup. *Biofarmasi*, 13(1), 6-14.
- Nurhasni, N., Hendrawati, H., & Saniyyah, N. (2014). Sekam Padi untuk Menyerap Ion Logam Tembaga dan Timbal dalam Air Limbah. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(1). <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i1.1074>
- Putra, A. Y., & Mairizki, F. (2019). Analisis Warna, Derajat Keasaman dan Kadar Logam Besi Air Tanah Kecamatan Kubu Babussalam, Rokan Hilir, Riau. *Jurnal Katalisator*, 4(1), 9. <https://doi.org/10.22216/jk.v4i1.4024>
- Putra, A. Y., & Mairizki, F. (2020). Penentuan Kandungan Logam Berat Pada Air Tanah Di Kecamatan Kubu Babussalam, Rokan Hilir, Riau. *Jurnal Katalisator*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.22216/jk.v5i1.5277>
- SASKIAWAN, I. (2015, August 1). *Aktivitas antimikroba dan antioksidan senyawa polisakarida jamur tiram putih (Pleurotus ostreatus)*. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010523>
- Thuraidah, A., Kartiko, J. J., & Ariyani, L. F. (2015). Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) untuk Menurunkan Kadar Mangan Air Sumur. *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(1), 19. <https://doi.org/10.31964/mltj.v1i1.3>
- Wadhani, L. P. P., & Yogeswara, I. B. A. (2017). Tingkat konsumsi zat besi (Fe), seng (Zn) dan status gizi serta hubungannya dengan prestasi belajar anak sekolah dasar. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 5(2), 82-87. <https://doi.org/10.14710/jgi.5.2.82-87>
-

PERBEDAAN JUMLAH TOTAL LEUKOSIT DAN JENIS LEUKOSIT PADA PENDERITA MALARIA *falciparum* DAN MALARIA *vivax* DI RSUD KABUPATEN MANOKWARI

Rosalia Meilani Sayangbati¹ · Lucia Sincu Gunawan^{1*} · Rumeйда Chitra Puspita¹

¹D4 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Jawa Tengah, Indonesia
e-Mail : sincugunawan@gmail.com
No Tlp WA : 0816674427

Abstract

Malaria is caused by infection with the parasite Plasmodium sp. Humans through the bite of infected female Anopheles mosquitoes. Plasmodium species dominate in Indonesia are P. falciparum and P. vivax. The hematological disorders are anemia, thrombocytopenia, leukopenia and leukocytosis, to the type of malaria and the of parasites in SADT. The Study of the differences in the total number of leukocytes and types of leukocytes in patients with falciparum malaria and vivax malaria at the Manokwari Hospital. The research with a cross sectional approach. The research was April-June 2023 at the Manokwari. The population is 100 patients diagnosed malaria at the Manokwari Hospital in January and February 2023, with purposive sampling 80 people. A total of 80 data from examinations, medical record data 40 falciparum and 40 vivax, for normality using Shapiro Wilk and by the Mann Whitney test. The statistical analysis that showed that the values of total leukocytes ($p=0.927$), segment neutrophils ($p=0.793$), rod neutrophils ($p=0.736$), monocytes ($p=0.118$), lymphocytes ($p=0.497$), eosinophils ($p=0.885$) and basophils ($p=0.085$) have a value of $p>0.05$ so the concluded that there is no significant difference between the total number of leukocytes and the types of leukocytes in patients with falciparum malaria and vivax malaria.

Keywords : Diff count, falciparum malaria, vivax malaria

Abstrak

Malaria disebabkan oleh infeksi parasit *Plasmodium sp.* penularan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina terinfeksi Spesies *Plasmodium* mendominasi di Indonesia ialah *P. falciparum* dan *P. vivax*. Kelainan hematologinya adalah anemia, trombositopenia, leukopenia hingga leukositosis, terkait dengan jenis malaria dan sebaran parasit dalam SADT. Penelitian ini bertujuan melihat perbedaan jumlah total leukosit dan jenis leukosit penderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax* di RSUD Kabupaten Manokwari. Penelitian menggunakan penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian dilakukan April-Juni 2023 di RSUD Kabupaten Manokwari. Populasi merupakan pasien yang terdiagnosis malaria *falciparum* dan malaria *vivax* di RSUD Kabupaten Manokwari pada bulan Januari dan Februari 2023 sebanyak 100 orang, dengan teknik purposive sampling didapatkan 80 orang. Sebanyak 80 data hasil pemeriksaan jumlah total leukosit dan jenis leukosit yaitu data rekam medik 40 penderita malaria *falciparum* dan 40 penderita malaria *vivax* diuji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan dilanjutkan dengan uji beda *Mann Whitney*. Hasil analisis statistik yang telah dilakukan didapatkan bahwa nilai total leukosit ($p=0,927$), neutrofil segmen ($p=0,793$), neutrofil batang ($p=0,736$), monosit ($p=0,118$), limfosit ($p=0,497$), eosinofil ($p=0,885$) dan basofil ($p=0,085$) mempunyai nilai $p>0,05$ sehingga dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah total leukosit dan jenis leukosit pada penderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax*.

Kata Kunci : Total jenis leukosit, malaria falciparum, malaria vivax

PENDAHULUAN

Malaria merupakan suatu penyakit yang dipicu oleh infeksi parasit *Plasmodium* sp yang ditransmisikan ke manusia melalui gigitan nyamuk, terutama nyamuk *Anopheles betina* yang telah terinfeksi (Afdhal et al., 2014). Gejala yang umumnya muncul meliputi demam, menggigil, anemia, dan pembesaran limpa (Fitriany & Sabiq, 2018).

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2021 mencatat Provinsi Papua, Papua Barat, dan Nusa Tenggara Timur tercatat sebagai wilayah dengan tingkat *Annual Parasite Incidence* (API) malaria tinggi. Menurut data dari Dinas Kesehatan Kabupaten Manokwari, Kabupaten Manokwari merupakan salah satu provinsi dengan API penderita positif malaria yaitu 22,88% atau mencapai sekitar 4.284 kasus di tahun 2018, (Riset kesehatan dasar/Riskesdas, 2018).

Terdapat lima jenis plasmodium penyebab malaria yaitu *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium falciparum*, dan *Plasmodium vivax*. Di Indonesia, spesies *Plasmodium* yang paling umum adalah *P. vivax* dan *P. falciparum*, sedangkan *P. ovale* dan *P. malariae* memiliki jumlah kasus yang lebih rendah dibandingkan *P. falciparum* dan *P. vivax*. (Putri et al., 2020).

Perubahan pada parameter hematologi adalah komplikasi yang sering terjadi pada infeksi malaria dan sering kali terkait dengan tingkat keparahan infeksi. Gangguan hematologi yang terkait dengan malaria meliputi anemia, trombositopenia, leukopenia, dan terkadang leukositosis. Jumlah rerata leukosit dalam darah individu yang sehat atau normal biasanya berkisar antara 4.000 hingga 11.000 sel/ μ l (Annisya, 2021).

Sel darah putih memainkan peran penting dalam pertahanan kekebalan tubuh terhadap penyakit. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup dan berfungsi melindungi tubuh

terhadap berbagai penyakit dengan cara fagosit dan menghasilkan antibodi. Pada infeksi malaria seringkali ditemukan adanya perubahan jumlah sel leukosit pada penderita malaria. Variasi pada jumlah leukosit tergantung pada banyaknya faktor-faktor termasuk keparahan infeksi, parasitemia, tingkat keparahan penyakit, keadaan kekebalan inang terhadap malaria (endemisitas), dan infeksi bersamaan (Rinawati & Reza, 2016).

Menurut penelitian Mosso & Song (2020), tingginya jumlah leukosit pada penderita malaria *P. falciparum* dan *P. vivax* sesuai dengan kepadatan parasit *Plasmodium* yang dilihat melalui banyaknya sebaran parasit dalam lapang pandang sediaan apusan darah yang diperiksa menggunakan mikroskop. Semakin padat kepadatan parasit dalam darah maka manifestasi klinis dan tingkat keparahan infeksi akan semakin berat. Infeksi malaria disebabkan oleh *P. falciparum* yang ditunjukkan dengan prevalensi infeksi *P. falciparum* yang lebih tinggi, disertai dengan kepadatan parasit yang lebih tinggi, serta rerata jumlah limfosit yang lebih tinggi pada infeksi *P. falciparum* dibandingkan dengan orang yang terinfeksi *P. vivax*.

Menurut penelitian Mau & Mulatsih (2017), pada penderita malaria *falciparum* ditemukan 84% peningkatan limfosit dari nilai rujukan. Selain itu, peningkatan jumlah leukosit pada malaria berat terjadi karena peningkatan jumlah monosit. Jumlah leukosit yang melebihi nilai rujukan menentukan tingkat mortalitas penderita malaria.

Berdasarkan latar belakang, maka penelitian ini akan melihat mengenai perbedaan jumlah total dan jenis leukosit pada penderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax* di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Kabupaten Manokwari.

BAHAN DAN METODE

Bahan dalam penelitian ini merupakan data sekunder lembar hasil pemeriksaan laboratorium klinik (catatan rekam medik) pasien terdiagnosis menderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax* yang melakukan pemeriksaan jumlah total leukosit dan pemeriksaan jenis leukosit.

Desain penelitian adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan potong lintang. Lokasi penelitian pada Laboratorium Klinik RSUD Kabupaten Manokwari pada bulan April sampai dengan Juni 2023. Populasi dalam penelitian ini adalah pasien dewasa baik laki-laki maupun perempuan, berusia 18-60 tahun yang terdiagnosis malaria *falciparum* dan malaria *vivax* di RSUD Kabupaten Manokwari pada bulan Januari dan Februari 2023. Populasi selama bulan Januari dan Februari 2023 berjumlah 100 pasien. Pengambilan sampel dengan teknik *purposive sampling* dengan kriteria inklusi pasien rawat jalan, belum menerima terapi anti malaria, dan dengan kriteria eksklusi penderita HIV, TB, Thypoid, autoimun serta menerima transfusi darah, Dari 100 populasi terdapat 80 sampel yang memenuhi kriteria (40 sampel malaria *falciparum* dan 40 sampel malaria *vivax*). Diagnosis malaria berdasarkan pemeriksaan apusan darah dan pemeriksaan jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit menggunakan hematology analyser metode flowcytometri. Data laboratorium berupa data sekunder didapatkan dari rekam medik pasien.

Data diolah menggunakan statistik komputerisasi untuk mendapatkan nilai maksimum, nilai minimum, rerata, dan *standar deviasi* (SD). Selanjutnya, uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji statistik *Shapiro-Wilk* karena jumlah data yang digunakan kurang dari 50, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Ijin etik penelitian didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto nomer registrasi : KEPK/UMP/84/VI/2023.

HASIL

Pengambilan data penelitian berupa data sekunder rekam medik pasien yang berupa pemeriksaan laboratorium jumlah total leukosit dan jenis leukosit pada 40 penderita malaria *falciparum* dan 40 penderita malaria *vivax*, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Tabel Jumlah Total Lekosit pada Penderita Malaria *falciparum*

Deskripsi	f	%
>Nilai Normal (Leukositosis)	11	28
<Nilai Normal (Leukopenia)	0	0
Dalam nilai normal	29	72
Total	40	100

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari hasil tabel 1 dapat dilihat, dari 40 pasien malaria *falciparum* yang diperiksa, sebanyak 11 pasien (28%) mengalami kondisi leukositosis (jumlah leukosit $>10.000/\mu\text{l}$) dan tak satu pasienpun (0%) dengan kondisi leukopenia (jumlah leukosit $<4.000/\mu\text{l}$), sedangkan 29 pasien (72%) memiliki jumlah leukosit dalam batas normal ($4.000/\mu\text{l}$ sampai $10.0000/\mu\text{l}$).

Tabel 2. Tabel Jumlah Total Lekosit pada Penderita Malaria *vivax*

Deskripsi	f	%
>Nilai Normal (Leukositosis)	15	38
<Nilai Normal (Leukopenia)	1	2
Dalam nilai normal	24	60
Total	40	100

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari hasil tabel 2 dapat dilihat, dari 40 pasien malaria *vivax* yang diperiksa, sebanyak 15 pasien (38%) mengalami kondisi leukositosis, 1 pasien (2%) dengan leukopenia dan 24 pasien (60%) memiliki kondisi leukosit yang masih dalam batas normal.

Tabel 3. Hasil Deskriptif Perbandingan Jumlah Total Leukosit pada Malaria *falciparum* dan Malaria *vivax*

Variabel	Mean	SD	Min.	Max.
Total Leukosit				
Malaria <i>falciparum</i>	8711	2765	4.400	14.200
Malaria <i>vivax</i>	9980	5797	3.900	27.900

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 3 dapat dilihat rerata jumlah lekosit Malaria falciparum (8711 ± 2765) dan Malaria vivax (9980 ± 5797).

Tabel 4. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Neutrofil Segmen pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Neutrofil Segmen	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	63,88	14,10	30	85
Malaria vivax	63,53	11,87	35	85

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 4 dapat dilihat rerata hitung jenis neutrofil segmen pada Malaria falciparum ($63,88 \pm 14,10$) dan Malaria vivax ($63,53 \pm 11,87$).

Tabel 5. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Neutrofil Batang pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Neutrofil Batang	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	3,78	1,03	3	7
Malaria vivax	3,98	1,56	1	9

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 5 dapat dilihat rerata hitung jenis neutrofil batang pada Malaria falciparum ($3,78 \pm 1,03$) dan Malaria vivax ($3,98 \pm 1,56$).

Tabel 6. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Monosit pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Monosit	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	8,83	5,18	1	25
Malaria vivax	10,28	4,98	2	19

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 6 dapat dilihat rerata hitung jenis monosit pada Malaria falciparum ($8,83 \pm 5,18$) dan Malaria vivax ($10,98 \pm 4,98$).

Tabel 7. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Limfosit pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Limfosit	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	21,15	12,18	3	56
Malaria vivax	19,43	19,50	3	50

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 7 dapat dilihat rerata hitung jenis limfosit pada Malaria falciparum ($21,15 \pm 12,18$) dan Malaria vivax ($19,43 \pm 19,50$).

Tabel 8. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Eosinofil pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Eosinofil	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	2,85	1,60	1	7
Malaria vivax	2,65	1,75	1	6

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 8 dapat dilihat rerata hitung jenis eosinofil pada Malaria falciparum ($2,85 \pm 1,60$) dan Malaria vivax ($2,65 \pm 1,75$).

Tabel 9. Hasil Deskriptif Perbandingan Hitung Jenis Basofil pada Malaria falciparum dan Malaria vivax

Variabel Basofil	Mean	SD	Min.	Max.
Malaria falciparum	0,33	0,47	0	1
Malaria vivax	0,55	0,59	0	2

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 9 dapat dilihat rerata hitung jenis basofil pada Malaria falciparum ($0,33 \pm 0,47$) dan Malaria vivax ($0,55 \pm 0,59$).

Untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan jumlah total leukosit dan jenis leukosit pada penderita malaria falciparum dan malaria vivax, dilanjutkan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan didapatkan data yang tidak berdistribusi normal $p < 0,05$. Dikarenakan terdapat data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji beda *Mann Whitney*

Tabel 10. Uji Beda Jumlah Lekosit dan Hitung Jenis Lekosit antara Malaria falciparum dan Malaria vivax

Parameter	p
Jumlah Total Lekosit	0,927
Neutrofil Segmen	0,793
Neutrofil Batang	0,736
Monosit	0,118
Limfosit	0,497
Eosinofil	0,885
Basofil	0,087

Sumber : Data Sekunder, 2023

Dari tabel 10 dapat dilihat bahwa semua nilai $p > 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah total leukosit dan jenis leukosit pada penderita Malaria *falciparum* dan Malaria *vivax*.

DISKUSI

Data penelitian merupakan data rekam medik pasien rawat jalan di usia 18 sampai 60 tahun baik laki-laki maupun perempuan yang belum menerima terapi obat malaria. Kasus malaria yang ada di RSUD Manokwari didominasi oleh laki-laki. Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2018, kasus malaria cenderung lebih sering ditemukan pada usia yang produktif, dan mayoritas pasien adalah laki-laki. Kemungkinan karakteristik ini dapat berkaitan dengan aktivitas yang tinggi di luar rumah yang umumnya dilakukan oleh laki-laki, sehingga meningkatkan risiko paparan terhadap vektor penyakit.

Gejala klinis pada penderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax* hampir sama seperti demam tinggi, mual, muntah, dan lemas, walaupun secara patogenesis terinfeksi *Plasmodium falciparum* memiliki efek atau gejala yang paling parah di antara infeksi *Plasmodium* yang lain. Diketahui bahwa kebanyakan pasien yang melakukan pemeriksaan malaria ke RS ataupun pasien rujukan melakukan pemeriksaan setelah 3 sampai 5 hari mengalami gejala klinis.

Pemeriksaan jumlah total leukosit dan jenis leukosit di RSUD Kabupaten Manokwari merupakan pemeriksaan penyerta yang dianjurkan oleh dokter apabila pasien ingin melakukan pemeriksaan malaria. Adanya infeksi malaria didiagnosis menggunakan sediaan darah tepi untuk melihat adanya parasit *plasmodium* sp. Pemeriksaan jumlah total leukosit dan jenis leukosit dihitung secara flowcytometri menggunakan alat *hematology analyzer*.

Dalam penelitian ini, terdapat dua spesies penyebab malaria yang diidentifikasi, yaitu *Plasmodium falciparum* yang merupakan penyebab utama, diikuti oleh *Plasmodium vivax*. Kedua spesies *Plasmodium* tersebut merupakan jenis yang umum ditemukan di Indonesia. Status infeksi, termasuk riwayat infeksi malaria sebelumnya, serta respons imun, memiliki dampak signifikan terhadap kepadatan parasit. Pada kasus infeksi malaria berulang, kepadatan parasit bisa

terkontrol menjadi rendah, yang pada gilirannya menyebabkan gejala yang lebih ringan bahkan bisa menjadi asimtomatik. Ini disebabkan oleh perkembangan semi-imun terhadap malaria (Ullah *et al.*, 2018).

Hasil penelitian yang didapatkan bahwa perbedaan jumlah total leukosit dan jenis leukosit (monosit, limfosit, neutrofil segmen, neutrofil batang basofil dan eosinofil) pada penderita positif malaria *falciparum* maupun malaria *vivax* tidak memiliki perbedaan yang bermakna, dapat dikarenakan pengambilan populasi penelitian berasal dari pasien rawat jalan, dimana secara umum dari gejala klinis tidak ada perbedaan yang cukup terlihat. Terjadinya leukositosis maupun leukopenia pada pasien dapat dihubungkan karena sistem kekebalan tubuh pasien yang bereaksi terhadap infeksi malaria.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Autino tahun 2012, jumlah leukosit sangat berkaitan dengan imunitas, dimana perubahan jumlah leukosit dalam darah pasien dengan kecurigaan malaria bisa menjadi indikasi keberadaan infeksi malaria, terutama bila terjadi peningkatan jumlah sel limfosit, sedangkan jumlah total leukosit dapat bervariasi hasilnya. Derajat imunitas atau kekebalan tubuh penderita malaria dapat menentukan terjadinya peningkatan ataupun penurunan jumlah total leukosit pada pasien malaria. Keterbatasan penelitian ini tidak adanya data derajat keparahan pasien malaria, hari demam, pengambilan pasien yang semuanya rawat jalan.

KESIMPULAN

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai untuk jumlah total leukosit ($p=0,927$), neutrofil segmen ($p=0,793$), neutrofil batang ($p=0,736$), monosit ($p=0,118$), limfosit ($p=0,497$), eosinofil ($p=0,885$), dan basofil ($p=0,085$) memiliki nilai $p>0,05$. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan dalam jumlah total leukosit dan jenis leukosit antara pasien yang menderita malaria *falciparum* dan malaria *vivax*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Direktur RSUD Kabupaten Manokwari dr. Alwan Rimosan, Sp.,FINACS yang telah memberikan izin pengambilan data penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Annisya, F. (2021). *Gambaran Jenis Leukosit Pada Penderita Malaria Tahun 2015-2021 (Studi Literatur)*. 2021, 8-12.
- Mau, F., & Mulatsih, M. (2017). Perubahan Jumlah Limfosit pada Penderita Malaria Falciparum dan Vivax. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 45(2), 97-102.
- Mosso, J. E., & Song, C. (2020). Distribusi prevalensi infeksi Plasmodium serta gambaran kepadatan parasit dan jumlah limfosit absolut pada penderita malaria di RSUD Kabupaten Manokwari periode Januari - Maret 2019. *Tarumanagara Medical Journal*, 2(2), 320-330. <https://doi.org/10.24912/tmj.v3i1.9735>
- Putri, S. S., Suryati, C., & Nandini, N. (2020). Hubungan Jenis Plasmodium falciparum dan Plasmodium vivax dengan Kejadian Anemia pada Pasien Malaria di RSUD Ratu Aji Putri Botung Penajam Paser Utara. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(1), 242-247.
- Rinawati, D., & Reza, M. (2016). Gambaran Hitung Jumlah Dan Jenis Leukosit Pada Eks Penderita Kusta Di Rsk Sitanala Tangerang Tahun 2015. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 3(1), 99-105. <https://doi.org/10.36743/medikes.v3i1.156>
- Riskesdas. (2018). Laporan Provinsi Papua Barat Riskesdas 2018. In *Laporan Riskesdas 2018*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ullah, I., Ali, M. U., Ali, S., Rafiq, A., Sattar, Z., & Hussain, S. (2018). Hematological Profile of Patients Having Malaria-positive Peripheral Blood Smears: A Cross-sectional Study at a Diagnostic Research Center in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Cureus*, September. <https://doi.org/10.7759/cureus.3376>

PENGARUH PEMBERIAN SUSU TEMPE SELAMA TUJUH (7) HARI BERTURUT-TURUT TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL PADA WANITA USIA LEBIH DARI 45 TAHUN

Retno Sulistiyowati^{1*} · Meida Laely Ramdani² · Ns. Yasinta Nur Rohmah³
Sumiyatun Septianingsih⁴ · Syifa Luthfia Nissa⁵

Fakultas Ilmu Kesehatan , Universitas Muhammadiyah Purwokerto

*E_mail:retnosulistiyowati62@gmail.com

ABSTRACT

Women over the age of 45 have a higher risk of developing heart disease or stroke. Diseases caused by high cholesterol levels are narrowing of blood vessels, coronary disease, stroke, and high blood pressure. Tempe is a processed product made from soybeans which contains a lot of saponins which have been shown to have the effect of lowering cholesterol levels. The general objective of this study was to determine the effect of drinking tempeh milk for 7 (seven) consecutive days on reducing total cholesterol levels in women aged over 45 (forty five) years. The population used in this study were women aged more than 45 years in Ledug Village, Kembaran District, Banyumas Regency, whose total cholesterol levels were measured before and after giving tempeh milk for seven consecutive days. The samples to be examined are 30 people in the TLM UMP clinical chemistry laboratory. The method used is the POCT examination method. Based on the test results of giving tempeh milk, the results obtained with a P value = 0.015. This shows that tempeh has a significant effect in reducing total cholesterol levels, this is indicated by the P value <0.05 (indicating a significant difference between giving tempeh milk and total cholesterol levels before and after treatment).

Keywords: cholesterol, milk, tempe

ABSTRAK

Wanita usia lebih dari 45 tahun mempunyai risiko terkena penyakit jantung atau stroke. Penyakit yang disebabkan tingginya kadar kolesterol adalah penyempitan pembuluh darah, penyakit koroner, stroke, dan tekanan darah tinggi. Tempe adalah produk olahan dari kedelai yang banyak mengandung saponin yang terbukti memiliki efek menurunkan kadar kolesterol. Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman susu tempe selama 7 (tujuh) hari berturut - turut terhadap penurunan kadar kolesterol total pada wanita usia lebih dari 45 (empat puluh lima) tahun. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah wanita usia lebih dari 45 tahun di Kelurahan Ledug Kecamatan Kembaran Kabupaten Banyumas yang akan diukur kadar kolesterol total sebelum dan setelah pemberian susu tempe selama tujuh hari berturut-turut. Sampel yang akan diperiksa adalah 30 orang dilaboratorium kimia klinik TLM UMP. Metode yang di gunakan menggunakan metode pemeriksaan POCT. Berdasarkan hasil uji pemberian susu tempe didapatkan hasil dengan nilai P = 0,015. Hal ini menunjukkan tempe memiliki pengaruh yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total hal ini ditunjukkan dengan nilai P < 0,05 (menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pemberian susu tempe dengan kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan).

Kata kunci: kolesterol, susu, tempe

PENDAHULUAN

Wanita usia lebih dari 45 tahun pada umumnya sudah mengalami gejala pre menopause, pada kondisi ini hormon estrogen biasanya sudah tidak stabil sehingga akan berpengaruh pada kadar kolesterol di dalam darah. Pada kondisi tersebut akan mempengaruhi kadar kolesterol, biasanya mengalami peningkatan (Nisai, 2013)

Kadar kolesterol meningkat seiring dengan penambahan usia, pada pria maupun wanita. Kadar kolesterol tertinggi pada pria terjadi di usia 45 sampai 54 tahun, sedangkan pada wanita kadar kolesterol tertinggi pada usia 55 sampai 64 tahun. Semakin bertambah usia seseorang, maka kemampuan mekanisme kerja organ tubuh akan menurun (Ni, 2019).

Di Indonesia perkiraan rerata usia menopause pada wanita yaitu 50-52 tahun. Menopause merupakan hal yang fisiologik bagi wanita. Wanita dikatakan menopause bila tidak menstruasi atau mengalami amenorea sekurang-kurangnya selama satu tahun (Rozi M., 2017).

Penurunan drastis hormon estrogen pada wanita menopause mempengaruhi sistem kardiovaskular karena estrogen memiliki efek fisiologik yang luas di luar sistem reproduksi. Hormon estrogen terdiri dari estriol, estron dan estradiol. Hilangnya hormon estradiol akibat hilangnya fungsi ovarium dapat menyebabkan penurunan fungsi organ tubuh dan gangguan penurunan metabolisme, seperti lipid. Estrogen juga dapat mencegah terjadinya pengendapan di pembuluh darah dengan menaikkan kadar kolesterol HDL. Pada kondisi mulai menopause, terjadi kejadian dislipidemia (Annies, 2015).

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman susu tempe selama 7 (tujuh) hari berturut - turut terhadap kadar kolesterol total pada wanita usia lebih dari 45 (empat puluh lima) tahun

BAHAN DAN METODE

Bahan pada penelitian ini adalah tempe yang dibeli dari pasar lokal, air, jahe sebagai penghilang bau langu dan memperkuat rasa dan gula pasir sebagai pemanis

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah wanita usia lebih dari 45 tahun di Kelurahan Ledug Kecamatan Kembaran Kabupaten Banyumas yang akan diukur kadar kolesterol total sebelum dan setelah pemberian susu tempe selama tujuh hari berturut-turut. Sampel yang akan diperiksa adalah 30 orang di laboratorium Kimia Klinik TLM UMP. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode pemeriksaan POCT.

HASIL

Hasil uji pengaruh pemberian susu tempe selama tujuh (7) hari berturut-turut terhadap kadar kolesterol total pada wanita usia lebih dari 45 tahun dianalisis dengan uji T dependent apabila data terdistribusi normal. Namun setelah dianalisis data tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji non-parametrik dengan menggunakan uji Wilcoxon yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji wilcoxon

	Median (Minimum- Maximum) (mg/dL)	Nilai P
Kadar kolesterol pre pemberian susu tempe	230 (189-321)	0,015
Kadar kolesterol post pemberian susu tempe	220 (156-312)	

DISKUSI

Tempe adalah produk olahan dari kedelai yang banyak mengandung *saponin* yang terbukti memiliki efek menurunkan kadar kolesterol. Tempe juga mempunyai mutu dan nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai murni (Astawan, 2017).

Berdasarkan hasil uji pemberian susu tempe selama tujuh (7) hari berturut-turut terhadap kadar kolesterol total pada wanita usia lebih dari 45 tahun didapatkan bahwa tempe memiliki pengaruh yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total hal ini ditunjukkan dengan nilai $P < 0,05$ (menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pemberian susu tempe dengan kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan).

Kandungan asam lemak tak jenuh atau *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA), serat dan niasin dalam tempe yang berperan mengurangi kadar LDL. Selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe, terjadi peningkatan asam lemak tak jenuh (PUFA) yang bermanfaat menurunkan kadar kolesterol darah (Ni Made, 2019).

Kandungan niasin tempe yang cukup tinggi berperan menekan aktifitas enzim lipoprotein lipase, sehingga produksi *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) di hati menurun. Kondisi ini akan menyebabkan penurunan kadar kolesterol total, LDL dan trigliserid. Senyawa di dalam tempe juga menghambat aktifitas *HMG CoA-reduktase*, enzim pembentuk kolesterol. Tempe juga mengandung saponin, yang mampu berikatan dengan kolesterol, sedangkan saponin yang masuk ke dalam saluran cerna tidak diserap oleh saluran pencernaan sehingga saponin beserta kolesterol yang terikat dapat keluar dari saluran cerna. Hal tersebut menyebabkan kadar kolesterol di dalam tubuh berkurang (Rozi M, 2017).

Berdasarkan penelitian Rozi M, antioksidan diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol total. Isoflavon salah satu antioksidan yang terdapat pada tempe. Tempe mengandung serat, saponin dan niasin yang terbukti memiliki

efek menurunkan kadar kolesterol sehingga kadar kolesterol LDL dan koesterol total sekaligus meningkatkan kadar kolesterol LDL (Rozi M, 2017).

Penurunan kadar kolestrol total pada kelompok perlakuan tidak sepenuhnya terjadi karena pemberian susu tempe. Kerena berdasarkan penelitian Shania (2018) menyatakan bahwa konsumsi serat makanan yang cukup dapat menurunkan kolesterol darah 10-15%. Kebutuhan serat makanan adalah 25 sampai 35 gram/ hari. Asupan serat sesuai dengan anjuran mampu menurunkan kadar kolesterol dengan cara masuk kedalam sistem pencernaan, mereduksi penyerapan kolesterol dan mereabsorpsi asam empedu. Asam empedu merupakan produk akhir dari kolesterol.

KESIMPULAN

Hasil uji pemberian susu tempe selama tujuh (7) hari berturut-turut terhadap kadar kolesterol total pada wanita usia lebih dari 45 tahun didapatkan bahwa tempe memiliki pengaruh yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total hal ini ditunjukkan dengan nilai $P < 0,05$

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Desa Ledug, Kecamatan Kembaran, Kabupaten Banyumas yang telah memberi ijin penelitian. Demikian pula peneliti menyampaikan terima kasih kepada Rektor dan Ketua LPPM Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah memberi fasilitas penelitian.

REFRENSI

- Annies. (2015). Kolesterol dan Penyakit Jantung Koroner. *Jogjakarta: Ar-Ruzz Media.*
- Astawan M, Wresdiyati T, Maknun L. (2017). Tempe Sumber Zat Gizi dan Komponen Bioaktif untuk Kesehatan. *Bogor: IPB Press.*
- Nisai AF. (2013). Pengaruh konsumsi tahu terhadap penurunan *low density lipoprotein (LDL)* pada tikus putih jantan (*strain wistar*) yang diberi diet tinggi kolesterol.

Ni Made, T.D.M.S. (2019). Kadar Kolesterol Total Pada Peminum Kopi di Desa Sumita Gianyar. Denpasar: Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.

Rozi M.(2017). Pengaruh pemberian tempe kukus terhadap penurunan kadar kolesterol tinggi di Dusun Karangpung Desa Mayahan Kecamatan Tawangharjo.

Sanhia, A.M., Damajanty, H.C.P., & Joice N.A.E. (2015). Gambaran Kadar Kolesterol *Low Density Lipoprotein (LDL)* pada Masyarakat Perokok di Pesisir Pantai. Jurnal e- Biomedik (eBm), Vol 3 (1

GAMBARAN SEDIMEN URIN PADA PEMANDU KARAOKE YANG MENKONSUMSI ALKOHOL DI KABUPATEN TULUNGAGUNG

Yan Fuana^{1*} · Chalties Diah Pratiwi¹ · Qurrotu A'yunin Lathifah¹ ·
Ranu Ajib Saputra¹

¹Diploma Empat Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Utama Abdi
Husada Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia
e-Mail: yanfuana90@gmail.com
No. Tlp WA : 0822-4393-1552

Abstract

Alcoholic beverages have always been problematic, alcohol consumers, apart from often receiving social sanctions from the community, can also cause disease, one of which is diseases related to the kidneys and urinary tract system. Acute and chronic alcohol consumption can improve the working system of the kidneys, both the filtration, reabsorption, and augmentation systems. This study aims to determine the effect of duration of consumption and type of alcohol on urine sediment examination of karaoke guides at a cafe in Tulungagung Regency. This study uses a descriptive method to describe the effect of consuming alcohol on kidney function using urine sediment examination parameters. The number of samples obtained was 20 people who were taken using the purposive sampling technique. An examination is done manually by observing slides under a microscope. The results showed that there were 5 samples (25%) containing normal urine sediment and 15 samples (75%) containing abnormal urine sediment. Judging from the results of urine sediment examination, it can be concluded that the majority of karaoke addicts have signs of kidney damage. Therefore, people should not consume alcohol to protect their kidneys.

Keywords : Alcohol, Consumes Alcohol, Urine Sediment

Abstrak

Minuman beralkohol selalu menjadi masalah, konsumen alkohol selain sering mendapat sanksi sosial dari masyarakat juga dapat menimbulkan penyakit, salah satunya penyakit yang berhubungan dengan ginjal dan sistem saluran kemih. Konsumsi alkohol secara akut maupun kronis dapat mengganggu sistem kerja ginjal, baik sistem filtrasi, reabsorpsi, maupun augmentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama konsumsi dan jenis alkohol terhadap pemeriksaan sedimen urin pada pemandu karaoke di salah satu kafe di Kabupaten Tulungagung. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk menggambarkan pengaruh konsumsi alkohol terhadap fungsi ginjal dengan menggunakan parameter pemeriksaan sedimen urin. Jumlah sampel yang diperoleh sebanyak 20 orang yang diambil dengan menggunakan teknik purposive sampling. Pemeriksaan dilakukan secara manual dengan mengamati slide di bawah mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 5 sampel (25%) yang mengandung sedimen urin normal dan 15 sampel (75%) yang mengandung sedimen urin tidak normal. Dilihat dari hasil pemeriksaan sedimen urin, dapat disimpulkan bahwa mayoritas pecandu karaoke memiliki tanda-tanda kerusakan ginjal. Oleh karena itu, masyarakat sebaiknya tidak mengkonsumsi alkohol untuk melindungi ginjal mereka.

Kata kunci : Alkohol, Konsumsi Alkohol, Sedimen Urin

PENDAHULUAN

Kebutuhan akan hiburan dapat memunculkan banyak peluang bisnis, salah satunya adalah kafe. Saat ini sudah banyak kafe yang menyediakan hiburan musik seperti karaoke yang bahkan dilengkapi dengan pemandu. Pemandu karaoke akan memberikan pelayanan kepada pelanggan, seperti menyiapkan peralatan karaoke; memilihkan lagu; memesan makanan/minuman; dan atau menemani pelanggan bernyanyi dan berjoget, sesuai dengan permintaan pelanggan. Dalam hal ini, tentu saja kafe menyediakan minuman beralkohol dan non-alkohol, dan pemandu karaoke rata-rata juga ikut mengonsumsi alkohol, baik atas permintaan pelanggan maupun atas kemauan sendiri¹.

Diperkirakan lebih dari 55% orang dewasa mengonsumsi alkohol, dan 140 juta orang di seluruh dunia mengalami kecanduan alkohol². Alkohol adalah zat adiktif yang dapat membuat Anda merasa ketagihan dan ketergantungan. Penyalahgunaan alkohol dapat menyebabkan masalah kesehatan dan sosial. Pola konsumsi alkohol yang berlebihan dan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan beberapa kerusakan pada organ tubuh, terutama hati, ginjal, jantung, saluran pencernaan, sistem saraf, dan aliran darah³, otak, tulang, organ reproduksi hingga sistem kekebalan tubuh⁴.

Efek akut utama dari minum alkohol adalah meningkatkan jumlah NADH. NADH merupakan hasil reaksi antara ADH yang menghasilkan asetaldehid dan ALDH yang mampu mengubah asetaldehid menjadi asetat. Alkohol yang dikonsumsi masuk ke dalam tubuh dan mengalami serangkaian tahapan biokimia. Sebanyak 90% alkohol yang dikonsumsi akan dimetabolisme oleh tubuh, terutama di dalam hati. Alkohol dioksidasi dengan bantuan reaksi ADH dalam sitosol menjadi dehidrasi asetal. Dalam mitokondria, asetal dehidrat dioksidasi oleh ALDH menjadi asetat. Kelebihan asetat ini kemudian diubah menjadi asetil-KoA dan asetil-KoA diubah menjadi asam lemak. Peningkatan kadar trigliserida dalam hati dilepaskan ke dalam pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan penumpukan trigliserida di dalam pembuluh darah⁵.

Akibat lain dari mengkonsumsi alkohol adalah dapat meningkatkan tekanan darah sehingga meningkatkan risiko kerusakan ginjal. Kerusakan langsung yang terjadi pada ginjal disebabkan oleh pembentukan nefrotoksin yang kuat dengan efek berupa gangguan fungsi dan kematian sel pada tubulus proksimal. Kondisi patologis ginjal yang erat kaitannya dengan konsumsi alkohol antara lain nekrosis papiler ginjal, glomerulonefritis infeksi, dan gagal ginjal akut. Berdasarkan efek-efek tersebut, maka akan berdampak pada kadar kreatinin⁶, Dengan kata lain, pengguna alkohol memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami kerusakan ginjal⁷.

Selain kondisi di atas, kerusakan ginjal biasanya dapat menimbulkan endapan sedimen pada urin berupa asam urat, kalsium oksalat, dan kristal akibat obat-obatan⁸, butiran, kolesterol, dan lain-lain. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah konsumsi alkohol dapat mempengaruhi kadar sedimen dalam urin konsumen, sedimen apa saja yang dapat ditemukan, dan jumlah sampel urin dari pemandu karaoke di kabupaten Tulungagung.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif dengan sampel yang digunakan adalah pemandu karaoke yang mengkonsumsi alkohol. Sampel diperoleh dengan cara purposive sampling dengan pertimbangan bersedia menjadi responden dan berada di lokasi saat pengambilan sampel dilakukan. Sebelum dilakukan pengambilan sampel urin, subjek diminta untuk mengisi formulir informed consent sebagai pernyataan kesediaan menjadi responden dalam penelitian. Kemudian dilakukan pengambilan sampel urin dan pemeriksaan sedimen urin di Laboratorium Patologi Klinik STIKes Utama Abdi Husada Tulungagung.

HASIL

Table 1. Distribusi Sampel Penelitian Berdasarkan Usia

Karakteristik Usia	N	%
20-22 tahun	7	35%
23-25 tahun	10	50%
26-28 tahun	3	15%

Berdasarkan distribusi usia sampel penelitian pada tabel 1, dapat diketahui bahwa 50% subjek penelitian berusia 23-25 tahun atau sebanyak 10 orang, berusia 20-22 tahun sebanyak 35% atau 7 orang dan paling sedikit berusia 26-28 tahun sebanyak 15% atau 3 orang.

Table 2. Distribusi Sampel Penelitian Berdasarkan Konsumsi Alkohol/Hari (Slot)

Karakteristik Konsumsi Alkohol/Hari	N	%
Not know	2	10%
6-8	12	60%
9-11	5	25%
12-14	1	5%

Berdasarkan distribusi sampel dalam konsumsi alkohol/hari (slot) pada tabel 2, dapat dilihat bahwa subjek yang mengkonsumsi 6-8 alkohol/hari sebanyak 60% atau 12 orang, 9-11 alkohol/hari (slot) sebanyak 25% atau 5 orang, 12-14 alkohol/hari sebanyak 5% atau 1 orang, dan tidak diketahui sebanyak 10% atau 2 orang.

Table 3. Distribusi Sampel Penelitian Berdasarkan Lama Mengonsumsi Alkohol

Durasi Konsumsi Alkohol	N	%
0-2 tahun	13	65%
3-5 tahun	6	30%
6-8 tahun	1	5%

Berdasarkan distribusi lama mengonsumsi alkohol pada tabel 3, dapat diketahui bahwa lama subjek mengonsumsi alkohol 0-2 tahun sebanyak 65% atau 13 orang, 3-5 tahun sebanyak 30% atau 6 orang dan 6-8 tahun sebanyak

5% atau 1 orang. Semakin lama seseorang mengkonsumsi alkohol, maka semakin besar pula efek samping yang ditimbulkan.

Table 4. Distribusi Jenis Alkohol yang Dikonsumsi Sampel Penelitian

Tipe alkohol	N	%
Bir	11	55%
Island	6	30%
Mensen	3	15%

Berdasarkan distribusi jenis alkohol yang dikonsumsi pada tabel 4, dapat dilihat bahwa 55% atau 11 orang mengonsumsi alkohol jenis Bir, 30% jenis Island atau 6 orang, dan 15% jenis Mensen atau 3 orang.

Table 5. Hasil Pemeriksaan Sedimen Urin

Code	Hasil pemeriksaan
1A	0-1/0-1/0-1/ Uric Acid +
2A	0-1/0-1/0-1/S.Granula 6-8/Urut Amorf +
3A	0-1/0-1/0-1/Ca.Oxalate ++
4A	0-1/0-1/0-1/S.Granula5-6/Ca.Oxalate ++
5A	0-1/0-1/0-1/ -
6A	0-1/0-1/E.Ginjal 1-2/Urut Amorf +
7A	0-1/0-1/0-1/Ca.Oxalate ++
8A	0-1/0-1/0-1/Ca.Oxalate +/Uric Acid +
9A	0-1/0-1/0-1/Urut Amorf +
10A	0-1/0-1/0-1/Uric Acid +
11A	0-1/0-1/0-1/S.Hyalin 1-2/Ca.Oxalate +/Uric Acid +/Urut Amorf +
12A	0-1/0-1/0-1/Uric Acid +
13A	0-1/0-1/0-1/-
14A	0-1/0-1/0-1/-
15A	0-1/0-1/0-1/Uric Acid +
16A	0-1/0-1/0-1/ Uric Acid +/Urut Amorf +
17A	0-1/0-1/0-1/-
18A	0-1/0-1/0-1/-
19A	0-1/0-1/0-1/Urut Amorf +
20A	0-1/0-1/0-1/S.Hyalin 1-2/Taa

Pada tabel 6 hasil pemeriksaan sedimen urin menunjukkan hasil dimana rata-rata jumlah sel eritrosit, leukosit, dan epitel adalah 0-1/LPB yang masih dapat dikatakan normal, kecuali pada sampel kode 6A ditemukan epitel ginjal 1-2/LPB yang disebut dengan + atau +1. Selain itu, pada 6 sampel tidak ditemukan adanya kristal yang menandakan tidak ada gangguan pada ginjal. Ditemukan 1 sampel yang mengandung butiran silindris dan 2 sampel yang

mengandung hialin silindris. Hasil pemeriksaan sedimen urin menunjukkan bahwa sebanyak 5 sampel (25%) mengandung sedimen urin normal dan 15 sampel (75%) mengandung sedimen urin abnormal.

DISKUSI

Pemeriksaan sedimen urin merupakan biomarker yang sangat baik untuk penyakit ginjal⁸. Pemeriksaan ini dilakukan sebagai upaya untuk memberikan gambaran mengenai efek samping konsumsi alkohol terhadap gangguan ginjal. Sampel yang biasanya digunakan untuk pemeriksaan sedimen urin adalah urin pagi atau urin sewaktu dan sampel yang didapat harus segera diperiksa. Jika terjadi keterlambatan dalam pemeriksaan, sampel ditambahkan dengan bahan pengawet untuk mencegah terjadinya perubahan komposisi dan kandungan zat dalam urin⁹.

Berdasarkan populasi usia, dapat diketahui jika usia pemandu karaoke termasuk dalam usia produktif. Risiko kerusakan ginjal akibat alkohol meningkat seiring bertambahnya usia².

Konsumsi alkohol jenis Bir mendominasi, hal ini dikarenakan Bir mengandung alkohol dengan konsentrasi yang cukup rendah, yaitu sekitar 5%¹⁰. Alkohol jenis Island mengandung alkohol dengan konsentrasi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan Bir, yaitu sekitar +15%¹¹, sedangkan alkohol jenis Mense mengandung alkohol dengan konsentrasi yang sangat tinggi, yaitu >40%¹². Meskipun alkohol yang dikonsumsi memiliki konsentrasi yang rendah, namun tetap saja dapat menimbulkan efek samping bagi kesehatan. Efek pusing, mual, muntah, sakit perut, dan mabuk perjalanan dapat terjadi jika Anda mengonsumsi alkohol dengan kadar rendah. Alkohol dalam kadar sedang dapat menyebabkan gangguan sensorik, penglihatan, gerakan, dan respons tubuh. Alkohol dalam kadar tinggi dapat menyebabkan gangguan gerakan yang parah, penglihatan kabur, pingsan, dan meningkatkan risiko penyakit jantung koroner (PJK) dan gagal ginjal¹³.

Adanya eritrosit pada sedimen urin dapat disebabkan oleh hematuria, diagnosis hematuria terjadi jika ditemukan jumlah eritrosit > 5/LPB. Secara

mikroskopis, pembentukan eritrosit pada sedimen urin sama dengan darah tepi. Sedangkan keberadaan leukosit, pada umumnya sering ditemukan pada urin normal dengan kisaran 0-5/LPB. Jenis leukosit yang sering ditemukan adalah polimorfonuklear (PMN). Sedangkan epitel ginjal sangat jarang ditemukan pada urin normal, jika ada biasanya dalam bentuk tunggal atau berpasangan⁹. Hasil positif epitel ginjal dapat terjadi karena terlepasnya sel epitel yang ada di dinding kandung kemih karena pengaruh endapan pada urin¹⁴. Ditemukannya silinder pada urin menunjukkan gejala kerusakan ginjal, baik yang bersifat akut maupun kronis. Silinder ini terbentuk dari kumpulan sel yang memanjang memadat dengan ujung yang membulat¹⁵.

Kristal yang terbentuk berkaitan dengan proses metabolisme dan asupan cairan seseorang. Terbentuknya kristal pada urin mengindikasikan adanya gangguan pada fungsi ginjal dan juga infeksi yang memungkinkan timbulnya batu saluran kemih¹⁶. Kalsium oksalat sering ditemukan dalam urin dalam bentuk dihidrat, oktahidrat, berwarna kekuningan, dan menyerupai amplop. Kristal asam urat memiliki bentuk menyerupai batang, kubus, lempeng, dan batu. Kristal asam urat berwarna kuning pucat dan kristal ini sering dikaitkan dengan batu ginjal⁹, sedangkan kristal urat amorf sering ditemukan pada urin yang normal dan bersifat asam. Urat amorf berbentuk seperti butiran dan berwarna transparan hingga agak kekuningan¹⁷.

Proses metabolisme alkohol di dalam tubuh dibagi menjadi 2 jalur, yaitu jalur alkohol dehidrogenase dan jalur Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS). Asetaldehida dioksidasi menjadi asetat dalam metabolisme ketiga. Jalur utama metabolisme alkohol melibatkan alkohol dehidrogenase, kelompok enzim sitosol yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis konversi alkohol menjadi asetaldehida. Enzim ini ditemukan dalam jumlah besar di hati dan dalam jumlah kecil di otak dan organ lambung. Selama konversi etanol oleh ADH menjadi asetaldehida, ion hidrogen ditransfer dari etanol ke kofaktor nikotinamida adenin dinukleotida (NAD⁺) untuk membentuk NADH. Oksidasi alkohol yang dihasilkan melebihi ekuivalen pereduksi di dalam hati. Produksi NADH yang berlebihan berkontribusi pada

gangguan metabolisme pada alkoholisme kronis dan merupakan penyebab asidosis laktat dan hipoglikemia pada keracunan alkohol akut¹⁸.

Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS) menggunakan NADPH sebagai kofaktor dalam proses metabolisme etanol yang terdiri dari sitokrom P450. Pola konsumsi alkohol kronis akan menginduksi aktivitas Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS). Produk sampingan dari proses ini, yaitu racun, radikal bebas, dan H₂O₂¹⁸. Pola konsumsi alkohol yang berlebihan dapat mempercepat kerusakan sel-sel di dalam tubuh, termasuk nefron sebagai unit fungsional organ ginjal. Ditambah lagi pola konsumsi alkohol dalam jangka waktu yang lama seringkali berdampak pada kerusakan ginjal¹⁹.

KESIMPULAN

Risiko terkena kerusakan ginjal dapat berkurang jika Anda mengonsumsi alkohol dalam jumlah rendah atau sedang²⁰.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dari 20 sampel urin pemandu karaoke yang mengonsumsi alkohol mayoritas menunjukkan gejala kerusakan ginjal, baik yang bersifat akut maupun kronis. Kesimpulan lain dari penelitian ini adalah durasi konsumsi dan jenis alkohol yang dikonsumsi tidak selalu berpengaruh terhadap jumlah endapan pada urin, namun mengonsumsi alkohol dapat menyebabkan munculnya kristal-kristal yang tidak normal, dimana kristal-kristal tersebut seharusnya tidak ditemukan pada urin orang yang tidak memiliki gangguan ginjal. Disarankan kepada masyarakat untuk tidak mengonsumsi alkohol untuk mencegah terjadinya kerusakan pada ginjal.

REFERENSI

Sari DR, Prasetyo KB. Konstruksi Sosial Masyarakat terhadap Pemandu Karaoke: Studi Kasus di Desa Botorejo Kecamatan Wonosalam Kabupaten Demak. *JSW (Jurnal Sosiologi Walisongo)*. 2017;1(1):17-32. doi:10.21580/jsw.2017.1.1.1935

Fan Z, Yun J, Yu S, Yang Q, Song L. Alcohol Consumption Can be a “Double-

- Edged Sword” for Chronic Kidney Disease Patients. *Med Sci Monit.* 2019;25:7059-7072. doi:10.12659/MSM.916121
- Hiramine Y, Imamura Y, Uto H, et al. Alcohol drinking pattern and the risk of fatty liver in Japanese men. *J Gastroenterol.* 2011;46(4):519-528. doi:10.1007/s00535-010-0336-z
- Singh P, Dutta SR, Passi D, Bharti J. Benefits of alcohol on arsenic toxicity in rats. *J Clin Diagnostic Res.* 2017;11(1):BF01-BF06. doi:10.7860/JCDR/2017/21700.9146
- Purbayanti D, Saputra NAR. Efek Mengkonsumsi Minuman Beralkohol terhadap Kadar Trigliserida. *J Surya Med.* 2017;3(1):75-81. doi:10.33084/jsm.v3i1.214
- Purbayanti D. Efek Konsumsi Minuman Beralkohol terhadap Kadar Kreatinin. *J Surya Med.* 2018;4(1):44-50. doi:10.33084/jsm.v4i1.349
- Pan CS, Ju TR, Lee CC, et al. Alcohol use disorder tied to development of chronic kidney disease: A nationwide database analysis. *PLoS One.* 2018;13(9):1-13. doi:10.1371/journal.pone.0203410
- Cavanaugh C, Perazella MA. Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019. *Am J Kidney Dis.* 2019;73(2):258-272. doi:10.1053/j.ajkd.2018.07.012
- Mongan R, Supiati, Mangiri S. Gambaran Sedimen Urine pada Masyarakat yang Mengkonsumsi Air Pegunungan di Kecamatan Kendari Barat Kota Kendari. *J Teknol Lab.* 2017;6(1):18-24. doi:10.29238/teknolabjournal.v6i1.88
- 1Nuryati T, Widodo H, Tinambusa HSR. Efektivitas Pelaksana Razia Oleh Satuan Polisi Pamong Praja pada Penjual Minuman Beralkohol Tanpa Izin di Kabupaten Mojokerto. *Novum J Huk.* 2017;4(3):1-10. doi:10.2674/novum.v4i3.23338
- Pranadewi PMA. Perbandingan karakteristik two island (lokal wine) California dengan berbahan dasar grape variety pinot noir (perbandingan melalui studi uji organoleptik). *J Kepariwisata.* 2018;17(3):33-43. <https://www.>

- Rahayu FS, Handajani J. Mengonsumsi Minuman Beralkohol Dapat Menurunkan Derajat Keasaman dan Volume Saliva. *Dentika Dent J.* 2010;15(1):15-19.
- Nahak BR., Aliah AI, Karim SF. Analisis Kadar Alkohol pada Minuman Beralkohol Tradisional (Arak) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Sains dan Kesehatan.* 2021;3(4):448-454. doi:10.25026/jsk.v3i4.360
- Pratiwi CD, Puspitasari E. Identifikasi Sedimen Urine pada Penduduk yang Mengonsumsi Air Sumur di Desa Besole Kecamatan Besuki Kabupaten Tulungagung. *Borneo J Med Lab Technol.* 2019;1(2):52-56. doi:10.33084/bjmlt.v1i2.711
- Kosasih E. *Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik Edisi Kedua.* Jakarta : Buku Kedokteran EGC; 2008.
- Yunus R, Yuniarti T. Gambaran Hasil Pemeriksaan Kristal Urin Orang Yang meminum Air Minum Kemasan isi Ulang (air Galon) dan orang meminum air minum dari sumur gali. *Meditoty J.* 2016;4(1):1-6. doi:DOI: <https://doi.org/10.33992/m.v6i1.236>
- Tedjo TCH, Rambert GI, Monga AE. Prevalensi Kristal Urat dalam Urin pada Subjek Dewasa Muda Berat Badan Lebih dan Obes. *Med Scope J.* 2020;1(2):77-81. doi:10.35790/msj.1.2.2020.28003
- Tritama TK. Konsumsi Alkohol dan Pengaruhnya terhadap Kesehatan. *J Major.* 2015;4(8):7-10.
- Diyono D, Indriati R. Analisis Gaya Hidup (Lifestyle) Sebagai Faktor Resiko Penyakit Gagal Ginjal Kronis. *KOSALA J Ilmu Kesehat.* 2017;5(2):147-151. doi:10.37831/jik.v5i2.136
- Hu E, Lazo M, Rosenberg S, et al. Alcohol consumption and incident kidney disease: Results from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *J Ren Nutr.* 2020;30(1):22-30. doi:10.1053/j.jrn.2019.01.011.

HUBUNGAN ANTARA KADAR SERUM ALBUMIN DENGAN KEJADIAN STUNTING PADA BALITA DI DESA TULEHU, KECAMATAN SALAHUTU, KABUPATEN MALUKU TENGAH

Frisca F F Telussa^{1*} · Mahani Auriyah Maligana² · Syawal Alfikry Kaimudin³

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Maluku, Maluku, Indonesia

e-Mail: telussakafhya@gmail.com

No. Tlp WA: 082256342418

Abstract

Stunting is the result of poor nutrition in utero and during childhood. Children who are stunted may never reach their maximum height and their brains may never reach their full cognitive potential. Stunting is one condition that can be influenced by a person's serum albumin levels. In Tulehu Village, there were 91 stunted toddlers out of 648 toddlers. This study aims to determine the relationship between serum albumin levels and stunting in toddlers in Tulehu Village, Salahutu District, Central Maluku Regency. The type of research used was associative. A total of 40 respondents were selected by random sampling based on the inclusion criteria (children aged 0-5 years, Z-score value < -2 SD and parents willing for their children to become respondents). The independent variable was albumin and the dependent variable was stunting. Serum albumin levels were checked using the Brom Cresol Green (BCG) method with an albumin cut-off of 3.8-5.1 g/dL. Testing of serum albumin levels resulted in 16 samples (40%) low, 23 samples (57.5%) normal and 1 sample (2.5%) high so there is a significant relationship between serum albumin levels and stunting toddlers with a p-value = 0.028.

Keywords: Serum albumin, Toddlers and Stunting

Abstrak

Stunting atau tinggi badan pendek merupakan manifestasi dari kurang gizi kronis. Kondisi stunting merupakan salah satu kondisi yang dapat dipengaruhi kadar albumin serum seseorang. Di Desa Tulehu ditemukan 91 balita stunting dari 648 balita. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar albumin serum dengan stunting pada balita di Desa Tulehu Kecamatan Salahutu Kabupaten Maluku Tengah. Jenis penelitian yang digunakan adalah *asosiatif*. Sebanyak 40 responden dipilih dengan *random sampling* berdasarkan kriteria inklusi (anak usia 0-5 tahun, nilai Z-score < -2 SD dan orang tua bersedia anaknya menjadi responden). Variabel bebas adalah albumin dan variabel terikat adalah stunting. Kadar albumin serum diperiksa menggunakan metode *Brom Cresol Green* (BCG) dengan *cut-off* albumin 3.8-5.1 g/dL. Pengujian kadar albumin serum didapatkan hasil 16 sampel (40%) rendah, 23 sampel (57.5%) normal dan 1 sampel (2.5%) tinggi sehingga ada hubungan yang bermakna antara kadar albumin serum dengan balita stunting dengan p-value = 0.028.

Kata Kunci : Albumin serum, Balita dan Stunting

PENDAHULUAN

Stunting merupakan hasil dari gizi buruk di dalam rahim dan selama masa kanak-kanak. Anak-anak yang mengalami stunting tidak akan pernah mencapai tinggi badan maksimal dan otak mereka tidak akan pernah mencapai potensi kognitif penuh (Who & Bank, 2021). Sedangkan faktor risiko stunting antara lain asupan gizi balita, penyakit infeksi, berat badan lahir, panjang badan lahir serta faktor lainnya.

Balita adalah anak yang berusia di bawah 5 tahun. Usia balita merupakan periode usia dimana terjadi pertumbuhan dan perkembangan yang pesat. Pertumbuhan terhambat yang terjadi pada usia dini dapat berlanjut dan berisiko tumbuh pendek pada usia remaja. Anak yang tumbuh pendek di usia dini (0-2 tahun) dan tetap pendek di usia 4-6 tahun memiliki risiko 27 kali lipat untuk tetap pendek sebelum memasuki masa pubertas, sedangkan anak yang tumbuh normal di usia dini dapat mengalami pertumbuhan terhambat di usia 4-6 tahun memiliki risiko 14 kali lipat untuk tumbuh pendek di usia pra pubertas.

WHO memperkirakan jumlah kasus penyakit yang terjadi pada waktu tertentu di suatu wilayah (prevalensi) stunting (balita kerdil) di seluruh dunia sebesar 22 persen atau sebanyak 149,2 juta orang pada tahun 2020. Di Indonesia, berdasarkan data dari Asian Development Bank, pada tahun 2022 persentase Prevalensi Stunting pada Anak Usia di Bawah 5 Tahun di Indonesia sebesar 31,8 persen. Angka tersebut menyebabkan Indonesia menempati peringkat ke-10 di kawasan Asia Tenggara. Selanjutnya pada tahun 2022, berdasarkan data Kementerian Kesehatan, angka stunting Indonesia berhasil turun menjadi 21,6 persen.

Berdasarkan data Survei Status Gizi (SSGI) pada tahun 2022, prevalensi stunting di Indonesia sebesar 21,6%. Angka ini menurun dibandingkan tahun sebelumnya, yaitu 24,4%. Meski menurun, angka ini masih tergolong tinggi, mengingat target prevalensi stunting di

tahun 2024 adalah 14% dan standar WHO di bawah 20%. Hasil penelitian yang dihimpun oleh Bank Dunia menunjukkan bahwa dampak stunting pada balita mengakibatkan penurunan IQ usia sekolah sebesar 10-15%. Stunting menggambarkan kekurangan gizi kronis selama masa pertumbuhan dan perkembangan sejak awal kehidupan.

Stunting pada balita merupakan konsekuensi dari beberapa faktor yang sering dikaitkan dengan kemiskinan termasuk gizi, kesehatan, sanitasi dan lingkungan serta pengetahuan. Ada enam faktor utama yang menyebabkan stunting yaitu kemiskinan, faktor sosial dan budaya, peningkatan paparan penyakit infeksi, kerawanan pangan dan akses masyarakat terhadap pelayanan kesehatan dan pengetahuan orang tua.

Hasil Survei Status Gizi Indonesia (SSGI) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menyatakan prevalensi stunting di Maluku mencapai 26,1 persen pada tahun 2022, turun dari tahun sebelumnya 2,6 poin dibandingkan tahun 2021 sebesar 28,7 persen, meskipun terjadi penurunan prevalensi stunting pada balita, namun berdasarkan wilayahnya, terdapat 6 kabupaten yang berada di atas rata-rata prevalensi stunting Maluku. Sisanya, 5 kabupaten/kota berada di bawah rata-rata provinsi. Kabupaten Buru Selatan memiliki prevalensi stunting tertinggi di Maluku pada SSGI 2022, yaitu 41,6%. Angka ini meningkat 2,5 poin dari tahun 2021 yang sebesar 39,1%. Kabupaten Kepulauan Tanimbar menduduki peringkat kedua daerah dengan prevalensi stunting tertinggi di Maluku, yaitu sebesar 31,5%. Diikuti oleh Kabupaten Kepulauan Aru dengan prevalensi stunting sebesar 28,1%. Prevalensi stunting terendah di Maluku berada di Kota Ambon, yaitu sebesar 21,1%. Dengan demikian harus ada perhatian khusus bagi masyarakat Maluku untuk mengatasi masalah stunting yang ada (Ri, 2022).

Salah satu faktor terjadinya stunting adalah kekurangan zat gizi mikro. Seng (Zn), salah satu zat gizi mikro, diketahui memiliki

manfaat penting bagi tubuh. Seng yang juga biasa disebut dengan zinc, merupakan zat gizi esensial yang berperan dalam bekerjanya lebih dari satu dari 10 macam enzim berikut ini. Kekurangan zinc dikaitkan dengan penurunan nafsu makan, asupan makanan, penurunan aktivitas dan dapat menyebabkan pertumbuhan yang lambat. Albumin adalah pengangkut utama seng. Penyerapan seng menurun bila nilai albumin darah menurun, misalnya pada keadaan malnutrisi (Candra, 2016). Dengan demikian, kadar albumin dalam serum akan mempengaruhi kadar zinc, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan kadar albumin pada kasus stunting agar dapat dilakukan tindakan preventif dan kuratif.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai "hubungan kadar albumin serum dengan kejadian stunting pada balita di Desa Tulehu Kecamatan Salahutu Kabupaten Maluku Tengah".

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian asosiatif yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara satu variabel dengan variabel lainnya. Tempat dan waktu penelitian adalah di Laboratorium RSUD Dr. H. Ishak Umarella Tulehu pada bulan Januari - Februari 2022.

Alat dan bahan yang digunakan Clinipet 1000 ul, Clinipet 10 ul, Tabung Reaksi, Rak Tabung Reaksi, Alat Diagnostik Hospitec, S spuit 1 cc, Tourniquet, Tabung vacum merah, Kapas kering, Plester, Sentrifus, Gunting, Alkohol swab 70%, Serum, Reagen albumin.

Cara Pengambilan Sampel;

a) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan, b) Bersihkan area lengan yang akan ditusuk dengan alkohol 70% kemudian dikeringanginkan, c) Pasang ikatan tourniquet pada lengan atas dan minta pasien untuk mengepalkan tangan agar pembuluh darah vena

terlihat dengan jelas, d) Tusuk kulit dengan jarum hingga ujung jarum masuk ke dalam lumen vena, e) Lepaskan tourniquet dan tarik hisap secara perlahan-lahan, biarkan darah mengalir, f) Letakkan kain kasa di atas jarum kemudian lepaskan jarum, g) Alirkan darah ke dalam tabung melalui dinding tabung (Hidayatul H. fathul, Meganingdyah P. Danny, 2022).

Cara pembuatan Serum;

a) Masukkan sampel darah b) Atur kecepatan pada 3000 rpm selama 10 menit, c) Keluarkan sampel, lapisan bening di bagian atas adalah serum.

Pemeriksaan Kadar Albumin Serum;

a) Pipet ke dalam tabung reaksi 10 ul darah dan 1000 ul reagen albumin, b) Inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, c) Pada alat pilih jenis analisis yang akan dilakukan, yaitu Albumin, d) Hisap pada alat aquadest kemudian sampel, e) Alat akan membaca secara otomatis pada panjang gelombang 546 nm dan hasilnya akan keluar dalam bentuk print out, f) Catat hasilnya.

Untuk memperoleh sajian data yang bermakna dan kesimpulan yang tepat dan benar, maka diperlukan pengolahan data untuk menguji antara dua kelompok data berupa uji statistik non parametrik yaitu metode uji Chi Square.

HASIL

Hasil penelitian yang telah dilakukan disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Balita Berdasarkan Jenis Kelamin dan Usia

No	Karakteristik	Stunting	Tidak Stunting	Total
1	Jenis Kelamin			
	- Laki-lami	8	10	18
	- Perempuan	12	10	22
	Total	20	20	40
2	Age			
	0-11 bulan	0	12	12
	12-23 bulan	7	3	10

24-35 bulan	4	1	5
36-47 bulan	5	2	7
48-59 bulan	4	2	6
Total	20	20	40

Tabel 1, menunjukkan bahwa dari 40 balita yang terdiri dari 20 balita stunting dan 20 balita non stunting di Desa Tulehu, berdasarkan jenis kelamin paling banyak ditemukan pada perempuan yaitu 22 balita dan 18 balita. Berdasarkan usia, paling banyak terdapat pada usia 0-11 bulan yaitu 12 balita dan paling sedikit terdapat pada usia 24-35 tahun yaitu 5 balita.

Tabel 2. Hubungan antara Kadar Albumin Serum dan Balita Stunting dan Non-Stunting.

No	Tingkat Albumin Serum	Stunting	Tidak Stunting	Total	P-value
1	Low	4	12	16	0.028
2	Normal	15	8	23	
3	High	1	0	1	

Tabel 2, menunjukkan bahwa balita stunting dengan kategori kadar albumin normal paling banyak adalah 23 balita, dan kategori rendah sebanyak 16 balita serta kategori tinggi paling sedikit hanya 1 balita dengan nilai P-value sebesar 0,028.

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian terhadap 20 balita stunting yang terdapat pada tabel 1, diperoleh data jenis kelamin pada balita yang mengalami stunting di Desa Tulehu, yaitu sebanyak 8 balita memiliki jenis kelamin laki-laki dan sebanyak 12 balita memiliki jenis kelamin perempuan.

Pertumbuhan stunting yang terjadi pada anak usia dini dapat berlanjut dan berisiko tumbuh pendek pada usia remaja. Anak yang tumbuh pendek di usia dini (0-2 tahun) dan tetap pendek di usia 4-6 tahun memiliki risiko 27 kali lipat untuk tetap pendek sebelum

memasuki masa pubertas, sedangkan anak yang tumbuh normal di usia dini dan mengalami hambatan pertumbuhan di usia 4-6 tahun memiliki risiko 14 kali lipat untuk tetap pendek di usia pra pubertas. Oleh karena itu, intervensi untuk mencegah terjadinya stunting tetap diperlukan bahkan setelah 1000 Hari Pertama Kehidupan (HPK).

Berdasarkan penelitian dari Setyawati, 2018, menyatakan bahwa proporsi masalah stunting lebih besar pada usia < 2 tahun. Idealnya seorang anak yang mendapatkan ASI eksklusif hingga usia 6 bulan. Biasanya balita ini akan mengalami pertumbuhan yang cepat baik dari segi berat badan maupun tinggi badan. Setelah usia 6 bulan ke atas, anak mulai mendapatkan makanan pendamping ASI (MP-ASI) dan mulai mengalami peningkatan perkembangan lainnya. Sehingga anak membutuhkan nutrisi yang lebih banyak. Namun ada beberapa masalah yang umumnya terjadi pada masa ini, antara lain balita sulit makan ditambah dengan kualitas dan kuantitas ASI yang semakin menurun seiring dengan bertambahnya usia anak. Sehingga sampai usia 24 bulan dapat dikatakan sebagai masa adaptasi untuk dapat mengkonsumsi makanan yang sesuai dengan nutrisi. Biasanya setelah balita disapih, pada usia 24 bulan balita akan mulai dapat melahap makanan lebih banyak dibandingkan sebelum disapih. Oleh karena itu, masalah gizi termasuk stunting tidak dialami oleh anak usia < 24 bulan.

Berdasarkan hasil pemeriksaan hubungan kadar albumin serum dengan balita stunting dan non stunting yang tertera pada tabel 2, pemeriksaan laboratorium kadar albumin serum pada balita non stunting didapatkan hasil normal sebanyak 22 dari 40 balita secara keseluruhan, sedangkan pada balita stunting didapatkan hasil normal sebanyak 14 dari 20 balita dengan rerata kadar albumin serum sebesar 4,12 g/dL. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mikhail, 2013, yang menemukan bahwa kadar serum albumin normal.

Serum albumin pada anak stunting lebih rendah dibandingkan anak non stunting namun masih dalam kategori normal. Penelitian ini

dilakukan pada 100 balita stunting dengan rata-rata kadar albumin 4,27 g/dL.

Penelitian Nikmah, 2019, sampel yang diambil adalah darah dari 47 responden usia 2-5 tahun di Kecamatan Gunung Sugih Kabupaten Lampung Tengah. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa rata-rata kadar albumin serum balita stunting adalah 4,53 g/dL dan hal ini termasuk dalam kategori normal. Penelitian ini menggunakan metode Brom Cresol Green (BCG) dengan cut-off albumin 3,5-5,0 g/dL.

Salah satu faktor yang berhubungan dengan pertumbuhan adalah kadar albumin. Albumin merupakan pembawa kalsium, logam seperti tembaga dan seng, metheme, steroid, dan hormon lainnya (Murray et al., 2014). Salah satu faktor yang mempengaruhi sintesis albumin di hati adalah asupan protein sehingga apabila konsumsi protein rendah dapat menurunkan sintesis albumin.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada hubungan antara kadar serum albumin dengan stunting pada balita di Desa Tulehu Kecamatan Salahutu Kabupaten Maluku Tengah yang signifikan dan bermakna secara statistik dengan nilai $p \text{ value} = 0,028 < (0,05)$. Dan yang dapat peneliti sarankan untuk peneliti selanjutnya yaitu: Perlu dilakukan pencatatan data mengenai pola makan responden dan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar serum albumin pada balita, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada kelompok umur yang berbeda dengan menambahkan variabel lain atau menggunakan metode pemilihan sampel yang berbeda, serta perlu memperhatikan teknik pengambilan sampel agar hasil penelitian tidak bias karena kekurangan sampel, dan perlu diperhatikan teknik pengambilan sampel agar hasil penelitian tidak bias karena kekurangan sampel, serta perlu diperhatikan manfaat yang dapat diperoleh responden agar manfaat dapat diperoleh secara bersama-sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada Bapak Direktur yang telah memberikan izin kepada peneliti untuk menuntut ilmu di Poltekkes Kemenkes Maluku, Ibu Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medik yang selalu mendukung dan membimbing dalam penyusunan penelitian ini dari awal hingga akhir, serta orang tua dan keluarga tercinta serta segenap dosen dan teman-teman yang selalu memberikan doa yang terbaik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini, karena para peneliti bukan bagian dari kelompok yang diteliti.

REFERENSI

- Al-Rahmad, A.H, A Miko and A. Hadi (2013). *Study of Stunting in Toddlers in Review of Exclusive Breastfeeding, Complementary Feeding, Immunization Status and Family Characteristics in the City of Banda Aceh*. Journal Scientific Health Nasuwakes. <http://www.nasuwakes.org/download/8.%20%20AGUS%20HENDRA.pdf>
- Candra, Aryu (2016). *Effect of Zinc (Zn) and Iron (Fe) Supplementation on Hemoglobin Levels of Toddlers 3-5 Years of Age*. http://doi.org/10.14710/jnh.4.2.2_016.1
- Fenske et al (2013), *Body Length Relationship Born to the development of 12 month-old children*. Center for Applied Health Technology and Clinical Epidemiology R.
- Hidayatul H. fathul, Meganingdyah P. Danny. (2022). *Phlebotomy Practicum Module and Sampling Technique*.
- Najahah I, Adhi KT, and Pinath (2013). *Risk Factors for Stunting Toddlers 12-36 Months of Age at Puskesmas Dasan Agung Mataram West Nusa Tenggara*. Research Article. <http://www.repository.unhas.ac.id>.
- Nikmah, Alfia (2019). *Differences in Mean Albumin Levels in Stunting and Non-Stunting Toddlers in Gunung Sugih District, Central*

Lampung Regency. Thesis. Faculty of Medicine, University of Lampung.

Ri, K. K. (2022). *Handbook of Nutrition Status Survey of Indonesia (SSGI) 2022 Results*.

Setyawai, Vilda Ana Veria (2018). *Study of Stunting by Age and Gender in Semarang City*. Surakarta: STIKES PKU Muhammadiyah Surakarta.

Sugiyono (2013). *Methods Educational Research Methods Kuantitatif, Qualitative Approaches, and R&D*. Bandung: Alfabeta.

Who, U., & Bank, W. (2021). *Levels and trends in child malnutrition*.

POTENSI MEDIA TRANSPORT MODIFIKASI AMPAS TAHU SEBAGAI PENUNJANG DETEKSI GEN ESBL PADA INFEKSI ULKUS KAKI DIABETIK

Venny Patricia¹ · Ahmad Yani² · Citra Trisna³ · Muhamad Abdul Rifai⁴ · Luthfiyatul Hidayah⁵ · Mega Rachmawati⁶

^{1,2,3,4,5,6} Afiliasi (Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik, Poltekkes Kemenkes Banten, Banten, Indonesia)

^{1,2} Afiliasi (Pusat Unggulan Iptek-Poltekkes Kemenkes (PUI-PK), Poltekkes Kemenkes Banten, Banten, Indonesia)

e-Mail : venny.patricia@poltekkesbanten.ac.id

No Tlp WA : 0813-6772-3320

Abstract

*Diabetes is a chronic disorder that is a major public health problem globally. About one-fourth of all diabetics have the potential to develop ulcers in their lifetime, and half of those ulcers are at risk of infection with a microorganism. Patients with diabetic foot ulcers are often infected by antibiotic-resistant organisms (MDROs), one of the bacteria producing Extended Spectrum β Lactamase (ESBL). The purpose of this study was to see the potential of tofu pulp modification transport media as a support for ESBL gene detection. ESBL genes in bacteria are detected using PCR techniques. In testing this modified Tofu Dregs transport media using 30 ulcer samples of Diabetes Mellitus patients at RUMAT Cipondoh, Tangerang City. The results of the dominant bacteria that grow are *Citrobacter* sp group bacteria, namely modified transport media 6 (30.0%) and Amies 8 (40.0%). The highest percentage of 64% is still sensitive to meropenem. Based on genotype, there are 4 (13.3%), SHV 3 (10%) and 1 (3.3%) genes containing these two genes. Conclusion The treatment strategy for diabetic foot ulcer infection using antibiotics must be based on the results of resistance test cultures so that there are not many MDRO genes, especially ESBL-producing genes, from 30 diabetic ulcer isolates using modified Tofu Dregs transport media are quite effective and can be used as a transport medium to support bacterial examination with ESBL genes.*

Keywords : ESBL, MDRO, Diabetic Ulcers

Abstrak

Diabetes merupakan suatu gangguan kronis yang menjadi masalah utama kesehatan masyarakat secara global. Sekitar satu per empat dari seluruh penderita diabetes berpotensi mengalami ulkus sepanjang hidup mereka, dan setengah dari ulkus tersebut memiliki resiko untuk terinfeksi suatu mikroorganisme. Pasien dengan ulkus kaki diabetes sering kali terinfeksi oleh organisme yang resisten antibiotik (MDRO) salah satunya bakteri penghasil Extended Spectrum β Lactamase (ESBL). Tujuan penelitian ini untuk melihat potensi media transport modifikasi ampas tahu sebagai penunjang deteksi gen ESBL. Gen ESBL pada bakteri di deteksi menggunakan Teknik PCR. Pada pengujian media transport modifikasi Ampas Tahu ini menggunakan 30 sampel ulkus pasien Diabetes Melitus di RUMAT Cipondoh, Kota Tangerang. Hasil bakteri dominan yang tumbuh ialah bakteri golongan *Citrobacter* sp yaitu media transport modifikasi 6 (30,0%) dan Amies 8 (40,0%). Persentase tertinggi sebesar 64% masih sensitif terhadap meropenem. Berdasarkan genotif terdapat gen OXA sebanyak 4 (13,3%), SHV 3 (10%) dan 1 (3,3%) yang mengandung kedua gen tersebut. Kesimpulan strategi pengobatan infeksi ulkus kaki diabetic penggunaan antibiotik harus berdasarkan hasil kultur uji resistensi sehingga tidak banyak menimbulkan gen MDRO khususnya gen penghasil ESBL, dari 30 isolat ulkus diabetic menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu cukup efektif dan dapat digunakan sebagai media transport sebagai penunjang pemeriksaan bakteri dengan gen ESBL.

Kata Kunci : ESBL, MDRO, Ulkus diabetic

PENDAHULUAN

Dewasa ini, kasus diabetes masih menjadi topik hangat pada permasalahan yang terjadi dibidang kesehatan. Dilansir dari data (WHO, 2023) Sekitar 422 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes, sebagian besar lainnya penderita tinggal di negara-negara berkembang dengan tingkat penghasilan rendah hingga menengah, dan sebanyak 1,5 juta kasus kematian setiap tahunnya disebabkan oleh penyakit diabetes. Hingga saat ini, jumlah kasus dan prevalensi diabetes ini diperkirakan akan terus meningkat. Sekitar satu per empat dari seluruh penderita diabetes berpotensi mengalami ulkus sepanjang hidup mereka, dan setengah dari ulkus tersebut memiliki resiko untuk terinfeksi suatu mikroorganisme (Perim et al., 2015). Diabetes melitus merupakan kelainan endokrin yang dapat menimbulkan berbagai komplikasi, salah satunya dapat menyebabkan *Diabetic foot infection* (DFI). Presentase risiko seumur hidup pada penderita diabetes Tipe 1 dan Tipe 2 terhadap kejadian kasus *Diabetic foot infection* (DFI) yaitu sekitar 34%. Infeksi yang terjadi pada *Diabetic foot infection* (DFI) bervariasi mulai dari menyebabkan selulitis superfisial sederhana hingga osteomyelitis kronis. Pasien dengan DFI juga sering kali dikaitkan dengan risiko kematian hingga 2,5 kali lipat dibandingkan pasien diabetes tanpa DFI (Darwis et al., 2021). Ditemukan sekitar 5,8% gen SHV, 8,2% positif gen SHV+OXA-1, 2.54% gen TEM (akrami, M., & karga jahromi, 2022). Penelitian di Iraq menyebutkan ada sekitar 60% gen *bla*_{TEM}, 53,3% gen *bla*_{OXA} pada infeksi ulkus kaki diabetic (Hamid et al., 2020). Gen ESBL tidak hanya ditemukan pada sampel ulkus tetapi juga pada feses sapi yaitu sekitar 25% gen SHV, 16,7% gen TEM dan 66,7% gen CTX-M (Triffit et al., 2018). Penelitian lain di Iraq pada tahun 2021 masih terdapat gen penghasil ESBL pada ulkus kaki diabetic sekitar 50% gen SHV, OXA-1 38,8%, CTX-M-1 44,4%, TEM 11,1% dan CTX-M-2 5,5% (Jassim et al., 2022).

Salah satu pemeriksaan penunjang pada infeksi ulkus kaki diabetic ialah pemeriksaan kultur bakteri. Pada tahap preanalitik pengambilan sampel infeksi ulkus kaki diabetik dapat digunakan swab dan memerlukan media transport apabila pengambilan sampel cukup jauh dari laboratorium yang akan memeriksa

sampel tersebut. Media transport digunakan untuk menjaga bakteri yang ada didalam sampel ulkus dapat bertahan hidup sampai diperiksa pada laboratorium. Menurut (Woldeteklie et al., 2022) Untuk melihat suatu ulkus terinfeksi terinfeksi, swab kapas steril digunakan untuk mengambil sampel dari ulkus di kaki, sedangkan jarum steril digunakan untuk mengambil nanah yang diaspirasi. Sebuah media transport Stuart digunakan untuk mengangkut sampel dalam waktu 2 jam. Disamping itu, dikarenakan harga reagen media transport tersebut kurang ekonomis apabila digunakan secara terus menerus sehingga penelitian ini terdorong untuk menciptakan sebuah inovasi dibidang kesehatan yaitu membuat media transport modifikasi dengan memanfaatkan ampas tahu yang menjadi salah satu komposisi utama pada media transport pertumbuhan bakteri tersebut. Limbah hasil produksi tahu tersebut dikenal tidak memiliki nilai guna serta akan berdampak buruk apabila mencemari lingkungan jika tidak tertangani sehingga dengan adanya pemanfaatan limbah ampas tahu tersebut akan berdampak positif bagi masyarakat dan lingkungan.

Pada tahap analitik kultur swab ulkus kaki diabetic yang sudah berada didalam media transport tersebut diinokulasi pada media agar darah dan agar MacConkey untuk isolasi bakteri aerob. Isolat selanjutnya diidentifikasi menggunakan uji biokimia (Perim et al., 2015). Uji sensitivitas obat dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer mengikuti pedoman yang diberikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* dalam standar pengujian sensitivitas antimikroba (Mukherjee et al., 2021).

Menurut (Datta et al., 2019) Pasien dengan ulkus kaki diabetes sering kali terinfeksi oleh organisme yang resisten terhadap banyak obat (MDRO). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dari 89 isolat dari Famili *Enterobacteriaceae*, 16 strain (18%) menghasilkan ESBL, 6 strain (6,7%) menghasilkan Amp C dan 37 strain (41,5%) menghasilkan ESBL dan Amp C. Selain itu, 13,4% adalah karbapenem. *Enterobacteriaceae* yang resisten. Di antara 20 isolat *Pseudomonas* dan *Acinetobacter*, 5 diantaranya merupakan produsen MBL. Di antara *S. aureus*, 18% adalah MRSA. Sebanyak 56 pasien memiliki patogen MDRO pada ulkus kaki diabetiknya dan 44 pasien mengalami infeksi

tanpa MDRO. Sedangkan dari penelitian (Perim et al., 2015), sebanyak 61 pasien dengan ulkus diabetic diisolasi organisme Gram positif. Diketahui bahwa, terdapat 16 (59%) dan 9 (33%) kasus *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang resisten methisilin dengan resistensi oksasilin dan resistensi ceftoxitin. Di antara 16 dan 9 kasus MRSA, 7 strain umum resisten terhadap vankomisin dalam uji difusi disk.

Menurut (Darwis et al., 2021) Bakteri yang ditemukan pada pasien dengan kasus *Diabetic foot infection* (DFI) di RSUD Dr Hi Abdul Moeloek pada tahun 2017-2019 ditemukan resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan diantaranya bakteri gram negatif pada penelitian ini menunjukkan kerentanan paling rendah terhadap kloramfenikol (28,3%), tetrasiklin (22,6%), cefixime (13,9%), ampicilin (13,4%), penisilin (11,1%), eritromisin (10,7%), amoksisilin (10,7%) dan sefadroksil (10,6%). Sedangkan bakteri Gram positif menunjukkan kerentanan paling rendah terhadap kloramfenikol (30,8%), amoksisilin (23,1%), sefadroksil (21,4%), sefotaksim (11,1%), sefoperazon (10%), tetrasiklin (6,7%), sefiksim (0. %), klindamisin (0%), eritromisin (0%), ampicilin (0%) dan penisilin (0%).

Resistensi antibiotik pada kasus DFI masih menjadi masalah utama; ini memperburuk prognosis dan dapat menyebabkan hasil pengobatan yang buruk. Umumnya, hal ini terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan akses bebas terhadap penggunaan antibiotik diberbagai negara. Pemilihan antibiotik yang tepat berdasarkan antibiogram isolat dari infeksi kaki diabetik sangat penting untuk penatalaksanaan yang tepat terhadap infeksi ini. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya gen ESBL pada ulkus kaki diabetik di RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang dengan pengambilan sampel ulkus diabetik menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan adalah mesin PCR *Cleaver*, erlenmeyer glass 250 ml, *micropipet* 0.5-10 μ l, *micropipette* 5-50 μ l, *micropipet* t 20-100 μ l, *microwave*, gelas ukur 100 ml, *plate* dan sisir (*comb*), *gloves*, *gel try*, *MUPID-2 Mini Gel Electrophoresis*), *power supply*, parafilm, UV transiluminator UVP TEM

40, USA, gunting, kamera digital, pena marker dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah sampel ulkus diabetik, *agarose*, 1 x *TBE Buffer*, *white tip*, *yellow tip*, *microtube* 1,5 ml, *microtube* 0,2 ml, *My TaqTm HS Red mix.2x*, *gel red*, *loading dye*, *ladder* 100bp, dan *double destilated water*.

Desain penelitian yang digunakan adalah Deskriptif dengan pendekatan uji laboratorium, uji laboratorium untuk mengidentifikasi galur ESBL dengan pendekatan survai klinis secara *cross sectional* pada isolat ulkus diabetik. Populasi target dari penelitian adalah sampel ulkus diabetik pasien rawat jalan di RUMAT Cipondoh, kota Tangerang, Banten. Sampel penelitian adalah semua isolat bakteri Gram negatif dari berbagai sampel yang terdeteksi MDR.

Isolasi dan identifikasi sampel Ulkus Diabetik Pada media Modifikasi Ampas Tahu dan Pada media Kontrol Amies

Tahap awal dari penelitian adalah sampel yang sebelumnya telah diambil menggunakan swab steril dan dimasukkan dalam media transport modifikasi Ampas Tahu diinokulasikan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dan *MacConkey Agar* (MCA). Setelah inkubasi 24 pada suhu 35°C, masing-masing media diperiksa, dan dilanjutkan dengan menanam koloni yang tumbuh pada media uji biokimia dan uji resisten. Identifikasi sementara dari sampel ulkus diabetik yaitu dengan pewarnaan Gram, karakteristik morfologis, dan uji biokimia seperti katalase, urease, penggunaan *sitrat Simmons*, dan MR (*methyl red*) dan melakukan pembacaan hasil uji resistensi.

Uji Genotif dengan PCR

1) Ekstraksi DNA koloni Bakteri Gram Negatif

Semua isolat bakteri yang tumbuh dilakukan proses uji genotipe dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses isolasi DNA koloni bakteri ESBL menggunakan metode *boiling* selama 5 menit, dengan mencampurkan koloni bakteri dengan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4 sebanyak 500µL lalu ditambahkan DNA *chelex-100*. lalu proses sekuensi primer dengan pemberian primer OXA, TEM, SHV; running PCR.

2) PCR gen TEM, SHV, OXA dan IMP dari isolat Bakteri

Tabel 1. Primer yang digunakan dan metode dilakukan dengan *Multiplex PCR*

Nama Primer	Sekuensi Primer	Gen Target	Amplicon in bp
IMP - F	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	IMP	232 bp
IMP - R	GGTTTAAYAAAACAACCACC		
SHV - F	TCAGCGAAAAACACCTTG	SHV	471 bp
SHV - R	TCCCGCAGATAAATCACC		
TEM - F	CTTCCTGTTTTTGCTCACCCA	TEM	717 bp
TEM - R	TACGATACGGGAGGGCTTAC		
OXA-48 F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	OXA-48	744 bp
OXA-48 R	GAGCACTTCTTTGTGATGGC		

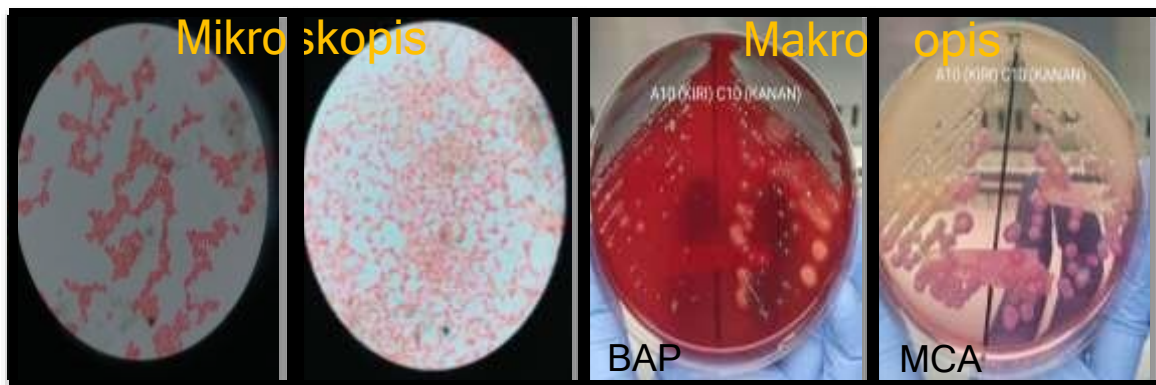
Suhu pada *multiflex PCR* ini ialah dengan suhu awal denaturasi 95°C, 3 menit; tahap denaturasi 95°C, 15 detik; *annealing* 60°C, 30 detik; ekstensi 72°C, 30 detik dan ekstensi tambahan 72°C, 7 menit.

3) Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis dan Visualisasi

Kualitas DNA hasil amplifikasi dengan teknik PCR dilihat dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa (konsentrasi 1%). Elektroforesis dilakukan dalam aparatus elektroforesis yang berisi TBE 1x (*Tris-Boric Acid*- EDTA 10.8 g/L, pH 8.0 yang mengandung 5,5 g/L *Boric Acid* dan 0,5 M EDTA pH 8.0) dan ditambahkan zat interkalator *gell red*. Sebagai penanda ukuran pita- pita DNA hasil elektroforesis pada gel digunakan DNA marker Gel dielektroforesis dengan tegangan listrik 100 V selama 25 menit. Selanjutnya, hasil elektroforesis akan dideteksi dengan sinar UV.

HASIL

Dari 30 Isolat ulkus diabetik yang diperoleh dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang yang dikultur menggunakan media transport modifikasi ampas tahu didapatkan gambaran secara mikroskopis dan makroskopis yang ditunjukkan pada (gambar 1) dibawah ini:



Gambar 1. Hasil pertumbuhan mikroskopis dan makroskopis pada media transport modifikasi Ampas Tahun dan AMIES. Sumber : (dokumen pribadi)

Penelitian ini menggunakan 30 isolat pasien dari perlakuan media modifikasi dan media AMIES. 1 pasien diambil 2 kali pengambilan untuk diletakkan pada kedua media transport tersebut. Berikut data demografi dari 15 pasien yang diambil pada penelitian ini.

Tabel 2. Data demografi dari 15 pasien penderita ulkus kaki diabetik dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang

Variabel	Karakteristik	Total (N)	%
Usia	26 - 35 tahun	0	0
	36 - 45 tahun	2	13
	46 - 55 tahun	6	40
	56 - 65 tahun	6	40
	> 65 tahun	1	7
Jenis Kelamin	Perempuan	8	53
	Laki-laki	7	47
Lama Menderita	≥ 1TAHUN	14	93
	< 1TAHUN	1	7
Total		15	100

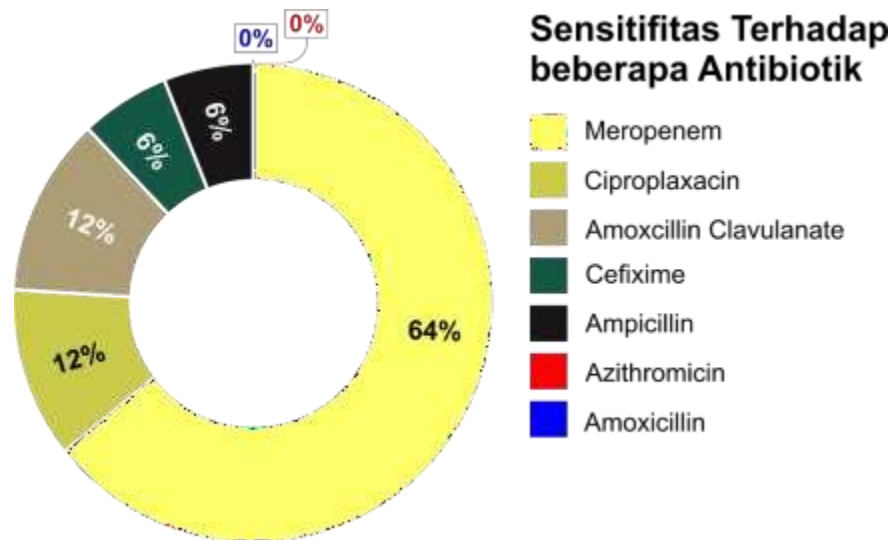
Sebanyak 15 responden pasien Diabetes Melitus (DM) tipe 2 dengan komplikasi ulkus kaki diabetik dari (tabel 2) prevalensi usia yang dominan ialah pada 46-55 dan 56-65 tahun sebesar 6(40%). Pasien berdasarkan jenis kelamin sama antara Perempuan 8(53%) dan laki-laki 7(47%) dan rata-rata menderita DM lebih dari 1 tahun sebesar 14(93%).

Tabel 3. Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Pada Media Transport Modifikasi Ampas Tahu dan Transport Media AMIES

MEDIA	BAKTERI	N	(%)
MEDIA TRANSPORT MODIFIKASI AMPAS TAHU	<i>Citrobacter sp</i>	6	30,0
	<i>Enterobacter sp</i>	5	25,0
	<i>Pseudomonas sp</i>	4	20,0
	<i>Proteus sp</i>	2	10,0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,0
	<i>Escherichia coli</i>	1	5,0
	<i>Candida sp</i>	1	5,0
	Steril	1	5,0
MEDIA	BAKTERI	N	(%)
AMIES	<i>Citrobacter sp</i>	8	40,0
	<i>Enterobacter sp</i>	4	20,0
	<i>Pseudomonas sp</i>	4	20,0
	<i>Proteus sp</i>	2	10,0
	<i>Staphylococcus sp</i>	1	5,0
	<i>Candida sp</i>	1	5,0
	Steril	1	5,0

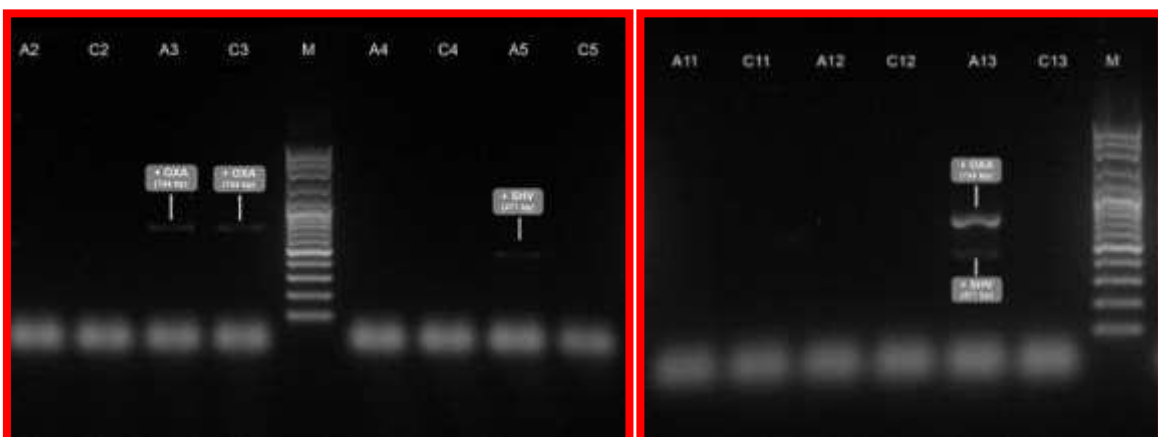
Pada (Tabel 3) sampel kultur ulkus kaki diabetik yang terbanyak baik pada media modifikasi dan media Amies didominasi oleh bakteri golongan *Citrobacter sp* yaitu media transport modifikasi 6(30,0%) dan Amies 8(40,0%), lalu diikuti bakteri bakteri lain nya seperti *Enterobacter sp* 5(25,0%); 4(20,0%); *Pseudomonas sp* 4(20,0%); prevalensi yang sama ditunjukkan untuk bakteri *Proteus sp* sebesar 2(10,0%). Bakteri lainnya hanya ada 1(5,0%) pada masing-masing media transport untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Candida sp*. Ada 1 sampel dinyatakan steril karena memang tidak ada pertumbuhan bakteri. Pada hasil uji resistensi terhadap 7 antibiotik yang diujikan pada isolat yang ditanam pada media

modifikasi didapatkan hasil seperti yang ditunjukkan pada (gambar 2) diagram dibawah ini:



Gambar 2. Diagram Persentase uji resistensi isolat bakteri Ulkus kaki diabetik

Hasil uji resistensi yang dilakukan pada 7 antibiotik persentase tertinggi sebesar 64% masih sensitif terhadap meropenem, lalu diikuti oleh antibiotik Ciprofloxacin dan Amoxicillin Clavulanate sebesar 12% dan antibiotik yang semua nya resisten yaitu pada golongan Azitromicin dan Amoxicillin. Pemeriksaan secara genotif untuk melihat gen penghasil ESBL dilanjutkan dengan dideteksi melalui proses PCR multipleks untuk mengidentifikasi gen ESBL dengan menguji pengkodean gen OXA, SHV, dan TEM. Berikut frekuensi gen ESBL yang ditemukan melalui proses PCR multipleks dengan 25 siklus, hasil yang didapatkan ditunjukkan pada gambar 3 dibawah ini:



Gambar 3. Elektroforesis gel gen OXA dan SHV yang diamplifikasi dari PCR konvensional. Agarosa 2%, 100V/cm selama 40 menit, yang telah diwarnai dengan *gel red* dan diamati pada

trans-iluminator ultraviolet. (M): ladder DNA 100bp. line A3, C3, A13 terdapat Gen OXA (744 bp) dan line A5 dan A13 terdapat gen SHV (471 bp).

Dalam hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa pada amplicon A3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon C3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon A5 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), amplicon C6 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon C10 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), dan pada amplicon A13 ditemukan adanya gen OXA + SHV.

Tabel 3. Frekuensi gen ESBL pada isolat ulkus kaki diabetik dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang

GEN	n	Presentase (%)
OXA	4	13,3
SHV	3	10
OXA + SHV	1	3,3
TEM	0	0

Dengan presentasi frekuensi pengkodean gen OXA (744 bp) sebanyak 13,3%, gen SHV (471 bp) sebanyak 10%, dan gen OXA+SHV sebanyak 3,3%.

DISKUSI

Terdapat beberapa keluarga β -laktamase, yang merupakan enzim yang dapat menghancurkan antibiotik β -laktam seperti sefalosporin dan karbapenem, menyebabkan resistensi bakteri terhadap jenis antibiotik ini : Kelas A β -laktamase : Kelas ini mencakup berbagai β -laktamase yang menghasilkan resistensi terhadap antibiotik sefalosporin. Ini termasuk enzim *Imipenem-Hydrolyzing Enzyme* (IMI), *Serratia marcescens* enzim (SMI), *Not-Metallo-Enzyme Carbapenemase* (NMC), *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), dan masih banyak lagi. KPC dan GES biasanya disebabkan oleh plasmid atau elemen genetik bergerak (HGT). Kelas B β -laktamase (*Metallo- β -laktamase*): Ini adalah β -laktamase yang mengandung ion logam seperti seng dalam situs aktif mereka. Mereka menghancurkan antibiotik β -laktam dan resisten terhadap berbagai antibiotik, termasuk sefalosporin, aztreonam, dan karbapenem. Contoh keluarga penting dalam kelas ini termasuk IMP, VIM, SPM,

dan *New Delhi metallo-β-lactamases* (NDM). Kelas C β-laktamase (Sefalosporinase): Kelas ini mencakup enzim yang dikenal sebagai Amp C β-laktamase. Mereka ditemukan di banyak bakteri Gram negatif kecuali *Salmonella* dan *Klebsiella*. Beberapa *strain*, seperti *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*, dan *Stenotrophomonas spp*, tidak memiliki gen *BlaampC* di dalam genom inti mereka. Kelas D β-laktamase (*Oxacillin Hydrolyzing Enzymes*, OXA): Kelas ini mencakup β-laktamase yang termasuk dalam keluarga OXA. Mereka ditemukan di *Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ada banyak varian OXA, dan beberapa di antaranya, seperti OXA-11 dari *Pseudomonas aeruginosa* dan OXA-23 dari *Acinetobacter baumannii*, dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tertentu seperti sefalosporin generasi III dan karbapenem. Enzim-enzim ini merupakan penyebab utama dari resistensi bakteri terhadap antibiotik β-laktam, dan pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme kerja mereka adalah kunci untuk mengembangkan strategi pengelolaan infeksi yang lebih efektif.

Hasil penelitian yang dilakukan berdasarkan usia prevalensi usia yang dominan ialah pada 46-55 dan 56-65 tahun sebesar 6(40%). Faktor usia 46-65 merupakan termasuk lansia akhir dengan resiko terjadi DM dengan komplikasi ulkus kaki diabetik. Pada masa usia lansia akhir sudah terjadi penurunan fungsi tubuh seperti penurunan sekresi insulin sehingga kemampuan tubuh untuk mengendalikan glukosa darah menjadi tidak optimal (Salim et al., 2020). Faktor usia dan lamanya penderita menjadi salah satu faktor penyebab penyebab infeksi serta peningkatan derajat keparahan ulkus diabetk. Dari penelitian sebelumnya, terdapat faktor risiko tertentu yang terkait dengan peningkatan kemungkinan terjadinya infeksi organisme yang resistan terhadap beberapa obat (MDRO) pada pasien dengan ulkus kaki diabetik: Durasi Diabetes: Pasien yang menderita diabetes selama lebih dari 20 tahun mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama seseorang menderita diabetes, semakin rentan mereka terhadap infeksi yang disebabkan oleh organisme yang resistan terhadap beberapa obat. Ukuran Ulkus: Pasien dengan ulkus yang lebih besar (berukuran lebih dari 4 cm²) juga berisiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Ulkus yang lebih besar dapat

memberikan lingkungan yang lebih baik bagi kolonisasi bakteri dan infeksi. Usia: Individu yang berusia di bawah 50 tahun mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Tingkat Maag: Pasien dengan tukak Tingkat 2 dan Tingkat 3 memiliki risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO (dengan rasio odds masing-masing 3,6 dan 2). Tingkatan tukak ini lebih parah dan mungkin lebih rentan terhadap infeksi. Pengobatan: Pasien yang menerima perawatan medis (dibandingkan dengan perawatan bedah) mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO (Yan et al., 2022).

Penelitian ini berdasarkan jenis bakteri yang tumbuh didominasi oleh bakteri golongan *Citrobacter sp* yaitu metral 6(30,0%) dan Amies 8(40,0%), lalu diikuti bakteri bakteri lainnya seperti *Enterobacter sp* 5(25,0%); 4(20,0%); *Pseudomonas sp* 4(20,0%); prevalensi yang sama ditunjukkan untuk bakteri *Proteus sp* sebesar 2(10,0%). Pada (tabel 3) diatas jumlah bakteri dominan yang tumbuh juga memiliki sedikit perbedaan jumlah antara media perlakuan dan kontrol, hal ini disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pada sampel ada yang lebih dari 1 jenis bakteri. Penelitian ini sejalan dengan infeksi kaki diabetik di Iraq yang melaporkan bakteri *Citrobacter spp* sekitar 3 (4.34%) yang menghasilkan gen NDM sebagai pembawa antibiotik *Multi Drug Resistent* (MDR) (Zuhair Wahid, 2022). Berdasarkan penelitian mikrobiota infeksi kaki diabetik didapatkan bakteri yang terbanyak di dominasi oleh golongan bakteri *Enterobacteriaceae* (24,3%) dimana salah satu bakteri golongan tersebut ialah bakteri *Citrobacter spp* (Złoch et al., 2023). Berdasarkan uji resistensi bakteri didapatkan hasil antibiotic yang masih dominan sensitif yaitu antibiotic Meropene sebesar 64%.

Berdasarkan uji genotif dapat diketahui bahwa amplikon A3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplikon C3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplikon A5 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), amplikon C6 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplikon C10 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), dan pada amplikon A13 ditemukan adanya gen OXA + SHV. Hal ini menunjukkan bahwa dari 30 sampel isolat ulkus diabetic yang diperiksa ditemukan gen kelas D β -laktamase (*Oxacillin Hydrolyzing Enzymes*, OXA): Kelas ini mencakup β -laktamase yang termasuk dalam keluarga OXA. Gen OXA dapat ditemukan pada

Enterobacteriaceae dan *Pseudomonas aeruginosa*. terdapat banyak varian OXA, dan beberapa di antaranya, seperti OXA-11 dari *Pseudomonas aeruginosa* dan OXA-23 dari *Acinetobacter baumannii*, dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tertentu seperti sefalosporin generasi III dan karbapenem.

Sejalan dengan penelitian ini, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Shahi et al., 2013) Sebanyak 16 *strain E. coli* berhasil diisolasi dari sampel usap ulkus diabetik 15 (35,71%) pasien. Produksi ESBL tercatat pada 12 (75%) *strain*. Amplifikasi gen β -laktamase dengan PCR multipleks menunjukkan adanya gen mirip blaCTX-M pada 10 *strain*, blaTEM dan blaOXA masing-masing pada 9 *strain*, dan blaSHV pada 8 dari total 16 *strain E. coli*. Dari sepuluh antibiotik yang diuji, *strain E. coli* ditemukan resisten terhadap ampisilin (75%), cefoxitin (56,25%), cefazolin (50%), meropenem (37,5%), cefoperazone (25%), cefepime (31,25%), ceftazidime (56,25%), dan cefotaxime (68,75%) tetapi semuanya menunjukkan sensitivitas (100%) terhadap klindamisin dan piperacillin-tazobactam. Model 3D dari varian β -laktamase yang paling umum yaitu TEM-1, SHV-1, OXA-1, dan ESBL yaitu CTX-M-15 telah diprediksi dan dilakukan docking dengan klindamisin dan piperacillin-tazobactam untuk mengungkap dasar molekuler dari β -laktamase. sensitivitas obat. Sedangkan dari penelitian (Woldeteklie et al., 2022), dari 68 isolat bakteri gram negatif patogen, 27,9% (19/68) merupakan penghasil karbapenemase, sedangkan 73,53% (50/68) merupakan non penghasil karbapenemase. Tingkat penghasil karbapenemase yang tinggi diamati pada *K. pneumoniae* 5/8 (62,5%), diikuti oleh *Serratia* 3/6 (50%), spesies *Acinetobacter* 4/10 (40%), *Pseudomonas spesies* 4/17 (23,5%), *E. coli* 3/ 19 (15,8%), dan sisanya merupakan isolat non-produsen.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dari 30 isolat ulkus diabetic menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu cukup efektif dan dapat digunakan sebagai media transport sebagai penunjang pemeriksaan bakteri dengan gen ESBL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan Terimakasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Molekuler Poltekkes Kemenkes Banten sebagai tempat melakukan pemeriksaan, bagian sub unit PUI-PK Poltekkes Kemenkes Banten sebagai tempat menampung hilisasi produk penelitian dosen, UPT Kelompok Ilmiah Mahasiswa (KIM) yang turut aktif dalam membantu pelaksanaan penelitian serta kepada semua pihak yang terlibat dalam Penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- akrami, M., & karga jahromi, Z. (2022). Identification of beta-lactamase genes in *Escherichia coli* isolated from diabetic foot ulcer by method Machine Translated by Google. *Pars Journal of Medical Sciences*, 16(3), 10-16.
- Darwis, I., Hidayat, H., Wisnu, G. N. P. P., & Mentari, S. (2021). Bacteriological profile and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infection in a tertiary care hospital in Lampung, Indonesia. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 28(5), 42-53. <https://doi.org/10.21315/mjms2021.28.5.4>
- Datta, P., Chander, J., Gupta, V., Mohi, G. K., & Attri, A. K. (2019). Evaluation of various risk factors associated with multidrug-resistant organisms isolated from diabetic foot ulcer patients. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(01), 058-062. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_106_18
- Hamid, S. F., Taha, A. B., & Abdulwahid, M. J. (2020). Distribution of blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaOXA, and blaDHA in *Proteus mirabilis* Isolated from Diabetic Foot Infections in Erbil, Iraq. *Cellular and Molecular Biology*, 66(1), 88-94. <https://doi.org/10.14715/cmb/2019.66.1.15>
- Jassim, A. T., Raheema, R. H., & Melek, H. K. (2022). Characterization of multidrug resistant bacteria isolated from patients with diabetic foot ulcers in Wasit province. *Biochem. Cell. Arch*, 22(1), 000-000. <https://connectjournals.com/03896.2022.22.000>
- Mukherjee, P., Mandal, K., & Kumar, A. (2021). *International Journal of Scientific Research in Dental and Medical Sciences The Titbits of Multi-drug Resistant Organisms Reigning in the Diabetic Foot Ulcers : Regional Epidemiology From a Tertiary Care Hospital of Eastern India*. 3, 6-11.
- Perim, M. C., Borges, J. da C., Celeste, S. R. C., Orsolin, E. de F., Mendes, R. R., Mendes, G. O., Ferreira, R. L., Carreiro, S. C., & Da Silva Pranchevicius, M. C. (2015). Aerobic bacterial profile and antibiotic resistance in patients

- with diabetic foot infections. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(5), 546-554. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0146-2015>
- Salim, S. E., Sukrama, I. D. M., Fatmawati, N. N. D., & Hendrayana, M. A. (2020). Pola bakteri pada pasien kaki diabetik dan resistensinya terhadap antibiotik di rumah sakit umum pusat sanglah periode 1 januari 2017 - 28 februari 2018. *Jurnal Medika Udayana*, 9(10), 98-104. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum%0A>
- Shahi, S. K., Singh, V. K., & Kumar, A. (2013). Detection of Escherichia coli and Associated β -Lactamases Genes from Diabetic Foot Ulcers by Multiplex PCR and Molecular Modeling and Docking of SHV-1, TEM-1, and OXA-1 β -Lactamases with Clindamycin and Piperacillin-Tazobactam. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068234>
- Triffit, I., Wiwiek, T., Eddy Bagus, W., & Kuntaman, K. (2018). Prevalensi Dan Pola Gen Extended Spectrum β -Lactamase Bakteri Usus Sapi Perah Dan Penduduk Sekitar Peternakan Di Surabaya. *Jurnal Veteriner*, 19(3), 313-320. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.313>
- Woldeteklie, A. A., Kebede, H. B., Abdela, A. A., & Woldeamanuel, Y. (2022). Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase Producers of Gram-Negative Bacteria, and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Isolates from Diabetic Foot Ulcer Patients in Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 15, 4435-4441. <https://doi.org/10.2147/IDR.S371431>
- Yan, X., Song, J. fang, Zhang, L., & Li, X. (2022). Analysis of risk factors for multidrug-resistant organisms in diabetic foot infection. *BMC Endocrine Disorders*, 22(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-00957-0>
- Złoch, M., Maślak, E., Kupczyk, W., & Pomastowski, P. (2023). Multi-Instrumental Analysis Toward Exploring the Diabetic Foot Infection Microbiota. *Current Microbiology*, 80(8), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03384-z>
- Zuhair Wahid, H. (2022). First Report Of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM) Producing Citrobacter Braakii Isolated From Diabetic Foot Infection In Iraq. *Medical Science Journal for Advance Research*, 3(4), 209-214. <https://doi.org/10.46966/msjar.v3i4.86>