



**Kampus
Merdeka**
INDONESIA JAYA



**RAKERNAS IX
AIPTLMI**
Padang, 19 - 21 Oktober 2024

ISSN: 3025-7883

PROSIDING AIPTLMI RAKERNAS IX AIPTLMI

**Sinkronisasi Budaya Mutu Melalui
Penerapan Standar Nasional Pendidikan Tinggi TLM
Untuk Mewujudkan Lulusan yang kompeten dan
Berdaya Saing Global**

Padang, 19 - 21 Oktober 2024



PROSIDING

DALAM RANGKA RAPAT KERJA NASIONAL IX (RAKERNAS IX)

ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI

LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

Panitia & Reviewer

Panitia Pusat AIPTLMI

Penasehat

Dra. Estu Lestari, M.M.

Entuy kurniawan, S.Si, M.KM

Ketua Umum

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

Wakil Ketua Umum I

Dewi Inderiati, S.Si, M.Biomed

Wakil Ketua Umum Ii

Dr. Arina Novilla, S.Pd, M.Si

Wakil Ketua Umum Iii

Dr. Syamsuriansyah, MM, M.Kes

Sekretaris Umum

Aziz Ansori Wahid, ST, MT

Wakil Sekretaris I

Zuraida, SKM, M.KM

Wakil Sekretaris Ii

Suci Rizki Nurul Aeni, S.Pd, M.Si

Bendahara

Imas latifah, SKM, M.KKK

WAKIL Bendahara

Sumiati Bedah, SKM, M.KM

Bidang Penajminan Mutu Pendidikan dan Pengembangan Institusi

Herlisa Anggraini, SKM, M.Si.Med, Iis Herawati, S.Pd, M.Kes, Dewi Astutsi, S.Si,

M.Biomed, Eva Ayu Maharani, S.Si, M.Biomed, Feldha Fadhila, S.Si, M.Kes

Bidang Riset dan pengabdian Masyarakat

Gilang Nugraha, S.Si, M.Si, Darmadi, S.K.M., M.Biomed, Gela Setya Ayu Putri,

S.Tr.Kes., M.Kes, Nurul Ni'ma Azis, S.ST., M.Kes.

Bidang Pengembangan Pendidikan dan SDM

Retno Martini, S.Si., M.Biomed, Dr. Betty Nurhayati, M.Si, Atun Farihatun, SKM.,

M.KM., Hieronymus Rayi Prasetya, S.ST., M.Si

Bidang Kerjasama

Dr. Ummy Mardiana, M.Si, Dra. Eka Sulistianingsih, M.Kes, Reny Pratiwi, S.Si.,

M.Si., Ph.D, Patricia Gita Naully, S.Si., M.Si.

Bidang Organisasi, Advokasi dan Informasi

Suryanata Kesuma, ST, M.Si., Dr. Moh. Fairuz Abadi, S.Si., M.Si, Haitami, S.Si., M.Sc.

Panitia Lokal Regional V AIPTLMI

Wakil Ketua II

Paska R. Situmorang, S.S.T., M. Biomed

Bidang Ilmiah

Dr. Annita, S.ST, M.Biomed.

Bidang Acara

Chairani, S.Si.T, M.Biomed.

Bidang Perlengkapan & transportasi

Putra Rahmadea Utami, S.Si,M.Biomed., Arniat Christiani Tel, M.Biomed.

Bidang Humas dan Dokumentasi

Ns. Ibrahim, M.Biomed.

Bidang Akomodasi dan Konsumsi

Endang Suriani, SKM, M.Kes.

Bidang IT

Ferry, S.Kom.

Reviewer

Mujahidah Basarang, S.Si., M.Kes.

Dr. Betty Nurhayati, M.Si

Dewi Inderiati, S.Si., M.Biomed

Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si.

Dr. Norma Tiku Kambuno, S.Si., Apt., M.Kes

Editor

Atun Farihatun, SKM., M.KM

Nurul Ni'ma Azis, S.ST., M.Kes

Hieronymus Rayi Prasetya, S.ST., M.Si

Zulfikar Ali Hasan, S.ST., M.Kes

Layout

Nabil Ridla Firdaus, A.Md.AK

ISSN : 3025-7883

Cetakan : Ketiga, Desember 2024

Penerbit : AIPTLMI

Kantor : Jl. Arteri JORR Jatiwarna Pondok Melati Bekasi, Jawa Barat, Indonesia

Website : <https://prosiding.aiptlmi-iasmlt.id/index.php/prosiding/index>

SAMBUTAN KETUA PANITIA PELAKSANA RAPAT KERJA NASIONAL

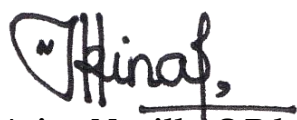
Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga prosiding ini dapat diterbitkan sebagai bagian dari rangkaian kegiatan ilmiah Rakernas IX AIPTLMI di Padang 19-21 Oktober 2024. Buku prosiding ini merupakan kumpulan berbagai hasil penelitian yang telah dilakukan oleh para akademisi dan mahasiswa di bidang keilmuan Teknologi Laboratorium Medik di seluruh Indonesia.

Kami menyadari bahwa perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kesehatan, khususnya Teknologi Laboratorium Medik semakin pesat. Oleh karena itu, kami memandang perlu untuk terus mendorong penelitian bagian dari Tri Dharma Perguruan Tinggi. Kami berharap dengan prosiding ini dapat memberikan kontribusi nyata dalam memperkaya wawasan keilmuan dan meningkatkan kualitas pendidikan tinggi Teknologi Laboratorium Medik di Indonesia.

Kami mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penyelenggaraan kegiatan ini, baik panitia, peneliti, maupun para reviewer yang telah bekerja keras demi tersusunnya prosiding ini. Kami juga mengapresiasi para penulis yang telah berbagi karya ilmiah mereka, yang tentunya akan menjadi referensi berharga bagi pengembangan ilmu di masa depan.

Semoga buku prosiding ini dapat menjadi inspirasi dan motivasi bagi kita semua untuk terus berkarya dan berinovasi. Akhir kata, kami mengajak seluruh pihak untuk terus bersinergi dalam mengembangkan pendidikan dan penelitian di bidang Teknologi Laboratorium Medik demi kemajuan bangsa dan negara.

Padang, November 2024
Ketua Pelaksana Rakernas IX AIPTLMI


Dr. Arina Novilla, S.Pd, M.Si

SAMBUTAN KETUA UMUM AIPTLMI

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,
Salam sejahtera bagi kita semua,

Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI) pada tanggal 19-21 Oktober 2024 dapat menyelenggarakan rangkaian kegiatan Rapat Kerja Nasional (Rakernas) IX di Kota Padang dengan lancar. Salah satu agenda yang menjadi sorotan dalam kegiatan ini adalah *lomba ilmiah presentasi oral dan presentasi poster untuk dosen dan mahasiswa*, yang telah memberikan ruang bagi generasi akademisi untuk berkontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang laboratorium medik.

Prosiding ini merupakan hasil dari kompetisi tersebut, yang menghimpun karya-karya terbaik dosen dan mahasiswa dari berbagai institusi anggota AIPTLMI. Naskah-naskah yang terpilih tidak hanya mencerminkan kreativitas dan inovasi, tetapi juga memperlihatkan dedikasi para peserta dalam memberikan solusi atas tantangan-tantangan nyata di dunia kesehatan, khususnya dalam lingkup laboratorium medik.

Kami berharap, prosiding ini dapat menjadi sumber referensi yang bermanfaat bagi seluruh insan akademik, sekaligus menjadi bukti nyata bahwa sinergi antara dosen dan mahasiswa mampu melahirkan karya-karya yang bermakna.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada para peserta, juri, panitia, pengelola prosiding AIPTLMI dan seluruh pihak yang telah mendukung terselenggaranya kegiatan ini. Semoga upaya kita bersama senantiasa mendapat ridha Allah Subhanahu wa Ta'ala.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Jakarta, 05 Desember 2024

Ketua Umum AIPTLMI



Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

DAFTAR ISI

Panitia Penyelenggara & Reviewer	ii
Sambutan Ketua Panitia Pelaksana	iv
Sambutan Ketua Umum AIPTLMI	v
Daftar Isi	vi
Pengaruh Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah dari Spesimen Darah Anemia dengan Sentrifugasi dan Tanpa Sentrifugasi	1
Pengaruh Waktu Tunda dan Nilai pH Plasma Sitrat Terhadap Hasil Pemeriksaan <i>Activated Partial Thromboplastin Time</i>	13
Analisis Hasil Pemeriksaan Immunochromatografi-Rapid Tes Sebagai Penularan Infeksi Pada Anak Dari Orag Tua Penderita <i>Human Immunodeficiency Virus</i> (HIV) Di Puskesmas Lepo-Lepo	23
Identifikasi Jamur <i>Aspergillus Sp.</i> pada Petani di Daerah Nglarangan Bojonegoro...	33
Efektivitas Madu 10% Selama 20 Menit Sebagai Bahan Alami Pengganti Alkohol untuk Fiksasi Sediaan Sitologi	41
Uji Sitotoksik Fraksi Ekstrak Etanol Biji Alpukat (<i>Persea americana Mill.</i>) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara <i>In Vitro</i>	49
Deteksi GEN TNNT2 Sebagai Penanda Penyakit Jantung Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	67
Deteksi Mutasi Gen Troponin T (TnnT2) Sebagai Penanda Penyakit Jantung Pada Penderita Hipertensi Di Puskesmas Poasia Kendari	76
Deteksi Gen E6 Sebagai Penanda Infeksi <i>Human Papiloma Virus</i> (HPV) Pada Ibu Hamil Dengan Riwayat Keguguran Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) Di Puskesmas Puuwatu Kota Kendari	88
Prevalensi Infeksi Cacing <i>Soil Transmitted Helminthes</i> (STH) Pada Kuku Petugas Kebersihan Sampah Di Surabaya Utara	98
Media Pisang Goroho (<i>Musa Acuminafe</i>) Sebagai Alternatif Lokal Untuk Pertumbuhan Dan Identifikasi Morfologi Jamur	109
Pengaruh <i>Hydrogel Human Amnion Membrane</i> Pada Wound Healing Diabetic <i>In Vivo</i> Dengan Mengukur Luas Area Kolagen Menggunakan <i>Software ImageJ</i>	126

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik pada Air Payau di Sulawesi Tenggara .	140
Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat Dan Etanol Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea L.</i>) Pada Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...	147
Potensi Senyawa Vitexin Pada Kombucha Bunga Kecomang (<i>Etlingera Elatior</i>) Sebagai Kandidat Obat Antikanker Kolon Yang Diprediksi Berdasarkan Analisis Bioinformatika	162
Hubungan Nilai Trombosit Terhadap Hasil Pemeriksaan NS1 dan IgG, IgM Dengue Metode Immunochromatography Pada Pasien Demam Berdarah	181
Gambaran Nilai Indeks Eritrosit Pada Balita Penderita Pneumonia Di Rsud Moh Zyn Sampang	191
Nilai Fragilitas Osmotik Pada Spesimen Darah Vena Dengan Antikoagulan K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	200
Gambaran Profil Darah Pekerja Tambang Nikel Sebagai Faktor Resiko Anemia Di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe	212
Korelasi Hasil Pemeriksaan Mikroskopik <i>Trichomonas vaginalis</i> Dari Sampel Urin Pekerja Seks Komersial Berdasar Uji <i>Polymerase Chain Reaction</i>	224
Efektivitas Hidrogel Dengan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih (<i>Piper betle</i>) dan Legundi (<i>Vitex trifolia</i>) Sebagai Alternatif Tatalaksana Luka Pada Tikus Putih	236
Pengaruh Rebusan Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>) Terhadap Histologi Hati Mencit (<i>Mus musculus</i>) Yang Diinduksi Aloksan	246
Pengaruh Induksi CCL ₄ Terhadap Kadar Albumin Pada Tikus Putih Galur Wistar Yang Diberikan Infusa Daun Kalakai (<i>Stenochlaena palustris (Burm.F) Beddm</i>) ...	261
Pengaruh Terapi Ekstrak Pare Belut (<i>Trichosanthes cucumerina</i>) Terhadap Kadar Fibrinogen Dan Luas Luka Pada Permodelan Tikus Ulkus Diabetikum	268
Pemberian Air Kelapa Muda Terhadap Penurunan Kadar Mda Dan IL-6 Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak	277
Analisis Hasil <i>Quality Control</i> Pemeriksaan Elektrolit Berdasarkan Aturan Wesgrad Dilaboratorium Rumah Sakit	291
Identifikasi Spesies Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Tumbuhan Biduri (<i>Calostropis gigantea</i>)	306

Efektivitas Penghambatan Formulasi Asap Cair Dan Minyak Bunga Calendula Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i>	314
Analisa Kadar Alkohol Pada Tape Singkong (<i>Manihot utilissima</i>) Yang Dijual Di Supermarket Daerah Surabaya Timur	321
Perbandingan Hasil Analisis Kadar Glukosa Darah, Asam Urat Dan Kolesterol Total Menggunakan Spektrofotometer UV- VIS Dan Fotometer	327
Profil Kadar Albumin Pada Anak Stunting Di Kabupaten Ciamis	335
Deteksi Mutasi Gen kasA Kodon G312S Pada Isolat <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Sebagai Penanda Resistensi Isoniazid	341
Evaluasi Efek Kombinasi Ekstrak Biji <i>Sterculia foetida</i> Dan <i>Virgin Coconut Oil</i> Terhadap Konsentrasi DNA <i>Bifidobacterium longum</i> Pada Model Tikus Kanker Kolorektal	351
Inovasi Teknologi Ai (Prototipe Aplikasi Layak Sputum) Dalam Uji Pra-Analitik Kelayakan Sampel Dahak Untuk Screening TB Paru Di Puskesmas Denpasar Utara III	362
Pengaruh Garis Bagi Pada Bilik Hitung <i>Improved Neubauer</i> Terhadap Kesesuaian Hitung Jumlah Trombosit	371
Stabilitas <i>Pooled Sera</i> Sebagai Alternatif Bahan Kontrol Positif Pemeriksaan C- <i>Reactive Protein</i>	378
Histopatologi Potensi Penyembuhan Luka Ekstrak Daun Mimba (<i>Azadirachta indica</i> L.) Yang Dikombinasikan Dengan Minyak Kelapa Murni Pada Model Tikus Diabetes	389
Penundaan Pemeriksaan Spesimen Urin Terhadap Jumlah Leukosit Dan Nitrit Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih	408
Pengaruh Suhu Dan Waktu Terhadap Diameter Uji Resistensi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	418
Uji Diagnostik Line Probe Assay Dengan Lowenstein Jensen Lini Dua Pada Pasien <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Rifampicin Resisten	439
Deteksi Gen nuc Pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dari Pasien Ulkus Diabetikum Dan Pola Sensitivitasnya Terhadap Antibiotik Di RSUD DR. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto	350

Deteksi Gen ND3 Pada <i>Taenia asiatica</i> Pada Sampel Feses Dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> Di Puskesmas Sukawati I	465
Potensi Ekstrak Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) Sebagai Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	483

PENGARUH DERAJAT AGLUTINASI PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH DARI SPESIMEN DARAH ANEMIA DENGAN SENTRIFUGASI DAN TANPA SENTRIFUGASI

Wa Ode Gustiani Purnamasari^{1*} · Himaniarwati² · Andina³

^{1,3} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

² S1 Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail: lun89tin@gmail.com

No Tlp WA : 082348925069

Abstract

Anemia is a condition of decreased Hb levels and low red blood cells, causing a decrease in antigen concentration on the cell surface. The levels of antigens and antibodies play a role in the formation of agglutination in determining blood type. Centrifugation can be used to determine the ratio between antigen and antibody. The purpose of this study was to analyze the effect of centrifugation of anemic blood specimens on the degree of agglutination, its relationship with hemoglobin levels, and the accuracy of blood group examination results in anemic patients. This study is a quantitative study of the Analytical Observational approach laboratory experimental design, the population in this study were patients diagnosed with anemia with Hb levels ≤ 8 g/dl, obtained a sample of 20 respondents with the sampling technique was purposive sampling. The results of the Mann-whitney test showed that the sig. value of $0.000 < 0.05$, this means that H_0 is rejected and H_1 is accepted or there is a influence on the degree of agglutination between those centrifuged and without centrifugation. Spearman test showed that there was a significant relationship (correlation coefficient = 0.864) between the degree of agglutination and anemia blood specimens. Meanwhile, the Wilcoxon test showed that there was a significant effect (Sig. $0.000 < 0.05$) between the degree of agglutination in centrifugation and without centrifugation with the accuracy of blood group examination. Based on the results of the study it can be concluded that first, the degree of agglutination in anemia blood specimens is stronger after centrifugation than before centrifugation. Second, there is a relationship between the degree of agglutination with anemic specimens in the blood group examination of anemic patients. Third, the centrifugation process of anemia blood specimens can improve the accuracy of blood group examination. It is hoped that this study can be an input and consideration for hospitals to use these findings to improve the standard of blood group tests in anemic patients.

Keywords : Agglutination Degree, Blood Type, Anemia, Centrifugation.

Abstrak

Anemia merupakan suatu kondisi terjadinya penurunan kadar Hb dan sel darah merah rendah sehingga menyebabkan penurunan konsentrasi antigen pada permukaan sel. Dengan melakukan sentrifugasi dapat digunakan dalam menentukan rasio antara antigen dan antibodi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh sentrifugasi spesimen darah anemia terhadap derajat aglutinasi, hubungannya dengan kadar hemoglobin, dan akurasi hasil pemeriksaan golongan darah pada pasien anemia. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif pendekatan Analitik Observasional desain eksperimental laboratorium, populasi pada penelitian ini adalah pasien yang terdiagnosis anemia dengan kadar Hb ≤ 8 g/dl, diperoleh sampel sebanyak 20 responden dengan teknik penarikan sampel adalah *purposive sampling*. Hasil uji mann-whitney menunjukkan bahwa nilai sig. sebesar $0,000 < 0,05$ hal ini berarti H_0 ditolak dan H_1

diterima atau terdapat pengaruh derajat aglutinasi antara yang disentrifugasi dan tanpa sentrifugasi. Uji Spearman menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan (koefisien korelasi = 0,864) antara derajat aglutinasi dengan spesimen darah anemia. Sementara Uji Wilcoxon menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan (Sig.0,000<0,05) antara derajat aglutinasi disentrifugasi dan tanpa sentrifugasi dengan akurasi pemeriksaan golongan darah. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pertama, derajat aglutinasi pada spesimen darah anemia lebih kuat setelah dilakukan sentrifugasi dibandingkan sebelum dilakukan sentrifugasi. Kedua, ada hubungan antara derajat aglutinasi dengan spesimen anemia pada pemeriksaan golongan darah pasien anemia. Ketiga, proses sentrifugasi spesimen darah anemia dapat meningkatkan akurasi pemeriksaan golongan darah. Diharapkan bagi Rumah Sakit agar penelitian ini bisa menjadi bahan masukan dan pertimbangan untuk menggunakan temuan ini guna meningkatkan standar tes golongan darah pada pasien anemia.

Kata Kunci : Derajat Aglutinasi, Golongan Darah, Anemia, Sentrifugasi.

PENDAHULUAN

Darah sangat penting bagi tubuh manusia dan memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah membawa zat dan oksigen ke jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme, dan berfungsi sebagai pertahanan tubuh. Anemia merupakan sebagai bentuk penurunan kadar hemoglobin (Hb) atau hematokrit (HCT) atau jumlah sel darah merah kurang dari yang seharusnya (WHO, 2023).

Anemia menjadi masalah kesehatan global, dengan perkiraan 244 juta Wanita dan 83 juta anak-anak di Asia Tenggara menderita anemia (WHO, 2023). Di Indonesia, data menunjukkan peningkatan kasus anemia pada remaja (Usia 15-19 Tahun) dengan prevalensi 6% di negara maju dan 27% di negara berkembang (Lismiana dan Indarjo, 2021). Selain itu, dilaporkan bahwa pada usia 5-14 tahun, sebanyak 26,8% anak menderita anemia dan pada usia 15-24 tahun sebanyak 32% (Kemenkes RI, 2018). Berdasarkan data profil RSUD Tanduale Kabupaten Bombana data menunjukkan peningkatan kasus anemia dari 52 kasus di tahun 2021 menjadi 100 kasus di tahun 2023. Anemia tidak bisa diabaikan, karena apabila diabaikan tanpa ada penanganan yang baik bisa berdampak negative bagi kesehatan tubuh bahkan kematian. Penanganan yang sesuai untuk anemia adalah dengan memperbaiki kadar Hb dan mengisi kembali cadangan besi dalam tubuh dengan memberikan transfusi darah (Zulqifni & Suandika, 2022).

Golongan darah merupakan sistem pengelompokkan darah yang ditentukan oleh ada atau tidak adanya antigen (Ag) A dan atau B pada permukaan sel darah merah serta ada tidaknya antibody (Ab) A dan atau B yang terdapat dalam serum serum/plasma (Jayanti dkk, 2022). Kadar dari antigen dan antibodi berperan dalam pembentukan aglutinasi. Semakin banyak antigen-antibodi yang berikatan, akan membentuk aglutinasi yang semakin besar, jelas, dan semakin kuat reaksi yang terjadi (Khoonijah & Qomariyah, 2019).

Salah satu metode pemeriksaan golongan darah ABO adalah dengan menggunakan metode slide yaitu metode sederhana dengan cara mereaksikan darah manusia dengan antisera A dan antisera B (Abror, 2023). Kekuatan aglutinasi yang rendah dapat mengakibatkan kesalahan dalam menentukan golongan darah, karena kurangnya sel darah merah yang berikatan dengan reagen antisera (Handayani dkk, 2022). Sama halnya dengan spesimen darah pasien anemia menunjukkan Semakin rendah kadar hemoglobin, semakin lemah aglutinasi yang terjadi. Hal ini diduga karena anemia menyebabkan penurunan jumlah sel darah merah dan konsentrasi antigen golongan darah pada permukaan sel, sehingga aglutinasi yang terjadi menjadi lebih lemah (Aini dkk, 2018).

BAHAN DAN METODE

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang terdiagnosis anemia dengan kadar Hb ≤ 8 g/dl, diperoleh sampel sebanyak 20 responden yang terdapat pada RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Sulawesi Tenggara, selama periode April - Mei 2024. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesimen darah anemia. Reagen antisera golongan darah (anti - A, anti - B , anti - AB dan anti - D). Kapas alkohol 70 % dan tabung sampel.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengambilan darah spesimen yang telah di diagnosa mengalami anemia. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan golongan darah dengan menggunakan antisera. Setelah di

lakukan pemeriksaan golongan darah sampel di bagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama di lakukan pemeriksaan tanpa sentrifugasi, dan kelompok ke dua di lakukan dengan menggunakan sentrifugasi. Selanjutnya di lakukan pengamatan terhadap derajat aglutinasi yang terbentuk (Mutiawati, 2013).

HASIL

1. Karakteristik Sampel

Karakteristik sampel hasil pemeriksaan sampel golongan darah amenia meliputi, usia, jenis kelamin, dan golongan darah yang dapat di lihat pada Tabel.1

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Kategori Usia, Jenis Kelamin, dan Golongan Darah) di RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Tahun 2024

Usia (Tahun)	N	%
21-30	4	20,0
31-40	2	10,0
41-50	5	25,0
51-60	7	35,0
61-70	2	10,0
Total	20	100,0
Jenis Kelamin		
Laki - laki	5	25,0
Perempuan	15	75,0
Total	20	100,0
Golongan Darah		
A	9	45,0
AB	4	20,0
B	6	30,0
O	1	5,0
Total	20	100,0

2. Analisis Univariat

Analisis deskriptif variabel kadar hemoglobin, tidak disentrifugasi dan disentrifugasi terdiri dari nilai mean, , standar deviasi seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Distribusi Derajat Aglutinasi pemeriksaan Golongan Darah di RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Tahun 2024

Data	N	Mean	Sdt.Deviasi
Kadar Hb	20	6.5400	1.35507
Tidak Disentrifugasi	20	1.6500	.48936
Disentrifugasi	20	3.4500	.51042

Berdasarkan Tabel. 2 pertama diperoleh rata-rata kadar HB sebesar 6,54 dengan dengan standar deviasi 1.35507. Kedua, diperoleh rata-rata derajat aglutinasi yang disentrifugasi dan yang tidak disentrifugasi masing-masing sebesar 1,65 dan 3,45 dengan masing-masing standar deviasi 0.48936 dan 0.51042. Dari rata-rata tersebut diketahui rata-rata aglutinasi yang disentrifugasi lebih tinggi dibandingkan yang tidak disentrifugasi. Selanjutnya dilakukan uji distribusi frekuensi sebaran data dari masing-masing variabel penelitian.

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Kategori Derajat Aglutinasi Tidak Disentrifuge di RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Tahun 2024

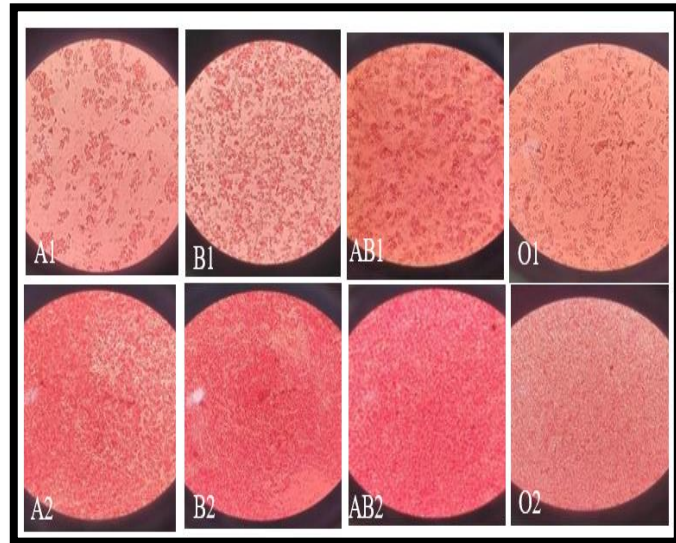
Derajat Aglutinasi Tidak Disentrifugasi	N	%
Lemah	7	35
Sedang	13	65
Total	20	100

Berdasarkan Tabel.3 diketahui responden dengan derajat aglutinasi tanpa disentrifugasi yang tergolong lemah sebanyak 7 orang lebih sedikit dibandingkan yang tergolong sedang.

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Kategori Derajat Aglutinasi Disentrifuge di RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Tahun 2024

Derajat Aglutinasi Disentrifugasi	N	%
Kuat	16	80
Sedang	4	20
Total	20	100

Berdasarkan Tabel.4 diketahui responden dengan derajat aglutinasi yang disentrifugasi yang tergolong kuat sebanyak 16 orang lebih banyak dibandingkan yang tergolong sedang.



Gambar 1. Derajat aglutinasi pemeriksaan golongan darah dibawah mikroskop perbesaran 40x10 menggunakan sentrifugasi dan tanpa sentrifugasi pada spesimen darah anemia.

Hasil pengamatan mikroskopis derajat aglutinasi pemeriksaan golongan darah dari spesimen anemia dengan sentrifugasi dan tanpa sentrifugasi.

Analisis Bivariat

Tabel 4. Perbedaan Derajat Aglutinasi yang di sentrifuge dan tidak disentrifuge di RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Tahun 2024.

Derajat Aglutinasi	N	Mean	Sig.
Disentrifuge	20	3.4500	0.0000
Tidak disentrifuge	20	1.6500	

Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney data pada Tabel 4. diketahui nilai Sig. sebesar 0,000, lebih kecil dibandingkan tingkat signifikansi 0,05. Hal ini berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima atau terdapat pengaruh yang signifikan rata- rata derajat aglutinasi antara yang disentrifugasi dan yang tidak disentrifugasi.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2024 di laboratorium RSUD Tanduale Kabupaten Bombana. Bertujuan untuk menganalisis pengaruh sentrifugasi spesimen darah anemia terhadap derajat aglutinasi, hubungannya dengan kadar hemoglobin, dan akurasi hasil pemeriksaan golongan darah pada pasien anemia. Proses penelitian ini dimulai dengan pemeriksaan kadar Hb menggunakan alat automatic Hematology Analyzer untuk memastikan sampel sesuai dengan kriteria penelitian yaitu kadar Hb ≤ 8 g/dL. Sampel darah segar ≤ 24 jam adalah pilihan ideal untuk pemeriksaan aglutinasi karena mengandung sel darah merah (eritrosit) yang masih segar dan utuh. Pemeriksaan Golongan Darah Abo Menggunakan Homemade Antisera Serum Dan Plasma.

Karakteristik umum responden berdasarkan penelitian pada tabel 5.1.1 menunjukkan bahwa dari 20 responden yang menderita anemia dari segi usia paling banyak pada kelompok usia 51-60 Tahun yaitu sebanyak 7 orang (35%), usia yang lebih tua dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit kronis seperti penyakit ginjal, penyakit jantung, dan kanker. Mayoritas anemia berdasarkan jenis kelamin responden menunjukkan bahwa perempuan lebih banyak terkena anemia dibanding laki-laki yang terdiri dari 15 orang (75%) dan paling banyak ditemukan pada golongan darah A+ pada penderita anemia terdiri dari 9 orang (45%). Perempuan lebih banyak terkena anemia dikarenakan mengalami menstruasi secara berkala, yang menyebabkan kehilangan darah dan zat besi secara teratur.

Metode slide bukanlah satu-satunya metode dalam pemeriksaan golongan darah sistem ABO, melainkan ada juga metode tube yang prinsipnya sama dengan metode slide tetapi dengan proses berbeda. Metode tube dilakukan suspensi atau pencucian sel darah merah terlebih dahulu dengan menggunakan saline agar didapatkan suspensi sel darah merah sebesar 5% sebelum akhirnya direaksikan dengan reagen antisera dan menghasilkan aglutinasi (Cooling,2018).

Pada penelitian ini menunjukkan terjadi peningkatan derajat aglutinasi pada spesimen darah pasien anemia dengan kadar Hb ≤ 8 g/dL yang diberi penambahan perlakuan berupa sentrifugasi sebelum direaksikan dengan reagen antisera dalam pemeriksaan golongan sistem ABO metode slide bila dibandingkan dengan spesimen tanpa sentrifugasi. Rasio antigen-antibodi dalam pemeriksaan golongan darah sistem penting untuk mendapatkan derajat aglutinasi yang lebih baik. Antigen pada permukaan sel darah merah dengan konsentrasi lebih tinggi dapat didapatkan dengan sentrifugasi maupun pencucian. Hal ini sentrifugasi memisahkan komponen darah, termasuk sel darah merah (SDM) dan plasma. Proses ini meningkatkan konsentrasi sel darah merah dalam volume yang lebih kecil (endapan), dibandingkan dengan darah utuh. Dimana semakin tinggi konsentrasi sel darah merah, semakin banyak antigen yang tersedia untuk berikatan dengan antibodi dalam reagen, sehingga meningkatkan kekuatan aglutinasi (Mulyantari & Yasa, 2017). Sejalan dengan penelitian Mutiawati (2013), pemeriksaan golongan darah antara eritrosit tanpa pencucian dengan pencucian specimen talasemia, menunjukkan adanya peningkatan derajat aglutinasi setelah dilakukan pencucian eritrosit.

Hasil sentrifugasi spesimen darah pasien anemia yang berupa endapan sel-sel darah terutama sel darah merah digunakan dalam menentukan rasio antara antigen dan antibodi. Sel darah merah jika disentrifugasi dengan kecepatan yang lebih tinggi akan mengendap lebih banyak dibandingkan dengan sel-sel darah yang lain seperti leukosit dan trombosit (Fajaryani, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Islami (2018), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna terhadap derajat aglutinasi pada hasil pemeriksaan golongan darah metode forward grouping dengan kecepatan sentrifugasi 1000 rpm dan 3000 rpm yang menghasilkan derajat aglutinasi pemeriksaan golongan darah lebih baik pada kecepatan sentrifugasi 3000 rpm bila dibandingkan dengan 1000 rpm, maka dari itu penelitian ini menggunakan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk menghasilkan endapan sel-sel darah yang lebih banyak mengendap kedasar tabung.

Penelitian ini menggunakan metode slide dengan hanya ditambahkan perlakuan berupa sentrifugasi, setelah itu spesimen darah hasil sentrifugasi diambil hanya endapan sel-sel darah dengan sedikit plasma, kemudian dapat langsung direaksikan dengan reagen antisera, didapatkan hasil aglutinasi yang lebih jelas dan membutuhkan waktu yang lebih singkat (Kadek, 2020).

Penelitian ini juga menunjukkan terdapat hubungan signifikan antara derajat aglutinasi yang disentrifugasi dan yang tidak disentrifugasi terhadap spesimen anemia. Tanpa sentrifugasi, eritrosit dan komponen lain dalam darah tetap dalam keadaan campuran, memungkinkan pengamatan langsung dari aglutinasi karena sel-sel darah merah tidak terpisah oleh gaya sentrifugal.

Yustisia (2020) menyatakan bahwa aglutinasi dapat diamati dengan lebih jelas tanpa sentrifugasi karena tidak ada gaya yang memisahkan sel-sel darah merah, sehingga interaksi antara antibodi dan antigen lebih terlihat. Dalam kondisi anemia, pengamatan aglutinasi baik dengan maupun tanpa sentrifugasi dapat memberikan informasi yang berharga. Aglutinasi tanpa sentrifugasi menunjukkan interaksi langsung, sedangkan aglutinasi dengan sentrifugasi membantu mengidentifikasi tingkat keparahan dan sifat autoimun dari anemia tersebut (Firani, 2018).

Dalam konteks pemeriksaan golongan darah, akurasi sangat bergantung pada kejelasan dan ketepatan deteksi aglutinasi. Pemeriksaan golongan darah dilakukan dengan mencampurkan sampel darah dengan antibodi anti-A, anti-B, dan anti-Rh. Jika aglutinasi terjadi, maka hal ini menunjukkan adanya antigen yang sesuai pada permukaan eritrosit. Misalnya, jika sampel darah aglutinasi dengan antibodi anti-A tetapi tidak dengan anti-B, maka darah tersebut adalah golongan A (Nuraini, 2022). Aglutinasi merupakan reaksi yang terjadi ketika antibodi spesifik dalam serum bereaksi dengan antigen pada permukaan eritrosit, menyebabkan sel-sel darah merah menggumpal (Rahman, 2018)

Pengaruh signifikan antara derajat aglutinasi dan akurasi pemeriksaan golongan darah dapat dijelaskan melalui pentingnya aglutinasi yang jelas

dalam menentukan tipe darah. Aglutinasi yang terdefinisi dengan baik memungkinkan pengamatan yang lebih akurat, mengurangi risiko kesalahan dalam diagnosa golongan darah. Oleh karena itu, teknik yang meningkatkan kejelasan aglutinasi, seperti sentrifugasi, sangat penting dalam pemeriksaan golongan darah untuk memastikan hasil yang akurat dan dapat diandalkan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan derajat aglutinasi golongan darah pada spesimen anemia lebih kuat setelah dilakukan sentrifugasi karena dapat meningkatkan antigen pada permukaan sel darah merah dengan konsentrasi lebih tinggi dibandingkan sebelum dilakukan sentrifugasi. Ada pengaruh antara derajat aglutinasi dengan spesimen anemia pada pemeriksaan golongan darah pasien anemia dengan masing-masing nilai sig. 0,000 dan pada spesimen darah anemia tanpa sentrifugasi dan disentrifugasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak RSUD Tanduale Kabupaten Bombana Sulawesi Tenggara dalam memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Sains dan Teknologi dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

- Abror, Y. (2023). Pemeriksaan Golongan Darah Abo Menggunakan Homemade Antiserum Dan Plasma. *Jurnal riset kesehatan poltekkes depkes bandung*, 15(1), 186-192.
- Aini, N., Ernawati, Afrizal (2018). Hubungan antara Kadar Hemoglobin dan

- Kekuatan Agglutinası pada Pemeriksaan Golongan Darah ABO dengan Metode Tube Test. *Jurnal Kesehatan Universitas Syiah Kuala*, 17 (2): 137-142.
- Cooling, L., 2018. ABO, H, and Lewis Blood Groups and Structurally Related Antigens. In: Fung, M., Grossman, B.J., Hillyer, C.D., Westhoff, C.M., eds. Technical Manual. 18th edition. Bethesda, MD: AABB. p: 291-315.
- Fajaryani, D., Rahayu, M., & Limijadi, E. K. S. (2020). Perbedaan jumlah trombosit, leukosit dan eritrosit dengan kecepatan sentrifugasi yang berbeda pada pembuatan platelet rich plasma. *Medica Hospitalia: Journal of Clinical Medicine*, 7(1), 12-16.
- Firani, N. K. (2018). Mengenali Sel-sel Darah dan Kelainan Darah. Mengenali Sel-sel Darah dan Kelainan Darah. Malang : UB Press
- Handayani, S. P., Sukeksi, A., & Afriansyah, M. A. (2022). Pengaruh Sentrifugasi Spesimen Darah Anemia Terhadap Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Metode Slide. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(1), 11-16.
- Hasanuddin, A., Hamson, Z., Warsidah, A. A., Hasin, A., & Nurhaedah, N. (2022).
- Islami, D. N., & Islami, D. N. (2018). Perbedaan Derajat Aglutinasi pada Hasil Pemeriksaan Golongan Darah Metode Forward Grouping dengan Kecepatan Sentrifugasi 1000 rpm dan 3000 rpm.
- Jayanti, P. T., Sarihati, I. G. A. D., Sudarmanto, I. G., & Dhyana Putri, I. G. A. S. (2022).
- Jayawardhana, I. K. W., & Kresnapati, I. N. B. A. (2022). Anemia Megaloblastik:. *Biocity Journal*, 1(1), 25-35.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018) “Kenali Masalah Gizi Yang Mengancam Remaja Indonesia, Kemkes.go.id.
- Khodijah, N. M., & Qomariyah, N. (2019). Degree of agglutination of blood group examination Cell Celling Method Based on Cell Suspension Concentration Level. *Jaringan Laboratorium Medis*, 1(1), 27-33.
- Lismiana, H., & Indarjo, S. (2021). Pengetahuan dan persepsi remaja putri terhadap kepatuhan konsumsi tablet tambah darah. *Indonesian Journal of Public Health and Nutrition*, 1(1), 22-30.
- Mulyantari, R. F., & Yasa, I. W. (2017). Hubungan antara Kadar Hemoglobin dan Kekuatan Agglutinası pada Pemeriksaan Golongan Darah ABO dengan Metode Tube Test. *Jurnal Kesehatan Universitas Syiah Kuala*, 17(2), 137-142.

- Mutiawati, V. K. (2013). Perbedaan Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Antara Eritrosit Tanpa Pencucian Dengan Pencucian Pada Penderita Talasemia. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 13(2), 65-70.
- Nuraini, F. R., Muflikhah, N. D., & Nurkasanah, S. (2022). Pemeriksaan Golongan Darah Sistem Abo Rhesus Pada Mahasiswa Stikes Rajekwesi Bojonegoro. *Jurnal Abdi Insani*, 9(2), 489-496.
- Raehun, R., Jiwintarum, Y., & Fauzi, I. (2019). Pengaruh Waktu Penyimpanan Antisera Terhadap Daya Aglutinasi Metode Slide. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), 16-20.
- Rinaldi, R., Utario, Y., Sutriyanti, Y., & Nurbaiti, N. (2022). Asuhan Keperawatan Pada Pasien Tn. H Dengan Anemia Di Ruang Internal Rsud Curup Ta 2021/2022 (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Bengkulu).
- Sari (2018). *Analisis Faktor Risiko Kekurangan Zat Besi pada Wanita Usia Subur*. Skripsi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sari, M. P., Komara, N. K., & Shari, A. (2022). *Petunjuk Praktikum Hematologiasar*. Yayasan Penerbit Muhammad Zaini.
- WHO (2014). WHA Global Nutrition Targets: Low Birth Weight Policy Brief. Switzerland WHO (2023). Anaemia. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/anaemia>.
- Yustisia, N., Aprilatutini, T., & Desfianty, H. (2020). Studi Kualitatif Prosedur Pemasangan Transfusi Darah pada Pasien Anemia. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah Bengkulu*, 8(1), 61-68.
- Yusuf, R. N., & Yola, N. (2021). Analisis Pemeriksaan Golongan Darah Donor Pada Metode Microplate Test. *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*, 4(1), 61-70.
- Zulqifni, F., & Suandika, M. (2022). Pemberian Transfusi Darah sebagai Upaya Peningkatan Perfusi Jaringan pada Pasien Anemia. *Jurnal Inovasi Penelitian*, 3(5):61

PENGARUH WAKTU TUNDA DAN NILAI PH PLASMA SITRAT TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME

Arafatul Lailiyah^{1*} · Dewi Astuti² · Heru Setiawan³

^{1,2,3}Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan
Kementerian Kesehatan Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail: arafatullailiyah16@gmail.com
No Tlp WA: +62 857-1104-9636

Abstract

The Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) test serves as a pivotal measure within haemostasis analysis for assessing the functionality of both the intrinsic and common final clotting pathways. The stability of citrate plasma, utilized as the sample for aPTT testing, is subject to various influencing factors, including delay time. Delay time in citrate plasma processing lead to CO₂ dispersion from the plasma, inducing a rise in plasma pH in vivo, thereby impacting coagulation factors. The method of this study is laboratory experiment which used 32 normal samples, the study aims to evaluate the influence of four delay time groups (0, 4, 6, and 8 hours) on both the pH levels of citrate plasma and aPTT. Findings reveal a significant correlation ($p < 0.05$) between pH and aPTT in the 0-hour delay group ($r = 0.406$). Furthermore, linear regression analysis demonstrates significant associations ($p < 0.05$) among delay times, pH levels of citrate plasma, and aPTT, with regression value (R^2) of 0.708 for pH and 0.089 for aPTT. It is concluded that there exists a moderate-level correlation between pH and aPTT in the 0-hour delay group. Additionally, the study highlights that delay times collectively account for 70.8% of the variance in the pH value of citrate plasma and 8.9% of the variance in aPTT outcomes.

Keywords: Delay Time, pH Value, aPTT, Citrate Plasma

Abstrak

Pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (aPTT) adalah salah satu pemeriksaan hemostasis yang dijadikan sebagai titik awal untuk menyelidiki kelainan faktor pembekuan di jalur intrinsik dan bersama. Stabilitas plasma sitrat selaku sampel pemeriksaan aPTT dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk waktu tunda pemeriksaan. Plasma sitrat yang ditunda akan menyebabkan CO₂ keluar dari plasma sehingga pH plasma in vivo meningkat, peningkatan pH tersebut dapat mempengaruhi faktor-faktor pembekuan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan 32 sampel normal. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan ada-tidaknya korelasi antara nilai pH plasma sitrat dengan nilai aPTT berdasarkan empat kelompok waktu tunda 0, 4, 6, dan 8 jam, dan ada-tidaknya pengaruh antara waktu tunda dengan nilai pH plasma sitrat dan nilai aPTT. Hasil uji korelasi Pearson $p < 0,05$ antara nilai pH dan aPTT pada kelompok waktu tunda 0 jam dengan $r = 0,406$. Hasil analisis regresi linear $p < 0,05$ pada kelompok waktu tunda terhadap nilai pH plasma sitrat dan nilai aPTT dengan nilai regresi (R^2) masing-masing 0,708 dan 0,089. Disimpulkan bahwa nilai pH memiliki korelasi terhadap nilai aPTT pada kelompok waktu tunda 0 jam dengan kekuatan hubungan korelasi sedang, serta kelompok waktu tunda memiliki pengaruh sebesar 70,8% terhadap nilai pH dan 8,9% terhadap nilai aPTT.

Kata Kunci: Waktu Tunda, Nilai pH, aPTT, Plasma Sitrat

PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan darah yang berkaitan dengan sel-sel darah termasuk dalam mengevaluasi mekanisme hemostasis tubuh atau lebih umum dikenal dengan pembekuan darah. Pemeriksaan hemostasis

sangat diperlukan untuk mengetahui fungsi tubuh dalam mempertahankan keenceran darah dan menutup kerusakan dinding pembuluh darah ketika terdapat kerusakan pembuluh darah. Pemeriksaan hemostasis dasar terdiri dari pemeriksaan PT, aPTT, TT, Fibrinogen, *Bleeding Time*, dan *Clotting Time* (Durachim & Astuti, 2018). Pemeriksaan aPTT dilakukan bersama dengan pemeriksaan PT sebagai titik awal untuk menyelidiki adanya perdarahan berlebih ataupun gangguan pembekuan darah, serta dilakukan pada pasien pra operasi untuk menentukan apakah tindakan operasi berpotensi menimbulkan risiko perdarahan atau tidak (Capoor et al., 2015).

Stabilitas plasma sitrat yang digunakan untuk pemeriksaan hemostasis dapat dipengaruhi oleh konsentrasi antikoagulan sitrat, bahan tabung *vacutainer*, teknik pengambilan darah, sentrifugasi, cara penyimpanan *specimen*, dan waktu pemeriksaan (Putri et al., 2020). Menurut Kepmenkes No. HK.01.07/MENKES/243/2021 (Quirke et al., 2021), pemeriksaan PT dan aPTT harus dikerjakan dalam empat jam setelah pengambilan sampel. Aturan tersebut sejalan dengan rekomendasi dari CLSI pada pedoman H21-A5 (Adcock et al., 2008) yang menyebutkan bahwa waktu penyimpanan maksimal untuk sampel pemeriksaan PT adalah 24 jam, sedangkan aPTT adalah 4 jam pada suhu ruang. Dalam praktiknya di laboratorium seringkali terjadi penundaan pemeriksaan melebihi empat jam. Penundaan pemeriksaan tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti antrean pasien yang terlalu banyak, reagen habis, *maintenance* alat, dan hal-hal lain yang menyebabkan sampel harus dirujuk ke laboratorium lain, serta adanya permintaan tambahan pemeriksaan hemostasis beberapa jam setelah permintaan awal menggunakan spesimen yang sudah dianalisis lebih awal dan diarsipkan (Quirke et al., 2021).

Penundaan pemeriksaan aPTT akan menyebabkan CO₂ keluar dari plasma dan menyebabkan pH meningkat. Hal tersebut dapat menghambat aktivitas faktor-faktor pembekuan yang akhirnya membuat nilai aPTT dapat memanjang palsu. Selain itu, darah yang ditambahkan antikoagulan apabila tidak segera diperiksa akan mengalami perubahan morfologi pada sel darah (Perbawa, 2019). Ketika plasma digunakan sebagai sampel, CO₂ dapat keluar dari plasma karena tekanan parsial yang lebih tinggi dalam fluida daripada di udara sehingga menghasilkan peningkatan pH (Kristensen et al., 2020).

Menurut penelitian Quirke et al. (2021), hasil pemeriksaan PT dan aPTT masih stabil hingga empat jam pasca flebotomi dengan perlakuan plasma sitrat disimpan pada suhu *refrigerator* 2-8 °C. Penelitian ini tidak selaras dengan beberapa penelitian lain (Feng et al., 2014; Toulon et al., 2017) yang menyebutkan bahwa nilai aPTT dapat stabil hingga penundaan 8 jam. Di sisi lain, pada penelitian Kristensen et al. (2020) mengenai pengaruh pH pada pembentukan thrombin, ditemukan adanya peningkatan nilai pH pada sampel plasma sitrat untuk pemeriksaan *Thrombin Generation* (TG) dengan metode CAT. Peningkatan nilai pH tersebut didapatkan pada sampel plasma sitrat yang dilakukan penundaan selama 0-6 jam. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu tunda dan nilai pH plasma sitrat terhadap nilai aPTT berdasarkan empat kelompok waktu tunda yaitu 0, 4, 6, dan 8 jam.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan 32 sampel responden yang tidak mengonsumsi obat pengencer darah, yang diperoleh dengan cara *purposive sampling*. Penelitian dilakukan di laboratorium hematologi Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Sampel darah vena ditampung dengan tabung antikoagulan Sodium Sitrat 3,2%, lalu diolah menjadi plasma sitrat dengan sentrifugasi 1500g selama 10 menit. Plasma sitrat diukur nilai pH menggunakan pH meter lalu diukur nilai aPTT dengan metode semi otomatis menggunakan Erba ECL 412 *Coagulation Analyzer*. Reagen yang digunakan yaitu TEClot aPTT-S dan TECO *Calcium Chloride* 0,025M. Plasma sitrat pada kelompok tunda 4, 6, dan 8 jam disimpan pada suhu ruang sesuai dengan waktu penundaan. Data yang telah dikumpulkan dianalisis secara statistik menggunakan IBM SPSS Statistic 23.

HASIL

Pemeriksaan aPTT dilakukan setelah pengerjaan *Quality Control* dengan bahan kontrol normal merk TEControl N untuk memvalidasi kelayakan instrument pemeriksaan. Hasil penelitian terhadap sampel plasma sitrat dari 32 responden untuk mengukur nilai pH dan aPTT dengan waktu tunda 0, 4, 6, dan 8 jam dideskripsikan dan diuraikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Deskripsi Data Nilai pH pada Plasma Sitrat dengan Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam

No.	Nilai pH	Waktu Tunda			
		0 Jam	4 Jam	6 Jam	8 Jam
1.	Nilai Minimal	7,20	7,30	7,45	7,50
2.	Rata-rata	7,348	7,484	7,564	7,697
3.	Nilai Maksimal	7,46	7,64	7,72	7,86
4.	Rentang	0,26	0,34	0,27	0,36

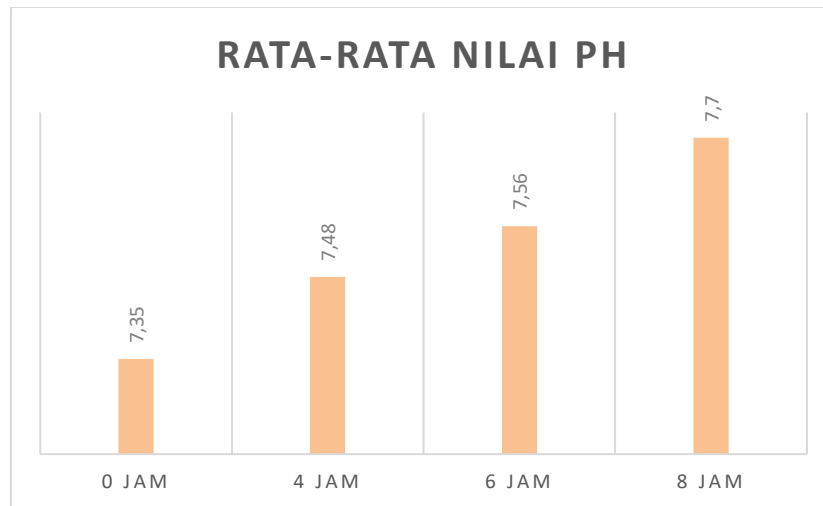
Data penelitian didapatkan nilai rata-rata pH terendah adalah nilai pH plasma sitrat pada waktu tunda 0 jam yaitu 7,348 dan yang tertinggi adalah nilai pH plasma sitrat pada waktu tunda 8 jam yaitu 7,697.

Tabel 2. Deskripsi Data Nilai aPTT pada Plasma Sitrat dengan Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam

No.	Nilai aPTT	Waktu Tunda			
		0 Jam	4 Jam	6 Jam	8 Jam
1.	Nilai Minimal	24,40	26,70	27,90	27,50
2.	Rata-rata	31,85	33,30	34,09	34,46
3.	Nilai Maksimal	37,60	39,90	40,50	42,80
4.	Rentang	13,20	13,20	12,60	15,30

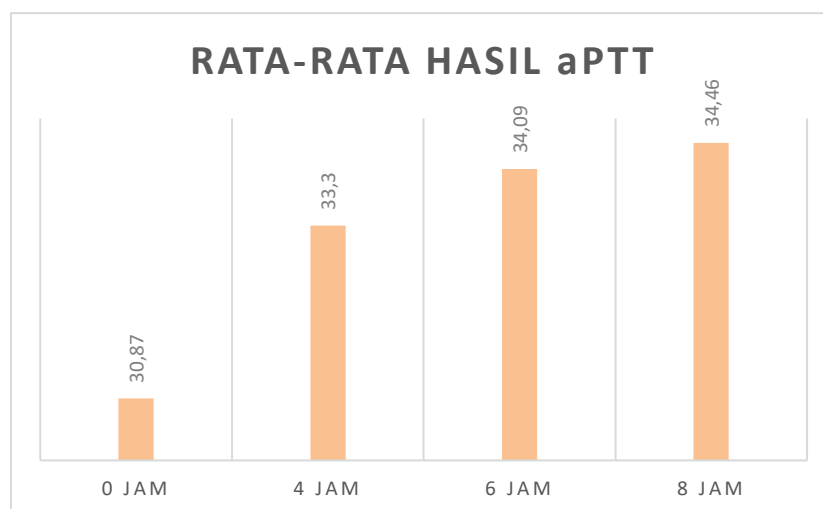
Data penelitian didapatkan nilai rata-rata aPTT terendah adalah nilai aPTT pada waktu tunda 0 jam yaitu 31,85 detik dan yang tertinggi adalah nilai aPTT pada waktu tunda 8 jam yaitu 34,46 detik.

Berdasarkan Tabel 1, didapatkan adanya peningkatan rata-rata nilai pH pada plasma sitrat yang dilakukan penundaan selama 0, 4, 6, dan 8 jam. Peningkatan rata-rata nilai pH tersebut digambarkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Grafik Rata-rata Nilai pH pada Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam.

Berdasarkan Tabel 2, didapatkan adanya peningkatan rata-rata nilai aPTT pada plasma sitrat yang dilakukan penundaan selama 0, 4, 6, dan 8 jam. Peningkatan rata-rata nilai aPTT dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Grafik Rata-rata Nilai aPTT pada Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam.

Data nilai pH dan aPTT pada keempat kelompok waktu tunda diuji normalitas Shapiro-Wilk dengan $\alpha = 0,05$.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Data Nilai pH dan Nilai aPTT pada Plasma Sitrat dengan Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam

No.	Nilai aPTT	Kelompok Sampel	Shapiro-Wilk		
			Statistic	df	nilai p
1.	pH	0 Jam	0,965	32	0,376
		4 Jam	0,968	32	0,445
		6 Jam	0,937	32	0,062
		8 Jam	0,960	32	0,278
2.	aPTT	0 Jam	0,981	32	0,827
		4 Jam	0,991	32	0,995
		6 Jam	0,971	32	0,528
		8 Jam	0,983	32	0,878

Hasil perhitungan diketahui data terdistribusi data normal karena nilai $p > 0,05$ pada waktu tunda 0, 4, 6, dan 8 jam sehingga dilanjutkan dengan uji korelasi Pearson untuk mengetahui korelasi antara nilai pH dengan nilai aPTT berdasarkan kelompok waktu tunda 0, 4, 6, dan 8 jam.

Tabel 4. Hasil Uji Korelasi Pearson Data Nilai pH dan Nilai aPTT pada Plasma Sitrat dengan Waktu Tunda 0, 4, 6, dan 8 Jam

No.	Statistik	Nilai pH - Nilai aPTT			
		0 Jam	4 Jam	6 Jam	8 Jam
1.	Pearson Correlation (r)	0,406	0,114	-0,180	0,095
2.	Nilai p (2-tailed)	0,021	0,533	0,323	0,607

Hasil uji korelasi pada kelompok waktu tunda 0 jam didapatkan nilai p (2-tailed) $< 0,05$ dengan koefisien korelasi bernilai positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara nilai pH dan nilai aPTT pada kelompok waktu tunda 0 jam dengan sifat korelasi berbanding lurus. Hasil uji korelasi pada kelompok waktu tunda 4, 6, dan 8 jam didapatkan nilai p (2-tailed) $> 0,05$ dengan koefisien korelasi bernilai positif dan negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara nilai pH dan nilai aPTT pada kelompok waktu tunda 4, 6, dan 8 jam. Uji dilanjutkan dengan analisis regresi linear untuk mengetahui pengaruh waktu tunda terhadap nilai pH dan nilai aPTT. Hasil analisis regresi linear.

Tabel 5. Hasil Analisis Regresi Kelompok Waktu Tunda dengan Nilai pH dan Nilai aPTT

No.	Variabel	Model	Unstandardized Coefficients		t	Nilai p
			B	Std. Error		
1.	Waktu tunda - pH	(Constant)	7,241	0,018	409.735	0,000
		Kelompok Sampel	0,113	0,006	17.481	0,000
2.	Waktu tunda - aPTT	(Constant)	31,265	0,676	46,272	0,000
		Kelompok Sampel	0,864	0,247	3,502	0,001

Hasil pada Tabel 5 menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada kelompok waktu tunda terhadap nilai pH yang artinya kelompok waktu tunda mempengaruhi nilai pH dengan persamaan linear $Y = 7,241 + 0,113X$. Hasil analisis regresi linear pada kelompok waktu tunda terhadap nilai aPTT juga menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang artinya kelompok waktu tunda mempengaruhi nilai aPTT dengan persamaan linear $Y = 31,265 + 0,864X$.

Tabel 6. Hasil Uji Determinasi Kelompok Waktu Tunda dengan Nilai pH dan Nilai aPTT

No.	Variabel	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1.	Waktu tunda - pH	0,841	0,708	0,706	0,08163
2.	Waktu tunda - aPTT	0,298	0,089	0,081	3,12084

Berdasarkan tabel hasil uji determinasi, diketahui nilai regresi (R^2) waktu tunda dengan pH sebesar 0,708 (70,8%) yang menunjukkan bahwa waktu tunda memiliki pengaruh terhadap nilai pH sebesar 70,8%. Nilai regresi (R^2) waktu tunda dengan aPTT yaitu sebesar 0,089 (8,9%) yang menunjukkan bahwa waktu tunda memiliki pengaruh terhadap nilai aPTT sebesar 8,9%.

DISKUSI

Plasma darah *in vivo* normalnya memiliki pH sekitar 7,4. Ketika ada penundaan pemeriksaan, pH plasma darah yang digunakan sebagai sampel dapat meningkat akibat CO_2 yang keluar dari plasma (Kristensen et al., 2020). Secara teori, penundaan pemeriksaan menyebabkan CO_2 keluar dari plasma sehingga pH meningkat, peningkatan pH tersebut dapat mempengaruhi faktor-faktor pembekuan sehingga nilai aPTT dapat memanjang palsu (Perbawa, 2019).

Pada Gambar 1 diketahui rata-rata nilai pH plasma sitrat terendah yaitu pada waktu tunda 0 jam dengan rata-rata 7,35. Rata-rata nilai pH plasma sitrat

tertinggi yaitu pada waktu tunda 8 jam dengan rata-rata 7,7. Perbedaan rata-rata terendah dan tertinggi hanya 0,35. Hasil tersebut selaras dengan penelitian Kristensen et al. (2020), yang menyatakan bahwa semakin lama waktu penundaan akan membuat pH semakin meningkat.

Pada Gambar 2 diketahui rata-rata nilai aPTT terendah yaitu pada waktu tunda 0 jam dengan rata-rata 30,87 detik. Rata-rata nilai aPTT tertinggi yaitu pada waktu tunda delapan jam dengan rata-rata 34,46 detik. Peningkatan nilai aPTT terjadi cukup besar namun masih dalam rentang nilai rujukan yaitu dengan perbedaan rata-rata terendah dan tertinggi 3,59 detik. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Perbawa (2019) yang menyatakan nilai aPTT mengalami peningkatan ketika sampel plasma sitrat dilakukan penundaan. Dalam hasil penelitian tersebut dinyatakan nilai aPTT yang ditunda selama tiga jam meningkat sebesar 6,5% dari nilai aPTT tanpa penundaan.

Menurut hasil uji korelasi Pearson pada Tabel 4, korelasi antara nilai pH plasma sitrat dengan nilai aPTT hanya ditunjukkan pada kelompok waktu tunda 0 jam dengan koefisien korelasi bernilai positif dan derajat kekuatan sedang. Hal tersebut menunjukkan bahwa korelasi antara nilai pH plasma sitrat dengan nilai aPTT berbanding lurus, yaitu apabila nilai pH meningkat maka nilai aPTT juga meningkat dan hubungan korelasi tersebut memiliki kekuatan sedang. Pada kelompok waktu tunda 4, 6, dan 8 jam didapatkan hasil tidak adanya korelasi antara nilai pH plasma sitrat terhadap nilai aPTT pada ketiga kelompok waktu tersebut. Melihat dari adanya peningkatan rata-rata nilai pH plasma sitrat dan nilai aPTT pada keempat kelompok waktu tunda, namun tidak adanya korelasi antara keduanya kemungkinan dikarenakan peningkatan rata-rata nilai pH dan aPTT yang terjadi dianggap tidak terlalu signifikan secara klinis.

Analisis regresi linear juga dilakukan dalam penelitian ini untuk membuktikan apakah waktu tunda memiliki pengaruh terhadap nilai pH plasma sitrat dan nilai aPTT. Pada penelitian Kristensen et al. (Kristensen et al., 2020) dinyatakan bahwa waktu penundaan plasma sitrat dapat membuat nilai pH plasma sitrat berubah. Hasil analisis regresi pada Tabel 5 dan uji determinasi pada Tabel 6 menunjukkan bahwa waktu tunda memiliki pengaruh sebesar 70,8% terhadap nilai pH plasma sitrat dan 8,9% terhadap nilai aPTT, sejalan dengan teori yang disebutkan sebelumnya.

Kelemahan penelitian ini adalah terbatasnya variabel yang diteliti sebagai faktor yang berpengaruh terhadap perubahan nilai aPTT. Nilai aPTT dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor selain waktu tunda dan nilai pH plasma sitrat yang tidak diteliti dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi dengan derajat kekuatan sedang antara nilai pH plasma sitrat dan nilai aPTT pada kelompok waktu tunda 0 jam dengan koefisien korelasi bersifat positif dan tidak terdapat korelasi pada kelompok waktu tunda 4, 6, dan 8 jam. Kesimpulan lain yang dapat diambil yaitu terdapat pengaruh antara waktu tunda (0, 4, 6, dan 8 jam) sebesar 70,8% terhadap nilai pH plasma sitrat dan 8,9% terhadap nilai aPTT. Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar dapat meneliti variabel lain yang mempengaruhi nilai aPTT dan menggunakan sampel patologis dengan nilai aPTT abnormal. Bagi petugas laboratorium sebaiknya melakukan pemeriksaan aPTT segera tanpa penundaan untuk mencegah terjadinya perubahan stabilitas sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta III yang telah menjadi tempat penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Adcock, D. M., Hoefner, D. M., Kottke-Marchant, K., Marlar, R. A., Szamosi, D. I., & Warunek, D. J. (2008). *H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition*. CLSI.
- Capoor, M. N., Stonemetz, J. L., Baird, J. C., Ahmed, F. S., Awan, A., Birkenmaier, C., Inchiosa, M. A., Magid, S. K., McGoldrick, K., Molmenti, E., Naqvi, S., Parker, S. D., Pothula, S. M., Shander, A., Steen, R. G., Urban, M. K., Wall, J., & Fischetti, V. A. (2015). Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Testing: A Comparative Effectiveness Study in a Million-Patient Sample. *PLoS ONE*, 10(8), e0133317.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133317>

- Durachim, A., & Astuti, D. (2018). *Hemostasis*. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Feng, L., Zhao, Y., Zhao, H., & Shao, Z. (2014). Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma. *Scientific Reports*, 4(1), 3868. <https://doi.org/10.1038/srep03868>
- Kristensen, S. R., Nybo, J., & Pedersen, S. (2020). The effect of pH on thrombin generation-An unrecognized potential source of variation. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 4(2), 224-229. <https://doi.org/10.1002/rth2.12289>
- Perbawa, P. M. Y. (2019). PENGARUH PENUNDAAN PEMERIKSAAN TERHADAP HASIL APTT (ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME). *The Journal of Medical Laboratory*. <http://repository.poltekkes-denpasar.ac.id/id/eprint/2759>
- Putri, A. E., Indrasari, Y. N., & Hernaningsih, Y. (2020). The Effect of Storage and Time of Blood Specimen Examination of Plasma Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Stabilities. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(3), 1721-1726. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i3.10664>
- Quirke, W., Toomey, S., & Sheikhi, A. (2021). The stability of “add-on” coagulation assays in refrigerated citrated plasma stored on a packed cellular fraction. *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(4), 779-785. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13576>
- Toulon, P., Metge, S., Hangard, M., Zwahlen, S., Piaulenne, S., & Besson, V. (2017). Impact of different storage times at room temperature of unspun citrated blood samples on routine coagulation tests results. Results of a bicenter study and review of the literature. *International Journal of Laboratory Hematology*, 39(5), 458-468. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12660>
-

ANALISIS HASIL PEMERIKSAAN IMMUNOCHROMATOGRAFI-RAPID TES SEBAGAI PENULARAN INFEKSI PADA ANAK DARI ORANG TUA PENDERITA HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV) DI PUSKESMAS LEPO-LEPO

Titi Purnama^{1*} · Adiz klarasia andara² · Edi Susanto³ · Firmasyah⁴

^{1,2,3,4}D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala
Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: titipurnama@gmail.com
No Tlp WA : 085338078890

Abstract

Human Immunodeficiency Virus (HIV) is an infectious disease caused by a type of retrovirus that can attack the body's defense system and cause death. This study is descriptive, using qualitative methods. Samples were taken from children whose parents had HIV in the Lepo-Lepo Health Center working area, with a population of 12 & 11 samples. This study used the Immunochromatography method. The results of this study, from 11 (100%) samples taken from children aged 1-4 years whose parents had HIV showed negative results. This is due to the rapid handling of HIV sufferers. Namely with the HIV Transmission Prevention Program (PPIA). Based on these results, it can be concluded that from the total sample, namely 11 children, negative results were obtained.

Keywords : *Human Immunodeficiency Virus (HIV), Children of HIV-positive parents, Immunochromatography*

Abstrak

Humman Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jenis virus retrovirus yang dapat menyerang sistem pertahanan tubuh hingga menyebabkan penderitanya dapat mengalami kematian. Penelitian ini bersifat deskriptif, dengan menggunakan metode kualitatif. Sampel yang diambil dari anak yang orang tuanya menderita HIV di wilayah kerja Puskesmas Lepo-Lepo, dengan jumlah populasi 12&11 sampel. Penelitian ini menggunakan metode Immunochromatografi. Hasil penelitian ini, dari 11(100%) sampel yang di ambil dari anak yang berusia 1-4 tahun yang orang tuanya menderita HIV menunjukan hasil yang negatif. Hal ini dikarenakan cepatnya penanganan terhadap penderita HIV. Yakni dengan adanya Program pencegahan penularan HIV (PPIA). Berdasarkan hasil tersebut dapat di simpulkan bahwa dari keseluruhan sampel yaitu 11 anak di dapatkan hasil negatif.

Kata Kunci : *Humman Immunodeficiency Virus (HIV), Anak dari orang tua penderita HIV, Immunochromatografi*

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan retrovirus yang menyerang sel-sel system kekebalan tubuh manusia, khususnya sel TCD4 positif dan makrofag, komponen utama dari sistem kekebalan sel. Virus ini merusak atau mengganggu fungsi sel-sel tersebut. Infeksi oleh virus ini menyebabkan penurunan sistem kekebalan yang berkelanjutan, yang pada gilirannya mengakibatkan defisiensi kekebalan tubuh. Sistem kekebalan dianggap defisien ketika tidak mampu melaksanakan fungsi melawan infeksi dan penyakit. Individu dengan

kekebalan tubuh yang defisien menjadi lebih rentan terhadap berbagai jenis infeksi, yang umumnya jarang menjangkiti orang yang memiliki sistem kekebalan yang normal (Thomas dkk, 2017).

Human Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan jenis retrovirus yang termasuk dalam kategori virus RNA. Virus ini memiliki enzim reverse transcriptase yang memungkinkannya mengubah informasi genetik yang terdapat dalam RNA menjadi DNA. Proses ini kemudian mengarah pada integrasi DNA virus ke dalam informasi genetic sel limfosit yang diserang. Dengan cara ini, HIV menggunakan mekanisme sel limfosit untuk mereplikasi dirinya, menghasilkan virus baru dengan karakteristik yang serupa. Virus ini menyerang jenis sel darah putih yang berperan penting dalam system kekebalan tubuh untuk melawan infeksi, khususnya limfosit yang memiliki marker atau penanda CD4 di permukaannya. Penurunan nilai CD4 dalam tubuh manusia menunjukkan berkurangnya jumlah sel darah putih atau limfosit yang seharusnya melibatkan diri dalam melawan infeksi yang masuk ke dalam tubuh manusia. Salah satu cara penularan HIV adalah melalui produk darah (Haeruddin, 2022).

Menurut Kementerian Kesehatan (Kemenkes RI, 2023), jumlah kasus HIV (human immunodeficiency virus) di Indonesia diproyeksikan mencapai 515.455 kasus selama Januari-September 2023. Dari total tersebut, sebanyak 454.723 kasus atau 88% sudah dikonfirmasi oleh penderitanya atau orang dengan HIV (ODHIV). Kemenkes mencatat bahwa hanya 40% dari total ODHIV yang telah mendapatkan pengobatan HIV.

Dari segi usia, pengidap HIV di Indonesia mayoritas berasal dari kelompok usia 25-49 tahun, mencapai 69,9% dari total kasus. Sementara itu, kelompok usia 20-24 tahun menempati posisi kedua terbanyak dengan 16,1%. Kelompok usia di atas 50 tahun mencakup 7,7%, sementara usia 15-19 tahun sebanyak 3,4%. Adapun penderita anak-anak, termasuk balita atau usia di atas 4 tahun, sebanyak 1,9%, dan usia 5-14 tahun mencapai 1% (Kemenkes RI, 2023).

Tes ini dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi infeksi HIV pada ibu hamil secepat mungkin, sehingga dapat memberikan terapi yang tepat, mempersiapkan persalinan yang aman, dan memberikan profilaksis pada bayi yang dikandung. Langkah-langkah ini diambil dengan harapan dapat mencegah bayi dari terinfeksi HIV (Kemenkes RI 2019).

HIV dapat ditularkan dari seorang wanita yang terinfeksi HIV kepada anaknya selama kehamilan, persalinan, dan menyusui. Penularan ini, yang dikenal sebagai 'penularan vertikal', menyumbang sebagian besar infeksi pada anak-anak (0-14 tahun). Seorang wanita hamil hidup dengan HIV dan tanpa pengobatan, kemungkinan penularan virus dari ibu ke anak dapat mencapai 15% - 45%. Namun, dengan penggunaan Antiretroviral Treatment (ART) dan intervensi lainnya, risiko penularan ini dapat dikurangi menjadi di bawah 5% (Avert, 2018).

Rapid test merupakan suatu metode *Immunochromatography Test* (ICT) yang dapat digunakan untuk secara kualitatif mendeteksi HIV dalam tubuh seseorang. Hasil dari tes ini ditampilkan secara manual dan hanya memerlukan pembacaan menggunakan mata telanjang. Metode ini telah digunakan secara meluas dalam diagnosis dan skrining penyakit infeksi. Sensitivitas metode ini mencapai 9,17%, sementara spesifitasnya mencapai 98,8% (Adyanti, 2020).

Pemeriksaan *Human immunodeficiency virus* (HIV) pada anak telah banyak dilakukan. Pasien yang terdeteksi merupakan orang yang memiliki risiko tinggi dan akan penderita masuk dalam kategori risiko tinggi, tetapi infeksi pada orang tua berpengaruh besar terhadap penularan pada anak. Minimnya informasi penularan pada anak menjadi alasan penelitian ini dilakukan.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan analisis hasil pemeriksaan Imunokromatografi-Rapid Test sebagai skrining penularan infeksi pada anak dari orang tua penderita HIV.

BAHAN DAN METODE

Populasi pada penelitian ini adalah anak dari ibu yang positive hiv di wilayah puskesmas lepo-lepo dengan jumlah sampel sebanyak 11 responden. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian studi observasional potong lintang atau *Crossectional study* dengan menggunakan metode kualitatif. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah pen holder, alcohol swab, handscoon, pipet, rapid tes HIV, masker, alcohol 90% dan antigen rapid.

a. Pra analitik

1. Persiapan alat dan bahan
2. Persiapan pasien

a) Pengambilan darah

Untuk pemeriksaan hiv di perlukan darah kapiler dua tetes, pengambilan

darah diambil pada pembuluh darah kapiler

b) Prinsip pemeriksaan

Prinsip pemeriksaan metode ini yaitu reaksi antigen dan antibody yang konjugasikan pada partikel berwarna. Kompleks imun yang terbentuk kemudian mengalir melalui suatu reaksi membrane yang di lapisi oleh antibody penangkap terhadap antigen yang sama.

c) Metode pemeriksaan

Dalam metode pemeriksaan HIV ini menggunakan metode *Immunochromatography Test (ICT)*

b. Analitik

1. Dibiarkan alat dan sampel pada suhu ruang
2. Dibuka bungkus kit dengan cara merobek kemasan
3. Diambil alat rapid dan di letakkan pada permukaan datar
4. Ditetaskan 2 tetes darah pada lubang sampel
5. Kemudian di tambahkan 1 tetes buffer pada lubang sampel
6. Di baca hasil setelah 15 menit , jangan di baca lebih dari 20 menit
7. Di amati hasilnya

c. Pasca analitik

1. Hasil Reaktif HIV jika terdapat dua garis control berwarna merah yang terbentuk pada alat rapid
2. Hasil Non reaktif jika terdapat satu garis control berwarna merah yang terbentuk pada alat rapid
3. Hasil Invalid jika pada area tes muncul garis berwarna merah

HASIL

1. Distribusi responden berdasarkan jenis kelamin

Pada penelitian ini responden merupakan anak dari orang tua yang penderita HIV.

Tabel 1. Distribusi Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis kelamin	Jumlah (orang)	Presentase (%)
Laki-laki	5	45
Perempuan	6	55
Jumlah	11	100

(Sumberdataprimer,2024)

Pada tabel 1 menunjukkan jumlah anak dari orang tua penderita HIV berjenis kelamin laki- laki berjumlah 5 orang (45%) dan perempuan berjumlah 6 orang (55%).

2. Distribusi Usia Sampel

Tabel 2.Distribusi Usia Sampel

Kelompok umur	Jenis kelamin		frekuensi	P
	Laki-laki	Perempuan		
1-2	4	2	6	
3-4	1	4	5	
Jumlah	5	6	11	

(Sumber data primer, 2024)

Pada Tabel 2 menunjukkan distribusi sampel berdasarkan usia dengan jumlah sampel 11. Pada tabel diatas menunjukkan bahwa interval paling rendah terdapat pada usia 3-4 tahun yakni berjumlah5 orang (45%) dan interval paling tinggi terdapat pada usia 1-2 tahun dengan jumlah 6 orang (55%).

3. Distribusi berdasarkan hasil pemeriksaan HIV reaktif dan non reaktif HIV pada anak di puskesmas lepo-lepo

Tabel 3. Distribusi Berdasarkan Hasil Pemeriksaan HIV Reaktif Dan Non Reaktif HIV Pada Anak Di Puskesmas Lepo-Lepo

Jenis Pemeriksaan (RapidTest HIV)	Frekuensi	Presentase (%)
Reaktif(+)	0	0
NonReaktif(-)	11	100
Total	11	100

(Sumberdataprimer,2024)

Pada tabel 3 ditemukan pada11orang Non-Reaktif HIV dengan presentase 100% dan tidak terdapat pasien yang Reaktif dengan presentase 0 %.

Human Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan penyakit infeksi yang

PEMBAHASAN

disebabkan oleh jenis virus retrovirus yang dapat menyerang sistem pertahanan tubuh hingga menyebabkan penderitanya dapat mengalami kematian. Dalam tubuh virus ini mempunyai enzim reverse transcriptase yang dapat mengubah RNA menjadi DNA kemudian DNA tersebut akan diintegrasikan dalam bentuk informasi genetik sel limfosit yang menjadi sasaran target virus tersebut.

Ada banyak faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit yang disebabkan oleh virus HIV antara lain hubungan seksual, transmisi parenteral (alat-alat seperti jarum suntik, jarum tato, jarum tindik, peralatan bedah, penggunaan jarum suntik secara berkala pada para pengguna Napza suntik atau alat-alat lain yang kontak dengan cairan tubuh orang lain yang terinfeksi HIV yang tidak disterilkan terlebih dahulu), transmisi transplasental (melalui ibu yang terinfeksi kemudian menularkan pada janin yang dikandungnya pada saat kehamilan, persalinan maupun menyusui), bahkan melalui transfusi darah.

Ada tiga faktor utama yang berpengaruh pada penularan HIV dari ibu ke anak, yaitu faktor ibu, bayi/anak, dan tindakan obstetrik. Faktor ibu, meliputi: jumlah virus, jumlah sel CD4, status gizi selama hamil, penyakit infeksi selama hamil, dan gangguan payudara. Faktor bayi, meliputi: usia kehamilan dan berat badan bayi, periode pemberian ASI, dan adanya luka dimulut bayi. Faktor obstetrik, meliputi: jenis persalinan, lama persalinan, ketuban pecah lebih dari 4 jam sebelum persalinan, dan tindakan episiotomi, ekstraksi vakum dan forseps (Kemenkes RI, 2013).

Adanya program PPIA dari pemerintah akan membantu mengurangi risiko penularan HIV dari ibu kepada anak. Sedangkan persentase risiko penularan HIV ibu yang tidak mendapatkan penanganan PPIA saat hamil diperkirakan sekitar 15-45%. Risiko penularan 15-30% terjadi pada saat hamil dan bersalin, sedangkan peningkatan risiko transmisi HIV sebesar 10-20% dapat terjadi pada masa nifas dan menyusui. Akan tetapi, dengan terapi antiretroviral (ART) jangka panjang, risiko penularan HIV dari ibu ke anak dapat diturunkan lagi hingga 1-5%, dan ibu yang menyusui secara eksklusif memiliki risiko yang sama untuk menularkan HIV ke anaknya dibandingkan dengan ibu yang tidak menyusui. Dengan pelayanan PPIA yang baik, maka tingkat penularan dapat diturunkan menjadi kurang dari

2%.(Permenkes RI, 2013).

Mekanisme obat ARV tidak dengan mematikan virus tetapi dengan menghambat replikasi virus Human Immunodeficiency Virus (HIV) agar HIV ke tahap AIDS dapat diperlambat. Meskipun terapi ARV tidak mampu menyembuhkan tetapi terapi ARV mampu meningkatkan kualitas hidup ODHA dengan menurunkan angka kematian, sehingga dapat meningkatkan harapan hidup pada masyarakat. Bahkan kini HIV dan AIDS tidak lagi dipersepsikan sebagai penyakit yang menakutkan serta telah dipahami sebagai penyakit yang dapat dikendalikan. Pencapaian manfaat yang optimal pada obat ARV setidaknya dibutuhkan 95% dari semua dosis yang tidak boleh terlupakan. Kemungkinan terburuk yang diakibatkan ketidakpatuhan terapi ARV adalah terjadinya resistensi obat (Sari dkk, 2021).

Kombinasi obat antiretroviral yang ada saat ini untuk pengobatan infeksi Human Immunodeficiency Virus (HIV) dapat berhasil mempertahankan penekanan replikasi HIV-1 dalam plasma dalam jangka panjang. Namun, tidak satu pun dari terapi ini mampu memusnahkan virus dari reservoir seluler yang berumur panjang, termasuk makrofag turunan monosit (MDM), yang merupakan hambatan utama dalam penyembuhan HIV. MDM tersebar luas di seluruh jaringan dan organ, termasuk sistem saraf pusat (SSP) dimana MDM merupakan sel yang paling sering terinfeksi HIV dan merupakan hambatan utama dalam penyembuhan HIV. Obat antiretroviral yang disetujui FDA saat ini menargetkan transkriptase balik virus, protease, integrase, dan proses masuk (blokade koreseptor atau fusi). Sangat diharapkan untuk terus mengembangkan obat antiretroviral baru yang ditujukan terhadap target alternatif dalam siklus hidup virus untuk lebih mengoptimalkan pilihan terapi, mengatasi resistensi terhadap obat yang ada, dan berpotensi berkontribusi pada penghapusan reservoir virus.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, peneliti ini melibatkan pemeriksaan HIV (screening) terhadap 11 sampel anak dari orang tua yang menderita HIV yang dilakukan di Puskesmas Lepo-Lepo kotaKendari,yang Terdiri dari anak laki-laki berjumlah 5 anakdan anak perempuan berjumlah 6 orang yang telah memenuhi kriteria dan persyaratan sebagai sampel dalam penelitian ini.

Telah dilakukan penelitian dengan judul analisis hasil pemeriksaan immunochromatografi-rapid tes sebagai skrining penularan infeksi pada anak dari orang tua penderita human immunodeficiency virus (HIV) di Puskemas Lepo-

Lepo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil pemeriksaan Imunokromatografi-Rapid Test pada anak dari orang tua penderita HIV. Mengenai metode, metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *immunochromatografi-rapid tes* (tesscreening) dengan melihat adanya garis merah pada *areacontrol* (C) dan *Area test*(T). Karena kemudahan serta akselerasinya di bandingkan dengan metode lain seperti metode *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) maupun *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Puskesmas lepo-lepo menggunakan metode *immunochromatografi-rapid test* tidak ditemukan satupun anak yang Reaktif HIV. Hal ini bisa terjadi karena cepatnya penanganan dari petugas kesehatan yang memberikan terapi Antiretroviral (ARV) yang dapat menghambat pertumbuhan, serta risiko penularan HIV dari ibu ke anak dapat diturunkan lagi hingga kurang dari 2% (Permenkes 2013),serta kesadaran dan pengetahuan dari ibu penderita HIV akan resiko penularan HIV ke anak. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Rochmawati (2023) yang menyatakan dengan adanya program pencegahan penularan HIV dari ibu ke anak (PPIA) sangat efektif untuk mencegah penularan vertikal. Upaya kesehatan masyarakat tersebut di integrasikan dengan penambahan untuk sifilis dan hepatitis B yang disebut Triple Eliminasi penularan dari ibu ke anak.

Pengetahuan memegang peran penting sebagai faktor yang membentuk perilaku individu. Tingkat pengetahuan yang dimiliki seseorang akan mempengaruhi cara mereka membuat keputusan sebelum melakukan suatu tindakan, sehingga dapat membantu mencegah Perilaku yang berisiko terkait dengan penyebab dan penularan HIV.

Hal inilah yang menyebabkan mengapa perlu dilakukan pemeriksaan Screening HIV pada anak sebagai pencegahan transmisi HIV, dari ibu pnderita HIV ke anak. Sehingga mendapatkan keturunan yang berkualitas, yang mampu memimpin bangsa dan aman serta terbebas dari berbagai kuman dan penyakit infeksi virus.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan *Human immunodeficiency virus* (HIV)pada anak dari orang tua yang menderita HIV di Puskesmas Lepo-Lepo dengan jumlah sampel 11 orang dengan

menggunakan *Imunokromatografi-Rapid Test* di peroleh hasil dari keseluruhan sampel yaitu Nonreaktif HIV dengan presentase (100%) dari 11 orang

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas lepo-lepo dalam memberikan izin untun pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

- Adyanti Sri S. (2020) Teknik Enzim Immunoassay. Journal University Of Indonesia. 3(4)
- Avert (2018) Women And Girls, HIV And AIDS. Available At:
<https://www.avert.org/professionals/hiv-social-issues/key-affected-populations/women>. Diakses pada tanggal 30 desember 2023 pukul 16:00.
- Darti (2019) Upaya Pencegahan Dan Penanggulangan HIV/AIDS Melalui Peningkatan Pengetahuan Dan Screening HIV/AIDS Pada Kelompok Wanita Beresiko Di Belawan Sumatera Utara. Jurnal Riset Hesti Medan Akper Kesdam I/BB Medan. 4 (1)
- Haeruddin. (2022) Penyuluhan Kesehatan Tentang Penyakit Infeksi Menular Seksual (IMS) Pada Remaja. Jurnal Abdimas Singkerru. 2 (1).
- Kemenkes RI. 2013. Pedoman Nasional Pencegahan Penularan HIV Dari IbuKe Anak (PPIA). Edisi Kedua. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
- Kementrian Kesehatan Indonesia. 2015. Pedoman Manajemen Program Pencegahan Penularan HIV . Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kementrian Kesehatan Indonesia. 2019. Pedoman Program Pencegahan Penularan HIV,Sifili Dan Hepatitis B. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kementrian Kesehatan Indonesia. 2022. Pedoman Manajemen Program Pencegahan PenularanHIV . Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Nurs, Nursalam, M. Dan Ninuk Dian Kurniawati.Asuhan Keperawatan Pada Pasien Terinfeksi HIV/AIDS. Jakarta: Salemba Medika, 2013.
- Permenkes RI. 2013. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 51 Tahun

- 2013 Tentang Pedoman Penanggulangan HIV dari Ibu ke Anak. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Rochmawati Lusa. 2023. Faktor Yang Berperan Dalam Pencegahan Penularan Hiv Dari Ibu Ke Anak Pada Ibu Positif Hiv. *Avicenna : Journal Of Health Research*.6(1)
- Rohmatullailah (2021) Faktor Risiko Kejadian HIV Pada Kelompok Usia Produktif Di Indonesia. *Jurnal Biostatistik, Kependudukan, Dan Informatika Kesehatan*. 2 (1)
- Sari Aisha Maulidya, Ika Ratna Hidayati, Rizka Novia Atmadani. 2021. Hubungan Tingkat Efek Samping Obat ARV Pada Pasien ODHA terhadap Tingkat Kepatuhan Penggunaan Obat ARV. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia* 2021. 6(2): 117-120
- Thomas S, Rahayu A., Handayani, M. Yusuf Alamudi. 2017. Skrining HIV Pada Remaja Di Surabaya Dengan Menggunakan Rapid Test. *Edical And Health Science Journal*, Vol. 1, No. 2.
- World Health Organization. AIDS Epidemic Update, Report On The Global AIDS Epidemic. Last Updated 2020 WHO. WHO Case Definitions Of HIV For Surveillance And Revised Clinical Staging And Immunological Classification Of HIV Related Disease In Adult And Children. Geneva (Switzerland). Di Akses Pada 31 Desember 2023. Pukul 23:35.

IDENTIFIKASI JAMUR *ASPERGILLUS* SP. PADA PETANI DI DAERAH NGLARANGAN BOJONEGORO

Nurul Nuraini¹ · Anindita Riesti R. A² · Baterun Kunsah³ · Fitrotin Azizah⁴

^{1,2,3,4} D3 Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Jawa Timur
e-Mail nuraininurul495@gmail.com
No Tlp WA : 088228338608

Abstract

A farmer is someone who works in the agricultural sector. Farmers' working environment is dirty, dusty, watery and damp and many farmers do not use personal protective equipment. From these activities, farmers become vulnerable to exposure to fungi that infect the skin because most of the activities are around water. One of the fungi that often infects humans is the fungus *Aspergillus* sp. that is often found in various habitats, but generally in aerial saprophytes. This research aimed to determine whether or not the fungus *Aspergillus* sp. between the toes of farmers in the Nglarangan, Bojonegoro area. This type of research was descriptive, with the number of research samples being 37 swab samples between the toes of farmers in the Nglarangan, Bojonegoro area. This fungal examination was carried out with a cotton swab moistened with 0.9% NaCl solution which had been rubbed between the farmer's toes and then streaked onto Sabouroud Dextrose Agar (SDA) media which was incubated for 7 days at room temperature. The results showed that 22 samples (59.45%) were found positive for *Aspergillus* sp. and 15 samples (40.54%) were found to be negative for *Aspergillus* sp. The results of this data showed that the majority of samples from swabs between the toes of farmers in the Nglarangan, Bojonegoro area were positive for the fungus *Aspergillus* sp. This was because most of the farmers do not practice personal hygiene.

Keywords : *Aspergillus* sp., Between Toes, Farmers, Bojonegoro

Abstrak

Petani adalah seseorang yang bekerja dalam bidang pertanian. Kondisi lingkungan kerja petani yang kotor, debu, berair dan lembab serta banyak petani yang tidak menggunakan alat pelindung diri. Dari kegiatan tersebut petani menjadi rentan terpapar jamur yang menginfeksi kulit karena sebagian besar kegiatan berada di sekitar air. Salah satu jamur yang sering menginfeksi manusia adalah jamur *Aspergillus* sp. jamur *Aspergillus* sp. merupakan jamur yang sering ditemukan di berbagai habitat, tetapi pada umumnya di saprofit udara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada dan tidaknya jamur *Aspergillus* sp. pada sela jari kaki petani di daerah Nglarangan Bojonegoro. Jenis penelitian ini adalah deskriptif, dengan jumlah sampel penelitian adalah 37 sampel *swab* sela jari kaki petani di daerah Nglarangan Bojonegoro. Pemeriksaan jamur ini dilakukan dengan cotton *swab* yang di basahi dengan larutan NaCl 0,9% yang telah diusapkan pada sela jari kaki petani kemudian digoreskan ke media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) yang diinkubasi selama 7 hari di suhu ruang. Hasil penelitian menunjukkan 22 sampel (59,45%) ditemukan positif Jamur *Aspergillus* sp. dan 15 sampel (40,54%) ditemukan negatif Jamur *Aspergillus* sp. Dari hasil data tersebut menunjukan bahwa sebagian besar sampel dari *swab* sela jari kaki petani di daerah Nglarangan Bojonegoro positif jamur *Aspergillus* sp. hal ini disebabkan kebanyakan dari mereka para petani kurang menerapkan *personal hygiene*.

Kata Kunci : *Aspergillus* sp., Sela Jari Kaki, Petani, Bojonegoro

PENDAHULUAN

Indonesia disebut sebagai negara agraris karena penduduknya sangat bergantung pada pertanian sebagai mata pencarian. Sektor pertanian mempunyai peranan penting bangsa Indonesia khususnya dalam perekonomian nasional. Petani adalah seseorang yang bekerja dalam bidang pertanian, Kondisi lingkungan kerja petani yang kotor, debu, berair dan lembab dan banyak petani yang tidak menggunakan alat pelindung diri, berpotensi mempengaruhi kesehatan petani. Kaki dan tangan petani yang paling sering berkontak langsung dengan air dan lumpur di sawah, hal tersebut menyebabkan kaki petani menjadi basah dan lembab. Kaki yang selalu basah dan lembab merupakan kondisi yang disukai oleh jamur, kondisi tersebut merupakan faktor yang mendukung untuk pertumbuhan infeksi jamur. (Hasanah, 2021)

Infeksi jamur kulit dapat dibagi menjadi dua macam: *dermatofitosis* dan *nondermatofitosis*. *Dermatofitosis* adalah penyakit yang disebabkan oleh kolonisasi dermatofita yang dapat mengenai jaringan yang mengandung keratin seperti stratum korneum pada kulit, kuku dan rambut manusia. Sedangkan *nondermatofitosis* adalah penyakit kulit yang disebabkan oleh jamur yang tidak dapat mencerna keratin kulit dan hanya menyerang lapisan kulit yang paling luar (Arimurti et al., 2023).

Terdapat beberapa jamur yang menyebabkan infeksi dan menimbulkan penyakit *nondermatofita*. Salah satu penyebab penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur *nondermatofita* adalah *Aspergillus* sp. Infeksi jamur *Aspergillus* sp. dapat ditemukan dimana saja, baik didalam maupun luar ruangan seperti tanah, pohon, dedaunan kering, kompos, dan tempat lembab (Sutadarma, 2022).

Jamur *Aspergillus* sp. adalah spesies jamur kontaminasi yang bersifat kosmopolitan yang mudah menyebarluas karena spora jamur yang dapat disebarkan melalui udara sehingga mudah tumbuh pada bahan-bahan pangan atau pada petani. Adapun dampak kesehatan yang dapat disebabkan oleh jamur *Aspergillus* sp. diantaranya adalah demam, radang, sesak nafas, batuk-batuk, nyeri dada dan sendi, menggigil serta sakit kepala (Lisu et al., 2023).

Sedangkan menurut hasil penelitian lainnya yang dilakukan oleh Hidayah (2021) di divisi unit rawat jalan penyakit kulit dan kelamin di RSUD Dr. Soetomo Surabaya

pada bulan Agustus tahun 2021 terdapat jamur *Aspergillus* sp. pada sampel kuku yang ditanam pada media SDA menggunakan metode semai dengan presentase sebesar 17,8 %, presentase spesies jamur *Aspergillus* sp. yang menginfeksi yaitu jamur *Aspergillus niger* sebesar 14,29% dan jamur *Aspergillus Fumingatus* sebesar 3,57%.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya jamur *Aspergillus* sp. pada sela jari kaki petani yang ada di Daerah Nglarangan Bojonegoro.

Sebelum melakukan penelitian peneliti melakukan observasi terhadap para petani Di Daerah Nglarangan Bojonegoro. Berdasarkan observasi yang peneliti lakukan, banyak petani yang mengeluhkan rasa sakit pada sela jari kaki sehingga para petani sebelum melakukan aktifitas kesawah mereka mengoleskan handbody, minyak tanah atau bedak tabur pada sela jari kaki yang terlihat merah dan terasa gatal.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang di gunakan adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya jamur *Aspergillus* sp. Pada sela kaki petani yang ada di daerah Nglarangan Bojonegoro. Populasi dari penelitian ini adalah 37 total sampling petani yang hadir dalam penelitian di daerah Nglarangan Bojonegoro. Sampel penelitian ini adalah total populasi sejumlah 37 petani yang hadir dalam pengambilan sampel petani di daerah Nglarangan Bojonegoro. Teknik sampling yang digunakan untuk penelitian ini adalah total sampling, yaitu menggunakan seluruh populasi penelitian. Metode Pengumpulan Data ~~Data~~ diperoleh dengan metode primer dengan *swab* sela jari kaki pada petani dengan dibasahi menggunakan larutan NaCl 0,9% dan di periksa di Laboratorium Mikrobiologi UM Surabaya. Sedangkan untuk data metode sekunder dengan cara pengisian data pendukung kuisioner terkait *personal hygiene* terhadap kebersihan diri pada para petani yang ada di daerah Nglarangan Bojonegoro.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian Identifikasi jamur *Aspergillus* sp. pada *swab* sela jari kaki petani di Daerah Nglarangan Bojonegoro yang penelitiannya dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya Di Jl. Sutorejo

No 59 Surabaya, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 1 Hasil Identifikasi Jamur *Aspergillus* sp. Pada Swab Sela Jari Kaki Pada Petani Di Daerah Bojonegoro

NO	Kode Sampel	Hasil Identifikasi		Keterangan Spesies Jamur
		Positif	Negatif	
1	SW	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
2	ML	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
3	MR		(-)	-
4	MN	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
5	SA		(-)	-
6	STT	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
7	SJ	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
8	MJ	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
9	AI	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
10	ID	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
11	EPD		(-)	-
12	SP		(-)	-
13	AS	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
14	DR	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
15	JA	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
16	SSH		(-)	-
17	DRM	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
18	SNA	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
19	SRK	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
20	SAP	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
21	TRW		(-)	-
22	NHD		(-)	-
23	RSM		(-)	-
24	DML		(-)	-
25	RKM	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
26	MMA		(-)	-
27	YTM	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
28	MRH	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
29	SNH	(+)		<i>Aspergillus flavus</i>
30	SMI	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
31	SPI		(-)	-
32	REW		(-)	-
33	SMK	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
34	SLO		(-)	-

NO	Kode Sampel	Hasil Identifikasi		Keterangan Spesies Jamur
		Positif	Negatif	
35	ANI		(-)	-
36	PPK	(+)		<i>Aspergillus niger</i>
37	AHA	(+)		<i>Aspergillus niger</i>

Keterangan:

Positif : 22 sampel Positif jamur *Aspergillus* sp.

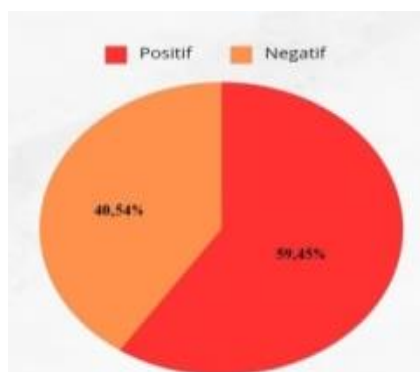
Negatif : 15 sampel Negatif jamur *Aspergillus* sp.

Analisis Data

Persentase sampel swab sela jari kaki yang positif jamur *Aspergillus* sp. dan negatif *Aspergillus* sp. dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2 Hasil Persentase Swab Sela Jari Kaki Petani Di Daerah Nglarangan Bojonegoro

Hasil Pemeriksaan	Jumlah	Presentase (%)
Positif	22	59,45%
Negatif	15	40,54%



Gambar 1 Diagram Pie Presentase Pemeriksaan Swab Sela Jari Kaki Petani Positif dan Negatif Berdasarkan Gambar 4.2 didapatkan diagram pie pemeriksaan swab sela jari kaki pada petani dengan hasil Positif 22 sampel dengan persentase 59,45% dan Negatif 15 sampel dengan persentase 40,54%.

DISKUSI

Berdasarkan hasil pengambilan data primer dari 37 sampel swab sela jari kaki Petani di daerah Nglarangan Bojonegoro yang melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya dengan tempat penyimpanan pada suhu ruang selama 7 hari didapatkan 22 sampel atau 59,45% persentase positif jamur *Aspergillus* sp. dan 15 sampel atau 40,54% persentase negatif *Aspergillus* sp. Jamur *Aspergillus* sp. merupakan jamur yang sering

ditemukan di berbagai habitat, tetapi pada umumnya di saprofit udara. Apabila kaki petani yang sering terkena air dan selalu berada di tempat yang lembab dapat menyebabkan tumbuhnya jamur, karena keratin kulit akan semakin tipis dan biasanya di timbulkan rasa gatal-gatal dan memerah serta kulit akan terlihat seperti terkikis (Hasanah, 2021).

Pada pengambilan sampel tahap pra analitik peneliti membagikan kuisisioner kepada petani terkait penyakit yang dikeluhkan dan rata-rata para petani sebelum dilakukan pengambilan sampel mereka sering mengoleskan handbody, minyak tanah dan bedak tabur pada kaki yang terlihat merah dan gatal. Cara menangani dan mengobati gejala tersebut salah sehingga kurang dalam menjaga kebersihan sehingga kebiasaan tersebut dapat menyebabkan terkontaminasi jamur *Aspergillus* sp. hasil tersebut dikuatkan dengan data sekunder yang dilakukan dengan cara mengisi kuisisioner. Dari hasil kuisisioner tersebut didapatkan petani yang menggunakan alat pelindung diri pada saat di sawah seperti menggunakan APD yaitu 54,05% dari 37 responden berarti dapat disimpulkan bahwa masih ada petani yang kurang peduli terhadap menjaga kebersihan diri, dibuktikan dengan kurangnya kesadaran petani menggunakan APD berupa sepatu boots dan APD lainnya. Alat pelindung diri yang dianjurkan untuk petani adalah pakaian lengan panjang, penutup kepala dan sepatu boots. APD yang dibutuhkan petani tersebut dapat mencegah terjadinya pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. yang menyukai area lembab disebabkan oleh air sawah atau lumpur jika tidak segera dibersihkan dan dikeringkan (Rizky, 2021).

Dari data hasil kuisisioner lama jam kerja pada saat di sawah didapatkan 51,35% dari 37 responden yang bekerja 5 jam di sawah, berarti dapat disimpulkan bahwa setiap harinya petani bersentuhan langsung dengan air dalam waktu yang cukup lama sehingga dapat meningkatkan resiko terjadinya infeksi jamur kulit. Hal itu juga sangat berkaitan dengan data hasil kuisisioner yang menunjukkan lama bekerja petani dengan durasi >10 tahun sebanyak 67,5% dari 37 responden yang berarti kebanyakan dari mereka selama kurun waktu lebih dari 10 tahun tersebut mengulang-ngulang kebiasaan tersebut. Yang didukung juga dari data hasil kuisisioner hari libur para petani ada 27,02% yang mempunyai hari libur dan 72,97% tidak memiliki hari libur. Semua dapat menyebabkan infeksi jamur, hanya saja yang lama jadi petani akan lebih banyak yang terinfeksi jamur.

Setelah itu juga dari data hasil kuisioner pada saat selesai bertani didapatkan 94,59% dari responden membersihkan diri dan yang melakukan penjemuran pada sepatu *boots* sebanyak 46,0%. Dapat disimpulkan bahwa masih banyak petani yang kurang menyadari kebersihan APD yang digunakan, dengan dibuktikan masih berkisar 54,0% yang tidak menjemur atau mencuci sepatu *boots* atau APD lainnya.

Dari hasil pengambilan data tersebut menunjukan bahwa sebagian besar sampel dari swab sela jari kaki petani di daerah Nglarangan Bojonegoro positif jamur *Aspergillus* sp. hal ini disebabkan kebanyakan dari mereka para petani kurang menerapkan *personal hygiene*. Pada saat pengambilan sampel banyak yang sudah membersihkan kakinya setelah bertani, tetapi mereka masih membiarkan kaki dalam keadaan basah maupun lembab dalam waktu lama dan mereka salah dalam memberikan salep atau obat. Sehingga dapat tumbuhnya jamur *Aspergillus* sp. dikarenakan kurangnya menjaga kebersihan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa sampel swab sela jari kaki petani di daerah Nglarangan Bojonegoro dari jumlah keseluruhan 37 sampel didapatkan 22 sampel (59,45%) positif jamur *Aspergillus* sp. dan terdapat 15 sampel (40,54%) negatif tidak ditemukan jamur *Aspergillus* sp.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih atas kerja sama dan yang sudah ikut serta berkontribusi dalam penelitian ini

KONFLIK KEPENTINGAN

Untuk mengetahui ada atau tidaknya jamur *aspergillus* sp. pada petani di daerah Nglarangan Bojonegoro

REFRENSI

- Andriani, D. (2019) 'Identifikasi Jamur *Aspergillus* sp Pada Kacang Hijau. Karya Tulis Ilmiah. Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Medika, Jombang.', pp. 1-77.
- Arimurti, A. R. R., Azizah, F., Artanti, D., Samsudin, R. R., Sari, Y. E. S., Purwaningsih, N. V., Rohmayani, V., & Maulidiyanti, E. T. S. (2023). Edukasi

Dan Pelayanan Pemeriksaan Infeksi Jamur Kulit Pada Pekerja Kebersihan Universitas Di Surabaya. *Empowerment: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(1), 36-43. <https://doi.org/10.55983/empjcs.v2i1.361>.

Arimurti, A.R.R. *et al.* (2022) 'Isolasi dan Identifikasi Jamur Dermatofita dan Non Dermatofita Pada Pekerja Kebersihan Di Salah Satu Universitas Di Surabaya', *Prosiding AIPTLMI Kongres Satu Dasawarsa AIPTLMI*, pp. 350-164.

Arimurti, A.R.R. *et al.* (2023) 'Edukasi Dan Pelayanan Pemeriksaan Infeksi Jamur Kulit Pada Pekerja Kebersihan Universitas Di Surabaya', *Empowerment: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(1), pp. 36-43. Available at: <https://doi.org/10.55983/empjcs.v2i1.361>.

Arimurti, A.R.R. *et al.* (2022) 'Isolasi dan Identifikasi Jamur Dermatofita dan Non Dermatofita Pada Pekerja Kebersihan Di Salah Satu Universitas Di Surabaya', *Prosiding AIPTLMI Kongres Satu Dasawarsa AIPTLMI*, pp. 350-164.

Arimurti, A.R.R. *et al.* (2023) 'Edukasi Dan Pelayanan Pemeriksaan Infeksi Jamur Kulit Pada Pekerja Kebersihan Universitas Di Surabaya', *Empowerment: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(1), pp. 36-43. Available at: <https://doi.org/10.55983/empjcs.v2i1.361>.

Ariska, P.E. and Prayitno, B. (2019) 'Pengaruh Umur , Lama Kerja , dan Pendidikan terhadap Pendapatan Nelayan di Kawasan Pantai Kenjeran Surabaya Tahun 2018', *Economie*, 01(1), pp. 38-47.

EFEKTIVITAS MADU 10% SELAMA 20 MENIT SEBAGAI BAHAN ALAMI PENGGANTI ALKOHOL UNTUK FIKSASI SEDIAAN SITOLOGI

Adinda Dwi Ardiningrum¹ · Puji Lestari² · Burhannudin^{3*}

^{1,2,3}Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia

e-mail: burhannudin@poltekkesjakarta3.ac.id

No. Tlp WA: 08976766862

Abstract

The most commonly used fixative solution in cytopathology is alcohol. However, this solution presents several disadvantages, including carcinogenicity, expense, and limited accessibility. Honey represents a potential natural ingredient due to its antibacterial and antioxidant properties, as well as its proven efficacy as a medium for cell fixation. The objective of the latest research is to ascertain whether there are any significant differences in the quality of smear preparations fixed using 96% alcohol and 10% honey. The research design employed was a true experimental posttest only control, utilising 12 pleural fluid samples that were subjected to three treatments: 96% alcohol for 15 minutes, 10% honey for 20 minutes, and 10% honey for 30 minutes. The morphological results of the preparation demonstrated that the three groups yielded identical outcomes. Subsequently, the results of the preparation assessment were subjected to statistical analysis using the Chi-square test, which demonstrated that there was no statistically significant difference between the three treatments ($p=0.894$). The findings indicated that a 10% honey solution for 20 minutes is sufficient to yield cell morphology quality comparable to that achieved through alcohol fixation. Additionally, honey offers several potential advantages over alcohol, including enhanced safety for laboratory personnel, reduced cost, and greater accessibility.

Keywords: Pleural effusion, fixation, alcohol, honey

Abstrak

Larutan fiksatif yang banyak digunakan untuk sitopatologi adalah alkohol, namun memiliki kelemahan, yaitu karsinogenik, mahal, serta tidak dapat diperoleh dengan mudah. Madu merupakan bahan alami yang potensial karena bersifat antibakteri dan antioksidan serta telah terbukti dapat digunakan sebagai media untuk fiksasi sel. Penelitian terbaru bertujuan mengetahui perbandingan hasil dari kualitas sediaan apus yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan madu 10%. Desain penelitian yang digunakan adalah True Experimental Posttest Ony Control dengan menggunakan 12 sampel cairan pleura yang diberi tiga perlakuan, yaitu alkohol 96% selama 15 menit madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Hasil morfologi sediaan menunjukkan ketiga kelompok mendapatkan hasil yang sama. Hasil penilaian sediaan kemudian dianalisis uji statistik dengan Chi-square yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara tiga perlakuan tersebut ($p=0,894$). Madu 10% selama 20 menit sudah cukup untuk menghasilkan kualitas morfologi sel yang setara dengan fiksasi menggunakan alkohol, serta madu lebih aman untuk petugas laboratorium, lebih murah, dan lebih mudah didapatkan.

Kata kunci : Efusi pleura, Fiksasi, Alkohol, Madu

PENDAHULUAN

Sediaan sitologi umum digunakan sebagai bahan pemeriksaan penunjang untuk membantu diagnosis penyakit. Salah satu spesimen sitologi yang sering dilakukan pemeriksaan adalah cairan pleura. Cairan pleura diperoleh dari adanya efusi pleura. Efusi pleura merupakan suatu kondisi adanya cairan pleura yang menumpuk di dalam rongga pleura. Adanya efusi pleura disebabkan karena produksi cairan dan penyerapan kembali cairan pleura yang tidak seimbang. Estimasi prevalensi efusi pleura adalah 0,32%. Di negara berkembang, efusi pleura akibat *tuberculosis* dan *parapneumonic* sering ditemukan (Dwianggita, 2016). Penegakan diagnosis etiologi terjadinya efusi pleura dapat dilakukan berdasarkan anamnesa, pemeriksaan fisik, foto toraks, torakosentesis, dan pemeriksaan sitopatologi. Pemeriksaan sitopatologi melibatkan beberapa proses, yaitu: sentrifugasi, fiksasi, pewarnaan, *mounting*, dan pembacaan sediaan secara mikroskopis.

Proses fiksasi berperan penting dalam pemeriksaan sitopatologi. Tujuan utama dari fiksasi yaitu untuk mempertahankan keadaan sel seperti saat sel tersebut dalam keadaan hidup, mencegah pembusukan oleh bakteri, serta mencegah autolisis. Reagen fiksasi rutin yang umum digunakan di laboratorium adalah alkohol 96%, namun alkohol memiliki beberapa kelemahan yaitu mudah terbakar, mudah menguap, serta harga yang relatif mahal (Aggarwal *et al.*, 2022). Diperlukan volume 100 mL untuk fiksasi sediaan sitologi. Estimasi perbandingan harga untuk alkohol yaitu sekitar Rp5.000 per hari, sedangkan untuk madu 10% sekitar Rp3.064 per hari. Alkohol juga diklasifikasikan oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) sebagai Grup 1 karsinogenik, yaitu zat atau senyawa yang dapat menyebabkan kanker pada manusia.

Mengingat bahaya dari penggunaan alkohol, maka dilakukan upaya untuk menggantikan alkohol dengan bahan alternatif alami yang lebih aman. Madu telah terbukti dapat digunakan sebagai agen untuk mencegah autolisis dan pembusukan. Hasil penelitian Hassan *et al* (2023) menyebutkan bahwa penggunaan madu 10% selama 15 menit belum memberikan hasil yang maksimal untuk memfiksasi sampel swab mukosa mulut (Hassan *et al.*, 2023). Oleh karena itu, dalam penelitian tersebut direkomendasikan untuk menambah waktu fiksasi. Penelitian juga dilakukan oleh Sabarinath *et al* (2020), dengan hasil disimpulkan bahwa penggunaan madu 10%

selama 30 menit mampu memfiksasi sampel swab mukosa mulut dengan baik (Sabarinath *et al.*, 2020). Penggunaan waktu selama 30 menit dinilai cukup lama, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan waktu diantara 15 sampai 30 menit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dicoba untuk melakukan fiksasi dengan madu 10% dengan waktu 20 menit dan 30 menit.

BAHAN DAN METODE

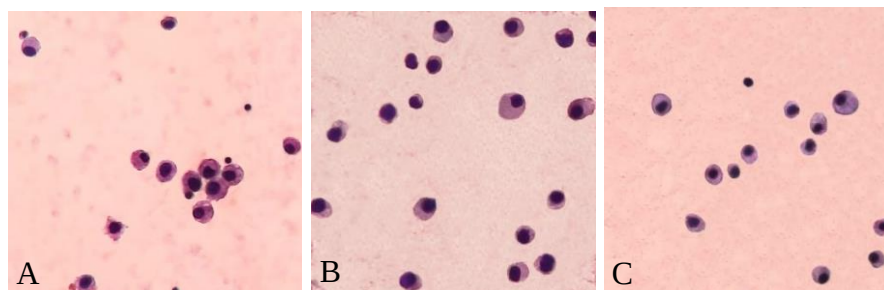
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *centrifuge* Nuve NF 200, tabung *centrifuge*, kaca objek, label, pensil, *deck glass*, pipet tetes, dan mikroskop Olympus CX12. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan pleura, alkohol 96%, madu (merk Uray), aquades, pewarna *Harris Hematoxylin*, OG-6, EA-50, *Xylol*, dan entelan.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *True Experimental Posttest Only Control*. Sampel yang digunakan berupa cairan pleura dari RSUD di wilayah Jakarta yang diproses menjadi sediaan apus. Sebanyak 12 sampel cairan pleura diberi tiga perlakuan fiksasi yang berbeda, yaitu: menggunakan alkohol 96% selama 15 menit, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Sampel yang di fiksasi dengan alkohol 96% selama 15 menit dijadikan sebagai kontrol. Sampel cairan pleura di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Dibuang supernatan, kemudian dilakukan homogenisasi dengan cara sedot sempul pada endapan menggunakan pipet tetes. Dipipet endapan, kemudian endapan dibuat apusan pada tiga buah kaca objek. Sediaan difiksasi dengan tiga perlakuan berbeda, yaitu: alkohol 96% selama 15 menit, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Setelah difiksasi, sediaan dilakukan pewarnaan Papanicolaou. Sediaan apus cairan pleura yang sudah dilakukan pewarnaan kemudian dilakukan penilaian oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi menggunakan skoring dengan parameter dan kriteria yang merujuk pada penelitian sebelumnya (Priyadarshi *et al.*, 2022). Data yang diperoleh akan dilakukan uji *Chi-square*.

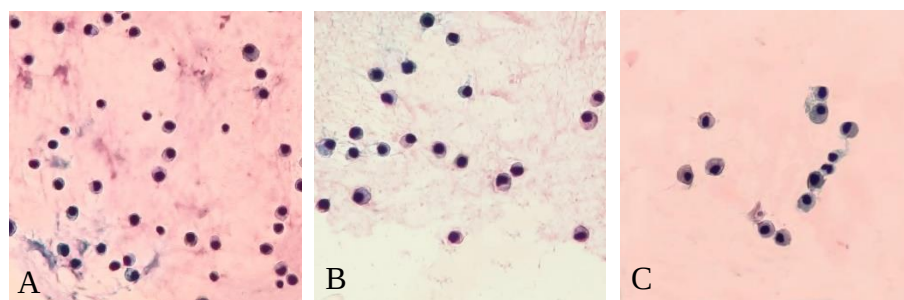
HASIL

Penelitian ini menggunakan sebanyak 36 sediaan apus cairan pleura. Hasil gambaran mikroskopis sediaan apus cairan pleura menghasilkan kualitas yang tidak jauh berbeda antara sediaan yang difiksasi menggunakan alkohol 96% selama 15

menit dengan madu 10% selama 20 menit dan 30 menit yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Perbandingan Hasil Pewarnaan pada Kelompok Perlakuan Fiksasi dengan Kategori Baik (Skor 5): (A) Fiksasi alkohol 96% selama 15 menit; (B) Fiksasi madu 10% selama 20 menit; (C) Fiksasi madu 10% selama 30 menit.



Gambar 2. Perbandingan hasil pewarnaan pada Kelompok Perlakuan Fiksasi dengan kategori Cukup (Skor 4). (A) Fiksasi Alkohol 96% selama 15 menit. (B) Fiksasi Madu 10% selama 20 menit. (C) Fiksasi Madu 10% selama 30 menit.

Gambar 1 menunjukkan gambaran mikroskopis sediaan apus cairan pleura yang diproses dengan berbagai cairan fiksasi. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa morfologi sel jelas, inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, serta pewarnaan keseluruhan sel merata. Sedangkan pada Gambar 2 memperlihatkan hasil bahwa morfologi sel jelas, inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, namun pewarnaan pada sel kurang seragam. Perbedaan kualitas hasil pewarnaan digambarkan dalam bentuk skoring. Skoring pada seluruh sediaan apus dilakukan setelah pengamatan secara mikroskopis oleh dokter Patologi Anatomi berdasarkan penelitian sebelumnya (Priyadarshi et al., 2022). Distribusi frekuensi hasil skoring pada sediaan apus cairan pleura yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan madu 10% selama 20 menit mendapatkan hasil yang sama, yaitu sebanyak 5 sediaan dengan kategori cukup (41,7%) dan 7 sediaan dengan kategori baik (58,3%). Sedangkan pada fiksasi

menggunakan madu 10% selama 30 menit didapatkan sebanyak 6 sediaan dengan kategori cukup (50%) dan 6 sediaan dengan kategori baik (50%).

Hasil skoring diuji statistik menggunakan uji *Chi-square* dan didapatkan hasil *p-value* 0,894 yang artinya tidak terdapat perbedaan signifikan pada kualitas sediaan apus cairan pleura difiksasi dengan alkohol 96% maupun yang difiksasi dengan madu 10% (20 dan 30 menit).

Tabel 1. Hasil Uji *Chi-square*

No.	Kelompok Fiksasi	Kualitas Sediaan			Total	<i>p-value</i>
		Tidak Baik	Cukup	Baik		
1.	Alkohol 96% 15 menit	0	5 (41,7%)	7 (58,3%)	12	0,894
2.	Madu 10% 20 menit	0	5 (41,7%)	7 (58,3%)	12	
3.	Madu 10% 30 menit	0	6 (50%)	6 (50%)	12	
Total		0	16	20	36	

DISKUSI

Tahapan fiksasi menjadi tahapan yang sangat penting untuk mempertahankan sel seperti saat sel tersebut dalam kondisi hidup. Tahapan fiksasi pada sampel sitologi dilakukan dengan perendaman langsung sediaan apus ke dalam reagen fiksatif untuk menjaga karakteristik biokimia dan morfologi sel, karena hal ini sangat penting untuk pemeriksaan mikroskopis dan interpretasi diagnostik (Quintana *et al.*, 2019). Berkaitan dengan bahaya penggunaan alkohol 96% sebagai reagen fiksatif, maka banyak dilakukan uji coba terhadap bahan-bahan alami sebagai pengganti alkohol 96%. Bahan fiksasi alami yang direkomendasikan dan telah dilakukan uji coba adalah madu. Madu mengandung gula sebanyak 95-99% (glukosa dan fruktosa). Madu bersifat antibakteri dan anti oksidatif yang melekat karena osmolaritas yang tinggi, pH rendah, serta terdapat komponen seperti asam askorbat, hidrogen peroksida dan fenol inhibine. Vitamin-vitamin yang terdapat dalam madu adalah thiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), niasin, asam pantotenat, biotin, asam folat, dan vitamin K. Enzim yang terdapat dalam madu adalah enzim diastase, katalase, invertase, glukosa oksidase, peroksidase, dan lipase (Singh *et al.*, 2015). Madu memiliki pH rendah sekitar 3,2-4,5 yang disebabkan oleh keberadaan asam organik seperti asam sitrat, asam laktat, dan asam amino. Asam-asam ini dapat

berkontribusi dalam pembunuhan mikroorganisme dan mempertahankan kondisi yang cocok untuk fiksasi sel. Madu dapat dijadikan sebagai pengganti fiksatif alkohol karena terdapat kesamaan kandungan dengan alkohol yaitu aldehid. Dalam madu, fruktosa dengan pH rendah akan terurai menjadi aldehid, kemudian berikatan silang dengan asam amino pada sel yang mengarah ke proses fiksasi sel. Dalam keadaan pH rendah juga, satu molekul glukosa dan fruktosa yang terkandung dalam madu akan terurai menjadi dua molekul, yaitu ethanol dan karbon dioksida (Pandiar *et al.*, 2017).

Madu sebagai bahan fiksasi alternatif untuk sediaan sitologi yang telah dilakukan uji coba dan menghasilkan kualitas mikroskopis sediaan yang setara dengan hasil fiksasi menggunakan alkohol 96%. Dalam penelitian ini juga telah dibuktikan bahwa hasil mikroskopis sediaan apus cairan pleura yang dilakukan fiksasi menggunakan madu 10% dengan waktu 20 menit dan 30 menit menghasilkan kualitas sediaan yang tidak jauh berbeda dengan sediaan yang difiksasi dengan alkohol 96%. Gambaran kualitas sediaan apus cairan pleura yang dihasilkan adalah: inti sel dan sitoplasma terlihat utuh dan jelas, tidak ada sel yang hancur atau terlipat, serta seluruh sel terwarnai.

Hasil uji *Chi-square* didapatkan kesimpulan tidak ada perbedaan signifikan antara kualitas sediaan apus cairan pleura yang difiksasi dengan alkohol dan madu. Dalam hal ini, fiksasi madu 10% selama 20 menit sudah cukup baik untuk menggantikan alkohol 96% selama 15 menit dan madu 10% selama 30 menit, sehingga penggunaan waktu 20 menit dapat lebih menghemat waktu (efisiensi waktu).

Kendala yang dialami dalam penelitian ini adalah daya rekat sel terhadap kaca objek kurang baik pada madu yang membuat sel menjadi luntur. Solusi yang dilakukan oleh peneliti adalah: setelah cairan pleura diapus pada permukaan kaca objek, lalu kaca objek terlebih dahulu didiamkan selama sekitar 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif madu 10%. Walaupun sedikit berbeda dengan prosedur fiksasi basah, tetapi dengan cara tersebut dapat mempertahankan sel tetap menempel pada kaca objek dan tidak menyebabkan terjadinya perubahan kondisi sel pada sediaan, sehingga kualitas pewarnaan tetap baik. Selain itu, penggunaan pengeringan tetap mampu mempertahankan hasil sediaan apusan yang baik sebagaimana ditunjukkan pada hasil penelitian.

KESIMPULAN

Dari hasil skoring sediaan apus cairan pleura yang difiksasi dengan alkohol 96%, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada kualitas gambaran morfologi sel, sehingga madu 10% selama 20 menit dapat digunakan sebagai bahan alternatif fiksasi yang lebih aman. Penggunaan madu 10% selama 20 menit juga dapat lebih efisien dalam segi waktu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyatakan ucapan terimakasih kepada Michael Alfian Grey selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) yang telah mendampingi selama pengerjaan di laboratorium Sitohistoteknologi Poltekkes Kemenkes Jakarta III, serta dr. Retno Widyawati, Sp.PA dan dr. Tati Herdawati, Sp.PA yang telah berkenan membantu mengamati sediaan sitologi di mikroskop dan sekaligus memberikan penilaian (skoring) terhadap hasil pembacaan tersebut.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Aggarwal, M., Sharma, M., Karthikeyan, R., Kumar, M., Chawla, G., & Tyagi, V. (2022). A comparative study of honey , jaggery an ethanol as cytological fixatives. *International Journal of Health Sciences*, 6(March), 3902-3914. <https://sciencescholar.us/journal/index.php/ijhs/article/view/6651>
- Dwianggita, P. (2016). *Etiologi Efusi Pleura pada Pasien Rawat Inap di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar, Bali Tahun 2013*. 7(1). <https://isainsmedis.id/index.php/ism/article/view/10>
- Fitri Dewi Ismida, Budi Yanti, Cut Asmaul Husna, Istanul Badiri, R. K. Kamarlis. (2022). Profil Sitologi Efusi Pleura di RSUD Zainoel Abidin Banda Aceh Profil Sitologi Efusi Pleura di RSUD Zainoel Abidin Banda Aceh. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 21, 121-124. <https://jurnal.usk.ac.id/JKS/article/view/23805>
- Hassan, E., Osman, A., Abdalrhman, T., & Kamal, M. (2023). The Efficacy of the Bees Honey as Alternative for Routine Ethyl Alcohol in Cytological Fixation : Cross _ Sectional Study. *International Journal of Innovative Science and Research*

- Technology*, 8(2), 2044-2050. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7735441>
- Pandiar, D., Baranwal, H. C., Kumar, S., Ganesan, V., & Sonkar, P. K. (2017). Use of jaggery and honey as adjunctive cytological fixatives to ethanol for oral smears. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21. https://doi.org/10.4103%2Fjomfp.JOMFP_224_15
- Priyadarshi, A., Kaur, R., & Issacs, R. (2022). Honey as a Cytological Fixative : A Comparative Study With 95 % Alcohol. *Cureus*, 14(8), 1-11. <https://doi.org/10.7759/cureus.28149>
- Quintana, S. B. S., Carvalho, F. L., Silva, G. R. F., Campos, M. B. T., Maia, M. C. S., Araújo, M. L. C., & Quintana, M. S. B. (2019). Comparative evaluation of the quality of Papanicolaou staining at different intervals of fixation times using 96% ethyl alcohol. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 55(1), 50-56. <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/BP8yYqk8gVy5GMpMDLhCQRS/#>
- Sabarinath, B., Sundararaman, P., & Sundharam, S. (2020). Honey As A Cytological Fixative : A Comparative Study. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(9), 7-12.
- Singh, A., Hunasgi, S., Koneru, A., Vanishree, M., Ramalu, S., & Manvikar, V. (2015). Comparison of honey with ethanol as an oral cytological fixative : A pilot study. *Journal of Cytology*, 32(2), 113-117. <https://doi.org/10.4103/0970-9371.160563>

UJI SITOTOKSIK FRAKSI EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*

Nurpada Ulang^{1*} · Nurhilaliyah² · Risky Nurul Fadlila RN³

^{1,2,3} Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail: nurpadaulang@gmail.com

No Tlp WA : 082345895498 / 085696019404

Abstract

Breast cancer occurs due to be abnormal cell growth in the breast tissue. The prevalence of breast cancer cases is reported to increase every year. One form of cancer treatment is chemotherapy, but chemotherapy has side effects for patients, prompting the use of alternative treatments to minimize these effects, such as utilizing plants, including avocado seeds (*Persea americana* Mill.). Based on phytochemical screening, avocado seeds contain secondary metabolites like tannins, saponins, and flavonoids, which have anticancer properties. This study aims to determine the cytotoxic effects of ethanol extract fractions of avocado seeds and at what concentrations these fractions provide inhibitory effects on the growth of MCF-7 breast cancer cells. The study used an experimental laboratory research design with avocado seeds extracted using 90% ethanol, followed by fractionation using ethyl acetate. Cytotoxic tests were conducted using the Microculture Tetrazolium Technique Assay (MTT assay). The results showed that ethyl acetate fractions, which IC_{50} values of 108.497 ± 21.835 ppm (moderate cytotoxic effect) at 24 hours incubation and IC_{50} values of 75.926 ± 18.686 ppm (strong cytotoxic effect) at 48 hours incubation. It can be concluded that ethanol extract fractions of avocado seeds have potential as MCF-7 anticancer agents.

Keywords : MTT assay, *Persea americana* Mill., MCF-7 Cells, Cytotoxic

Abstrak

Kanker payudara terjadi akibat sel-sel payudara yang tidak normal tumbuh di luar kendali. Prevalensi kasus kejadian kanker payudara dilaporkan meningkat setiap tahunnya. Salah satu bentuk upaya penatalaksanaan kanker payudara adalah dengan kemoterapi, namun kemoterapi memiliki efek samping bagi penderita sehingga digunakan pengobatan alternatif untuk meminimalisir efek tersebut dengan memanfaatkan tanaman, salah satunya biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Berdasarkan skrining fitokimia, biji alpukat mengandung metabolit sekunder tanin, saponin, dan flavonoid yang bersifat antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik fraksi ekstrak etanol biji alpukat dan pada konsentrasi berapa fraksi ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek penghambatan terhadap perkembangan sel kanker payudara MCF-7. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen laboratorium menggunakan sampel biji alpukat yang diekstrak menggunakan etanol 96%, kemudian dilanjutkan fraksinasi menggunakan etil asetat. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode *Microculture Tetrazolium Technique Assay* (MTT assay). Hasil yang diperoleh fraksi etil asetat mampu menghambat perkembangan sel MCF-7 paling baik dibandingkan dengan fraksi air dengan nilai IC_{50} $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik kategori sedang selama inkubasi 24 jam dan IC_{50} $75,926 \pm 18,686$ ppm pada masa inkubasi 48 jam menunjukkan efek sitotoksik yang kuat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi ekstrak etanol biji alpukat berpotensi sebagai antikanker MCF-7.

Kata Kunci : MTT assay, *Persea americana* Mill., Sel MCF-7, Sitotoksik

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang menjadi penyumbang kematian nomor satu di dunia. Kanker dapat terjadi karena pertumbuhan sel yang tidak normal dan terbentuk karena adanya mutasi genetik, yang disebabkan oleh faktor keturunan, gaya hidup, dan karsinogenik. Kanker dapat terjadi pada pria maupun wanita. Pembentukan sel kanker di dalam tubuh terjadi ketika radikal bebas mengganggu produksi DNA, sehingga elektron DNA berkurang dan menyebabkan perubahan struktur DNA yang menjadi pemicu terbentuknya sel-sel mutan. Sel-sel mutan tersebut akan bermutasi dan jika berlangsung lama dapat menjadi kanker. Kanker yang sering terjadi pada wanita adalah kanker payudara (Kusmardika, 2020).

Menurut data GLOBOCAN pada tahun 2020, tercatat sebanyak 2.261.419 (11,7%) kasus kanker payudara dengan angka kematian lebih dari 600.000 jiwa di seluruh dunia. Prevalensi kasus kejadian kanker payudara dilaporkan meningkat setiap tahunnya. Sedangkan di Indonesia, tercatat sebanyak 65.858 (16,6%) kasus dengan angka kematian lebih dari 22.000 jiwa (GLOBOCAN, 2020).

Salah satu bentuk upaya penatalaksanaan kanker payudara adalah dengan kemoterapi. Namun, kemoterapi memiliki efek samping diantaranya dapat membunuh sel-sel yang normal, menyebabkan kerontokan rambut, dan gangguan pada organ lain (Prasetyo & Suprayitno, 2021). Selain itu, kemoterapi juga dapat berdampak terhadap aspek psikologis pasien, diantaranya timbul rasa cemas, sedih, emosional yang berlebihan, keputusan, penurunan rasa percaya diri hingga menyebabkan stres dan berujung depresi (Agustina dkk., 2020).

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah dan dapat tumbuh di daerah tropis. Semua bagian alpukat mulai dari buah, kulit, hingga biji alpukat dapat digunakan sebagai obat. Dalam kehidupan sehari-hari, masyarakat hanya mengonsumsi daging buah alpukat, padahal mulai dari daun, kulit, akar, hingga bijinya dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Kopon dkk., 2020).

Berdasarkan pengujian secara fitokimia yang dilakukan oleh Risma dkk. (2023), biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan sitotoksik senyawa antioksidan yaitu flavonoid. Sitotoksik merupakan senyawa yang dapat merusak dan menyebabkan kematian pada sel, seperti alkaloid, tanin, saponin, terpenoid,

fenolik, dan flavonoid (Ambarwati & Rustiani, 2022). Antioksidan yang terkandung di dalamnya berperan dalam mencegah dan menghilangkan efek radikal bebas serta flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antimikroba, dan antikanker (Risma dkk., 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Widiyastuti dkk., (2018) menggunakan sampel biji alpukat yang diekstrak menggunakan kloroform dan dilanjutkan fraksinasi metanol dengan metode MTT assay, diperoleh hasil bahwa fraksi metanol biji alpukat berpotensi untuk menginduksi apoptosis dan sebagai antiproliferasi terhadap garis sel MCF-7.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul ‘Uji Sitotoksik Fraksi Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara *In Vitro*’ menggunakan metode mikroskopik untuk melihat apoptosis dan MTT assay untuk mengetahui tingkat toksisitas fraksi terhadap sel.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji alpukat, etanol 96%, aluminium foil, kain saring, kertas saring, aquadest waterone, etil asetat, tisu, FeCl₃, HCl 2N, serbuk magnesium, amil alkohol, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendorff, pereaksi wagner, biakan sel MCF-7 dalam flask 50, PBS 10%, FBS, Amphotericin B, Pen Strep Penicillin Streptomycin, medium kultur DMEM, tip 1000 µL, tip 100 µL, tip 10 µL, trypsin EDTA, tabung eppendorf, dan trypan blue. Populasi pada penelitian ini adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Sampel dalam penelitian ini adalah fraksi ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan variasi konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Adapun tahapan penelitian ini diantaranya:

a. Penyiapan sampel

Sampel penelitian merupakan limbah biji alpukat yang diperoleh dari Pedagang Jus Buah, daerah Pasar Cidu Makassar. Biji alpukat dibersihkan dan dikupas bagian kulit bijinya, kemudian dicuci sampai bersih dan diparut. Selanjutnya, dikering anginkan di dalam ruangan dan setelah kering dihaluskan menggunakan blender kemudian disaring.

b. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat

Biji alpukat diekstrak dengan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak kental biji alpukat. Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam toples kaca. Setelah itu, ditambahkan 1,5 liter etanol 96% hingga simplisia terendam dan didiamkan selama 3×24 jam dengan diaduk 1 kali per hari. Kemudian, disaring menggunakan kain saring dan diremaserasi selama 24 jam. Hasil remaserasi disaring menggunakan kain saring dan disatukan semua filtrat. Setelah itu, disaring kembali menggunakan kertas saring. Hasil saringan kemudian diuapkan menggunakan *rotary* evaporator sampai seluruh pelarut menguap dan dianginkan selama ± 2 hari untuk mendapatkan ekstrak kental.

c. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol biji alpukat

Ekstrak kental biji alpukat sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL pelarut air. Selanjutnya, dilakukan pemisahan larutan dengan cara ditambahkan 100 mL etil asetat dan dihomogenkan. Kemudian, didiamkan selama 30-60 menit. Selanjutnya, dipisahkan lapisan yang terbentuk yaitu lapisan atas (etil asetat) dan lapisan bawah (ekstrak-air). Fraksi yang diperoleh diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C dan dianginkan selama 24 jam hingga diperoleh fraksi kental.

d. Uji tanin

Uji senyawa tanin dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest dan dididihkan selama 15 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 . Ekstrak positif mengandung senyawa tanin apabila terbentuk warna ungu atau hijau, biru hingga hitam.

e. Uji saponin

Uji senyawa saponin dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat dikocok kuat secara vertikal hingga terdapat busa, selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Ekstrak positif mengandung senyawa saponin apabila busa setinggi ± 1 cm bertahan selama 5 menit.

f. Uji flavonoid

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan

dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 100 mg serbuk magnesium, 2 mL HCl 2N dan dipanaskan. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat ditambahkan 3 tetes Amil alkohol dan dikocok kuat. Ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid apabila timbul warna merah atau kuning atau jingga di lapisan alkohol.

g. Uji alkaloid

Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan cara dimasukkan 1 gram ekstrak kental ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL aquadest dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL aquadest, 1 mL HCl 2N dan dipanaskan selama 2 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, filtrat dibagi ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL.

- 1) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Bouchardat*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam.
- 2) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorff*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk warna merah atau jingga.
- 3) Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi *Wagner*. Ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna coklat.

h. Pengenceran fraksi ekstrak etanol biji alpukat

Fraksi air dan etil asetat masing-masing ditimbang sebanyak 0,01 gram dan dilarutkan dalam pelarut DMSO sebanyak 100 μ L dan 900 μ L medium kultur untuk mendapatkan larutan stok dengan konsentrasi 10.000 ppm. Setelah itu, dibuat seri konsentrasi fraksi yang terdiri dari 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, dan 31,25 ppm.

i. Pembuatan medium kultur

Medium kultur dibuat dengan cara dimasukkan 5 mL FBS ke dalam *conical tube*. Setelah itu, ditambahkan 250 μ L antifungi *Amphotericin B* dan 250 μ L antibiotik *Pen Strep Penicillin Streptomycin*. Kemudian, dicukupkan menggunakan DMEM hingga mencapai 50 mL dan dihomogenkan dengan cara dibolak balik.

j. Kultur sel kanker payudara MCF-7

Suspensi sel yang terdapat dalam *flask* dicuci terlebih dahulu dengan cara dibuang medium dan dimasukkan 2 mL PBS steril, digoyangkan bagian dasar dan dibuang PBS, pencucian dilakukan sebanyak 2 kali. Setelah itu, dimasukkan medium DMEM sebanyak 6 mL dan diinkubasi di dalam inkubator CO₂ 5%. Sel dipelihara di

dalam *flask* hingga mencapai pertumbuhan >80% dan diamati di mikroskop. Setelah sel mencapai populasi 80%, dilakukan panen sel dengan cara dicuci menggunakan PBS sebanyak 2 kali, kemudian dimasukkan 500 μ L *trypsin* EDTA untuk melepaskan perlekatan sel dari dinding *flask*. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam inkubator suhu 27°C selama 5 menit dan diamati di mikroskop untuk memastikan bahwa sel sudah tidak melekat di dinding dasar *flask*. Setelah itu, ditambahkan medium kultur sebanyak 3 mL dan digoyangkan untuk inaktivasi *trypsin* EDTA dan dipindahkan suspensi sel ke *conical tube* yang baru untuk disentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Terbentuk endapan setelah disentrifugasi berwarna putih yang merupakan sel MCF-7, dipindahkan supernatan ke dalam *flask* dan endapan sel MCF-7 ditambahkan 1 mL medium kultur DMEM, dihomogenkan. Terakhir dihitung sel panen dengan cara dipipet suspensi sel sebanyak 10 μ L dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, kemudian ditambahkan 10 μ L *Trypan blue* dan dihomogenkan. Setelah itu diambil suspensi sebanyak 10 μ L dan dimasukkan ke kamar hitung, dan dihitung sel seperti menghitung leukosit 4 x 16 (4 kotak besar di tepi, 16 kotak kecil di dalamnya). Sel yang dihitung adalah sel hidup yang terlihat seperti bintik bercahaya, karena *Trypan blue* hanya mewarnai sel yang mati atau rusak.

k. Uji sitotoksik dengan metode *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) Assay

Proses penanaman sel pada *well* dilakukan dengan memipet suspensi sel dari 1 mL sebanyak 660 μ L dan dimasukkan ke dalam *conical tube*, kemudian ditambahkan 9.840 μ L medium kultur DMEM dan dihomogenkan. Selanjutnya, didistribusikan sel ke tiap *well* untuk masing-masing pengujian dan dilakukan secara triplo (15 *well* untuk uji fraksi air, 15 *well* untuk fraksi etil asetat, 3 *well* untuk masing-masing kontrol sel dan kontrol medium). Penanaman sel uji dilakukan untuk 3 waktu (24 jam, 48 jam, dan 72 jam), lalu diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator CO₂ 5% suhu 37°C. Setelah 24 jam, dibuang medium pada *well* dan didistribusikan variasi konsentrasi fraksi ke masing-masing *well* sesuai dengan perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi, selanjutnya diinkubasi di inkubator CO₂ 5%.

Perlakuan untuk uji 24 jam dicuci sel menggunakan PBS untuk menghilangkan komponen pengganggu, kemudian ditambahkan 100 μ L medium kultur untuk menyamaratakan warna, ditambahkan 10 μ L reagen MTT assay dan diinkubasi selama 4 jam di inkubator CO₂ 5%. Setelah 4 jam, didokumentasikan formazan yang

terbentuk baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Selanjutnya, ditambahkan 100 μ L SDS 10% untuk menghentikan reaksi formazan, lalu dibungkus *well* menggunakan aluminium foil untuk inkubasi selama 24 jam di suhu ruang. Setelah 24 jam, intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm. Data absorbansi yang diperoleh dihitung nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) dari hasil hambatan proliferasi sel 50% dan tingkat sitotoksik pada sel. Prosedur perlakuan untuk uji 48 jam sama dengan uji 24 jam.

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini bersumber dari data primer yang diperoleh berdasarkan pengamatan terhadap viabilitas sel kanker payudara MCF-7 sebelum dan sesudah perlakuan, baik secara mikroskopik dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan *ELISA reader*. Kemudian, dibuat perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Nilai absorbansi yang diperoleh diolah untuk mengetahui persentase inhibisi kemudian ditentukan nilai IC_{50} menggunakan aplikasi *GraphPad*. Selanjutnya, data disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan dinarasikan.

HASIL

1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Alpukat



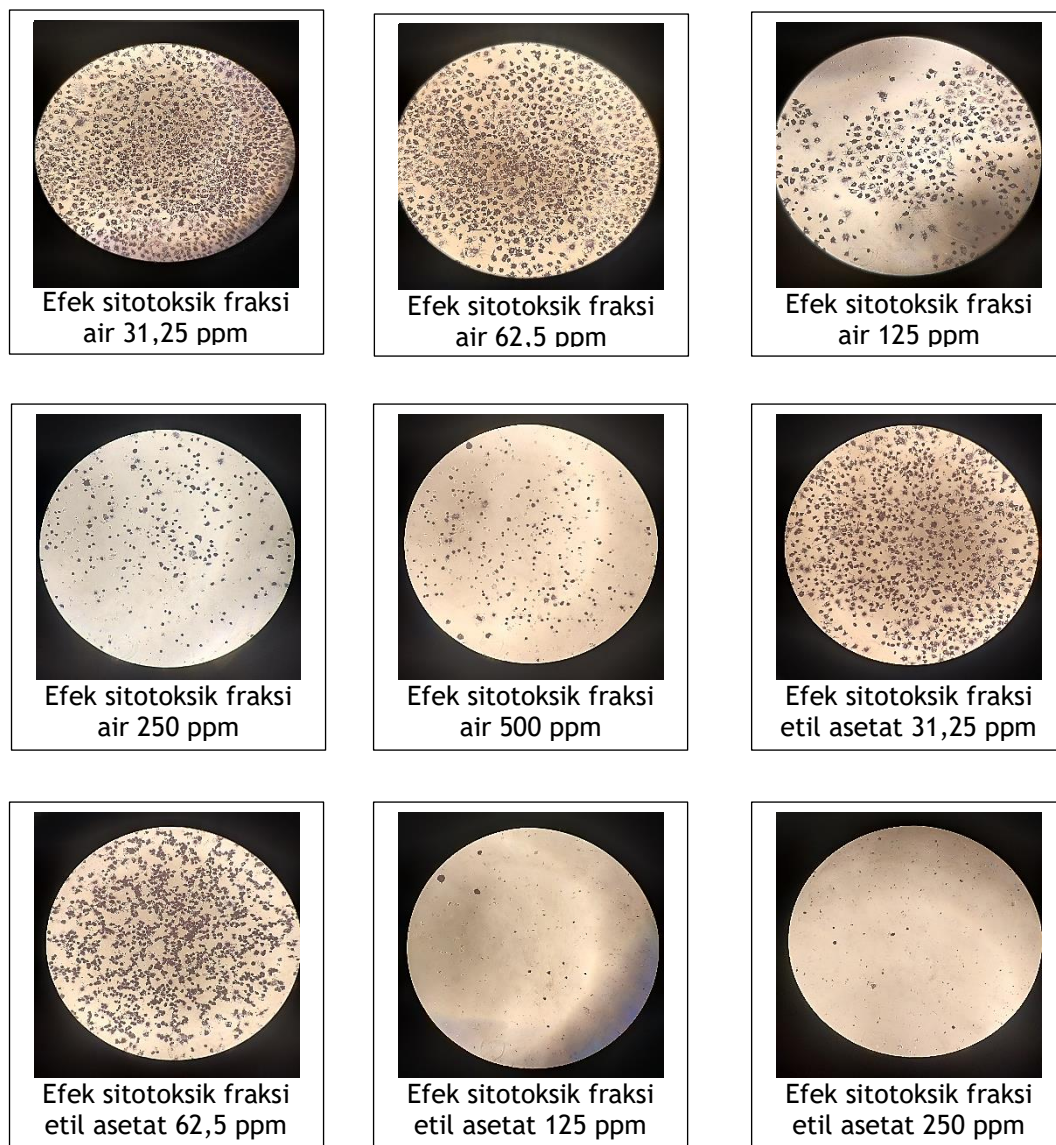
Gambar 1. Hasil Skrining Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Alpukat

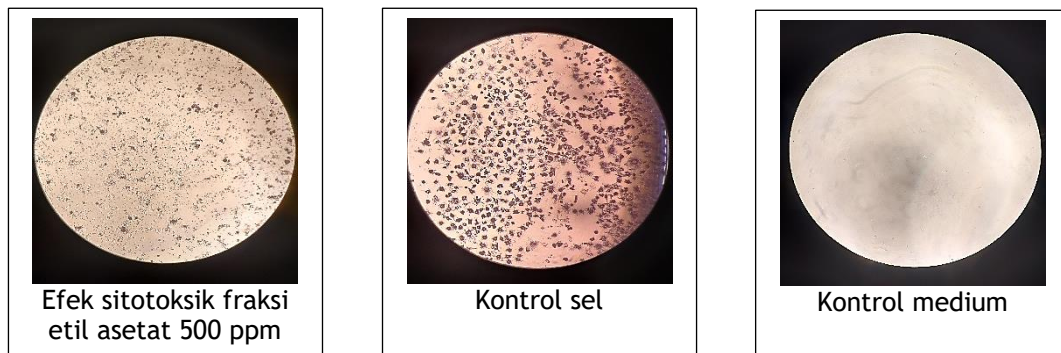
Tabel 1. Hasil Skrining Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Alpukat

Senyawa	Hasil
Tanin	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Alkaloid pereaksi <i>Bouchardat</i>	-
Alkaloid pereaksi <i>Dragendorff</i>	-
Alkaloid pereaksi <i>Wagner</i>	-

Berdasarkan Gambar 1. dan Tabel 1., metabolit sekunder yang positif terkandung di dalam biji alpukat setelah dilakukan skrining fitokimia diantaranya senyawa tanin karena terjadi perubahan warna menjadi hitam, senyawa saponin karena busa tidak hilang selama 5 menit setelah ditambahkan pereaksi, dan senyawa flavonoid karena timbul warna merah pada lapisan alkohol. Sedangkan pada uji alkaloid menggunakan pereaksi *Bouchardat*, *Dragendorff*, dan *Wagner* didapatkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna.

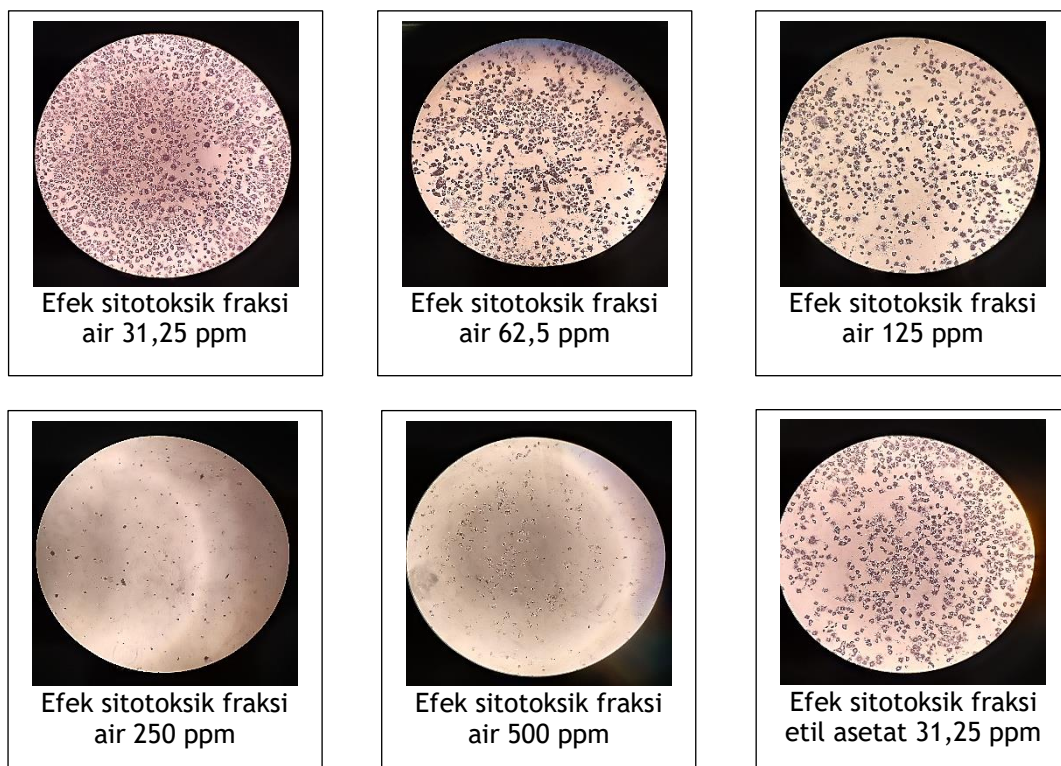
2. Hasil Uji Mikroskopik Sel MCF-7

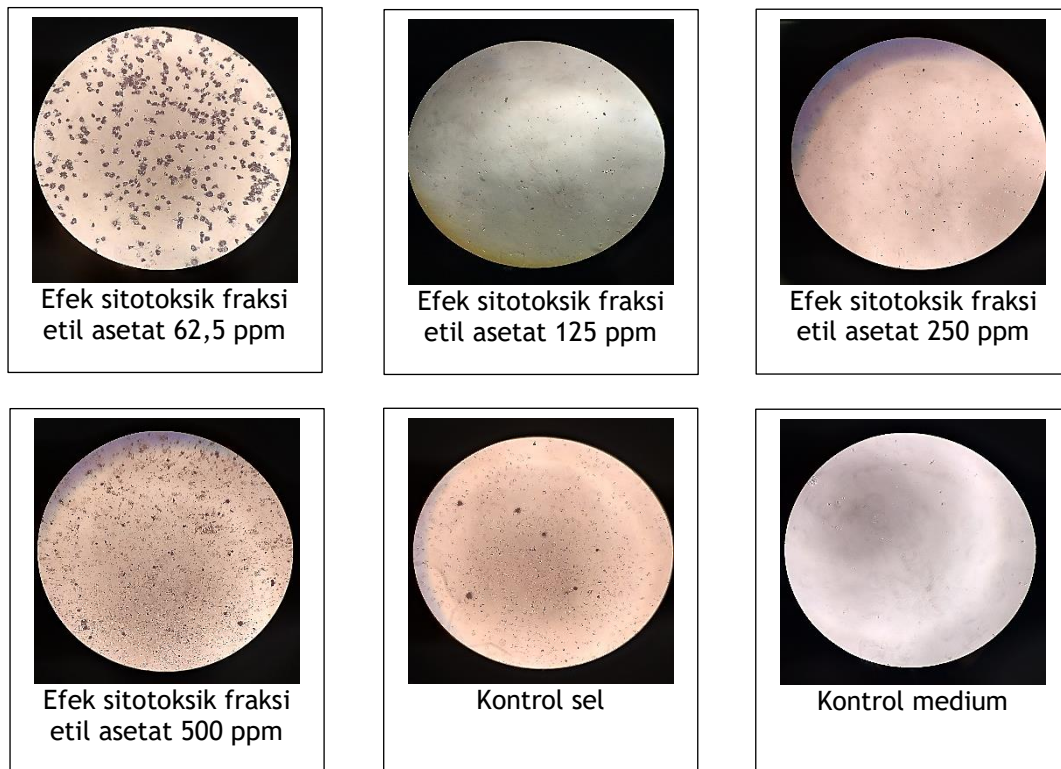




Gambar 2. Hasil Pengamatan Viabilitas Sel MCF-7 untuk Uji 24 Jam

Berdasarkan Gambar 2. untuk uji 24 jam, fraksi air yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm dimana formazan yang terbentuk sangat banyak, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 500 ppm dimana hanya sedikit formazan yang terbentuk. Fraksi etil asetat yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 125 ppm.





Gambar 3. Hasil Pengamatan Viabilitas Sel MCF-7 untuk Uji 48 Jam

Berdasarkan Gambar 3. untuk uji 48 jam, fraksi air yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 500 ppm. Fraksi etil asetat yang memiliki efek sitotoksik terkecil berada pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan efek sitotoksik terbesar berada pada konsentrasi 250 ppm

3. Persentase Inhibisi Fraksi

Tabel 2. Persentase Inhibisi Fraksi Air Selama 24 Jam

Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			Mean
	I	II	III	
31,25	-150	-150	-73	-124
62,5	-154	-140	-70	-121
125	-33	-139	-52	-75
250	46	56	65	55
500	69	80	83	77

Berdasarkan Tabel 2., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi air selama 24 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -124, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu sebanyak 77%.

Tabel 3. Persentase Inhibisi Fraksi Etil Asetat Selama 24 Jam

Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			<i>Mean</i>
	I	II	III	
31,25	-32	-83	-49	-54
62,5	2	-17	39	8
125	98	94	99	97
250	95	94	96	95
500	57	-8	33	28

Berdasarkan Tabel 3., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi etil asetat selama 24 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -54, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 125 ppm yaitu sebanyak 97%.

Tabel 4. Persentase Inhibisi Fraksi Air Selama 48 Jam

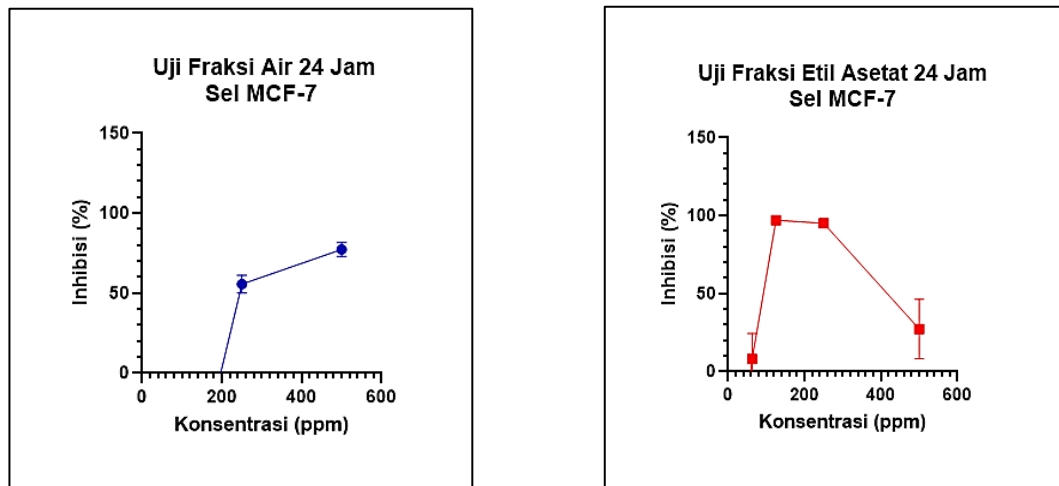
Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			<i>Mean</i>
	I	II	III	
31,25	-97	-146	-117	-120
62,5	-107	-122	-92	-107
125	-94	-93	-84	-90
250	91	101	93	95
500	94	102	96	97

Berdasarkan Tabel 4., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi air selama 48 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -120, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu sebanyak 97%.

Tabel 5. Persentase Inhibisi Fraksi Etil Asetat Selama 48 Jam

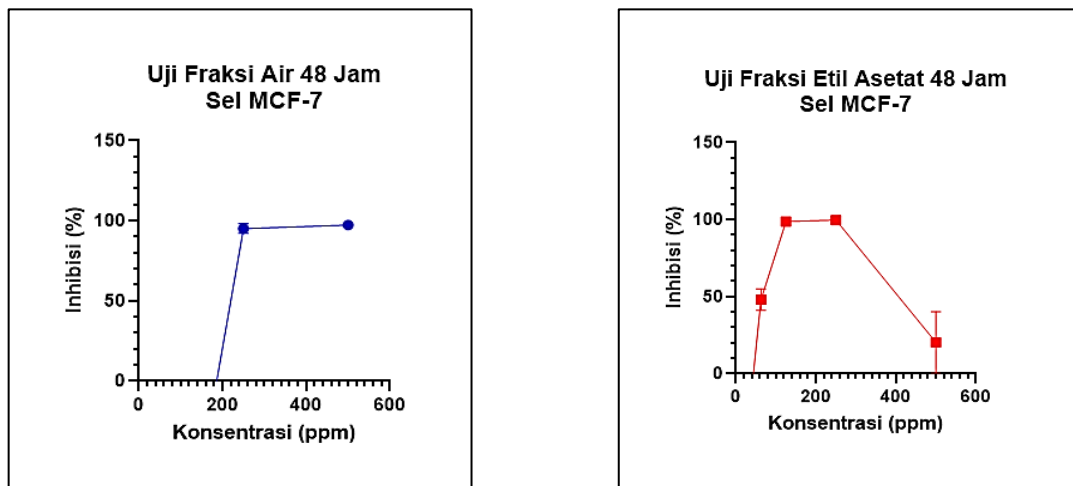
Konsentrasi (ppm)	Persentase Inhibisi (%)			<i>Mean</i>
	I	II	III	
31,25	-33	-66	5	-31
62,5	43	39	62	48
125	97	100	99	99
250	96	100	103	100
500	4	-3	60	20

Berdasarkan Tabel 5., dapat diketahui bahwa persentase inhibisi terendah fraksi etil asetat selama 48 jam terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm, sedangkan persentase inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 250 ppm yaitu sebanyak 97%.



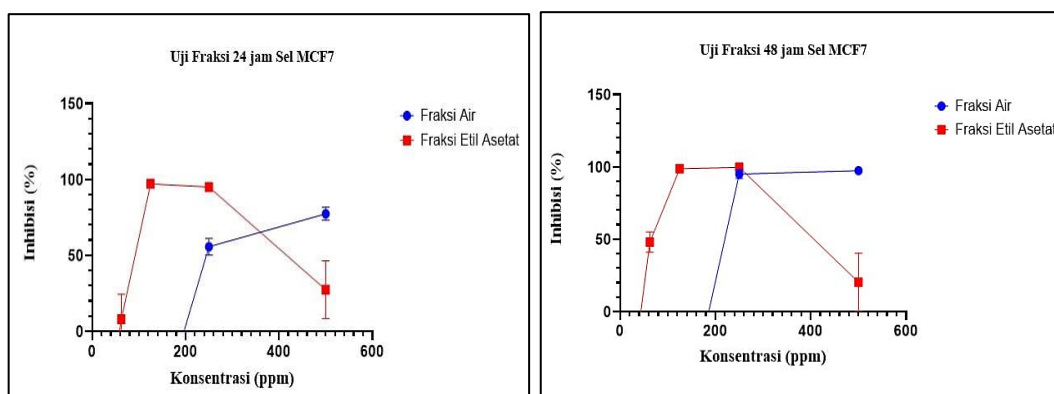
Gambar 4. Grafik Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 24 Jam

Berdasarkan Gambar 4., dapat diketahui bahwa pada fraksi air semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persentase inhibisinya, namun tidak demikian dengan fraksi etil asetat. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada fraksi air yaitu $232,466 \pm 9,134$ ppm sedangkan pada fraksi etil asetat $108,497 \pm 21,835$ ppm.



Gambar 5. Grafik Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 48 Jam

Berdasarkan Gambar 5., dapat diketahui bahwa pada fraksi air semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persentase inhibisinya, namun tidak demikian dengan fraksi etil asetat. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada fraksi air yaitu $209,684 \pm 3,357$ ppm sedangkan pada fraksi etil asetat $75,926 \pm 18,686$ ppm.



Gambar 6. Grafik Perbandingan Persentase Inhibisi Fraksi Air dan Etil Asetat Selama 24 dan 48 Jam

Berdasarkan Gambar 6., dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat memiliki persentase inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air, baik selama inkubasi 24 jam maupun 48 jam.

DISKUSI

Skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak biji alpukat dilakukan 4 jenis uji yaitu uji tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid yang menggunakan 3 jenis pereaksi diantaranya *Bouchardat*, *Dragendorff*, dan *Wagner*. Uji senyawa tanin dilakukan menggunakan FeCl_3 dengan hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi hitam. Hal ini dikarenakan tanin termasuk golongan polifenol dengan gugus OH, dimana akan berikatan dengan FeCl_3 dan membentuk Fe fenolik berwarna gelap (Amelia, 2015). Uji senyawa saponin dilakukan menggunakan HCl 2N dengan hasil positif karena terdapat busa setinggi ± 1 cm bertahan selama 5 menit. Hal ini disebabkan saponin memiliki struktur glikosida dengan senyawa sapogenin nonpolar dan rantai polar, dimana ketika dikocok rantai polar menghadap ke luar sedangkan sapogenin nonpolar menghadap ke dalam sehingga terlihat seperti busa (Hanifa dkk., 2021).

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk magnesium, HCl 2N, dan Amil alkohol dengan hasil positif yang ditandai dengan timbul warna merah di lapisan alkohol dikarenakan flavonoid mempunyai inti α -benzopyron, dimana penambahan HCl akan menginduksi protonasi yang membentuk garam flavonoid berwarna merah (Fadiyah dkk., 2019). Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan HCl 2N, filtrat dibagi ke dalam 3 tabung yang masing-masing ditambahkan pereaksi yang berbeda. Penambahan pereaksi *Bouchardat* didapatkan

hasil negatif alkaloid karena tidak terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, penambahan pereaksi *Dragendorff* didapatkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna merah atau jingga, dan penambahan pereaksi *Wagner* didapatkan hasil negatif karena tidak terbentuk endapan berwarna coklat.

Hasil diperoleh setelah uji selama 24 jam yaitu secara mikroskopik dan analisis nilai absorbansi serta persentase inhibisi untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Secara mikroskopik, selama inkubasi 24 jam fraksi air dengan konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, dan 125 ppm belum memiliki efek penghambatan terhadap sel MCF-7. Konsentrasi 250 sudah memiliki efek penghambatan yang ditandai sel sudah tidak terhubung satu sama lain dan pada konsentrasi 500 ppm fraksi air paling baik memberikan efek penghambatan yang ditandai dengan lisis sel. Sedangkan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 31,25 ppm dan 62,5 ppm belum terlihat efek penghambatan sel karena sel masih terhubung satu sama lain. Pada konsentrasi 125 ppm dan 250 ppm sel mengalami kematian yang signifikan, sedangkan pada konsentrasi 500 ppm terdapat banyak flek hitam yang dapat dipicu karena adanya ikatan senyawa fraksi dengan komponen sel hingga terjadi penumpukan flek.

Persentase inhibisi terendah pada fraksi air terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -124% dan tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm yaitu 77%. Artinya setelah pemberian fraksi konsentrasi 500 ppm, viabilitas sel sangat menurun ditandai dengan persentase inhibisi yang tinggi. Sedangkan pada konsentrasi 31,25 ppm, sel masih dapat bertahan hidup yang ditandai dengan persentase inhibisi yang rendah. Persentase inhibisi terendah pada fraksi etil asetat terdapat pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -54% dan tertinggi terdapat pada konsentrasi 125 ppm yaitu 97%. Fraksi etil asetat dapat merusak sel MCF-7 maksimal pada konsentrasi 125 ppm selama inkubasi 24 jam dikarenakan pada konsentrasi 250 dan 500 ppm persentase inhibisi mengalami penurunan.

Setelah dilakukan uji selama 48 jam diperoleh hasil secara mikroskopik dan analisis persentase inhibisi. Secara mikroskopik, fraksi air pada konsentrasi 31,25 ppm, 62, 5 ppm, dan 125 ppm belum terlihat efek penghambatan yang signifikan. Konsentrasi 250 dan 500 ppm menghambat pertumbuhan sel secara signifikan karena sudah tidak terlihat lagi sel-sel yang saling terhubung. Sedangkan hasil mikroskopik fraksi etil asetat dapat diamati pada konsentrasi 31,25 ppm memiliki efek penghambatan yang sangat kecil, namun pada konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, dan

250 ppm mampu melisiskan sel sehingga didapatkan persentase inhibisi yang tinggi, pengamatan pada konsentrasi 500 ppm terlihat banyak flek hitam. Selanjutnya setelah pembacaan absorbansi dan analisis persentase inhibisi diperoleh nilai terendah fraksi air pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -120% dan tertinggi pada konsentrasi 500 ppm yaitu 97%. Fraksi etil asetat memiliki persentase inhibisi terendah pada konsentrasi 31,25 ppm yaitu -31 sedangkan tertinggi pada konsentrasi 250 ppm yaitu 100%.

Lama waktu pemberian fraksi dan besaran konsentrasi mempengaruhi persentase inhibisi terhadap viabilitas sel. Semakin lama waktu pemberian fraksi dan semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi persentase inhibisi sehingga viabilitas sel menurun. Selama 24 jam pada fraksi air menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka persentase inhibisi fraksi semakin meningkat, sedangkan pada fraksi etil asetat tidak sejalan dengan pernyataan tersebut. Etil asetat memiliki batas konsentrasi maksimal penghambatan sel pada masa inkubasi 24 jam yaitu pada 125 ppm, karena pemberian fraksi pada konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm menunjukkan persentase inhibisi menurun.

Selama 48 jam pada fraksi air menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka persentase inhibisi fraksi semakin meningkat, sedangkan pada fraksi etil asetat tidak sejalan dengan pernyataan tersebut. Etil asetat memiliki batas konsentrasi maksimal penghambatan sel pada masa inkubasi 48 jam yaitu pada 250 ppm, karena pemberian fraksi pada konsentrasi 500 ppm menunjukkan penurunan persentase inhibisi yang sangat signifikan. Hal ini dikarenakan konsentrasi etil asetat yang sangat tinggi dapat merubah tekanan osmotik sehingga terjadi lisis sel. Selain itu, etil asetat dengan konsentrasi yang sangat tinggi juga dapat langsung membunuh sel sehingga tidak ada sel yang cukup untuk uji penghambatan.

Sifat sitotoksik suatu senyawa dapat dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang digolongkan ke dalam beberapa kategori, diantaranya memiliki efek sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, 50-100 ppm kategori kuat, 100-150 ppm kategori sedang, 150-200 ppm kategori lemah, dan > 500 ppm kategori sangat lemah (Pratiwi dkk., 2023). Berdasarkan kategori tersebut, fraksi air biji alpukat memiliki efek penghambatan yang lemah karena diperoleh nilai IC_{50} yaitu $232,466 \pm 9,134$ ppm untuk 24 jam dan $209,684 \pm 3,357$ ppm untuk 48 jam. Sedangkan fraksi etil asetat biji alpukat memiliki efek penghambatan yang sedang karena diperoleh nilai IC_{50} yaitu $108,497 \pm 21,835$

untuk 24 jam dan $75,926 \pm 18,686$ ppm untuk 48 jam menunjukkan efek penghambatan yang kuat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Dabas dkk., (2019) menggunakan sampel biji alpukat terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang menyatakan bahwa ekstrak biji alpukat mampu menghambat perkembangan sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} 132,2 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Abubakar dkk., (2016) menggunakan sampel biji alpukat terhadap sel kanker payudara MCF7 diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol biji alpukat memiliki kemampuan antiproliferasi sel dengan nilai IC_{50} 62 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan penelitian terdahulu, dapat dinyatakan bahwa fraksi air dan etil asetat ekstrak etanol biji alpukat memiliki efek penghambatan terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} paling baik pada fraksi etil asetat yaitu $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik kategori sedang pada masa inkubasi 24 jam dan IC_{50} $75,926 \pm 18,686$ ppm pada masa inkubasi 48 jam menunjukkan efek sitotoksik yang kuat. Fraksi ekstrak etanol biji alpukat berpotensi sebagai agen antikanker payudara MCF-7.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat memiliki kemampuan penghambatan perkembangan sel MCF-7 paling baik dibandingkan dengan fraksi air, selama inkubasi 24 jam pada konsentrasi 125 ppm dengan nilai IC_{50} $108,497 \pm 21,835$ ppm menunjukkan efek sitotoksik yang sedang dan dalam masa inkubasi 48 jam pada konsentrasi 250 ppm dengan nilai IC_{50} $0,06 75,926 \pm 18,686$ ppm menunjukkan efek sitotoksik yang kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Hijral Aswad, S.Si., M.Kes, selaku Pembimbing penelitian di HUM-RC.
2. Laboran Universitas Megarezky dan Laboran Universitas Almarisah Madani yang telah mengarahkan saat proses penelitian.
3. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini. Penelitian ini murni dilakukan untuk mencari dan menguji tanaman herbal sebagai agen antikanker agar pengobatan herbal semakin bervariasi. Penelitian ini belum pernah dipublikasikan di media manapun.

REFRENSI

- Abubakar, A. N. F., Achmadi, S. S., & Suparto, I. H. (2016). *Triterpenoid of Avocado (Persea americana) Seed and its Cytotoxic Activity Toward Breast MCF-7 and Liver HepG2 Cancer Cells*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8-14.
- Agustina, L., Yuliani, B., & Bahrul, I. (2020). *Study Fenomenologi: Psikologis Pasien Kanker Yang Menjalani Kemoterapi*. *Jurnal Keperawatan Suaka Insan (JKSI)*, 5(1), 52-66.
- Ambarwati, R., & Rustiani, E. (2022). *Formulasi dan Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Biji Alpukat (Persea Americana Mill) Dengan Polimer Plga*. *Majalah Farmasetika*, 7(4), 305-313.
- Amelia, F. R. (2015). *Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (Lagerstroemia speciosa Pers.) Secara Spektrofotometri dan Permanganometri*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2), 1-20.
- Dabas, D., Elias, R. J., Ziegler, G. R., & Lambert, J. (2019). *In Vitro Antioxidant and Cancer Inhibitory Activity of a Colored Avocado Seed Extract*. *International Journal of Food Science*, 1-7.
- Fadiyah, I., Lestari, I., Victory, S., & Mahardika, R. G. (2019). *Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Maserasi Buah Rukam (Flacourtia Rukam)*. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 1(1), 14-19.
- GLOBOCAN. (2020). *Cancer Incidence in Indonesia*. *International Agency for Research on Cancer*, 1-2.
- GLOBOCAN. (2020). *Cancer Incidence in the World*. *International Agency for Research on Cancer*, 1-2.
- Hanifa, N. I., Wirasisya, D. G., Muliani, A. E., & Utami, S. B. (2021). *Phytochemical Screening of Decoration and Ethanolic Extract of Amomum dealbatum Roxb. Leaves*. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510-518.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). *Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (Persea Americana Mill.) Asal Pulau Timor*. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52.
- Kusmardika, D. A. (2020). *Potensi Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (Moringa Oleifra)*

- Dalam Mencegah Kanker. *Jurnal Stikes Siti Hajar*, 2(1), 46-50.
- Prasetyo, D. Y., & Suprayitno, E. (2021). Faktor Kualitas Hidup Pasien Kanker. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 9(2), 322-333.
- Pratiwi, A. R., Yusran., Islawati., & Artati (2023). Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. *Jurnal Biologi Makassar*, 8(2), 65-74.
- Risma, W. O., Abidin, Z., & Rahmawati. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmaceutical Science Journal*, 1(3), 216-223.
- Widiyastuti, Y., Pratiwi, R., Riyanto, S., & Wahyuono, S. (2018). *Cytotoxic Activity and Apoptosis Induction of Avocado Persea americana Mill. Seed Extract on MCF-7 Cancer Cell Line*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 23(2), 61-67.

DETEKSI GEN TNNT2 SEBAGAI PENANDA PENYAKIT JANTUNG PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Sanatang^{1*} · Titi Purnama² · Rhiza Febriyanti³

^{1,2,3} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala
Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: chemist_ana82@yahoo.com
No Tlp WA : 081230373273

Abstract

Diabetes Mellitus is a group of metabolic diseases characterized by increased blood sugar levels. Type 2 diabetes is one of the risk factors for heart failure. The TnnT2 gene encodes the formation of the tropomyosin protein. This study aims to detect the TnnT2 gene in people with type 2 diabetes which can increase the risk of heart failure. This research method is in the form of DNA isolation, DNA concentration measurement, TnnT2 DNA amplification, and DNA visualization with a gene target of 220 bp. Based on the results of the research conducted from 12 serum samples of DMT 2 patients, they had a > DNA ratio of 1.8. Meanwhile, the results of amplification of the TnnT2 gene using the PCR method obtained 2 samples detected with the TnnT2 gene with the formation of a 220 bp DNA band, namely in the R5 and R6 code samples, which means that there is a risk of heart failure and 10 samples without the formation of a 220 bp DNA band. The conclusion of this study is that diabetes mellitus can be a risk factor for heart disease. From the results of this study, it is hoped that patients with DM 2 can control glucose levels in order to prevent complications such as cardiovascular diseases.

Keywords : *Diabetes Melitus Type 2, TnnT2 Gene, Cardio Disease, PCR*

Abstrak

Diabetes Mellitus adalah golongan penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah. DM tipe 2 merupakan salah satu faktor resiko terjadinya gagal jantung. Gen TnnT2 mengkode terbentuknya protein tropomyosin. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen TnnT2 pada penderita DM tipe 2 yang dapat meningkatkan resiko terjadinya gagal jantung. Metode penelitian ini berupa isolasi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, amplifikasi DNA TnnT2, serta visualisasi DNA dengan target gen sebesar 220 bp. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh dari 12 sampel serum pasien DMT 2 memiliki ratio DNA > dari 1,8. Sedangkan hasil amplifikasi gen TnnT2 dengan menggunakan metode PCR diperoleh 2 sampel terdeteksi gen TnnT2 dengan terbentuknya pita DNA berukuran 220 bp yaitu pada sampel kode R5 dan R6 yang berarti dapat beresiko terhadap gagal jantung dan 10 sampel tidak terbentuk pita DNA berukuran 220 bp. Kesimpulan pada penelitian ini adalah penyakit diabetes melitus dapat menjadi faktor resiko terjadinya penyakit jantung. Dari hasil penelitian ini diharapkan kepada penderita DM 2 dapat mengontrol kadar glukosa agar dapat mencegah terjadinya komplikasi seperti penyakit kardiovaskuler.

Kata Kunci : *Diabetes Melitus Tipe 2, Gen TnnT2, Penyakit Jantung, PCR*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit kronik yang disebabkan karena pankreas tidak mampu memanfaatkan insulin yang dihasilkan pankreas dengan baik, baik secara tidak mencukupi maupun berlebihan (Murtiningsih et al., 2021). Diabetes mellitus ditandai dengan gejala seperti

meningkatnya nafsu makan, rasa lelah, capek, kesemutan, gatal, dan penglihatan kabur (Nurarif & Kusuma, 2015). Data Dinas Kesehatan Kota Kendari melaporkan bahwa tahun 2022 terdapat 1.825 kasus orang menderita penyakit DM dan pada tahun 2023 sebanyak 1.044 kasus.

Penanganan penyakit DM tipe 2 dengan tidak baik dapat menyebabkan berbagai komplikasi baik komplikasi akut atau komplikasi kronis. Kualitas hidup penderita DMT2 dapat menurun akibat komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler. Namun, Komplikasi vaskuler yang sangat berpengaruh terhadap kematian penderita DMT2. Beberapa yang tergolong dalam komplikasi makrovaskular berupa kelainan pada pembuluh darah besar (Edwina et al., 2015). Prevalensi kematian penderita DMT2 akibat komplikasi kronis seperti gagal jantung, jantung koroner ataupun stroke mencapai 65 % kasus (Purwandari et al., 2022).

Salah satu indikator pemeriksaan fungsi jantung adalah dengan mengukur kadar protein troponin dalam darah penderita DMT2. Fungsi dari Troponin T adalah untuk mengikat komponen troponin untuk tropomiosin. Kenaikan kadar troponin T dalam plasma dapat menjadi indikator kerusakan pada otot jantung serta dapat digunakan sebagai pendeteksi penyakit jantung koroner (Hamdani & Andina, 2017). Tingginya prevalensi disfungsi ventrikel sistolik dan diastolik serta hipertrofi ventrikel kiri di antara pasien diabetes dapat menjadi penyebab peningkatan kadar troponin yang kronis dan berkelanjutan (Bluroa et al., 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kaviarasan & Mohammed (2022) mendapatkan bahwa mutasi pada gen TnnT2 dapat mengganggu stabilitas kompleks dan hubungan timbal balik antara tropomiosin dan troponin T, sehingga mempengaruhi interaksi aktif. Varian gen TnnT2 terbukti mengganggu kerentanan kompleks terhadap Ca^{2+} , sehingga menurunkan kekuatan kontraktile miokardium. Oleh karena itu, berdasarkan dampak mutasi pada kekuatan kontraktile miokardium jantung, mutasi pada berbagai protein mungkin terkait dengan pola penyakit jantung. Penyakit DMT2 merupakan salah satu faktor resiko yang dapat menyebabkan penyakit jantung sehingga pada penelitian ini akan mendeteksi kemungkinan penyakit jantung pada penderita DMT2 dengan menggunakan parameter molekuler gen TnnT2.

BAHAN DAN METODE

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh pasien penderita DMT2 di wilayah Puskesmas Poasia Kota Kendari selama bulan Oktober-Desember 2023 dengan jumlah sampel sebanyak 12 responden. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung darah, tabung ependorff, serum, kit isolasi DNA (Geneaid), Master mix (Geneaid), Gel Red (Biorad), gel agarose, buffer TAE 1X, primer TnnT2 (primer forward: (5'-GCTACTGACAGTGTTCCTGTTGC-3'), primer Reverse: (5'-CCCAGGATTTCCACATTGCTGAGC-3')) (Komamaru et al, 2004).

1. Pengambilan dan pemisahan sampel serum pasien DMT2

Pengambilan sampel darah pasien dilakukan dengan mengikuti sop flebotomi dan darah disimpan dalam *cool box* sebelum dibawa ke laboratorium. Untuk memperoleh serum, darah disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

2. Isolasi DNA dari serum

Proses isolasi DNA mengikuti manual kit pada kit isolasi DNA (*geneaid*).

3. Pengukuran Konsentrasi DNA

DNA hasil isolasi diukur konsentrasinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV double beam. Kuvet diisi dengan ddH₂O sebanyak 2970 µl dan 30 µl DNA hasil isolasi. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 280 nm dan 260 nm.

4. Amplifikasi Gen TnnT2

Komponen campuran dalam setiap tabung PCR berisi 25 µl master mix, primer forward dan primer reversenya masing-masing 1 µl, ddH₂O 18 µl dan sampel 5 µl. Proses amplifikasi dilakukan dalam mesin thermal cycler menggunakan profil termal sebagai berikut; denaturasi awal 94 °C selama 9 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 56.5 °C selama 1 menit, extension pada suhu 72 °C selama 1 menit, dan final extension pada suhu 72 °C selama 6 menit siklus PCR dilakukan sebanyak 35 kali (Komamura et al., 2004).

5. Analisis Hasil PCR dengan Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel agarose 1,5 % dengan menggunakan buffer TAE 1X dan di running dengan menggunakan 80 V, arus

45 selama 60 menit. Gel yang telah dielektroforesis diamati pita-pita DNANYa dengan menggunakan UV transilluminator.

HASIL

1. Pengukuran Konsentrasi DNA TnnT2

DNA yang telah diisolasi pada serum pasien DMT2 diukur konsentrasi dan ratio nya dengan menggunakan alat spektrofotometer double beam. Adapun hasil pengukurannya dapat dilihat pada tabel 1.

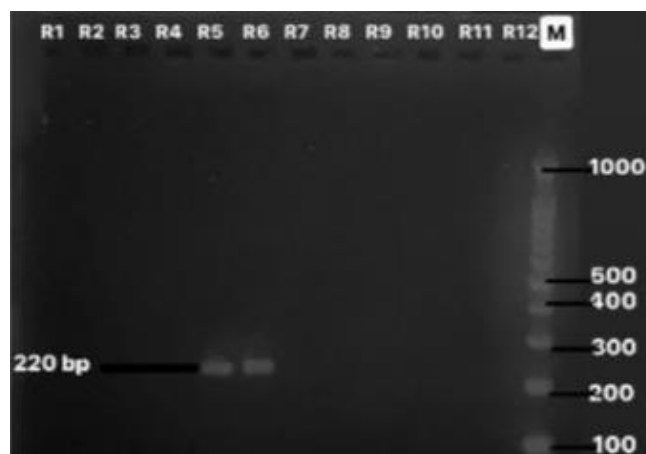
Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi dan rasion DNA hasil isolasi

No	Sampel	Absorbansi λ 260 nm	Absorbansi λ 280 nm	Ratio (λ 260 nm/ λ 280 nm)	Konsentrasi DNA
1.	R1	3,458	3,452	1,002	80,09
2.	R2	6,719	6,491	1,041	165,2
3.	R3	6,712	6,441	1,049	167,2
4.	R4	6,669	6,366	1,055	167,5
5.	R5	6,564	6,340	1,041	161,9
6.	R6	6,687	6,400	1,052	167,4
7.	R7	6,773	6,520	1,045	167,1
8.	R8	6,883	6,596	1,050	173,2
9.	R9	7,051	6,760	1,049	178,0
10.	R10	7.126	6,916	1,034	177,5
11.	R11	7,320	7,334	0,998	174,6
12.	R12	7,565	7,214	1,055	194,4

Dari hasil pengukuran konsentrasi DNA dapat dilihat rata-rata konsentrasi DNA sebesar 164,5 sedangkan rata-rata ratio kemurnian DNA < 1,8.

2. Hasil Visualisasi Gen TNNT2

Penelitian ini menggunakan 12 sampel pasien DMT2. Hasil visualisaasi Gen TNNT2 yang telah dielektroforesis diperoleh 10 sampel negatif (83,33 %) tidak terbentuk pita berukuran 220 bp dan 2 sampel positif (16,67 %) terbentuk pita 220 bp dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Gen TNNT2 (R1-R12: Sampel, M: Marker)

DISKUSI

Diabetes Mellitus merupakan kelainan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah sebagai akibat dari penurunan sekresi insulin, produksi insulin, atau keduanya (Kusumaningrum et al., 2022). Jenis diabetes mellitus yang paling umum di kalangan masyarakat umum adalah diabetes tipe 2 karena jenis penyakit ini semakin terkait dengan pilihan gaya hidup dan kebiasaan makan (Sutomo dan Nasrul, 2023).

Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan gen TnnT2 pada penderita diabetes mellitus tipe 2. DMT2 merupakan salah satu faktor resiko terjadinya gagal jantung (Balamba et al., 2017). Parameter pemeriksaan jantung salah satunya adalah pemeriksaan kadar troponin dalam darah. Kadar protein troponin dapat diproduksi oleh gen troponin, jenis troponin yang paling banyak berperan adalah jenis troponin T yang berperan dalam kontraksi otot jantung dan rangka. Troponin T akan dikeluarkan dari sirkulasi bila terjadi kerusakan otot jantung. TnnT2 merupakan gen yang berperan penting pada otot jantung manusia. Gen TnnT2 terletak pada kromosom 1q32 dan mengkode "troponin T2 jantung", gen TnnT2 mempengaruhi kontraksi otot jantung melalui perannya sebagai subunit tropomiosin binding dari kompleks troponin (Liu et al., 2023).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel serum penderita diabetes mellitus tipe 2 untuk mendeteksi keberadaan gen TnnT2. Pertimbangan dalam pengambilan sampel penderita dengan melihat durasi lama menderita yaitu 5 tahun, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fortuna et al

(2023) yang menyatakan bahwa durasi ini lebih berisiko mengalami komplikasi dibandingkan pasien dengan durasi menderita diabetes dibawah 5 tahun.

Analisis kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Prinsip metode spektrofotometer sinar absorbansi UV adalah pemanfaatan panjang gelombang tertentu yang dapat ditangkap oleh molekul DNA (Prayoga et al.,2020). Hasil isolasi DNA pada penelitian ini didapatkan semua sampel isolasi DNA tidak memenuhi syarat karena dibawah kisaran 1,8 (Tabel 1). Tingkat kemurnain DNA hasil isolasi adalah jika ratio absorbansinya berada pada 1,8 - 2,0. Jika ratio absorbansinya kurang dari 1,8 menunjukkan bahwa sampel DNA terkontaminasi oleh protein dan polisakarida sedangkan jika ratio nilai absorbansinya kurang dari 2,0 maka DNA hasil isolasi terkontaminasi oleh RNA (Dewanata & Mushlih, 2021).

Proses pengerjaan tahap isolasi DNA sangat berpengaruh terhadap hasil konsentrasi serta kemurnian DNA. Hal-hal yang kemungkinan tersebut berupa tahapan pemindahkn supernatan dari tabung ependroff ke *colection tube*, waktu inkubasi sampel serta proses pengeringan isolat pada saat sentrifuse. Selain itu, penggunaan alat dan bahan harudijaga agar tetap steril sebelum proses isolasi DNA sehingga kontaminasi dapat diminimalisir (Nugroho, 2015).

Hasil amplifikasi pada 12 sampel serum penderita diabetes mellitus tipe 2 diperoleh 2 sampel positif terdapat gen TnnT2 yang terbentuk pita DNA dengan ukuran 220 bp hal tersebut menunjukkan bahwa kedua sampel ini berpotensi terhadap gagal jantung dan 10 sampel negatif tidak terdapat gen TnnT2 yang menandakan bahwa 10 sampel ini berasal dari pasien DM 2 yang tidak berpotensi menderita gagal jantung (Gambar 1). Pada sampel yang terdeteksi positif dengan kode sampel R5 dan R6 dapat dikaitkan dengan beberapa kondisi selain faktor lama menderitanya, patofisiologi gagal jantung pada pasien DM 2 yaitu terjadi karena gangguan metabolik seperti hiperglikemia, displidemia, akumulasi asam glikasi lanjut, obesitas dan peradangan yang dapat menyebabkan oksidasi stress, gangguan homeostatis kalsium, neuropati otonom dan aktivasi system renin-angiotensin. Efek negatif ini pada akhirnya akan menyebabkan disfungsi endotel, ateroklerosis, fibrosis jantung dan disfungsi jantung sehingga memicu gagal jantung (Sabbour & Ahmad, 2023).

Jika kadar glukosa tinggi maka dapat merusak pembuluh darah dan sirkulasi

darah di seluruh tubuh, termasuk jantung. Mengontrol kadar glukosa dapat membantu mencegah dan menunda gagal jantung (Febrinasari, 2020). Untuk mengontrol penyakit diabetes mellitus dan mencegah komplikasi penyakit jantung, pengaturan pola hidup penting untuk menjaga kadar glukosa dan lemak darah tetap normal (Darmono, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dari 12 sampel terdapat gen TnnT2 pada 2 sampel (16,67%) penderita DM 2 dengan panjang pita DNA berukuran 220 bp dan 10 sampel (83,33%) lainnya tidak terbentuk pita dengan ukuran 220 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas Poasia dalam memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

- Balamba, M. K., Arie, S. M. L., & Brave, A. S. (2017). Animasi 3 Dimensi Penyakit Jantung Koroner Pada Manusia. *E-Journal Teknik Informatika*, 11 (1).
- Bluroa, I. M., Jesica, Y., Fernández, M., Pizarroa, R., & Nereo, A. M. (2021). *Endokrinologi ,Diabetes Dan Nutrisi*. 68, 321-328.
- Darmono. (2005). *Pengaturan Pola Hidup Penderita Diabetes untuk Mencegah Komplikasi Kerusakan Organ- Organ Tubuh*. Thesis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 1-10.
- Dinas Kesehatan Kota Kendari. (2023). *Laporan Survey Kasus PTM 2023*. Provinsi Sulawesi Tenggara

- Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. (2022). Profil Kesehatan Sulawesi Tenggara 2022. Provinsi Sulawesi Tenggara
- Edwina, D. A., Manaf, A., & Efrida, E. (2015). Pola Komplikasi Kronis Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Inap Di Bagian Penyakit Dalam Rs. Dr. M. Djamil Padang Januari 2011 - Desember 2012. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(1), 102-106.
- Febrinasari, R. P., Sholikhah, T. A., Pakha, D.N., & Putra, S. E. (2020). Pentingnya Patuh Pengobatan Diabetes Melitus Dan Komplikasi. In *Buku Saku Diabetes Melitus Untuk Awam*. UNS Press.
- Fortuna, T. A., Hidayah, K., Desti, P., & Devi, E. P. (2023). Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Komplikasi pada Pasien Diabetes Mellitus di RSUD Dr. Moewardi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20 (1).
- Hamdani, I., & Andina, M. (2017). Hubungan Troponin T , Derajat Sumbatan Pembuluh Darah Dan Lama Rawatan Rumah Sakit Pada Pasien Post Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (Ptca) Relationship Of Troponin T , Degree Of Blood Vessel Blockage And Length Of Hospi. *Buletin Farmatera*, 2(3), 140-145.
- Kaviarasan, V., Vajagathali, M., Dan Ramakrishnan, V. 2022. Genetic Predisposition Study Of Heart Failure And Its Association With Cardiomiopaty. *The Egyptian Heart Journal*, 74:5
- Komamura, K., Iwai, N., Kokame, K., Yasumura, Y., Kim, J., Yamagishi, M., Morisaki, T., Kimura, A., Tomoike, H., Kitakaze, M., & Miyatake, K. (2004). The Role Of A Common Tnnt2 Polymorphism In Cardiac Hypertrophy. *Journal Of Human Genetics*, 49(3), 129-133.
- Kusumaningrum, S, T., Isza, M., Dwina Putri, S., & Keperawatan UMRI Jl Tuanku Tambusai No, P. (2022). the Effectiveness of Health Education Demonstration of Diabetes Foot Exercises on Increasing Knowledge of Diabetes Mellitus Patients. *Jurnal Menara Medika*, 4(2), 157.
- Liu, Y., Meng, Z., Niu, J., Tian, L., Chen, Y., Meng, Q., Zhou, Z., & Liu, Y. (2023). Cardiac Troponin T (Tnnt2) Plays A Potential Oncogenic Role In Colorectal Carcinogenesis. *Cancer Cell International*, 23(1), 1-11.
- Murtiningsih, M. K., Pandelaki, K., & Sedli, B. P. (2021). Gaya Hidup Sebagai Faktor Risiko Diabetes Melitus Tipe 2. *E-Clinic*, 9(2), 328.
- Nugroho, S. (2015). Pencegahan Dan Pengendalian Diabetes Melitus Melalui Olahraga. *Medikora*, 9 (1).
- Prayoga, F.A., Anto, B., Kusumaningrum, H.P., Wijanarka, W., Agung, S. & Nurhayati, N. (2020). Metagenomic Applications In Exploration And Development Of Novel Enzymes From Nature: A Review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 18:39

- Purwandari, C. A. A., Wirjatmadi, B., & Mahmudiono, T. (2022). Faktor Risiko Terjadinya Komplikasi Kronis Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Pra Lansia. *Amerta Nutrition*, 6(3), 262-271.
- Sutomo & Nasrul, H, P. (2023). Pengaruh Konsumsi Tisane Daun Belimbing Wuluh Terhadap Perubahan Kadar Gula Dalam Darah Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Keperawatan*, 1-15.

DETEKSI MUTASI GEN TROPONIN T (TnnT2) SEBAGAI PENANDA PENYAKIT JANTUNG PADA PENDERITA HIPERTENSI DI PUSKESMAS POASIA KENDARI

Sanatang¹ · Akmal² · Titi Purnama^{3*} · Chika Cahyani⁴

^{1,2,3,4} D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala
Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
Email: titipurnam@gmail.com
No Tlp WA : 081341529845

Abstract

Hypertension is a risk factor for heart disease. Heart disease occurs due to narrowing or blockage of the blood vessels that supply blood to the heart muscle. The TnnT2 gene is one of the genes coding for the tropomyosin protein. Changes in the genetic code of the TnnT2 gene can cause heart failure and sudden death. The aim of this study was to detect TnnT2 gene mutations in the serum of patients with hypertension as a marker of heart disease using the RFLP PCR method. The research methods were DNA isolation, DNA concentration measurement, TnnT2 DNA amplification, EcoRV enzyme digestion, and DNA visualisation. Based on the research conducted using PCR RFLP, 13 samples were detected with TnnT2 gene marked with a DNA band measuring 220 bp. The results of digestion using the EcoRV enzyme did not have the results of cutting DNA bands measuring 103 bp and 98 bp. The conclusion of this study is that the TnnT2 exon 3 gene mutation in the serum of patients with hypertension using the EcoRV restriction enzyme obtained DNA band results that did not detect mutations in the TnnT2 gene in patients with hypertension.

Keywords : Hypertension, Troponin T, TnnT2 gene, RFLP PCR, mutations

Abstrak

Hipertensi merupakan faktor risiko penyakit jantung. Penyakit jantung terjadi karena penyempitan atau penyumbatan pembuluh darah yang memasok darah ke otot jantung. Gen TnnT2 adalah salah satu gen yang mengkode protein tropomiosin. Perubahan kode genetik pada gen TnnT2 dapat menyebabkan gagal jantung dan kematian mendadak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi mutasi gen TnnT2 pada serum pasien hipertensi sebagai penanda penyakit jantung dengan menggunakan metode RFLP PCR. Metode penelitian yang dilakukan adalah isolasi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, amplifikasi DNA TnnT2, digesti enzim EcoRV, dan visualisasi DNA. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan menggunakan RFLP PCR, sebanyak 13 sampel terdeteksi gen TnnT2 yang ditandai dengan pita DNA berukuran 220 bp. Hasil digesti menggunakan enzim EcoRV tidak menghasilkan pemotongan pita DNA berukuran 103 bp dan 98 bp. Kesimpulan dari penelitian ini adalah mutasi gen TnnT2 ekson 3 pada serum pasien hipertensi dengan menggunakan enzim restriksi EcoRV didapatkan hasil pita DNA yang tidak terdeteksi adanya mutasi gen TnnT2 pada pasien hipertensi.

Kata kunci: Hipertensi, Troponin T, Gen TnnT2, PCR RFLP, Mutasi

PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan salah satu penyakit tidak menular yang dapat terjadi akibat perubahan gaya hidup yang tidak sehat. Secara umum kejadian hipertensi dipengaruhi oleh usia. Hipertensi mengacu pada suatu kondisi dengan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg (Unger dkk., 2020). Tekanan darah ditentukan oleh jumlah darah yang dipompa oleh jantung dan aliran darah yang tertahan di pembuluh darah/arteri. Dampak tekanan darah tinggi

merupakan penyebab utama penyakit kardiovaskular, stroke, dan kematian. Penyakit ini mempengaruhi sebagian besar populasi dunia dan masih kurang terdiagnosis.

Penyakit kardiovaskular adalah penyakit yang disebabkan oleh penyakit jantung dan pembuluh darah. Contoh penyakit kardiovaskular yang umum adalah serangan jantung. Penyakit jantung dan pembuluh darah dapat dicegah dengan mengendalikan faktor risiko seperti merokok, pola makan tidak sehat, kurang aktivitas fisik dan konsumsi alkohol, untuk menghindari tekanan darah tinggi, obesitas, kolesterol tinggi dan diabetes (Sasrawati dan Nur, 2020).

Dalam data yang dikeluarkan oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2021, kematian akibat penyakit jantung mencapai angka 17,8 juta kematian atau satu dari tiga kematian di dunia setiap tahun disebabkan oleh penyakit jantung. Menurut data WHO tahun 2019, jumlah kasus hipertensi di seluruh dunia saat ini mencapai 22% dari total populasi dunia. Sedangkan menurut data (Kemenkes RI, 2021) prevalensi hipertensi di Indonesia sebesar 34,1%, mengalami peningkatan dibandingkan prevalensi hipertensi pada Riskesdas Tahun 2013 sebesar 25,8%. Berdasarkan data di Dinas Kesehatan Kota Kendari menunjukkan bahwa penyakit hipertensi pada tahun 2022 sebesar 12.430 kasus dan pada tahun 2023 mengalami peningkatan sebesar 21.378 kasus. Lokasi pada penelitian ini berada di Puskesmas Poasia yang terletak di Kecamatan Poasia Kota Kendari, sekitar 9 KM dari Ibukota Propinsi. Sebagian besar wilayah kerja merupakan dataran rendah dan sebagian merupakan perbukitan sehingga sangat ideal untuk pemukiman.

Ketika mengalami hipertensi, kekuatan pada aliran darah yang terlalu kuat mampu melukai dinding arteri. Tekanan tersebut mampu membuat sobekan kecil yang berubah menjadi jaringan parut, sehingga kolesterol, lemak, dan hal-hal mudah menumpuk di dalam arteri. Hipertensi yang tidak ditangani tersebut membuat darah lebih sulit mengalir ke seluruh tubuh dan memaksa jantung bekerja lebih keras dari biasanya. Tekanan darah tinggi yang berlangsung lama menyebabkan hipertrofi ventrikel kiri dan disfungsi diastolik yang menyebabkan peningkatan kekakuan miokard, yang menyebabkan miokardium kurang patuh terhadap perubahan *preload*, *afterload*, dan tonus simpatis. Kontrol tekanan darah yang memadai harus dicapai pada pasien dengan hipertensi untuk mencegah perkembangan menjadi gagal jantung (Oh dan Hyun, 2020).

Troponin T adalah salah satu dari tiga protein yang membentuk kompleks protein troponin dalam sel otot jantung. Terdapat tiga jenis troponin yaitu troponin I, troponin T, troponin C. troponin T mengikat komponen troponin untuk tropomiosin. Troponin I menghambat interaksi myosin dengan aktin. Troponin C berisi situs pengikatan untuk Ca^{2+} yang membantu untuk memulai kontraksi (Leksana dan Ika, 2014). Troponin bersama dengan kalsium berfungsi membantu mengatur kontraksi otot jantung. Bagian dari kompleks troponin, yang merupakan protein integral pada kontraksi otot rangka dan jantung. Ketika kadar kalsium rendah, kompleks troponin berikatan dengan filamen tipis dalam sarkomer, yang menghalangi interaksi antara filamen tebal dan tipis yang diperlukan untuk kontraksi otot. Peningkatan kadar kalsium dapat menyebabkan perubahan struktural pada kompleks troponin, yang memungkinkan filamen tebal dan tipis untuk berinteraksi, yang menyebabkan kontraksi otot jantung. Tingkat troponin jantung meningkat seiring bertambahnya usia pada pasien dengan darurat hipertensi. Parameter klinis seperti detak jantung, tekanan darah sistolik, tekanan darah diastolik, dan tekanan arteri rata-rata berhubungan secara independen dengan peningkatan kadar troponin (Maheshwarappa dan Akshatha 2022).

Mutasi gen merupakan perubahan yang terjadi pada materi genetik di dalam sel. Mutasi pada gen TnnT2 dapat menyebabkan kardiomiopati hipertrofik familial. Kebanyakan mutasi gen TnnT2 pada kardiomiopati hipertrofik familial mengubah struktur protein tunggal (asam amino) pada protein troponin T jantung. Protein yang diubah kemungkinan besar dimasukkan ke dalam kompleks troponin, tetapi mungkin tidak berfungsi dengan baik. TnnT2 mengkodekan untuk troponin T jantung (Fath dkk, 2019).

Mekanisme mutasi muncul dari perubahan suatu gen pada DNA. Perubahan DNA ini bisa sangat kecil, hanya mempengaruhi satu pasangan nukleotida, atau bisa juga relatif besar, mempengaruhi ratusan bahkan ribuan nukleotida. Penyebab mutasi gen adalah Perubahan atau pemotongan urutan nukleotida yang menyebabkan protein yang dihasilkan tidak dapat berfungsi baik dalam sel dan sel tidak mampu mentolerir inaktifnya protein tersebut (Amir, 2018). Mutasi TnnT2 menyebabkan perubahan ringan remodeling jantung pada 10-15 kasus kardiomiopati hipertrofi, namun sangat berkorelasi besar dengan kejadian kematian jantung mendadak (Fath dkk, 2019).

Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui mutasi pada gen yaitu metode RFLP-PCR. Metode RFLP sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi. Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda-beda (Khaira dkk., 2022). Teknik PCR RFLP memerlukan enzim restriksi yang sesuai untuk dapat mendeteksi perubahan nukleotida pada titik mutasi yang diharapkan dalam sekuen DNA.

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk melihat mutasi gen TnnT2 pada serum pasien penderita hipertensi sebagai penanda penyakit jantung dengan metode PCR RFLP.

BAHAN DAN METODE

Populasi pada penelitian ini adalah pasien penderita Hipertensi di wilayah Puskesmas Poasia Kota Kendari pada bulan desember 2023 dengan jumlah sampel sebanyak 13 responden. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung darah, tabung ependeroff, serum, kit isolasi DNA (Geneaid), Master mix (Geneaid), Gel Red (Biorad), gel agarose, buffer TAE 1X, primer TnnT2 (primer forward: (5'GCTACTGACAGTGTT TCCTGTTGC-3'), primer Reverse: (5'CCCAGGATTTCACATTGCTGAGC-3,)).

1. Pengambilan dan pemisahan sampel serum pasien Hipertensi

Pengambilan sampel darah pasien dilakukan dengan mengikuti sop flebotomi dan darah disimpan dalam *cool box* sebelum dibawa ke laboratorium. Untuk memperoleh serum, darah disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

2. Isolasi DNA dari serum

Proses isolasi DNA mengikuti manual kit pada kit isolasi DNA (*geneaid*).

3. Pengukuran Konsentrasi DNA

DNA hasil isolasi diukur konsentrasinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Kuvet diisi dengan ddH₂O sebanyak 2970 µl dan 30 µl DNA hasil isolasi. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

4. Amplifikasi Gen TnnT2

Komponen campuran dalam setiap tabung PCR berisi 25 µl master mix, primer forward 5'-GCTACTGACAGTGTTCCTGTTGC-3' dan primer reversenya adalah 5' CCCAGGATTTCCACATTGCTGAGC - 3' masing masing 1 µl, ddH₂O 18 µl dan sampel 5 µl. Proses amplifikasi dilakukan pada alat thermal cycler menggunakan profil termal sebagai berikut; denaturasi awal 94 °C selama 9 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, annealing 56.5 °C selama 2 menit dan final extension 72 °C selama 3 menit, siklus PCR dilakukan sebanyak 35 kali.

5. Analisis Hasil PCR dengan Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan gel agarose 1,5 % menggunakan buffer TAE 1X dan di running dengan menggunakan 80 V, arus 45 selama 60 menit. Gel yang telah dielektroforesis diamati pita-pita DNANYa menggunakan UV transilluminator.

6. Digesti Hasil PCR dengan Enzim *EcoRV* (*Eco321*)

Hasil amplifikasi dengan PCR didigesti menggunakan enzim *EcoRV* (*Eco321*) digesti yang terdiri dari 10 µL DNA (hasil amplifikasi DNA), 2 µL enzim restriksi *EcoRV* (*Eco321*), 10x buffer R (*Eco321*) 2 µL dan 18 µL ddH₂O dimasukkan ke dalam mikrosentrifuse yang steril. Di inkubasi pada suhu 37°C selama 8 jam kemudian dielektroforesis dengan gel agarose 1,5% selama 60 menit (Thermo scientific, 2021).

HASIL

1. Pengukuran Konsentrasi DNA TnnT2

DNA yang telah diisolasi pada serum pasien Hipertensi diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Adapun hasil pengukurannya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi

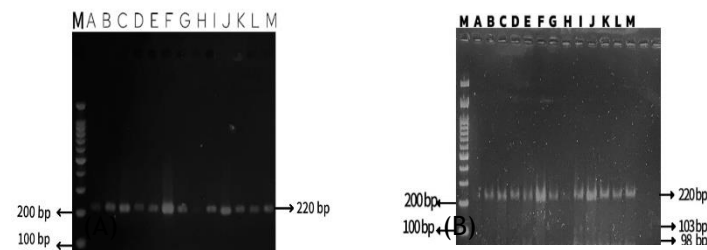
Sampel	Absorbansi $\lambda 260$	Absorbansi $\lambda 280$	Ratio	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g/ml}$)
A	7.269	7.143	1.020	178.3
B	7.209	7.183	1.004	173.0
C	7.222	7.008	1.035	180.1
D	7.509	7.071	1.070	195.9
E	7.124	7.031	1.015	173.2
F	7.208	6.984	1.036	180.0
G	7.153	6.871	1.047	180.4
H	7.091	6.807	1.047	178.8
I	7.167	6.894	1.045	180.6

Sampel	Absorbansi $\lambda 260$	Absorbansi $\lambda 280$	Ratio	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g/ml}$)
J	7.095	6.741	1.060	181.5
K	7.046	6.868	1.029	173.9
L	7.182	6.828	1.059	183.9
M	7.059	6.829	1.038	176.4

Dari Tabel 1 di atas didapatkan ratio atau kemurnian DNA pada sampel <1.8 .

1. Hasil Visualisasi Gen TNNT2

Gen TNNT2 yang telah dielektroforesis ini dapat dilihat dengan menggunakan alat UV Transluminator yang dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen TnnT2 (A) sebelum dan (B) sesudah di gesti

DISKUSI

Hipertensi merupakan faktor resiko terjadinya penyakit jantung. Hal ini di karenakan hipertensi dapat membuat otot-otot jantung mengalami penebalan dan kekakuan sehingga membuat jantung kesulitan untuk memompa darah. Pada penyakit jantung disebabkan oleh penyempitan atau penyumbatan pada pembuluh darah yang menyuplai darah ke otot jantung. Tropomiosin terdapat dalam jaringan otot polos dan lurik, yang dapat ditemukan di berbagai organ dan sistem tubuh, termasuk jantung yang mengkode protein tropomiosin yang bisa digunakan pada standar parameter pemeriksaan penyakit jantung. Protein tropomiosin terekspresi dari DNA TnnT2. Terjadinya mutasi pada DNA TnnT2 dapat menyebabkan adanya perubahan protein yang dihasilkan. Perubahan pada DNA dapat menyebabkan perubahan fungsi dari protein.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-juni 2024 di Laboratorium Diagnostik Molekuler Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala Waluya Kendari. Pada Penelitian ini bertujuan mendeteksi mutasi gen TnnT2 dengan menggunakan sampel darah penderita hipertensi.

Gen TnnT2 merupakan gen yang mengkode isoform otot jantung. Protein yang dikodekan adalah tropomiosin yang terikat dengan subunit dari troponin kompleks yang terletak pada filamen tipis otot lurik dan mengatur kontraksi otot sebagian respon terhadap perubahan konsentrasi ion kalsium intraseluler. Dalam jantung manusia, beberapa isoform troponin T. Isoform ini semua berasal dari transkripsi gen tunggal TnnT2 yang terletak pada kromosom 1q32. Keanekaragaman isoform dicapai dengan penggunaan ekson alternatif dan situs penerimaan alternatif dan menyajikan organisasi gen TnnT2 manusia, yang terdiri dari 17 ekson yang tersebar lebih dari 17 kb.

Berdasarkan jenis kelamin, perempuan dalam penelitian ini melaporkan tingkat hipertensi yang lebih tinggi (62%) dibandingkan laki-laki (38%). Baik pria maupun wanita sama-sama berpotensi terkena hipertensi, namun wanita lebih rentan terkena hipertensi akibat ketidakseimbangan hormonal. Prevalensi hipertensi, yang terutama ditemukan pada wanita, sejalan dengan teori bahwa wanita lebih mungkin terkena hipertensi selama menopause dibandingkan pria (Maringga dan Nunik, 2020).

Berdasarkan temuan penelitian lamanya seseorang menderita hipertensi yang meliputi 2 responden yang sudah menderita selama 6-10 tahun dengan persentase 15% dan 11 responden yang sudah menderita selama 3-5 tahun dengan persentase 15%. sebesar 85%. Hipertensi jangka panjang dapat menyebabkan sejumlah masalah kesehatan, termasuk gagal jantung, gagal ginjal, dan stroke. Namun selain dampak medisnya, hipertensi juga dapat menyebabkan masalah psikologis seperti kecemasan (Suciana, dkk. 2020).

Identifikasi molekuler dimulai dengan isolasi DNA genom. Tujuan isolasi DNA adalah untuk memperoleh DNA murni yang tidak terkontaminasi komponen sel lain seperti protein dan karbohidrat. (Murtiyaningsih, 2017). Penggunaan kit ekstraksi pada penelitian ini terdiri dari larutan PBS yang berfungsi untuk mengatur pH, Proteinase K untuk mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen sel darah, GSB Buffer yang berfungsi dalam proses lisis sel sehingga DNA dapat keluar dari dalam sel, Ethanol Absolut berfungsi sebagai pelarut untuk mengurangi kontaminan yang mengikat DNA, Buffer W1 digunakan untuk menghilangkan residu protein yang mungkin telah terikat pada DNA selama langkah pencucian sampel awal. Buffer pencuci kemudian digunakan untuk menghilangkan

garam dari buffer sebelumnya, dan buffer Elusi digunakan untuk melarutkan DNA dengan mengeluarkannya dari membran.

Analisis kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Prinsip metode spektrofotometer sinar absorbansi UV adalah pemanfaatan panjang gelombang tertentu yang dapat ditangkap oleh molekul DNA. Kemurnian DNA ini diperlukan untuk efektifitas kerja enzim restriksi dalam memotong genom DNA (Prayoga dkk.,2020). Hasil isolasi DNA dikatakan baik apabila didapatkan DNA yang murni dan utuh. Untuk mengetahui konsentrasi dan tingkat kemurnian suatu DNA dapat dilakukan dengan cara mengukur konsentrasi suatu DNA menggunakan Spektrofotometer. Konsentrasi DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah berkisar 173,0 µg/ml - 195,9 µg/ml. Konsentrasi paling rendah terdapat pada sampel B sedangkan konsentrasi paling tinggi terdapat pada sampel D. Uji kuantitatif DNA dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 260 nm sehingga diperoleh nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi. Untuk melihat kemurnian hasil isolasi maka dapat ditentukan dengan melihat nilai rasio antara absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Pada penelitian ini, didapatkan ratio atau kemurnian DNA pada sampel <1.8. Kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan. Molekul DNA dikatakan murni jika rasio λ_{260} dengan λ_{280} berkisar 1.8 -2.0. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1.8 maka masih ada kontaminasi protein atau fenol di dalam larutan. Rasio <1.8 menunjukkan DNA hasil ekstraksi terkontaminasi protein sedangkan rasio >2.0 menunjukkan DNA yang terkontaminasi oleh RNA. Namun demikian kontaminasi tersebut tidak mengganggu proses PCR sehingga ini dapat digunakan dalam proses PCR.

Hasil isolasi DNA kemudian di PCR menggunakan primer TnnT2 R dan F, selanjutnya dilakukan visualisasi DNA dengan gel agarose 1,5% menggunakan UV transluminator. Dari 13 sampel pasien penderita Hipertensi didapatkan hasil 13 sampel positif . Sampel positif ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran 220 bp, sesuai dengan rekomendasi dari penelitian dengan menggunakan primer yang menandai ekson 3, 4, dan 5 dari gen TnnT2.

Sampel yang positif kemudian di digesti dengan menggunakan enzim *EcoRV* (*Eco321*). Pada hasil digesti produk PCR gen TnnT2 memperlihatkan pita DNA berukuran 220 bp pada sampel A-M namun tidak terdapat pita DNA berukuran 103 bp dan 98 bp pada sampel. Terlihat Pada (Tabel 10), pada 13 sampel adalah negatif atau

tidak terjadi mutasi gen TnnT2 pada penderita hipertensi. Jika terjadi mutasi pada gen TnnT2 dapat menyebabkan penyakit jantung. Jika mutasi di temukan ada risiko kematian mendadak pada usia muda. Namun, tidak terjadinya mutasi gen TnnT2 disebabkan beberapa faktor seperti ketidaksesuai enzim yang digunakan. Enzim restriksi yang digunakan pada ekson 3 untuk mendeteksi mutasi gen tnnt2 yaitu EcoRI dikarenakan enzim restriksi EcoRV yang digunakan mendeteksi exon 4 sedangkan primer yang digunakan berada pada ukuran 220 bp pada ekson 3 (Wiradiputra, 2016) yang menandakan tidak adanya mutasi disebabkan karena belum tercapainya keseimbangan jumlah enzim dengan substrat DNA.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa mutasi gen TnnT2 exon 3 pada serum pasien penderita hipertensi dengan menggunakan enzim restriksi *EcoRV* diperoleh hasil pita DNA yang berukuran 220 bp tidak adanya mutasi pada gen TnnT2 pada penderita hipertensi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas Poasia dalam memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

- Amir Trisia Lusiana, 2018. *Mutasi Gen*. Universitas Esa Unggul
- Angraini, N., Fitri, Y. 2021. Penggunaan spektrofotometer Uv-Vis untuk analisis nutrisi fosfat pada sedimen dalam rangka pengembangan modul praktikum.
- Ansar, J., Indra, D., Apriani, M. 2019. Determinan Kejadian Hipertensi pada Pengunjung Posbindu Wilayah Kerja Puskesmas Ballaparang Kota Makassar. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan (JNIK)* Vol 1.No 3.

- Ariyani Audina Rosyada. 2020. Kejadian hipertensi pada usia 45-65. *Higeia journal of public helath research and development*. Vol 4 No.3.
- Arum Yuniar Tri Gesela, 2019. Hipertensi Pada Penduduk Usia Produktif (15-64 Tahun). *Higeia Journal Of Public Health Research And Development* Vol 3 No 3.
- Azizah Wafiq , Uswatun Hasanah, Asri Tri Pakarti. 2022. Penerapan Slow Deep Breathing Terhadap Tekanan Darah Pada Pasien Hipertensi. *Jurnal Cendikia Muda* Volume 2, Nomor 4.
- Bell K, Twiggs J, Olin BR. 2015. Hypertension: The Silent Killer: Update JNC-8 Guideline Recommendations.
- Fath Raja Al, Widya Iswara, Arif Rahman Sadad , Intarniati Nur Rohmah , Sigid Kirana Lintang Bhima. 2020. Kematian Mendadak Akibat Kardiomiopati Hipertrofi Pada Dewasa Muda, *Jurnal Medica Hospitalia*. Vol 7 No 2.
- Febriana, S., Asvin, N., Ulang, B. 2016. Penilaian Uji Troponin I Dengan Point Of Care Testing. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*, Vol. 22, No. 2.
- Gao, G., Guohui, L., Weiwei, C., Yailang, T., Cuiying, M., Jinsha, L., Xing, Z., Max, M. H., Ping, Y. 2020. A novel nonsense mutation in TNNT2 in a Chinese pedigree with hypertrophic cardiomyopathy A case report. *Medicine*. Vol 99 No 34.
- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*.Vol 2 No1.
- Irawan, A. 2019. Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal Of Laboratory*, Vol. 1, No. 2.
- Kartika, M., Subakir, Eko, M. 2021. Faktor-Faktor Risiko yang Berhubungan dengan Hipetensi di Wilayah Kerja Puskesmas Rawang Kota Sungai Penuh Tahun 2020. *Jurnal Kesmas Jambi*. Vol 5 No 1.
- Kaviarasan V., Mohammed V., Veerabathiran R. 2022. Genetic Predisposition Study Of Heart Failure And Its Association With Cardiomyopathy. *Egypt Heart J.* ;74:5
- Kementerian Kesehatan RI. (2021). Info Data dan Informasi: Hipertensi.
- Khaira, A., Livia, J., Nafisa, A., Rinti, M. S. dan Afifatul, A. 2022. Analisis variasi genetik Sapi (Bos Taurus) pada sekuen gen Cytochrome Oxidase Subunit 1(COI) menggunakan RFLP in silico. *Prosiding SEMNAS BIO*. ISSN : 2809-8447

- Leksana, E., Ika, C. P. 2014. Troponin Dan Manajemen Iskemia Miokardium Perioperatif. *Anesthesia & Critical Care*, Vol. 32, No. 1
- Li, Y. D., Y.T. Ji., X.H. Zhou., H.L. Li., H.T. Zhang., Y. Zhang., J.X. Li., Q. Xing., J.H. Zhang., Y.F. Hong., dan B.P. Tang. 2015. Significance Of Sarcomere Gene Mutation In Patients With Dilated Cardiomyopathy. *Genetics And Molecular Research*, Vol. 14, No. 3 : 11200-11210
- Lustia Elin, 2023. Deteksi gen TnnT2 pada penderita hipertensi dengan menggunakan metode PCR. Fakultas sains dan teknologi Universitas mandala Waluya
- Madri, M. 2017. Kontraksi Otot Skelet. *Jurnal Menssana*. Vol. 2, No. 2.
- Maheshwarappa Harish Mallapura dan Akshatha V Rai. 2022. Relevansi Peningkatan Troponin I pada Individu dengan Hipertensi Darurat. *Indian of journal critical care medicine*. Vol 26. No.7.
- Marian, A. J. 2022. Molecular Genetic Basis of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Author Manuscript*. 128 (10)
- Mingmin, L., Shuang, X., Lan, X., Hong, T., Junqing, Y., Zejia, W., Xuyu, H., Liwen, L. 2021. Genetic analysis using targeted next-generation sequencing of sporadic Chinese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Trans Med*. 13 (189).
- Oh Gyu Chul Dan Hyun-Jai Cho. 2020. Tekanan Darah Dan Gagal Jantung. *Oh Dan Cho Clinical Hypertension*, 26:1.
- Pettinato, A. M., Ferial, A. L., David, J. M., Nicholas, L., Rachel, C., Robert, R., Ketan, T. Yu-sheng, C., dan J. Travis, H. 2020. Development of a Cardiac Sarcomere Functional Genomics Platform to Enable Scalable Interrogation of Human TNNT2 Variants. *Circulation*. 142 (23).
- Prayogo, F.A., Anto, B., Kusumaningrum, H.P., Wijanarka, W., Agung, S. dan Nurhayati, N. 2020. Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 18:39
- Sasrawati Dian dan Nur Lina, 2020. Faktor Risiko Penyakit Jantung Pada Masyarakat Di Pos Pembinaan Terpadu (Posbindu) Puskesmas Cibeureum. *Gorontalo journal health and sciene community*. Vol 4 no 1.
- Schuldt, M., Jamie, R. J., Huan, H., Roy, H., Jiayi, P., Magdalena, H., Corrado, P., Michelle, M., Diederik, W. D., Kuster., Jose, R. P., dan Jolanda, v. d. V. 2021. Mutation location of HCM-causing troponin T mutations defines the degree of myofilament dysfunction in human cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 77-90
- Septiasari Ni Putu Senshi, I Ketut Junitha, Ni Nyoman Wirasiti. 2023. Optimasi digesti enzim restriksi untuk deteksi mutasi daerah D-loop DNA mitokondria dengan metode PCR-RFLP. Vol 27. No.1.

- Sinaga, A.O.Y., Lollie, A.P.P. dan Luthfi, A.M.S. 2015. Analisis keragaman genetik andaliman Sumatera Utara menggunakan marka RAPD. *Jurnal Agroekoteknologi*. Vol. 3, No. 1
- Suciana Fitri, Nur Wulan Agustina, Mifta Zakiatul.2020. Korelasi lama menderita hipertensi dengan tingkat kecemasan penderita hipertensi. *Jurnal keperawatan dan kesehatan masyarakat stikes cendikia utaman kudas*. Vol.9 no 2.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Bandar Lampung, Anugrah Utama Raharja.
- Tobacman, I. S. 2021. Troponin Revealed: Uncovering The Structure Of The Thin Filament On-Off Switch in Striated Muscle. *Biophysical Journal*. 120, 1-9.
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., Tomaszewski, M., Wainford, R. D., Williams, B., & Schutte, A. E. (2020). Clinical Practice Guidelines 2020 International Society Of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines International Society Of Hypertension. *Journal Of The American Heart Association*, 1334-1357.
- Vonsa Lisa Devira, Zaim Anshari. 2022. Hubungan Pengetahuan Sikap Dan Tindakan Dengan Kejadian Penyakit Hipertensi Di Wilayah Kerja Rumah Sakit Umum Sundari Medan Tahun 2020." *Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara* 21.1 (2022): 129-133.
- Warjiman, Unja Ermeisi Er, Gabrilinda, Yohana, Hapsari, Fransiska Dwi. 2020. Skrining dan edukasi penderita hipertensi. *Jurnal suaka insan mengabdi (jsim)*. vol.2 no.1.
- Wiradiputra Made Rai Dwitya, Sagung Chandra Yowani, I Nengah Wirajana. 2016. Deteksi mutasi kodon 510 dan 511 daerah RRDR gen rpoB pada isolat klinik *mycobacterium tuberculosis* multidrug resistan di bali dengan pcr-rflp. *Jurnal cakra kimia*. Vol 4. No 2.
- Xiaping Rong Luo, Haiyong Gu, Yun Deng, Xiaolei Xu, Xiushan Wu, and Wei Hua. 2014, Cardiac Troponin T (TNNT2) Mutations in Chinese Dilated Cardiomyopathy Patients. *BioMed Research International*.

DETEKSI GEN *E6* SEBAGAI PENANDA INFEKSI *HUMAN PAPILOMA VIRUS* (HPV) PADA IBU HAMIL DENGAN RIWAYAT KEGUGURAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) DI PUSKESMAS PUUWATU KOTA KENDARI

Sanatang¹ · Musdalifah Meronda² · Titi Purnama³ · Waode Azkiya'tul Fauziyah⁴

^{1,2,3,4} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala
Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: titipurnam@gmail.com
No Tlp WA : 085338078890

Abstract

A history of miscarriage in pregnant women is a risk factor for infection with the Human Papilloma Virus (HPV), a virus that can cause infections on the surface of the genital skin, which can cause cervical cancer. One of the antigens that codes for HPV infection is the E6 gene. The E6 gene is a gene that has great potential as an HPV target. This research aims to detect the E6 gene in pregnant women who have a history of miscarriage using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The type of research carried out is qualitative research. The population in this study was 15 pregnant women who had a history of miscarriage at the Puuwatu Community Health Center, while the number of samples used was 13 respondents. This research method consists of DNA isolation, DNA concentration measurement, DNA amplification of the E6 gene and DNA visualization. The research results show that in table 4 the respondents in this study were mostly aged 26-35 years with a percentage of 46% having a history of miscarriage. 1 sample was positive for the formation of a band measuring 476 bp which indicated the presence of the E6 gene as a marker of Human Papilloma Virus (HPV) infection in the sample code A4 with a 44 year old pregnant woman and a history of 4 miscarriages.

Keywords : *Pregnant Women, History of Miscarriage, Human Papilloma Virus (HPV), E6 Gene, Polymerase Chain Reaction*

Abstrak

Riwayat keguguran pada ibu hamil merupakan salah satu faktor resiko infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) adalah virus yang dapat menyebabkan infeksi dipermukaan kulit kelamin, yang dapat menyebabkan kanker serviks, salah satu antigen yang mengkode infeksi HPV adalah gen *E6*. Gen *E6* merupakan gen yang berpotensi besar sebagai target HPV. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *E6* pada ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jenis penelitian yang dilakukan adalah menggunakan penelitian kualitatif. Populasi dalam penelitian ini ialah sebanyak 15 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran Di Puskesmas Puuwatu, sedangkan jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 responden. Metode penelitian ini berupa isolasi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, amplifikasi DNA gen *E6* dan Visualisasi DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tabel 4 responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran. 1 sampel yang positif terbentuknya pita berukuran 476 bp yang menandakan bahwa adanya gen *E6* sebagai penanda infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) pada sampel kode A4 dengan ibu hamil berusia 44 tahun dan memiliki riwayat keguguran sebanyak 4 kali.

Kata Kunci : *Ibu Hamil, Riwayat Keguguran, Human Papiloma Virus (HPV), Gen E6, Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan kanker tersering pada wanita dan merupakan penyebab kematian terbanyak ketiga diseluruh dunia penyebab kematian pertama di negara berkembang. Bukti kuat pendukung kanker serviks disebabkan oleh infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV), dengan resiko tinggi *Human Papiloma Virus* (HPV) sebtipe genital meningkatkan resiko beragam penularan (Simangungsong dkk., 2019). Kanker serviks juga merupakan satu-satunya kanker yang disebabkan oleh terjadinya infeksi virus *Human Papiloma Virus* (HPV) sub tipe onkogenik. Penularan virus ini bisa terjadi melalui hubungan seksual, terutama dengan pasangan yang sering berganti. *Human Papiloma Virus* ini memiliki sekitar 130 tipe dan yang paling sering menginfeksi pada manusia yaitu tipe 6, 11, 16 dan tipe 18 (Setianingsih dkk.,2022).

Berdasarkan data *Global Burdenof Cancer* (GLOBUCAN) tahun 2020, secara global kanker serviks menempati urutan keenam terbanyak pada wanita di dunia. Pada tahun 2020, perkiraan 604.000 wanita didiagnosis kanker serviks di seluruh dunia dan sekitar 342.000 wanita meninggal karena kanker serviks (Khabibah dkk., 2022). *The International Agency For Reseachon Cancer* (IARC) menyebutkan bahwa terdapat 408.661 kasus baru dan sebanyak 242,988 kematian di indonesia pada tahun 2022 selain itu IARC memprediksi terjadi peningkatan 77% kasus kanker pada tahun 2050 (Kemenkes, 2024).

Data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara jumlah kasus kanker serviks diseluruh Puskesmas Kota Kendari pada tahun 2023 ditetapkan sebanyak 8 kasus kanker serviks (Dinkes kota kendari, 2023). Prevalensi penderita kanker serviks di Sulawesi Tenggara yaitu sebesar 1,1 atau diperkirakan sekitar 2,608 orang jumlah tersebut masih berada dibawah rata-rata nasional (Heyrani dkk., 2023). Berdasarkan data yang diperoleh di Puskesmas Puuwatu Kendari ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran pada tahun 2022 dari Januari sampai Desember terhitung sebanyak 88 orang, sedangkan pada tahun 2023 dari bulan Januari sampai Desember di tetapkan sebanyak 119 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran. Sampel yang diambil pada penelitian ini pada bulan Desember 2023 sebanyak 15 orang (Puskesmas Puuwatu, 2024).

Infeksi HPV berperan penting dalam proses perkembangan kanker serviks, yang merupakan salah satu pendorong penting terjadinya kanker serviks. Gen HPV

berintegrasi ke dalam genom sel serviks, kemudian mengubah keadaan genom sel serviks, yang pada akhirnya menciptakan perubahan penting dalam perilaku biologis sel serviks, seperti mengubah keadaan kekebalan normal sel serviks, (Yangchun dkk., 2020).

Early Region (E) sekitar 45% dari genom terdiri dari protein E1, E2, E3, E4, E5, E6 dan E7. Protein E1 berperan dalam kontrol replikasi episomal DNA, protein E2 berperan dalam siklus hidup yang menekan atau mengaktifkan promotor virus, protein E4 terlibat dalam pematangan partikel virus dan protein E5 bergabung dalam membran sitoplasma, dua onkoprotein transformasi dihasilkan oleh E6 dan E7 (Liptinwati, 2014). Gen E6 adalah gen yang menghasilkan *oncoprotein* yang menghambat kerja dari protein penghambat tumor yakni protein p53 melalui protein ligase E6. Akibatnya proses transkripsi dari p53 dan proses apoptosis terhambat.

Abortus adalah penghentian kehamilan sebelum janin dapat hidup di luar rahim yang usia kurang dari 20 minggu usia kehamilan dengan berat janin kurang dari 500 gram. Sebagian besar abortus spontan terjadi segera setelah kematian janin yang kemudian diikuti dengan perdarahan ke dalam desiduas basalis, lalu terjadi perubahan-perubahan nekrotik pada daerah implantasi, infiltrasi sel-sel peradangan akut dan akhirnya perdarahan vagina yang menyebabkan hasil kontrasepsi terlepas dan dianggap benda asing dalam uterus. Kemudian uterus berkontraksi untuk mengeluarkan benda asing tersebut (Purwaningrum dan Arulita, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Pranani dkk., (2019) yang dijadikan sebagai sumber referensi, optimasi deteksi gen E6 pada *Human Papiloma Virus* resiko tinggi dengan *Polymerase Chain Reaction* untuk mendiagnosis adanya HPV yang beresiko tinggi pada DNA yang terisolasi jaringan kanker serviks. Gen E6 merupakan gen yang sangat dibutuhkan oleh HPV untuk bertahan hidup, sehingga dapat meningkatkan kemungkinan tingginya tingkat replikasi gen E6 pada saat virus menginfeksi sel inang, gen E6 juga berperan dalam mengganggu siklus sel melalui inaktivasi tumor suppresor protein p53 serta memfasilitasi replikasi virus (Pranani dkk., 2019).

Penelitian menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengetahui keberadaan gen E6 pembawa virus *Human Papiloma Virus* (HPV) pada wanita dengan riwayat keguguran belum pernah dilakukan sebelumnya. Sehingga penelitian ini menggunakan metode PCR untuk membantu dalam mendeteksi adanya

gen pembawa HPV pada wanita dengan riwayat keguguran. Oleh karena itu berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Deteksi Gen *E6* Sebagai Penanda Infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) Pada Ibu Hamil Dengan Riwayat Keguguran Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Di Puskesmas Puuwatu Kota Kendari”.

BAHAN DAN METODE

Populasi dalam penelitian ini ialah sebanyak 15 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran Di Puskesmas Puuwatu Kota Kendari, sedangkan jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 responden. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung darah, tabung ependeroff 1,5 , PCR thermocycler, tabung PCR, elektroforesis, sentrifuge, mikropipet, tip, UV transilluminator, cetakan agarose, kulkas, vortex, mini Laminar Air Flow, waterbath, spektrofotometer Uv-Vis. Bahan yang digunakan yaitu serum, kit isolasi DNA (Geneaid), master mix (Geneaid), Gel Red (Biorad), gel agarose, buffer TAE 1X, primer *E6*, etidiumbromide, DNA marker, water freenuclease dan Proteinase-K.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode PCR dengan melalui tiga tahapan penting dalam proses PCR, yaitu tahap denaturasi, annealing (penempelan primer) dan extension (pemanjangan primer).

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan menggunakan metode kualitatif, yaitu dengan melihat gen *E6* yang ada pada serum ibu hamil dengan riwayat keguguran. Metode penelitian yaitu metode *Polymeration Chain Reaction* (PCR).

HASIL

1. Kriteria Responden Berdasarkan Umur

Kriteria responden berdasarkan umur dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Distribusi frekuensi responden berdsarkan umur di Puskesmas Puuwatu

No.	Umur	Kategori	Jumlah	Presentase (%)
1.	17-25 tahun	Remaja akhir	2	15
2.	26-35 tahun	Dewasa awal	6	46
3.	36-46 tahun	Dewasa akhir	5	38
4.	Total		13	100

(Sumber Data Primer, 2024)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran.

2. Kriteria Responden Berdasarkan Riwayat Keguguran

Kriteria responden berdasarkan jenis kelamin dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Distribusi frekuensi responden berdasarkan riwayat keguguran di Puskesmas Puuwatu

No.	Riwayat keguguran	Jumlah	Presentase (%)
1.	1 kali	6 orang	46
2.	2 kali	4 orang	31
3.	3 kali	2 orang	15
4.	4 kali	1 orang	8

(Sumber Data Primer, 2024)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan responden yang memiliki riwayat keguguran paling banyak 4 kali dengan presentase 8% berjumlah 1 orang.

3. Hasil Pengukuran Kualitas dan Kuantitas DNA

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel serum pada ibu hamil memiliki riwayat keguguran. Untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil pengukuran DNA yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut ini :

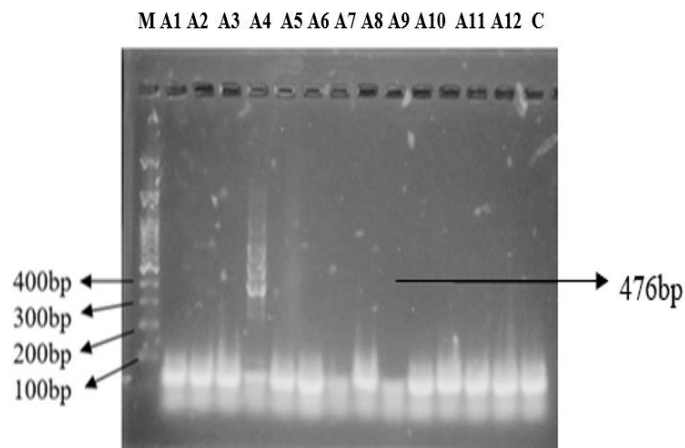
Tabel 3. Hasil pengukuran konsentrasi DNA menggunakan alat spektrofotometer

No	Sampel	Absorbansi λ 260 nm	Absorbansi λ 280 nm	Ratio (λ 260 nm/ λ 280 nm)	Konsentrasi DNA (μ g/ml)
1.	A1	4,300	3,854	1,130	120,3
2.	A2	4,524	5,003	0,893	93,22
3.	A3	4,526	4,355	1,044	116,7
4.	A4	0,102	0,089	1,842	1,263
5.	A5	0,097	0,086	1,716	1,117
6.	A6	0,097	0,086	1,703	1,102
7.	A7	0,096	0,085	1,735	1,102
8.	A8	0,096	0,084	1,730	1,122
9.	A9	0,096	0,084	1,751	1,102
10.	A10	0,094	0,083	1,733	1,100
11.	A11	0,095	0,084	1,711	1,093
12.	A12	0,094	0,084	1,702	1,093
13.	A13	0,093	0,085	1,632	0,974
14.	C	0,093	0,083	1,692	1,024

(Sumber Data Primer 2024)

4. Hasil Visualisasi DNA Gen E6 Pada Serum Ibu Hamil Yang Memiliki Riwayat Keguguran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil visualisasi DNA terhadap gen *E6* pada ibu hamil dengan riwayat keguguran, dapat jelaskan pada gambar berikut :



Gambar 1. Hasil visualisasi gen *E6* (A1-A13)

Berdasarkan hasil elektroforesis gambar diatas menunjukkan bahwa dari 13 sampel serum ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran terdapat 1 sampel yang dinyatakan positif mengandung gen *E6* sebagai penanda infeksi HPV dengan besar target pita DNA 476 bp.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Juli 2024 di Laboratorium Diagnostik Molekular Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya. Penelitian ini menggunakan sampel serum pada ibu hamil dengan riwayat keguguran. Total sampel yang digunakan terdiri dari 14 sampel, 13 diantaranya sampel serum ibu hamil dengan riwayat keguguran dan 1 sampel serum ibu hamil yang tidak memiliki riwayat keguguran. Pemeriksaan dengan metode PCR bertujuan untuk mendeteksi adanya gen *E6* yang ada pada *Human Papiloma Virus*.

Human Papiloma Virus merupakan virus berukuran kecil (55nm) yang tidak memiliki kapsul dan mengandung materi genetik berupa deoxyribonucleic acid (DNA), infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) merupakan penyebab timbulnya kanker serviks (Trianto dan Anny, 2021). Kanker serviks adalah kanker yang terjadi pada uterus suatu daerah organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk kearah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dengan liang senggam (vagina)

(Mardinah, 2017). Riwayat keguguran

Tabel 1 yang menunjukkan bahwa responden berdasarkan umur pasien dari 13 sampel yang terbanyak yaitu usia remaja akhir (17-25 tahun) sebanyak 5 responden dengan presentase 38% yang menderita TB. Hal ini sejalan dengan penelitian Datulog, dkk., (2015) yang menggambarkan bahwa kelompok usia produktif mempunyai mobilitas yang sangat tinggi sehingga kemungkinan terpapar dengan kuman *Mycobacterium tuberculosis* lebih besar. Selain itu reaktifan endogen (kembali aktif yang telah ada dalam tubuh) dapat terjadi pada usia yang sudah tua.

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi keberadaan gen *E6* pada *Human Papiloma Virus* (HPV) penyebab kanker serviks. Untuk mendeteksi keberadaan gen *E6* pada sampel serum ibu hamil dengan riwayat keguguran dilakukan pemeriksaan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses identifikasi gen *E6* dengan metode PCR dilakukan terlebih dulu proses isolasi DNA yang bertujuan memisahkan DNA dari partikel lainnya seperti lipid, protein, polisakarida, dan zat lainnya. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein dan karbohidrat, isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia (Murtiyaningsih, 2017).

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran. Hal ini sejalan dengan penelitian Mardianti (2019), pada ibu hamil yang berumur kurang dari 20 tahun organ reproduksinya belum matang sempurna sehingga kurang siap jika terjadi kehamilan, selain itu faktor psikologis yang belum siap untuk mejadi ibu juga memungkinkan menyebabkan terjadinya abortus. Sedangkan pada ibu hamil yang berusia lebih dari 35 tahun fungsi organ reproduksinya menurun sehingga jika terjadi kehamilan akan mengalami berbagai kompilkasi (Mardianti, 2019).

Berdasarkan hasil PCR menunjukkan bahwa 1 sampel yang positif terbentuknya pita berukuran 476bp pada sampel dengan kode A4 dengan usia ibu hamil yaitu 44 tahun dan memiliki riwayat keguguran 4 kali. Hal ini merupakan salah satu faktor resiko infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV). Bertambahnya usia diiringi dengan penurunan kinerja organ-organ dan kekebalan tubuh, maka tubuh

akan mudah terserang berbagai infeksi. Ibu hamil tersebut pernah mengalami keguguran berulang 4 kali, keguguran berulang ini dapat menimbulkan resiko terjadinya kanker serviks.

Hasil positif menunjukkan bahwa beberapa faktor resiko yang dapat memicu munculnya penyakit kanker serviks. Faktor yang paling penting dari kanker serviks adalah infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV). Disamping itu, faktor usia, jumlah anak, penggunaan alat kontrasepsi, dan riwayat keguguran juga merupakan salah satu faktor terjadinya kanker serviks. Gen *E6* yang digunakan pada penelitian ini merupakan gen yang sangat dibutuhkan oleh HPV untuk bertahan hidup, selain itu gen ini merupakan gen yang memiliki kemungkinan mengalami mutasi. Onkogen *E6* berperan dalam mengganggu siklus sel melalui inaktivasi tumor suppresor protein, yaitu p53. p53 adalah protein penekan tumor yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan dan pembelahan sel, serta dapat memfasilitasi replikasi virus. Pemeriksaan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki akurasi yang tinggi dan dapat menentukan sampai pada tingkat gen.

Berdasarkan hasil elektroforesis yang dilakukan dari 13 sampel ibu hamil dengan riwayat keguguran, 1 sampel yang dinyatakan positif mengandung gen *E6* terbentuk pita 476 bp dan 12 sampel negatif dengan pita DNA non spesifik yang merupakan amplifikasi DNA non-target PCR .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 13 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran yang dideteksi gen *E6*, terdapat 1 sampel yang positif terdeteksi gen *E6* dengan panjang pita DNA target 476 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas Puuwatu yang telah memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta terima kasih pula kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya Kendari.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFERENSI

- Chun, F.Y., Wang, S.Y., Zhang, Y., & Huang, Y.C. (2020). Genome Wide Profiling Of Human Papiloma Virus DNA Intergration Into Human Genome And ITS Influence On PD-L1 Experession In Chinese Uygur Cervical Cancer Women. *Journal Of Immunology Research*.
- Georgescu, R.S., Cristina, J.M., Madalina, I., Maria, I., Clara, M., & Ilincan, N. (2018). New Insinghts In The Pathogenesis Of HPV Infection and The Associated Carcinogeneic Processes The Role Of Chonic Infammation and Oxidative Stress. *Journal Of Immunologi Research*, 3(1), 2-10.
- Heyrani, Fonnle. E., Hasan., & Rosnah. (2023). Penggunaan Buku Saku Tentang Perilaku dan Pola Makan Beresiko Kanker Payudara Terhadap Pengetahuan dan Sikap Remaja Putri. *Jurnal Menara Medika*, 6(1), 28-37.
- Kemenkes RI. (2024). Profil Kesehatan Indonesia. *Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kota Kendari. (2023). Profil Kesehatan Sulawesi Tenggara Tahun 2023. *Kendari : Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara*.
- Lipinwati. (2014). Diagnosis Molekuler Human Papilloma Virus (HPV) Penyebab Kanker Serviks. *Jurnal Medical Junior*, 2(1), 78-86.
- Madiyanti, A.D., & Siti, K. (2016). Hubungan Dukungan Keluarga Dengan Pengobatan Kanker Serviks. *Jurnal Kesehatan Ilmiah*, 5 (9), 584-598.
- Murtiyahningsih, H. (2017). Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorfic DNA). *Jurnal Agritrop*, 15(1), 85-93.
- Pranani, D.A., Made, A.H., & Komang, J.P.P. (2019). Optimasi Deteksi Gen E6 Pada Human Papilloma Virus Risiko Tinggi Dengan Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Medika Udayana*. 8(11), 2597-8012.
- Purwaningrum, D.A., & Arulita, I.F. (2017). Faktor Resiko Kejadian Abortus Spontan. *Higie Journal Of Public Health Research and Development*, 1(3), 84-94.

- Puskemas Puuwatu. (2024). Data Ibu Hamil Yang Memiliki Riwayat Keguguran 2023.
- Setianingsih, E., Yuli, A., & Noveri, A. (2022). Literature Review : Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Terjadinya Kanker Serviks. *Jurnal Ilmiah Pannmed*, 17(1), 47-54.
- Simangunsong, A., Batara, S., & Hendrika, S. (2019). Karakteristik Penderita Kanker Serviks. *Jurnal Kedokteran Methodist*, 12(2), 24-31.
- Trianto, F.H., & Anny Setijo Rahaju. (2021). Patogenesis Infeksi Human Papiloma Virus Sebagai Dasar Dalam Pengembangan Pencegahan dan Terapi Baru Pada Kanker Serviks. *Majalah kesehatan*, 8(3), 171-181.

PREVALENSI INFEKSI CACING *SOIL TRANSMITTED HELMINTHES* (STH) PADA KUKU PETUGAS KEBERSIHAN SAMPAH DI SURABAYA UTARA

Siti Mas'an^{1*} · Anindita Riesti Retno Arimurti² · Vella Rohmayani³ · Diah Ariana⁴

^{1,2,3,4} Jurusan D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Indonesia

e-Mail^{*} : sitimasanlntu@gmail.com

No. Tlp WA : 085394113605

ABSTRACT

Soil Transmitted Helminth worm infection can occur in anyone who does not implement a clean and healthy lifestyle. One of the jobs that is at risk of being infected with *Soil Transmitted Helminth* worms (STH) is waste cleaners. The purpose of this research was to determine the prevalence of *Soil Transmitted Helminth* worm infection and the types of worms in nail samples of waste cleaners in North Surabaya. This type of research is descriptive research, using the 0.25% NaOH sedimentation method. The number of examination samples used in this research was 50 nail samples of waste cleaners in North Surabaya. The results of the research showed that nail samples contaminated with *Soil Transmitted Helminth* (STH) worm eggs were 2 samples with a percentage of 4% while nail samples not contaminated with *Soil Transmitted Helminth* worm eggs were 48 samples with a percentage of 96%. From the 2 infected nail samples, the species *Ascaris lumbricoides* was obtained. So, the level of *Soil Transmitted Helminth* worm infection in cleaning officers in North Surabaya is low, this is because waste cleaners always maintain personal hygiene, always wash their hands and use Personal Protective Equipment (PPE) when working.

Keywords: Waste cleaners, nails, worms, *Soil Transmitted Helminth*, North Surabaya

Abstrak

Infeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* dapat terjadi pada siapa saja yang tidak menerapkan perilaku hidup bersih dan sehat. Salah satu pekerjaan yang beresiko terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* (STH) yaitu petugas kebersihan sampah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui prevalensi infeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* dan jenis cacing pada sampel kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif, menggunakan metode sedimentasi (pengendapan) NaOH 0,25%. Jumlah sampel pemeriksaan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 50 sampel kuku tangan petugas kebersihan sampah di Surabaya utara. Hasil penelitian menunjukkan sampel kuku yang terkontaminasi telur cacing *Soil Transmitted Helminth* (STH) sebanyak 2 sampel dengan persentase 4% sedangkan sampel kuku yang tidak terkontaminasi telur cacing *Soil Transmitted Helminth* sebanyak 48 sampel dengan persentase 96%. Dari 2 sampel kuku yang terinfeksi didapatkan Jenis spesies *Ascaris lumbricoides*. Maka tingkat infeksi kecacingan *Soil Transmitted Helminth* pada petugas kebersihan di Surabaya Utara rendah, hal ini disebabkan karena petugas kebersihan sampah selalu menjaga *personal hygiene*, selalu mencuci tangan dan menggunakan Alat pelindung diri (APD) pada saat bekerja.

Kata Kunci: Petugas Kebersihan Sampah, Kuku, Cacing, *Soil Transmitted Helminth*, Surabaya Utara

PENDAHULUAN

Petugas kebersihan sampah adalah pekerja yang seringkali melakukan kontak fisik langsung dengan sampah dan seringkali di lingkungan yang kotor. Sehingga, petugas kebersihan sampah dapat dengan mudah terinfeksi penyakit yang menyebar melalui media tanah seperti kecacingan. Akibat dari infeksi kecacingan ialah bisa

mengganggu penyerapan (*absorbs*), pencernaan (*digestif*), pemasukan (*intake*), serta metabolisme makanan. Kecacingan dapat mengakibatkan kurangnya nutrisi yang kekurangan kalori, protein dan darah. Selain bisa mengganggu pertumbuhan tubuh, produktivitas kerja serta kecerdasan, juga kekebalan tubuh menurun, mengakibatkan rentan terinfeksi penyakit (Wibowo, 2022). Penyebab terinfeksi kecacingan pada petugas kebersihan sampah disebabkan karena kurangnya kesadaran terhadap *Personal hygiene*. *Personal hygiene* diperlukan dalam kenyamanan individu, keamanan dan kesehatan. Semua itu bentuk upaya untuk meningkatkan kesehatan diri. Kebersihan diri tidak hanya penting bagi kita, namun juga bagi orang di sekitar kita (Arimurti et al., 2023).

Salah satu penyakit yang menjadi perhatian, dikarenakan angkanya yang tergolong tinggi yaitu penyakit kecacingan. Lebih dari 1,5 miliar orang atau 24% dari populasi dunia telah terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* (STH), dimana penyakit ini menyebar dengan luas pada daerah tropis dan subtropis. Diperkirakan sekitar 300 juta orang di dunia menderita infeksi *helminth* (kecacingan) yang berat dan sekitar 150.000 orang diantaranya meninggal akibat infeksi STH (Gea, 2022).

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit cacing disebut kecacingan. Penyakit kecacingan merupakan penyakit yang banyak terjadi di seluruh negara, termasuk di Indonesia. Kecacingan dapat menyerang manusia tanpa melihat jenis usia, baik dewasa maupun anak-anak. Masalah kesehatan yang ditimbulkan oleh infeksi kecacingan cukup beragam mulai dari gejala mual, kurangnya nafsu makan, diare, anemia, penurunan kemampuan kognitif pada anak, hingga kematian apabila tingkat infeksi meningkat. Dampak dari kecacingan perlu diperhatikan karena karbohidrat yang dikonsumsi diserap oleh cacing *Ascaris lumbricoides* sehingga menyebabkan gangguan dalam penyerapan gizi dan dapat menjadi penyebab bertambahnya kasus malnutrisi (Fania et al., 2023).

Infeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* dapat terjadi pada siapa saja yang tidak menerapkan perilaku hidup bersih dan sehat. Terdapat pekerjaan yang beresiko terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* antara lain petugas pengangkut sampah. Selain petugas pengangkut sampah ada pekerja lain yang beresiko terinfeksi yaitu petugas penerima sampah yang bekerja di tempat pembuangan akhir. Petugas penerima sampah merupakan pekerja yang sering berada pada lingkungan yang kotor dan melakukan kontak langsung dengan bermacam-macam sampah. Petugas

penerima sampah lebih rentan terinfeksi penyakit yang penularannya melalui tanah (Hastuti, 2021). Petugas penerima sampah dapat terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminth* apabila saat bekerja tidak menggunakan alat pelindung diri seperti sarung tangan, sepatu boots. 3 Alat pelindung diri merupakan salah satu bagian penting untuk meminimalkan infeksi penyakit pada petugas penerima sampah. Selain itu *personal hygiene* dari para petugas penerima sampah sering diabaikan (Hastuti, 2021).

Berdasarkan data yang diterbitkan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2019, terdapat 1,5 miliar orang 24% dari populasi dunia telah terinfeksi *Soil Trasmitted Helminths* di seluruh dunia. Infeksi ini paling sering terjadi di daerah tropis dan subtropis, dengan jumlah orang yang terinfeksi terbanyak di negara Afrika sub-Sahara, Amerika, Cina, dan Asia Tenggara (WHO, 2020). Indonesia sendiri memiliki tingkat infeksi cacing yang relatif tinggi. Prevalensi kecacingan secara keseluruhan dapat dipengaruhi oleh iklim, perilaku tidak sehat, sosial ekonomi, usia, jenis kelamin, persediaan makanan dan air, pendidikan, dan perilaku individu. (Janah & Putri, 2023). Kecacingan didominasi oleh *Ascaris lumbricoides*, *Tricuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, *Strongyloides stercoralis*. Sedangkan Berdasarkan data SIMPUS DINKES kabupaten jombang pada tahun 2019, data terinfeksi cacing pada kabupaten jombang telah menyentuh angka 24,27% (Wibowo, 2022).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Agus Widodo (2019) mengatakan bahwa di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Jatibarang Semarang, didapatkan jenis telur cacing yang sering menginfeksi kuku petugas pengumpul sampah di TPA tersebut adalah *Ascaris lumbricoides* dengan prevalensi 10,5% dan *Trichuris trichiura* dengan prevalensi 7,4% (Istiqomah & Aisyah, 2023). Oleh karena itu, sangat penting untuk menjaga kebersihan diri dan menggunakan alat pelindung diri (sarung tangan) saat bekerja. Tetapi Petugas kebersihan sampah disurabaya utara masih kurangnya kesadaran terhadap *personal hygiene* dan menggunakan APD pada saat bekerja (Gea, 2022).

Berdasarkan Latar belakang tersebut, masih minimnya data serta penelitian tentang infeksi kecacingan pada petugas kebersihan sampah di Surabaya, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang prevalensi infeksi cacing pada kuku petugas kebersihan sampah agar dapat mengetahui infeksi telur dan larva

cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) yang ada pada kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif berbasis pengamatan di Laboratorium untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan cacing *Soil Transmitted Helminthes* pada kuku Petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara.

Populasi dalam penelitian ini adalah Seluruh petugas kebersihan sampah yang berada di Tempat pembuangan sementara (TPS) Surabaya Utara yang berjumlah 153 orang. Sampel penelitian ini adalah Petugas kebersihan sampah berjumlah 50 orang dari 4 Tempat pembuangan sementara (TPS) Di Surabaya Utara. Sedangkan Sampel Pemeriksaan pada penelitian ini adalah Kuku Jari tangan Petugas Kebersihan Sampah Di Surabaya Utara.

Sampling merupakan proses pengambilan sampel yang sesuai dengan kriteria untuk melakukan suatu pemeriksaan, sehingga diperoleh sampel yang sesuai dan berfungsi sebagai contoh (Pratama, 2023). Pada penelitian ini, sampel yang digunakan yaitu Kuku Jari tangan Petugas Kebersihan Sampah di Surabaya Utara. Teknik pengambilan sampel yaitu *Purposive sampling*.

Variabel penelitian ini adalah Keberadaan telur dan Larva cacing *Soil Transmitted Helminthes* pada kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara.

Lokasi pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan di 4 TPS Yaitu TPS Tambak wedi, TPS Tambak deres, TPS Tambak Rejo dan TPS Bulak banteng, yang berada di wilayah Surabaya Utara. Sedangkan lokasi pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024 sampai dengan bulan Juli 2024. Sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Mei 2024.

Pengumpulan data Penelitian ini didapatkan dengan 2 cara yaitu melakukan wawancara berupa kusioner pada petugas kebersihan sampah dan melakukan pemeriksaan langsung dengan sampel kuku jari tangan petugas kebersihan sampah, yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan kuku dengan menggunakan metode sedimentasi atau pengendapan NaoH 0,25%. Alat yang

digunakan pada penelitian ini antara lain adalah: Pot sampel, object glass, cover glass, rak tabung, pipet tetes, tabung reaksi, batang pengaduk, pemotong kuku, pinset, timbangan analitik, gelas arloji, beaker glass, dan mikroskop. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Kuku jari tangan dan jari kaki petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara, NaOH 0,25 % Larutan Eosin 2% dan aquadest.

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui jumlah telur, larva dan cacing Soil Transmitted Helminthes yang ditemukan. Kemudian data disajikan dalam bentuk tabel dan diagram pie.

HASIL

Berdasarkan Hasil Pemeriksaan cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) pada kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara dengan jumlah 50 sampel yang diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya pada bulan Mei sampai bulan Juni 2024 dapat dilihat Pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil pemeriksaan prevalensi telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH)

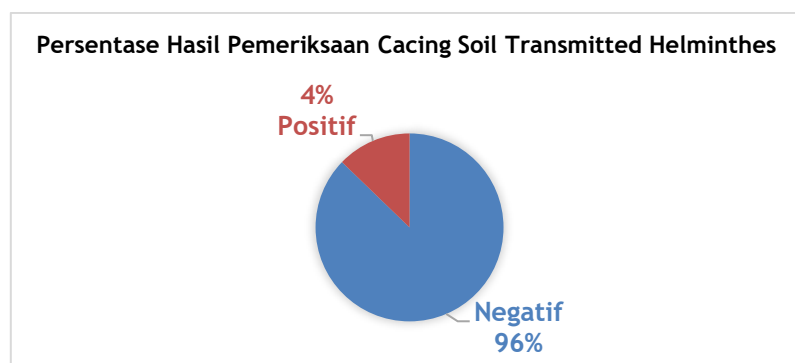
No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan		Keterangan
		Positif	Negatif	
1.	A1	0	1	Tidak ditemukan
2.	A2	0	1	Tidak ditemukan
3.	A3	0	1	Tidak ditemukan
4.	A4	0	1	Tidak ditemukan
5.	A5	0	1	Tidak ditemukan
6.	A6	0	1	Tidak ditemukan
7.	A7	0	1	Tidak ditemukan
8.	A8	0	1	Tidak ditemukan
9.	A9	0	1	Tidak ditemukan
10.	A10	0	1	Tidak ditemukan
11.	A11	1	0	Ditemukan telur <i>Ascaris lumbricoides</i>
12.	A12	0	1	Tidak ditemukan
13.	A13	0	1	Tidak ditemukan
14.	A14	0	1	Tidak ditemukan
15.	A15	0	1	Tidak ditemukan
16.	A16	0	1	Tidak ditemukan
17.	A17	0	1	Tidak ditemukan

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan		Keterangan
		Positif	Negatif	
18.	A18	0	1	Tidak ditemukan
19.	A19	0	1	Tidak ditemukan
20.	A20	0	1	Tidak ditemukan
21.	A21	0	1	Tidak ditemukan
22.	A22	0	1	Tidak ditemukan
23.	A23	0	1	Tidak ditemukan
24.	A24	0	1	Tidak ditemukan
25.	A25	0	1	Tidak ditemukan
26.	A26	0	1	Tidak ditemukan
27.	A27	0	1	Tidak ditemukan
28.	A28	0	1	Tidak ditemukan
29.	A29	0	1	Tidak ditemukan
30.	A30	0	1	Tidak ditemukan
31.	A31	0	1	Tidak ditemukan
32.	A32	1	0	Ditemukan telur <i>Ascaris lumbricoides</i>
33.	A33	0	1	Tidak ditemukan
34.	A34	0	1	Tidak ditemukan
35.	A35	0	1	Tidak ditemukan
36.	A36	0	1	Tidak ditemukan
37.	A37	0	1	Tidak ditemukan
38.	A38	0	1	Tidak ditemukan
39.	A39	0	1	Tidak ditemukan
40.	A40	0	1	Tidak ditemukan
41.	A41	0	1	Tidak ditemukan
42.	A42	0	1	Tidak ditemukan
43.	A43	0	1	Tidak ditemukan
44.	A44	0	1	Tidak ditemukan
45.	A45	0	1	Tidak ditemukan
46.	A46	0	1	Tidak ditemukan
47.	A47	0	1	Tidak ditemukan
48.	A48	0	1	Tidak ditemukan
49.	A49	0	1	Tidak ditemukan
50.	A50	0	1	Tidak ditemukan
Total		2	48	

Keterangan:

- a. Positif: Terinfeksi, Jika ditemukan telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH)

- b. Negatif: Tidak Terinfeksi, Jika tidak ditemukan telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH)



Gambar 1. Presentase Hasil Pemeriksaan Cacing Soil Transmitted Helminthes pada petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara

DISKUSI

Berdasarkan Penelitian yang dilakukan pada 50 sampel kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara, didapatkan 2 sampel kuku positif terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manurung, dkk (2023) pada 39 sampel kuku pemulung sampah di TPA Basirih Banjarmasin, didapatkan 2 (5%) sampel kuku yang terkontaminasi telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH). Sedangkan, berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jannah (2023) pada 24 sampel kuku tangan dan kuku kaki petugas pengangkut sampah di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Piyungan Bantul dengan menggunakan metode sedimentasi pengendapan NaOH, didapatkan sebanyak 5 sampel (20,8%) positif terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH). Sehingga, jika dibandingkan, maka persentase infeksi kecacingan pada penelitian ini lebih kecil dari pada penelitian sebelumnya.

Pada hasil identifikasi jenis cacing dari 2 sampel kuku yang positif terinfeksi *Soil Transmitted Helminthes*, merupakan spesies *Ascaris lumbricoides*. Berdasarkan hasil penelitian Listiany, dkk (2023) pada 25 sampel kuku petugas kebersihan lingkungan daerah Krian Sidoarjo, menunjukkan prevalensi infeksi telur *Ascaris lumbricoides* sebanyak 3 sampel (12%). Maka, dari hasil penelitian ini dan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa cacing yang sering menginfeksi pada manusia yaitu *Ascaris lumbricoides* (Listiany, et al., 2020) .

Berdasarkan hasil positif yang didapatkan pada penelitian ini, menunjukkan adanya beberapa faktor yang dapat menyebabkan infeksi *Soil Transmitted Helminthes* (STH) yaitu seperti kurangnya *personal hygiene*, mencuci tangan sesudah

bekerja dan tidak memakai APD pada saat bekerja. Dari data hasil kusioner didapatkan yaitu dari 50 responden yang mencuci tangan memakai sabun sesudah bekerja dan sebelum makan sebanyak 96% dan 4 % yang tidak mencuci tangan memakai sabun sesudah bekerja dan sebelum makan. Kemudian 86% responden yang memakai APD seperti sarung tangan dan Sepatu *booth* dan 14% lainnya tidak memakai APD seperti sarung tangan dan Sepatu *booth* Serta 88% responden yang memotong kuku minimal seminggu sekali dan 12% lainnya Tidak memotong kuku minimal seminggu sekali. Maka, dari hasil kusioner ini menunjukkan bahwa pentingnya *personal hygiene* yang sehat, kebiasaan mencuci tangan sebelum maupun sesudah bekerja, dan memakai APD saat bekerja dapat menekan prevalensi infeksi kecacingan *Soil Transmitted Helminthes* (STH) pada petugas kebersihan sampah.

Dari hasil penelitian ditemukannya telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) yang menginfeksi yaitu *Ascaris lumbricoides* dengan ciri-ciri yaitu bentuk bulat, memiliki dinding yang tebal terdiri dari 3 lapisan dan terdapat lapisan albuminoid bergerigi yang tebal. Spesies *Ascaris lumbricoides* merupakan salah satu jenis cacing yang perkembangbiakannya di tanah untuk menjadi infeksiif. Cacing ini paling banyak menyerang manusia. Cacing dewasa dapat bermigrasi ke saluran empedu, pankreas, mulut, atau hidung. Saat larva bermigrasi ke paru-paru dapat menimbulkan gejala batuk, sesak napas, dan muntah darah. *Ascaris lumbricoides* merupakan jenis cacing yang paling sering ditemukan menginfeksi manusia dengan tingkat infeksi yang biasanya lebih tinggi dibandingkan dengan jenis cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) yang lain. Selain karena iklim, hal ini disebabkan karena adanya lapisan hialin yang tebal dan lapisan albuminoid yang berbenjol kasar pada *Ascaris lumbricoides* sehingga dapat berfungsi melindungi isi telur (Gea, 2022). Infeksi penularan dapat melalui tangan yang tidak di cuci dengan air bersih dan tidak menggunakan sabun setelah kontak dengan tanah. tanah merupakan perantara terinfeksi cacing *Ascaris lumbricoides* pada stadium telur (Alfida, 2018).

Infeksi cacing merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit cacing berbahaya yang ditularkan melalui tanah atau *Soil Transmitted Helminths* (STH), salah satunya adalah *Ascaris lumbricoides* (Listiany, et.,al 2020). Cacing *Ascaris lumbricoides* dapat ditularkan melalui fecal oral yaitu dari kotoran kuku yang terkontaminasi oleh cacing tersebut. Saat tubuh terinfeksi, cacing *Ascaris lumbricoides* hidup di dalam usus halus dengan mengambil sari-sari makanan

sehingga mengakibatkan gangguan pada pencernaan dan gangguan aktifitas kerja bila kronis. Sehingga harus didasarkan pada aspek kebersihan personal yang baik (Gea, 2022). Infeksi kecacingan menjadi salah satu penyakit endemik kronik yang dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Penyakit ini umumnya tidak bersifat mematikan, namun jika dibiarkan tanpa adanya pengobatan dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan yang cukup serius mulai dari terjadinya gangguan pencernaan, anemia, kekurangan vitamin dalam tubuh hingga terjadinya kematian (Rohmayani *et al.*, 2023).

Faktor utama yang menyebabkan terjadinya infeksi cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) adalah faktor perilaku yang mencerminkan rendahnya sanitasi pribadi seperti, kebersihan kuku, mencuci tangan sebelum makan dan sesudah BAB serta sesudah bekerja yang berkontak langsung dengan tanah, jajanan disebarkan di tempat yang tidak terjaga kebersihannya dimana hal ini menyebabkan pencemaran tanah dan lingkungan oleh tinja yang berisi telur cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) (Manurung, *et al.* 2023).

Telur *Soil Transmitted Helminths* (STH) dikeluarkan melalui tinja orang yang terinfeksi. Telur cacing ini mencemari daerah yang tidak memiliki sanitasi yang layak. Infeksi tidak terjadi secara langsung dari satu orang ke orang lain atau dari tinja segar orang yang terinfeksi, karena telur dalam tinja membutuhkan waktu sekitar tiga minggu untuk matang di dalam tanah sebelum terinfeksi. Proses transmisi infeksi cacing tergantung pada kondisi lingkungan seperti iklim yang merupakan faktor penting dalam penularan infeksi cacing *Soil Transmitted Helminths*. Kelembaban optimal dan suhu hangat merupakan proses perkembangan telur dan larva menjadi infeksius (Janah and Putri, 2023).

Upaya pencegahan yang dapat dilakukan dalam menekan infeksi kecacingan *Soil Transmitted Helminthes* (STH) spesies *Ascaris lumbricoides*, bisa dilakukan dengan cara yaitu penyuluhan kepada petugas kebersihan tentang pentingnya menjaga *personal hygiene* seperti memotong kuku dan mencuci tangan sebelum bekerja dan juga setelah selesai bekerja. Selain itu juga dengan memakai alat pelindung diri saat bekerja (Wibowo, 2022).

Hasil Penelitian ini menunjukkan bahwa infeksi kecacingan *Soil Transmitted Helminthes* pada petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara lebih rendah atau lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Cacing *Soil Transmitted*

Helminthes juga dapat menginfeksi petugas kebersihan sampah karena selalu berkontak langsung dengan sampah dan tanah serta tidak menjaga *personal hygiene*. Maka, untuk menekan prevalensi infeksi kecacingan *Soil Transmitted Helminthes* pada petugas kebersihan sampah harus selalu menjaga *personal hygiene*, mencuci tangan sebelum makan dan sesudah bekerja, memakai APD seperti sarung tangan dan alas kaki pada saat bekerja serta selalu menjaga kebersihan lingkungan didalam maupun diluar rumah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pada 50 sampel kuku petugas kebersihan sampah di Surabaya Utara yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan, didapatkan: 1) Pada kuku petugas kebersihan sampah, didapatkan sampel positif terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) sebanyak 2 sampel dengan jumlah persentase sebesar 4%. Dan yang negatif sebanyak 48 sampel dengan jumlah persentase sebesar 96%. 2) Dari hasil 2 sampel kuku yang positif, didapatkan jenis spesies *Soil Transmitted Helminthes* (STH) yang meneginfeksi yaitu *Ascaris lumbricoides*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi dalam penyelesaian penelitian ini. Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Surabaya dan prodi D3 teknologi laboratorium medis serta Laboratorium mikrobiologi yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian ini dan menggunakan fasilitasnya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Untuk mengetahui ada atau tidaknya Infeksi Cacing *Soil Transmitted Helminthes* (STH) Pada Kuku Petugas Kebersihan Sampah Di Surabaya Utara.

REFRENSI

Alfida, A. A. (2018). Identifikasi Telur dan Larva Nematoda Usus Golongan Soil Transmitted Helminthes Dan Non Soil Transmitted Helminthes Pada Feses Dan Kotoran Kuku Penjual Tanaman Hias Di Surakarta. In *Karya Tulis Ilmiah* (pp. 1-54). Universitas Setia Budi.

Arimurti, A. R. R., Maulidiyanti, E. T. S., Azizah, F., Purwaningsih, N. V., Artanti, D.,

- & Sari, Y. E. S. (2023). Edukasi Dan Sosialisasi Cuci Tangan Pakai Sabun Di KB - TK Aisyiyah Kureksari Pasca Pandemi Covid-19. *Empowerment: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(4), 141-147. <https://doi.org/10.55983/empjcs.v2i4.408>
- Fania, R., Pramitaningrum, I. K., & Widada, N. S. (2023). Identifikasi Telur Cacing *Ascaris lumbricoides* pada Kuku Petugas Pasukan Laskar Hijau di Kebun Bibit Jakarta Selatan. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes RI Pangkalpinang*, 11(1), 60-67.
- Gea, S. I. L. (2022). *Perbandingan Gambaran Telur Nematoda Usus Soil Transmitted Helminthes Pada Kuku Petugas Sampah Dan Petani systematic Review*.
- Hastuti, N. dwi. (2021). Identifikasi Soil Transmitted Helminth (STH) Pada Fases Petugas Penerimaan Sampah Di Tempat Pembuangan Akhir Putri Cempo Surakarta. In *Karya Tulis Ilmiah* (pp. 1-30). Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional .
- Istiqomah, N., & Aisyah, K. N. (2023). Analisis Kejadian Infeksi Nematoda Usus Pada Kuku Petugas Pengumpul Sampah di TPS Bandar Lor, Ngronggo dan Kaliombo dengan Metode Centrifugasi. *Jurnal Sintesis*, 4(2), 2023.
- Janah, T. K., & Putri, N. E. (2023b). Identifikasi Telur Cacing *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura* pada Kuku Petugas Pengangkut Sampah di TPA Piyungan Bantul Yogyakarta. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 7(3).
- Listiany, E., Charisma, A. M., & Farida, E. A. (2020a). Prevalensi Telur *Ascaris lumbricoides* Pada Kuku Dan Tingkat Kebersihan Dan Tingkat Kebersihan Personal Pada Petugas Kebersihan Di Krian Sidoarjo. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 11(2), 83. <https://doi.org/10.32382/mak.v11i2.1715>
- Manurung, R. N. M., Farihi, M. I., & Risnawati. (2023). Gambaran Telur Soil Transmitted Helminthes Pada Kuku Pemulung Sampah Di Tempat Pembuangan Akhir Basirih Banjarmasin. *Jurnal Elektronik Mahasiswa Polanka*, 1(1), 8-14. <http://jurnal.polanka.ac.id/index.php/JMPL>
- Rohmayani, V., Arimurti, A. R. R., Sari, Y. E. S., Romadhon, N., & Lihabi. (2023). Gambaran Infeksi Soil Transmitted Helminth pada Petani Penyintas Erupsi Gunung Semeru. *The Indonesian Journal Of Infectious Disease*, 9(2), 33-39.
- Wibowo, P. setyo. (2022). Identifikasi *Helminthes Ascaris lumbricoides* Pada Kuku Tangan Petugas Kebersihan Di Taman (Kebon Ratu dan Kebon Rojo) Kabupaten Jombang. In *Karya Tulis Ilmiah* (pp. 1-60). Institut Sains Dan Teknologi Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.

MEDIA PISANG GOROHO (*MUSA ACUMINATA*) SEBAGAI ALTERNATIF LOKAL UNTUK PERTUMBUHAN DAN IDENTIFIKASI MORFOLOGI JAMUR

Sabrina Prisscilya Magdalena Pinontoan^{1*} · Ester Olivia Taroreh² ·
Livia Martini Mamuaja³

^{1,2,3}Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Manado, Sulawesi Utara, Indonesia

e-Mail : sabrinapinontoan@gmail.com

No Tlp WA : 085313562717

Abstract

*Commonly used culture media in laboratories, such as Potato Dextrose Agar (PDA), still need to be imported and are expensive. The development of alternative media from local materials, such as Goroho Banana (*Musa acuminata*), which is rich in nutrients, offers a solution to replace imported media. This study aims to evaluate the potential of Goroho Banana as an alternative medium for the growth and morphological identification of *Aspergillus brasiliensis* and *Candida albicans*. This research is an experimental laboratory study using various concentrations of Goroho Banana flour (PGA1 0.1%, PGA2 0.2%, PGA3 0.3%, PGA4 0.4%, PGA5 0.5%) as alternative media. PDA was used as the control. Observations included growth rate, colony diameter, Colony Forming Unit (CFU) count, and macroscopic and microscopic morphology of *Aspergillus brasiliensis* and *Candida albicans*. In *Candida albicans*, the highest CFU was found on PGA1 media and the lowest on PGA4. The morphology of *Candida albicans*, both macroscopically and microscopically, showed no differences between the Goroho Banana alternative media and PDA. Goroho Banana alternative media can support the growth of *Aspergillus brasiliensis* and *Candida albicans* and can be used for morphological identification of these fungi.*

Keywords: Alternative media, Goroho Banana, *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*.

Abstrak

Media kultur yang sering digunakan di laboratorium seperti Potato Dextrose Agar (PDA) masih harus diimpor dan memiliki harga yang tinggi. Pengembangan media alternatif dari bahan lokal, seperti Pisang Goroho (*Musa acuminata*) yang kaya nutrisi, menjadi solusi untuk menggantikan media impor. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi Pisang Goroho sebagai media alternatif bagi pertumbuhan dan identifikasi morfologi jamur *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan variasi konsentrasi tepung Pisang Goroho (PGA1 0,1%, PGA2 0,2%, PGA3 0,3%, PGA4 0,4%, PGA5 0,5%) sebagai media alternatif. Media PDA digunakan sebagai kontrol. Pengamatan meliputi laju pertumbuhan, diameter koloni, jumlah *Colony Forming Unit* (CFU), serta morfologi makroskopis dan mikroskopis dari *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*. Pada *Candida albicans*, CFU terbanyak terdapat pada media PGA1 dan terendah pada PGA4. Secara makroskopis, *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif menunjukkan sporulasi yang lebih sedikit dibandingkan dengan media PDA, tetapi secara mikroskopis tidak terdapat perbedaan. Media alternatif Pisang Goroho dapat mendukung pertumbuhan *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*, serta dapat digunakan untuk identifikasi morfologi jamur tersebut.

Kata Kunci : Media alternatif, Pisang Goroho, *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Nutrisi dibutuhkan oleh sel mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Agar pertumbuhan terjadi secara optimum maka semua unsur yang dibutuhkan oleh sel haruslah tersedia. Meskipun persyaratan nutrisi mikroorganisme amat beragam, namun sebagai makhluk hidup mikroorganisme mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yaitu meliputi air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh (Hidayat et al., 2006).

Media yang digunakan di laboratorium berfungsi untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel mikroorganisme. Mikroorganisme dapat memperoleh energi langsung dari sinar matahari sementara karbon dapat tersedia dalam bentuk organik seperti karbohidrat atau bentuk anorganik seperti karbondioksida. Dewasa ini dengan tersedianya medium dalam bentuk terdehidrasi (bentuk bubuk), penyiapan medium menjadi sangat dipermudah dan pada umumnya tinggal ditimbang, melarutkannya dalam air, menyesuaikan pH nya apabila diperlukan, menempatkannya dalam wadah-wadah yang sesuai dan mensterilkannya. Di Indonesia medium semacam ini masih diimpor dari negara-negara maju sehingga harganya pada umumnya sangat tinggi.

Media alternatif digunakan untuk menggantikan media pertumbuhan jamur pada umumnya. Media alternatif adalah media yang sengaja dibuat sebagai alternatif dari media yang sudah ada, dengan cara mengganti salah satu komposisi dari media yang sudah ada dengan bahan lain yang mudah didapat dengan harga yang relatif murah. Beberapa peneliti telah berhasil menemukan media alternatif yang dibuat dari sumber nutrisi lain seperti umbi ganyong, umbi gembili dan umbi garut (Aini & Rahayu, 2015); pati singkong, sagu dan uwi, kentang dan umbi palmirah (Nurdin & Anwar, 2021); kacang kedelai (Nuryati & Huwaina, 2015); pisang ambon (Muthmainnah et al., 2019); kulit pisang kapok dan kulit ubi kayu (Nail et al.,

2020); ubi jalar putih (Rohmi et al., 2019).

Potato Dextrose Agar (PDA) adalah medium kaya nutrisi yang mendorong sporulasi jamur dan produksi pigmen. Kelayakan pengembangan media alternatif untuk media PDA telah dilakukan oleh Adesemoye dan Adedire dengan mengganti kentang dengan bahan lokal (ekstrak tepung, jagung, sorgum dan millet) (Adesemoye & Adedire, 2005). Pisang goroho merupakan tanaman lokal Sulawesi Utara yang kaya nutrisi mengandung antara lain 119 kkal Energi, 1,5 g protein, 0,2 g lemak, 27,9 g karbohidrat, 2 mg kalsium, 3 mg natrium, 359 mg kalium per 100 gram BDD (Mahmud et al., 2009). Dilihat dari kandungan nutrisi, Pisang Goroho memiliki potensi sebagai sumber nutrisi alternatif media pertumbuhan jamur. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai Media Alternatif Pisang Goroho (*Musa acuminata*) untuk Pertumbuhan dan Identifikasi Morfologi Jamur *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium yaitu untuk membuat serta menguji media alternatif dari bahan dasar pisang goroho. Populasi pada penelitian ini adalah pisang goroho yang tumbuh di Desa Kaima Kecamatan Kauditan Kabupaten Minahasa Utara Sulawesi Utara. Sampel yang digunakan adalah pisang goroho setengah matang, berkualitas baik tanpa cacat dan tidak busuk.

Sebelum membuat media alternatif, pisang goroho awalnya dibuat menjadi tepung terlebih dahulu. Variasi konsentrasi tepung pisang goroho dalam media alternatif adalah PGA1 0,1%, PGA2 0,2%, PGA3 0,3%, PGA4 0,4% dan PGA5 0,5 %. Berat tepung pisang goroho yang ditimbang untuk masing-masing konsentrasi adalah hasil konversi dari berat potato starch pada formula media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yaitu 4 gram dalam 1000 mL aquadest. Media PDA digunakan sebagai kontrol (K) dalam penelitian ini. Masing-masing konsentrasi tersebut ditambahkan dengan 15 g agar, 20 g gula pasir dan 25 mg kloramfenikol. pH akhir media alternatif pisang goroho dan media PDA adalah 5,6. Pengujian media

alternatif pisang goroho menggunakan jamur *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans* dilakukan dengan melihat laju pertumbuhan jamur, diameter koloni jamur, jumlah CFU dari *Candida albicans* dan morfologi jamur baik makroskopis maupun mikroskopis. Data yang didapatkan kemudian disajikan dalam bentuk tabel, dinarasikan serta diambil kesimpulan.

HASIL

Hasil uji pertumbuhan jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif pisang goroho dengan lima konsentrasi berbeda didapatkan hasil seperti pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Laju pertumbuhan koloni *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*

No.	Media	Waktu Pertumbuhan	
		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Candida albicans</i>
1	PGA 1	1x24 jam	1x24 jam
2	PGA 2	1x24 jam	1x24 jam
3	PGA 3	1x24 jam	1x24 jam
4	PGA 4	1x24 jam	1x24 jam
5	PGA 5	1x24 jam	1x24 jam
6	K	1x24 jam	1x24 jam

Berdasarkan tabel 1, laju pertumbuhan koloni pertama dari *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans* terbentuk dalam waktu 24 jam baik pada media kontrol maupun media alternatif Pisang Goroho.

Tabel 2. Rata-rata Diameter Pertumbuhan Koloni *Aspergillus brasiliensis* per 24 jam

No.	Media	Diameter Pertumbuhan (mm)						
		24	48	72	96	120	144	168
1	PGA 1	14	21	60	67	90	90	90
2	PGA 2	14	21	61	67	90	90	90
3	PGA 3	15	23	62	67	90	90	90
4	PGA 4	17	24	62	68	90	90	90
5	PGA 5	18	31	68	74	90	90	90
6	K	20	30	60	65	71	75	90

Tabel 2 menunjukkan bahwa jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho terus mengalami pertumbuhan, dilihat dari terus bertambahnya diameter koloni *Aspergillus brasiliensis* dari hari ke hari hingga waktu pertumbuhan 120 jam atau 5 x 24 jam, koloni *Aspergillus brasiliensis*

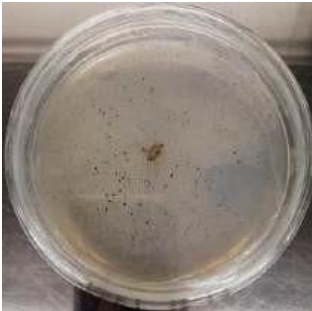
berada pada diameter maksimal ukuran cawan petri yaitu 90 mm sehingga tidak dapat bertambah lagi.

Tabel 3. Rata-rata Diameter Koloni *Candida albicans* Per 24 Jam

No	Nama Media	24	48	Diameter Kolo		ni (mm) 120	144	168
				72	96			
1	PGA 1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
2	PGA 2	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
3	PGA 3	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
4	PGA 4	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
5	PGA 5	< 0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
6	K	< 0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3

Hasil perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* disajikan pada tabel 3. Dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni pada masing-masing media dengan konsentrasi yang berbeda. Pada media PGA 1 bertambah sampai 4x24 jam dan mulai turun pada 5x24 jam, pada media PGA 2, 3, 4, dan 5 koloni bertambah terus sampai 3x24 jam dan turun pada 4x24 jam, dan pada media PDA koloni bertambah sampai 2x24 jam dan mulai turun pada 3x24 jam.

Tabel 4. Morfologi koloni jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol yang diamati secara makroskopis

No	Media	Gambar	Morfologi
1	PGA 1		Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial dengan tepian sedikit kasar

2 PGA 2



Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris (terlihat pada *reverse side*), dengan tepian sedikit

3 PGA 3



Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris (terlihat pada *reverse side*), dengan tepian sedikit kasar

4 PGA4



Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris (terlihat pada *reverse side*), dengan tepian sedikit kasar

5 PGA5



Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris (terlihat pada *reverse side*), dengan tepian sedikit kasar

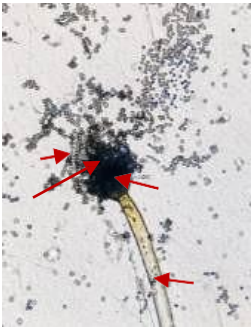
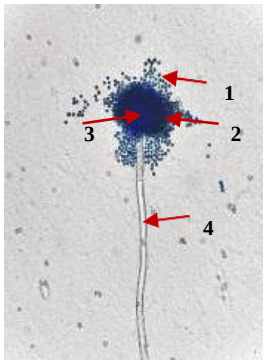
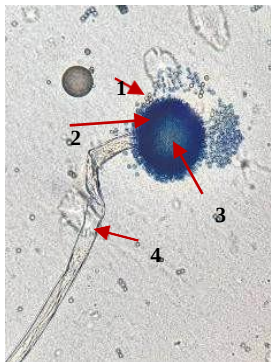
6 K



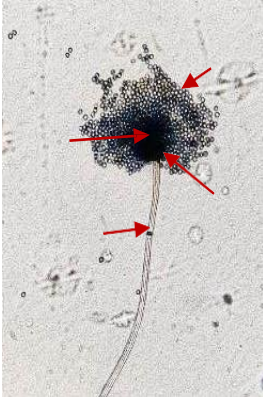
Koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris (terlihat pada *reverse side*), dengan tepian sedikit kasar berwarna putih

Morfologi *Aspergillus brasiliensis* secara makroskopis pada media alternatif Pisang Goroho sesuai data tabel 4, terlihat jelas memiliki koloni berwarna putih kehitaman, miselium tipis, tekstur seperti kapas, terlihat adanya garis radial, lingkaran konsentris pada reverse side dengan tepian sedikit kasar. Terlihat perbedaan morfologi dengan *Aspergillus brasiliensis* yang tumbuh di media kontrol yaitu pada sporulasi (*black mold*) yang dihasilkan.

Tabel 5. Morfologi koloni jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol yang diamati secara mikroskopis

No	Media	Gambar	Morfologi
1	PGA 1		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)
2	PGA 2		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)
3	PGA 3		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)

Lanjutan Tabel 5. Morfologi koloni jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol yang diamati secara mikroskopis

No	Media	Gambar	Morfologi
4	PGA 4		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)
5	PGA 5		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)
6	K		1. Konidia, 2. <i>Phialide</i>, 3. Vesikel 4. Konidiofor (<i>Stipe</i>)

Morfologi *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol sesuai tabel 5 tidak terlihat adanya perbedaan. Secara mikroskopis terdapat konidia, *phialide*, vesikel, dan konidiofor (*stipe*)

Tabel 6. Morfologi koloni jamur *Candida albicans* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol yang diamati secara makroskopis

No	Media	Makroskopis	Morfologi
1	PGA 1		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran kecil
2	PGA 2		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran kecil
3	PGA 3		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran kecil
4	PGA 4		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran kecil
5	PGA 5		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran agak besar
6	K		Koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin. Koloni berukuran besar.

Hasil pengamatan secara makroskopis *Candida albicans* pada media alternatif pisang goroho dan media PDA didapatkan morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, halus dan licin.

Tabel 7. Morfologi koloni jamur *Candida albicans* pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol yang diamati secara mikroskopis

No	Media	Mikroskopis	Morfologi
1	PGA 1		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i> .
2	PGA 2		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i>
3	PGA 3		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i>
4	PGA 4		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i>
5	PGA 5		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i>
6	K		Terdapat yeast dan <i>pseudohifa</i> .

Hasil pengamatan secara mikroskopis *Candida albicans* pada tabel 7 didapatkan morfologi jamur yaitu *yeast* (ragi) dan *pseudohifa* baik pada media alternatif pisang goroho dan media PDA.

DISKUSI

Media alternatif Pisang Goroho diuji menggunakan jamur *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*. Parameter pertama yang diamati adalah laju pertumbuhan koloni. Tabel 1 menunjukkan bahwa koloni *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans* terbentuk dalam rentang waktu 1 x 24 jam baik pada media alternatif Pisang Goroho maupun pada media kontrol. Awalnya suatu koloni berasal dari satu sel yang semula tidak terlihat menjadi terlihat yaitu dari spora atau konidia jamur menjadi miselium atau koloni. Hasil yang sama juga didapatkan oleh Aini dan Rahayu (2015) dimana pada masa inkubasi 24 jam sudah terjadi pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* yang terlihat dari pertambahan diameter koloni dan akan terus bertambah seiring lamanya waktu inkubasi.

Parameter uji lainnya adalah diameter koloni jamur. Diameter koloni *Aspergillus brasiliensis* menunjukkan perbedaan pada masing-masing media (Tabel 2). Hasil pengamatan pada waktu pertumbuhan 1x24 jam hingga 4x24 jam, didapati bahwa diameter koloni semakin membesar. Setelah itu, diameter koloni tidak bertambah lagi diakibatkan ukuran maksimal dari cawan petri yaitu 90 cm. Ketika diameter koloni *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho mencapai ukuran maksimalnya, koloni *Aspergillus brasiliensis* yang tumbuh pada media kontrol diameternya lebih kecil dibandingkan dengan koloni yang tumbuh pada media alternatif Pisang Goroho dan baru mencapai ukuran 90 cm setelah 7x24 jam. Jamur *Aspergillus* memanfaatkan gula sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan sel dan metabolisme (Hamad dkk, 2015).

Perbedaan diameter koloni pada media alternatif pisang goroho dengan media Potato Dextrose Agar juga terjadi pada pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Setiap jam pengamatan terjadi pertambahan diameter koloni. Dari hasil penelitian didapatkan ukuran diameter terbesar adalah pada media alternatif PGA 5 dan diameter terkecil pada media alternatif PGA 1, tetapi jika dibandingkan

dengan media standar PDA maka media PDA memiliki diameter koloni lebih besar dibandingkan dengan media alternatif PGA. Media alternatif PGA 5 merupakan media alternatif terbaik untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans* karena memiliki koloni yang hampir sebanding dengan koloni pada media PDA. Hal tersebut dikarenakan pada media PGA 5 merupakan media dengan konsentrasi 0,5% memiliki tingkat kandungan tepung pisang yang paling banyak dari media alternatif lainnya sehingga media ini mampu mendukung pertumbuhan jamur dengan ukuran koloni yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Ukuran koloni pada media kontrol lebih besar daripada media alternatif dikarenakan pada media PDA memiliki formulasi yang sederhana sehingga dijadikan media kultur yang paling umum digunakan dan merupakan media terbaik karena kemampuannya dalam mendukung berbagai jenis pertumbuhan jamur, sedangkan pada media alternatif masih memiliki nutrisi yang lebih kompleks sehingga pertumbuhan jamur belum seoptimal media PDA, hal ini dipertegas oleh Gandjar (2006) bahwa kandungan kompleks dalam media menyebabkan jamur uji membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menguraikan menjadi komponen-komponen sederhana yang dapat diserap oleh sel yang digunakan untuk sintesis sel dan energi (Gandjar, 2006).

Rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* per 24 jam didapatkan hasil bahwa ada perbedaan jumlah koloni pada masing-masing media. Pada pengamatan 1×24 jam rata-rata koloni pada media alternatif terbanyak terdapat pada media alternatif PGA 1 dan paling sedikit pada media alternatif PGA 4, begitu juga pada waktu pengamatan selama 7×24 jam rata-rata pertumbuhan jumlah koloni pada media alternatif terbanyak pada media PGA 1 dan paling sedikit pada media PGA 4. Jika dibandingkan dengan media standar PDA maka media dengan jumlah koloni terbanyak yaitu pada media alternatif PGA 1. Jumlah koloni lebih banyak pada media alternatif dikarenakan adanya perbedaan jumlah kandungan karbohidrat pada media PDA dan media alternatif PGA. Pada media PDA memiliki kandungan karbohidrat 2,82%, dan protein 0,96% (Mujahidah Basarang, Mardiah, 2020). Karbohidrat sangat berpengaruh dalam proses pertumbuhan jamur karena digunakan sebagai sumber nutrisi (bahan makanan)

(Mujahidah Basarang, Mardiah, 2020). Pada media pertumbuhan yang mengandung karbohidrat, jamur akan mengekskresikan enzim α -amilase untuk mengubah amilum menjadi glukosa, senyawa glukosa tersebut kemudian diserap oleh jamur. Nutrien-nutrien tersebut baru dapat dimanfaatkan sesudah jamur mengekskresikan enzim-enzim ekstraseluler yang dapat mengurai senyawa kompleks dari substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Jiwintarum et al., 2017).

Morfologi koloni *Aspergillus brasiliensis* merupakan parameter lainnya yang diamati baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Koloni awalnya berwarna putih, miselium tumbuh dengan cepat menghasilkan lapisan padat bergaris halus tegak. Spora pada media alternatif Pisang Goroho dan media kontrol berwarna putih kehitaman dan intensitas warnanya bertambah seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Namun sporulasi (*black mold*) yang dihasilkan jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media kontrol lebih lebat daripada pada media alternatif Pisang Goroho. Sporulasi yang lebih lebat pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dibandingkan dengan media alternatif Pisang Goroho dapat dijelaskan oleh perbedaan signifikan dalam komposisi nutrisi kedua media. PDA merupakan media kaya nutrisi yang mengandung pati dari kentang dan dekstrosa sebagai sumber energi utama, yang sangat mendukung pertumbuhan jamur dan sporulasi optimal (Iqbal et al., 2021; Moldovan et al., 2022). Kandungan karbohidrat, terutama glukosa, dalam PDA menyediakan substrat yang sangat dibutuhkan oleh banyak jamur untuk memproduksi spora secara maksimal. Proses pembuatan PDA melibatkan ekstraksi nutrisi dari kentang yang dipadukan dengan dekstrosa dan agar, menciptakan lingkungan ideal untuk pertumbuhan massal dan pengumpulan spora (Almugren et al., 2023).

Hasil pengamatan morfologi *Aspergillus brasiliensis* secara mikroskopis menggunakan pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) didapatkan bahwa tidak ada perbedaan pada morfologi *Aspergillus brasiliensis* secara mikroskopis baik media alternatif Pisang Goroho maupun media kontrol terdapat konidia, *phialide*, vesikel dan konidiofor (*stipe*). Manikandan, et al. (2010) melaporkan kasus keratitis yang disebabkan oleh spesies *Aspergillus brasiliensis* dimana morfologi

mikroskopisnya memiliki kepala konidia yang berbentuk bulat yang berkembang menjadi beberapa kolom konidia, *stipe* berukuran 700-1700 x 8-13 mm, vesikel lebarnya 30-45 mm, metulae menutupi hampir seluruh permukaan vesikel, berukuran 22-30 x 3-6 mm, filides berukuran 7-9 x 3-4 mm (Manikandan et al., 2010).

Morfologi koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media alternatif PGA sama dengan morfologi koloni *Candida albicans* yg tumbuh pada media PDA. Secara makroskopis keduanya memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, timbul diatas permukaan media, permukaan padat, dan halus. Begitu juga dengan hasil pada tabel 6, pengamatan morfologi secara mikroskopis didapati morfologi koloni *Candida albicans* pada media alternatif PGA sama dengan media PDA yaitu terdapat *yeast* dan *pseudohifa*. Hasil yang didapatkan sesuai dengan teori bahwa secara mikroskopis jamur *Candida albicans* membentuk *pseudohifa* menghasilkan rantai sel memanjang yang terjepit atau menyempit pada sekat antar sel. Pada media agar atau dalam waktu 24 jam pada suhu 37°C atau suhu kamar, spesies *Candida albicans* menghasilkan koloni lembut berwarna krem dengan bau ragi. Pseudohifa terlihat dipermukaan media (Jawetz, 2013). Pengamatan secara makroskopis hanya terdapat perbedaan pada ukuran koloni pada media alternatif PGA ukuran koloni kecil dibandingkan media PDA sedangkan pada hasil mikroskopis tidak terdapat perbedaan morfologi pada media alternatif PGA dan media PDA.

KESIMPULAN

Waktu tumbuh koloni pertama kali baik *Aspergillus brasiliensis* maupun *Candida albicans* tumbuh dalam waktu 24 jam pada media alternatif pisang goroho, sama seperti waktu tumbuh koloni pada *Potato Dextrose Agar*. *Aspergillus brasiliensis* pada media alternatif Pisang Goroho terus mengalami pertumbuhan, dilihat dari terus bertambahnya diameter koloni *Aspergillus brasiliensis* dari hari ke hari. Diameter koloni *Candida albicans* terbesar pada media PGA5 dan terkecil pada media PGA1. Jumlah CFU terbanyak terdapat pada media alternatif PGA1

dan jumlah CFU paling sedikit pada media PGA4. Terdapat lebih banyak *Colony forming unit Candida albicans* pada media pisang goroho dibandingkan dengan *Colony forming unit* pada media PDA.

Secara makroskopis, *Aspergillus brasiliensis* tampak berbeda di kedua media. Sporulasi yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus brasiliensis* pada media PDA lebih padat dibandingkan dengan media alternatif pisang goroho. Namun, secara mikroskopis tidak ada perbedaan. Sedangkan, morfologi *Candida albicans*, baik secara makroskopis maupun mikroskopis, sama antara media alternatif pisang goroho dan media PDA.

Dengan demikian, media alternatif dari pisang goroho ini dapat digunakan sebagai media kultur baik untuk *Aspergillus brasiliensis* maupun *Candida albicans*. Selain itu, juga dapat digunakan untuk identifikasi morfologi jamur *Aspergillus brasiliensis* dan *Candida albicans*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada pemberi dana Penelitian Dosen Pemula dan juga kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- Aini, N., & Rahayu, T. (2015). Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 855-860.
- Almugren, K. S., Abdul Sani, S. F., Jaafar, M. S., Mohamad, A., Shafiqah, A. S. S., & Bradley, D. A. (2023). The effect of acute gamma radiation onto growth media for mother culture of a Volvariella mushroom. *Radiation Physics and Chemistry*, 202. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2022.110549>
- Gandjar, I. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Hidayat, N., Padaga, M., & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi Industri* (S. Suryantoro, Ed.; 1st ed.). Andi.

- Iqbal, M., Naz, S., Khan, S. N., Farooq, S., Mohy-Ud-din, G., Idrees, M., Mehboob, S., & Riaz, H. M. (2021). Optimization of culture conditions for mycelial growth and sporulation of *myrothecium roridum*. *International Journal of Phytopathology*, 10(1), 1-7. <https://doi.org/10.33687/phytopath.010.01.3415>
- Jawetz. (2013). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology: 24th Edition. In *Sultan Qaboos University Medical Journal* (Vol. 7, Issue 3).
- 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.
- Mahmud, M., Hermana, Zulfianto, N., Apriyanto, R., Ngadiarti, I., Hartati, B., Bernadus, E., & Tinexcellly. (2009). *Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI)*. Elex Media Komputindo.
- Moldovan, A., Ivantovic, N., & Munteanu-Molotievsky, N. (2022). *Growth and sporulation of beauveria bassiana on different culture media*. <https://doi.org/10.52757/imb22.24>
- Mujahidah Basarang, Mardiah, A. F. (2020). Penggunaan Serbuk Infus Bekatul Sebagai Bahan Baku Dextrosa Agar Untuk Pertumbuhan Jamur. *Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 11(1), 1-9.
- Muthmainnah, A. W., Srigele, L., & Jiwintarum, Y. (2019). Penggunaan Bahan Dasar Pisang Ambon (*Musa Acuminata*) Sebagai Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Jamur *Aspergillus Niger*. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2), 93. <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i2.139>
- Nail, Y. A. F., Ernawati, & Suryani. (2020). Pemanfaatan kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* Linn.) dan kulit ubi kayu (*Manihot utilisma* Pohl.) sebagai media alternatif pertumbuhan jamur *Rhizopus* sp. *Jurnal Biosains Dan ...*, 2(1), 24-28.
- Nuridin, E., & Anwar, A. Y. (2021). *STUDI PERTUMBUHAN JAMUR PADA MEDIA ALTERNATIF SUKUN (Artocarpus altilis) PADA SEDIAAN LANGSUNG DAN POWDER*
- Study of Fungal Growth in Alternative Media of Breadfruit (Artocarpus altilis) in Direct and Powder Formulations.* 15(1). <https://doi.org/10.22487/bioceb.v%vi%i.15515>
- Nuryati, A., & Huwaina, A. D. (2015). Efektivitas Berbagai Konsentrasi Kacang Kedelai (*Glycine max* (L .) Merill) Sebagai Media Alternatif Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(1), 5-8.
- 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>

PENGARUH HYDROGEL HUMAN AMNION MEMBRANE PADA WOUND HEALING DIABETIC IN VIVO DENGAN MENGUKUR LUAS AREA KOLAGEN MENGGUNAKAN SOFTWARE *ImageJ*

Suyarta Efrida Pakpahan^{1*} · Muhammad Alwi Sutomi² · Fitri Rahmi Fadhilah³

^{1,2,3} Diploma Empat Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali,
Jawa Barat, Indonesia
e-Mail : Suyartapakpahan@gmail.com
No Tlp WA : 082221222919

Abstract

One of the complications that occur in DM sufferers is the occurrence of chronic complications. Hydrogel as a wound dressing has excellent biocompatibility. Human amnion membrane contains ECM with components such as growth factors, collagen, and proteoglycans as wound healing and tissue regeneration. To analyze the effect of hAM hydrogel treatment on the wound closure process in mice macroscopically and the area of collagen microscopically on days 3, 7, 14 and 21. The design of this research is experimental. Four treatment groups were used, namely DM NT, Sehat NT, DM carbopol and DM hAM. Wound measurements were carried out on days 3, 7, 14, 21 (macroscopic), tissue processing, Masson's trichrome staining, collagen area measurements (microscopic), and two-way anova test analysis was carried out using Graphpad Prism 10.2.3. The DM hAMD group experienced rapid wound closure and had the highest collagen area compared to the DM NT, Sehat NT, DM carbopol groups with a significant value of <0.05. Our findings suggest a promising potential of human amnion membrane hydrogel in influencing the healing process of diabetes mellitus wounds in vivo, as measured by the collagen area using ImageJ software.

Keywords : Collagen, Diabetes Mellitus, Human Amnion Membrane, Hydrogel, ImageJ

Abstrak

Salah satu komplikasi yang terjadi pada penderita DM adalah terjadinya luka kronis. Hydrogel sebagai wound dressing bersifat biokompatibilitas yang baik. Human amnion membrane mengandung ECM dengan komponen seperti faktor pertumbuhan, kolagen, dan proteoglikan sebagai anti-inflamasi serta anti-mikroba pada luka. Untuk menganalisis pengaruh treatment hydrogel hAM pada proses penutupan luka mencit secara makroskopis dan luas area kolagen secara mikroskopik pada hari ke- 3, 7, 14 dan 21. Desain pada penelitian ini adalah eksperimental. Digunakan 4 kelompok perlakuan yaitu Sehat non-treatment, DM non-treatment, DM carbopol dan DM hAM. Dilakukan pengukuran penutupan luka (makroskopis), prosesing histologi (treechrome masson), pengukuran luas area kolagen (mikroskopis) pada hari ke-3, 7, 14, 21. Dilakukan analisis uji Two-way ANOVA menggunakan Graphpad Prism 10.2.3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolagen meningkat pada fase proliferasi hingga fase remodelling. Kelompok DM hAMD mengalami penutupan luka lebih cepat dan memiliki area kolagen paling luas dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM NT, DM carbopol dengan nilai signifikan <0.05. Kelompok DM hAMD memiliki area kolagen paling luas sehingga penutupan luka lebih cepat dibanding kelompok Sehat NT, DM NT, DM carbopol. Pemberian treatment hydrogel hAMD pada luka diabetes mellitus memiliki pengaruh signifikan terhadap proses penyembuhan luka.

Kata Kunci : Diabetes melitus, Hydrogel, Human Amnion Membrane, ImageJ, Kolagen

PENDAHULUAN

Luka kronis adalah luka yang disebabkan oleh penyakit seperti diabetes, tumor, dan lain-lain. Luka kronis membutuhkan waktu yang lama untuk sembuh, dikarenakan terjadinya kegagalan untuk beregenerasi secara alami dan sering

sembuh dengan pembentukan jaringan fibrotik dengan struktur dan sifat mekanik yang terganggu (Rashmi, 2020). Salah satu contoh luka kronis adalah luka diabetik yang disebabkan oleh penyakit diabetes mellitus (Fuadi, 2022). Tingginya kadar gula darah menjadi penyebab terjadinya luka pada pasien diabetes mellitus karena tingginya gula darah menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan kuman, oleh karena itu kuman dan bakteri mudah berkembang dan menyebabkan luka infeksi (Damsir et al., 2018).

Penyakit diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit kronis dimana pankreas tidak cukup memproduksi insulin atau saat tubuh tidak efektif menyerap insulin yang diproduksi (WHO, 2022). Selama beberapa dekade terakhir, jumlah kasus diabetes terus meningkat. Data terbaru *International Diabetic Federation* pada tahun 2021 menyebutkan bahwa sekitar 7,1 persen orang di Indonesia mengalami hiperglikemia. Jumlahnya meningkat 81,8% dari tahun 2019. Secara tidak langsung, jumlah pengidap diabetes di Indonesia menempati peringkat kelima di dunia setelah China, India, Pakistan, dan Amerika Serikat. Di antara sepuluh negara dengan jumlah kasus diabetes tertinggi, Indonesia adalah satu-satunya negara Asia Tenggara (Sun et al., 2021).

Komplikasi kronis berupa luka pada permukaan kulit yang dapat menyebabkan nekrosis atau kematian jaringan adalah salah satu komplikasi yang mungkin terjadi pada penderita DM (Fuadi, 2022). Pengobatan yang dilakukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka diabetes diantaranya adalah dengan cara mengganti jaringan yang rusak dengan pengganti yang sifatnya biokompatibel seperti *autografts*, *allografts*, dan *xenografts*. Namun, ketiga opsi tersebut mempunyai kelemahan diantaranya adalah menimbulkan luka baru, proses penyembuhan luka lebih lama, menimbulkan luka baru, komplikasi infeksi serta membutuhkan biaya yang tinggi (Rashmi, 2020). Pengobatan dalam bentuk serbuk memiliki keterbatasan yaitu implementasi pada luka dilakukan dengan cara ditabur sehingga produk ini kemungkinan tidak dapat masuk ke lapisan luka yang paling dalam (Sepantafar et al., 2020). Pengobatan dalam bentuk sediaan salep, namun memiliki tekstur lengket dan sedikit berminyak (Martihandini et al., 2023). Serta terdapat pembalut luka dengan jenis *thin film*, memiliki kekurangan yaitu tidak memiliki kapasitas penyerapan dan dapat menempel pada luka (Firlar et al., 2022). Seiring meningkatnya kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan maka telah banyak

dikembangkan berbagai alternatif yang digunakan untuk mengobati luka, salah satunya *wound dressing* menggunakan *hydrogel* (Haryanto, Karnofa, 2019). Maka dibutuhkan bentuk aplikasi yang memiliki kemampuan permeabilitas non toksik dan hidrofilik seperti *hydrogel* (Permatasari 2016).

Hydrogel merupakan polimer hidrofilik yang mana air atau cairan biologis mampu diserap tetapi tidak larut karena adanya *x-linked* (Puspita & Kurniati, 2022). *Hydrogel* adalah polimer yang ideal untuk pembalut luka karena mampu memberikan sensasi dingin yang dapat mengurangi pembengkakan pada daerah luka (Nabillah et al., 2022). *Hydrogel* digunakan dalam berbagai bidang, salah satunya bidang medis sebagai pembalut luka kronis, luka nekrotik, dan luka bakar karena memiliki sifat unik yaitu elastis dan lembut sehingga dapat mempermudah pengaplikasian dan pembersihan ketika luka sembuh. Selain itu, *Hydrogel* dapat memberikan lingkungan lembab pada luka, sehingga memfasilitasi debridemen jaringan nekrotik, meningkatkan regenerasi jaringan, mampu menunjukkan hidrasi yang kuat, bersifat biomimetik, dan menunjukkan sifat anti bakteri yang sangat baik dan biokompatibilitas yang sangat baik (Ou, Zhang and Fu, 2021). Maka dari itu untuk mempercepat proses penyembuhan luka diperlukan suatu bahan yang mengandung extracellular matrix (ECM) yang berasal dari *human amnion membrane*.

Human amnion membrane (hAM) merupakan bagian dari selaput plasenta janin, dimana hAM ini merupakan limbah medis. HAM memiliki komponen terkait struktural dan regeneratif yang baik, seperti faktor pertumbuhan, kolagen, dan glikoprotein yang dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, anti-mikroba, penyembuhan luka serta modulasi atau regenerasi jaringan. Sebagai bahan biokompatibel yang tersedia, sehingga ketersediaannya mudah serta hemat biaya (Leal-marin et al., 2020). Membran amnion juga mengandung zat aktif biologis, yaitu zat angiogenik, berperan dalam pembentukan jaringan granulasi dalam penyembuhan luka. hAM telah digunakan sebagai bahan scaffold untuk berbagai aplikasi rekayasa jaringan, terutama sebagai pembalut kulit, karena struktur matriks ekstraselulernya dan sifat biologis penyembuh luka yang sangat baik (Fenelon et al., 2021).

Kolagen adalah protein yang mempunyai peran dasar untuk pembentukan matriks pada fase proliferasi dan *remodeling* (Stamov, 2012; Frieda, 2022). Kolagen

utama yang berperan dalam histologi dan fisiologi yaitu kolagen tipe I dan kolagen tipe III (Wong, 2016; Cole, 2018; Reily, 2021). Kolagen yang umum ditemukan pada kulit adalah kolagen tipe I dan III. Kolagen berperan penting untuk penyembuhan luka (Finnerty et al., 2016). Pembentukan kolagen adalah proses penyembuhan luka, dimana kolagen ini diperlukan untuk meregenerasi jaringan, mengembalikan struktur dan fungsi anatomi tubuh (Hakim et al., 2020). Kolagen mampu melepaskan kekuatan dan integritas pada semua luka yang dapat menyembuhkan dengan cepat (Sumbayak, 2015). Kolagen memiliki peran krusial dalam proses inflamasi, proliferasi dan remodelling pada luka (Krivoshiev et al., 2017). Kualitas dan kuantitas kolagen yang diproduksi pada tahap inflamasi dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka, peningkatan produksi kolagen di area luka dapat membantu proses penyembuhan luka. Salah satu cara pengukuran kualitatif kolagen dengan cara pewarnaan *Trichrome Masson* dan kuantitatif dengan cara mengukur kolagen menggunakan aplikasi *ImageJ*.

ImageJ merupakan sebuah *software* berbasis java yang berfungsi untuk *quantitative image analysis* yang dapat membantu teknik pengukuran di bidang penelitian. Aplikasi ini digunakan untuk menganalisis gambar. *ImageJ* mendukung format gambar 8-bit, 16-bit, dan 32-bit seperti Jpeg, Tiff, Gif, Bmp, Fits, Dicom, dan juga format "raw" (Sufiyanto et al., 2022).

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat cukur (gillette), alas mencit, autoklik (general care), based mold (indopath), bunsen, batang pengaduk (pyrex), cassette jaringan, cool box, cover glass, cutter (joyko), freezer, gelas kimia (iwaki), gelas ukur (pyrex), glucometer (unesco), hot plate (leica), jangka sorong (deli), kamera, kandang mencit (mutiara), laptop (lenovo), mikroskop (olympus CX33), mikrotom (leica), neraca analitik (excellent), object glass (sail brand), oven, pensil (fabercastel), pinset, pisau bedah (b-braun), tempat makan dan minum mencit, water bath (leica). Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alkohol swab (sensi), Alkohol 70% 80% 96%, Alloxan (sigma aldrich), aquadest, entelan, etanol, handscoon (one med), hydrogel hAM, kapas, klorofom, lancet (general care), lithium, mencit, NBF 10%, pakan mencit, parafin, pasir zeloit, stik glukosa (unesco), tissue (paseo), pewarna *trichrome masson*, xylol.

1. Persiapan Hewan Uji

Persiapan hewan uji dilakukan dengan menggunakan mencit sehat dan memiliki berat 20-35 gram dengan usia 2-3 bulan. Hewan uji diadaptasi selama 7 hari untuk penyesuaian terhadap lingkungan baru (Budiman et al., 2021).

2. Pembuatan Larutan *Alloxan*

Larutan *alloxan* dapat dibuat dengan dengan dosis 120 mg/kg BB mencit dengan menimbang *alloxan* sebanyak 0,1 gram. Kemudian masukan serbuk aloksan yang sudah ditimbang ke dalam mortir dan tambahkan 10 ml NaCl 0,9% dan homogenkan sampai larut (Lina, Wijaya and Fuadah, 2022).

3. Induksi *Alloxan*

Penginduksian *alloxan* dapat dilakukan dengan cara mencit ditimbang dan dikelompokkan. Kemudian mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberikan air minum. Setelah itu, pemeriksaan gula darah dilakukan dengan cara menusuk ujung ekor mencit menggunakan jarum lanset steril, kemudian darah dihapus menggunakan tissue kering, kemudian darah diteteskan pada strip glukometer dan dimasukkan dalam glukometer yang telah divalidasi/kalibrasi untuk dibaca kadar glukosanya. Larutan aloksan monohidrat di injeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 0,5 cc menggunakan spuit 1 ml. Mencit diberikan pakan standar dan minum seperti biasa setelah penyuntikkan. Kemudian stabilisasi selama 7 hari setelah induksi dengan larutan aloksan. Setelah itu, diukur kadar glukosa darah setelah perlakuan. Mencit yang mengalami hiperglikemia maka dapat dilakukan percobaan selanjutnya (Dewantara, Gunawan and Wirajana, 2017).

4. Pembuatan Luka Hewan Uji

Pembuatan luka dapat dilakukan dengan cara mencit di anestesi dengan menggunakan kloroform. Kemudian tunggu 5-10 menit hingga obat bius bereaksi. Setelah itu mencukur menggunakan gunting dan pencukur untuk memudahkan pada saat pembuatan luka, perlakuan dan pengamatan. Di bawah tubuh mencit yang akan dilukai, letakkan perlak dan alas. Lakukan desinfeksi pada area kulit yang telah dicukur menggunakan kapas alkohol 70%. Lakukan penyayatan kulit menggunakan pisau bedah steril dengan panjang 1x1 cm hingga ditandai dengan keluarnya darah, yang berarti sayatan sudah mencapai lapisan dermis (Bawotong, De Queljoe and Mpila, 2020).

5. Pengolesan Hydrogel

Mencit kelompok DM hAMD diberikan treatment hydrogel hAMD 15% dengan cara di oleskan pada area luka tiga kali dalam sehari.

6. Pengambilan dan Prosesing Jaringan

Sebelum dilakukan pengambilan jaringan, mencit di anestesi dengan menggunakan kloroform secara inhalasi dan cukur kembali bulu yang mulai tumbuh kemudian ambil bagian kulit dengan ketebalan ± 3 mm sampai dengan subcutan. Dilanjutkan dengan prosesing jaringan dengan tahapan fiksasi (NBF 10% selama 24 jam), dehidrasi (alkohol 70, 80, 90, 95%, dan alkohol absolut), clearing (xylol), infiltrasi (parafin), dan embedding. Setelah jaringan dibuat blok dilanjutkan dengan pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dan pewarnaan Trichrome Masson.

7. Pewarnaan Trichrome Masson

Pewarnaan trichrome masson diawali dengan proses deparafinisasi pada larutan xylol I dan II masing-masing 15 menit, lalu rehidrasi menggunakan alkohol dengan konsentrasi Absolute, 96%, 80%, 70%. Masing-masing 3 menit. Bilas akuades 3 menit. Digenangi Hematoxilin Weigert 15 menit. Bilas dengan air mengalir. Rendam menggunakan air hangat 10 menit. Digenangi asam fuchsin 5 menit. Bilas menggunakan akuades. Digenangi asam phospatungstik 15 menit, buang sisa zat pada slide. Ditetesi methyl blue, biarkan 5 menit. Bilas akuades. Dehidrasi dengan merendam slide 3 menit dalam alkohol dengan konsentrasi meningkat 70%, 80%, 96% dan absolut masing-masing 3 menit. Lakukan mounting.

Setelah dilakukan pewarnaan, berikutnya preparat di amati pada mikroskop dengan perbesaran 400x menggunakan kamera dan mikroskop cahaya (Olympus CX33) dan dilakukan pengukuran area kolagen menggunakan software *ImageJ*.

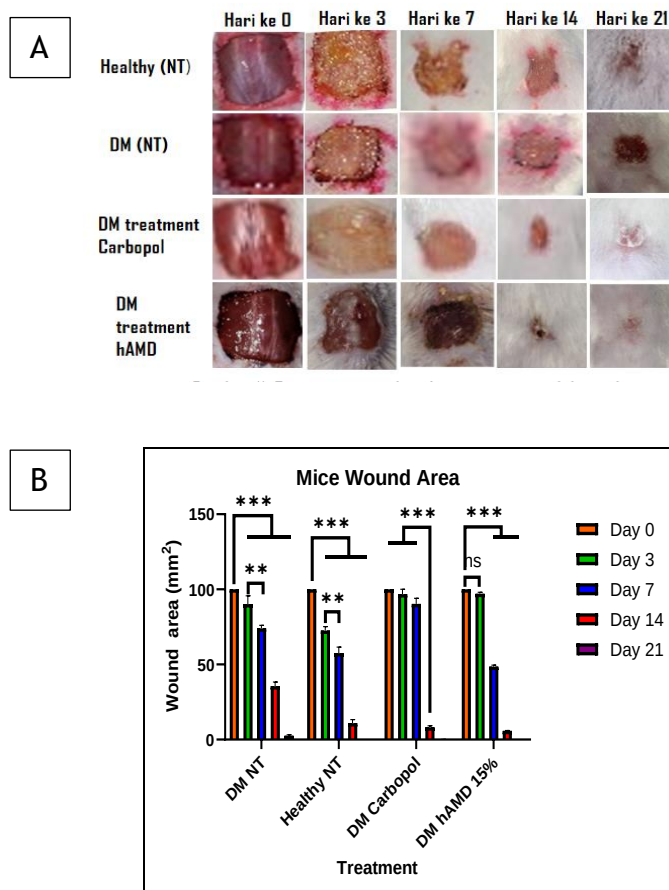
HASIL

Pengamatan yang dilakukan secara kualitatif dengan cara mewarnai preparat menggunakan pewarnaan trichrome masson, kuantitatif pengukuran luas area kolagen yang berwarna biru. Analisis data terhadap penutupan luka dan luas area kolagen dilakukan uji statistik menggunakan Graphpad Prism 10.2.3.

1. Pengamatan Makroskopis

Pada pengamatan secara makroskopis yaitu observasi yang dilakukan untuk

melihat perbedaan secara visual terhadap karakteristik luka DM dan sehat tanpa pemberian treatment dengan luka DM yang diberikan treatment hydrogel Carbopol dan hydrogel human amnion membrane. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada gambar 1.

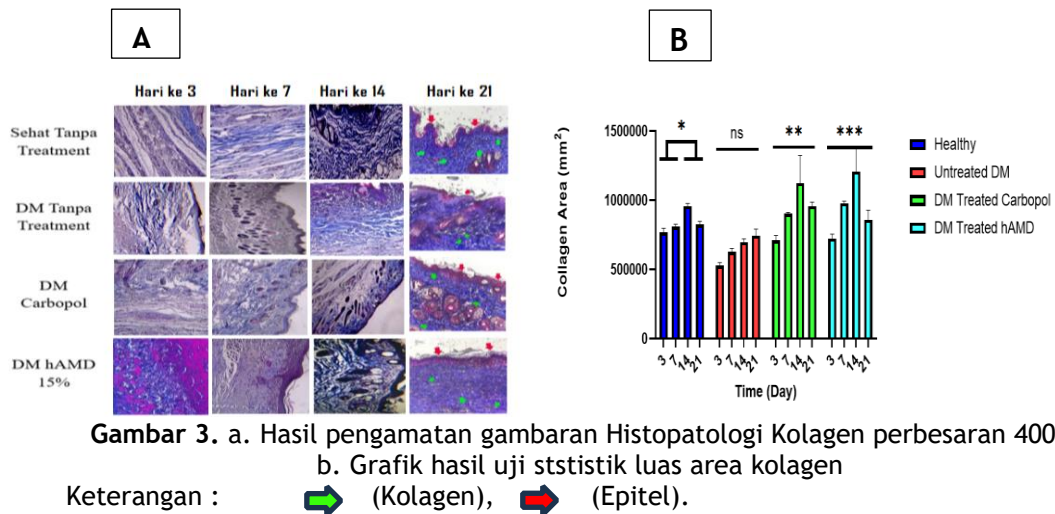


Gambar 1. a. Pengamatan makroskopis penutupan luka pada mencit sehat non treatment, DM non treatment, DM treatment carbopol dan DM treatment spidroin hari ke 0,3,7,14,21. b. Grafik hasil uji statistik ukuran luka

Pengamatan luka dilakukan sebanyak satu kali sehari selama 21 hari sesuai dengan lama proses penyembuhan luka normal untuk fase remodelling. Pengamatan berdasarkan penutupan dan adanya perubahan warna pada luka. Ukuran luka pada kelompok sehat NT, DM treatment Carbopol dan DM treatment hAMD 15% pada hari ke-21 sudah menutup rapat dan sembuh, sedangkan kelompok DM NT di hari ke-21 luka masih belum menutup rapat.

2. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis ini untuk melihat proses penyembuhan luka berdasarkan histopatologi dengan mengukur luas area kolagen. Hasil pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 3.



Histopatologi pada proses penyembuhan luka yang diwarnai dengan Tricrhome Masson. Pengamatan mikroskopis dilakukan terhadap serat kolagen yang kemudian di ukur luas areanya menggunakan software *ImageJ*. Luas area kolagen mengalami peningkatan pada setiap fase, namun peningkatan secara signifikan pada fase proliferasi dan remodelling. Kelompok DM hAMD 15% memiliki area kolagen paling luas, sedangkan kelompok DM NT memiliki luas area kolagen paling kecil.

DISKUSI

Pengujian luka dilakukan pada kelompok DM dan sehat tanpa pemberian treatment sebagai kontrol negatif, luka DM diberikan treatment hydrogel carbopol sebagai kontrol positif (internal), dan luka DM diberikan *treatment hydrogel Human Amnion Membrane* (hAMD 15%) sebagai kelompok perlakuan. Luka pada mencit kemudian diberikan treatment secara makroskopis dengan mengoleskan hydrogel sehari 3 kali sesuai dengan kelompok hari pada masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian treatment dilakukan pada pagi pukul 06.00 WIB, siang pukul 14.00 WIB dan malam pada pukul 22.00 WIB paska perlukaan. Observasi secara makroskopis juga dilakukan pengamatan pada perubahan warna luka dan pengukuran penutupan luka pada mencit dengan menggunakan jangka sorong digital yang diukur pada hari ke-3, 7, 14, dan 21.

Pengambilan jaringan kulit pada kelompok mencit hari ke-3, 7, 14, dan 21. Mencit di euthanasia menggunakan klorofom secara inhalasi, kemudian dilakukan pengambilan jaringan kulit dengan ukuran 20 mm x 20 mm menggunakan pisau bedah steril pada punggung mencit. Jaringan kulit yang diambil meliputi jaringan sehat dan jaringan yang sebelumnya terluka. Tahap selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Tricrhome Masson*, tujuan pewarnaan ini yaitu untuk mewarnai jaringan ikat yang nantinya dapat dilihat profil kolagen dari jaringan luka mencit yang mengalami diabetes mellitus. Preparat jaringan yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop untuk melihat profil kolagen jaringan tersebut yang kemudian diukur luas area kolagen menggunakan software *ImageJ*.

Berdasarkan gambar 1 pada hasil pengamatan makroskopis hari ke-3 terdapat perubahan ukuran luka dimana kelompok Sehat lebih kecil dibandingkan dengan DM carbopol dan DM HAMD 15%. Menurut Ngadiarti et al. (2021), hal itu terjadi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti nutrisi, hormon, dan lingkungan. Pada hari ke-3 termasuk kedalam fase inflamasi dimana fase inflamasi berfungsi untuk membuang sel-sel yang rusak, dan melakukan pencegahan infeksi bakteri. Dalam proses penyembuhan luka, menurut pernyataan Primadina et al. (2019), pada fase inflamasi makrofag muncul di area luka dan melakukan beberapa peran diantaranya untuk fagositosis, pembebasan sitokin dan pengaturan proliferasi. Maka dari itu, makrofag berperan sangat penting dalam menjaga keseimbangan antara peradangan dan penyembuhan dalam proses penyembuhan luka.

Pengamatan makroskopis hari ke-7, Pada kelompok DM NT luka tampak basah. Pada kelompok Sehat NT luka tampak berwarna merah muda dan mulai mengering, pada kelompok DM carbopol dan kelompok DM hAMD 15% ukuran luka sudah mulai mengecil dan tampak terbentuk jaringan granulasi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Antariksa et al. (2022), pada hari ke 7 yaitu tahap proliferasi, pada fase ini peningkatan jumlah fibroblas, dan angiogenesis berperan dalam pembentukan jaringan granulasi.

Pengamatan makroskopis hari ke-14 pada kelompok DM NT luka masih terlihat berwarna merah dan basah yang berarti bahwa proses penyembuhan luka berjalan lambat. Pada kelompok Sehat NT baru mengalami perubahan luka yang lebih kecil, sedangkan pada kelompok DM carbopol dan DM hAMD 15% luka sudah

hampir tertutup. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Rosanti et al. (2023), karena hydrogel mempunyai kadar air yang tinggi, penyebaran gel pada kulit lebih cepat, mudah berpenetrasi pada kulit sehingga dapat memberikan efek penyembuhan yang baik. Pengamatan makroskopis hari ke-21 terlihat bahwa luka pada kelompok Sehat NT, DM carbopol dan DM hAMD 15% sudah rapat. Sedangkan pada kelompok DM NT luka belum tertutup.

Berdasarkan uji statistik pada gambar 2 terlihat bahwa kelompok DM dengan pemberian treatment hydrogel Human Amnion Membrane memberikan pengaruh lebih besar terhadap proses penyembuhan luka serta tidak terjadinya infeksi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Yuslianti et al. (2021), karena hAM mengandung *extracellular matrix* (ECM) yang dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu ECM juga memicu sel-sel leukosit berperan untuk mencegah terjadinya infeksi. Sedangkan pada kelompok DM tanpa treatment mengalami penyembuhan luka berjalan lambat.

Berdasarkan uji statistik pada gambar 4 bahwa luas area kolagen pada kelompok DM NT lebih kecil dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM carbopol dan DM hAMD 15%. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ji et al. (2022) bahwa luka diabetes mengalami fase inflamasi berlangsung lama. Hasil penelitian ini sejalan dengan Andre et al., (2019), bahwa pemberian bahan ECM dapat mempercepat produksi kolagen. Menurut Purnama et al. (2018), hal ini karena terjadi proliferasi sel fibroblas, apabila tidak terdapat kontaminasi atau infeksi yang bermakna, proses inflamasi akan berlangsung pendek. Menurut pernyataan Nasiry et al. (2020), yaitu dengan pemberian hAM yang telah di deselularisasi mengandung sejumlah faktor angiogenik yang sangat berperan dalam proses penyembuhan luka, diantaranya TGF- β dan bFGF yang mempengaruhi berbagai jenis sel seperti fibroblas dan keratinosit sehingga merangsang migrasi dan proliferasi sel, meningkatkan sintesis ECM sementara, pembentukan pembuluh darah baru, modulasi deposisi kolagen, dan remodelling ECM sementara menjadi ECM permanen di jaringan granulasi. Penelitian ini juga sejalan dengan pernyataan Dinda et al. (2020), bahwa TGF- β berperan penting dalam pertumbuhan sel fibroblas dan sintesis matrik ekstraseluler. TGF- β memicu aktifitas sel fibroblas sehingga meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Sel fibroblas semakin banyak maka akan terjadi peningkatan jumlah kolagen yang berperan pada proses

remodelling. Maksimal proses sintesa kolagen berlangsung antara hari-14 dan hari-21. Pengamatan makroskopis sejalan dengan pengamatan mikroskopis dimana ukuran luka semakin besar maka area kolagen semakin kecil. Sebaliknya, ukuran luka semakin kecil maka area kolagen semakin besar.

KESIMPULAN

Kelompok DM hAMD mengalami penutupan luka dengan cepat dan memiliki area kolagen paling luas dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM NT, dan DM carbopol. Pemberian *treatment hydrogel human amnion membrane* pada luka diabetes mellitus secara in vivo memiliki pengaruh yang signifikan terhadap proses penyembuhan luka dengan nilai sig <0.05.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada ITB Olympus Bioimaging Center (IOBC) dan tim peneliti.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan

REFRENSI

- Andre, Stefanus. 2019. Histopatologi Kulit Pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca Pemberian *Ekstra Selular Matrix* (ECM) yang Berasal dari Vesica Urinaria Babi. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(3):313-324.
- Bawotong, R.A., De Queljoe, E. and Mpila, D.A., 2020. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon*, 9(2), pp.284-293.
- Budiman, F.A. and Hidayat, F., 2021. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta Vulgaris* L.) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Health Sains*, 2(3), pp.310-315.
- Damsir, D., Mattalatta, M., Muzakkir, M. and Irnayanti, R., 2018. Analisis Manajemen Perawatan Luka Pada Kasus Luka Diabetik Di Instalasi Gawat Darurat (IGD) Rumah Sakit Arifin Nu'mang Kabupaten Sidrap. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, pp.116-124.
- Dewantara, I.K.G.D., Gunawan, I.W.G. and Wirajana, I.N., 2017. Uji Potensi Ekstrak

- Etanol Daun Gedi (*Abelmoschus Manihot* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 2017, 5 (2), 94, 101.
- Fadilah, N.N., Agustien, G.S., Suhardiana, E. and Krisdwiyantika, F., 2023. Acute Toxicity Screening of Katuk Leaf Extract (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & NP Balakr) in Mice (*Mus musculus*) Using the Thompson and Weil Methods. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(3).
- Fénelon, M., Catros, S., Meyer, C., Fricain, J.C., Obert, L., Auber, F., Louvrier, A. and Gindraux, F., 2021. Applications of human amniotic membrane for tissue engineering. *Membranes*, 11(6), p.387.
- Finnerty, C.C., Jeschke, M.G., Branski, L.K., Barret, J.P., Dziewulski, P. and Herndon, D.N., 2016. Hypertrophic scarring: the greatest unmet challenge after burn injury. *The Lancet*, 388(10052), pp.1427-1436.
- Firlar, I., Altunbek, M., McCarthy, C., Ramalingam, M., & Camci-Unal, G. (2022). Functional Hydrogels for Treatment of Chronic Wounds. *Gels* (Basel, Switzerland), 8(2), 127. <https://doi.org/10.3390/gels8020127>
- Frieda, Julianto I, Dharmawan N, Kusumawardani A, Ellistasari Endra Y. Gambaran Deposisi Kolagen Tipe I Terhadap Usia Tikus Galur Wistar: Penelitian In Vivo. 2022. *Medika Kartika*.5(2):183-194. Available from: URL :https://www.researchgate.net/publication/361729511_GAMBARAN_DEPOSI_SI_KOLAGEN_TIPE_I_TERHADAP_USIA_TIKUS_GALUR_WISTAR_PENELITIAN_IN_VIVO
- Fuadi A, Yanto A. 2022. Penggunaan Madu Dalam Perawatan Luka Kronis Diabetes Mellitus. *Ners Muda*. 3(2):1-9. Available from: URL: <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/nersmuda/article/view/8332/pdf>
- Hakim, R.F., Fakhrurrazi, F., Rezeki, S., Sari, L.M. and Marfirah, Z., 2020. Hemostatic and Wound Healing Effects of *Gracilaria verrucosa* Extract Gel in Albino Rats: doi. org/10.26538/tjnpr/v4i11. 12. *Tropical Journal of Natural Product Research (TJNPR)*, 4(11), pp.912-917.
- Haryanto, H. and Swantomo, D., 2019, March. Modification of polyethylene oxide-polyethylene glycol dimethacrylate hydrogel film by the addition of *Jatropha multifida* sap for wound dressing application. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2085, No. 1). AIP Publishing.
- Krivoshiev, B.V., Beemster, G.T., Sprangers, K., Cuypers, B., Laukens, K., Blust, R. and Husson, S.J., 2018. Toxicogenomics of the flame retardant tris (2-

- butoxyethyl) phosphate in HepG2 cells using RNA-seq. *Toxicology in vitro*, 46, pp.178-188.
- Leal-Marin, S., Kern, T., Hofmann, N., Pogozykh, O., Framme, C., Börgel, M., Figueiredo, C., Glasmacher, B. and Gryshkov, O., 2021. Human Amniotic Membrane: A review on tissue engineering, application, and storage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(8), pp.1198-1215.
- Lina, R.N., Wijaya, H.M. and Fuadah, S., 2022. Aktivitas Infusa Daun Pisang Susu (*Musa Acuminata Colla*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Sains Medisina*, 1(1), pp.49-55.
- Martihandini, N., Denada, D. and Sutiswa, S.I., 2023. Formulation of Spray Gel Hand Sanitizer from Citronella Oil Using Gelling Agent Carbopol 940 and Humectant Propylene Glycol. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3).
- Nabillah S, Noval, Hidayah N. Formulasi dan Evaluasi Hidrogel Ekstral Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) Dengan Variasi Konsentrasi Polimer Carbopol 980. 2022. *Jiis*. 9 7(2):340-349. Doi : 10.36387/jiis.v7i2.995
- Nasiry D, Khalatbary R A, Abdollahifar A M, Amini A, Bayat M, Noori A, Piryaee A. Engraftment of bioengineered three-dimensional scaffold from human amniotic membrane-derived extracellular matrix accelerates ischemic diabetic wound healing. *Archives of Dermatological Research*. Available from: URL: <https://doi.org/10.1007/s00403-020-02137-3>
- Ou, Q., Zhang, S., Fu, C., Yu, L., Xin, P., Gu, Z., Cao, Z., Wu, J. and Wang, Y., 2021. More natural more better: triple natural anti-oxidant puerarin/ferulic acid/polydopamine incorporated hydrogel for wound healing. *Journal of Nanobiotechnology*, 19, pp.1-12.
- Permatasari, 2016 *Sintesis Dan Karakterisasi Hidrogel Superabsorben (Sap) Berbasis Poli (Vinil Alkohol-Ko-Etilen Glikol)* Universitas Pendidikan Indonesia Repository.Upi.Edu Perpustakaan.Upi.Edu
- Purnama, Y.H.C., Mastutik, G. and Putra, S.T., 2018. Increased Activity Of Mature Osteoblast from Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells in Osteogenic Medium Exposed to Melatonin. *Folia Medica Indonesiana*, 54(4), pp.282-288.
- Puspita, I. and Kurniati, M., 2022. Sifat Mekanik dan Densitas Ikatan Silang Hidrogel Berbasis Tapioka Nanopartikel. *Jurnal Riset Fisika Indonesia*, 3(1), pp.32-42.
- Rashmi, R., 2020. *Bioengineered skin grafts for chronic wounds using 3-dimensional hybrid scaffolds made up of silk fibroin, fibrin composite and amnion* (Doctoral dissertation, SCTIMST).

- Sepantafar, M., Maheronnaghsh, R., Mohammadi, H., Radmanesh, F., Hasani-Sadrabadi, M.M., Ebrahimi, M. and Baharvand, H., 2017. Engineered hydrogels in cancer therapy and diagnosis. *Trends in biotechnology*, 35(11), pp.1074-1087.
- Sumbayak, E. M. (2015). Fibroblast: struktur dan peranannya dalam penyembuhan luka. *Jurnal Kedokteran*, 21(57): 1-6
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B.B., Stein, C., Basit, A., Chan, J.C., Mbanya, J.C. and Pavkov, M.E., 2022. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 183, p.109119.
- Yuslianti, E.R. and Ramadhanty, D.D., 2023. The Effect of Rambutan Honey Toothpaste On The Diameter Of The Inhibition Zone For The Growht Of *Staphylococcus aureus*. *SONDE (Sound of Dentistry)*, 8(1), pp.1-12.
- World Health Organization. Pengetian DM. [serial online] 2022 [cited 2024 Mar 2]. Available from: URL: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/diabetes>.

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI KITINOLITIK PADA AIR PAYAU DI SULAWESI TENGGARA

Sapto prasetyo¹ · Firdayanti² · Angriani Fusvita³ · Saratika aisa^{4*} ·
Neng Wulan Dwi ningsi⁵

^{1,2,3,4,5} D-III Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari,
Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail saratikaaisa@gmail.com
No Tlp WA : 082260543364

Abstract

*Chitinolytic bacteria are a group of bacteria capable of producing chitinase enzymes to decompose chitin substances. This study aims to determine the results of "isolation and identification of chitinolytic bacteria in brackish water using chitin media." The type of research used was an experiment using a qualitative method with a simple random sampling technique. The suspension of brackish water into LB media was then isolated to NA media, then gram staining and inoculation into chitin media were carried out, followed by biochemical tests using the Vitek 2 compact. The results showed that in the brackish water sample, gram-negative bacteria were found in the form of bacilli, white, convex in the isolates of the first sample and gram-negative bacteria in the form of bacilli, white, convex in the isolates of the second sample. The results of identification and biochemical tests showed samples of brackish water examined by the Vitek 2 Compact method showed 94% of *Aeromonas salmonicida* bacteria.*

Keywords: Identification, Isolation, Chitinolytic, Chitin Media

Abstrak

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk menguraikan zat kitin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil "isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau menggunakan media *kitin*" jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen menggunakan metode kualitatif dengan teknik pengambilan sampel secara simple random sampling. Air payau disuspensi ke media LB kemudian diisolasi ke media NA, dan dilakukan pewarnaan gram dan inokulasi ke media *kitin*, selanjutnya dilanjutkan pemeriksaan uji biokimia menggunakan alat *vitek 2 compact*. Hasil penelitian menunjukkan pada sampel air payau ditemukan adanya bakteri gram negatif berbentuk basil, putih, cembung pada isolat sampel pertama dan bakteri gram negatif berbentuk basil, putih, cembung pada isolat sampel kedua. Hasil identifikasi dan uji biokimia menunjukkan sampel air payau pemeriksaan metode Vitek 2 Compact menunjukkan 94% bakteri *Aeromonas salmonicida*.

Kata Kunci : Identifikasi, Isolasi, Kitinolitik, Media Kitin

PENDAHULUAN

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk menguraikan zat kitin. Beberapa bakteri yang telah diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase adalah *Bacillus papandayan*, *Bacillus thuringiensis*, *Vibrio harveyi*, dan *Aeromonas* sp. Upaya untuk mengisolasi bakteri kitinolitik dari berbagai sumber telah banyak dilakukan di Indonesia. Isolat bakteri kitinolitik dapat diperoleh dari sumber air panas, tanah dan lumpur. serta dari

sumber perairan lain seperti sungai dan laut (Paulsen et al., 2016; Pujiyanto et al., 2011).

Penelitian oleh Pukan (2014) melaporkan bahwa enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri kitinolitik berasal dari perairan berperan dalam proses daur ulang kitin, dengan adanya enzim kitinase ini maka proses penguraian kitin berlangsung berkesinambungan sehingga tidak terjadi akumulasi dari sisa-sisa cangkang udang, kepiting, cumi-cumi dan organisme perairan lainnya (Purkan et al., 2014). Bakteri kitinolitik dapat diperoleh dengan cara mengisolasi atau memindahkan bakteri tersebut dari lingkungannya di alam bebas ke dalam medium buatan (Fitri & Yasmin, 2011)

Kitin merupakan biopolimer terbesar kedua setelah selulosa, yang tersusun dari residu N-asetilglukosamin melalui ikatan (1-4) dengan persediaan yang sangat melimpah di alam. Kitin dapat ditemukan pada komponen tubuh udang, kepiting, serangga, kerang, cumi-cumi dan hewan arthropoda lainnya. Kitin juga ditemukan pada komponen dinding sel dari banyak jamur dan alga (Paulsen et al., 2016; Swiontek Brzezinska et al., 2014). Ukuran kitin yang relatif besar dan kelarutan kitin yang rendah serta sulit diserap oleh tubuh manusia, sehingga aplikasi kitin terbatas dan menyebabkan kitin menjadi sumber utama pencemaran senyawa organik. Pencemaran tersebut dapat diatasi dengan mengelola kitin menjadi suatu produk yang memiliki nilai ekonomis. Upaya pengolahan kitin dapat dilakukan secara enzimatik maupun kimiawi. Pengolahan kitin secara enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme kitinolitik (Yanti & Prasetya, 2021).

Air payau atau brackish water merupakan air yang mempunyai salinitas (kandungan garam) 0,5 - 17 ppt, pada musim kemarau panjang kualitas air tanah dangkal akan lebih menurun sebagai akibat intrusi air laut, sehingga air payau akan terasa lebih asin karena meningkatnya kadar garam (Astuti et al., 2007). Kondisi yang seperti ini sangat diperlukan adanya pengolahan air lebih lanjut agar air payau ini layak untuk digunakan. Pengolahan tersebut diharapkan dapat menurunkan kandungan garam dalam air dan parameter kualitas air yang lain (Rahmayanti & Hamidah, 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau menggunakan media *kitin*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan penyajian data secara deskriptif. Populasi dari penelitian ini adalah air payau yang berada di kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan Teknik *Random Sampling*.

Air payau disuspensi ke media LB kemudian diisolasi ke media NA, dan dilakukan pewarnaan gram dan inokulasi ke media kitin, selanjutnya dilanjutkan pemeriksaan uji biokimia menggunakan alat vitek 2 compact.

HASIL

Isolasi dan identifikasi sampel air panas pada media NA (*Nutrient Agar*), Chitin Agar dan pewarnaan gram, diamati secara mikroskopik dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan Biokimia menggunakan alat *Vitect 2 Compact*.

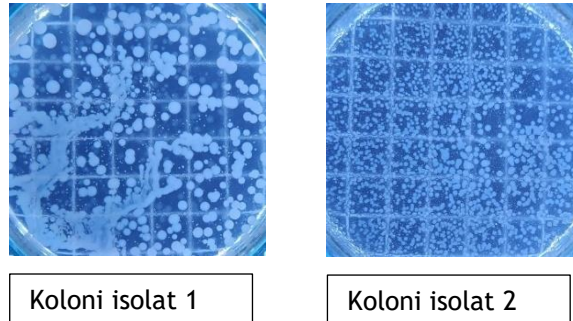
Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Pewarnaan Gram.

Kode sampel	Morfologi bakteri				
	Warna	Bentuk	Permukaan	Elevasi	Pewarnaan
Isolat 1	Putih	Basil	Halus	Cembung	Gram Negatif
Isolat 2	Putih	Basil	Halus	Cembung	Gram Negatif

Berdasarkan tabel 1 Hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan morfologi bakteri pada isolat pertama warna koloni putih, bentuk basil, permukaan halus, elevasi cembung, suhu 23°C, pH 5, titik koordinat *Latitude* - 3.98411 S 3°59'2.805' *Longitude* 122.53342E 122°32'0.31884" selanjutnya dilanjutkan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram negatif. Kemudian hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan morfologi bakteri pada isolat kedua warna koloni putih, bentuk basil, permukaan halus, elevasi cembung, suhu 24°C, pH 5, titik koordinat *Latitude* -3.97951 S 3°58'46.23564" *Longitude* 122.53296 E 122°31'58.66248" selanjutnya dilanjutkan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram negatif.

1. Gambar pengamatan koloni bakteri Pada Media NA

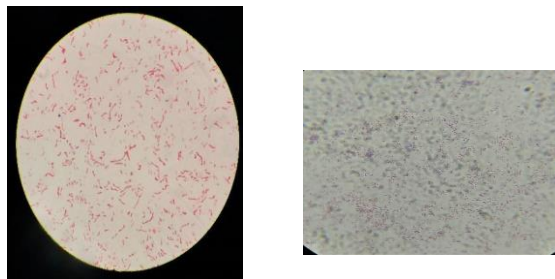
Hasil isolasi sampel air payau pada Media NA secara Makroskopis dengan metode tuang, ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 1. Hasil Isolasi Sampel Air Payau

2. Pengamatan Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram pada isolasi sampel air panas pada media NA secara mikroskopik, disajikan pada gambar berikut:



Gambar 2. a. basil gram negatif b. basil gram negatif

3. Uji Zona Bening



Gambar 3. Hasil Uji Zona Bening

Isolat yang memiliki kemampuan kitinolitik ditunjukkan dengan kemampuan untuk menghasilkan zona bening di sekitar koloni pada media kitin, karena hanya bakteri yang memproduksi kitinase yang dapat mengurai substrat kitin pada medium. Isolat pada

media kitin tidak tumbuh zona bening. Zona bening terbentuk karena proses pemecahan substrat kitin menjadi senyawa sederhana setelah disekresikannya kitinase oleh bakteri (Paulsen et al., 2016; Swiontek Brzezinska et al., 2014)

4. Uji Biokimia

Hasil pemeriksaan uji Biokimia pada isolasi sampel air panas pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan alat *Vitek 2 Compact* dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

No	Kode sampel	Hasil Restaning Gram	Hasil Identifikasi Mikroorganisme
1	Isolat 1 Sampel Air Payau (Basil Gram -)	Basil Gram Negatif	<i>Aeromonas salmonicida</i> (94%)
2	Isolat 2 Sampel Air Payau (Basil Gram -)	Basil Gram Negatif	Tidak teridentifikasi

Sumber: Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, 2023

DISKUSI

Hasil pemeriksaan pada Isolat pertama sampel air payau, pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni dengan ciri-ciri yaitu koloni berbentuk basil, warna koloni putih, permukaan halus serta elevasi yang cembung. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram, hasil yang didapatkan dari pewarnaan gram menunjukkan adanya bakteri gram negatif yang berbentuk *basil*. Selanjutnya dilakukan uji biokimia menggunakan alat *Vitek 2 Compact* ditemukan bakteri *Aeromonas salmonicida*.

Aeromonas salmonicida adalah agen infeksi tertua yang diketahui terkait dengan penyakit ikan dan merupakan bakteri patogen utama ikan, khususnya salmonid. Bakteri ini dapat ditemukan hampir di seluruh dunia baik di lingkungan laut dan air tawar dan telah dibagi menjadi beberapa sub-spesies (Austin et al., 2016; Menanteau-Ledouble et al., 2016).

Pemeriksaan pada Isolat kedua sampel air payau. pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni dengan ciri-ciri yaitu koloni berbentuk basil, warna koloni putih, permukaan halus serta elevasi yang cembung. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram. Hasil yang

didapatkan dari pewarnaan gram menunjukkan adanya bakteri gram negatif yang berbentuk *basil*. Selanjutnya dilakukan uji biokimia menggunakan alat *Vitek 2 Compact* ditemukan bakteri tidak teridentifikasi.

Menurut *Fitriana et al., 2017* hal itu dapat terjadi karena Kesalahan dalam identifikasi bakteri dengan penggunaan mesin otomatis *Vitek 2 Compact*, yang terjadi dalam pemilihan kartu (*ID Card*) (Fitri & Yasmin, 2011; Stoykov et al., 2015).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau di Sulawesi Tenggara menggunakan media *kitin*, ditemukan bakteri *Aeromonas salmonicida*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada kepala laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada kendari yang telah membantu dan memberi izin hingga penelitian ini selesai dan juga terimakasih kepada pihak pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini berjalan lancar.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Astuti, W., Jamali, A., & Amin, M. (2007). Desalinasi air payau menggunakan surfactant modified zeolite (SMZ). *Jurnal Zeolit Indonesia*, 6(1), 32-37.
- Austin, B., Austin, D. A., Austin, B., & Austin, D. A. (2016). Aeromonadaceae representative (*Aeromonas salmonicida*). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*, 215-321.
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 20-25.
- Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2016). *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120(1), 49-68.

- Paulsen, S. S., Andersen, B., Gram, L., & Machado, H. (2016). Biological potential of chitinolytic marine bacteria. *Marine Drugs*, 14(12), 230.
- Pujiyanto, S., Ferniah, R. S., & Rahardian, R. (2011). Aktivitas bakteri kitinolitik akuatik isolat lokal terhadap perkembangan dan mortalitas larva nyamuk *Aedes Aegypti* L. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 19(2), 54-59.
- Purkan, P., Baktir, A., & Sumarsih, S. (2014). Eksplorasi Bakteri Kitinolitik dari Sampah Organik: Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase. *Molekul*, 9(2), 128-135.
- Rahmayanti, A., & Hamidah, L. N. (2019). Efisiensi removal bakteri pada filter air payau dengan media karbon aktif. *Journal of Research and Technology*, 5(1), 80-87.
- Stoykov, Y. M., Pavlov, A. I., & Krastanov, A. I. (2015). Chitinase biotechnology: production, purification, and application. *Engineering in Life Sciences*, 15(1), 30-38.
- Swiontek Brzezinska, M., Jankiewicz, U., Burkowska, A., & Walczak, M. (2014). Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. *Current Microbiology*, 68, 71-81.
- Yanti, N. A., & Prasetya, W. M. (2021). Characterization of the gene encoding chitinase enzyme from bacillus isolates insulated from some locations in Southeast Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series*, 1899(1), 12017.

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN ETANOL EKSTRAK ETANOL 70% BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) PADA BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Fatimah Nisma^{1*} · Ratih Kartika Dewi² · Pricila Divta Putri³

^{1,2,3} TLM, FFS, Universitas Muhammadiyah, Prof. DR. Hamka, Jakarta, Indonesia

e-Mail: fatimah_nisma@uhamka.ac.id

No Tlp WA : 08111165790

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is a Gram-negative bacteria that causes eye, urinary and respiratory infections. Butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L) is a plant that contains various compounds such as flavonoids, tannins, alkaloids, steroids, and saponins that have antibacterial properties. The purpose of this study was to determine the activity of n-hexane, ethyl acetate, and ethanol fractions from 70% ethanol extract of butterfly pea flower as antibacterial for *Pseudomonas aeruginosa*. The method used is disc diffusion by calculating the diameter of the inhibition zone of antibacterial activity. The samples were extracted with 70% ethanol, followed by fractionation using n-hexane, ethyl acetate, and ethanol solvents. The results of the antibacterial activity test showed that the n-hexane, ethyl acetate, and ethanol fractions had antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The n-hexane fraction has an inhibition zone of 5.49 mm with an effectiveness of 21.4%, the ethyl acetate fraction has 10.8 with an effectiveness of 42.1%, and the ethanol fraction has 18.05 with an effectiveness result of 70.50%. The results of the ethanol fraction of butterfly pea flowers have a higher level of effectiveness compared to the n-hexane and the ethyl acetate fraction.

Keywords: Antibacterial, *Clitoria ternatea* L. Butterfly flower, Fractionation, *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstrak

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram-negatif penyebab infeksi mata, saluran kemih dan saluran nafas. Bunga telang adalah tanaman yang mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan saponin yang memiliki sifat antibakteri, antioksidan antidiabetes dan sebagainya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol dari ekstrak etanol 70% bunga telang pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Metode yang digunakan adalah difusi cakram dengan menghitung diameter zona hambat aktivitas antibakteri. Sampel bunga telang diekstraksi dengan etanol 70%, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol. Kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin* dan kontrol negatif adalah *aquadest*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol ekstrak etanol 70% bunga telang mempunyai aktivitas antibakteri pada *Pseudomonas aeruginosa*. Fraksi n-heksan memiliki zona hambat 5,49 mm dengan efektivitas 21,4 %, fraksi etil asetat memiliki zona hambat 10,8 dengan efektivitas 42,1%, dan fraksi etanol memiliki zona hambat 18,05 mm dengan hasil efektivitas 70,50%. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol bunga telang memiliki efektivitas antibakteri lebih tinggi dibanding dengan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat, sehingga fraksi etanol bunga telang digolongkan efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci : Antibakteri, Bunga Telang *Clitoria ternatea* L., Fraksinasi, *Pseudomonas aeruginosa*.

PENDAHULUAN

Mikrobiologi ialah disiplin ilmu dengan memfokuskan studi pada seluruh organisme mikroskopik, baik dalam bentuk sel tunggal, multiseluler, maupun seluler, termasuk bakteri, fungi, mikroalga, protozoa, dan archae. Sejak penemuan

mikroskop, ilmu mikrobiologi mengalami kemajuan yang signifikan dan saat ini menjadi bidang yang multidisipliner. Penerapannya saat ini sangat berkaitan dengan disiplin ilmu lainnya, khususnya dalam upaya menyelesaikan berbagai masalah praktis di bidang farmasi, kedokteran, gizi, dan kesehatan (Fibriana dan Amalia, 2017).

Indonesia dianggap sebagai negara dengan keanekaragaman hayati terkemuka di dunia. Terdapat sekitar 90.000 jenis tanaman dapat dilacak di Indonesia. Keanekaragaman hayati ini dimanfaatkan oleh bangsa Indonesia untuk berbagai tujuan, seperti memenuhi kebutuhan pangan, pengobatan tradisional, pelestarian adat istiadat, hiasan, dan menciptakan inovasi lokal (Fitmawati *et al.*, 2018).

Tanaman bunga telang memiliki potensi untuk dikembangkan baik sebagai tanaman hias maupun tanaman obat. Bunga telang telah lama dimanfaatkan sebagai obat alternatif untuk mengobati berbagai penyakit, sehingga dianggap sebagai salah satu tanaman obat keluarga (TOGA). Bunga *Clitoria ternatea* memiliki khasiat dalam mengobati berbagai penyakit yang sulit diatasi, antara lain: mata merah, sakit tenggorokan, penyakit kulit, dan mampu sebagai anti racun (Rokhman 2017).

Senyawa metabolit sekunder ialah senyawa hasil metabolisme yang tersedia dalam unit kecil atau bervariasi antar spesies yang berbeda (Cahyaningsih *et al.*, 2019). Penyaringan senyawa metabolit sekunder umumnya menggunakan pelarut etanol 70% karena umumnya etanol efektif menarik senyawa-senyawa seperti alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan flavonoid yang memiliki sifat polar maupun non polar. Bunga telang kaya dengan senyawa metabolit sekunder ini dan diharapkan dengan menggunakan etanol untuk ekstraksi, semua senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bunga telang dapat tersari dengan baik menggunakan pelarut etanol.

Antibakteri adalah bahan yang dapat menghambat reproduksi bakteri dan memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri patogen. Antibakteri bersifat bakteriostatik yaitu menghambat perkembangan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal yang mampu membunuh bakteri (Fatimah *et al.*, 2022). Pernyataan ini diperkuat oleh studi yang dilaksanakan oleh Rokhman (2017) yang melakukan pengujian terhadap kemampuan ekstrak bunga telang sebagai antibakteri, diperoleh hasilnya bahwa ekstrak bunga telang dapat menghambat perkembangan bakteri dengan merusak dinding sel peptidoglikan dan lapisan sitoplasma. Hal ini

karena flavonoid yang terkandung dalam bunga telang diketahui mampu mengganggu perakitan rantai peptida pada peptidoglikan penyusun dinding sel bakteri.

Penelitian antibakteri terhadap ekstrak etanol yang bersifat polar pada bunga telang sudah dilakukan, tetapi belum ada penelitian untuk mengetahui senyawa potensial antibakteri pada fraksi n-heksan yang bersifat non polar dan etil asetat yang semipolar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol dari ekstrak etanol 70% bunga telang dalam menghambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah perlalatan gelas yang ada di laboratorium, Oven (Memmert®), *autoclave* (Hiclave HVE-50), *incubator* (Memmert®), neraca analitik (ohaus), ose steril, penggaris, kapas steril, *paper disk blank* (mn), ayakan *mesh* no 40, toples maserasi, botol vial, alumunium foil, kertas saring/flanel, krus silikat, tanur, krus tang, corong pemisah, refrigerator, hotplate, penghalus (blender), *vacuum rotary evaporator* (buchi), cotton swab steril, *moisture balance*, desikator, spektrofotometri uv-vis (shimadzu).

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang (*Clitoria ternatea L.*), biakan murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (thermoscientific ATCC 27853) NaCl Fisiologis 0,85%, Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) (HIMEDIA), Media NB (*Nutrient Broth*) (MERCK), Media CETA (*Cetrimide Agar*) (HIMEDIA) Etanol 70%, *aquadest* steril, disk antibiotik ciprofloxacin (OXOID), HCl 2N (MERCK), Pereaksi Mayer (MERCK), Pereaksi Dragendrof (MERCK), serbuk Mg, dan FeCl₃ 1%, n-heksan (MERCK), etil asetat (satyam), etanol (MERCK).

Metode Penelitian

Prosedur Penelitian

1. Determinasi tumbuhan

Sebelum dilakukan pembuatan simplisia maka bunga telang dilakukan determinasi terlebih dahulu. Determinasi dilakukan di PT. Palapa Muda Perkasa, Cilodong, Depok Jawa Barat.

2. Pembuatan serbuk simplisia

Bunga telang segar dikumpulkan, kemudian disortasi untuk memisahkan

pengotor dan bahan-bahan asing lain yang masih ada dari proses pengumpulan bahan. Bunga telang selanjutnya dicuci untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun tersebut, lalu daun dirajang untuk mempermudah proses pengeringan, setelah itu dikeringkan. Kemudian simplisia bunga telang dibuat serbuk. Serbuk yang diperoleh diayak dengan blender dan diayak dengan ayakan *no mesh* 40, hasil serbu lalu ditimbang, dicatat dan disimpan dalam wadah tertutup (Octaviani, 2022).

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Bunga telang (Rokhman, 2017)

Ekstrak bunga telang diperoleh dengan melakukan proses maserasi selama 3x24 jam. Kemudian Hasil ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 60°C putaran 70 rpm. Selanjutnya ditempatkan di atas *waterbath* hingga terbentuk ekstrak kental (Septian dan Jati, 2019).

4. Perhitungan rendemen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia total}} \times 100 \%$$

5. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

a. Secara Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan secara visual dengan dilihat secara langsung dari panca indra, mulai dari bentuk, warna, bau, dan bau dari ekstrak kental, yang diperoleh.

b. Penetapan kadar abu

Sebanyak $\pm$ 2-3 g ekstrak yang telah diperoleh dan ditimbang saksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan, ditara, dan diratakan pada tanur suhu 600 °C selama 6 jam. Perlahan-lahan ekstrak dipijarkan hingga arang habis, setelah itu didinginkan dan ditambahkan air panas, kemudian disaring melalui kertas saring bebas abu. Setelah itu dipijarkan Kembali sisa kertas dan uapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Departemen Kesehatan RI, 2017).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{Barat abu yang diperoleh}}{\text{Berat Sampel Kering}} \times 100 \%$$

c. Penetapan Susut Pengeringan

Susut pengeringan ditentukan dengan menimbang 2 gram ekstrak bunga telang menggunakan alat pengukur kadar air pada suhu 105°C dengan waktu

pengeringan otomatis. Selanjutnya ditunggu sampai alat *moisture balance* berbunyi yang menandakan hasil analisis telah selesai, kemudian hasil susut pengeringan dicatat dalam satuan persen (%) (Departemen Kesehatan RI, 2017).

6. Fraksinasi (Hanani, 2023)

Fraksinasi dilakukan dengan cara sebanyak 20 gram ekstrak etanol 70% bunga telang dilarutkan dengan 100 ml alkohol, dimasukkan ke dalam corong pisah, setelah itu ditambahkan 3 x 100 ml n-heksana, kemudian hasil fraksi n-heksan ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Residu dari fraksinasi etanol dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 3 x 100 ml *etil asetat*, sehingga diperoleh hasil fraksi *etil asetat* dan fraksi alkohol. Ketiga fraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

7. Penapisan fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 2 ml filtrat ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan serbuk Magnesium dan diteteskan 1 ml HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau kuning (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

b. Saponin

Sebanyak 2 ml filtrat ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama ± 10 detik. Hasil positif terbentuknya busa yang stabil 1-10 cm setelah ditambahkan HCl 2N (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

c. Flavonoid

Sebanyak 2 ml filtrat ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan serbuk Magnesium dan diteteskan dengan 1 ml HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau kuning (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

d. Tanin

Sebanyak 2 ml filtrat ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 . Hasil positif terbentuknya tanin bila terbentuk warna hijau kehitaman (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

e. Steroid/ triterpenoid

Sebanyak 2 ml filtrat ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 ml asam asetat anhidrat dan 3 tetes H_2SO_4 melalui dinding tabung. Hasil positif steroid terbentuknya warna merah (Dyah, 2021).

8. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan untuk alat dan bahan yang digunakan pada pengujian. Semua alat gelas yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu. Untuk alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan di dalam oven pada suhu $180^{\circ}C$ selama 2 jam. Bahan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu $121^{\circ}C$ selama 20 menit dan untuk peralatan seperti jarum ose disterilisasi dengan pemijaran.

9. Pembuatan Media Nutrien Broth (NB)

Media NB ditimbang sebanyak 0,12 g, dimasukkan dalam gelas kimia dan dilarutkan dalam 15 ml *aquadest*. Untuk menambah kelarutan maka dididihkan larutan di atas pemanas sambal diaduk sampai larut sempurna kemudian didinginkan, setelah dingin media dipindahkan ke erlenmeyer 50 ml dan ditutup rapat dengan kapas dan kain kasa untuk mencegah masuknya udara. Kemudian media disterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit. Media ditunggu hangat dan dituang dalam tabung reaksi 10 ml.

11. Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri diambil dengan jarum ose steril sebanyak 1 ose, lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan 10 ml NB (*nutrient broth*) sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri. Kekeruhan bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS yang disamakan dengan kekeruhan standar Mc. Farland 0,5% (Nisa, 2023).

12. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Media padat *Mueller Hinton Agar* (MHA) diinokulasikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kapas lidi steril hingga rata kemudian tunggu $\pm 10-15$ menit agar suspensi bakteri terdifusi ke dalam media. Selanjutnya disk cakram ditempelkan pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang sudah

diinokulasikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Ciprofloxacin* digunakan sebagai kontrol positif, *Aquadest* sebagai kontrol negatif (Dyah, 2021).

Diameter zona hambat (zona jernih) yang terbentuk diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter *paper disk*. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan berdasarkan kekuatan daya antibakterinya (Nisa, 2023).

13. Efektivitas antibakteri

Efektivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol ekstrak bunga telang dapat dinilai dengan membedakan tingkat polaritas sampelnya, seperti non polar, semi polar, dan polar. Pengukuran ini mencakup perhitungan presentase (%) zona hambat menggunakan persamaan berikut: (Fatimah et al., 2022) :

$$E = \frac{D}{Da} \times 100\%$$

E: Efektivitas antibakteri (%).

D :Diameter zona hambat ekstrak bunga telang (mm).

Da : Diameter zona hambat antibiotika (mm).

HASIL

A. Identifikasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Determinasi tumbuhan bunga telang yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di PT. Palapa Muda Perkasa (*Chemicals Product and Chemicals Analysis Service*), Depok, Jawa Barat. Hasil determinasi menunjukkan tumbuhan tersebut adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dari suku Fabaceae sesuai dengan surat NO: 996/IPH.1.06./if.05/I/2024 atas nama Amarul Ummam Riano.

B. Pengumpulan Bahan, Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Simplisia Bunga Telang.

Bunga telang diperoleh dari Perkebunan Rakyat di Kelurahan Kramat Jati Jakarta Timur dengan kriteria bunga segar mekar sempurna dan berwarna ungu. Setelah dikumpulkan, bunga tersebut dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan dengan membiarkan bunga pada suhu ruangan dan terhindar dari sinar matahari langsung, guna mencegah kerusakan senyawa metabolit sekunder dalam bunga tersebut.



Gambar 1. Penimbangan, pengeringan dan penghalusan bunga telang

C. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Ekstrak diperoleh dari simplisia bunga telang dengan cara maserasi. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* suhu 50-60°C. Hasil rendemen ekstrak dapat diperhatikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen ekstrak Bunga telang

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
618 gram	352,3 gram	57,00

D. Pemeriksaan Mutu Ekstrak

1. Organoleptis

Pengujian organoleptik secara visual dan langsung, dimulai dari bentuk, warna, dan bau ekstrak kental yang dihasilkan. Pengujian organoleptik merupakan jenis pengujian yang menggunakan panca Indra manusia sebagai teknik utama dalam mengukur suatu produk. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptis ekstrak Bunga Telang

Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Biru kehitaman
Rasa	Pahit (Singh <i>et al.</i> , 2016)
Bau	Bau khas seperti gula aren

2. Penetapan Kadar Abu

Kadar abu ditentukan menggunakan sampel ekstrak kental bunga telang yang ditimbang seksama. Selanjutnya, sampel tersebut mengalami proses pengarangan dalam tanur pada suhu 600°C selama 6 jam hingga menjadi abu.

Hasil ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Abu Bunga Telang

Krus	Bobot Sampel (g)	Bobot Krus (g)	Bobot Krus + Abu (g)	Kadar Abu (%)
I	2	21,7540	21,8632	5,46 %
II	2	21,2152	21,3017	4,32 %
III	2	21,7510	21,8642	5,66 %

3. Penetapan Susut Pengeringan ekstrak bunga telang

Susut pengeringan ekstrak bunga telang menggunakan *moisture balance* dengan suhu 105°C dengan pengaturan otomatis untuk mengetahui persentasinya. Hasil penetapan ini dapat diperhatikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Hasil Susut Pengeringan Bunga Telang

Bobot serbuk (g)	Susut pengeringan (%)	Pustaka (Farmakope Herbal Indonesia)
2,00 (g)	3,90	<10%

E. Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Telang

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak bunga telang. Hasil uji skrining fitokimia tumbuhan bunga telang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Bunga Telang

Senyawa	Pereaksi	Hasil Ekstrak	Pustaka (Cahyaningsih, 2019)	Ket.
Flavonoid	Serbuk Mg + 1 ml HCl Pekat	Warna merah	Positif apabila menghasilkan warna merah.	+
Alkaloid (<i>Dragendorff</i>)	HCl 2N + Pereaksi <i>Dragendorff</i>	Terbentuk endapan jingga	Positif apabila terbentuk endapan jingga pada pereaksi <i>Dragendorff</i> .	+
Tanin	FeCl ₃	Warna kehitaman	Positif apabila terbentuk warna kehitaman.	+
Steroid	H ₂ SO ₄	Terbentuk warna merah	Positif steroid terbentuk warna merah.	+
Saponin	HCl 2N	Terbentuk buih stabil setelah ditambah kan HCl 2N	Terbentuk buih stabil ±10 menit setelah penambahan HCl 2N	+

F. Uji Kekeruhan Suspensi Bakteri

Untuk membuat suspensi bakteri, 1 ose isolat murni bakteri *Pseudomonas*

aeruginosa dimasukkan ke dalam 10 ml media NB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan uji kekeruhan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 600 nm. Hasil uji kekeruhan suspensi bakteri diperhatikan pada tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Hasil Uji Kekeruhan Suspensi Bakteri.

Sample ID	Hasil Uji Kekeruhan	
	Absorban Wavelength 600,0 nm	
Suspensi I	0,192	
Suspensi II	0,185	
Suspensi III	0,170	

G. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Bunga Telang

Proses fraksinasi melibatkan ekstraksi cair-cair dengan corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan kepolar berbeda-beda. Pelarut n-heksan bersifat non- polar, etil asetat dan etanol 70% bersifat polar. Hasil fraksinasi ekstrak etanol bunga telang dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil fraksinasi ekstrak etanol bunga telang

Jenis pelarut	Fraksi cair (ml)	Fraksi kental (g)
n-heksan	5,9	-
Etil asetat	-	06,6426
Etanol 70%	-	11,7687

H. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang dan Fraksi

Pengujian aktifitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol ekstrak etanol 70% bunga telang dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diuji menggunakan metode cakram. Bahan uji sebanyak ± 20 ml diteteskan pada *disk* cakram dan didiamkan $\pm 4-5$ menit agar dapat terserap secara optimal. Selanjutnya, kertas cakram tersebut ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Inokulasi bakteri menggunakan kapas lidi sudah disterilkan dan didiamkan selama 10 menit agar bakteri dapat berdifusi ke dalam media. Kontrol positif menggunakan obat *ciprofloxacin* dan control negatif menggunakan air. Hasil ini dapat diperhatikan pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol ekstrak bunga telang

Fraksi ekstrak bunga telang	Zona hambat (mm)										Rata- rata (mm)	Kategori kekuatan antibakteri
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
Etanol 70%	17,7	17,5	18,5	17,7	18,8	17,6	18,6	17,8	19,5	16,8	18,05	Kuat
Etil asetat	10,2	9,6	10,1	11,8	9,6	10,5	12,0	12,5	11,5	10,2	10,08	Kuat
n-heksan	0	0	7,2	8,5	9	9,8	9,9	0	10,5	0	5,49	Sedang
Kontrol positif (Ciprofloxacin 5)					25,6							Sangat Kuat
Kontrol negatif (Aquadest)					0							-

I. Efektivitas Fraksi Ekstrak Bunga Telang Sebagai Antibakteri

Deskriptif untuk menetapkan kategori keefektifan antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol, ekstrak etanol 70% bunga telang dihitung dalam persentase (%) daya hambat. Efektivitas dari ekstrak bunga telang dibandingkan dengan daya hambat antibiotik. Hasil efektivitas fraksi bunga telang dapat diperhatikan pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil efektifitas fraksi-fraksi ekstrak bunga telang

Fraksi ekstrak bunga telang	Zona hambat (mm)										Rata- rata (mm)	Kategori kekuatan antibakteri
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
Etanol 70%	69,1	68,3	72,2	69,1	73,4	68,7	72,6	69,5	76,1	65,6	70,5	Efektif
Etil asetat	39,8	37,5	39,4	46,0	37,5	41,0	46,8	48,8	44,9	39,8	42,1	Tidak efektif
n-heksan	0	0	28,1	33,2	35,1	38,2	38,6	0	41,0	0	21,4	Tidak efektif

Keterangan :

A : Zona Hambat 1 D : Zona Hambat 4 G : Zona Hambat 7 J : Zona Hambat 10
 B : Zona Hambat 2 E : Zona Hambat 5 H : Zona Hambat 8
 C : Zona Hambat 3 F : Zona Hambat 6 I : Zona Hambat 9

DISKUSI

Bunga telang yang dijadikan objek penelitian diperoleh dari Perkebunan Rakyat di Kelurahan Kramat Jati Jakarta Timur hal ini agar diperoleh kandungan yang seragam dari bunga telang tersebut. Bunga telang dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan membiarkan bunga tetap pada suhu ruangan dan terhindar dari sinar matahari langsung, guna mencegah kerusakan senyawa metabolit sekunder dalam bunga tersebut.

Ekstrak diperoleh dari simplisia bunga telang dengan cara maserasi. Metode ini

dipilih karena sederhana, mudah, murah dan tidak memerlukan pemanasan, sehingga dapat menjaga keaktifan dari senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas tidak rusak. Larutan yang digunakan sebagai pelarut ialah etanol 70% karena bersifat polar dapat menarik semua senyawa dalam simplisia dan tidak bersifat beracun. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* suhu 50-60°C dengan tujuan menguapkan pelarut etanol 70% yang digunakan dalam ekstrak (Hanani 2023).

Rendemen ekstrak adalah rasio antara jumlah ekstrak yang diperoleh dan jumlah simplisia awal. Rendemen ini berfungsi untuk menilai kualitas suatu ekstrak. Syarat untuk rendemen ekstrak yang optimal persentasenya seharusnya kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Ekstrak bunga telang menghasilkan rendemen sebesar 57%. Hal ini menunjukkan bahwa banyak komponen yang hilang selama proses maserasi, hal ini mungkin terjadi tidak terekstraksinya semua senyawa yang terkandung dalam bunga telang, mengingat ampas maserasi masih berwarna kebiruan pada maserasi terakhir.

Pemeriksaan mutu ekstrak dimulai dari pengujian secara organoleptik yaitu jenis pengujian yang menggunakan panca indra manusia sebagai teknik utama dalam mengukur suatu produk. Tujuan dari uji organoleptik ini adalah untuk mengkarakterisasi bau, warna, rasa, dan tekstur ekstrak kental bunga telang dengan panca indra sehingga diperoleh data objektif.

Berdasarkan hasil uji organoleptik pada tabel 2 terlihat bahwa ekstrak kental bunga telang menunjukkan karakteristik berupa konsistensi kental, warna biru kehitaman, serta bau khas yang mirip gula aren. Parameter organoleptik pada ekstrak mempunyai tujuan untuk menggambarkan kondisi terhadap simplisia dan ekstrak melalui indra dengan menggambarkan bentuk, warna, bau, dan rasa.

Kadar abu sebagai standar mutu ekstrak bunga telang, merupakan ukuran yang digunakan untuk mengetahui komposisi mineral suatu ekstrak. Tujuan penetapan ini untuk mengetahui kandungan mineral ekstrak bunga telang. Susut pengeringan ekstrak bunga telang merupakan banyaknya kadar air yang terkandung dalam ekstrak. Susut pengeringan ditentukan dengan menghitung selisih antara bobot sampel basah dan bobot sampel kering setelah pemanasan pada suhu 105°C. Uji susut pengeringan menggambarkan senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Berdasarkan tabel 4 hasil susut pengeringan sebesar 3,90%. Hasil ini sudah

memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak lebih dari 10%. Jika kadar air terlalu tinggi dapat mengubah susunan kimiawi simplisia dan menurunkan kualitasnya karena memudahkan bakteri untuk berkembang biak (Hanani, 2023)

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak bunga telang. Uji skrining fitokimia merupakan suatu metode untuk menentukan komposisi komponen kimia ekstrak tumbuhan. Skrining fitokimia dilakukan dengan memanfaatkan reagen pendeteksi zat kimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid. Hasil skrining fitokimia ekstrak bunga telang adalah positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan saponin.

Uji kekeruhan bakteri dilakukan untuk menentukan keseragaman atau konsentrasi atau jumlah bakteri yang digunakan. Isolat murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam media. Uji kekeruhan bakteri dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm akan diserap oleh bakteri dan banyaknya cahaya yang diserap tergantung pada jumlah bakteri.

Proses fraksinasi dilakukan menggunakan corong pisah. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam suatu pelarut menurut kepolarannya. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah n-heksan bersifat non-polar, etil asetat bersifat semi-polar dan etanol bersifat polar. Pelarut n-heksan digunakan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat non-polar, etil asetat diharapkan melarutkan semua senyawa yang bersifat semi polar dan etanol akan melarutkan senyawa yang polar dalam ekstrak bunga telang.

Hasil fraksi terbanyak yang diperoleh adalah fraksi etanol, berarti senyawa yang paling banyak terkandung dalam ekstrak bunga telang adalah senyawa polar, senyawa polar umumnya adalah flavonoid, tanin dan alkaloid.

Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode cakram. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol dari bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) diperoleh diameter zona hambat ekstrak pada fraksi n-heksan sebesar 5,49 mm dan tergolong kuat, zona hambat untuk fraksi etil asetat sebesar 10,8 mm tergolong kuat, dan fraksi etanol sebesar 18,05 mm tergolong sangat kuat. Kontrol positif *ciprofloxacin* memiliki zona hambat sebesar

25,6 mm sehingga termasuk kelompok sangat kuat seperti terlihat pada tabel 8. Hal ini menyatakan bahwa kekuatan antibakteri paling tinggi adalah dari fraksi etanol ekstrak etanol bunga telang, sehingga ekstrak etanol bunga telang dapat dijadikan sebagai obat tradisional fitofarmaka antibakteri.

Dari data pada tabel 9 secara deskriptif dapat ditetapkan kategori keefektifan sifat antibakteri fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bunga telang pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Keefektifan antibakteri dapat dinyatakan dengan persentase (%) daya hambat, dimana keefektifan yang dihasilkan dari masing-masing fraksi bunga telang dibandingkan dengan daya hambat dari antibiotik. Dari hasil yang tertera pada tabel 9 memperlihatkan bahwa fraksi n-heksan dan etil asetat tergolong tidak efektif sedangkan fraksi etanol dari ekstraksi etanol bunga telang adalah efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, kalau dibandingkan *Ciprofloxacin* sebagai kontrol positif sangat kuat dan efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan :

1. Fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol dari ekstrak etanol 70% bunga telang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% bunga telang mampu mencegah pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan kalau dibandingkan dengan *Ciprofloxacin* sebagai antibiotika, maka fraksi etanol bunga telang sangat efektif sebagai antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung sehingga penelitian ini dapat selesai.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terjadi konflik kepentingan dalam penelitian yang telah dilaksanakan.

REFERENSI

Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K., & Santoso, P. (2019). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Dengan

Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1), 51-57. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v5i1.951>.

Departemen Kesehatan RI. 2017. Farmakope Herbal Indonesia. In Departemen Kesehatan RI (pp. 1-561). <https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>. Fatimah, Yuliana, P., & Ratih, W. A. (2022). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Vol. 3 No. 1. LUMBUNG FARMASI *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*.

Fibriana F., & Amalia, A. 2017. *Potensi Kitchen Microbiology Untuk Meningkatkan Keterampilan Teknik Hands-on Dalam Pembelajaran Mikrobiologi*. USEJ- Unnes Science Education Journal, 5(2), 1210- 1216.

Fitmawati, S. Fatonah & Y.R. Irawan. 2018. *Tanaman Obat Pekarangan Berbasis Pengetahuan Tumbuhan Obat Masyarakat asli Riau (Etnomedicine)*. UNRI Press.

Ilyas S, Yulianti SR. *Ilmu Penyakit Mata*. Edisi 5. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2019.

Nisa, A. 2023. *Uji Aktivitas Larutan CuSO₄.5H₂O Terhadap Pertumbuhan Bakteri Lactobacillus acidophilus*. FFS UHAMKA. 12-14

Ovtaviani, M. T. (2022). Uji Antidiabetes Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Terinduksi Aloksan Dan Histopatologi Pankreas. Oktober, 1-55.

Rokhman, Fatkur. 2017. *Aktivitas antibakteri filtrat bunga telang (Clitoria ternatea L) terhadap bakteri penyebab konjungtivitis*. Skripsi S1. Program Studi Biokimia, FMIPA IPB, Bogor.

Septian Maulid W., M. Farm dan Hanung Sumbogo Jati, M. Sc. 2019. *Uji Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (Clitoria ternatea L.) Terhadap Staphylococcus aureus*. Stikes Duta Gama Klaten, 06.

POTENSI SENYAWA VITEXIN PADA KOMBUCHA BUNGA KECOMBRANG (*ETLINGERA ELATIOR*) SEBAGAI KANDIDAT OBAT ANTIKANKER KOLON YANG DIPREDIKSI BERDASARKAN ANALISIS BIOINFORMATIKA

Fitri Rahmi Fadhilah¹ · Firman Rezaldi² · Suyarta Efrida Pakpahan³ · Salsabila Khaerunisa Putri⁴

^{1,3,4} DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali Bandung, Jawa Barat, Indonesia

² DIV Teknologi Laboratorium Medik, STIKes Tujuh Belas, Karanganyar, Indonesia

e-Mail : ffitriarahmi@gmail.com

No Tlp WA : 089678876688

Abstract

Cancer is a health threat that needs to be treated with chemotherapy therapy, namely 5-Fluorouracil (5FU) chemotherapy. This encourages people to switch treatment to traditional medicine. Kombucha is one of the drinks resulting from the fermentation of tea and sugar solutions as an immunity enhancer from kecombrang flowers (*Etlingera elatior*). The purpose of this study was to determine the existence of ligand binding of vitexin compounds with Chk1, Cyclin and Apoptosis Regulator Bcl-2 receptors through in silico analysis and to obtain the RMSD (Root Mean Square Deviation) value of a good Protein ligand conformation. Descriptive research and this study used hardware with Intel (R) Core (TM) i7 2670QM @ 2.20GHz 2.20 GHz RAM 8.00 GB specifications. Results showed vitexin binds to Chk1, Cyclin A, and Apoptosis Regulator Bcl-2 enzymes. $\Delta G_{\text{binding}}$ value on Chk1 -5.75 kcal/mol, forming hydrogen bonds ARG A:74 & HIS A:73. On Cyclin A -6.19 kcal/mol, forms hydrogen bond TYR B:271. Bcl-2 +0.89 kcal/mol, no bond. Vitexin is predicted to potentially inhibit Checkpoint Kinase 1 (Chk1) & Cyclin A enzymes in suppressing cancer cell growth. But for Apoptosis Regulator enzyme Bcl-2, it can be predicted that it has no potential in inhibiting cancer cell growth.

Keywords: Kombucha, Vitexin, Torch Ginger, In Silico, Colon Cancer

Abstrak

Kanker adalah ancaman kesehatan yang perlu diobati dengan terapi kemoterapi yaitu kemoterapi 5-Fluorouracil (5FU). Hal ini mendorong masyarakat untuk beralih pengobatan ke obat tradisional. Kombucha salah satu minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula sebagai peningkat imunitas dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior*). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya ikatan ligan senyawa vitexin dengan reseptor Chk1, Cyclin dan Apoptosis Regulator Bcl-2 melalui analisis *in silico* dan untuk mendapatkan nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) dari konformasi ligan Protein yang baik. Penelitian deskriptif dan penelitian ini menggunakan perangkat keras dengan spesifikasi Intel (R) Core (TM) i7 2670QM @ 2.20GHz 2.20 GHz RAM 8,00 GB. Hasil menunjukkan vitexin berikatan dengan enzim Chk1, Cyclin A, dan Apoptosis Regulator Bcl-2. Nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ pada Chk1 -5.75 kcal/mol, membentuk ikatan hidrogen ARG A:74 & HIS A:73. Pada Cyclin A -6.19 kcal/mol, membentuk ikatan hidrogen TYR B:271. Bcl-2 +0.89 kcal/mol, tanpa ikatan. Vitexin diprediksi berpotensi menghambat enzim Checkpoint Kinase 1 (Chk1) & Cyclin A dalam menekan pertumbuhan sel kanker. Tetapi untuk enzim Apoptosis Regulator Bcl-2 dapat diprediksi tidak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

Kata Kunci: Kombucha, Vitexin, Bunga Kecombrang, In Silico, Kanker Kolon

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan suatu produk minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menambahkan starter mikrobial kombucha yaitu *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir atau jamur kombucha. Waktu fermentasi kombucha berkisar antara 8-12 hari pada suhu 18-20°C, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi fermentasi berlangsung lebih singkat. Pada umumnya, daerah beriklim tinggi (22-26°C) melakukan fermentasi kombucha selama 4-6 hari (Kumar Vikas, 2016).

Adanya khasiat kombucha sebagai minuman peningkat imunitas sangat cocok untuk dikembangkan bahkan dikonsumsi di era pandemic COVID-19 dimana pasien COVID19 secara internasional per tanggal 6 April 2021 mencapai 131.020.967 orang dan mengalami peningkatan sebesar 1.534.225 dengan rincian peningkatan jumlah pasien sebanyak 6.731 orang (Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, 2021). Khasiat dasar kombucha sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri membuka peluang yang tinggi pula untuk dikembangkan sebagai bahan baku kosmetik yang halal dalam perspektif bioteknologi (Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, 2021), (Laureys, David, Scott J. Britton, 2020). Kandungan asam organik pada kombucha berupa asam asetat berperan sebagai antibakteri.

Dalam penelitian ini digunakan bahan dasar kombucha dari bunga kecombrang (*Etlingea elatior*). Hal ini dikarenakan bunga kecombrang memiliki kandungan senyawa antioksidan alami seperti flavonoid yang baik untuk kesehatan. Kandungan senyawa dalam bunga kecombrang antara lain, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin (Lachumy SJT., Sasidharan S., 2010). Flavonoid dalam bunga kecombrang diidentifikasi sebagai kaempferol dan kuersetin. Diarylheptanoids 1-3 yang diisolasi dari bunga menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. (Wieslaw Wiczowski, Dorota Szawara-Nowak, 2015)

Aktivitas tersebut diduga serupa seperti dengan bunga telang yang memiliki aktivitas berupa antibakteri baik bakteri gram positif dan negatif (Rezaldi, Firman, Retna Yulrosly Ningtyas & Ma'ruf, 2021). Selanjutnya, kombucha bunga telang juga memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, 2022). Selain itu, Taupiqurrohman dkk., (2022) menyatakan bahwa

kombucha bunga telang telah memiliki antikanker (Taupiquirrohman, O., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Amalia, D., & Suryani, 2022).

Kecombrang telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antikanker, antiproliferatif, dan sitotoksik. Bunga kecombrang mengandung sejumlah besar fenolik dan flavonoid seperti asam galat, asam kafeat, kuersetin, luteolin, dan myricetin, yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Ghasemzadeh A., Jaafar HZE., 2015). Vitexin merupakan sebuah senyawa yang tergolong pada flavonoid. Senyawa ini banyak terkandung pada kombucha. Hasil penelitian Kurniawati, dkk., (2023) menemukan bahwa kombucha bunga telang memiliki anti IgE. (Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, 2023)

Kanker merupakan penyakit yang menjadi ancaman terhadap kesehatan manusia. Menurut Smith et al, (2019), kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang tidak terkendali, jika hal ini terus terjadi dan tidak terkontrol maka akan menyebabkan kematian. (Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., & Wender, 2019) Pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang terjadi pada sel penyusun kolon hingga ke bagian rektum disebut dengan kanker kolorektal (Chen, 2015), (Basir, 2014) .

Terapi perawatan kanker kolorektal meliputi radioterapi, kemoterapi dan pembedahan. Salah satu obat kemoterapi adalah 5-Fluorouracil(5-FU), obat ini digunakan sebagai kontrol positif atau ligan standar pembanding yang dapat membantu meningkatkan kelangsungan hidup pasien dengan berbagai jenis kanker. (Basir, 2014)

Pada penelitian mengenai senyawa vitexin pada kombucha bunga telang yang telah dilakukan oleh Kurniawati, dkk., (2023) bahwa bunga telang berperan penting sebagai sumber antialergi melalui prediksi yang dianalisis secara *in silico* (Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, 2023).

Uraian latar belakang mengenai hasil penelitian yang mendukung dalam penelitian ini membuat penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul Potensi Senyawa Vitexin Pada Kombucha Bunga Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Sebagai Kandidat Obat Antikanker Kolon Yang Diprediksi Berdasarkan Analisis Bioinformatika.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Populasi penelitian ini adalah Senyawa Vitexin dan Sampel penelitian ini adalah Senyawa Vitexin yang terkandung pada Kombucha Bunga Kecombrang.

Metode

Molekular Docking

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webserver Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Struktur makromolekul yang digunakan adalah Chk1 (PDB ID:2R0U), CyclinA (PDB ID:6GUE) dan Apoptosis Regulator Bcl-2 (PDB ID:4LXD), sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Langkah pertama yaitu melakukan penghilangan kadar air yang ada pada molekul, kemudian memisahkan ligan dari protein, selanjutnya menambatkan hydrogen dan muatan parsial. Struktur makromolekul yang sudah didapatkan disimpan dalam bentuk PDBQT.

Preparasi Ligan Bunga Kecombrang

Mencari struktur 2D dari Vitexin kombucha bunga kecombrang sebagai ligan uji, melalui webserver PubChem yang dapat diakses <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Optimasi geometri struktur 3D dari ligan uji dengan software Avogadro, hasilnya disimpan dalam bentuk PDB yang akan digunakan untuk penambatan molekuler dengan format MOL untuk prediksi farmakokinetik dan toksisitas.

Validasi Penambatan Molekular

Proses validasi dilakukan dengan penambatan ulang ligan native ke protein targetnya, dimulai dengan menentukan gridbox ligan terhadap makromolekul. Selanjutnya proses analisa dengan software AutodockTools, kemudian dilihat nilai RMSDnya. Parameter yang digunakan dalam validasi penambatan molekular adalah nilai $RMSD \leq 2,5 \text{ \AA}$.

Analisis Penambatan Molekular

Proses penambatan dari 1 ligan uji terhadap 3 protein target dilakukan untuk menentukan posisi dan ukuran gridbox dari masing-masing protein target dengan software AutodockTools. Parameter yang akan diamati dalam proses docking (penambatan molekular) yaitu nilai energi ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$). Semakin kecil nilai

energi ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin tinggi afinitasnya, begitu sebaliknya jika semakin besar nilai ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin rendah pula afinitasnya.

Visualisasi Senyawa Hasil Penambatan Molekular

Visualisasi senyawa hasil penambatan molekular dilakukan dengan software Discovery Studio Visualizer. Secara visual dilakukan dengan membandingkan residu asam amino dari ligan uji dengan residu asam amino dari makromolekul yang saling berinteraksi dan memiliki kemiripan.

HASIL

Hasil pengujian terhadap senyawa flavonoid bunga dalam bunga kecombrang yang didapatkan melalui webserver Pubchem yang digunakan untuk mengetahui prediksi afinitas terhadap 3 protein target antikanker kolon secara in silico dengan metode penambatan molekular.

a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolon

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webserver Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Terdapat kriteria pemilihan protein yaitu resolusi $<2,5\text{\AA}$, karena semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin tinggi ketelitiannya dengan hasil kristalisasi menggunakan metode sinar-X dan mempunyai nilai mutasi nol serta berasal dari spesies yang relevan. Struktur makromolekul yang digunakan adalah *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2R0U) dengan resolusi $1,90\text{\AA}$, *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dengan resolusi $1,99\text{\AA}$ dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) dengan resolusi $1,90\text{\AA}$, sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Ketiga protein berasal dari metode difraksi sinar-X, non mutan serta berasal dari spesies yang relevan yaitu *homo sapiens* (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Adapun makromolekul yang memenuhi kriteria sebagai protein target dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Hasil Makromolekul Target Terpilih

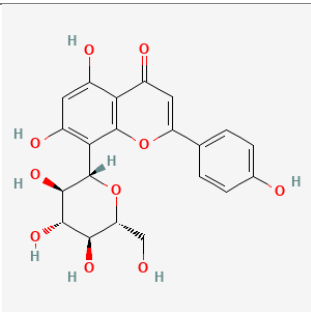
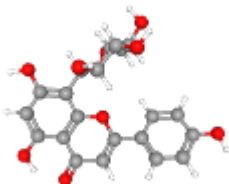
Makromolekul	PDB ID	Resolusi ($\text{\AA}$)	Metode Distruksi	Spesies	Chains
<i>Checkpoint Kinase 1</i>	2R0U	1.90	X-ray	Homo Sapien	A

Makromolekul	PDB ID	Resolusi (Å)	Metode Distruksi	Spesies	Chains
<i>CyclinA</i>	6GUE	1.99	X-ray	Homo Sapien	A
<i>Apoptosis Regulator Bcl-2</i>	4LXD	1.90	Xray	Homo Sapien	A

b. Preparasi Ligan Vitexin Kombucha Bunga Kecombrang

Terdapat 1 senyawa flavonoid aktif yang digunakan dari bunga kecombrang sebagai ligan uji yang diawali dengan mencari struktur 2D dari ligan uji tersebut menggunakan *webserver Pubchem*. Selanjutnya pengoptimasi geometri struktur 3D ligan uji menggunakan software Avogadro, optimasi geometri bertujuan untuk meminimalisasi energi agar struktur yang diperoleh paling stabil (Putri, Susanti and Laksmiani, 2019). Hasil preparasi ligan uji berupa struktur 3D disimpan dalam format PDB yang digunakan sebagai uji docking. Hasil preparasi ligan uji dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil Pengunduhan Senyawa 2D dengan Webserver Pubchem dan Optimasi Geometri Struktur 3D dengan Software Avogadro

No.	Ligan Uji	Struktur 2D	Struktur 3D
1.	Vitexin		

c. Validasi Metode Penambatan Molekuler

Validasi metode penambatan makromolekul dilakukan pada setiap protein target yang digunakan yaitu *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD). Proses *docking molekuler* dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Autodock Vina* dan *MGL Tools (Autodock Tools)*. Hasil re-docking molekuler kombucha bunga kecombrang dapat dilihat pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Re-docking dan Nilai RMSD dengan ligan natif

Protein Target	Kluster	Konformasi	Energi Binding	Reference RMSD
2ROU	1	2	-10.81 kcal/mol	0.944 Å
6GUE	1	1	-10.27 kcal/mol	0.902 Å
4LXD	1	10	-12.34 kcal/mol	1.289 Å

Pada tahapan ini parameter yang digunakan meliputi nilai RMSD (Å) dimana hasil docking dikatakan baik jika memiliki nilai RMSD yang $< 2\text{Å}$ (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Hasil validasi metode penambatan makromolekul diperoleh hasil makromolekul target dengan nilai $\text{RMSD} \leq 2\text{Å}$ yaitu *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2ROU) sebesar 0.944 Å, *Cyclin A* (PDB ID:6GUE) sebesar 0.902 Å, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) sebesar 1.289 Å.

d. Analisa Hasil Penambatan Molekuler

Hasil penambatan dapat diamati menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer dengan membandingkan antara interaksi ligan internal dengan senyawa inklusi (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Ligan uji yaitu senyawa vitexin yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *Cyclin A*, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode docking reseptor.

Tabel 4. Hasil Penambatan Molekuler pada *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
2ROU	1	-5.75	90	-5.52	51
	2	-5.69	88	-5.59	5
	3	-5.38	27	-5.32	44

Pada tabel 4 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Checkpoint Kinase 1*. Nilai ΔG yang digunakan adalah nilai yang kecil, semakin kecil nilai ΔG maka semakin

stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 4.3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-5.75 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.81 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 2R0U. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 2R0U.

Tabel 5. Hasil Penambatan Molekuler pada *Cyclin A*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
6GUE	1	-6.19	63	-5.52	31
	2	-5.72	57	-5.50	42
	3	-5.41	42	-5.26	4
	4	-5.32	50	-5.17	13
	5	-4.96	14	-4.92	3
	6	-4.89	17	-4.86	7

Pada tabel 5 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Cyclin A*. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-6.19 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.27 kcal/mol) sama halnya seperti reseptor 2R0U, ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 6GUE. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 6GUE.

Tabel 6. Hasil Penambatan Molekuler pada *Apoptosis Regulator Bcl-2*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
4LXD	1	+0.89	2	+0.89	57
	2	+0.89	99	+0.89	10
	3	+0.89	26	+0.89	29
	4	+0.89	81	+0.89	1
	5	+0.89	88	+0.89	2
	6	+0.89	25	+0.89	1

Untuk reseptor 4LXD dapat dilihat pada tabel 4.6 diperoleh nilai binding affinity senyawa vitexin dan tabel 4.3 nilai binding affinity native ligan, konformasi ligan keduanya berbeda yaitu pada natif ligan bernilai negative dan pada senyawa vitexin bernilai positif. Nilai dari binding energi ligan uji jauh lebih besar yaitu (+0.89 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energi dari native ligan (-12.34 kcal/mol) hal ini juga menunjukkan bahwa ikatan ligan uji jauh lebih lemah atau bisa dikatakan hampir tidak adanya ikatan dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 4LXD. Karena ikatannya yang sangat lemah, ligan uji tidak dapat berikatan dengan reseptor 4LXD.

Nilai ΔG pada hasil yang didapat menunjukkan besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berinteraksi atau membentuk ikatan dengan reseptornya. Semakin kecil atau semakin besar minusnya menandakan semakin banyak energi yang digunakan untuk membentuk ikatan sehingga ikatannya semakin kuat (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversibel. Semakin kecil nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah.

e. Visualisasi Hasil Molekuler Docking

Visualisasi hasil penambatan molekuler terhadap 3 target makromolekul digunakan untuk mengidentifikasi interaksi antara ligan uji dan target makromolekul. Analisis secara visual dilakukan dengan

membandingkan antara residu asam amino pada ligan uji dengan residu asam amino pada makromolekul (Pratama, Kurniawati dan Erikania, 2023). Hasil analisis visualisasi penambatan molekuler terhadap 3 target makromolekul sebagai berikut:

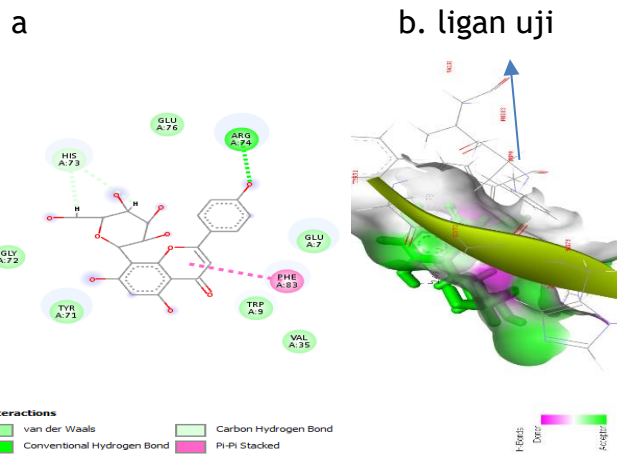
1. Hasil Visualisasi Penambatan Molekuler Terhadap Protein *Chk1* (PDB ID:2R0U)

Tabel 3. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein *Chk1* (PDB ID:2R0U)

Interaksi Residu Asam Amino			
Van Der Waals	Convventional Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Pi-Pi Stacked
GLY A:72	ARG A:74	HIS A:73	PHE A:83
TYR A:71			
TRP A:9			
VAL A:35			
GLU A:7			
GLU A:76			

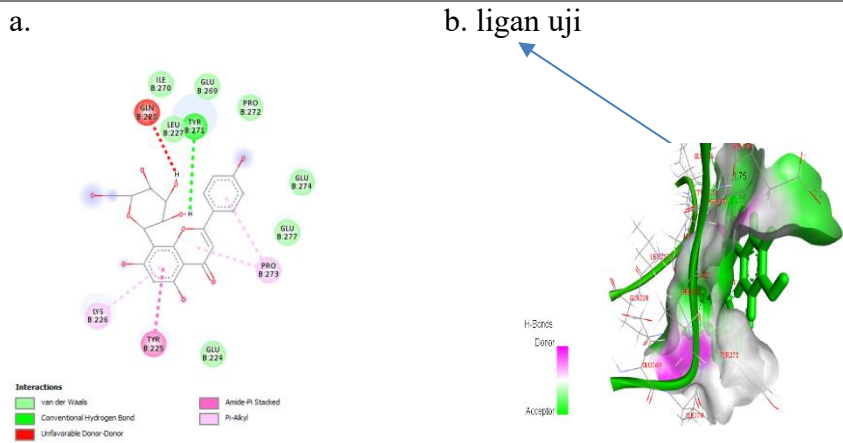
Interaksi antara ligan vitexin dan ketiga reseptor (2R0U, 6GUE & 4LXD) dapat dilihat diaplikasi Discovery Studio dalam bentuk 3D dan 2D. Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 2R0U dapat dilihat gambar 4.1 adanya beberapa ikatan yang terbentuk sebagai hasil interaksi ligand-reseptor, yaitu ikatan van der waals terbentuk pada asam amino residu GLY A:72; TYR A:71; TRP A:9; VAL A:35; GLU A:7; GLU A:76. Ikatan conventional hydrogen bond terbentuk pada asam amino residu ARG A:74.

Hasil Visualisasi Penambatan Molekuler Terhadap Protein *CyclinA* (PDB ID:6GUE)



Tabel 4. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein CyclinA (PDB ID:6GUE)

Interaksi Residu Asam Amino				
Van Der Waals	Conventional Hydrogen Bond	Unfavorable Donor-Donor	Amide-Pi Stacked	Pi-Alkyl
ILE B:270	TYR B:271	GLN B:228	TYR B:225	LYS B:226
GLU B:269				PRO B:273
PRO B:272				
LEU B:227				
GLU B:274				
GLU B: 277				
GLU B:224				

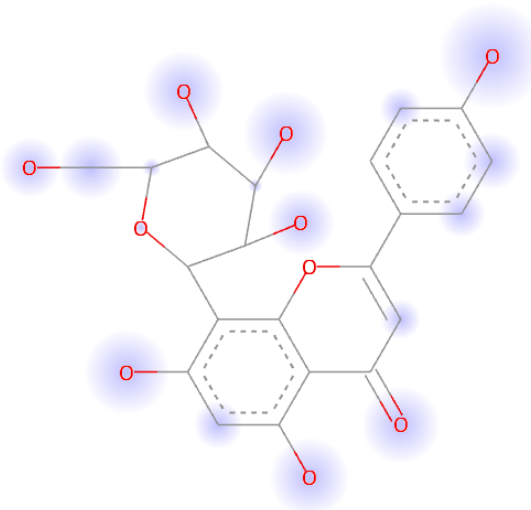


Gambar 1. Visualisasi 2D (a) dan Visualisasi 3D (b) hasil molekuler docking vitexin dengan reseptor 6GUE

Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 6GUE dapat dilihat gambar

1 adanya beberapa ikatan yang terbentuk sebagai hasil interaksi ligand-reseptor, yaitu ikatan van der Waals terbentuk pada asam amino residu ILE B:270; GLU B:269; PRO B:272; LEU B:227; GLU B:274; GLU B: 277; GLU B:224. Ikatan conventional hydrogen bond terbentuk pada asam amino residu TYR B:271. Ikatan Unfavorable Donor-Donor terbentuk pada asam amino residu GLN B:228. Ikatan Amide-Pi Stucked terbentuk pada asam amino residu TYR B:225. Ikatan Pi-Alkyl terbentuk pada asam amino residu LYS B:226; PRO B:273.

2. Hasil Visualisasi Penambatan Molekuler Terhadap Protein *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD)



Gambar 2. Visualisasi 2D hasil molekuler docking vitexin dengan reseptor 4LXD

Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 4LXD dapat dilihat pada gambar 2 tidak adanya ikatan yang terbentuk sebagai hasil dari interaksi ligand-reseptor. Hal itu dikarenakan tidak adanya sisi aktif pada reseptor tersebut. Binding site (sisi aktif) merupakan suatu area pada protein yang akan menjadi tempat dimana ligan dan protein berikatan (Rena SR, Nurhidayah, 2022).

DISKUSI

a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolon

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webserver Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Terdapat kriteria pemilihan protein yaitu resolusi $< 2,5 \text{ \AA}$, karena semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin tinggi ketelitiannya dengan hasil kristalisasi menggunakan metode sinar-X dan mempunyai nilai mutasi nol serta berasal dari spesies yang relevan (Reynaldi dan Setiawansyah, 2022). Struktur makromolekul yang digunakan adalah *Chk1* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD).

Sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Langkah pertama yaitu melakukan penghilangan kadar air yang ada pada molekul, kemudian memisahkan ligan dari protein, selanjutnya menambatkan hydrogen dan muatan parsial. Struktur makromolekul yang sudah didapatkan disimpan dalam bentuk PDBQT. Terdapat 1 senyawa flavonoid aktif yang digunakan dari bunga kecombrang sebagai ligan uji yang diawali dengan mencari struktur 2D dari ligan uji tersebut menggunakan webserver Pubchem. Selanjutnya pengoptimasi geometri struktur 3D ligan uji menggunakan software Avogadro, optimasi geometri bertujuan untuk meminimalisasi energi agar struktur yang diperoleh paling stabil (Nurrizka Kurniawati, Ika Sutra Permirahayu, Aji Saputri dan, 2023). Hasil preparasi ligan uji berupa struktur 3D disimpan dalam format PDB yang digunakan sebagai uji docking.

b. Validasi Penambatan Molekuler

Proses validasi ini dilakukan menggunakan program AutoDockTools. Tujuannya adalah untuk mendapatkan parameter yang tepat untuk proses penambatan molekul. Validasi metode ini melibatkan redocking antara ligan asli dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *CyclinA* dan *Apoptosis Regulator Bcl-2*. Selain itu, akan digunakan saat penambatan antara protein dengan ligan uji. Output yang didapatkan dari validasi metode ini adalah nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. RMSD digunakan untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi

molekul selama proses simulasi berlangsung (Sari, I.W., Junaidin, J. And Pratiwi, 2020). Nilai RMSD merupakan jarak yang ditimbulkan akibat interaksi antara ligan internal dengan protein target mulai nilai paling rendah hingga paling tinggi. Jadi, semakin kecil nilai RMSD dari ketentuan nilai spesifik RMSD maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk penambatan. Semakin besar nilai RMSD maka semakin besar pula penyimpangan yang terjadi (Ferwadi, 2017). Kecilnya nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan hasil docking akan semakin mendekati pose ligan alami. (Ferwadi, 2017)

c. Penambatan Molekuler

Prosedur komputasional yang dikenal sebagai "penambatan molekuler" bertujuan untuk memprediksi secara efektif ikatan non-kovalen antara makromolekul (target) dan molekul kecil (ligan). Tujuan dari prosedur ini adalah untuk memprediksi konformasi ikatan yang akan terjadi berdasarkan afinitas ikatan yang telah terbentuk. Prediksi ini masuk akal karena digunakan sebagai *virtual screening* untuk bahan kimia yang mungkin berpotensi menjadi obat baru.

Penambatan molekuler untuk *virtual screening* dilakukan dengan menggunakan software *Autodock Tools*. Penambatan molekuler pada program Autodock menggunakan *docking algorithm*, yaitu *Lamarckian genetic algorithm* (LGA) untuk mencari mode pengikatan. Algoritma ini merupakan antara *genetic algorithm* (pencarian optimum global) dengan *local search* (pencarian optimum terlokalisasi). Pada program Autodock proses penambatan senyawa vitexin pada masing-masing protein target berlangsung sekitar 5-10 jam. Data hasil penambatan terhadap 3 protein target dapat dilihat pada tabel 4.4 sampai dengan tabel 4.6.

d. Analisis Penambatan Molekuler

Proses penambatan dari 1 ligan uji terhadap 3 protein target dilakukan untuk menentukan posisi dan ukuran gridbox dari masing-masing protein target dengan software *Autodock Tools*. Parameter yang akan diamati dalam proses docking (penambatan molekuler) yaitu nilai energi ikatan

($\Delta G_{binding}$). Semakin kecil nilai energi ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin tinggi afinitasnya, begitu sebaliknya jika semakin besar nilai ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin rendah pula afinitasnya.

Hasil penambatan dapat diamati menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer dengan membandingkan antara interaksi ligan internal dengan senyawa inklusi (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Ligan uji yaitu senyawa vitexin yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *Cyclin A*, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode docking reseptor. Hasil visualisasi dari penambatan ligand uji dan protein dapat dilihat pada gambar 4.1 sampai dengan gambar 4.5.

Pada tabel 4.4 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Checkpoint Kinase 1*. Nilai ΔG yang digunakan adalah nilai yang kecil, semakin kecil nilai ΔG maka semakin stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 4.3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-5.75 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.81 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 2R0U. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 2R0U.(Rena SR, Nurhidayah, 2022) . Sama halnya seperti reseptor 2R0U, ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 6GUE. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 6GUE.(Rena SR, Nurhidayah, 2022).

Nilai ΔG pada hasil yang didapat menunjukkan besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berinteraksi atau membentuk ikatan dengan reseptornya. Semakin kecil atau semakin besar minusnya menandakan semakin banyak energi yang digunakan untuk membentuk

ikatan sehingga ikatannya semakin kuat (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversibel. Semakin kecil nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah.

e. Visualisasi Hasil Molekuler Docking

Area ikatan (Binding Site) merupakan area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Binding site memperlihatkan residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan seperti ikatan hydrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, 2024). Menurut Saputri, *et al.*, (2024) Interaksi yang terjadi pada asam amino dan ligan tidak hanya berwujud interaksi ikatan hidrogen saja, namun terdapat interaksi non kovalen/non hidrogen lainnya, akan tetapi ikatan hidrogen jauh lebih berpengaruh dibandingkan ikatan non hidrogen. (Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, 2024)

Berdasarkan hasil docking senyawa vitexin dengan 2R0U, diperoleh 9 residu asam amino yang berikatan, yaitu GLY A:72; TYR A:71; TRP A:9; VAL A:35; GLU A:7; GLU A:76; ARG A:74; HIS A:73; PHE A:83. Interaksi yang terbentuk antara ligan pembanding yaitu 5-Fluorouracil(5-FU) dengan 2R0U membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino ARG A:74 & HIS A:73 (Gambar 4.1). Untuk interaksi yang terbentuk antara ligan pembanding yaitu 5-Fluorouracil(5-FU) dengan 6GUE membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino TYR B:271 (Gambar 4.3). Hal itu dikarenakan adanya sisi aktif pada reseptor tersebut. Binding site (sisi aktif) merupakan suatu area pada protein yang akan menjadi tempat dimana ligan dan protein berikatan (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Karena, nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ yang terbentuk antara ligan dan protein target dipengaruhi oleh jumlah ikatan yang terbentuk, semakin banyak ikatan itu terbentuk maka nilai dari $\Delta G_{\text{binding}}$ akan menunjukkan hasil yang negatif dan menandakan ikatan tersebut semakin kuat dan menciptakan ikatan yang lebih stabil.

KESIMPULAN

Pada hasil akhir penelitian dapat disimpulkan bahwa vitexin diprediksi berpotensi menghambat enzim *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* dan *Cyclin A* dalam menekan pertumbuhan sel kanker. Tetapi untuk enzim *Apoptosis Regulator Bcl-2* dapat diprediksi tidak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ibu Mira Miraturrofiah selaku ketua LPPM yang telah memberikan support pada penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFERENSI

- Basir, I. E. al. (2014). *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Kanker Kolorektal*'. Komite Penanggulangan Kanker Nasional Kementerian Kesehatan,.
- Chen, Z. E. al. (2015). Dietary Patterns And Colorectal Cancer: Results From A Canadian Population-Based Study'. *Nutrition Journal*, 14(1), 1-9.
- Ferwadi, S. E. Al. (2017). Studi Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1j4x Pada Sel Kanker Serviks. *JURNAL KIMIA MULAWARMAN*, 14(2), 84-90.
- 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.
- Ghasemzadeh A., Jaafar HZE., R. A. A. A. S. (2015). Secondary Metabolites Constituents and Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activities of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. SM Grown in Different Locations of Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(335), 1-10.
- 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>

- Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, F. (2023). Study of Computational Biotechnology (Bioinformatics) on Telang Flower Kombucha (*Clitoria Terantea* L) as an Immunomodulator to Suppress Immunoglobulin E (IgE) for Allergy Sufferers. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 348-354.
- Lachumy SJT., Sasidharan S., S. V. A. Z. Z. (2010). Pharmacological Activity, Phytochemical Analysis and Toxicity of Methanol Extract of *Etlingera elatior* (Torch Ginger) Flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 769-774.
- Laureys, David, Scott J. Britton, J. D. C. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of The American Society of Brewing Chemst*, 78(3), 165-174. <https://doi.org/0.1080/03610470.2020.1734150>
- Nurriszka Kurniawati , Ika Sutra Permirahayu , Aji Saputri dan, F. R. (2023). Study of Computational Biotechnology (Bioinformatics) on Telang Flower Kombucha (*Clitoria Terantea* L) as an Immunomodulator to Suppress Immunoglobulin E (IgE) for Allergy Sufferers. *Int J Food Microbiol*, 23(2), 348-354.
- 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>
- Pratama JP, Kurniawati N, E. S. (2023). Uji In Silico Senyawa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Sebagai Antikanker Kolorektal Serta Prediksi Pofil Farmakokinertik dan Toksisitas. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional (SIKESNAS)*, 25-40.
- Rena SR, Nurhidayah, R. (2022). Analisis Molecular Docking Senyawa *Garcinia mangostana* L Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand (JFU)*, 11(1), 82-88.
- Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2021). Narrative Review: Kombucha's Potential As A Raw Material For Halal Drugs And Cosmetics In A Biotechnological Perspective. . . *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(2), 43-56. <https://doi.org/https://doi.org/10.30653/ijma.202112.25>
- 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>

- Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, H. (2024). Aktivitas Antidiabetes Pada Senyawa Viteksin Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Studi Bioteknologi Komputasi (Bioinformatika). *Jurnal Kesehatan Tujuh Belas (Jurkes TB)*, 5(2).
- Sari, I.W., Junaidin, J. And Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) Pada Reseptor A α -Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2).
- Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., & Wender, R. C. (2019). Cancer screening in the United States, 2019: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(3), 184-210.
- Taupiqurrohman, O., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Amalia, D., & Suryani, Y. (2022). Anticancer potency of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate in kombucha. *Jurnal Biodjati*, 7(1), 86-94.
- Wieslaw Wiczowski , Dorota Szawara-Nowak, J. T. (2015). Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. *Food Chem*, 167, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.087>

HUBUNGAN NILAI TROMBOSIT TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN NS1 DAN IgG, IgM DENGUE METODE IMMUNOCHROMATOGRAPHY PADA PASIEN DEMAM BERDARAH

Herwanto^{1*} · Nurhidayanti² · Bastian³ · Widya Yuniasari⁴

^{1,2,3,4} Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas sains dan Teknologi, IkesT Muhammadiyah Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia

e-Mail: vinoherwanto@gmail.com

No Tlp WA : 08112648222

Abstract

Introduction: Indonesia, with its tropical climate and high rainfall, faces significant health challenges, including dengue virus infection. This virus, transmitted to humans by *Aedes aegypti* mosquitoes, causes acute illness and can lead to death. The spread of dengue is influenced by various factors such as nutritional status, age, and domicile. Clinical symptoms of dengue infection include febrile phase, critical phase, and convalescent phase. Detecting dengue virus involves laboratory tests such as platelet counts and NS1, IgG, and IgM dengue tests. **Method:** This quantitative research uses a cross-sectional method with a preexperimental design, specifically the posttest only control group design. The research sample included all suspected dengue fever patients who met the inclusion and exclusion criteria. **Results:** The correlation coefficient for platelets with NS1 was -0.253, and for platelets with IgG it was -0.179, indicating there is no significant relationship between platelet values and the result of NS1 and IgG examinations. The correlation coefficient for platelets with IgM was 0.216 indicating a weak relationship between platelet values and IgM examination result. **Discussion:** the majority of dengue fever suspects arrive at the hospital with fever lasting more than 3 days. The sensitivity of dengue virus NS1 protein on fever days 4 to 7 decreases, affecting the result of the NS1 examination.

Keywords: Platelet values, NS1, IgG and IgM, Methods Immunochromatography, Dengue Fever

Abstrak

Pendahuluan: Indonesia adalah salah satu negara yang beriklim tropis dengan curah hujan tinggi yang memiliki masalah kesehatan, salah satunya penyakit infeksi virus dengue yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui nyamuk *Aedes aegypti* yang menyebabkan penyakit akut yang berujung kematian. Penyebaran virus ini dipengaruhi beberapa faktor seperti status gizi, umur, domisili, dll. Gejala klinis infeksi dengue terdiri dari fase febris, fase kritis, fase konvalesens. Untuk mendeteksi virus dengue dengan melakukan pemeriksaan laboratorium seperti menghitung jumlah trombosit, pemeriksaan NS1 dan IgG, IgM dengue. **Metode:** Penelitian ini menggunakan penelitian kuantitatif metode cross sectional dengan desain eksperimen Pre-experimental yaitu Posttest Only Control Group Design. Sampel penelitian seluruh suspek yang didiagnosis demam berdarah dan memenuhi kriteria inklusi dan eklusi. **Hasil:** nilai koefisien korelasi Trombosit dengan NS1 -0,253 dan nilai koefisien korelasi Trombosit dengan IgG sebesar -0,179 artinya tidak terdapat hubungan antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan NS1 dan IgG. Nilai koefisien korelasi Trombosit dengan IgM sebesar 0,216 artinya terdapat hubungan yang lemah antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan IgM. Diskusi mayoritas suspek demam berdarah datang ke rumah sakit saat demam > 3 hari sehingga protein NS1 virus dengue pada demam hari ke 4 sampai hari ke 7 mengalami penurunan sensitivitas yang mempengaruhi hasil pemeriksaan NS1.

Kata kunci : Nilai trombosit, NS1, IgG dan IgM, Metode Immunochromatography, Demam Berdarah.

PENDAHULUAN

Negara beriklim tropis dengan curah hujan yang tinggi seperti di Indonesia memiliki permasalahan di bidang kesehatan, baik penyakit infeksi maupun non infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroba seperti bakteri jamur, bakteri dan juga virus. Ada berbagai macam jenis virus di dunia, salah satu virus yang terdapat hampir di seluruh pelosok Indonesia yaitu virus Dengue. Virus Dengue adalah salah satu virus yang bisa masuk ke dalam tubuh manusia dengan perantara nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* yang menyebabkan penyakit akut dengan manifestasi klinis pendarahan yang menimbulkan syok yang berujung kematian (Kemenkes, 2020).

Berdasarkan data Kemenkes 2020, kasus Demam Berdarah Dengue di Indonesia hingga Juli mencapai 71.700 kasus (Winta, 2022). Luasnya penyebaran dengue dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya status gizi, umur, domisili, keberadaan vektor, environment, breeding place, resting place, kebiasaan menggantung pakaian, suhu, penggunaan obat anti nyamuk, pekerjaan, pengetahuan dan sikap dan praktik 3M (Tansil, 2021).

Indonesia memiliki iklim tropis, yang mana nyamuk *Aedes aegypti* ini menyukai iklim tropis dengan curah hujan yang tinggi, suhu yang panas dan lembap sehingga menyebabkan nyamuk *Aedes aegypti* senantiasa untuk berkembangbiak (Yusril, 2022). Oleh karena itu, perubahan iklim di Indonesia ini sangat berpengaruh dalam peningkatan penyebaran penyakit Demam Berdarah. Terdapat beberapa wilayah di Indonesia dimana kasus Demam Berdarah terus ada setiap tahunnya salah satunya di Kota Palembang.

Menurut Dinas Kesehatan Kota Palembang pada Tahun 2022, kasus Demam Berdarah tertinggi terjadi bulan Januari dengan 107 kasus, diikuti Mei dengan 99 kasus dan Juli dengan 104 kasus. Tahun 2023 kasus Demam Berdarah tertinggi terjadi bulan februari dengan 91 kasus, diikuti bulan Mei dengan 77 kasus dan Januari dengan 73 kasus Demam Berdarah.

Menurut Anggi (2022) ada empat jenis serotype dengue yang menginfeksi manusia, yaitu 1, 2, 3 dan 4 pada wilayah seperti Asia Tenggara termasuk Indonesia, keempat 697 egara 697 i tersebut dapat ditemukan. Hal ini menyebabkan infeksi lebih cepat terjadi, akibatnya Demam Dengue dialami pada awal masa kanak kanak. DBD lebih sering terjadi pada usia 2-15 tahun, penyebaran virus dengue

mengakibatkan terjadinya peningkatan insidensi serta munculnya infeksi dengue yang berat. Infeksi yang disebabkan dengue akan menyebabkan demam dengue yang ditandai dengan gejala ringan, namun bentuk yang berat seperti DBD dan *Sindroma Syok Dengue* (DSS) juga dapat terjadi, infeksi dari salah satu serotype memberikan perlindungan seumur hidup terhadap serotype tersebut, namun tidak Infeksi sekunder virus dengue atau DBD dapat ditandai dengan gejala klinis yang berat seperti demam tinggi, perdarahan dapat disertai hepatomegaly dan tanda kegagalan sirkulasi (Kemenkes 2020). Penurunan jumlah trombosit yang signifikan juga merupakan tanda dari DBD. Trombositopenia dapat meningkatkan resiko perdarahan serta komplikasi pada pasien DBD oleh karena itu, membedakan infeksi sekunder dan infeksi primer virus dengue sejak dini sangat penting. Berdasarkan hasil analisis filogenetik yang dilakukan pada bagian selubung virus, diketahui bahwa setiap serotype virus dengue memiliki beberapa subtype. Terdapat empat jenis DENV yang yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4 (Mardhatillah, 2021).

Virus dengue dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan serologi, salahsatunya melakukan beberapa pemeriksaan laboratorium yaitu, Pemeriksaan darah rutin hitung sel trombosit, pemeriksaan NS1, pemeriksaan IgG IgM Dengue. Pemeriksaan trombosit merupakan salah satu pemeriksaan yang banyak diminta dilaboratorium klinik. Hal ini disebabkan oleh peranannya yang penting dalam upaya membantu menegakkan diagnosis, memberikan terapi, gambaran prognosis, dan *follow up* penyakit (Hasanatul, 2022).

Setelah diketahui hasil pemeriksaan darah rutin terutama dengan hasil hitung sel trombosit yang rendah, maka bisa dilaksanakan pemeriksaan NS1. Menurut Hasanatul (2022) Pemeriksaan antigen NS1 dengue dapat dilakukan pada hari pertama sampai hari kesembilan dari demam baik pada infeksi primer maupun infeksi sekunder, sehingga antigen NS1 ini merupakan pemeriksaan dini untuk mengetahui adanya infeksi dengan virus dengue. IgM dan IgG merupakan dua imunoglobulin yang terbentuk akibat infeksi oleh DENV. Terdapat perbedaan pada masa produksi dan waktu paruh antara IgM dan IgG. IgM merupakan imunoglobulin pertama yang terbentuk selama masa perkembangan sel limfosit B. IgM muncul pada hari ke 3-5 sejak timbul gejala demam dengue/DBD dan hanya bertahan di dalam tubuh selama 30-60 hari. Sementara itu, IgG baru terbentuk sekitar hari ke 14 setelah timbul gejala demam dengue/DBD. IgG akan menetap seumur hidup dalam

titer yang rendah.

Menurut Suryanata (2022) kelebihan penggunaan NS1 metode *Immunokromatografi* adalah kemampuan lebih awal untuk mendeteksi infeksi dengue tanpa menunggu terbentuknya antibodi, sedangkan kelemahan NS1 metode *Immunokromatografi* adalah sensitivitas yang berkurang pada infeksi sekunder. Kemudian kelebihan pemeriksaan antibodi IgM dan IgG dengue metode *Immunokromatografi* lebih banyak dipakai karena hasilnya lebih cepat (<30 menit). Namun pemeriksaan ini juga memiliki kekurangan yaitu dapat reaksi silang dengan flavivirus lain.

Penelitian yang dilakukan oleh Ety Aprilian dkk (2019) tentang Hubungan Hasil Pemeriksaan Antigen Non Struktural 1 (NS1) terhadap Gejala, Tanda Klinis dan Jumlah Trombosit pada Pasien Suspek Infeksi Dengue di RS Urip Sumoharjo, diperoleh hasil bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara hasil pemeriksaan antigen NS1 terhadap gejala dan tanda klinis infeksi dengue pada pasien suspek infeksi dengue dan terdapat hubungan yang bermakna antara hasil pemeriksaan antigen NS1 terhadap jumlah trombosit pada pasien suspek infeksi dengue.

Penelitian tentang pemeriksaan serologi juga dilakukan oleh Suryanata (2022) dengan judul Uji Diagnosis Ns1, IgG dan IgM Dengue Metode *Immunokromatografi* dan ELISA dengan hasil Sensitivitas pemeriksaan NS1, IgG, dan IgM Virus Dengue metode Rapid *Immunokromatografi* lebih baik daripada metode ELISA, namun spesifisitas pemeriksaan NS1, IgG, dan IgM Virus Dengue metode ELISA lebih baik dari pada Rapid *Immunokromatografi*.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penulis tertarik untuk mengetahui adanya hubungan antara nilai Trombosit terhadap Hasil Pemeriksaan NS1 dan Serologi IgG, IgM Dengue menggunakan Rapid Test pada Pasien Demam Berdarah di Rumah Sakit Umum Daerah Palembang BARI tahun 2024.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian *cross sectional*. Penelitian *cross sectional* yaitu mengetahui hubungan variabel independen dengan variabel dependen yang pengukurannya dilakukan pada saat bersamaan untuk mengetahui Hubungan Nilai Trombosit Terhadap Pemeriksaan Ns1 dan IgG, IgM Dengue pada pasien suspek demam berdarah. Desain penelitian ini Menggunakan Posttest Only *Control Group*

Design yaitu dalam desain ini terdapat dua kelompok yang dipilih sebagai objek penelitian atau sampel penelitian. Kelompok pertama adalah Nilai Trombosit dan kelompok kedua adalah Ns1 dan IgG, IgM Dengue.

HASIL

Hasil Pemeriksaan nilai trombosit pada pasien demam berdarah pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Trombosit

Nilai Trombosit	Jumlah (N)	Persentase (%)
Normal	6	18%
Trombositopenia	28	82%

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa dari 34 responden pasien DBD didapatkan nilai trombosit normal sebanyak 6 responden dengan persentase 18 % sedangkan 28 responden dengan persentase 82% trombositopenia.

Hasil Pemeriksaan NS1 dengan metode *Immunochromatography* pada pasien demam berdarah pada tabel 2 sebagai berikut

Tabel 2. Hasil NS1

Hasil Pemeriksaan Ns1	Jumlah (N)	Persentase (%)
Positif	15	44%
Negatif	19	56%

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa dari 34 responden pasien DBD didapatkan hasil pemeriksaan Ns1 pada pasien DBD positif 15 sampel dengan persentase 44 % sedangkan 19 sampel negatif dengan persentase 56%.

Hasil Pemeriksaan IgG, IgM dengan metode *Immunochromatography* pada pasien demam berdarah pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan IgG dan IgM

Hasil Pemeriksaan IgG	Jumlah (N)	Persentase (%)	Hasil Pemeriksaan IgM	Jumlah (N)	Persentase (%)
Positif	24	71%	Positif	11	32%
Negatif	10	29%	Negatif	23	68%

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa dari 34 responden pasien DBD didapatkan hasil pemeriksaan Ns1 pada pasien DBD positif 15 sampel dengan persentase 44 % sedangkan 19 sampel negatif dengan persentase 56%.

Tabel 4. Hasil Uji Statistik

Hasil Hitung Jumlah Trombosit dengan IgG	34	-0,179	0,310
Hasil Hitung Jumlah Trombosit dengan IgM	34	0,216	0,221

Berdasarkan tabel 4 hasil uji statistik non parametrik uji korelasi Spearman, hasil menunjukkan dengan NS1 sebesar -0,253 artinya tidak terdapat hubungan antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan NS1 dengan arah korelasi yang tidak searah, dimana nilai trombosit mengalami penurunan maka hasil pemeriksaan NS1 meningkat. Nilai koefisien korelasi trombosit dengan IgG sebesar -0,179 artinya tidak terdapat hubungan antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan IgG dengan arah korelasi yang tidak searah, dimana nilai trombosit mengalami penurunan maka hasil pemeriksaan IgG meningkat. Nilai koefisien korelasi trombosit dengan IgM sebesar 0,612 artinya terdapat hubungan yang lemah antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan IgM dengan arah korelasi yang searah, dimana nilai trombosit mengalami penurunan maka hasil pemeriksaan IgM menurun.

DISKUSI

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan dengan hasil pemeriksaan trombosit terhadap terhadap Hasil Pemeriksaan NS1 dan Serologi IgG, IgM Dengue menggunakan Rapid Test pada Pasien Demam Berdarah didapatkan 28 sampel trombositopenia (82%) dan 6 sampel trombosit normal (18%). Hasil pemeriksaan Ns1 menggunakan metode immunochromatography terdapat 15 sampel positif (44%) dan 19 sampel negatif (56%). Hasil pemeriksaan IgG, IgM Dengue Metode immunochromatography terdapat 24 sampel positif IgG (71%) dan 11 sampel positif IgM (32%) serta 10 sampel negatif IgG (29%) dan 23 sampel negatif IgM (68%).

Berdasarkan hasil uji normalitas Shapiro Wilk diperoleh nilai Sig. sebesar $0,000 < 0,05$ artinya data yang diperoleh berdistribusi tidak normal.

Berdasarkan ketentuan statistik apabila data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji non parametrik yang digunakan dalam pengolahan data yaitu uji korelasi spearman hasil menunjukkan nilai signifikansi (*P Value*) Trombosit dengan Ns1 sebesar 0.148, artinya terdapat hubungan yang sangat lemah antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan Ns1. Hasil nilai signifikansi (*P Value*) Trombosit dengan IgG sebesar 0.310 Hasil nilai signifikansi (*P Value*) Trombosit dengan IgM sebesar 0.221, artinya terdapat hubungan yang sangat lemah antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan IgG dan IgM.

Pada penelitian ini didapatkan hasil yaitu terdapat hubungan yang lemah antara nilai Trombosit terhadap Hasil Pemeriksaan NS1 dan Serologi IgG, IgM Dengue menggunakan Rapid Test pada Pasien Demam Berdarah menurut peneliti hal ini dikarenakan penurunan jumlah trombosit atau agregrasi trombosit pada pasien demam berdarah dengue bukan dikarenakan oleh respon imun humoral (IgG dan IgM) dan Ns1 tetapi lebih disebabkan oleh autoimunitas yang diperantarai oleh antibodi anti trombosit dan juga mayoritas suspek demam berdarah datang kerumah sakit saat demam lebih dari tiga hari sehingga protein nonstruktural virus dengue pada demam hari ke empat sampai tujuh hari mengalami penurunan sensitivitas dimana sensitivitas untuk mendeteksi antigen NS1 pada infeksi primer lebih tinggi sampai 3 hari yaitu 88% dibanding infeksi sekunder 60,8% menurun pada hari 4 - 7 yang mempengaruhi hasil pemeriksaan NS1.

KESIMPULAN

Jumlah trombosit pada pasien demam berdarah dengue terdapat 28 sampel (82%) trombositopenia dan 6 sampel (18%) trombosit normal. Hasil pemeriksaan Ns1 dengan menggunakan metode immunochrotography pada pasien demam berdarah dengue terdapat 15 sampel positif (44%) dan 19 sampel negatif (56%). Hasil pemeriksaan IgG, IgM Dengue Metode immunochromatography terdapat 24 sampel positif IgG dengan persentase 71% dan 11 sampel positif IgM dengan persentase 32% serta 10 sampel negatif IgG dengan persentase 29% dan 23 sampel negatif IgM dengan persentase 68%. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang lemah antara

nilai Trombosit terhadap Hasil Pemeriksaan NS1 dan Serologi IgG, IgM Dengue menggunakan Rapid Test pada Pasien Demam Berdarah. Hal ini dilihat dari nilai signifikansi Trombosit dengan Ns1 sebesar 0.148 ($P > 0,05$), artinya tidak terdapat hubungan antara nilai trombosit dengan hasil pemeriksaan Ns1, Hasil nilai signifikansi Trombosit dengan IgG sebesar 0.310 ($P > 0,05$) dan Hasil nilai signifikansi Trombosit dengan IgM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada tim Pembimbing, RSUD Palembang BARI, dan semua pihak yang telah berperan dalam penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada kemungkinan terjadi konflik kepentingan pada publikasi artikel ini.

REFRENSI

- Anthwal, D., Gupta, R. K., Singhal, R., Bhalla, M., Verma, A. K., Khayyam, K. U., Myneedu, V. P., Sarin, R., Gupta, A., Gupta, N. K., Singh, M., Tyagi, J. S., & Halder, S. (2021). Compatibility of a novel filter paper-based bio-safe sputum transport kit with line probe assay for diagnosing drug-resistant tuberculosis: A single-site evaluation study. *ERJ Open Research*, 7(3), 1-11. <https://doi.org/10.1183/23120541.00137-2021>
- Alda Anjela. (2020). Hubungan Aktivitas Fisik Terhadap Jumlah Trombosit Dalam Darah Mahasiswa Shift D 2016 Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. 7 - 11
- Bastian, B., Sari, I., Sari, H., & Trianes, J. (2021). Pemanfaatan Serum Hemolisis Dengan Penambahan Reagen Anti-Rh Terhadap Kadar Enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT). *The Jurnal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(2), 187
- Cahyani, A. A. A. E., & Parwati, P. A. (2022). Manajemen Pengambilan dan Pengelolaan Spesimen Darah di Laboratorium RSUD Wangaya Denpasar. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(2), 187.
- Edikin. (2022). Demam Berdarah Dengue (DBD): Determinan, Epidemiologi dan Program Penanggulangannya di Indonesia
- Enny. (2023). Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue (DBD). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 10(3), 268.

- Ety. (2019). Hubungan Hasil Pemeriksaan Antigen Non Struktural 1 (NS1) terhadap Gejala, Tanda Klinis dan Jumlah Trombosit pada Pasien Suspek Infeksi Dengue di RS Urip Sumoharjo. *Jurnal Agromedicine*, 6 (1).
- Gina. (2018). Deteksi Antigen Non Struktural 1 (Ns1) Pada Pasien Yang Diduga Terinfeksi Dengue. *PINLITAMAS* 1, 1(1)
- Hasanatul. (2022). Hubungan Tes Serologi dan Jumlah Trombosit pada Pasien Demam Dengue di RS Islam Siti Hajar Kota Mataram Periode September 2020 - September 2021. *Junior Medical Jurnal*, 1(3).
- Ikhwan. (2021). Gambaran Epidemiologi Kejadian Demam Berdarah Dengue: Karakteristik Penderita, Waktu dan Faktor Lingkungan di Kecamatan Tembalang Tahun 2019. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9 (6), 816.
- Kemendes. (2020). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Infeksi Dengue pada Dewasa. Keputusan Menteri Republik Indonesia
- Lisbet L. (2022). Perbandingan Hasil Pemeriksaan Trombosit Metode Otomatis dan Manual pada Pasien Demam Berdarah Dengue di Laboratorium Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan Tahun 2022.
- Mardhatillah. (2021). Perbandingan Tingkat Keparahan Infeksi Primer Virus Dengue Serotipe 1, 2, 3, dan 4 di Indonesia. *JUMANTIK*, 6(1). 38
- Marko. (2021). Pengembangan Sistem Informasi Surveilans Demam Berdarah Dengue Berbasis Mobile sebagai Sistem Peringatan Dini Outbreak di Kota Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, 6 (2), 100 - 106
- Nia Kurnia. (2022). Pemeriksaan Serologi IgG-IgM Pasien Demam Berdarah Dengue di RSUD Dr. Chasan Basoeri Ternate Periode Oktober - Desember 2021. *Jumantik* , 7 (2), 117.
- Nurul. (2020). Hubungan Hasil Pemeriksaan IgG IgM Dengue Terhadap Hasil Jumlah Trombosit pada Pasien Demam Berdarah Dengue di RS Panti Waluya Sawaha Malang Tahun 2020.
- Nova Fajarna. (2023). Pengolahan Komponen - Komponen Darah Di UTD Palang Merah Indonesia (PMI) Kota Banda Aceh. *Jurnal ar-raniry*
- Rezekieli. (2023). Perubahan Epidemiologi Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia Tahun 2017 - 2021. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 2(1), 131.
- Resta Febrika. (2020). Analisis kadar Logam Timbal (Pb) Dan Basophilic Stippling Pada Darah Petugas SPBU Padang. *Stikes Perintis Padang*
- Suryanata. (2022). Uji Diagnosis NS1, IgG dan IgM Dengue metode Immunokromatografi dan ELISA. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 7

(2), 77 - 83.

Tansil. (2021). Faktor Risiko Terjadinya Kejadian Demam Berdarah Dengue Pada Anak. *Jurnal Biomedik*, 13(1),90.

Tuntun, M. W. S. W., Setiawan, D., & Siregar, A. N. (2018). Kendali Mutu Teknologi Laboratorium Medik (TLM). Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.

Winta. (2022). Hubungan Sanitasi Lingkungan Rumah Tinggal dengan Kejadian Demam Berdarah. *Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia*, 1(8), 1078.

Yusril. (2022). Analisis Penyebab Demam Berdarah Dengue (DBD) Desa Bandar Klippa Kecamatan Percut Sei Tuan. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 1732

GAMBARAN NILAI INDEKS ERITROSIT PADA BALITA PENDERITA PNEUMONIA DI RSUD MOH ZYN SAMPANG

Tara Carolina¹ · Rahma Widyastuti² · Fitrotin Azizah^{3*} ·
Abdul Aziz Alimul Hidayat⁴

^{1,2,3,4} Jurusan D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Surabaya, Indonesia
e-Mail : taracarolina10@gmail.com
No Tlpn WA : 085608496034

ABSTRACT

The erythrocyte index is a laboratory examination that is often requested by doctors to confirm the diagnosis of disease which includes MCV, MCH, MCHC which is obtained from calculating hemoglobin, hematocrit and erythrocyte count. Acute respiratory infections (ARI), especially pneumonia, are still the main diseases that cause morbidity and death in infants and toddlers. In 2019, UNICEF recorded that the prevalence rate of deaths of children under five suffering from pneumonia was 16% of all children in the world, over the last three decades or 880,000 children every year. The incidence of pneumonia in children is more common in developing countries (82%) than in developed countries (0.05%). The high incidence rate of children experiencing pneumonia is generally caused by residences full of polluted air. To determine the erythrocyte index value in toddlers suffering from pneumonia at Moh Zyn Hospital Sampang and based on gender. The type of research used was descriptive qualitative data from a sample of 103 toddlers suffering from pneumonia. This study used secondary data from Moh Zyn Hospital Sampang in November 2023-March 2024. On examination of the erythrocyte index, the MCV value was normal at ¹ (3%), ² was low at 100 (97%). MCH value is normal as much as ¹ 4 (4%), ² is low 98 (94%) ³ is high as 1 (1%), MCHC value is normal as much as ¹ 91 (88%), ² is low as 11 (11%), ³ is high as 1 (1%).

Keywords: Erythrocyte Index, Toddlers, Pneumonia

Abstrak

Indeks eritrosit merupakan pemeriksaan laboratorium sering diminta dokter untuk memastikan diagnosis penyakit yang meliputi MCV, MCH, MCHC yang didapatkan dari perhitungan hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit. Penyakit infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) khususnya pneumonia masih merupakan penyakit utama yang penyebab kesakitan dan kematian pada bayi dan balita. UNICEF pada tahun 2019 mendata prevalensi angka kematian balita yang menderita pneumonia sebesar 16% dari total seluruh anak yang ada di belahan dunia, selama tiga dekade terakhir atau sebesar 880.000 anak setiaptahunnya. Kejadian pneumonia pada anak lebih banyak terjadi di negara berkembang (82%) dibandingkan negara maju (0,05%). Tingginya Tingkat kejadian yang terjadi pada anak mengalami pneumonia umumnya disebabkan oleh tempat tinggal yang penuh udara berpolusi Untuk mengetahui nilai indeks eritrosit pada balita penderita pneumonia di RSUD Moh Zyn Sampang dan berdasarkan jenis kelamin. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dari sampel 103 data balita penderita pneumonia. Penelitian ini menggunakan data sekunder dari RSUD Moh Zyn Sampang pada bulan November 2023-Maret 2024. Pada pemeriksaan indeks eritrosit Nilai MCV ¹ normal sebanyak 3 (3%) ² rendah sebanyak 100 (97%). Nilai MCH ¹ normal sebanyak 4 (4%), ² rendah 98 (94%) ³ tinggi sebanyak 1 (1%), Nilai MCHC ¹ normal sebanyak 91 (88%), ² rendah 11 (11%), ³ tinggi sebanyak 1 (1%).

Kata kunci: Indeks Eritrosit, Balita, Pneumonia

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) khususnya pneumonia masih merupakan penyakit utama yang penyebab kesakitan dan kematian pada bayi dan balita. Penyakit ini dapat menimbulkan berbagai spektrum penyakit yakni penyakit tanpa gejala dan penyakit parah sampai mematikan tergantung pada patogen penyebabnya, faktor lingkungan, dan pejamu. Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) adalah radang akut saluran pernapasan atas maupun bawah yang disebabkan oleh beberapa mikroorganisme seperti, bakteri, virus maupun mikroorganisme lainnya (Gibson, 2021)

UNICEF pada tahun 2019 mendata prevalensi angka kematian balita yang menderita pneumonia sebesar 16% dari total seluruh anak yang ada di belahan dunia, selama tiga dekade terakhir atau sebesar 880.000 anak setiap tahunnya (Agustina & Nurhaeni, 2020). Kejadian pneumonia pada anak lebih banyak terjadi di negara berkembang (82%) dibandingkan negara maju (0,05%). Tingginya Tingkat kejadian yang terjadi pada anak mengalami pneumonia umumnya disebabkan oleh tempat tinggal yang penuh udara berpolusi (Sriwahdini et al., 2021)

Gejala berat sering kali terjadi pada anak dan dapat menyebabkan anak membutuhkan perawatan yang intensif dan ventilasi mekanis untuk menopang kehidupannya. Mengingat kejadian anak penderita pneumonia sering terjadi pada keluarga kurang mampu yang dimana sangat berat untuk membawa anaknya ke layanan kesehatan. orang tua harus mengeluarkan biaya lebih sampai penderita pulih kembali (Dewi & Nesi, 2022)

Pneumonia disebabkan oleh beberapa vaktor yang salah satunya adalah virus, virus biasanya menyebar melalui droplet saat seorang yang terinfeksi virus pneumonia batuk, bersin atau berbicara yang mengakibatkan mikroorganisme (virus) dilepas ke udara dan terhirup masuk kedalam saluran pernapasan, kemudian virus tersebut masuk dan menginfeksi paru paru tepatnya di alveoli tempat pertukaran gas antara O₂ dan CO₂ (Dendi Maysanjaya, 2020)

Leukositosis merupakan respon inflamasi sistematis terhadap infeksi akibat rangsangan sitokin proinflamasi serta adanya endotoksemia. Neutrofil adalah salah satu jenis leukosit yang jumlahnya meningkat pada pneumonia. Neutrofil dilepaskan terutama untuk melawan pathogen dengan cara fagositosis yang

dilakukan pada lokasi peradangan. Hal ini mengakibatkan aktivasi kaskade inflamasi berlebihan sehingga pengeluaran sitokin proinflamasi serta kerusakan jaringan paru yang terjadi juga berlebihan. Jumlah leukosit normal bahkan rendah pada pasien pneumonia dapat terjadi tergantung dari saat pemeriksaan sejak timbulnya pneumonia. Respon tubuh pada awalnya adalah dengan cara mengeluarkan leukosit jumlah berlebih, apabila terapi tidak adekuat atau progresifitas pneumonia bertambah maka jumlah leukosit akan menurun (Kissinger Puguh Pramana, 2021).

Di dalam darah eritrosit dianggap sebagai faktor penting bagi pertumbuhan bakteri karena mengandung banyak nutrisi. Yang dimana menunjukkan bahwa sel bakteri melekat dan menyerang eritrosit pada manusia. Eritrosit pada manusia atau darah menjadi sasaran pemindahan elektron dan analisis mikroskopis fluoresensi confocal, yang menunjukkan bahwa sel bakteri melekat dan menyerang eritrosit manusia (Mamun & Hasanuzzaman, 2020). Eritrosit juga berfungsi sebagai pengatur utama metabolisme dan kehidupan dengan menyalurkan oksigen ke sel-sel dan jaringan-jaringan di seluruh tubuh untuk perkembangan, fisiologis, dan regeneratif. Rerata kadar hemoglobin pada pasien pneumonia tergantung terhadap tingkat keparahannya, dimana jika kadar hemoglobin rendah maka jaringan akan mengalami hipoksia dan merangsang ginjal untuk mengeluarkan EPO dan menyebabkan variasi ukuran sel darah merah yang tercatat sebagai peningkatan hematokrit (Made Cynthia Mahardika Putri, 2021). Pemeriksaan Indeks eritrosit ini juga merupakan pemeriksaan laboratorium sering diminta dokter untuk memastikan diagnosis penyakit meliputi MCV, MCH, MCHC yang didapatkan dari perhitungan hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kristanto W dkk, yang menyatakan bahwa tingkat keparahan pneumonia yang terjadi akan semakin mempengaruhi kenaikan nilai hematokrit yang signifikan. Pengukuran tingkat keparahan pneumonia pada penelitian ini menggunakan skor PRESS dan RISC dengan nilai hematokrit lebih tinggi pada kelompok dengan pneumonia berat ($15,48 \pm 1,95$) dibandingkan pada kelompok dengan pneumonia ringan ($13,73 \pm 1,11$). Nilai hematokrit juga memiliki hubungan bermakna dengan diagnosis pneumonia dimana semakin tinggi nilai hematokrit maka semakin parah diagnosis pneumonia (Made Cynthia Mahardika Putri, 2021).

Berdasarkan masalah tersebut, pentingnya menjaga pola hidup sehat pada pasien penderita Pneumonia serta perlunya penanganan yang tepat pada pasien Pneumonia. Maka peneliti tertarik melakukan penelitian Gambaran Indeks Eritrosit Pada Balita Penderita Pneumonia Di RSUD Moh Zyn Sampang.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif. Dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Nilai Indeks Eritrosit Pada pasien balita Penderita Pneumonia dengan data yang di RSUD Moh Zyn Sampang.

Populasi dalam penelitian ini adalah Nilai Indeks Eritrosit pada balita penderita pneumonia di RSUD Moh Zyn Sampang. Populasi pada bulan November 2023 - Maret 2024 sebanyak 103 data pasien.

Peneliti menyerahkan surat izin penelitian ke bagian Tata Usaha di RSUD Moh Zyn Sampang. Setelah peneliti mendapatkan surat balasan dari bagian diklat di RSUD Moh Zyn Sampang. Kemudian peneliti menyerahkan surat perizinan ke ruang Rekam Medik RSUD Moh Zyn Sampang. Setelah surat izin di berikan, peneliti mengambil data sekunder pemeriksaan nilai indeks eritrosit pada balita penderita pneumonia di Rekam Medik RSUD Moh Zyn Sampang.

Untuk mengetahui nilai indeks eritrosit pada pasien balita penderita pneumonia kemudian ditabulasikan dan ditampilkan secara deskriptif dalam bentuk presentase dari hasil data sekunder.

Pada penelitian ini penulis melakukan pengambilan data sekunder di rekam medis RSUD Moh Zyn Sampang. Etika penelitian bertujuan untuk melindungi hak dan kewajiban responden maupun peneliti. Peneliti akan menjamin kerahasiaan data sekunder responden pada saat pengumpulan data dan pada hasil penelitian. Yang meliputi *Informed Consent* memberikan informasi tentang penelitian yang dilakukan oleh peneliti mengenai pengambilan data sekunder. Peneliti harus menaati peraturan surat penelitian pengambilan data dari badan diklat RSUD Moh Zyn Sampang. Serta persetujuan dari pihak rekam medis privasi dan Kerahasiaan Subjek Penelitian Menjaga kerahasiaan dalam penelitian, semua data terkait dengan data sekunder yang ada pada rekam medis menggunakan inisial dan hanya digunakan untuk penelitian serta penyajian hanya dalam forum akademik. Keuntungan (*beneficence*) memberikan keuntungan pada obyek penelitian. Pada

penelitian ini rekam medis diberikan keuntungan terkait data untuk dilakukan cross check. Dan keadilan (*justice*) Suatu tindakan memberikan keadilan. Pada penelitian ini peneliti mengambil sampel secara *convenience* yaitu memilih sampel berdasarkan kriteria peneliti, sehingga semua catatan medis nilai indeks eritrosit pada balita penderita pneumonia mempunyai kesempatan yang sama untuk jadi responden data sekunder.

HASIL

Data MCV disajikan pada tabel 1 sedangkan data MCV berdasarkan jenis kelamin disajikan pada tabel 2.

Tabel 1. Presentase Nilai MCV (Mean Corpuscular Volume)

Keterangan MCV	Jumlah	Presentase
Rendah	100	97%
Normal	3	3%
Tinggi	0	0 %
Jumlah	103	100%

Tabel 2. Nilai MCV (Mean Corpuscular Volume) Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis kelamin	MCV (R)	MCV (N)	MCV (T)
Laki-laki	60	1	0
Pemermpuan	40	2	0

Dari tabel di atas menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin perempuan sebanyak 42 balita (41%). Berdasarkan tabel 1 juga menunjukkan data balita nilai MCV rendah sebanyak 100 balita (97%) sedangkan nilai MCV normal sebanyak 3 balita (3%), dan nilai MCV Tinggi sebanyak 0 balita.

Data MCH disajikan pada tabel 3 sedangkan data MCH berdasarkan jenis kelamin disajikan pada tabel 4.

Tabel 3. Presentase Nilai MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin)

Keterangan MCH	Jumlah	Presentase
Rendah	98	96%
Normal	3	3%
Tinggi	1	1 %
Jumlah	103	100%

Tabel 4. Nilai MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin) Berdasarkan Jenis kelamin

Jenis kelamin	MCH (R)	MCH (N)	MCH (T)
Laki-laki	58	3	0

Perempuan	41	0	1

Dari tabel di atas menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin Perempuan sebanyak 42 balita (41%). Dari hasil pemeriksaan Indeks Eritrosit MCH terdapat nilai MCH rendah 98 balita (95%), nilai MCH normal sebanyak 3 balita (4%), dan nilai MCH tinggi 1 balita (1%).

Data MCHC disajikan pada tabel 5 sedangkan data MCHC berdasarkan jenis kelamin disajikan pada tabel 6.

Tabel 5. Presentase Nilai MCHC (*Mean corpuscular hemoglobin concentration*)

Keterangan MCHC	Jumlah	Presentase
Rendah	11	11%
Normal	91	88%
Tinggi	1	1%
Jumlah	103	100%

Tabel 6. Nilai MCHC (*Mean corpuscular hemoglobin concentration*) Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	MCHC (R)	MCHC (N)	MCHC (T)
Laki-laki	7	53	1
Perempuan	4	38	0

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin Perempuan sebanyak 42 (41%). Dari hasil pemeriksaan Indeks Eritrosit MCHC terdapat nilai rendah sebanyak 11 balita, nilai normal sebanyak 91 balita (88%), dan nilai tinggi sebanyak 1.

DISKUSI

Penelitian yang dilakukan terdapat 103 sampel balita penderita pneumonia yang dimana Dari hasil MCV menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin Perempuan sebanyak 42 balita (41%). Berdasarkan tabel 1 juga menunjukkan data balita nilai MCV rendah sebanyak 100 balita (97%) sedangkan nilai MCV normal sebanyak 3 balita (3%), dan nilai MCV Tinggi sebanyak 0 balita. Dari MCH menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin Perempuan sebanyak 42 balita (41%). Dari hasil pemeriksaan Indeks Eritrosit MCH terdapat nilai MCH rendah

98 balita (95%), nilai MCH normal sebanyak 3 balita (4%), dan nilai MCH tinggi 1 balita (1%). Dari MCHC menunjukkan data balita terbanyak dimiliki oleh balita dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 61 balita (59%), sedangkan jenis kelamin Perempuan sebanyak 42 balita (41%). Dari hasil pemeriksaan Indeks Eritrosit MCH terdapat nilai MCH rendah 98 balita (95%), nilai MCH normal sebanyak 3 balita (4%), dan nilai MCH tinggi 1 balita (1%).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dilakukan mengenai gambaran indeks eritrosit pada balita penderita pneumonia di RSUD Moh Zyn dengan jumlah 103 responden dapat disimpulkan bahwa: Untuk mengetahui indeks eritrosit pada Balita Penderita Pneumonia di RSUD Moh Zyn Sampang Rata-rata karakteristik responden berdasarkan jenis indeks eritrosit MCV Rendah 100 (97%), normal 3 (3%), dan tinggi 0 balita (0%). Rata-rata karakteristik responden berdasarkan MCH rendah 98 orang (96%), normal 4 balita (3%), dan tinggi 1 balita (1%). Rata-rata karakteristik responden berdasarkan MCHC Rendah 11 balita (11%), Normal 91 balita (88%), dan tinggi 1 balita (1%). Untuk mengetahui Indeks Eritrosit pada Balita Penderita Pneumonia di RSUD Moh Zyn Sampang berdasarkan jenis kelamin Rata-rata karakteristik nilai responden berdasarkan jenis kelamin MCV pada jenis kelamin laki-laki rendah sebanyak 60 (58%), normal sebanyak 1 (1%), dan pada jenis kelamin Perempuan rendah sebanyak 40 (39%), normal sebanyak 2 (2%). Rata-rata karakteristik nilai responden berdasarkan jenis kelamin MCH pada jenis kelamin laki-laki rendah sebanyak 58 (56%), normal sebanyak 3 (3%), dan pada jenis kelamin Perempuan rendah sebanyak 41 (40%), tinggi sebanyak

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi dalam penyelesaian penelitian ini. Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Surabaya beserta prodi D3 teknologi laboratorium medis dan kepada RSUD Moh Zyn Sampang yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian ini sampai dengan selesai.

KONFLIK KEPENTINGAN

Untuk mengetahui nilai indeks eritrosit pada balita penderita pneumonia di RSUD Moh Zyn Sampang

REFRENSI

- Abdjul, R. L., & Herlina, S. (2020). *Asuhan Keperawatan Pada Pasien Dewasa Dengan Pneumonia : Study Kasus*. 2(2), 102-107.
- Amelia, V., Nurhayati, B., Hayati, E., & Rahmat, M. (2023). Perbandingan Nilai Indeks Eritrosit Dari Darah Whole Blood Dan Pre Diluent Pada Hematology Analyzer Medonic M32. *Perbandingan Nilai Indeks Eritrosit Dari Darah Whole Blood Dan Pre Diluent Pada Hematology Analyzer Medonic M32*, 28- 41.
- Arini, H. (2024). *Uji Komparasi Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Menggunakan Hematology Analyzer dan Hemoglobin Meter pada Pasien Kadar Normal dan Abnormal Rendah*. 14(2), 235-238.
- 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>
- Cantika, S., Kanedi, I., & Jumadi, J. (2023). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosa Penyakit Bronkho Pneumonia Menggunakan Metode Certainty Factor Pada Klinik Assifa Bengkulu. *Jurnal Media Infotama*, 19(2), 358-366. <https://doi.org/10.37676/jmi.v19i2.4239>
- Dendi Maysanjaya, I. M. (2020). Klasifikasi Pneumonia pada Citra X-rays Paru- paru dengan Convolutional Neural Network (Classification of Pneumonia Based on Lung X-rays Images using Convolutional Neural Network). *Jurnal Nasional Teknik Elektro Dan Teknologi Informasi*, 9(2), 190. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/2807288>
- Donni, Y.R. *et al.* (2023) 'Ilmu Kebidanan Gambaran profil lipid pasien hipertensi diinstalasi rawat jalan RSI Siti Rahmah Padang di', 10(6).
- Musa, E.C. (2022) 'Status Gizi Penderita Hipertensi di Wilayah Kerja Puskesmas Kinilow Tomohon', *Sam Ratulangi Journal of Public Health*, 2(2), p. 060. Available at: <https://doi.org/10.35801/srjoph.v2i2.38641>.
- Rafsanjani, M.S. *et al.* (2019) 'Hubungan Kadar High Density Lipoprotein (HDL) Dengan Kejadian Hipertensi', *Jurnal Profesi Medika : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 13(2), pp. 74-81. Available at: <https://doi.org/10.33533/jpm.v13i2.1274>.
- Sahir, S.H. (2022) *Buku ini di tulis oleh Dosen Universitas Medan Area Hak Cipta di Lindungi oleh Undang-Undang Telah di Deposit ke Repository UMA pada tanggal 27 Januari 2022*.
- Sinulingga, brigitta olivia (2021) 'Pengaruh konsumsi serat dalam menurunkan kadar kolesterol', *Jurnal Penelitian Sains*, 21(3), pp. 163-167.

Siregar, F.A. and Makmur, T. (2020) 'Metabolisme Lipid Dalam Tubuh', *Jurnal Inovasi Kesehatan Masyarakat*, 1(2), pp. 60-66. Available at: <http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JIKM>.

NILAI FRAGILITAS OSMOTIK PADA SPESIMEN DARAH VENA DENGAN ANTIKOAGULAN K₂EDTA DAN K₃EDTA

Annisa Kusuma Wardhani^{1*} · Betty Nurhayati² · Eem Hayati³ · Ganjar Noviar⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : annisakusumaw28@gmail.com

Tlp WA : 088218960131

Abstract

Osmotic fragility test is an examination carried out to determine the resistance of erythrocyte walls to hypotonic solutions and to assist in the differential diagnosis of several types of anemia with altered erythrocyte physical characteristics. The specimen used for the examination of osmotic fragility is the EDTA venous blood specimen. There are several types of EDTA anticoagulants, namely K₂EDTA and Na₂EDTA. Na₂EDTA and K₂EDTA have a more acidic pH than K₃EDTA. This may affect the value of osmotic fragility. The purpose of this study was to determine the average osmotic fragility value in venous blood specimens with K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants and to determine whether there were differences in the osmotic fragility values in venous blood specimens with K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants. This research is a descriptive type of research, by comparing the value of osmotic fragility in venous blood specimens using K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants. Sampling using purposive sampling as many as 30 samples. The Wilcoxon test results show a Sig or P Value of 0.000 or equal to Sig <0.005, it can be concluded that there is a significant difference in the value of osmotic fragility in venous blood specimens with anticoagulants K₂EDTA and K₃EDTA. However, the results of the ALE test it was found that there was no clinically significant difference.

Keywords: Osmotic Fragility, K₂EDTA Anticoagulant, K₃EDTA Anticoagulant.

Abstrak

Pemeriksaan fragilitas osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk menentukan ketahanan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis dan membantu diagnosis banding beberapa jenis anemia dengan sifat fisik eritrosit yang berubah. Spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik adalah spesimen darah vena EDTA. Terdapat beberapa jenis antikoagulan EDTA yakni K₂EDTA dan Na₂EDTA. Na₂EDTA dan K₂EDTA memiliki pH yang lebih asam dibandingkan K₃EDTA. Hal ini memungkinkan dapat mempengaruhi nilai fragilitas osmotik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai fragilitas osmotik rata-rata pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA serta untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif, dengan membandingkan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Pengambilan sampel menggunakan *Purposive Sampling* sebanyak 30 sampel. Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan nilai Sig atau P Value sebesar 0,000 atau sama dengan Sig<0,005, yang berarti bahwa terdapat perbedaan pada nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Tetapi pada hasil uji ALE (*Allowable Limit of Error*) didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna secara klinis.

Kata Kunci: Fragilitas Osmotik, Antikoagulan K₂EDTA, Antikoagulan K₃EDTA

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium dapat digunakan untuk menentukan dan mendukung diagnosis penyakit pasien dengan dilakukan prosedur dan tindakan khusus yang melibatkan pengumpulan dan pengambilan sampel dari pasien (Safitri, dkk., 2020). Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang bertujuan untuk menentukan kondisi sel darah dan komponennya. Tes fragilitas osmotik adalah salah satu tes hematologi laboratorium (Bararah *et al.*, 2017).

Pemeriksaan fragilitas osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan dinding sel eritrosit terhadap larutan hipotonis yang memiliki kemampuan untuk melisis eritrosit (hemolisis) (Nugraha, 2015). Pemeriksaan ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi penyakit thalassemia (Rajagukguk, dkk., 2014). Hasil pemeriksaan fragilitas osmotik bermakna pada pasien dengan masalah klinis seperti pada pasien dengan thalassemia mayor dan minor, anemia, dimana terdapat penurunan ketahanan osmotik. Hasil pemeriksaan fragilitas osmotik juga bermakna pada pasien sferositosis hereditas, yang mengalami peningkatan ketahanan osmotik (Nugraha, 2015). Jenis antikoagulan, suhu, lama penyimpanan, *Potential of Hydrogen* (pH), obat-obatan dapat menjadi faktor yang mempengaruhi fragilitas osmotik eritrosit (Igbokwe, 2018). Spesimen darah vena EDTA adalah spesimen yang digunakan dalam pemeriksaan fragilitas osmotik . (Nugraha, 2015).

Dalam pemeriksaan hematologi, antikoagulan yang paling umum digunakan adalah antikoagulan EDTA. Beberapa jenis Antikoagulan EDTA yakni K_2EDTA dan Na_2EDTA yang berbentuk kering dan K_3EDTA yang berbentuk cairan (Nugraha, 2015). pH Antikoagulan Na_2EDTA dan K_2EDTA lebih asam dibandingkan pH K_3EDTA , pH asam ini dapat menyebabkan sel darah merah membesar (Garini, 2013). Pada penelitian Morabito *et, al.* (2016) diperoleh bahwa H_2O_2 sebagai medium asam memiliki kemampuan untuk menembus membran dan menghasilkan produk Oksidatif selain itu H_2O_2 juga memiliki kemampuan untuk berdifusi dari sitosol ke media ekstraseluler, yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada membran.

Antikoagulan K_3EDTA yang berbentuk cairan dapat meningkatkan reaktivitas EDTA dalam larutan, stabilitas K_3EDTA juga lebih baik daripada garam EDTA lainnya karena menunjukkan pH yang mendekati pH darah (Wahdaniah, 2018). Selain itu K_3EDTA juga dapat menyebabkan peningkatan penyusutan sel eritrosit (11% terjadi

penyusutan pada 7,5 mg.mL darah) (McPherson & Pincus, 2017).

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai rata-rata fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA. Mengetahui nilai rata-rata fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA. Mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya : spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA, spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA, NaCL 0,5%, dan aquades.

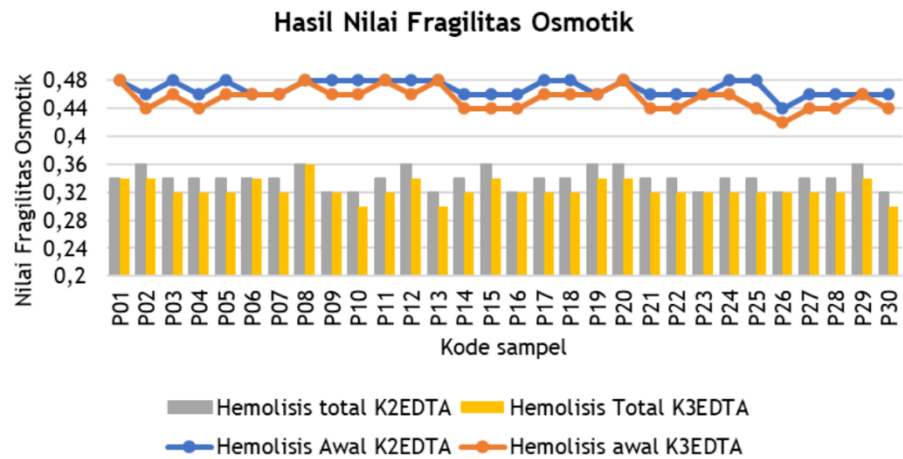
Spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA dilakukan pemeriksaan fragilitas osmotik menggunakan Metode Stanford. Data primer dari hasil pemeriksaan fragilitas osmotik 30 orang yang telah memenuhi kriteria persyaratan sampel diuji normalitasnya terlebih dahulu. Kemudian data dilakukan uji beda menggunakan uji *Wilcoxon* untuk melihat ada tidaknya perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA. Setelah itu, dilakukan uji ALE (*Allowable Limit of Error*) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan secara klinis.

Penelitian ini telah menerapkan prinsip-prinsip etik yaitu menghormati harkat martabat manusia (*respect for person*) dengan memberikan kebebasan untuk berkehendak serta bertanggung jawab terhadap keputusannya sendiri, berbuat baik (*beneficence*) dengan mengupayakan manfaat maksimal dengan meminimalisir kerugian, dan keadilan (*justice*) yaitu dengan memperlakukan adil setiap orang berdasarkan moral yang layak dan benar dalam mendapatkan haknya.

HASIL

Analisis Deskriptif

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh data primer hasil pemeriksaan fragilitas osmotik yang terdiri dari nilai hemolisis awal dan nilai hemolisis total yang dapat digambarkan pada gambar 1. Deskripsi nilai fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA dapat dilihat pada tabel 1.



Gambar 1. Nilai fragilitas osmotik

Tabel 1. Deskripsi Nilai Fragilitas Osmotik

Variasi sampel	Hemolisis Awal (%)			Hemolisis Total (%)		
	Nilai terendah	Nilai tertinggi	Rata-rata	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi	Rata-rata
Darah dengan antikoagulan K ₂ EDTA	0,44	0,48	0,47	0,32	0,36	0,34
Darah dengan antikoagulan K ₃ EDTA	0,42	0,48	0,46	0,30	0,36	0,33

Berdasarkan analisis data deskriptif pada tabel 1 nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA memiliki rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai-nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA.

Uji Normalitas

Data yang telah dianalisis secara deskriptif selanjutnya dilakukan uji normalitas. Uji normalitas ini bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 2.

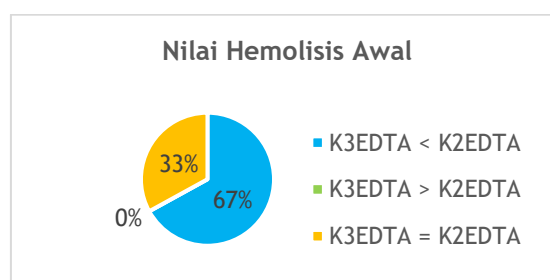
Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

	Antikoagulan	Hasil	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal	K ₂ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
	K ₃ EDTA	0,001	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
Nilai hemolisis total	K ₂ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
	K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal

Hasil uji normalitas pada uji Shapiro-wilk menunjukkan bahwa nilai hemolisis awal memiliki Sig atau P value sebesar 0,000 dan 0,001, kedua nilai Sig tersebut <0,005, hasil tersebut menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Begitu juga pada hasil uji normalitas nilai hemolisis awal diperoleh nilai Sig atau P Value sebesar 0,000 dan 0,000 maka data tersebut juga tidak terdistribusi normal. Dikarenakan data tidak terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan uji beda dengan menggunakan uji *Wilcoxon*.

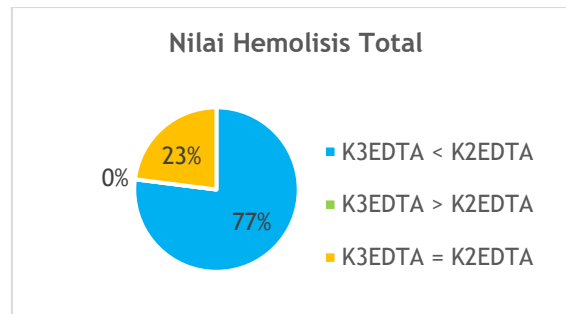
Uji *Wilcoxon*

Data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan dengan Uji *Wilcoxon* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan secara statistik.



Gambar 3. Persentase nilai hemolis awal pada spesimen darah vena K₃EDTA dan K₂EDTA

Berdasarkan presentase nilai hemolisis awal pada gambar 3, terdapat 20 sampel atau sebesar 67% nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA memiliki nilai yang lebih kecil daripada nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA. Data tersebut menunjukkan spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA lebih mudah mengalami hemolisis.



Gambar 4. Persentase nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K₃EDTA dan K₂EDTA

Berdasarkan presentase nilai hemolisis total pada gambar 4, diperoleh hasil terdapat 23 sampel atau 77% nilai hemolisis total menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA memiliki nilai yang lebih kecil daripada nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA. Hasil tersebut menunjukkan bahwa spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA lebih mudah mengalami hemolisis.

Untuk melihat ada tidaknya perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA maka dapat dilihat dari nilai Sig pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Wilcoxon* Nilai Fragilitas Osmotik

Kelompok Data	Sig	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,005	Terdapat perbedaan yang signifikan
Nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,005	Terdapat perbedaan yang signifikan

Berdasarkan data pada tabel 3 baik pada hemolisis awal K₂EDTA dan K₃EDTA maupun pada nilai hemolisis total K₂EDTA dan K₃EDTA, diperoleh hasil sig sebesar 0,000 (Sig<0,05), yang berarti bahwa secara statistik terdapat perbedaan antara nilai hemolisis total menggunakan spesimen darah vena hemolisis awal K₂EDTA dan K₃EDTA.

Uji ALE (*Allowable Limit of Error*)

Uji ALE dilakukan untuk mengetahui seberapa besar perbedaan hasil pemeriksaan nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA menggunakan perhitungan *Allowable Limit of Error* (ALE) yaitu batas kesalahan tertinggi yang dapat menyebabkan perbedaan secara klinis pada suatu parameter pemeriksaan.

Berdasarkan percobaan hasil uji ALE yang dapat dilihat pada tabel 4 didapatkan nilai ALE hemolisis awal sebesar 3,33% dan nilai ALE hemolisis total sebesar 3,12. Pada hasil d% (persen beda/bias) nilai hemolisis awal diperoleh nilai sebesar 0,02%, nilai tersebut lebih kecil daripada nilai ALE hemolisis awal, yang menunjukkan bahwa nilai perbedaan penelitian tidak melebihi batas nilai ALE. Pada hasil d% (persen beda/bias) nilai hemolisis total juga diperoleh nilai yang lebih kecil daripada nilai ALE hemolisis total yaitu sebesar 0,03%, yang menunjukkan bahwa nilai perbedaan penelitian tidak melebihi batas nilai ALE. Maka secara klinis, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Tabel 4. Hasil Uji ALE (*Allowable Limit of Error*)

Kelompok Data	ALE (%)	d%	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	3,33	0,02	d% < ALE	Tidak Bermakna secara klinis
Nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	3,12	0,03	d% < ALE	Tidak bermakna secara klinis

DISKUSI

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan menggunakan data primer dari hasil pemeriksaan fragilitas osmotik sampel, yang kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan uji beda berpasangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Berdasarkan analisis deskriptif diperoleh bahwa nilai fragilitas osmotik pada

spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA memiliki rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan pada spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₃EDTA.

Berdasarkan Analisa statistik dengan uji beda berpasangan menggunakan uji *Wilcoxon* baik pada data hemolisis awal maupun total diperoleh nilai Sig atau p sebesar 0,000, nilai Sig ini < 0,005 yang menandakan bahwa terdapat perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Pada uji ALE (*Allowable Limit of Error*) diperoleh d% (persen beda) yang tidak melebihi ALE, yang menandakan bahwa secara klinis tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Spesimen darah vena K₂EDTA memiliki nilai fragilitas yang tinggi dapat disebabkan oleh pH K₂EDTA yang lebih asam yang dapat menyebabkan eritrosit mudah mengalami lisis.

Antikoagulan K₂EDTA memiliki pH yang lebih asam yaitu 6.8 dibandingkan dengan antikoagulan K₃EDTA (pH 7,5) (Garini, 2013; Caron, G. N. V., 2018). pH asam ini dapat berpengaruh terhadap sel eritrosit. Dalam penelitian Yao *et. al.* (2003) ditemukan bahwa volume sel eritrosit meningkat pada pH di bawah 7,4, yang mengakibatkan penurunan rasio LP/V (Luas Permukaan/Volume). Penurunan rasio LP/V dapat menyebabkan meningkatnya fragilitas osmotik, dikarenakan terjadi penurunan kemampuan eritrosit untuk menampung cairan hipotonis (Wlaski, T., *et. Al.*, 2014). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa HCL (sebagai zat asam yang menyebabkan hemolisis terkait dengan kerusakan oksidatif membran, terutama disebabkan oleh masuknya ekuivalen asam ke sitosol. Media asam memiliki efek dua fase pada lisis eritrosit yakni hemolisis cepat pada pH 3,6-4,7 dan hemolisis lambat pada pH 5,0-6,0 (Varshney, *et. Al.*, 2020).

Medium asam memiliki kemampuan untuk menembus membran dan menghasilkan produk oksidatif, medium asam juga mampu berdifusi dari sitosol ke media ekstraseluler, yang memicu kerusakan oksidatif pada membran. Dalam penelitian Morabito *et.al.* (2016) H₂O₂ sebagai medium asam yang bekerja di bagian dalam eritrosit akan menghasilkan gugus -SH yang mengakibatkan terjadinya oksidasi hemoglobin (Hb) menjadi methemoglobin. Stres oksidatif juga dapat menyebabkan terbentuknya lipid peroksida. Lipid peroksida tersebut dapat merusak membran sel,

hal ini disebabkan oleh komponen utama membran sel eritrosit terdiri dari asam lemak tak jenuh sangat terpengaruh oleh radikal bebas. Radikal bebas memiliki kemampuan untuk berikatan dengan membran eritrosit dan mengubah strukturnya, akibatnya integritas membran eritrosit menurun dan eritrosit mudah mengalami hemolisis (Muslim Z., dkk., 2019) . Stres oksidatif dapat menurunkan mobilitas protein pada fosfolipid bilayer yang mengakibatkan kekakuan membran, Protein yang dapat terganggu oleh stres oksidatif salah satunya adalah protein *band 3* yang bertanggung jawab atas pengaturan keseimbangan ion yang melewati membran sel, sifat osmotik dan mekanik eritrosit, dan mempertahankan bentuk sel (Morabita *et. Al.*, 2016). Dalam penelitian lain, ditemukan bahwa H_2O_2 sebagai media asam dapat menyebabkan *cross linking* yang diinduksi oksidasi antara hemoglobin dan spektrin yang menunjukkan kekakuan membran yang lebih besar (Hale, *et. al.*, 2011). Hal ini juga dapat menyebabkan gangguan fungsi Na-K ATPase. Gangguan fungsi Na-K ATPase ini menyebabkan terganggunya fungsi Na-K ATPase dalam mengatur konsentrasi ion, mengatur volume dan homeostatis air, dan rasio luas permukaan terhadap volume yang menyebabkan deformabilitas eritrosit berkurang (Radosinska J., Vrbjar N., 2021).

Pada pH asam (pH rendah) dapat terjadi kontraksi kerangka membran eritrosit yang menghasilkan tekanan stomatositik pada membran dan pada pH basa (pH tinggi) dapat terjadi kontraksi kerangka membran eritrosit yang menghasilkan tekanan echinositik (Bardhan, *et.al.* 2024)

Penelitian Ghirmai, *et.al.* (2024) mengenai hubungan antara hemolisis dan oksidasi lipid pada otot ikan yang mengandung sel darah merah; ketergantungan pada pH dan plasma darah diperoleh hasil bahwa pada pH asam (pH 6,4) dalam waktu penyimpanan 7 hari ditemukan bahwa semua sel eritrosit mengalami lisis, dan pada pH 7,6 dalam waktu penyimpanan 7 hari ditemukan bahwa sel eritrosit masih dalam keadaan utuh. Sejalan dengan penelitian Ghirmai, *et.al.* (2022) ditemukan bahwa hemolisis cepat terjadi pada pH 6,4-6,8 yang berkaitan dengan oksidasi lipid membran sel eritrosit, sedangkan hemolisis yang lebih rendah terjadi pada pH 7,2-8,0.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai perbandingan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA, diperoleh beberapa kesimpulan yaitu rata-rata nilai fragilitas osmotik spesimen darah vena K₂EDTA adalah 0,47% pada hemolisis awal dan 0,34% pada hemolisis total, rata-rata nilai fragilitas osmotik spesimen darah vena K₃EDTA adalah 0,46% pada hemolisis awal dan 0,33% pada hemolisis total, dan Berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan didapatkan bahwa terdapat perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan antikoagulan K₃EDTA. Tetapi pada hasil uji ALE (*Allowable Limit of Error*) didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara klinis antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan antikoagulan K₃EDTA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan naskah hasil penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Betty Nurhayati, S.Si., M.Si., yang senantiasa mendukung dan membimbing penulis dalam penelitian ini. Terimakasih juga kepada Ibu Eem Hayati, S.Pd., M.Kes., dan Bapak Ganjar Noviar S.ST., M. Biomed., yang turut serta membantu proses penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada kedua orang tua, keluarga, dan semua pihak yang telah mendukung proses penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan yang terikat dengan penelitian ini.

REFERENSI

Safitri, Y., dkk. (2020). Sistem Pakar Pemeriksaan Laboratorium Metode Case Base Reasoning. Jurnal Sains dan Teknologi (Vol. 12 No. 1). SAINTTEKBU. <https://doi.org/10.32764/sainttekbv12i1.809>

- Bararah, A. S., Ernawati, Andreswari D. (2017). Implementasi Cased Based Reasoning untuk diagnosa Penyakit Berdasarkan Gejala Klinis dan Hasil Pemeriksaan Hematologi dengan Probabilitas Bayes. Jurnal Rekrusif. <http://ejournal.unib.ac.id/index.php/rekursif/>
- Nugraha, G. (2015). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Edisi ke-2. Jakarta: Trans Info Media.
- Igbokwe, NA. (2018). *A Review of The Factor That Influence Erythrocyte Osmotic Fragility*. Sokoto Journal of veterinary Sciences, 16 (4): 1. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v16i4.1>
- Avishek Bardhan, Thangapalam J. Abraham, Ratnapriya Das, Prasanna K. Patil. (2024) *Visualization of poikilocytosis as an emerging erythrocytic biomarker for fish health assessment*. *Animal Research an One Health* (Vo. 2, Issue 2/ p. 136-157). <https://doi.org/10.1002/aro2.47>
- Yao C. *et.al.* (2003). *Effect of pH on Structure and Function of Single Living Erythrocyte*. Chinese Science Bulletin: Vol. 48, No. 13, 1342-1346. <https://doi.org/10.1007/BF03184176>
- Wahdaniah, Sri Tumpuk. (2018). Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K2EDTA dan K3EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa, pp. 144-118, No.2, April 2018. <https://doi.org/10.30602/jlk.v1i2.147>
- McPherson, R.A., Pincus, M.R. (2017). *Clinical Diagnosis and Management Laboratory Methods*. China: Elseiver Saunders. Vol. 23rd Edition.
- Kurniawan, FB. (2016). Hematologi: Praktikum Analis Kesehatan. Jakarta: EGC.
- Radosinska J., Vrbjar N. (2021). *Erythrocyte Deformability and Na,K-ATPase Activity in Various Pathophysiological Situations and Their Protection by Selected Nutritional Antioxidants in Humans*. *International Journal of Molecular Sciences* 22, no. 21: 11924. <https://doi.org/10.3390/ijms222111924>
- Muslim Z., Prasetya A., Surya Wahyudi S. (2019). Pengaruh Vitamin C terhadap Fragilitas Osmotik Eritrosit pada Mahasiswa Kedokteran Universitas Jember yang Mengalami Stres Psikologis. E-Journal Pustaka Kesehatan (Vol. 7, No. 1).
- Morabito R, Romano O, La Spada G, Marino A. (2016). *H₂O₂-Induced Oxidative Stress Affechiucts SO₄⁼ Transport in Human Erythrocytes*. PLoS ONE. 11(1):e0146485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146485>
- Rajagukguk, R., Kosim, M.S., Tamam, M. (2014). Pemberian vitamin C sebagai Antioksidan terhadap Fragilitas Osmotik Eritrosit pada B Thalassemia Mayor. *Medica Hospitalia*. Vol. 2 (2) : 98-104. <https://doi.org/10.36408/mhjcm.v2i2.100>
- Garini, A. (2013). Perbandingan Hitung jumlah Trombosit secara Otomatik pada Darah yang Ditambahkan Antikoagulan Na₂EDTA 10% dengan K₂EDTA

Vacutainer. Jurnal Kesehatan. Vol 1, No. 11.
<https://jurnal.poltekkespalembang.ac.id/index.php/JPP/article/view/119>

Hale, J. P., Winlove, C. P., dan Petrov, P. G. (2011). *Effect of Hydroperoxides on Red Blood Cell Membrane Mechanical Properties*. Biophysical Journal. Vol. 101 1921-1929. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.08.053>

Varshney, R., et.al. (2020). *Development of Novel Iron-regulated Pasteurella multocida B: 2 Bacterin and Refinement of Vaccine quality in Terms of Minimum Variation in Particle Size an Distribution Vis-à-vis Critical Level of Iron in Media*. Elsevier Microbial Pathogenesis 147 104375. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104375>

Ghirmai, S., Krona, A., Wu, H. et al.(2024). Relationship between hemolysis and lipid oxidation in red blood cell-spiked fish muscle; dependance on pH and blood plasma. *Sci Rep* 14, 1943. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52090-8>

Ghirmai, S., Wu, H., Axelsson, M. et al. (2022). Exploring how plasma- and muscle-related parameters affect trout hemolysis as a route to prevent hemoglobin-mediated lipid oxidation of fish muscle. *Sci Rep* 12, 13446. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16363-4>

GAMBARAN PROFIL DARAH PEKERJA TAMBANG NIKEL SEBAGAI FAKTOR RESIKO ANEMIA DI KECAMATAN MOROSI KABUPATEN KONAWE

Dela Safira¹ · Firdayanti² · Susanti³ · Syellomitha Kasenda^{4*} · Wildayani⁵

^{1,2,3,4,5} D-III Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari

e-Mail : syellomithakasenda@gmail.com

No Tlp WA : 081251836278

Abstract

Human exposure to nickel-containing products can result in a variety of adverse health effects. Nickel allergy is one of the most common causes of anemia. The purpose of this study was to determine the blood profile description of nickel mining workers as a risk factor for anemia in Morosi District, Konawe Regency. This type of research is quantitative descriptive with a sampling technique, namely Accidental Sampling with a total of 20 samples. The research method used is the flowcytometry method. Based on the results of the study, it was found that the results of normal erythrocyte examination were 20 people (100%), normal hemoglobin was 15 people (75%), and those who had low hemoglobin were 5 people (25%), normal hematocrit was 19 people (95%), and 1 person (5%), normal MCV 20 people (100%), 13 people (65%) normal MCH and 7 people (35%), normal MCHC 18 people (90%), 1 person (5%) high and 1 person (5%). The conclusion was obtained that those with erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, and erythrocyte index (MCV, MCH and MCHC) had normal results with a percentage of 87.5%, low with a percentage of 5.8% and high with a percentage of 6.7%.

Keywords: Allergy, Blood Profile, Mine Workers

Abstrak

Paparan manusia terhadap produk yang mengandung nikel dapat mengakibatkan berbagai efek kesehatan yang merugikan. Alergi nikel adalah salah satu penyebab paling umum dari anemia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui Gambaran Profil Darah Pekerja Tambang Nikel Sebagai Faktor Resiko Terjadinya anemia di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe. Jenis penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif dengan teknik pengambilan sampel yaitu *Accidental Sampling* dengan jumlah 20 sampel. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode *flowcytometry*. Berdasarkan Hasil penelitian didapatkan yaitu hasil pemeriksaan eritrosit normal sebanyak 20 orang (100%), hemoglobin normal sebanyak 15 orang (75%), dan yang memiliki hemoglobin rendah sebanyak 5 orang (25%), hematokrit normal sebanyak 19 orang (95%), dan yang memiliki hematokrit rendah 1 orang (5%), MCV normal sebanyak 20 orang (100%), MCH normal sebanyak 13 orang (65%) dan yang memiliki MCH tinggi sebanyak 7 orang (35%), MCHC normal sebanyak 18 orang (90%), yang tinggi sebanyak 1 orang (5%) dan yang rendah 1 orang (5%). Kesimpulan diperoleh yaitu yang memiliki eritrosit, hemoglobin, hematokrit, dan indeks eritrosit (MCV, MCH dan MCHC) didapatkan hasil normal dengan persentase 87,5%, rendah dengan persentase 5,8% dan yang tinggi dengan persentase 6,7%.

Kata Kunci : Alergi, Profil Darah, Pekerja Tambang

PENDAHULUAN

Senyawa nikel (Ni) merupakan polutan yang ada di lingkungan kerja dan lingkungan masyarakat. Di lingkungan, Nikel ditemukan sebagai kontaminan di udara dan air minum, atau sebagai konstituen atau kontaminan dalam berbagai makanan termasuk coklat, kacang tanah, dan biji-bijian (Chen et al., 2024). Paparan

pekerjaan terhadap Nikel terjadi melalui kontak kulit dengan produk industri dan komersial yang mengandung paduan Nikel termasuk perhiasan, rumah tangga, dan masakan. Paparan pekerjaan terhadap Nikel terjadi melalui inhalasi di pertambangan, pemurnian, produksi paduan, elektroplating, dan industri pengelasan, Paparan manusia terhadap produk yang mengandung Nikel dapat mengakibatkan berbagai efek kesehatan yang merugikan. Alergi Nikel adalah salah satu penyebab paling umum dari anemia (Arita et al., 2012).

Nikel merupakan perhatian lingkungan yang besar, karena studi epidemiologi senyawa Nikel dari populasi yang terpapar pekerjaan telah melaporkan peningkatan insiden kanker paruparu dan hidung, peningkatan risiko sindrom pernapasan akut, paling jelas ditunjukkan pada pekerja tambang Nikel. Senyawa Nikel telah diklasifikasikan sebagai karsinogen manusia oleh Badan Internasional untuk Penelitian Kanker, Paparan terhadap Nikel ini dapat menyebabkan komplikasi dan penyakit akibat kerja pada pekerja tambang nikel, seperti penyakit pernapasan, muskuloskeletal, gangguan-gangguan fisiologis dan kanker (Rahimpoor et al., 2021).

Darah merupakan komponen penting dalam tubuh yang terdiri dari haemoglobin, trombosit, eritrosit, leukosit akan berpengaruh jika tubuh terpapar oleh zat pencemar. Keracunan akibat bahan pencemar Nikel dapat berakibat terganggunya komponen dalam darah (profil darah) yaitu peningkatan kadar *Amino levulinic acid* (ALA) dalam darah dan urin, meningkatkan kadar protoporphirin dalam sel darah merah, menurunkan jumlah sel darah merah, menurunkan kadar atau jumlah eritrosit sehingga mengakibatkan hemopoetik dan meningkatkannya kadar hematokrit dalam darah, dapat dilihat nilai MCV (*Mean Corpuscular Volume/ Volume Sel darah*), MCH (*Mean Corpuscular Haemoglobin/ Berat Haemoglobin rata-rata dalam 1 eritrosit*), dan MCHC (*Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration/ Konsentrasi Haemoglobin Eritrosit Rata-Rata*) (Aryani et al., 2013; Pumallanqui-Ramirez et al., 2024).

Anemia merupakan suatu keadaan dimana masa eritrosit dan masa hemoglobin yang beredar tidak memenuhi fungsinya untuk menyediakan oksigen bagi jaringan tubuh, anemia dapat diartikan sebagai penurunan kadar hemoglobin serta hitung eritrosit dan hematokrit dibawah normal, anemia terjadi akibat kadar hemoglobin atau ertrosit lebih rendah daripada nilai normal, anemia umumnya disebabkan karena ada perdarahan kronik atau malnutrisi (kurang gizi) (Fajriyah & Fitriyanto,

2016; Melfi Suryaningsih & Santosa, n.d.).

Anemia merupakan suatu keadaan kadar hemoglobin darah yang lebih rendah daripada normal sebagai akibat ketidakmampuan jaringan pembentuk sel darah merah dalam produksinya guna mempertahankan kadar hemoglobin pada tingkat normal. Beberapa dampak akut dari kekurangan hemoglobin antara lain sering pusing, merupakan respon dari sistem saraf pusat akibat otak sering mengalami periode kekurangan pasokan oksigen yang dibawa hemoglobin terutama saat tubuh memerlukan energi yang banyak (Marisa et al., 2021).

Mata berkunang - kunang merupakan respon dari saraf pusat akibat kurangnya oksigen ke otak dan mengganggu pengaturan saraf mata. napas cepat/ sesak napas, merupakan respon dari sistem kardiovaskular. Jika hemoglobin kurang, maka kebutuhan oksigen untuk otot jantung juga berkurang dan kompensasinya menaikkan frekuensi nafas, Salah satu penyakit anemia dilaporkan dengan persentase sebesar 52,8% selanjutnya mata berkunang-kunang sebesar 46,5%. Sesuai hasil survey masih perlu dilakukan sosialisasi mengenai pengetahuan remaja tentang anemia karena masih banyak yang belum diketahui remaja tentang bagaimana cara pencegahan dan penanganan anemia (Fajriyah & Fitriyanto, 2016).

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan melakukan pengamatan untuk mengetahui Gambaran Profil Darah Pekerja Tambang Nikel Sebagai Faktor Resiko Terjadinya anemia di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe. Teknik pengambilan sampel secara *accidental sampling*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Box sampel, *Hematologi analyzer Sysmex KX-21*, *cool box*, Rak tabung, spoit, Tabung EDTA dan *tourniquet*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, Darah vena, *Handscoon*, Masker, Etiket, Kapas, Plester, spoit 3 ml.

Pekerja tambang nikel di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe dilakukan pengambilan sampel darah. Sampel darah ditampung pada tabung EDTA, dan disimpan pada *cool box* untuk dibawa ke Laboratorium. Pemeriksaan darah dilakukan menggunakan alat *Hematologi analyzer Sysmex KX-21*. Hasil pemeriksaan darah dianalisis dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL

Penelitian ini dilakukan 2 tahapan yaitu pengambilan sampel di Desa Besu Kecamatan Morosi dan tahapan kedua yaitu pemeriksaan sampel yang dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Bhayangkara Kendari. Sampel yang diperoleh sebanyak 20 sampel.

Hasil pemeriksaan Gambaran Profil Darah Pekerja Tambang Nikel Sebagai Faktor Resiko Anemia Di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe, sebagai berikut:

Tabel 1. Distribusi Sampel Berdasarkan Usia

No	Usia (Tahun)	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	20 - 29	11	55
2	30 - 40	9	45
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan usia 20 - 29 tahun sebanyak 11 orang (55%), dan usia 30 - 40 tahun sebanyak 9 responden (45%).

Tabel 2. Distribusi sampel berdasarkan lama kerja

No	Lama kerja (Tahun)	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	1-3	16	80
2	4-6	4	20
Total sampel		20	100

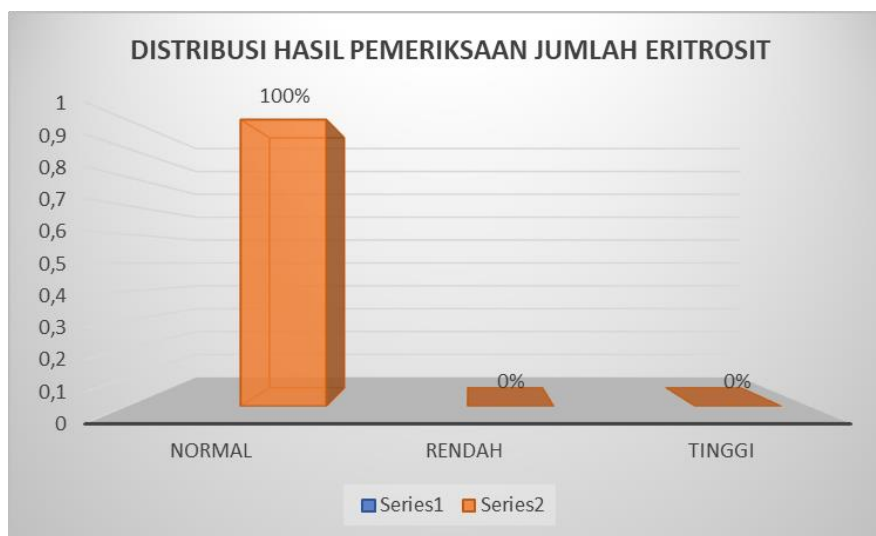
(sumber : Data Primer, 2022)

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, berdasarkan lama kerja didapatkan lama kerja 1 - 3 tahun sebanyak 16 orang (80%), dan lama kerja 4 - 6 tahun sebanyak 4 orang (20%).

Tabel 3. Distribusi hasil pemeriksaan Eritrosit

No	Hasil Pemeriksaan Eritrosit	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	20	100
2	Rendah	0	0
3	Tinggi	0	0
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)



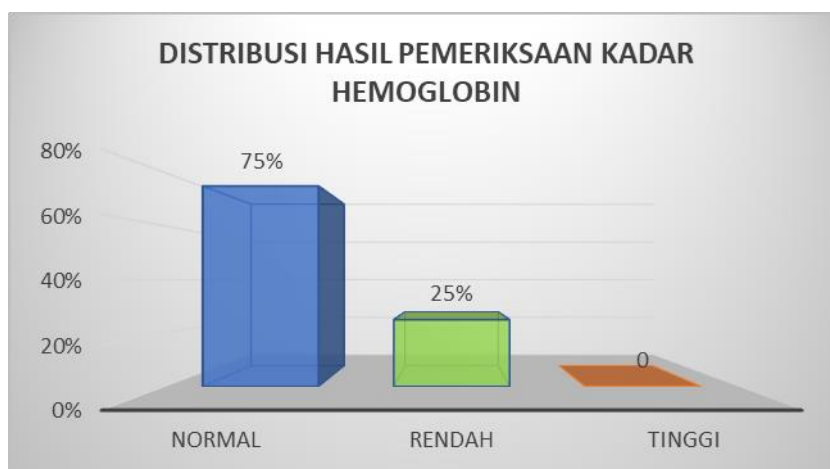
Gambar 1. Grafik Distribusi Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan eritrosit normal yaitu sebanyak 20 orang dengan persentase 100 %.

Tabel 4. Distribusi hasil pemeriksaan Hemoglobin

No	Hasil Pemeriksaan Hemoglobin	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	15	75
2	Rendah	5	25
3	Tinggi	0	0
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)



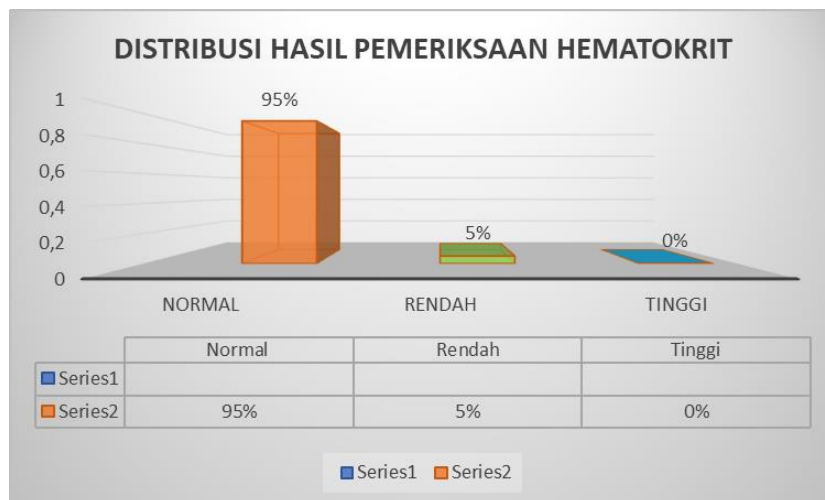
Gambar 2. Grafik Distribusi Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan hemoglobin normal yaitu sebanyak 15 orang dengan persentase 75%, dan yang memiliki hemoglobin rendah sebanyak 5 orang dengan persentase 25%.

Tabel 5. Distribusi hasil pemeriksaan Hematokrit

No	Hasil Pemeriksaan Hematokrit	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	19	95
2	Rendah	1	5
3	Tinggi	0	0
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)



Gambar 3. Grafik Distribusi Hasil Pemeriksaan Hematokrit

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan hematokrit normal yaitu sebanyak 19 orang dengan persentase 95%, dan yang memiliki hematokrit rendah 1 orang dengan persentase 5%.

Tabel 6. Distribusi hasil pemeriksaan MCV

No	Hasil Pemeriksaan MCV	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	20	100
2	Rendah	0	0
3	Tinggi	0	0
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)

Berdasarkan Tabel 6 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan MCV normal yaitu sebanyak 20 orang dengan persentase 100%.

Tabel 7. Distribusi hasil pemeriksaan MCH

No	Hasil Pemeriksaan MCH	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	13	65
2	Rendah	0	0
3	Tinggi	7	35
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)

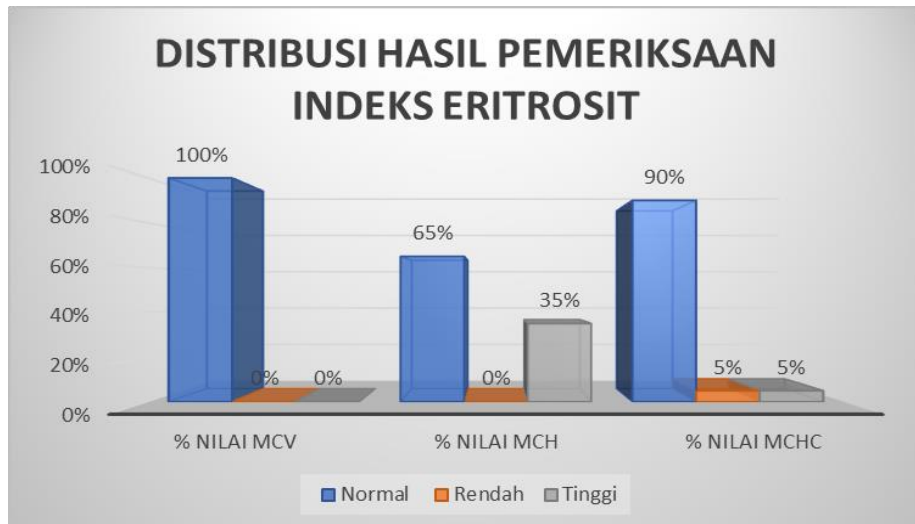
Berdasarkan Tabel 7 menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 13 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan MCH yang memiliki MCH normal yaitu sebanyak 13 orang dengan persentase 65 % dan yang memiliki MCH normal sebanyak 7 orang dengan persentase 35%.

Tabel 8. Distribusi hasil pemeriksaan MCHC

No	Hasil Pemeriksaan MCHC	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Normal	18	90
2	Rendah	1	5
3	Tinggi	1	5
Total sampel		20	100

(sumber : Data Primer, 2022)

Berdasarkan Tabel 8 dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan MCHC normal yaitu sebanyak 20 orang dengan persentase 90 %, yang memiliki MCHC rendah 1 orang dengan persentase (5%) dan yang tinggi 1 orang dengan persentase (5%).



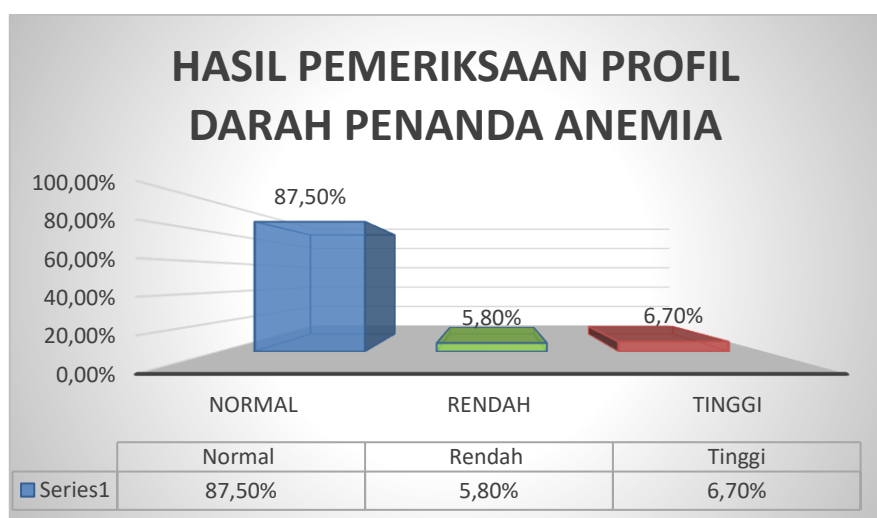
Gambar 4. Grafik Distribusi Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit

Tabel 9. Persentase Rata - rata Hasil Pemeriksaan Profil Darah (Eritrosit, Hemoglobin, Hematokrit, Dan Indeks Eritosit)

No	Hasil Pemeriksaan Profil Darah	Presentase (%)
1	Normal	87,5
2	Rendah	5,8
3	Tinggi	6,7
Total		100

(sumber : Data Primer, 2022)

Berdasarkan Tabel 9 dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan hasil normal rata - rata dengan persentase 90,8%, rendah dengan rata - rata 7,5% dan yang tinggi rata - rata 1,7%.



Gambar 5. Grafik Distribusi Hasil Pemeriksaan Profil Darah Penanda Anemia

DISKUSI

Penelitian tentang gambaran profil darah pekerja tambang nikel sebagai faktor resiko anemia telah dilakukan. Berdasarkan usia terdapat sampel sebanyak 20 orang yang melakukan pemeriksaan leukosit, eritrosit, haemoglobin, hematokrit, indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC). Terlihat bahwa interval usia yang melakukan pemeriksaan yaitu pada usia 20 - 29 tahun sebanyak 11 orang (55%) dan usia 30 - 40 tahun sebanyak 11 orang (45%), sedangkan berdasarkan lama kerja menunjukkan dari jumlah sampel penelitian sebanyak 20 sampel, didapatkan lama kerja 1 - 3 tahun sebanyak 16 orang (80%), dan lama kerja 4 - 6 tahun sebanyak 4 orang (20%).

Lama kerja berpengaruh terhadap besar kecilnya paparan nikel yang akan diterima pada tubuh pekerja tambang nikel, mengingat efek paparan nikel terhadap kesehatan manusia dalam jangka panjang dapat merusak sistem pembentukan sel darah/abnormalitas, seperti anemia, menurunkan jumlah sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit, serta sifat karsinogeniknya menyebabkan *Acute Myeloid Leukemia* (AML) atau *Acute Non-Lymphocytic Leukemia* (ANLL) (Nikmah et al., 2016; Pumallanqui-Ramirez et al., 2024).

Pekerjaan dalam industri pertambangan merupakan jenis pekerjaan yang membutuhkan stamina yang kuat, karena area kawasan tambang berada di antara tebing, gunung, dan hutan (Dhatrak et al., 2017). Lamanya waktu bekerja meningkatkan resiko terjadinya gangguan kesehatan seperti anemia pada kelompok pekerja tersebut. Jam kerja yang tinggi dan shifting yang lama tersebut semakin meningkatkan resiko terpapar debu pabrik yang berdampak terhadap gangguan anemia pada pekerja tambang nikel tersebut (Atabay, 2011; Melfi Suryaningsih & Santosa, n.d.).

Pada tabel 4 didapatkan hasil pemeriksaan eritrosit normal yaitu sebanyak 20 orang dengan persentase 100%, Pada tabel 5 didapatkan hasil pemeriksaan hemoglobin normal sebanyak 15 orang dengan persentase 75 %, dan yang memiliki hemoglobin rendah sebanyak 5 orang dengan persentase 25%, Pada tabel 6 didapatkan hasil pemeriksaan hematokrit normal sebanyak 19 orang dengan persentase 95 %, dan yang memiliki hematokrit rendah 1 orang dengan persentase 5%. Pada tabel 7 didapatkan hasil pemeriksaan MCV yang memiliki MCV normal sebanyak 20 orang dengan persentase 100%, Pada tabel 8 didapatkan hasil pemeriksaan MCH yang memiliki MCH normal sebanyak 13 orang dengan persentase

65% dan yang memiliki MCH tinggi sebanyak 7 orang dengan persentase 35%, Pada Tabel 9 didapatkan hasil pemeriksaan MCHC normal yaitu sebanyak 18 orang dengan persentase 90%, rendah sebanyak 1 orang dengan persentase 5% dan yang tinggi 1 orang dengan persentase 5%.

Nilai MCV yang meningkat menunjukkan ukuran eritrosit yang kecil (mikrositik), hal ini merupakan kondisi klinis anemia defisiensi besi, anemia mikrositik dan talasemia sindrom. Tanpa zat besi yang cukup, sel-sel darah merah tidak mampu membawa cukup oksigen ke jaringan tubuh. Kekurangan zat besi sering menyebabkan kadar sel darah rendah (anemia) sedangkan Nilai MCH tinggi dapat menandakan kondisi yang disebut dengan anemia makrositik. Anemia jenis ini disebabkan oleh ukuran sel darah merah yang lebih besar dari ukuran normal, tapi jumlah keseluruhan sel darah merah dalam tubuh berada di bawah normal (Atabay, 2011; Nikmah et al., 2016).

Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Aryani (2013) bahwa hasil pemeriksaan laboratorium dari profil darah pekerja pertambangan yang mencakup kadar Hb, hematokrit, eritrosit, trombosit, leukosit, MCV, MCH, MCHC reratanya termasuk normal, dengan hasil deskriptif mendekati Nilai ambang Batas (NAB) yaitu eritrosit dengan nilai rata-rata $4,9536 \text{ jt/mm}^3$, nilai standar deviation 0,52014 dengan nilai minimal $3,99 \text{ jt/mm}^3$ dan nilai maksimal $6,32 \text{ jt/mm}^3$ dan trombosit dengan nilai rata-rata $334,26 \text{ rb/mm}^3$ dengan standar deviasi 336,833, kadar trombosit minimum $3,99 \text{ rb/mm}^3$ dan kadar trombosit maksimum sebesar 2424 rb/mm^3 (Aryani et al., 2013; Weinhouse et al., 2017).

Anemia merupakan suatu keadaan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah berada dibawah normal yang diakibatkan oleh defisiensi salah satu atau beberapa zat gizi yang dibutuhkan dalam pembentukan sel darah merah (Melfi Suryaningsih & Santosa, n.d.). Anemia Defisiensi Besi (ADB) merupakan anemia yang timbul akibat berkurangnya penyediaan besi untuk eritropoesis karena cadangan besi kosong (*depleted iron store*) yang pada akhirnya mengakibatkan pembentukan hemoglobin berkurang. Pada umur 18-40 tahun risiko terjadinya anemia akan lebih kecil dibandingkan dengan usia 45-50 tahun. Hal ini dikarenakan pada usia tersebut rentan mengalami penyakit kronis yang menimbulkan perubahan dalam fungsi tubuh khususnya pada mekanisme pembentukan sel darah merah dan penurunan hemoglobin, yang mengakibatkan terjadinya anemia (Melfi Suryaningsih & Santosa,

n.d.; Weinhouse et al., 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan Gambaran Profil Darah Pekerja Tambang Nikel Sebagai Faktor Resiko Anemia Di Kecamatan Morosi Kabupaten Konawe yaitu yang memiliki eritosit, hemoglobin, hematokrit, trombosit dan indeks eritrosit (MCV, MCH dan MCHC) didapatkan hasil normal rata - rata dengan persentase 87,5%, rendah dengan rata - rata persentase 5,8% dan yang tinggi rata - rata dengan persentase 6,7%

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada kepala Laboratorium Rumah Sakit Bhayangkara Kendari dan kepala pimpinan perusahaan tambang Morosi telah membantu dan memberi izin hingga penelitian ini selesai dan juga terima kasih kepada pihak pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini berjalan lancar.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Arita, A., Niu, J., Qu, Q., Zhao, N., Ruan, Y., Nadas, A., Chervona, Y., Wu, F., Sun, H., & Hayes, R. B. (2012). Global levels of histone modifications in peripheral blood mononuclear cells of subjects with exposure to nickel. *Environmental Health Perspectives*, 120(2), 198-203.
- Aryani, L., Setiani, O., & Nurjazuli, N. (2013). Hubungan Kadar merkuri (Hg) dengan profil darah pekerja pertambangan emas tradisional di desa jendi kecamatan selogiri kabupaten wonogiri. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 12(2), 144-148.
- Atabay, M. M. (2011). The cytotoxic and haematological effect of coal dust to underground miners. *Amer J Biochem*, 1(1), 4-8.
- Chen, H., Ding, X., Zhang, W., & Dong, X. (2024). Coal mining environment causes adverse effects on workers. *Frontiers in Public Health*, 12, 1368557.
- Dhatrak, S. V, Nandi, S. S., Sishodiya, P. L., Dhumne, U. L., Ingole, S. V, & Gupta, S. R. (2017). Health status evaluation of mine workers and nearby population around iron ore mines in tribal district of Jharkhand, India. *Am J Prev Med Public Health*, 1, 20-26.

- Fajriyah, N. N., & Fitriyanto, M. L. H. (2016). Gambaran tingkat pengetahuan tentang anemia pada remaja putri. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 9(1), 97336.
- Marisa, Y. T., Harun, H., Harun, H., & Harun, H. (2021). Penyakit Ginjal Polikistik disertai Anemia Hemolitik Autoimun. *J. Ilm. Kedokt. Wijaya Kusuma*, 10, 102.
- Melfi Suryaningsih, A., & Santosa, H. (n.d.). *Relationship Of Anemia And Premature/LBW With Early Marriage And Healthy Reproductive Age*.
- Nikmah, W. I., Darundiati, Y. H., & Budiyo, B. (2016). Hubungan antara paparan benzena dengan profil darah pada pekerja di industri percetakan x kota semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(5), 213-219.
- Pumallanqui-Ramirez, B., Li, J., Rueda-Torres, L., & Rosales-Rimache, J. (2024). Relationship between Blood Lead Levels and Anemia: A Cross-Sectional Study on Mining Workers from Peru. *Advances in Public Health*, 2024(1), 5517405.
- Rahimpoor, R., Firoozichahak, A., Nematollahi, D., Alizadeh, S., Alizadeh, P. M., & Langari, A. A. A. (2021). Determination of halogenated hydrocarbons in urine samples using a needle trap device packed with Ni/Zn-BTC bi-MMOF via the dynamic headspace method. *Rsc Advances*, 11(35), 21537-21547.
- Weinhouse, C., Ortiz, E. J., Berky, A. J., Bullins, P., Hare-Grogg, J., Rogers, L., Morales, A.-M., Hsu-Kim, H., & Pan, W. K. (2017). Hair mercury level is associated with anemia and micronutrient status in children living near artisanal and small-scale gold mining in the Peruvian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(6), 1886.

KORELASI HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIK *Trichomonas vaginalis* DARI SAMPEL URIN PEKERJA SEKS KOMERSIAL BERDASARAN UJI *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Adira^{1*} · Ka'Bah² · Nur Laela Alydrus³

^{1,2,3} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky
Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia
e-Mail : adira5177@gmail.com
No Tlp WA : 0823 4788 4483

Abstract

Trichomoniasis is a protozoan infectious disease that attacks the lower urogenital tract in both men and women and is caused by Trichomonas vaginalis. Trichomoniasis infects more commercial sex workers (CSWs) because several factors are often related to their work, such as frequently changing partners and not using Denmark consistently or effectively. The diagnosis of trichomoniasis can be confirmed by microscopic and PCR methods. This study aimed to determine the correlation of Trichomonas vaginalis microscopic examination results with Polymerase Chain Reaction (PCR) tests in commercial sex workers' urine samples. The Chi Square correlation results showed a p value of 0.114 ($p>0.05$) or not significant and a value of 0.447 with a moderate category of relationship between the results of the microscopic and PCR methods in detecting Trichomonas vaginalis in CSW urine samples.

Keywords: Microscopic, *Trichomonas vaginalis*, PCR.

Abstrak

Trikomoniasis merupakan suatu penyakit infeksi protozoa yang menyerang traktus urogenitalis bagian bawah baik pada pria maupun wanita dan disebabkan oleh *Trichomonas vaginalis*. Trikomoniasis lebih banyak menginfeksi pekerja seks komersial (PSK) karena beberapa faktor risiko yang sering terkait dengan pekerjaan mereka, seperti seringnya berganti-ganti pasangan dan tidak menggunakan kondom secara konsisten atau efektif. Diagnosis trikomoniasis dapat ditegakkan dengan metode mikroskopik dan PCR. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi hasil pemeriksaan metode mikroskopik *Trichomonas vaginalis* dengan uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dalam sampel urin pekerja seks komersial (PSK). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 10 PSK yang diteliti, 5 orang (50%) menunjukkan hasil positif menggunakan metode mikroskopik, dan 2 orang (20%) menunjukkan hasil positif dengan uji PCR. Hasil korelasi Chi Square menunjukkan nilai p sebesar 0,114 ($p>0,05$) atau tidak signifikan dan nilai value sebesar 0,447 dengan tingkat hubungan kategori sedang antara hasil metode mikroskopik dan PCR dalam deteksi *Trichomonas vaginalis* pada sampel urin PSK.

Kata kunci: Mikroskopik, *Trichomonas vaginalis*, PCR.

PENDAHULUAN

Infeksi menular seksual (IMS) merupakan suatu penyakit kelamin yang transmisinya melalui hubungan seksual, penamaan infeksi menular seksual dahulu dikenal dengan penyakit kelamin atau *veneral disease* (Nisa & Sunarti, 2023). Infeksi menular seksual adalah segolongan penyakit infeksi yang terutama ditularkan melalui kontak seksual yang disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, protozoa. atau ektoparasit salah satunya *Trichomonas vaginalis* (Agustini & Damayanti, 2023).

Trikomoniasis merupakan suatu penyakit infeksi protozoa yang menyerang traktus urogenitalis bagian bawah baik pada pria maupun wanita dan disebabkan oleh *Trichomonas vaginalis*. Trikomoniasis lebih banyak menginfeksi pekerja seks komersial (PSK) karena beberapa faktor risiko yang sering terkait dengan pekerjaan mereka, seperti seringnya berganti-ganti pasangan dan tidak menggunakan kondom secara konsisten atau efektif.

Pada tahun 2023, terdapat 156 juta kasus Trikomoniasis di dunia (WHO, 2023). Menurut kemenkes RI 2020, Data Trikomoniasis di Indonesia adalah sebanyak 906 kasus. Sedangkan di Sulawesi Selatan terdapat 1.224 kasus IMS yang didalamnya termasuk Trikomoniasis (Dinkes Sulsel, 2023). Sementara itu angka pengidap IMS di wilayah Sulawesi selatan masih tergolong tinggi, dari data dinas kesehatan provinsi Sulawesi selatan 2020 terdapat 1224 kasus HIV/AIDS dan infeksi menular seksual (Mustar *et al.*, 2023).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Afni *et al.*, 2023, posisi uretra wanita lebih berdekatan dengan anus sehingga parasit dari anus lebih mudah berpindah ke uretra wanita. Akibatnya *Trichomonas vaginalis* dapat ditemukan dalam urin.

Diagnosis infeksi *Trichomonas vaginalis* umumnya dilakukan dengan metode mikroskopik yang cepat dan murah namun memiliki sensitivitas yang rendah, uji PCR menawarkan alternatif dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, namun cenderung lebih mahal dan membutuhkan waktu yang lebih lama. Oleh karena itu penting untuk mengevaluasi korelasi antara hasil pemeriksaan mikroskopik dan uji PCR guna menentukan akurasi diagnostik yang relevansi klinis dari masing-masing metode. Penelitian ini bertujuan untuk menguji korelasi antara hasil pemeriksaan mikroskopik *Trichomonas vaginalis* berdasarkan uji PCR.

BAHAN DAN METODE

Populasi sampel yang diambil untuk penelitian ini adalah pekerja seks komersial (PSK) yang berada di Cafe Pelataran Pariwisata Pantai Bira, Bulukumba, Sulawesi Selatan.

Adapun bahan yang digunakan adalah objek glass, giemsa, Aquadest, sampel urin, pot sampel, tabung eppendorf, tabung spin column, filter tip (1000 µl, 200 µl, 20 µl), ethanol absolute Phospat Buffer Salin (PBS), enzyme (HS Bioline) DNA polymerase, Forward primer Tricho-F (5'- CGGTAGGTGAACC TG CCGTT-3') 7 µl,

Reverse primer Tricho-R (5'-TG CTTCA GTTCAGGCGGGTCT-3) 7 µl, nuclease free water (NFW) atau ddH₂O template DNA, bubuk gel agarose, Tris Barate EDTA (TBE) 0,5%, edithium bromide (GelRed), marker 100 bp DNA Ladder, ice pack gel.

Prosedur Kerja pada penelitian ini terbagi atas 2 yaitu :

1. Metode Mikroskopik

Dibuat sediaan mikroskopik dengan cara diambil 1 tetes endapan urin kemudian ditetaskan diatas objek gelas, setelah itu dibuat sebaran tipis kemudian dibiarkan sampai kering, selanjutnya sediaan di fiksasi menggunakan metanol dan diamkan sampai kering kemudian digenangi dengan cat giemsa yang telah diencerkan dengan pengenceran 9:1 (9 ml Aquadest dan 1 ml giemsa) lalu diamkan selama 10 menit, setelah itu dicuci menggunakan air mengalir dan tunggu sampai kering, diperiksa di bawah mikroskop untuk diamati secara mikroskopis dengan menggunakan perbesaran 10x, 40x dan 100x menggunakan oil imersi.

2. Metode PCR

Hasil pemeriksaan positif maupun negatif pada metode mikroskopik dilakukan ekstraksi DNA dengan cara dipindahkan sampel urin ke dalam microcentrifuge tube steril 1,5 ml sebanyak 200 µl selanjutnya ditambahkan 20 µl proteinase K kemudian dihomogenkan (up & down), di inkubasi 5 menit pada suhu 60°C menggunakan incubator, ditambahkan buffer GSB sebanyak 200µl lalu vortex dan inkubasi kembali selama 3 menit pada suhu 60°C, kemudian ditambahkan etanol absolute sebanyak 750 µl lalu vortex selama 5 detik, dipindahkan semua sampel urin kedalam spin column , centrifuge pada kecepatan 14000 xg (12.200 RPM) selama 1 menit, dibuang supernatant, colletion tube bagian bawah spin column lalu dipipet kembali sampel ke tube baru yang telah disiapkan, kemudian ditambahkan 400 µl W1 Buffer lalu dicentrifuge dengan kecepatan 14000 xg (12.200 rpm) selama 30 detik, dibuang air yang ada didalam collection tube selanjutnya pasang kembali, kemudian ditambahkan 600 µl wash buffer, dicentrifuge kembali dengan kecepatan 14000 xg (12.200 rpm) selama 30 detik, kemudian dibuang cairan yang ada di collection tube dan pasang kembali collection tube yang baru, selanjutnya sentrifuge kembali dengan kecepatan 14000 xg selama 3 menit, pindahkan tabung eppendorf ke dalam tube yang telah diberi label DNA dan tambahkan 100 µl

elution buffer, inkubasi 3 menit dan disentrifuge dengan kecepatan 12.900 RPM selama 30 detik, buang spin column dan ambil airnya yang ada pada tube (hasil ekstraksi DNA). Setelah itu dilakukan amplifikasi DNA dengan mencampurkan semua komponen PCR yang terdiri dari enzim PCR (HS Bioline) 87,5 µl, forward dan reverse masing-masing 7 µl dan 38,5 µl ddH₂O Vortex selama 5 detik, dipipet kedalam tabung PCR masing-masing sebanyak 10 µl, kemudian tambahkan 5 µl template DNA pada setiap tabung, kemudian diamplifikasikan pada mesin PCR dimana dilakukan sebanyak 37 siklus, yang terdiri dari pre-denaturasi selama 15 menit pada suhu 95°C, denaturasi 30 detik suhu 94°C. Annealing selama 40 detik pada suhu 61°C dan extension selama 30 detik pada suhu 72°C. Final extension pada suhu 72°C selama 2 menit. Kemudian hasil amplifikasi pita DNA akan dilanjutkan ke tahap elektroforesis dengan cara dipipet marker/DNA ladder kedalam well pertama sebanyak 3 µl, selanjutnya dipipet sampel DNA sebanyak 5 µl kedalam tiap well atau sumuran sampai sumur 11, lalu dipipet control positif kedalam sumur 12 dan 13 kemudian kontrol negatif pada sumur 14, setelah itu chamber ditutup sesuai dengan kutub positif dan negatif dengan pengaturan listrik 100 volt selama 100 menit lalu di running, kemudian gel agarosa diambil dan dimasukkan kedalam alat UV reader/ gel documentation system untuk memeriksa pola pita DNA yang terbentuk dengan target band 368 bp.

Analisa data pada penelitian ini adalah dijabarkan atau dijelaskan dalam bentuk tabel, gambar dan uji statistik korelasi Chi-Square menggunakan perangkat SPSS.

HASIL

Tabel 1. Kuesioner Karakteristik PSK

Karakteristik	(n)	(%)
Usia		
15-19	1	10%
20-24	6	60%
25-29	3	30%
Lama menjadi PSK		
<1-6 bulan	4	40%
7-12 bulan	1	10%
1-3 tahun	5	50%
Jumlah pelanggan per hari		
1 orang per hari	8	80%
2 orang per hari	2	20%

Karakteristik	(n)	(%)
Penggunaan kondom/pengaman		
Iya	1	10%
Tidak	2	20%
kadang-kadang	7	70%
Rasa gatal dan panas		
Iya	1	10%
Tidak	9	90%

Sumber: Data primer

Berdasarkan hasil data primer dilokasi penelitian dapat dilihat pada tabel 1 diatas terlihat dari karakteristik 10 orang PSK yang mengisi kuesioner didapatkan distribusi kelompok usia paling banyak yang ada di cafe pelataran pariwisata pantai Bira adalah 20-24 tahun sebanyak 6 orang (60%) kemudian usia 25-29 tahun sebanyak 3 orang (30%) dan 15-19 tahun sebanyak 1 orang (10%)

Pada hasil kuesioner terlihat PSK yang lama bekerja paling banyak adalah 1-3 tahun sebanyak 5 orang (50%), <1-6 bulan sebanyak 4 orang (40%) dan persentase terkecil adalah 7-12 bulan 1 orang (10%).

Berdasarkan data primer pada tabel 4.1 diatas menunjukkan karakteristik subjek dengan jumlah pelanggan PSK dua orang per hari adalah 2 orang (20%). Sementara yang memiliki jumlah pelanggan satu orang per hari sebanyak 8 orang (80%).

Berdasarkan data primer karakteristik subjek berdasarkan penggunaan kondom (pengaman) data terbanyak adalah pengguna kondom kadang-kadang sebanyak 7 orang (70%) sebanyak 7 orang, tidak menggunakan kondom 2 orang (20%) dan menggunakan kondom 1 orang (10%).

PSK dengan data terbanyak adalah tidak mengalami rasa gatal dan panas sebanyak 9 orang (90%) PSK yang mengalami rasa gatal dan panas dan 1 orang (10%) mengalami rasa gatal dan panas.

pada tabel berikut ini :

Tabel 2. Hasil penelitian metode mikroskopik dan PCR.

Kode sampel	Hasil pemeriksaan mikroskopik*	Hasil pemeriksaan PCR#
1	-	-
2	+	-
3	-	-
4	-	-
5	+	-
6	+	+

Kode sampel	Hasil pemeriksaan mikroskopik*	Hasil pemeriksaan PCR#
7	-	-
8	-	-
9	+	-
10	+	+
persentase hasil	50%	20%

*:Pemeriksaan untuk mendeteksi parasit dengan pewarnaan Giemsa pada PSK

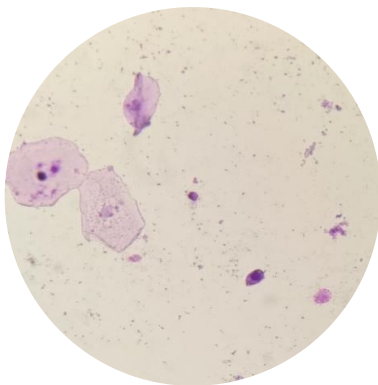
#: pemeriksaan untuk mendeteksi DNA parasit dengan menggunakan PCR

+: ditemukan parasit *Trichomonas vaginalis*

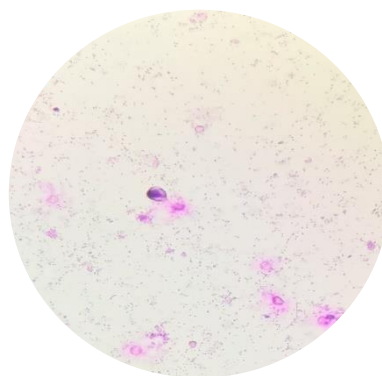
- : tidak ditemukan parasit *Trichomonas vaginalis*

Berdasarkan tabel 2, terlihat bahwa pada pemeriksaan mikroskopik ditemukan 5 dari 10 sampel (50%) menunjukkan hasil positif untuk keberadaan *Trichomonas vaginalis* pada kode sampel no urut 2, 5, 6, 9 dan 10, sedangkan pada metode PCR hanya 2 dari 10 sampel (20%) menunjukkan hasil positif untuk keberadaan *Trichomonas vaginalis* pada kode sampel no urut 6 dan 10.

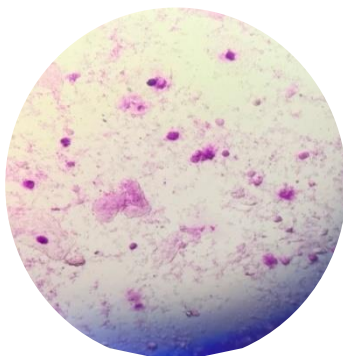
Pemeriksaan mikroskopik pada *Trichomonas vaginalis* positif dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



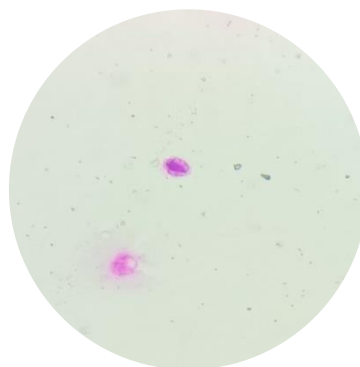
Gambar 1. Sampel positif 02



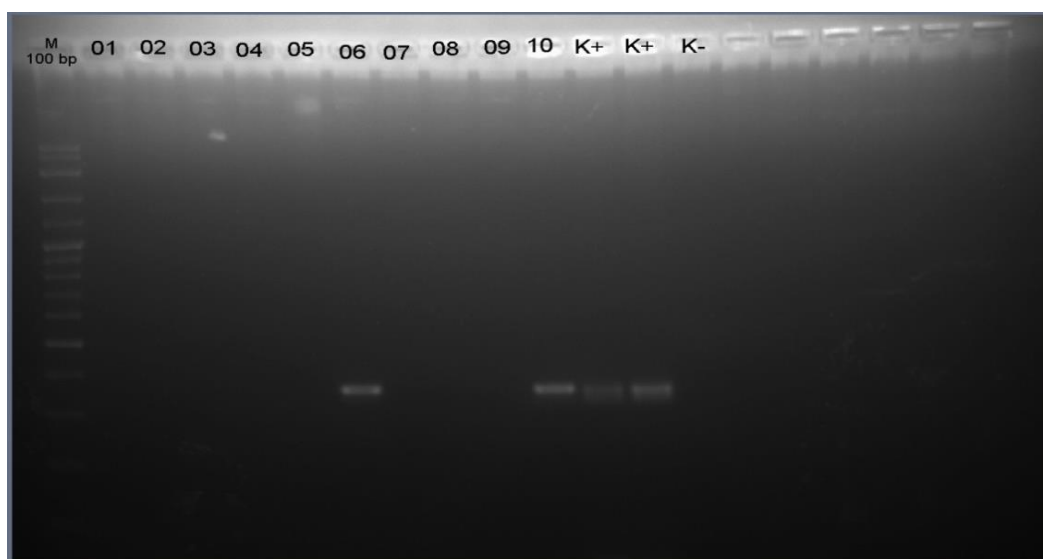
Gambar 2. Sampel positif 05



Gambar 3. Sampel positif 06



Gambar 4. Sampel positif 09



Gambar 7 Hasil visualisasi pada gel doc

Berdasarkan Gambar 7. hasil positif untuk keberadaan *Trichomonas vaginalis* berada pada kode sampel no urut 2, 5, 6, 9 dan 10, sedangkan pada metode PCR hanya 2 dari 10 sampel (20%) menunjukkan hasil positif untuk keberadaan *Trichomonas vaginalis* pada kode sampel no urut 6 dan 10.

Tabel 3. Hasil uji korelasi Chi-Square didapatkan nilai p 0,114

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2.500 ^a	1	.114		
Continuity Correction ^b	.625	1	.429		
Likelihood Ratio	3.278	1	.070		
Fisher's Exact Test				.444	.222
Linear-by-Linear Association	2.250	1	.134		
N of Valid Cases	10				

a. 4 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.00.

b. Computed only for a 2x2 table

Hasil uji korelasi Chi Square pada Tabel 3. Didapatkan nilai p(0,114) atau p > 0,05.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan untuk melihat korelasi hasil antara metode mikroskopik dan metode PCR dalam mendeteksi *Trichomonas vaginalis*. Pada Tabel 1. diatas terlihat dari karakteristik 10 orang PSK yang mengisi kuesioner didapatkan

distribusi kelompok usia pekerja seks komersial terbanyak adalah 20-29 tahun sebanyak 9 orang (90%). PSK di cafe pelataran pariwisata pantai Bira Bulukumba masih berusia produktif, usia <30 tahun, usia seperti ini merupakan usia produktif sehingga masih aktif dalam aktivitas fisik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh bahwa usia produktif merupakan kelompok rentan terhadap *Trichomonas vaginalis* hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Moeri *et al.*, 2018 yang menyebutkan bahwa infeksi Trikomoniasis menyerang wanita aktif secara seksual di rentang usia 25-44 tahun.

Pekerja seks komersial yang berada di cafe pelataran pariwisata pantai Bira belum terlalu lama bekerja sebagai pekerja seks komersial yakni Pada tabel 1. di atas dapat dilihat Karakteristik subjek PSK berdasarkan lama menjadi PSK yaitu <1-6 bulan. dari hasil penelitian PSK yang bekerja <1-6 bulan dan mengalami Trikomoniasis yakni sebanyak 4 orang (40%), 7-12 bulan 1 orang (10%) dan 1-3 tahun 5 orang (50%), menurut penelitian yang dilakukan oleh Khairiyah *et al.*, 2013 menyebutkan bahwa lama bekerja sebagai pekerja seks komersial merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap Trikomoniasis karena semakin lama masa kerjanya, makin besar pula kemungkinan pekerja seks tersebut tertular infeksi menular seksual.

Pekerja seks komersial yang berada di cafe pelataran pariwisata pantai Bira memiliki jumlah pelanggan yang tidak terlalu banyak tiap harinya yaitu 1 pelanggan per hari sebanyak 8 orang (80%). Tetapi, selain melakukan hubungan seksual dengan pelanggannya, PSK tersebut juga sering melakukan hubungan seksual dengan kekasih (pacar). Terdapat dua orang PSK yang masih menerima pelanggan 2 orang per hari (20%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan khairiyah *et al.*, 2013 yang menyatakan bahwa jumlah pelanggan juga berpengaruh kepada penularan infeksi menular seksual sebab berganti ganti pasangan tiap harinya merupakan faktor risiko penularan infeksi tersebut.

PSK yang pelanggannya menggunakan kondom atau pengaman saat berhubungan seksual sebanyak 1 orang (10%), tidak menggunakan pengaman sebanyak 2 (20%) dan kadang-kadang sebesar 7 orang (70%) mayoritas PSK yang ada di cafe pelataran pariwisata pantai Bira Bulukumba belum terlalu paham akan pentingnya penggunaan kondom atau pengaman, selain itu tuntutan dari masing-masing pelanggan PSK yang kadang-kadang tidak ingin memakai pengaman. Menurut

penelitian yang dilakukan oleh Simbolon & Budiarti (2020) menyebutkan bahwa variabel penggunaan kondom tidak berpengaruh signifikan terhadap kejadian IMS, hal ini dapat terjadi karena penggunaan kondom yang tidak benar.

Tabel 1. diatas menunjukkan bahwa frekuensi karakteristik subjek berdasarkan rasa gatal dan panas yaitu sebesar 1 orang (10%), hasil pemeriksaan metode mikroskopik dan PCR terhadap responden tersebut menunjukkan hasil yang positif terinfeksi Trikomoniasis dan tidak mengalami rasa gatal dan panas 9 orang (90%). Menurut Widarti *et al.*, 2024 menyebutkan bahwa rasa gatal dan panas di sekitar alatewanitaan merupakan gejala Trikomoniasis.

Pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa frekuensi hasil tes mikroskopis yang memiliki hasil positif 5 orang (50%) sedangkan hasil PCR 2 orang (20%). Frekuensi hasil tes mikroskopik dan PCR yang memiliki hasil negatif sebanyak 5 orang (50%) untuk Mikroskopik dan 8 orang (80%) untuk PCR.

Dari hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan signifikan antara hasil pemeriksaan mikroskopik dan uji PCR. Hanya 2 sampel (kode 6 dan 10) yang positif pada kedua metode tersebut. Berdasarkan data kuesioner, sampel 6 baru bekerja selama 2 hari tetapi tidak pernah menggunakan kondom saat berhubungan seksual, pernah mengalami perdarahan saat melakukan hubungan seksual, mengalami rasa gatal dan rasa terbakar di area vagina. Demikian halnya dengan sampel positif kode 10, PSK ini sudah bekerja selama 3 tahun, kadang-kadang menggunakan kondom/pengaman, berdasarkan data yang diperoleh saat wawancara PSK ini mengalami warna keputihan berwarna bening sampai putih susu tetapi dalam jumlah yang banyak per hari. Menurut Marhaeni (2016), Keputihan yang tidak normal ditandai dengan jumlah yang keluar banyak, berwarna putih seperti susu basi, kuning atau kehijauan disertai bau busuk.

Uji korelasi antara dua metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh dari uji mikroskopik konsisten dengan hasil PCR. Menurut (Piperaki *et al.*, 2017) PCR adalah metode yang paling sensitif (100%) dalam mendeteksi *T.vaginalis* disusul oleh kultur (69,9%), sediaan mikroskopik (69,9%) dan aglutinasi lateks (54,6%).

Hasil uji korelasi Chi Square pada Tabel 3. didapatkan hasil nilai $p=0,114$ ($p>0,05$) yang artinya tidak ada hubungan (korelasi) yang signifikan terhadap metode Mikroskopik dan PCR. Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian

yang dilakukan oleh Saleh *et al.*, 2014 mengenai diagnosis *Trichomonas vaginalis* dengan berbagai metode, didapatkan hasil dari 297 wanita yang diteliti, 252 (84,4%) positif metode mikroskopik dan 253 (85,2%) positif metode PCR sehingga terdapat korelasi yang signifikan antara metode mikroskopik dan PCR.

Menggunakan kedua metode yang berbeda dapat meningkatkan akurasi dan sensitivitas diagnostik. Namun, jika ada perbedaan hasil, terdapat berbagai faktor yang menyebabkan perbedaan tersebut. Demikian halnya pada penelitian ini, terdapat perbedaan yang signifikan pada metode mikroskopik dan PCR. Hal ini dapat terjadi karena terdapat perbedaan sensitivitas dan spesifisitas yaitu PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan mikroskopik.

Metode mikroskopik dapat menunjukkan hasil positif atau negatif palsu karena keterbatasan visualisasi atau kualitas sampel, hasil positif pada mikroskopik bisa jadi disebabkan oleh mikroorganisme atau artefak lain yang terlihat serupa. Pemeriksaan mikroskopik sangat bergantung pada keterampilan teknis dan pengalaman dari orang yang melakukan pemeriksaan. Variasi dalam teknik interpretasi bisa menyebabkan ketidakkonsistenan dalam hasil yang diperoleh. Kemudian ukuran sampel yang kecil bisa mempengaruhi kekuatan statistik dari uji korelasi, semakin kecil ukuran sampel, semakin sulit untuk mendeteksi hubungan yang signifikan secara statistik (Saleh *et al.*, 2016).

Hasil negatif pada PCR bisa terjadi jika terdapat inhibitor dalam sampel urin yang menghambat reaksi PCR, meskipun ini jarang terjadi dibandingkan dengan kesalahan dalam pemeriksaan mikroskopik (Yoshua *et al.*, 2020). Hal lain yang dapat memungkinkan terjadinya negatif palsu pada PCR adalah kesalahan dalam pemipetan seperti volume yang tidak tepat menyebabkan jumlah template DNA tidak memadai untuk diamplifikasi. Kehilangan sebagian dari volume sampel saat pemipetan dapat menyebabkan DNA yang diinput kedalam reaksi PCR menjadi tidak cukup (Persing *et al.*, 2016). Degradasi sampel sebelum dianalisis juga dapat menyebabkan perbedaan hasil. Jika sampel tidak disimpan dengan benar DNA akan terdegradasi, sehingga sulit terdeteksi oleh PCR (Kiramai, 2016).

Menurut Hoots *et al.* (2020), meskipun uji PCR lebih sensitif dalam mendeteksi DNA parasit, namun jika jumlah DNA yang ada sangat sedikit (konsentrasi DNA yang rendah) atau bahkan DNA yang terdegradasi maka hasil PCR bisa saja memberikan hasil negatif meskipun mikroskopik menunjukkan adanya parasit.

Nilai p sebesar 0,114 menunjukkan bahwa tidak ada korelasi yang signifikan antara hasil pemeriksaan mikroskopik dan PCR. Ini menegaskan bahwa kedua metode memiliki kelebihan dan kelemahan masing-masing.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Pada metode mikroskopik terdapat 5 dari 10 sampel (50%) positif *Trichomonas vaginalis* sedangkan pada metode PCR terdapat 2 dari 10 sampel (20%) positif *Trichomonas vaginalis* pada metode PCR.
2. Metode mikroskopik tidak berkorelasi secara signifikan dengan uji PCR yaitu didapatkan nilai $p(0,114)$ atau nilai $p > 0,05$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang berpartisipasi dalam penelitian ini khusus dari berbagai pihak antara lain ;

1. Pihak kampus Universitas Megarezky mulai dari Rektor beserta jajarannya, Fakultas Teknologi Kesehatan beserta jajarannya, khususnya pihak Program Studi sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis yang memberikan dorongan dan sumbangsi yang besar dalam melaksanakan penelitian ini.
2. Khususnya pihak yang membantu dalam melakukan pengambilan sampel yang berlokasi tempat penelitian.
3. Tim Dosen dan Mahasiswa yang memberikan sumbangsi besar baik motivasi dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Afni, N., Ka,bah., & Nurqomaria. (2023). *Deteksi Trichomonas vaginalis Dari Sampel Urin Pekerja Seks Komersial (PSK) Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)*. 2(1), 48-55.
- Agustin & Damayanti . (2023). Faktor Risiko Infeksi Menular Seksual : Literature Review. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (MPPKI)*, 6(2), 207-213. <https://doi.org/10.56338/mppki.v6i2.2909>

- Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan. (2023). Laporan Kasus Penyakit Menular Seksual di Sulawesi Selatan Tahun 2023. Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan
- Hoots, B. E., O'Connell, K., & Khoshnood, K. (2020). Trichomonas vaginalis: An overview of the infection and the impact of emerging diagnostic testing. *Clinical Infectious Diseases*, 71(6), 1563-1568. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa111>
- Kiranmai, & Neelima, A. (2016). Evaluation of PCR in the Molecular diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection in Comparison with Other Conventional Methods. *International Journal of Microbiology and Mycology*, 4(1), 1-8
- Moeri, Y.E, Suling, P.L, Pandaleke, H. E. J. (2011). PROFIL TUBUH DAN VAGINA DI POLIKLINIK KULIT DAN KELAMIN RSUP Dr.r.d.. Kandou Manado. *Samm Ratulangi Manado*. 1(1), 670.
- Persing, & David, H. (2016). *Molecular Microbiology Diagnostic Principles and Practice*, 8 (3), 21-24
- Piperaki ET, Theodora M, Mendris M, Barbitsa L, Pitiriga V., & Antsaklis (2017). Prevalence Of Trichomonas vaginalis Infection in Women Attending in Mayor Gynaecological Hospital in Greece a cross sectional Study. *J Clin Pathol*, 63, 249-253.
- Saleh, M., Abdullah, H. S., B, A., Babieker, S. M., Gasim, & Ishag. (2016). *Diagnosis of Trichomonous vaginalis by Microscopy, Latex Agglutination Diamond's media, and PCR in Symptomatic Women, Khartoum sudan*. 6(9), 49.
- Simbolon, W. M., & Budiarti, W. (2020). Kejadian Infeksi Menular Seksual pada Wanita Kawin di Indonesia dan Variabel-variabel yang Memengaruhinya. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 7(2), 81
- Widarti, Hadijah, S., Djasang, S., Rahman, Kerek, Y., & Armah, Z. (2024). IDENTIFIKASI Trichomonas vaginalis PADA URINE IBU HAMIL DI PUSKESMAS MAMAJANG KOTA MAKASSAR. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 15(1), 80-85.
- World Health Organization, (2023, october 16). Trichomoniasis. World Health Organization.

EFEKTIVITAS HIDROGEL DENGAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle*) DAN LEGUNDI (*Vitex trifolia*) SEBAGAI ALTERNATIF TATALAKSANA LUKA PADA TIKUS PUTIH

Ida Bagus Oka Suyasa^{1*} · Ni Made Deliabudi Apriliapatni² · Ida Ayu Candra Sawitri³

^{1,2,3} Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
e-Mail. nugusoka@yahoo.co.id
No Tlp WA : 089516673921

Abstract

Infection in a wound is the entry and development of microorganisms into the wound that cause an immune response in the sufferer. Wound management generally uses povidone iodine 10%. But it can cause irritation to wounds. The combination of betel leaf ethanol extract and legundi leaf contains flavonoids, tannins, phenols, and quinones. This study is an experimental study with a posttest-control design. The experimental used 15 rats divided into 5 groups, with K1 as negative control, K2 as positive control, and K3 - K5 as test group. The treatment is given 2 times a day for 5 days. On the 5th day, the length of the cut wound was measured on all rats. It was found that group 2 had the smallest average cut length of 10.13 mm, followed by 5% hydrogel treatment with 10.41 mm, hydrogel treatment 4% with 11.74 mm, hydrogel 3% with 12.30 mm, and negative control with 14.19 mm. The results of statistical analysis One Way ANOVA were obtained sig. 0.00 ($p < 0.05$) showed that there was a significant difference in the length of the cut wound between the groups with the best variation, namely hydrogel containing 5% extract combination.

Keywords : Wound, Legundi Leaf, Betel Leaf, Hydrogel

Abstrak

Infeksi pada luka merupakan masuk dan berkembangnya mikroorganisme ke dalam luka yang menimbulkan respons imun pada penderitanya. Tatalaksana luka pada umumnya menggunakan povidone iodine 10%. Bahan tersebut sangat efektif mematikan mikroba, namun dapat menimbulkan iritasi pada luka. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi mengandung flavonoid dan tannin yang memiliki potensi mempercepat penyembuhan luka. Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan *posttest-control design*. Hewan coba berupa tikus putih jantan sebanyak 15 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok uji, dengan K1 merupakan kelompok kontrol negatif, K2 merupakan kontrol positif, dan K3 - K5 sebagai kelompok uji. Seluruh tikus dibuat luka sayat sepanjang 15 mm untuk menjalani berbagai perlakuan. Perlakuan diberikan 2 kali sehari selama 5 hari. Pada hari ke-5 dilakukan pengukuran panjang luka sayat pada seluruh tikus. Didapatkan bahwa kelompok 2 yaitu perlakuan povidon iodine 10% memiliki rerata panjang luka sayat terkecil yaitu 10,13 mm, diikuti dengan perlakuan hidrogel 5% dengan rerata 10,41 mm, hidrogel 4% dengan rerata 11,74 mm, hidrogel 3% dengan rerata 12,30 mm, dan kontrol negatif dengan rerata 14,19 mm. Hasil analisis statistika dengan metode *One Way ANOVA* didapatkan sig. 0.00 ($p < 0.05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada panjang luka sayat antar kelompok dengan variasi terbaik yaitu hidrogel yang mengandung 5% kombinasi ekstrak.

Kata Kunci: Luka, Daun Legundi, Daun Sirih, Hidrogel

PENDAHULUAN

Kulit merupakan bagian terluar yang melapisi tubuh manusia sehingga rentan akan terjadinya infeksi. Sebagai organ terbesar pada tubuh manusia, kulit memiliki menjadi tempat hidup bagi berbagai mikroorganisme, baik termasuk flora normal

maupun patogen. Kulit yang mengalami masalah akan lebih mudah mengalami infeksi dan dapat menimbulkan komplikasi yang serius, salah satunya saat terjadi luka (Malone & Schultz, 2022). Menurut The International Wound Infection Institute (2016), infeksi pada luka merupakan masuk dan berkembangnya mikroorganisme ke dalam luka yang menimbulkan respons imun pada penderitanya. Ketika mikroorganisme berkembang biak, akan terjadi kerusakan jaringan di dalam dasar luka dan menghambat penyembuhan. Jika infeksi lokal ini tidak dikenali dan ditangani, maka infeksi dapat menyebar dan menimbulkan reaksi imun berupa infeksi sistemik (Rutter, 2018). Oleh karena itu, diperlukan proses tatalaksana yang cepat dan tepat pada kejadian luka agar tidak meningkatkan risiko infeksi.

Tatalaksana luka pada umumnya menggunakan bahan dengan kandungan antimikroba dan antiradang, salah satunya *povidone iodine 10%*. Bahan tersebut sangat efektif mematikan mikroba, namun dapat menimbulkan iritasi pada luka. Selain itu, zat-zat yang terkandung dalam bahan antiseptik akan dianggap benda asing oleh tubuh karena komponen dan susunannya berbeda dengan sel-sel tubuh. *povidone iodine* juga bersifat iritatif dan lebih toksik bila masuk ke pembuluh darah. Penggunaan *povidone iodine* dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi kulit. Selain itu *povidone iodine* dalam penggunaan yang berlebihan dapat menghambat granulasi luka (Nurdiantini et al., 2017). Proses penyembuhan luka secara umum terdiri dari fase hemostasis dan inflamasi, fase proliferasi atau fibroplasia, dan fase remodelling atau maturase. Pada fase hemostasis tentu diperlukan kandungan-kandungan yang dapat mempercepat pembekuan darah serta diperlukan kandungan yang berperan sebagai antibakteri. Kandungan tersebut seperti tannin, dan flavonoid.

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki keanekaragaman tanaman berkhasiat obat. Daun sirih atau *Piper betle L* mengandung fenol, flavonoid, dan tannin. Tanaman legundi atau *Vitex trifolia L*. mengandung, flavonoid, tanin katekol, dan steroid. Senyawa flavonoid mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri (Iqlima et al., 2017). Daun sirih dan legundi merupakan kombinasi yang memiliki efek sinergis. Dalam penelitian ini daun sirih dan legundi akan diekstraksi dan diaplikasikan dalam bentuk gel. Secara luas sediaan gel banyak digunakan pada produk obat-obatan, kosmetik, dan juga makanan pada beberapa

proses industri. Keuntungan sediaan gel karena mempunyai stabilitas besar, praktis untuk digunakan, mampu melindungi kelembapan kulit lebih lama di antara jaringan cedera dibanding dengan bentuk sediaan lain, memiliki efek yang mendinginkan, untuk kulit mengurangi iritasi, serta dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Buana Januarti et al., 2023). Berdasarkan penjelasan tersebut dilakukan penelitian untuk memperoleh formulasi efektivitas hidrogel dengan kombinasi ekstrak daun sirih dan legundi untuk penyembuhan luka.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium, *magnetic stirrer*, blender (STATMESIN ks 10000), evaporator (Rotavapor BUCHI R.300), batang pengaduk, *scalpel*, spuit, pisau cukur, dan *cotton bud*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirih, daun legundi, etanol 96%, akuades, povidone iodine 10%, PVP, dan gliserin.

Populasi dan Sampel

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan *posttest-kontrol design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2023 di Kota Denpasar.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak

Cuci bersih daun sirih dan daun legundi dan dikeringkan hingga benar-benar kering. Setelah kering, simplisia dihaluskan dengan blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk halus. Masing-masing 200 gram serbuk daun sirih dan daun legundi kemudian dimaserasi secara terpisah dengan 1500 ml etanol 96% selama enam hari sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya. Pada hari keenam, disaring untuk mendapatkan filtrat yang kemudian dipekatkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak digunakan untuk campuran bahan aktif dalam pembuatan hidrogel (Safthri, dkk., 2020).

Kajian Pustaka

Kandungan fitokimia ekstrak etanol daun sirih dan legundi serta kemampuan aktivitas antibakterinya didapatkan dari hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh peneliti dan telah menjadi publikasi ilmiah.

Pembuatan sediaan gel

Pembuatan hidrogel diawali dengan melarutkan PVP pada pelarut yang sesuai ditambahkan kombinasi ekstrak daun sirih dan legundi dengan variasi konsentrasi 3%, 4%, dan 5% kemudian ditambahkan gliserin 1% sambil terus diaduk kecepatan 300 rpm selama 30 menit. *Aquadest* ditambahkan hingga volume mencapai 20 mL. Selama proses pengadukan suhu dipertahankan pada 40 °C. Sediaan didinginkan dalam cawan petri kemudian dimasukkan pada kemasan pot plastik. (Rahayuningdyah, Lyrawati and Widodo, 2020).

Uji hewan coba

Hewan coba berupa tikus putih jantan sebanyak 15 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok, K1 merupakan kelompok kontrol negatif, K2 merupakan kelompok kontrol positif, dan K3 - K5 sebagai kelompok uji. Seluruh tikus dibuat luka sayat sepanjang 15 mm untuk menjalani berbagai perlakuan. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan mencit dilakukan di tempat Pemeliharaan dan Pembiakan Hewan Percobaan (P2HP) Bio Mice and Rat Jalan Pulau Moyo, Denpasar Selatan. Kelompok 1 merupakan mencit tanpa perlakuan, kelompok 2 mendapat perlakuan povidon iodine 10%, kelompok 3 diberi hidrogel 3%, kelompok 4 diberi hidrogel 4%, dan kelompok 5 diberi hidrogel 5%. Produk dioleskan dengan *cotton bud* 2 kali sehari pada pukul 10 pagi dan 5 sore selama 5 hari. Pada hari ke-5 dilakukan pengukuran panjang luka sayat pada seluruh tikus.

Analisis Data

Tahapan penelitian dilakukan dalam tiga tahapan yaitu tahap persiapan, tahap pelaksanaan, dan tahap analisis data. Data sekunder didapatkan dari kajian pustaka berupa kandungan fitokimia ekstrak etanol daun sirih dan legundi serta aktivitas antimikroba ekstrak. Data primer didapatkan dari hasil penelitian melalui uji hewan coba. Data kualitatif diolah secara manual dan dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan narasi dengan kajian pustaka yang relevan, sedangkan data kuantitatif diolah secara statistik menggunakan uji hubungan satu arah (One Way ANOVA).

HASIL

Kajian Pustaka

Kandungan fitokimia

Tabel 1. Hasil kajian pustaka kandungan Fitokimia Ekstrak

Golongan	Ekstrak etanol daun sirih	Ekstrak etanol daun legundi
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	-	-
Fenol	+	+
Kuinon	-	+

Sumber: (Suyasa et al., 2022)

Pada tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan kandungan fitokimia pada masing-masing ekstrak, sehingga kombinasi ekstrak meningkatkan kandungan fitokimia, yaitu flavonoid, tanin, fenol, dan kuinon.

Uji kemampuan aktivitas antibakteri

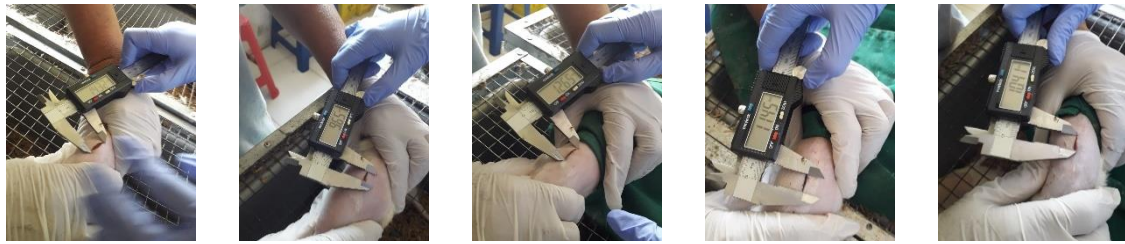
Tabel 2. Hasil kajian pustaka kemampuan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih, ekstrak etanol daun legundi, serta kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

Perlakuan	Kategori aktivitas antibakteri
Kontrol negatif (etanol 96%)	Tidak ada zona hambat
Kontrol positif (Amoksilin)	Sangat kuat
Ekstrak etanol daun sirih	Kuat
Ekstrak etanol daun legundi	Sedang
Kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan legundi	Kuat

Sumber: (Suyasa et al., 2022)

Pada tabel 2 menunjukkan kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi termasuk dalam kategori kuat dalam aktivitas antibakteri, lebih baik dibandingkan hanya ekstrak daun legundi saja tanpa adanya kombinasi.

Uji Hewan Coba



Gambar 1. Pengukuran panjang luka sayat pada tikus setelah 5 hari pemberian perlakuan

Tabel 3. Hasil pengukuran panjang luka sayat pada tikus setelah 5 hari pemberian perlakuan

Kelompok	Panjang Luka (mm)			
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Rata-rata
1	14,32	14,29	13,96	14,19
2	9,65	10,40	10,33	10,13
3	12,51	12,29	12,11	12,30
4	11,79	11,98	11,45	11,74
5	10,59	10,41	10,25	10,41

Sumber: Data primer

Pada tabel 3 menunjukkan panjang luka sayat masing-masing kelompok setelah pemberian perlakuan selama 5 hari. Didapatkan bahwa kelompok 2 yaitu perlakuan povidon iodine 10% memiliki rerata panjang luka sayat terkecil yaitu 10,13 mm, diikuti dengan perlakuan hidrogel 5% dengan rerata 10,41 mm, hidrogel 4% dengan rerata 11,74 mm, dhidrogel 3% dengan rerata 12,30 mm, dan kontrol negatif dengan rerata 14,19 mm.

Analisis Statistika

Tabel 4 Hasil uji normalitas

Tests of Normality			
Kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kelompok 1: tanpa perlakuan	.812	3	.144
Kelompok 2: Pemberian povidon iodine 10%	.819	3	.162
Kelompok 3: Pemberian hidrogel 3% ekstrak	.997	3	.890
Kelompok 4: Pemberian hidrogel 4% ekstrak	.974	3	.691
Kelompok 5: Pemberian hidrogel 5% ekstrak	.999	3	.935

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 5 Hasil uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Panjang luka sayat (mm)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.573	4	10	.255

Tabel 6 Hasil uji One Way ANOVA

ANOVA					
Panjang luka sayat (mm)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.018	4	8.005	113.475	.000
Within Groups	.705	10	.071		
Total	32.724	14			

DISKUSI

Penyembuhan luka merupakan suatu proses perbaikan jaringan kulit atau organ lainnya setelah terjadi luka. Menurut Wintoko and Yadika (2020), terdapat tiga fase penyembuhan luka, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi atau fibroplasia, dan fase remodelling atau maturasi. Selain dengan mekanisme alami dalam tubuh, penyembuhan luka dapat dipercepat dengan pemberian kandungan yang berpotensi dalam penyembuhan luka, salah satunya antioksidan. Tabel 1 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi mengandung flavonoid, tannin, fenol, dan kuninon. Kandungan tersebut merupakan jenis-jenis antioksidan sehingga berpotensi sebagai penyembuh luka, terutama flavonoid dan tannin. Flavonoid mengandung gugus hidroksil yang berperan sebagai antibakteri, antifibrosi, antioksidan, dan anti inflamasi (Carvalho et al., 2021).

Senyawa flavonoid mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri sehingga mencegah komplikasi pada luka. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Selain itu, kandungan flavonoid dan tannin bersifat koagulan sehingga akan mempercepat penghentian pendarahan pada luka dan mencegah kehilangan darah yang terlalu banyak. Senyawa flavonoid dan tanin ini berperan dalam proses pembekuan darah (Andriani et al., 2020). Flavonoid dapat mempercepat peningkatan jumlah trombosit. Sementara itu, tanin dapat menimbulkan efek vasokonstriksi pembuluh darah kapiler. Flavonoid dan tanin dapat mempercepat proses pengendapan protein dalam darah untuk memicu agregasi trombosit sehingga terjadi pembekuan darah yang lebih cepat (Gaib et al., 2019). Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan yang dapat mengurangi tingkat radikal bebas dalam sel serta memiliki kemampuan untuk meningkatkan konsentrasi matriks ekstraseluler melalui penghambatan aktivitas Matriks Metaloproteinase (MMP). MMP merupakan kelompok endopeptidase yang aktivitasnya dalam jumlah besar mampu mendegradasi matriks ekstraseluler. Deposisi matriks ekstraseluler kemudian akan mempercepat waktu penyembuhan luka dengan meningkatkan kekuatan jaringan sekitar luka (Fauziah & Soniya,

2020).

Hidrogel mempunyai sifat dapat menyerap cairan biologis (eksudat) dengan baik dari luka, melembapkan kulit, dan menghindarkan kulit dari paparan luar. Dalam hidrogel mengandung fitokimia yang berperan dalam penyembuhan luka. Ekstrak mengandung tannin dan flavonoid, yang berfungsi sebagai koagulan sehingga akan mempercepat penghentian pendarahan pada luka dan mencegah kehilangan darah yang terlalu banyak. Kombinasi dari kegunaan hidrogel beserta zat aktif di dalamnya dapat membantu dalam tatalaksana luka, baik dijadikan sebagai pertolongan pertama maupun penggunaan jangka panjang dalam penyembuhan luka.

Hasil analisis statistika diawali dengan uji normalitas dan homogenitas didapatkan signifikansi $p > 0.05$ menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen sehingga bisa dilanjutkan dengan uji beda metode *One Way ANOVA*, didapatkan sig. 0.00 ($p < 0.05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada panjang luka sayat antar kelompok. Uji lanjutan dengan metode Tukey menunjukkan bahwa kelompok 1 sebagai kontrol negatif memiliki sig 0.00 dibandingkan kelompok 2, 3, 4, dan 5 menunjukkan pemberian perlakuan efektif mempercepat penyembuhan luka. Sedangkan kelompok 2 sebagai kontrol positif memiliki sig. 0.00 ($p < 0.05$) menandakan perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok perlakuan 3 dan 4, namun memiliki sig. 0.676 ($p > 0.05$) dengan kelompok 5 menunjukkan bahwa variasi hidrogel dengan 5% ekstrak memiliki kemampuan yang tidak berbeda signifikan dengan povidone iodine 10%.

KESIMPULAN

Hidrogel dengan kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun legundi berpotensi sebagai alternatif tatalaksana luka dengan adanya kandungan fitokimia yang bersifat antibakteri serta secara statistika meningkatkan kemampuan penyembuhan luka pada mencit putih dengan variasi terbaik yaitu hidrogel yang mengandung 5% kombinasi ekstrak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada tim peneliti yang telah bekerja keras sehingga penelitian ini bisa berjalan lancar dan sudah berhasil dibuat dalam bentuk artikel serta poster. Semoga hasil penelitian ini berguna bagi dunia kesehatan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini, baik secara finansial, profesional, maupun pribadi yang dapat mempengaruhi hasil dan interpretasi dari penelitian ini.

REFRENSI

- Andriani, L., Perawati, S., Putri, N., & Hartesi, B. (2020). Aktivitas Koagulan Dari Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Secara In Vitro. *Media Farmasi*, 17(1).
- Buana Januarti, I., Kiki Waluyo Wahyu Ningsih, & Aries Badrus Sholeh. (2023). Uji AKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(1), 229-240. <https://doi.org/10.37874/ms.v8i1.574>
- Carvalho, M. T. B., Araújo-Filho, H. G., Barreto, A. S., Quintans-Júnior, L. J., Quintans, J. S. S., & Barreto, R. S. S. (2021). Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153636. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153636>
- Fauziah, M., & Soniya, F. (2020). Potensi Tanaman Zigzag Sebagai Penyembuh Luka. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(1), 39-44. <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP>
- Gaib, L. A., Rahayu, M., Sukeksi, A. (2019). Pengaruh Ekstrak Daun Gedi Kering (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap Waktu Pembekuan Darah secara In Vitro Menggunakan Metode Modifikasi Lee and White *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*, 2. <http://prosiding.unimus.ac.id>
- Iqlima, Erlidawati, & Gani, A. (2017). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Legundi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mencit. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Kimia*, 2(2).
- Malone, M., & Schultz, G. (2022). Challenges in the diagnosis and management of wound infection. *British Journal of Dermatology*, 187(2), 159-166. <https://doi.org/10.1111/bjd.21612>

- Nurdiantini, I., Prastiwi, S., & Nurmaningsari, T. (2017). Perbedaan Efek Penggunaan Povidone Iodine 10% Dengan Minyak Zaitun Terhadap Penyembuhan Luka Robek (Lacerated Wound). *Nursing News*, 2(1).
- Rahayuningdyah, D. wuragil, Lyrawati, D., & Widodo, F. (2020). Pengembangan Formula Hidrogel Balutan Luka Menggunakan Kombinasi Polimer Galaktomanan dan PVP. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 117-122. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.8>
- Rutter, L. (2018). Identifying and managing wound infection in the community. *British Journal of Community Nursing*, 23(Sup3), S6-S14. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2018.23.Sup3.S6>
- Safithri, M., Indariani, S., & Septiyani, D. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Total Fenolik Minuman Fungsional Nanoenkapsulasi Berbasis Ekstrak Sirih Merah. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 7(1), 69-83. <https://doi.org/10.21776/ub.ijhn.2020.007.01.7>
- Suyasa, I. B. O., Bekti, H. S., Rinawati, N. L. P., Laksmi, L. P., Wahyuni, P. D., Agustini, D. G. D., & Rakhmawati, A. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Muhammadiyah Laboratoru Technologist*, 1(5).
- Wintoko, R., & Yadika, A. D. N. (2020). Manajemen Terkini Perawatan Luka. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 4(2).
-

PENGARUH REBUSAN BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Liah Kodariah^{1*} · Ahmad Mulyadi² · Irfan Abdullah R³ · Purwaeni⁴

¹ Program Studi DIII Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa Barat, Indonesia

^{2,3} Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa Barat, Indonesia

⁴ Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : liahkdrh@gmail.com

Telp : 083869865452

Abstract

Background: Hyperglycemia is a condition of insulin deficiency and increased blood glucose above 200 mg/dl can triggers oxidative stress in body. It conditions will decrease in liver sensitivity to insulin. Insulin resistance reduces the action of insulin in metabolizing glucose and fat in the liver and causing chronic liver disease. Natural ingredients such as bitter melon can be used as an alternative treatment for DM because flavonoid compounds that are hepatoprotective. **Purpose:** The aim of this study was to determine the effect of boiled bitter melon on the liver histology of mice (*Mus musculus*) induced by alloxan. **Method:** This study used an experimental method with non-probability sampling technique. Samples of 24 male mice were divided into 6 groups, (negative group (without treatment), positive group (alloxan), comparison group (alloxan + glibenclamide), alloxan+fruit decoction bitter melon dose I, dose II, dose III each 360g, 560g, 760g). **Result:** The Result there is an effect of bitter melon dosages on mouse liver histology ($p=0.001$). The greater the dose of bitter melon decoction showed less liver cell damage in the form of hydropic degeneration. **Conclusion:** The conclusion of the study was that bitter melon decoction had an effect on the liver histology of alloxan-induced mice.

Keywords: Alloxan, Bitter melon, Diabetes, Liver.

Abstrak

Latar Belakang: Hiperglikemia merupakan kondisi kekurangan insulin serta meningkatnya glukosa darah diatas 200 mg/dl. Hiperglikemia pada DM memicu terjadinya stress oksidatif dikarenakan pembentukan radikal bebas. Kondisi stress oksidatif yang diinduksi hiperglikemia menyebabkan penurunan sensitivitas hati terhadap insulin. Resistansi pada insulin menurunkan kerja insulin dalam memetabolisme glukosa dan lemak pada hati kemudian menyebabkan penyakit hati kronik. Penggunaan bahan alami seperti buah pare dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan untuk DM karena memiliki senyawa flavonoid yang bersifat hepatoprotektif. **Tujuan:** Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh rebusan buah pare (*Momordica charantia*) terhadap histologi hati mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan teknik *non probability sampling*. Sampel mencit (*Mus musculus*) jantan sebanyak 24 ekor terbagi dalam 6 kelompok, yaitu kelompok negatif (tanpa perlakuan), kelompok positif (aloksan), kelompok pembanding (aloksan + glibenklamid), dosis I, dosis II, dosis III (aloksan + rebusan buah pare) masing-masing 360 gr, 560 gr, 760 gr. **Hasil Penelitian:** Hasil penelitian terdapat pengaruh pemberian dosis buah pare terhadap histologi hati mencit ($p=0.001$) semakin tinggi kadar dosis air rebusan buah pare yang di berikan maka semakin rendah kerusakan sel hati berupa degenerasi hidropik. **Kesimpulan:** Simpulan penelitian adalah rebusan buah pare berpengaruh terhadap histologi hati mencit yang diinduksi aloksan.

Kata Kunci: Aloksan, Buah Pare, Diabetes, Hati.

PENDAHULUAN

Sudah banyak persoalan dimulai dari global maupun di Indonesia sendiri akibat dari kebiasaan hidup dan sosial serta ekonomi dampak migrasi dan modernisasi, sehingga meningkatkan faktor penyakit degeneratif. Diabetes melitus dianggap sebagai salah satu penyebab kasus kematian di Indonesia, kasus ini menempatkan posisi ke-7 dengan kejadian pengidap diabetes terbesar didunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat, Brazil, Rusia dan Mexico. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menaksir kenaikan populasi pengidap diabetes di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta pada tahun 2030 (Tiurma & Syahrizal, 2021).

DM ialah suatu kondisi gangguan yang menyerang pada metabolisme dengan keadaan glukosa darah melampaui batas normal. Penyakit ini juga disebabkan oleh penurunan sekresi dan sensitivitas pada insulin. (Petersen & Shulman, 2018) melaporkan resistansi pada insulin berdampak besar dalam peningkatan serta lepasnya gula menuju hati kemudian meneruskan pengambilan (*uptake*) gula ke dalam jaringan *adipose*. Diabetes melitus juga menyebabkan masalah kronis dengan meningkatnya mikrovaskular dan makrovaskular sehingga kondisi seperti ini akan menimbulkan terjadinya hiperglikemia dan kegagalan pembentukan glikogen (Risidiana, 2016).

Hiperglikemia adalah suatu kondisi di mana tubuh kekurangan insulin dan memiliki gula darah yang lebih tinggi (200 mg/dL). Hiperglikemia seorang pasien DM menyebabkan stres oksidatif melalui terciptanya radikal bebas. Radikal bebas ini menghancurkan membran sel dengan membentuk malondialdehid (MDA) yang jika terus terjadi dapat merusak sistem membran sel bahkan menyebabkan kematian sel (Risidiana, 2016).

Keadaan stres oksidatif yang diinduksi oleh hiperglikemia DM dapat dihubungkan meningkatnya apoptosis sel endotel *in vitro* dan *in vivo*. Studi yang dilakukan oleh para ahli menunjukkan bahwa kondisi ini meningkatkan proses pembentukan radikal bebas dan menurunkan kapasitas antioksidan. Dalam kondisi hiperglikemik, proses ROS yang merusak jaringan dirangsang oleh empat aksi molekuler utama: aktivasi protein kinase C (PKC), peningkatan regulasi jalur heksosamin, peningkatan regulasi produk akhir glikosilasi lanjutan (AGEs), dan meningkatnya regulasi jalur poliol (Prawitasari, 2019).

Hati merupakan organ utama yang berperan sebagai pertahanan terhadap

invasi bakteri dan racun serta berperan dalam fungsi metabolisme dan ekskresi tubuh. Hati juga membantu mengontrol gula darah, dan glukosa dari makanan diserap di usus dan selanjutnya dikirim ke hati melalui vena portal. Beberapa glikogen yang diserap dipecah di hati untuk membentuk glukosa (Ellingwood & Cheng, 2018).

Sel hepatosit ialah sel yang terletak pada bagian hati yang mudah bergenerasi dengan cara pembelahan untuk menggantikan sel yang telah rusak. Hepatosit berperan aktif dalam mensintesis protein serta lipid untuk disekresi, kerusakan pada sel hepatosit ditandai adanya pembekakan sel dan atrofik hepatosit akibat dari mitosis yang terhambat. Transfortasi dari perubahan struktur sel akibat dari pembengkakan sel disebut dengan perubahan degeneratif (Wahyuningtyas et al., 2018)

Penurunan sensitivitas jaringan hati terhadap insulin merupakan penyebab utama terjadinya *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). Resistansi insulin tersebut dapat menurunkan kinerja dari insulin dalam memetabolisme glukosa dan lemak pada hati yang kemudian akan menyebabkan terjadinya penyakit hati kronik. Prevelensi terjadinya NAFLD pada penderita DM tipe 2 dapat mencapai 69,4%. Perlemakan pada hati memicu terjadinya inflamasi hepatik, nekrosis dan berlanjut pada kerusakan hati. Prevalensi terjadinya penyakit hati kronik pada penderita diabetes yaitu 25% dan untuk penyakit hati akut dapat mencapai 40% (Ayonrinde, 2021).

Pada pasien diabetes, gangguan metabolisme lemak menyebabkan kerusakan sel hati. Patogenesis penyakit hepatoseluler disebabkan oleh intensitas insulin yang disebabkan oleh lipolisis. Lipolisis menaikkan sirkulasi asam lemak bebas, yang kemudian diserap oleh hati. Asam lemak yang ditemukan di hati membentuk radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lemak. Lemak di hati pasien diabetes juga disimpan di hati sebagai glikogen dan diproses menjadi lemak karena ketosis yang diinduksi insulin, di mana gula diangkut ke sel dan karbohidrat dimetabolisme. Kerusakan hati akibat radikal bebas pada penderita diabetes dapat dikendalikan dengan senyawa yang mengandung antioksidan (Mohamed et al., 2016).

Pare (*Momordica charantia*) ialah tanaman merambat yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat karena bernilai ekonomis yang tinggi. Pare memiliki efek menurunkan gula darah dengan menghambat produksi glukosa pada

hati, menjaga sel pankreas, mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan mengurangi stres oksidatif, sehingga dapat menurunkan kadar gula (Puspitasari & Choerunisa, 2021).

Pare muda mempunyai kandungan saponin, flavonoid dan polifenol (antioksidan kuat) dan glikosida cucurbitacin, momordicin dan karantin. Kandungan pare membantu mengurangi gula darah, komponen mirip *xantin* dan *sulfonilurea*, *polipeptida-P* (polipeptida mirip insulin) (obat antidiabetes tertua dan paling banyak digunakan). Manfaat lain dari creatine selain meningkatkan produksi glikogen, gula yang disimpan di hati, dapat merangsang sel beta pankreas dalam tubuh sehingga mampu memproduksi lebih banyak insulin. Selain itu, efek penurunan gula darah dari pare mirip dengan insulin, dan polipeptida-P dapat secara langsung menurunkan kadar gula darah (Puspitasari & Choerunisa, 2021).

Melatarai latar belakang di atas, tujuan pada penelitian ini ialah untuk mengetahui apakah konsumsi pare (*Momordica charantia*) mempengaruhi histologi hati pasien diabetes. Berdasarkan hal itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan topik “Pengaruh Rebusan Buah Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Histologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan”.

BAHAN DAN METODE

Pada penelitian ini digunakan sebanyak 24 ekor mencit jantan galur swiss (*Mus musculus*) berumur 4-8 minggu dengan berat 20-30 gram yang di adaptasi selama 1 minggu.

Alat yang digunakan Alat Tulis, Batang Pengaduk, Beaker glass, Corong, *Cover Glass*, Gelas Arloji, *Hotplate*, Kandang Mencit, *Erlenmeyer*, Labu Ukur, *Magnetic Stirrer*, Miropipet, Mikroskop, Objek Glass, Oven, Paraffin Dispenser, Pinset, *Rotatory microtome*, Silet, *Spuir 1cc*, Sonde, *Stopwatch*, Talenan, Tip (biru dan kuning), Timbangan Analitik, dan *Waterbath*. Bahan yang digunakan adalah Air Rebusan buah Pare, Aloksan Monohidrat Aldrich, Glibenklamid 5 mg, Alkohol 70%, Alkohol 80 %, Alkohol 90%, Alkohol 100%, Akuades, Etanol 20%, Formalin 10%, Na.CMC 1%, NaCl Fisiologis 0,9%, Pakan AD2, Parafin, Xylol dan bahan pewarna *Hematoxillin-Eosin* (HE).

Metode pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *non-probability sampling* dengan menggunakan *sequential sampling* dan Jumlah hewan coba yang digunakan dalam setiap kelompok dihitung menggunakan rumus Federer

t-1 (n-1) = 15 sehingga diperoleh jumlah mencit dalam setiap kelompok berdasarkan hal tersebut adalah 4 ekor mencit.

Sebanyak 24 ekor mencit Swiss Webster berumur 4-8 minggu diadaptasikan selama 1 minggu yang di bagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu :

1. KN = Kelompok kontrol negatif yakni hanya diberi makan dan minum
2. KF = Kelompok kontrol positif yakni diinduksi aloksan 130 mg/20 gram BB dengan pelarut NaCl 0,9% (1 mL/20 gram BB) tanpa terapi
3. KP = Kelompok Kontrol pembandingan yakni diinduksi aloksan 130 mg/20 gram BB dengan pelarut NaCl 0,9% (1 mL/20 gram BB) dan pemberian terapi glibenklamid 0,013 mg/20 gram BB dengan pelarut Na-CMC 1%.
4. P1 = Kelompok perlakuan dengan dosis I yakni mencit putih jantan (*Mus Musculus*) galur swiss yang diinduksi aloksan dan diberi air rebusan buah pare 360 gram/20 gram BB/0,52 mL.
5. P2 = Kelompok *Musculus* perlakuan dengan dosis II yakni mencit putih jantan (*Mus*) galur swiss yang diinduksi aloksan dan diberi air rebusan buah pare 560 gram/20 gram BB/0,52 mL.
6. P3 = Kelompok perlakuan dengan dosis III yakni mencit putih jantan (*Mus Musculus*) galur swiss webster yang diinduksi aloksan dan diberi air rebusan buah pere 760 gram/20 gram BB/0,52 mL.

Preparasi sampel Buah Pare (*Momordica charantia*) yang sudah dicuci bersih menggunakan air kemudian dipotong kecil-kecil dan dipersiapkan untuk masing-masing konsentrasi. Setelah itu persiapkan pemanas untuk merebus buah pare, masukkan air sebanyak 400 mL selanjutnya masukkan buah pare yang sudah dipotong-potong tadi rebus selama $\pm$ 15 menit tunggu sampai air rebusan menyusut sampai 200 mL. Saring rebusan buah pare menggunakan penyaring kemudian tunggu sampai dingin, lalu masukkan air rebusan kedalam botol. Persiapkan rebusan buah pare setiap hari selama perlakuan pemberian dosis.

Selanjutnya setelah mencit dilakukan beberapa perlakuan dan terapi sampel Organ hati diambil dan dimasukan kedalam larutan NBF 10% dengan label untuk di buat preparat histologi. Dilakukan pengamatan makroskopik jaringan hati mencit dan pemotongan jaringan menggunakan pisau tajam dengan ukuran 1,5 x 1 x 0,5 cm lalu dimasukan kedalam kaset dan di fiksasi I ke dalam formalin 10% selama 30 menit dan fiksasi II kedalam Formalin 10% selama 60 menit. Setelah itu dilakukan proses

Dehidrasi kedalam Alkohol 70% selama 30 menit, dan Alkohol 80%, 90%, 100% masing - masing 60 menit. Kemudian dilakukan proses *Clearing* pada larutan Xylol I selama 30 menit, Xylol II dan III selama 60 menit. Pada proses selanjutnya yaitu *Impregnation* pada Parafin I selama 1 jam dan Parafin II selama 12 jam. kaset dimasukan ke dalam oven agar paraffin tetap cair dengan suhu oven 56°C-60°C. Setelah itu masukan sedikit paraffin cair pada alat blok dan letakan jaringan ditengah lalu tambahkan paraffin sampai penuh dan simpan dilemari pendingin agar blok paraffin menjadi padat. Dilakukan *Trimming* dengan ketebalan sangat tipis yaitu 4 - 10 u hingga membentuk pita pita berisi jaringan kemudian hasil potongan dimasukan ke air dingin supaya mudah dipisahkan. Setelah itu proses *Mounting* dengan memasukan pita jaringan ke dalam *Waterbath*/air hangat agar dapat memuai lalu diambil menggunakan objek glass yang telah diberi albumin dan keringkan.

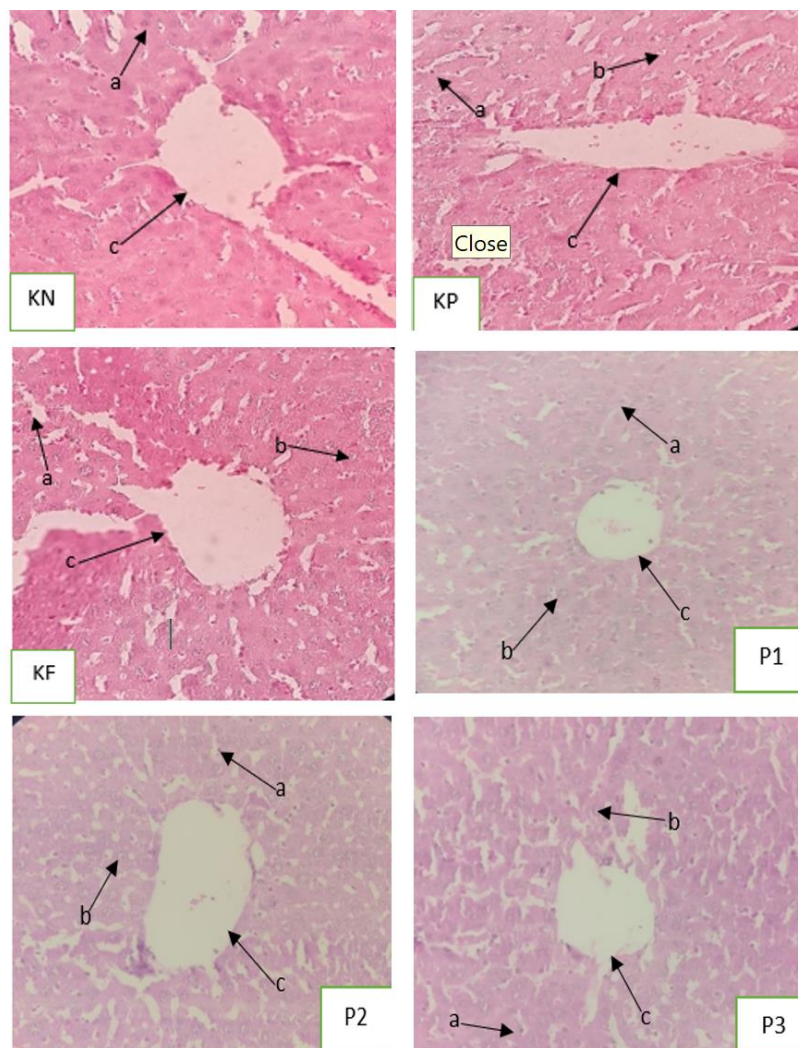
Preparat kemudian dilakukan *Staining* dengan *Harris Hematoxylin Eosin* dengan tahapan sebagai berikut : Objek glass dipanaskan dibawah *hotplate* selama 15-20 menit atau sampai paraffin cair pada suhu 40°C - 60°C. kemudian deparafinasi di dalam Xylol I selama 5 menit dan Xylol II selama 5 menit. Setelah itu Rehidrasi pada Alkohol 100%, 90%, 80%, dan 70% secara berturut masing -masing selama 2 menit. Lalu dimasukan ke dalam akuades selama 1 menit. Preparat jaringan dimasukan ke dalam pewarnaan *hematoxylin* selama 3 - 5 menit. Setelah itu rendam ke dalam air selama 2-5 menit. Celupkan ke dalam larutan *acid alcohol* 0.5% sebanyak 2 celup. Kemudian rendam di air selama 1 menit. Kemudian masukan ke dalam lithium karbonat 0.5% selama 2 menit untuk mempertahankan warna biru. Kemudian masukan ke dalam larutan eosin selama 3 menit. Dan masukan kembali ke dalam air selama 1 menit. Setelah itu masukan kedalam alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, dan 100% masing - masing selama 2 menit. Dan masukan kedalam Xylol I selama 2 menit dan Xylol II selama 2 menit. Terakhir teteskan entelan lalu tutup dengan *cover glass*, tunggu hingga kering kemudian amati dibawah mikroskop.

Kriteria Penilaian derajat Histologi Hati mencit dinilai berdasarkan tingkat perubahan derajat kerusakan metode Mitchel (Gufron, 2001) yaitu normal dengan nilai 0, Vena sentral dengan nilai 1, Degenerasi hidrofik dengan nilai 2 dan Piknotik dengan nilai 3. Hasil data yang telah didapatkan disajikan dalam bentuk gambaran. Kemudian analisis data tersebut secara sistematis. Data tersebut kemudian dianalisis

secara statistik dengan metode deskriptif, berupa keterangan dari peneliti dan beberapa sumber pustaka. Data dari hasil skor histologi hati. Hasil data kemudian diuji secara statistik dalam bentuk persentase dan dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis. Jika hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan uji Mann Whitney ($\alpha = 0,05$) dengan kepercayaan 95%.

HASIL

Hasil Penelitian dari pemberian rebusan buah pare terhadap Histologi Hati mencit yang diinduksi Aloksan dapat dilihat pada Gambar 1. berikut.



Gambar 1. Gambaran Histologi Hati Mencit (*Mus musculus*), **Keterangan :** Kontrol Negatif (KN), Kontrol Pembanding (KP), Kontrol Positif (KF), Dosis I (P1), Dosis II (P2), Dosis III (P3), Sel Hepatosit Normal (a), Degenerasi Hidropik (b), Vena Sentral (c)

Sementara untuk hasil derajat kerusakan dengan pemberian rebusan buah pare pada histologi hati mencit yang di induksi aloksan dapat dilihat pada tabel 1. Berikut.

Tabel 1. Skor Preparat Histologi Hati

Mencit	Kelompok					
	Negatif	Positif	Pembanding	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	0	4	1	2	1	1
2	0	4	1	2	1	1
3	0	4	2	2	2	1
4	0	4	1	2	1	2
Jumlah	0	16	5	8	5	5
Rerata	0	4	1,25	2	1,25	1,25

Derajat Kerusakan Metode Mitchel (Gufron, 2001)

Keterangan :

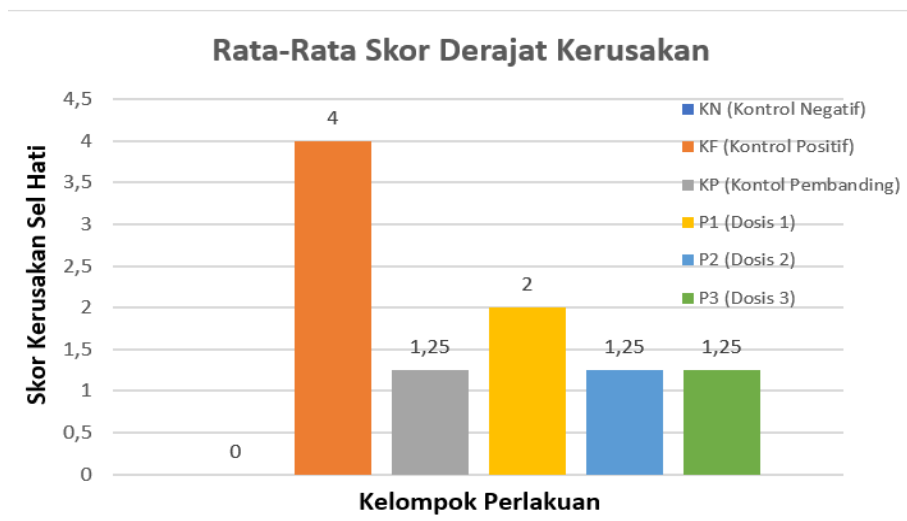
0 : tidak terjadi kerusakan sel hepar

1 : kerusakan sel hepar mencapai 0,1-5%

2 : kerusakan sel hepar mencapai 6-25%

3 : kerusakan sel hepar mencapai 26-50%

4 : kerusakan sel hepar lebih dari 50%



Gambar 2. Rerata Skor Derajat Kerusakan Sel Hati

Dari hasil pengamatan histopatologi pada hati mencit (*Mus musculus*) jantan galur swiss webster dengan mikroskop terdapat kerusakan sel yang mengalami degenerasi hidropik dan ada yang normal. Rata-rata persentase kerusakan sel hati dihitung dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan diagram.

Setelah mendapatkan hasil kadar rata-rata skor derajat kerusakan hati kemudian diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro wilk dan didapatkan hasil seperti yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Data

Kelompok	Nilai P
Kontrol Negatif	0,000
Kontrol Positif	0,000
Kontrol Pembanding	0,001
Dosis I	0,000
Dosis II	0,001
Dosis III	0,001

Dari Tabel 2. dapat dilihat nilai sig dari masing-masing kelompok yang berbeda-beda yaitu kontrol negatif dan kontrol positif 0,000, kontrol pembanding dan dosis III 0,001, sedangkan dosis I 0,000 dan dosis II 0,001. Bisa disimpulkan bahwa semua nilai dari kontrol dan perlakuan ini $p < 0,05$ maka nilai tersebut dikategorikan sebagai nilai tidak terdistribusikan dengan normal. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji kruskal wallis.

Tabel 3. Analisis Uji Mann Whitney Skor Kerusakan Hati Mencit Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	Kelompok	Nilai P
Kontrol Negatif (KN)	KF	0,008
	KP	0,011
	P1	0,008
	P2	0,011
	P3	0,011
Kontrol Positif (KF)	KP	0,011
	P1	0,008
	P2	0,011
	P3	0,011
Kontrol Pembanding (KP)	P1	0,040
	P2	1,000
	P3	1,000
Dosis I (P1)	P2	0,040
	P3	0,040
Dosis II (P2)	P3	1,000

Berdasarkan tabel 3 maka diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang nyata kadar kerusakan hati antar kelompok perlakuan karena nilai $p < 0.05$. Akan tetapi pada kelompok perlakuan kontrol pembanding (KP) dengan dosis III (P3) tidak terdapat perbedaan yang nyata karena nilai $p > 0,05$. Sehingga penelitian ini menunjukkan bahwa mencit yang diberikan air rebusan buah pare (*Momordica charantia*) dan diberikan glibenklamid memiliki pengaruh nyata terhadap kerusakan hati mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. Semakin tinggi kadar dosis air

rebusan buah pare (*Momordica charantia*) yang diberikan maka semakin rendah kerusakan sel hati berupa degenerasi hidropik.

DISKUSI

Biopsi hati dari rebusan pare (*Momordica charantia*) pada mencit diabetes (*Mus musculus*) mengungkapkan infiltrasi sel inflamasi dan degenerasi hidropik. Perubahan struktur histologis hati dipengaruhi oleh jumlah dan jenis senyawa yang masuk ke hati, termasuk pengenalan pare rebus. Hasil statistik mengenai terjadinya degenerasi hepatoseluler menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Hal ini cukup membuktikan bahwa rebusan pare memiliki peran yang baik dalam regenerasi hepatosit akibat pemberian aloksan (Rahayu Ratri et al., 2021).

Sebuah studi tahun 2015 oleh Ni Komang Aprilina Widi Saputri menemukan bahwa mengonsumsi aloksan menyebabkan hiperglikemia dengan mencegah glukosa memasuki sel, yang menyebabkan hiperglikemia. Kondisi ini dapat menyebabkan stres oksidatif di berbagai organ, termasuk hati, jantung, otak, dan otot rangka. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan oksidatif dan, jika terus-menerus, dapat menyebabkan kerusakan sel hati dan kematian.

Berdasarkan hasil pengamatan preparat histologi hati yang sudah dilakukan telah terjadi kerusakan hati dan tidak terjadi kerusakan hati pada kelompok tersebut: Kontrol negatif (KN) tidak terjadi perubahan/kerusakan gambaran hati yang ditandai dengan adanya hepatosit normal, bentuk vena sentralnya sempurna, intinya selnya teratur dan tidak ada degenerasi karena pada saat perlakuan hanya diberi pakan normal dan minum. Kontrol positif (KF) telah terjadi perubahan/kerusakan gambaran hati yang ditandai adanya degenerasi hidropik, intinya menumpuk, tidak ada hepatosit normal dan bentuk vena sentralnya tidak normal karena pada saat perlakuan diberikan aloksan dan tidak diberikan dosis rebusan buah pare. Kontrol pembanding (KP) terjadi perubahan/kerusakan gambaran hati tapi tidak terlalu banyak yang ditandai dengan adanya hepatosit normal, vena sentral lebih baik dari kontrol positif dan degenerasi yang tidak banyak karena pada saat perlakuan diberikan aloksan dan diberikan glibenklamid. Kelompok perlakuan 1 (KP1) terjadi perubahan/ kerusakan gambaran hati yang ditandai adanya degenerasi hidropik pada sel hati dengan tingkat kerusakan mencapai 6-25%. Kelompok perlakuan 2 (KP2) terjadi perubahan/ kerusakan gambaran hati yang ditandai adanya degenerasi hidropik pada sel hati dengan tingkat kerusakan

mencapai 0,1-5%. Kelompok perlakuan 3 (KP3) terjadi perubahan/ kerusakan gambaran hati yang ditandai adanya degenerasi hydropik pada sel hati dengan tingkat kerusakan mencapai 0,1-5%. Artinya jika dibandingkan dengan perlakuan pertama, kelompok perlakuan 3 ini lebih baik dalam memperbaiki serta mencegah kerusakan pada sel hati.

Hasil pengamatan preparat histologis hati kelompok kontrol negatif, sel-sel penyusun jaringan hati tersusun secara teratur, tanpa zat toksik atau unsur lain. Degenerasi hidraulik, bentuk atau stasis vena sentral yang abnormal, yaitu oklusi darah vena sentral, diamati pada kontrol komparatif dan kelompok perlakuan dosis 1,2,3 dibandingkan dengan histologi hati kontrol positif. Hal ini terjadi pada kondisi hiperglikemia karena diinduksi oleh aloksan. Pada kondisi hiperglikemia, radikal bebas merusak struktur dan fungsi retikulum endoplasma. Lesi hepatoseluler tipe hati berlemak menyebabkan akumulasi lemak di hepatosit karena penurunan sintesis apoprotein di hati dan penurunan transportasi lemak dari hepatosit (Kim et al., 2019)

Glibenklamid merupakan salah satu turunan sulfonilurea. Mekanisme kerja obat ini adalah berikatan dengan reseptor di pankreas, menutup saluran kalium, kemudian depolarisasi membuka saluran kalsium, dan ion kalsium masuk ke sel beta pankreas untuk merangsang granula insulin menurunkan kadar gula darah (Syalendra et al., 2023)

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Erlina Rustam, Eka Dwi Kautsar Ariadi Ariadi 2019 mengungkapkan bahwa aloksan dikenal sebagai agen penyebab diabetes karena kemampuannya menghancurkan sel-sel penghasil insulin, terutama sel beta pankreas secara selektif. Aloksan adalah senyawa hidrofilik labil yang bentuknya menyerupai glukosa, dan kesamaan aloksan dengan glukosa bertanggung jawab atas penghancuran selektif aloksan. Karena aloksan mirip dengan glukosa, ia dapat masuk ke sitoplasma melalui transporter glukosa (GLUT2) pada membran plasma sel beta pankreas. Dalam proses ini, aloksan memicu respons glikemik bertingkat pada hewan laboratorium, diikuti oleh perubahan proporsional terbalik dalam konsentrasi insulin plasma, dan hasil akhirnya adalah perubahan berurutan dalam struktur sel beta pankreas yang mengarah ke pembelahan sel. Tahap akhir dari proses induksi aloksan yang mana keadaan hiperglikemia diabetik yang menetap setelah degranulasi sel beta pankreas, yang berlangsung kira-kira 24-48 jam setelah pemberian aloksan pada hewan percobaan (Rustam et al., 2019).

Stres oksidatif memainkan peran penting dalam pengembangan dan inisiasi komplikasi kronis diabetes. Sebuah studi oleh (Tangvarasittichai, 2015) menemukan peningkatan yang signifikan dalam produksi radikal teroksidasi lipid peroksida (Hp) di jaringan hati dari tikus diabetes yang tidak diobati, konsisten dengan penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD dan CAT dan GSH-PX. Stres oksidatif juga mempengaruhi struktur dan permeabilitas membran sel dan organel intraseluler seperti mitokondria, retikulum endoplasma kasar, pertukaran ion dan sintesis protein, dan diketahui berperan penting dalam mengatur identitas sel matriks ekstraseluler, proliferasi dan migrasi. Ada juga mekanisme pensinyalan dari proses oksidatif (Rustam et al., 2019).

Produksi spesies oksigen reaktif (ROS) juga mempengaruhi lisosom dan DNA seluler, membuatnya rentan terhadap mutasi yang dapat menyebabkan kerusakan toksik dan kematian sel. Gangguan hiperglikemia intraseluler juga dapat mengaktifkan oksidasi adenosin dinukleotida fosfat, yang berperan penting dalam konversi glukosa menjadi sorbitol. Akumulasi sorbitol di lingkungan intraseluler dapat meningkatkan tekanan osmotik dan meningkatkan kematian sel. Aktivasi jalur poliol secara langsung mengurangi produksi enzim antioksidan (GSH-Px) pada pasien diabetes. Ini karena hasil dari proses ini tergantung pada tingkat NADPH yang biasanya berkurang yang dikonsumsi selama konversi glukosa. Menurut sorbitol. Akibatnya, aktivitas antioksidan GSH-PX yang diberikan kepada pasien diabetes dapat dikurangi dengan aktivasi jalur poliol, yang sebagian dapat menjelaskan aktivitas rendah enzim ini di jaringan hati hewan-hewan ini (Rustam et al., 2019).

Selama cedera hati, sel-sel stelata hepatik menjadi teraktivasi dan menjadi miofibroblas fibrosa dan proliferasi, yang menyebabkan penurunan kadar oksida nitrat (NO) dan kematian hepatosit. Semua pensinyalan astrosit dan peristiwa transkripsi mendasari respons fibrotik terhadap cedera hati, dan modulasi pelepasan NO adalah target potensial untuk melindungi hepatosit dari loop umpan balik negatif untuk memblokir peradangan dan cedera hepatoseluler. Penurunan ekspresi Enos pada penyakit hati kronis dapat menurunkan perfusi hati dan mempercepat fibrosis. Oleh karena itu, produksi NO akibat stenosis hati dapat mempertahankan aliran darah arteri dan vena yang normal di hati. Defisiensi NO turunan eNOS memperburuk kerusakan hati, sedangkan ekspresi NO turunan Enos yang berlebihan mencegah kerusakan hati (Rustam et al., 2019).

Menurut studi tahun 2021 oleh Vina Puspitasari dan Nisrina Choerunisa, pare (*Momordica charantia*) merupakan jenis tanaman yang potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi sebagai tanaman pangan dan obat tradisional. Pare mengandung flavonoid, polifenol dan saponin. Kandungan buah pare yang bermanfaat untuk menurunkan kadar gula darah adalah karantina, polipeptida insulin dan lektin. Saponin, flavonoid, polifenol dan vitamin C yang terkandung dalam melon bertindak sebagai antioksidan yang melindungi terhadap radikal bebas. Pare menurunkan gula darah dengan menghambat produksi glukosa di hati, melindungi sel B pankreas, meningkatkan sensitivitas insulin, dan mengurangi stres oksidatif.

Karena senyawa flavonoid memiliki efek antioksidan dengan mengais atau menetralkan radikal bebas yang terkait dengan gugus OH fenolik, mereka dapat bertindak sebagai inhibitor *alfa-amilase* dan *alfa-glukosidase* untuk memperbaiki dan mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh peristiwa oksidasi radikal bebas. Mekanisme penurunan kadar gula darah dengan meningkatkan sekresi insulin (Suharyanto dan et al., 2019)

Sekelompok flavonoid, katekin, meningkatkan kadar glikogen hati, meningkatkan kadar glikogen sintase, dan menurunkan kadar glikogen fosfatase. Silivinin dari golongan flavonoid juga memiliki kemampuan untuk menghambat proses glikogenolitik dengan menonaktifkan enzim glukosa-6-fosfatase. Enzim ini terlibat dalam hidrolisis glikogen yang disimpan dalam sel hati selama glikogenolisis (Suharyanto dan et al., 2019).

Hepatosit di hati adalah sel yang sangat aktif dan mudah rusak, tetapi juga mudah memperbaiki diri dengan mitosis untuk menggantikan sel yang rusak. Kerusakan hati dimulai dengan pembengkakan dan degenerasi hati. Oleh karena itu, diperlukan zat yang memulihkan sel-sel hati (Sius et al., 2024).

Penurunan rerata kerusakan sel hati yang terjadi pada mencit perlakuan disebabkan oleh dosis rebusan buah pare yang diberikan tergolong tinggi. KP3 merupakan dosis rebusan yang paling tinggi dalam penelitian ini sehingga kandungan bahan aktif juga tinggi. Semakin tingginya dosis rebusan yang diberikan maka kandungan senyawa aktif juga berpotensi sebagai anti radikal bebas juga semakin tinggi. Rerata kerusakan sel hati pada perlakuan rebusan yang mengalami penurunan juga dapat disebabkan oleh kemampuan sel-sel hati dalam melakukan regenerasi

sel. Regenerasi pada sel hati terjadi sebagai respon penyembuhan akibat senyawa aktif pada rebusan yang diberikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa rebusan buah pare (*Momordica charantia*) dalam perannya memiliki pengaruh dan efektif memperbaiki kerusakan histologi hati mencit yang diinduksi aloksan. Semakin tinggi dosis konsentrasi buah pare yang diberikan maka semakin tampak dalam memperbaiki kerusakan hati yang terjadi. Terbukti pada setiap kelompok perlakuan masing-masing berbeda nilai reratanya, perbaikan optimal terjadi pada kelompok perlakuan 2 dan 3 dengan dosis 560/760 gr/BB (KP3) dengan nilai rerata 1,25.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami ucapkan kepada rektor institut kesehatan rajawali yang telah memberikan dukungan moral maupun materil kepada penulis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan di dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Ayonrinde, O. T. (2021). Historical narrative from fatty liver in the nineteenth century to contemporary NAFLD - Reconciling the present with the past. *JHEP Reports*, 3(3), 100261. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100261>
- Ellingwood, S. S., & Cheng, A. (2018). Biochemical and clinical aspects of glycogen storage diseases. *Journal of Endocrinology*, 238(3), R131-R141. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0120>
- Kim, S. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2019). *THEORY AND PRACTICE OF HISTOLOGICAL TECHNIQUES 8th*. Elsevier, China.
- Mohamed, J., Nazratun Nafizah, A. H., Zariyantey, A. H., & Budin, S. B. (2016). Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 16(2), e132. <https://doi.org/10.18295/SQUMJ.2016.16.02.002>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00063.2017>
- Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Keluwih: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(1), 47-51. <https://doi.org/10.24123/KESDOK.V1i1.2496>
- Puspitasari, V., & Choerunisa, N. (2021). Kajian Sistematis : Efek Anti Diabetes Buah Pare (*Momordica charantia* Linn.) Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus yang Diinduksi Aloksan. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 18-27. <https://doi.org/10.14710/genres.v1i2.11052>

- Rahayu Ratri, P., Yulianti, A., Nur Setia Restuti, A., Studi Gizi Klinik, P., Kesehatan, J., & Negeri Jember, P. (2021). Pengaruh Pemberian Minuman Cokelat (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Berat Basah Organ Hati Tikus Diabetes Melitus. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 2(3), 74-79. <https://doi.org/10.37148/ARTERI.V2I3.169>
- Risdiana, N. I. (2016). *Terapi infusa pekat buah pare (Momordica Charantia L.) terhadap kadar glukosa darah dan MDA (Malondialdehyde) pada ginjal tikus putih (Rattus Norvegicus) yang diinduksi aloksan*.
- Rustam, E., Kautsar, E. D., & Ariadi, A. (2019). Pengaruh Pemberian Infusa Teh Hijau Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Pada Mencit Diabetes Melitus yang diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Higea*, 11(2), 184-194. <https://doi.org/10.52689/HIGEA.V11I2.237>
- Sius, U., Revianty, S., Andriani, D., RS, S., Nurprilinda, M., Dewi, Y. R., Widyawati, R., Manik, S. E., Aini, Khudri, G., Janah, R., Prasetyo, P. D., Putri, B. O., Huda, M., & Basarang, M. (2024). *SITOHISTOTEKNOLOGI*. Eureka Media Aksara.
- Suharyanto dan, E., Wijayanti, N., & Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Teuku Umar, P. (2019). Pengaruh Ekstrak Rebusan Daun *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Terhadap Kadar Glukosa Darah. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi Dan Kependidikan*, 7(1), 41-48. <https://doi.org/10.22373/BIOTIK.V7I1.5470>
- Syalendra, A., Andini, A., Iswara, A., Sayekti, F. D. J., Kurniati, I., Farizal, J., Kodariah, L., Tombokan, N., & Tasya, R. (2023). *SITOHISTOTEKNOLOGI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK*. EGC.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456. <https://doi.org/10.4239/WJD.V6.I3.456>
- Tiurma, R. J., & Syahrizal. (2021). Obesitas Sentral dengan Kejadian Hiperglikemia pada Pegawai Satuan Kerja Perangkat Daerah. *Higeia Journal of Public Health Research and Development*, 5(3), 227-238.
- Wahyuningtyas, P., Sitasiwi, A. J., & Mardiaty, M. S. (2018). Hepatosomatic Index (Hsi) Dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1), 8-17.

PENGARUH INDUKSI CCL₄ TERHADAP KADAR ALBUMIN PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR YANG DIBERIKAN INFUSA DAUN KALAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Beddm)

Abi Bakring Balyas^{1*} · Tisha Patricia² · Khairunnisa³

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

³Departement Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

e-mail : abibakringb@gmail.com

No Tlp WA : 085753122364

Abstract

The causes of liver failure can vary from viral infections, especially hepatitis, cirrhosis, autoimmune disease, drug use, to exposure to chemicals such as CCl₄. Changes in levels of products such as albumin are indicators of liver damage. One of the typical plants of Kalimantan which is useful as traditional medicine is kalakai. Kalakai contains several bioactive compounds such as phenolics, flavonoids, alkaloids and the treponoid family which are effective as antioxidants. This research is a true experimental design using a post test only control group design. In this study, researchers will analyze the effect of kalakai leaf infusion on albumin levels in Wistar white rats which have been put into five groups in a simple random manner. This research aims to determine the effect of kalakai leaf infusion on blood albumin levels in Wistar white rats. The variables studied were kalakai leaf infusion and albumin levels. Data analysis uses univariate, bivariate analysis using one way Anova. Quantitative test results found that the highest compound found was flavonoids, namely 198.583 mg/ml, followed by steroid compounds, namely 14.036 mg/ml and the least was tannin compounds, namely 0.337 mg/ml. The alkaloid compounds were found to be 11.984%. The highest albumin level was found in one of the mice that was given 500 mg/KgBW of kalakai infusion, namely 3.9 g/dL, while the lowest albumin level was in one of the negative controls which was not given any treatment before being induced by CCl₄, namely 2.7 g/dL. The results of one-way analysis of variance showed a p value of 0.565 > 0.05 so there was no significant difference in albumin levels in each treatment.

Keywords: Kalakai leaves, infusion, albumin.

Abstrak

Penyebab gagal hati bisa beragam mulai dari infeksi virus utamanya hepatitis, sirosis, autoimun, penggunaan obat, hingga paparan zat kimia seperti CCl₄. Adanya perubahan kadar produk seperti albumin merupakan indikator kerusakan hati. Salah satu tumbuhan khas Kalimantan yang berkhasiat sebagai obat tradisional adalah kalakai. Kalakai mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, alkaloid dan keluarga treponoid yang efektif sebagai antioksidan. Penelitian ini adalah true experimental design menggunakan post test only control group design. Pada penelitian ini, peneliti akan menganalisis pengaruh dari infusa daun kalakai terhadap kadar albumin pada tikus putih galur wistar yang telah dimasukkan ke dalam lima kelompok secara random sederhana.. Penelitian ini bertujuan untuk pengaruh infusa daun kalakai terhadap kadar albumin darah pada tikus putih galur wistar.. Variabel yang diteliti ialah infusa daun kalakai dan kadar albumin. Analisis data menggunakan analisis univariat, bivariat dengan menggunakan one way Anova. Hasil uji kuantitatif ditemukan senyawa tertinggi yang ditemukan ialah flavonoid yaitu 198,583 mg/ml diikuti senyawa steroid yaitu 14,036 mg/ml dan yang paling sedikit ialah senyawa tannin yaitu 0,337 mg/ml. Adapun senyawa alkaloid ditemukan sebesar 11,984%. kadar albumin tertinggi terdapat pada salah satu tikus yang diberi Infusa kalakai 500mg/KgBB yaitu 3,9 g/dL sedangkan kadar albumin terendah ada pada salah satu control negative yang tidak diberikan perlakuan apapun sebelum diinduksi CCl₄ yaitu 2,7

g/dL. Hasil analisis varian satu arah menunjukkan nilai p sebesar $0,565 > 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan secara signifikan kadar albumin pada tiap perlakuan.

Kata Kunci : Daun kalakai, Infusa, Albumin

PENDAHULUAN

Hepar adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh.¹ Selain merupakan organ parenkim yang paling besar, hepar menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hepar sangat penting untuk mempertahankan hidup dan berperan dalam hampir setiap fungsi metabolik tubuh dan terutama bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktivitas berbeda.² Hepar memiliki peranan penting dalam fungsi fisiologis tubuh. Metabolisme karbohidrat, protein, lipid, biotransformasi senyawa endogen maupun eksogen terjadi di hepar. Demikian pula proses detoksifikasi obat atau senyawa beracun lainnya dilakukan oleh hepar.³ Namun data menunjukkan ada 1,32 juta kematian yang disebabkan penyakit hati kronis di dunia pada tahun 2017, dua pertiganya adalah pria and dan sepertiganya adalah Wanita.⁴

Hepar sendiri merupakan pusat metabolisme tubuh, merupakan sumber energi tubuh sebanyak 20% serta menggunakan 20-25% oksigen darah⁵. Adanya perubahan kadar produk seperti albumin merupakan indikator kerusakan hati.⁶ Kerusakan hepar dapat diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl_4). Dampak racun karbon tetraklorida pada sel hepar terjadi akibat meningkatnya kadar peroksidasi lipid disebabkan oleh adanya reaksi antara radikal hasil aktivasi CCl_4 dengan asam lemak tak jenuh yang banyak terdapat pada membran sel.⁷

Salah satu tumbuhan khas Kalimantan yang berkhasiat sebagai obat tradisional adalah *Kalakai*. Banyak penelitian yang sudah dilakukan untuk membuktikan kebenaran khasiat yang dimiliki oleh daun kalakai.⁴ Metode infusa dipilih karena mempunyai berbagai keunggulan yaitu mudah, murah dalam penggunaannya, lebih aplikatif digunakan pada masyarakat dan lebih mendekati cara pembuatan obat tradisional yang dilakukan masyarakat

Kalakai mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, alkaloid dan keluarga terpenoid yang efektif sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Adawiyah et al., didapat hasil bahwa ekstrak dari kalakai memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Flavonoid sebagai

antioksidan dapat peroksidasi lipid sehingga bisa mencegah kerusakan hati yang dapat dilihat dari produksi albumin yang dihasilkan oleh hati.¹

BAHAN DAN METODE

Alat pada penelitian ini yaitu panic infusa, kompor, spuit, alat badah. Adapun bahan yang digunakan ialah daun kalakai, aquades, kertas saring, silymarin, ketamine, xylazine, dan tabung EDTA.

Metode pelaksanaannya yaitu, daun kalakai yang diperoleh mula-mula di bersihkan dengan air mengalir. Infusa daun kalakai dengan dosis 20% dibuat dengan menambahkan aquades 100 ml pada 20 gram daun kalakai. Lalu dipanaskan di dalam panci infusa di atas kompor dengan suhu 90oC selama 15 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring, untuk membuang ampas daun kalakai. Kemudian, infusa daun kalakai dibuat dalam tiga dosis : dosis 1 sebesar 300 mg/kgBB (dosis rendah), dosis II sebesar 400 mg/kgBB (dosis sedang), dan dosis III sebesar 500 mg/kgBB (dosis tinggi).

Tanaman kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Budd.) akan diskriming fitokimia. Kandungan-kandungan yang akan diskriming yaitu flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin. Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif (untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan senyawa kimia pada tanaman kalakai) dan secara kuantitatif untuk mengetahui kadar kandungan senyawa di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.

HASIL

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Infusa Daun Kelakai

Parameter	Hasil	Reaksi
Flavonoid	+	Terbentuk warna jingga
Alkaloid	+	Berwarna jingga dengan reagen dragendrof
	+	Terdapat sedikit endapan putih dengan reagen meyer
	+	Berwarna jingga kecoklatan dengan reagen Wagner
Tanin	+	Berwarna hitam kehijauan
Steroid	+	Berwarna hijau

Tabel 2 Hasil Uji Fitokimia Kuantitatif Infusa Daun Kelakai

Alkaloid (%)	Steroid (mg/ml)	Flavonoid (mg/ml)	Tanin (mg/ml)
11,984	14,036	198,583	0,337

Tabel 1 menunjukkan hasil uji kuantitatif fitokimia menunjukkan bahwa infusa daun kelakai mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, dan steroid.

Table 2 menunjukkan bahwa pada hasil uji kuantitatif ditemukan senyawa tertinggi yang ditemukan ialah flavonoid yaitu 198,583 mg/ml diikuti senyawa steroid yaitu 14,036 mg/ml dan yang paling sedikit ialah senyawa tannin yaitu 0,337 mg/ml. Adapun senyawa alkaloid ditemukan sebesar 11,984%.

Tabel 3. Hasil Analisis Deskriptif Kadar Albumin pada Tiap Perlakuan

perlakuan	n	min	max	mean	SD
Infusa 300mg/KgBB	5	3.3	3.7	3.5	0.16
Infusa 400mg/KgBB	5	2.9	3.6	3.4	0.29
Infusa 500mg/KgBB	5	3.4	3.9	3.6	0.23
Kontrol +(silimarin)	5	3.4	3.8	3.56	0.15
kontrol -	5	2.7	3.7	3.36	0.39

Tabel 3. menunjukkan bahwa kadar albumin tertinggi terdapat pada salah satu tikus yang diberi Infusa kelakai 500mg/KgBB yaitu 3,9 g/dL sedangkan kadar albumin terendah ada pada salah satu control negative yang tidak diberikan perlakuan apapun sebelum diinduksi CCl₄ yaitu 2,7 g/dL

Tabel 4. Uji Perbedaan Kadar Albumin pada Tiap Perlakuan

perlakuan	Kadar Albumin	Nilai p
Infusa 300mg/KgBB	3.5±0.16	0,565
Infusa 400mg/KgBB	3.4±0.29	
Infusa 500mg/KgBB	3.6±0.23	
Kontrol +(silimarin)	3.56±0.15	
kontrol -	3.36±0.39	

Siginifikan bila $p < 0,05$

DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan senyawa tertinggi yang ditemukan pada infusa daun kelakai ialah flavonoid yaitu 198,583 mg/ml diikuti senyawa steroid yaitu 14,036 mg/ml dan yang paling sedikit ialah senyawa tannin yaitu 0,337 mg/ml. Adapun senyawa alkaloid ditemukan sebesar 11,984%. Flavonoid berfungsi sebagai penampang yang baik radikal hidroksi dan superoksida, dengan fungsi yang dimilikinya mampu melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Flavonoid juga berfungsi untuk mencegah kekurangan darah (pencegah anemia), menstruasi teratur dan antidiare serta berkhasiat sebagai pereda demam, dan juga mengobati sakit kulit, meningkatkan ASI, dan dapat mengobati kanker. Sama seperti flavonoid, tanin juga berfungsi untuk mencegah kekurangan darah (pencegah anemia), menstruasi teratur dan antidiare serta berkhasiat sebagai pereda demam, dan juga mengobati sakit kulit, meningkatkan ASI, dan dapat mengobati kanker.⁸ Adapun senyawa alkaloid menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses.⁹

Perlakuan Hasil penelitian menunjukkan kadar albumin tertinggi terdapat pada salah satu tikus yang diberi Infusa kelakai 500mg/KgBB yaitu 3,9 g/dL sebelum diberi induksi CCL₄ sedangkan kadar albumin terendah ada pada salah satu control negative yang tidak diberikan perlakuan apapun sebelum diinduksi CCL₄ yaitu 2,7 g/dL. Kadar albumin sebesar 2,7 g/dL sudah termasuk dibawah normal. Kadar albumin normal pada tikus sendiri ialah 3,0 to 5,1 g / dL.¹⁷ Hal ini menunjukkan bahwa kadar albumin pada tikus control negative yang tidak diberikan infusa kelakai maupun silymarin sudah mulai ada yang mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena CCL₄ adalah senyawa kimia bersifat hepatotoksik yang dapat menghasilkan radikal bebas triklorometil (CCl₃-). Radikal bebas tersebut akan menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan organ target.

Hasil analisis varian satu arah menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan kadar albumin pada tiap perlakuan. Padahal pada kelakai terdapat senyawa flavonoid yang merupakan senyawa pereduksi yang baik, sehingga dapat menghambat banyak reaksi-reaksi pereduksi, baik secara enzim maupun non- enzim. Flavonoid ini diperkirakan mampu melindungi sel hepatosit yang berperan dalam sintesis protein albumin dari efek negative senyawa CCL₄. Hasil penelitian ini sendiri

menunjukkan bahwa kadar albumin tertinggi ditemukan pada tikus wistar yang diberi dosis infusa kalakai tertinggi yaitu 500mg/KgBB. Walaupun demikian perbedaan kadar albumin dibandingkan dengan control negatif tidak berbeda secara signifikan. Penyebab yang dapat terjadi ialah efek negative senyawa CCl₄ terhadap sel hati belum signifikan selama 24 jam.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa infusa daun kalakai memiliki potensi sebagai antioksidan, namun belum terbukti secara signifikan dapat melindungi hati dari kerusakan akibat CCl₄. Meskipun kadar albumin tertinggi ditemukan pada tikus yang diberi infusa daun kalakai dengan dosis 500 mg/kgBB, perbedaan ini tidak signifikan secara statistik dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa efek negatif CCl₄ belum signifikan dalam waktu 24 jam setelah induksi, sehingga penelitian ini tidak dapat menarik kesimpulan yang kuat tentang kemampuan infusa daun kalakai dalam melindungi hati dari kerusakan akibat CCl₄. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami potensi infusa daun kalakai sebagai antioksidan dan kemampuan melindungi hati dari kerusakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami ucapkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Palangkaraya dan rekan-rekan yang telah memberikan dukungan moral maupun materil kepada penulis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan di dalam penelitian ini.

REFRENSI

Buku

Price, S.A, & Wilson, L.M.,(2006). *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit, Edisi 6*, volume 1 , Jakarta: EGC

Wyngearden, J.B. (1982). *The Text Book of Medicine Vol 1*. W.B. Sanders Co: Philadelphia

Jurnal

Cheemerla S & Balakrishnan M. (2021). Global Epidemiology of Chronic Liver Disease. *CHlinical Liver Disesease*; 17 (5).

Rostinawati T, Suryana S, Fajrin M, Nugrahani H.(2017) *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai (Stenochlaena palustris (Burm. F) Terhadap Salmonella thypi dan Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Agar CLSI M02-A11*. Pharmauho [Internet].;3(1):1-5.

Khasanah Y, Ratnayani, Ariani D, Angwar M, Nuraeni T.(2015). In Vivo Study on Albumin and Total Protein in White Rat (*Rattus norvegicus*) after Feeding of Enteral Formula from Tempe and Local Food. *Procedia. Food Science* 3 : 274

PENGARUH TERAPI EKSTRAK PARE BELUT (*Trichosanthes cucumerina*) TERHADAP KADAR FIBRINOGEN DAN LUAS LUKA PADA PERMODELAN TIKUS ULKUS DIABETIKUM

Nazula Rahma Shafriani^{1*} · Zuvi Fridhoriansyah² · Tri Dyah Astuti³

^{1,2,3} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, DI.Yogyakarta, Indonesia.
e-Mail : nazula.rahma@unisayogya.ac.id.
No Tlp WA: +62 819-3119-8476

Abstract

*The prevalence of Diabetic Ulcer sufferers in Indonesia is around 15% with an amputation rate of 30% and a mortality rate of 32%. Risk factors for increasing diabetic ulcers include gender (male), the patient's history of diabetes for more than 10 years, and other comorbidities. Parameters in determining the healing effect of diabetic ulcers are fibrinogen levels and wound area. This study aims to assess the effect of methanol extract *Trichosanthes cucumerina* in a mouse model of diabetic ulcers on the area of diabetic ulcer wounds and fibrinogen levels before and after treatment. This research used True Experimental Design in an in vivo laboratory using a pre-test and post-test Control Group Design with 25 *Ratus norvegicus* mice. There are 5 groups with 1 positive control group, 1 negative group, doses of 125 mg/Kg BW, 250 mg/Kg BW and 500 mg/Kg BW. Based on the results of measuring the area of the wound from day 3 to day 15, there was a decrease in area with a p value <0.05. Fibrinogen levels decreased before and after therapy with a p value < 0.05. The extract that reduced fibrinogen levels the most was group 3 with 500 mg/KgBW of extract and group 3 had the highest significance in healing extensive wounds.*

Keywords: *Diabetic ulcers, *Trichosanthes cucumerina*, Wound Area, Fibrinogen*

Abstrak

Prevalensi penderita Ulkus Diabetikum di Indonesia sekitar 15% dengan angka amputasi 30% dan angka mortalitas 32%. Faktor risiko peningkatan ulkus diabetikum diantaranya jenis kelamin (laki-laki), lamanya riwayat penyakit diabetes pasien lebih dari 10 tahun, dan komorbiditas lainnya. Parameter dalam menentukan efek penyembuhan luka ulkus diabetikum adalah kadar fibrinogen dan luas luka. penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh terapi ekstrak methanol *Trichosanthes cucumerina* pada permodelan tikus ulkus diabetikum terhadap luas luka ulkus diabetikum dan kadar fibrinogen sebelum dan sesudah terapi. Penelitian ini menggunakan *True Experimental Design* di laboratorium secara in vivo menggunakan rancangan *pre-test and post-test Control Group Design* sebanyak 25 ekor tikus *Ratus norvegicus*. Terdapat 5 kelompok dengan 1 kelompok kontrol positif, 1 kelompok negatif, dosis 500 mg/Kg BB, 250 mg/Kg BB, 125 mg/Kg BB. Berdasarkan hasil pengukuran luas luka dari hari ke-3 sampai hari ke-15 terdapat penurunan luas dengan p value < 0,05. Kadar fibrinogen mengalami penurunan dari sebelum dan setelah terapi dengan p value < 0,05. Ekstrak yang paling banyak menurunkan kadar fibrinogen adalah kelompok 3 dengan ekstrak 500 mg/KgBB dan kelompok 3 memiliki signifikasi tertinggi dalam penyembuhan luas luka.

Kata Kunci: *Ulkus diabetikum, *Trichosanthes cucumerina*, Luas Luka, Fibrinogen*

PENDAHULUAN

Ulkus diabetikum adalah komplikasi diabetes melitus dengan insiden tahunan 2,4-2,6%. Diperkirakan jika kekambuhan ulkus diabetikum lebih dari 50% setelah tiga tahun, komplikasi kronis dari penyakit ini bervariasi sesuai jenis diabetes, waktu timbulnya, dan tingkat kontrol metabolik. Komplikasi ini adalah peningkatan masalah kesehatan masyarakat dan merupakan penyebab utama masuknya pasien ke rumah sakit, amputasi, dan kematian pada penderita diabetes (Perez-favila et al., 2019). Prevalensi penderita Ulkus Diabetikum di Indonesia sekitar 15%, angka amputasi 30%, angka mortalitas 32%. Ulkus Diabetikum merupakan penyebab perawatan rumah sakit terbanyak sebesar 80% untuk diabetes melitus (Oktorina et al., 2019). Beberapa penelitian terakhir juga telah mengidentifikasi faktor-faktor risiko yang berkaitan dengan ulkus kaki diabetikum. Faktor risiko tersebut diantaranya adalah jenis kelamin (laki-laki), lamanya riwayat penyakit diabetes pasien lebih dari 10 tahun, usia lanjut, indeks massa tubuh yang meningkat, dan komorbiditas lainnya. Peningkatan HbA1C, deformitas kaki, peningkatan tekanan tinggi pada plantar, infeksi, dan kebiasaan perawatan kaki yang tidak tepat (Reardon et al., 2020). Salah satu parameter dalam menentukan efek penyembuhan luka ulkus diabetikum adalah kadar fibrinogen.

Fibrinogen merupakan protein plasma kunci yang berperan dalam proses hemostasis dan trombosis. Fibrinogen berfungsi sebagai komponen struktural utama bekuan darah, berperan penting dalam pembentukan, pertumbuhan, dan stabilisasi gumpalan darah. Kekurangan fibrinogen secara signifikan meningkatkan risiko perdarahan. Sebaliknya, peningkatan kadar fibrinogen telah diidentifikasi sebagai faktor risiko independen untuk terjadinya trombosis baik vena maupun arteri (Pieters & Wolberg, 2019). Telah diketahui bahwa protein fase akut, fibrinogen, menunjukkan peningkatan kadar pada pasien dengan penyakit kaki diabetik. Meskipun beberapa penelitian telah menunjukkan korelasi antara kadar fibrinogen yang tinggi dengan keberadaan ulkus diabetikum, namun belum ada penelitian yang mengkaji nilai prognostik fibrinogen dalam memprediksi perkembangan penyakit pada pasien kaki diabetik (Li et al., 2016). Pengobatan secara tradisional merupakan salah satu pengobatan alternatif. Salah satu tanaman yang berpotensi dalam efek

penyembuhan ulkus diabetikum yaitu Pare Belut (*Trichosanthes cucumerina*). Pare belut memiliki kandungan alkaloid, tanin, fenolat, flavonoid, dan terpenoid yang berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri dan antifungi (Dai et al., 2023).

Berdasarkan referensi yang tercantum tersebut, penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh terapi ekstrak methanol pare belut (*Trichosanthes cucumerina*) pada permodelan tikus ulkus diabetikum terhadap luas luka ulkus diabetikum dan kadar fibrinogen sebelum dan sesudah terapi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan design eksperimen murni (*True Experimental Design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Pre Test and Post Test Control Group Design*. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 5 ekor untuk tiap perlakuan.

Proses Ekstraksi Pare Belut (*Trichosanthes cucumerina*)

Ekstraksi diperoleh melalui proses maserasi. Buah pare belut sebanyak 50 kg dipisahkan dari bijinya, dipotong tipis-tipis kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama ± 72 jam. Selanjutnya, daging buah pare belut yang sudah kering digiling sampai berbentuk serbuk dengan ukuran 40 mesh, dan diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia buah pare diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan kecepatan putar 4 RPM.

Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan dimulai dengan adaptasi dan aklimatisasi yang membagi 5 kelompok perlakuan yang terdiri atas 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol yaitu kontrol negatif, pemberian dosis 125 mg/Kg BB, 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, dan kontrol positif (Metformin dan Amoxicilin). Sebelum tikus diinduksi, diambil darah dari bagian ekor dan diperiksa kadar glukosa darah lalu semua tikus diinduksi dengan Aloksan dengan dosis 150 mg/KgBB selama 96 jam hingga dinyatakan diabetes melitus. Setelah dinyatakan hiperglikemik, tikus tersebut dilakukan insisi pada bagian paha sepanjang 2 cm dan diinokulasikan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga terbentuk ulkus diabetikum dalam waktu 2 hari.

Pemberian ekstrak Methanol diberikan selama 14 hari dan dibagi menjadi 3 dosis pemberian yaitu dengan volume pemberian 1 mL dengan konsentrasi ekstrak

methanol pare belut 125mg/KgBB, 250 mg/KgBB, dan 500 mg/KgBB. Setelah itu, luas area ulkus diukur setiap 3 hari sekali dan kadar glukosa diukur setiap minggu sekali. Kemudian, darah tikus di ambil dari sinus orbitalis dan dimasukkan ke tabung sitrat dan disentrifuse dengan kecepatan 3500 RPM. Plasma sitrat yang diperoleh kemudian diuji kadar fibrinogennya.

Pemeriksaan Fibrinogen

Pemeriksaan fibrinogen dilakukan dengan alat *Coagulation Analyzer* semi-otomatis MD Pacific TS6000. Dilakukan pengencerkan reagen plasma referensi fibrinogen dengan menggunakan 1 mL aquades, dan mengencerkan reagen “FIB” dengan 2 mL akuades. Kemudian, letakkan kuvet pada posisi *pre-warming sample*, tambahkan 20 µL sampel atau kontrol dan 180 µL reagen Imidazole Buffered Saline (IBS) ke dalam kuvet, lalu inkubasi selama 3 menit pada posisi *pre-warming sample*. Setelah itu, pindahkan kuvet ke saluran uji dan tambahkan satu bola magnet ke dalam kuvet, lalu tambahkan 100 mikroliter reagen FIB menggunakan mikropipet yang terhubung ke alat.

HASIL

Berdasarkan hasil pengukuran luas luka pada hari ke 3 hingga hari ke 15 terapi mengalami penurunan terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Luas Luka

Kelompok	Kontrol(+)	Kontrol(-)	Group I	Group II	Group III	P-Value
Perlakuan			(125 mg/KgBB)	(250 mg/KgBB)	(500 mg/KgBB)	
Hari ke-3	19,84±0,257	19,4±0,091	17,76±0,03	16,4±0,082	15,8±0,115	0.000
Luas Luka (mm)						
Hari ke-6	14,50±0,169	16,82±0,194	13,56±0,127	11,56±0,256	12,7±0,246	0.000
Hari ke-9	11,76±0,129	14,86±0,201	8,4±0,341	7,8±0,256	8,8±0,182	0.002
Hari ke-12	9,52±0,103	11,22±0,146	4,4±0,433	3,8±0,319	2,98±0,116	0.001

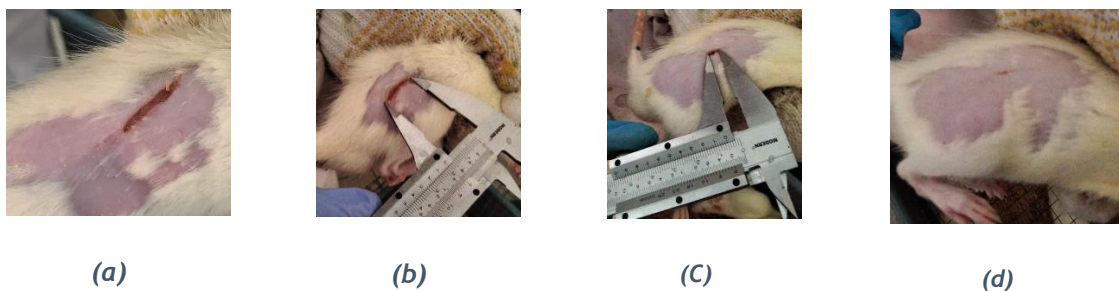
Kelompok Perlakuan	Kontrol(+)	Kontrol(-)	Group I (125 mg/KgBB)	Group II (250 mg/KgBB)	Group III (500 mg/KgBB)	P- Value
Hari ke- 15	6,2±0,192	7,68±0,126	1,6±0,26	0,07±0,097	0±0	0.000

Hasil pemeriksaan Fibrinogen sebelum dan sesudah terapi juga menunjukkan penurunan kadar fibrinogen. Hasil analisis statistik menggunakan Uji *Anova One-Way* menunjukkan bahwa terdapat hasil penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) pada hasil pengukuran luas luka hari ke 3 hingga hari ke 15 terapi dan pengukuran kadar Fibrinogen pada sebelum dan sesudah terapi. Terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Fibrinogen Sebelum dan Setelah Terapi

Kelompok Perlakuan		Kontrol(+)	Kontrol(-)	Group I (125 mg/KGBB)	Group II (250 mg/KGBB)	Group III (500 mg/KGBB)	P- Value
Fibrinogen	Pre	526±87,77	436,2±88,56	472,6±102,57	543,2±37,29	508,6±56,14	0,000
(mg/dL)	Post	769,2±148,52	210±64,16	311±54,85	280,4±69,3	221±78,29	

Berdasarkan hasil observasi, rata-rata luka menutup sempurna terjadi di hari ke 9 hingga 12 seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Luas Luka Tikus Ulkus Diabetikum (a) Luas luka hari ke 3 (b) Luas luka hari ke 6. (c) Luas luka hari ke 9 (d) Luas luka hari ke 12

Poliiferasi jaringan luka sudah mulai tampak di hari ke 3 hingga ke 6 perlakuan. Sebelumnya pada hari ke 1 dan 2, masih nampak luka yang memerah serta bernanah. Hal ini mungkin disebabkan oleh sifat anti-inflamasi, sehingga mendorong terjadinya penyembuhan luka.

DISKUSI

Uji normalitas data menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal ($P > 0,05$). Kemudian, Uji Homogenitas menunjukkan bahwa data berasal dari variasi yang sama ($P > 0,05$). Analisis statistik deskriptif dengan menggunakan *ANOVA-One Way Test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Nilai p yang diperoleh sebesar 0,00 yang menunjukkan bahwa perbedaan rerata kadar Fibrinogen antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol signifikan secara statistik ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Trichosanthes cucumerina* pada dosis yang diujikan dapat mempengaruhi kadar Fibrinogen secara signifikan. Temuan ini memberikan bukti awal tentang efektivitas terapeutik ekstrak *Trichosanthes cucumerina* dalam menurunkan kadar Fibrinogen, yang merupakan salah satu indikator peradangan dan proliferasi sel.

Tabel 1 menyajikan data tentang efek terapeutik pada tiga kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda, serta dua kelompok kontrol. Nilai yang disajikan meliputi luas luka dari hari ke 3 hingga hari ke 15 untuk masing-masing kelompok. Pada hari ke 3 perlakuan rerata luas luka terendah di tunjukan pada kelompok perlakuan 500 mg/KgBB sebesar $15,8 \pm 0,115$ mm. Pada hari ke 6 dan 9, perlakuan rerata luas luka terendah di tunjukan oleh kelompok perlakuan 250 mg/KgBB yaitu $11,56 \pm 0,256$ mm dan $7,8 \pm 0,256$ mm. Penurunan rerata luas luka terendah pada hari ke 12 dan 15 terdapat pada kelompok perlakuan 500 mg/KgBB yaitu $2,98 \pm 0,116$ mm dan $0,00 \pm 0,00$ mm. Hal ini menunjukan bahwa perlakuan 500 mg/KgBB memiliki pengurangan luas luka paling signifikan.

Tabel 2 menyajikan data tentang efek terapeutik pada tiga kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda, serta dua kelompok kontrol. Nilai yang disajikan meliputi nilai Pra-Terapi dan Pasca-Terapi untuk masing-masing kelompok. Pada nilai Pra-Terapi, terjadi peningkatan seiring dengan meningkatnya dosis terapi. Kelompok dengan dosis 250 mg/KgBB memiliki nilai Pra-Terapi tertinggi, yaitu $472,6 \pm 102,57$ mg/dL. Sementara itu, kelompok dengan dosis tertinggi, 500mg/KgBB, memiliki nilai Pasca-Terapi terendah yaitu $221 \pm 78,29$ mg/dL. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis terapi berdampak pada penurunan nilai parameter sebelum dan sesudah perlakuan diberikan.

Pola yang sama juga terlihat pada nilai Pasca Terapi yang memperkuat indikasi bahwa peningkatan dosis terapi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter yang diukur setelah perlakuan diberikan. Kelompok kontrol menunjukkan nilai pre dan pasca terapi yang relatif stabil dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa faktor lain di luar intervensi mungkin tidak berpengaruh besar terhadap parameter yang diukur. Nilai *P Value* pada akhir tabel juga menunjukkan signifikansi statistik yang kuat dari hasil penelitian ini, sehingga temuan ini dapat dianggap reliabel dan valid. *P Value* pada akhir tabel juga menunjukkan signifikansi statistik yang kuat dari hasil penelitian ini, sehingga temuan ini dapat dianggap reliabel dan valid.

Efek penyembuhan luka yang diperoleh dari *Trichosanthes cucumerina* disebabkan oleh kemampuannya untuk meningkatkan proliferasi sel dan aktivitas fibroblast, yang penting dalam pembentukan jaringan baru, serta merangsang sintesis kolagen yang memperkuat jaringan kulit baru. Selain itu, sifat anti-inflamasi dan antimikroba dari tanaman ini turut berperan dalam mempercepat penutupan luka dan mencegah infeksi, yang mendukung penyembuhan optimal. Ini mencerminkan temuan Edibamode et al., (2014) yaitu konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi menunjukkan efek terapeutik yang lebih baik dalam penyembuhan luka. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa *Trichosanthes cucumerina* memiliki potensi besar dalam terapi penyembuhan luka, terutama pada dosis yang lebih tinggi, seperti yang ditunjukkan dalam kedua penelitian (Edibamode et al., 2014).

Pengaruh ekstrak metanol *Trichosanthes cucumerina* terhadap fibrinogen menunjukkan bahwa berpengaruh terhadap kadar fibrinogen dan glukosa. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Wicaksono & Purwandhono, 2014) mengenai pengaruh *Trichosanthes cucumerina* dalam menurunkan gula darah pada hewan coba. Selain itu, *Trichosanthes cucumerina* memiliki komponen yang menyerupai sulfonilurea (obat anti diabetes dan banyak digunakan). Fitokimia seperti, karbohidrat, alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dan tanin terdeteksi dari tanaman obat, *T. cucumerina*. Ekstrak metanol menunjukkan jumlah fitokimia yang lebih besar daripada ekstrak etil asetat, aseton dan air. Metabolit sekunder berguna dalam pertumbuhan sel, pembentukan dan penggantian tubuh. Mereka juga berfungsi sebagai stimulan imunologi, antibakteri, agen anti-

inflamasi, antivirus dan aktivitas detoksifikasi. Tanin yang berasal dari tanaman menunjukkan berbagai sifat antibakteri (Devanathadesikan et al., 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang disajikan, penelitian ini menunjukkan hubungan dosis-respons yang jelas antara terapi yang diberikan dan parameter yang diukur, baik pada nilai sebelum dan sesudah. Semakin tinggi dosis terapi, semakin besar efek yang ditunjukkan, dengan nilai tertinggi pada kelompok dosis tertinggi (500mg/KgBB). Pengaruh ekstrak metanol *Trichosanthes cucumerina* terhadap kadar fibrinogen dan luas luka pada model ulkus diabetikum didapatkan penurunan kadar fibrinogen yang signifikan sebelum dan sesudah perlakuan. Ekstrak yang paling banyak menurunkan kadar fibrinogen adalah kelompok 3 dengan ekstrak 500 mg/KgBB. Sejalan dengan pengurangan luas luka, kelompok 3 memiliki signifikansi tertinggi dalam penyembuhan luas luka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat UNISA Yogyakarta dan Riset Muhammadiyah (RISETMU) tahun 2024 yang telah mendanai penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan

REFERENSI

- Dai, S., Wang, C., Zhao, X., Ma, C., Fu, K., Liu, Y., & Peng, C. (2023). Cucurbitacin B: A review of its pharmacology , toxicity , and pharmacokinetics. *Pharmacological Research Journal*, 187(November 2022), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106587>
- Devanathadesikan, V., Vijayaraghavan, P., Kim, Y., Kim, H., Al-ghamdi, A. A., Elshikh, M. S., Al-dosary, M. A., & Alsubaie, Q. D. (2020). Saudi Journal of Biological Sciences In vitro antioxidant and cytotoxic activities of polyherbal extracts from *Vetiveria zizanioides* , *Trichosanthes cucumerina* , and *Mollugo cerviana* on HeLa and MCF-7 cell lines. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(6), 1475-1481. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.005>

- Edibamode, E. I., Olotu, E. J., Allison, T. A., Otobo, E. O., & Harcourt, P. (2014). Effect of 28 % Concentration of *Trichosanthes cucumerina* Linn . (Snake Tomato) Seed on Wound Healing Using Male Wistar Rats. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences (SJAMS)*, 2(2), 804-811. <https://doi.org/10.36347/sjams.2014.v02i02.067>
- Li, X. H., Guan, L. Y., Lin, H. Y., Wang, S. H., Cao, Y. Q., Jiang, X. Y., & Wang, Y. B. (2016). Fibrinogen : A Marker in Predicting Diabetic Foot Ulcer Severity. *Journal OfDiabetes Research*, 2016(1), 1-5.
- Oktorina, R., Wahyuni, A., & Harahap, E. Y. (2019). Faktor Yang Berhubungan Dengan Perilaku Pencegahan Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Mellitus. *Real in Nursing Journal*, 2(3), 108-117.
- Perez-favila, A., Martinez-fierro, M. L., Rodriguez-lazalde, J. G., Mollinedo-montaña, F. E., Rodriguez-sanchez, I. P., & Castañeda-miranda, R. (2019). Current Therapeutic Strategies in Diabetic Foot Ulcers. *Medicina*, 55(714), 1-21.
- Pieters, M., & Wolberg, A. S. (2019). Fibrinogen and fibrin: An illustrated review. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 3(2), 161-172. <https://doi.org/10.1002/rth2.12191>
- Reardon, R., Simring, D., Kim, B., Mortensen, J., Williams, D., & Leslie, A. (2020). The diabetic foot ulcer. *Australian Journal of General Practice*, 49(5), 250-255.
- Wicaksono, B., & Purwandhono, A. (2014). Efek Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) dan Metformin terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan : Perbandingan Terapi Kombinasi dan Terapi Tunggal (Effect of Bitter Melon Fruit (*Momordica charantia*) Extract and Metformin t. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.

PEMBERIAN AIR KELAPA MUDA TERHADAP PENURUNAN KADAR MDA DAN IL-6 PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK

Annisa Nurul Hikmah^{1*} · Fadya Annajwa²

^{1,2} Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah, Indonesia
e-Mail : anhikmah@unimus.ac.id
No Tlpn WA : +62 815-7672-579

Abstract

Dyslipidemia is a disorder caused by impaired lipid metabolism and can be overcome with antioxidants such as young coconut water. This study aims to determine the effect of young coconut water administration on MDA and IL-6 levels in male rats of the Wistar strain. The research subjects were 24 male rats of the Wistar strain into 4 groups. K1 standard and aquadest feeding. K2 provides a high-fat diet without young coconut water. K3 and K4 were given a high-fat diet and young coconut water at doses of 4mL/200gBB/day and 8mL/200gBB/day, respectively. The study was conducted for 14 days with blood sampling for the examination of MDA levels using the TBARS and IL-6 using the ELISA method. The average MDA level in K3 (0.071 ppm) and the average IL-6 level in K4 (4.377 ng/L). The Kruskal Wallis test showed a significant difference in MDA levels with a value of $p=0.004$ and IL-6 $p=0.020$ ($p<0.05$). The Mann Whitney test showed significant differences in MDA levels at K1, K3, and K4 ($p<0.05$). The results of the Mann Whitney test showed a significant. Giving young coconut water was shown to significantly reduce MDA and IL-6 levels in rats fed a high-fat diet.

Keywords : Young coconut water, MDA, IL-6

Abstrak

Dislipidemia adalah kelainan yang disebabkan oleh gangguan metabolisme lipid dan dapat diatasi dengan antioksidan seperti air kelapa muda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air kelapa muda terhadap kadar MDA dan IL-6 pada tikus jantan Galur Wistar. Subjek penelitian adalah 24 ekor tikus jantan dari Galur Wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok. K1 standar dan makan aquadest. K2 menyediakan diet tinggi lemak tanpa air kelapa muda. K3 dan K4 diberi diet tinggi lemak dan air kelapa muda dengan dosis masing-masing 4mL/200gBB/hari dan 8mL/200gBB/hari. Penelitian dilakukan selama 14 hari dengan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar MDA menggunakan TBARS dan IL-6 menggunakan metode ELISA. Rata-rata kadar MDA pada K3 (0,071 ppm) dan rata-rata kadar IL-6 pada K4 (4,377 ng/L). Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan kadar MDA yang signifikan dengan nilai $p=0,004$ dan IL-6 $p=0,020$ ($p<0,05$). Uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam kadar MDA pada K1, K3, dan K4 ($p<0,05$). Hasil tes Mann Whitney menunjukkan signifikan. Memberikan air kelapa muda terbukti secara signifikan mengurangi kadar MDA dan IL-6 pada tikus yang diberi diet tinggi lemak.

Kata Kunci : Air kelapa muda, MDA, IL-6

PENDAHULUAN

Dislipidemia didefinisikan sebagai kelainan metabolisme lipid yang khas dan ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida, serta penurunan *high density lipoprotein* (HDL). (Saragih, 2020) Meningkatnya LDL akibat konsumsi makanan yang mengandung lemak menyebabkan terjadinya metabolisme asam lemak bebas sehingga terjadi dislipidemia dan

berpengaruh terhadap tingginya radikal bebas dalam tubuh. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan alami tubuh menyebabkan suatu kondisi stres oksidatif yang mengakibatkan kerusakan jaringan. Hal ini dapat memicu reaksi inflamasi yang melepaskan sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-6* (IL-6) di sel endotel darah dan pencetus *Malondialdehyde* (MDA) akibat adanya oksidasi lipid pada jaringan. (Tazkia et al., 2019) Keadaan ini menyebabkan kapasitas enzim antioksidan menurun sehingga dibutuhkan suplai antioksidan alami dari luar tubuh seperti air kelapa muda. Air kelapa muda memiliki potensi yang mampu mengurangi tingkat stress oksidatif, namun belum diketahui efeknya terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar yang diberi diet tinggi lemak. (Zulaikhah, Wibowo, et al., 2021)

Air kelapa muda merupakan sumber antioksidan yang bersifat alami dan mudah didapatkan di Indonesia. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan sel yang disebabkan ROS, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid. (Zulaikhah & Wibowo, 2020) Air kelapa muda memiliki kandungan antioksidan seperti *Polyphenols*, L-Arginin dan Vitamin C. (Zulaikhah & Wibowo, 2020) Beberapa penelitian menunjukkan air kelapa muda dengan dosis 8mL/200 gBB berpengaruh terhadap IL-6 dan MDA pada tikus galur *wistar* dengan sindroma metabolik. (Pratama et al., 2022) Penelitian yang dilakukan oleh menyatakan bahwa air kelapa muda dosis 4 mL/100 grBB/hari dapat menurunkan kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur *wistar* yang diinduksi oleh STZ-Na. (Zulaikhah, Wahyuwibowo, et al., 2021) Penelitian lain yang dilakukan oleh Nova (2020) menyatakan bahwa air kelapa muda dosis 4mL/100grBW mampu meningkatkan kadar insulin plasma dan menurunkan kadar glukosa dan MDA pada tikus hamil DM tipe 2. (Nova et al., 2020) Hasil penelitian Zulaikhah, dkk (2021) menunjukkan bahwa pemberian air kelapa muda dosis 8mL/200 gBB/hari selama 4 minggu dapat menurunkan kadar TNF- α , IL-1 dan IL-6 pada tikus jantan galur wistar dengan DM tipe 2. (Zulaikhah, Wahyuwibowo, et al., 2021)

Dislipidemia menyebabkan peningkatan akumulasi lipid di hati, sehingga mengurangi kemampuan tubuh dalam menurunkan lemak darah. (Lee et al., 2017) Akumulasi kolesterol dalam sel endotel, hepatosit, leukosit, eritrosit, dan trombosit memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan mengurangi mekanisme pertahanan antioksidan. (Mittal et al., 2014) Kondisi ini menyebabkan stres oksidatif

serta berpengaruh terhadap perubahan tubuh.(Forrester et al., 2018) Konsumsi makanan yang tidak seimbang seperti makanan tinggi kolesterol dan tinggi karbohidrat menyebabkan perubahan profil lipid, terjadinya stres oksidatif, serta terjadinya inflamasi.(Elmadfa & Meyer, 2019) Peningkatan ROS dapat dinetralkan dengan mengonsumsi antioksidan dari luar tubuh seperti air kelapa muda. Air kelapa muda memiliki kandungan anti inflamasi dan antioksidan yang dapat bekerja menetralkan radikal bebas di dalam tubuh, yang diharapkan dapat mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA dan IL-6 maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian air kelapa muda terhadap kadar MDA, dan IL-6 pada tikus yang diberi diet tinggi lemak.

Maka dalam penelitian ini akan diteliti mengenai pengaruh pemberian air kelapa muda terhadap kadar MDA dan IL-6 pada tikus jantan galur *wistar* yang diberi diet tinggi lemak.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian menggunakan air kelapa muda, kuning telur puyuh, reagen TBA yang digunakan untuk mengukur MDA, reagen *Kit* IL-6. Penelitian ini menggunakan peralatan yang terdiri kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P:40 cm; L: 30 cm; T: 30 cm, timbangan tikus “Jantan galur *wistar*”, sarung tangan, pipet tetes, tabung *ependorf*, kamera digital, spektrofotometer, mikropipet, ELISA *reader*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Subyek penelitian menggunakan tikus galur *wistar* Jantan, berusia 10-12 minggu dengan berat 180-220 gr, yang di dapat dari Laboratorium IBL UNISSULA. Tikus dipelihara dengan pakan pelet yang terstandar dan air minum berupa air putih suhu ruangan pemeliharaan berkisar 28°C - 32°C dengan ventilasi dan ruangan yang cukup. Tikus kemudian dilakukan adaptasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, kelompok kontrol normal yaitu tikus galur *wistar* sehat dengan pemberian pakan standard tanpa diet tinggi lemak (K1), kelompok kontrol negatif yaitu tikus galur *wistar* dengan pemberian pakan standard yang diberi diet tinggi lemak (K2), kelompok perlakuan tikus galur *wistar* diberi air kelapa muda dengan dosis 4mL/200 gBB/hari yang diberi diet tinggi lemak (K3), kelompok perlakuan tikus galur *wistar*

diberi air kelapa muda dengan dosis 8mL/200 gBB/hari yang diberi diet tinggi lemak (K4).

1. Cara Pemberian Air Kelapa Muda

Air kelapa muda yang digunakan adalah kelapa varietas viridis (kelapa hijau) umur 5-7 bulan yang diperoleh dari pangkalan kelapa daerah Gunungpati Kota Semarang. Dosis yang diberikan adalah 4 ml/200 gBB/hari dan 8 ml/200 gBB/hari selama 14 hari.

2. Cara Induksi Diet Tinggi Lemak

Tikus dibuat hiperlipidemia dengan pemberian pakan hiperkolesterol dari kuning telur puyuh mentah diblender dan diberikan melalui sonde sebanyak 2 mL/200g BB tikus/hari selama 14 hari serta diberikan pakan standar sebanyak 20 g/hari.(Agung, 2021)

3. Cara Pemeriksaan Kolesterol Total

Pemeriksaan kolesterol dilakukan dengan cara (1) Disiapkan blangko, standart, dan sampel serum darah tikus. (2) Dimasukkan reagent kolesterol hingga 1000 µl kedalam tiga tabung reaksi yaitu tiap-tiap tabung berisi 1000 µl. (3) Dimasukkan standar kolesterol hingga 10 µl kedalam tabung yang sudah berisi 1000 µl reagen kolesterol. (4) Dimasukkan serum hingga 10 µl kedalam reagen trigliserida. (5)Diinkubasi selama 10 menit di dalam suhu 37 °C. (6) Dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm setelah 60 menit.

4. Cara Pemeriksaan MDA

Pemeriksaan MDA (*Malondialdehyde*) dilakukan dengan cara (1) Darah tikus diambil sebanyak 1 ml melalui sinus orbital. Sampel darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit diambil serum sebanyak 200 µL. (2) Ditambahkan larutan TCA 15% sebanyak 2000 µL dan tambahkan larutan TBA 0,37% dalam HCl 0,25 N sebanyak 2000 µL. (3) Dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 95°C selama 60 menit. Kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 30°C kemudian masukkan kedalam kolom *Sep-Park* C18. Sebelum digunakan kolom dicuci dengan *methanol* 5 ml dan air lalu dibuang. (4) Campuran sampel dimasukkan ke dalam kolom dan dibuang. TBA dilusi dari kolom dengan cara menambahkan 4 ml *methanol* dan kemudian ditampung dalam kuvet. (5) Kepekatan warna dibaca dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm.

Pemeriksaan IL-6 (*Interleukin-6*) dilakukan dengan cara (1) Mengambil darah

tikus sebanyak 2 ml dengan kapiler mikrohematokrit dari sinus orbitalis, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. (2) Tabung reaksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dan sel-sel darah. (3) Disiapkan reagen, sampel dan larutan *standart*. Diusahakan sudah berada dalam suhu ruang +/- 30 menit sebelum larutan dipakai. (4) Diambil *plate* dan *strip* yang berisi sumuran sesuai kebutuhan, untuk *strip* yang tidak dipakai bisa disimpan dalam pendingin dengan suhu 2-8°C. (5) Dimasukkan 50µl larutan *standart* ke dalam sumuran. Dimasukkan 40µl sampel kedalam sumuran dan tambahkan 10µl anti-IL-6 antibodi ke dalam sumuran yang berisi sampel, setelah itu tambahkan 50µl streptavidin-HRP kedalam sumuran standart dan sampel (kecuali kontrol negatif), campur larutan dan tutup dengan sealer lalu inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1jam. (6) Dibuka *sealer* dan cuci sumuran selama 5× dengan buffer cuci sebanyak 0,35 ml setiap sumuran sampai sumuran penuh, dan serap menggunakan tisu hingga kering. (7) Dimasukkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B kedalam semua sumuran, lalu inkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°C dengan kondisi tertutup (gelap) selama 10 menit (hingga larutan berubah dari bening menjadi biru). (8) Dikeluarkan *plate* berisi sumuran tambahkan 50 µl larutan stop kedalam sumuran, larutan akan berubah dari warna biru menjadi kuning. selanjutnya masukkan plate ke dalam ELISA *reader* untuk dibaca absorbansi warnanya dengan panjang gelombang baca 450 nm (hasil valid jika pembacaan dilakukan dibawah 10 menit).

HASIL

Penelitian pengaruh pemberian air kelapa muda terhadap kadar MDA dan *interleuki-6* (IL-6) yang diberi diet tinggi lemak telah dilakukan selama 28 hari. Hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Kadar MDA dan IL-6

Variabel	Kelompok				Sig.(p)
	K1 N=6	K2 N=6	K3 N=6	K4 N=6	
Kadar MDA (ppm)					
Mean	0.072	0.096	0.071	0.074	
Std.deviasi	0.011	0.003	0.007	0.008	
Shapiro Wilk	0.073*	0.050*	0.066*	0.020	
Levene Test					0.081**
Kruskal-Wallis					0.004***

Variabel	Kelompok				Sig. (p)
	K1 N=6	K2 N=6	K3 N=6	K4 N=6	
Kadar IL-6 (ng/L)					
Mean	5.043	5.760	4.830	4.377	
Std.deviasi	0.985	0.543	0.458	0.386	
Shapiro Wilk	0.154*	0.993*	0.008	0.186*	
Levene Test					0.089**
Kruskal-Wallis					0.020***
Keterangan: *Normal p>0,05 **Homogen p>0,05 ***Signifikan p<0,05					

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata kadar MDA tertinggi pada kelompok negatif (K2) yang diberi diet tinggi lemak dan aquadest (0.096 ppm). Kelompok perlakuan (K3) memperoleh kadar MDA terendah (0.071 ppm) dengan pemberian air kelapa muda dosis 4mL/200gBB/hari dan diet tinggi lemak, kemudian diikuti oleh kelompok normal (K1) dengan pemberian pakan *standard* dan aquadest, lalu kelompok perlakuan (K4) dengan pemberian air kelapa muda dosis 8mL/200gBB/hari. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna semua kelompok dengan nilai p-value 0.004 ($p < 0.05$).

Rerata kadar IL-6 tertinggi pada tabel 5.1 yaitu pada kelompok negatif (K2) yang diberi diet tinggi lemak dan aquadest (5.760 ng/L). Kelompok perlakuan (K4) dengan pemberian air kelapa muda dosis 8mL/200gBB/hari dengan diet tinggi lemak memperoleh rerata kadar IL-6 terendah (4.377 ng/L), kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan (K3) dengan pemberian air kelapa muda dosis 4mL/200gBB/hari dengan diet tinggi lemak dan kelompok normal (K1) dengan pemberian pakan *standard* dan aquadest. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna semua kelompok dengan nilai p-value 0.020 ($p < 0.05$).

1. Perbedaan Kadar MDA Antar Kelompok

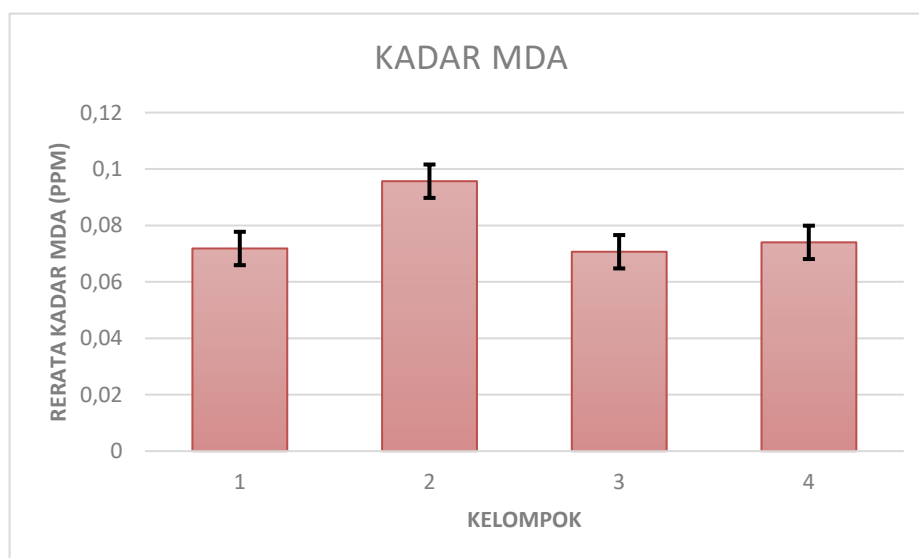
Perbedaan kadar MDA antar 2 kelompok diketahui dengan uji *Mann Whitney* seperti yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan Kadar MDA Antar 2 Kelompok

Kelompok	p-Value
K1 vs K2	0.004*
K1 vs K3	0.935
K1 vs K4	0.808
K2 vs K3	0.004*
K2 vs K4	0.004*
K3 vs K4	0.623

Kelompok	<i>p-Value</i>
K1 vs K2	0.004*

*Uji Mann Whitney dengan nilai signifikan $p < 0.05$



Gambar 1. Grafik Rerata Kadar MDA

Hasil uji *Mann Whitney* pada tabel 2 menunjukkan kadar MDA pada kelompok K1 terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K2 dengan nilai p -value 0.004 ($p < 0.05$) sedangkan tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K3 dengan nilai p value 0.935 dan kelompok K4 dengan nilai p value 0.808 ($p > 0.05$). Kelompok K2 terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K3 dan kelompok K4 dengan nilai p value $p = 0.04$ ($p < 0.05$). Kelompok K3 dengan kelompok K4 tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai p value $p = 0.623$ ($p > 0.05$). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian air kelapa muda dengan 4mL/200gBB/hari dan 8mL/200gBB/hari berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar MDA pada tikus jantan galur *wistar* yang diberi diet tinggi lemak sehingga pernyataan hipotesis diterima.

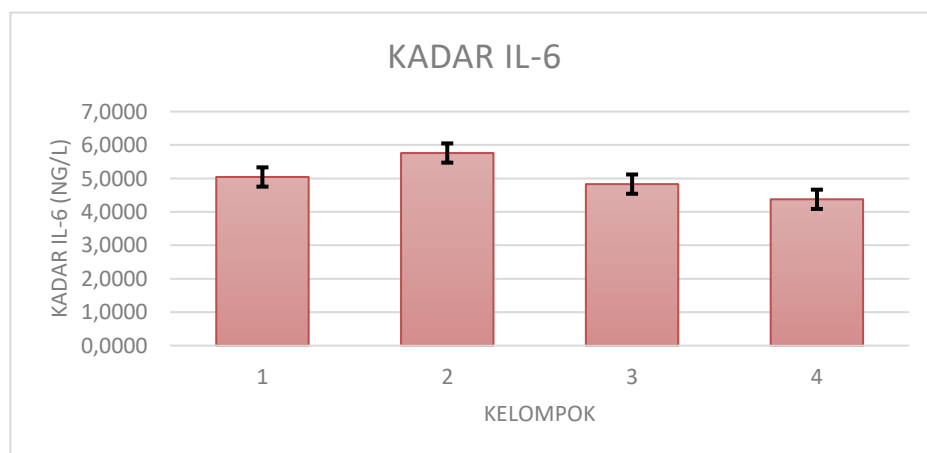
2. Perbedaan Kadar IL-6 Antar Kelompok

Perbedaan kadar IL-6 antar 2 kelompok diketahui dengan uji *Mann Whitney* seperti yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Perbedaan Kadar IL-6 Antar 2 Kelompok

Kelompok	<i>p-Value</i>
K1 vs K2	0.109
K1 vs K3	0.749
K1 vs K4	0.261
K2 vs K3	0.016*
K2 vs K4	0.004*
K3 vs K4	0.261
K1 vs K2	0.109

*Uji *Mann Whitney* dengan nilai signifikan $p < 0.05$



Gambar 2. Grafik Rerata Kadar IL-6

Hasil uji *Mann Whitney* pada tabel 3 menunjukkan kadar IL-6 pada kelompok K1 tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K2 dengan nilai p -value 0.109, kelompok K3 dengan nilai p -value 0.749 dan kelompok K4 dengan nilai p -value 0.261 ($p > 0,05$). Kelompok K2 terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K3 dan kelompok K4 dengan nilai $p < 0.05$. Kelompok K3 dengan kelompok K4 tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai p value $p = 0.261$ ($p < 0.05$). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian air kelapa muda dengan 4mL/200gBB/hari dan 8mL/200gBB/hari berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar IL-6 pada tikus jantan galur *wistar* yang diberi diet tinggi lemak sehingga pernyataan hipotesis diterima.

DISKUSI

Penelitian ini menggunakan sampel 24 ekor tikus wistar jantan yang terbagi menjadi 4 kelompok masing-masing berjumlah 6 ekor tikus, yaitu kelompok normal (K1) dengan pemberian pakan standar dan aquadest, kelompok negatif (K2) yang diberi diet tinggi lemak, kelompok perlakuan (K3) diberi air kelapa muda dengan dosis 4 mL/200gBB/hari dan diberi diet tinggi lemak, dan kelompok perlakuan (K4) diberi air kelapa dengan dosis 8 mL/200gBB/hari yang diberi diet tinggi lemak. Hari ke 15 dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol, HDL dan LDL tikus, kemudian pada hari ke- 29 untuk pemeriksaan kadar MDA dan IL-6. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar karena mempunyai kemiripan dengan manusia dalam hal fisiologi, anatomi, dan banyak gejala dan kondisi manusia yang dapat direplikasikan pada tikus.

Dislipidemia menyebabkan peningkatan akumulasi lipid di hati, sehingga mengurangi kemampuan tubuh dalam menurunkan lemak darah. (Lee et al., 2017) Akumulasi kolesterol dalam sel endotel, hepatosit, leukosit, eritrosit, dan trombosit memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan mengurangi mekanisme pertahanan antioksidan. (Mittal et al., 2014) Kondisi ini menyebabkan stres oksidatif serta berpengaruh terhadap perubahan tubuh. (Forrester et al., 2018) Konsumsi makanan yang tidak seimbang seperti makanan tinggi kolesterol dan tinggi karbohidrat menyebabkan perubahan profil lipid, terjadinya stres oksidatif, serta terjadinya inflamasi. (G & P, 2015) Kelompok perlakuan menunjukkan kadar kolesterol meningkat (>54 mg/dL), LDL (>27,2 mg/dL) dan HDL (<35 mg/dL) akibat pemberian diet tinggi lemak menggunakan kuning telur sebanyak 2 ml/ekor/hari dengan cara di sounde selama 14 hari pada K2, K3, dan K4.

Diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan *Lipopolysaccharides* (LPS) plasma dan mengaktifkan *toll-like receptor 4* (TLR4) sehingga terjadi peningkatan kadar sitokin inflamasi, seperti interleukin (IL-6, IL-17 dan TNF- α) yang dapat menyebabkan peningkatan ROS. (Peluso et al., 2012) Peningkatan ROS dapat dinetralkan dengan mengkonsumsi antioksidan dari luar tubuh seperti air kelapa muda. Air kelapa muda memiliki kandungan anti inflamasi dan antioksidan yang dapat bekerja menetralkan radikal bebas di dalam tubuh, yang diharapkan dapat mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA dan IL-6.

Hasil pemeriksaan kadar MDA pada kelompok K2 yang diberi diet tinggi lemak tanpa pemberian air kelapa muda mengalami peningkatan yang signifikan dibanding dengan kelompok K1, kelompok yang diberi air kelapa dengan dosis 4 mL/200 gBB/hari (K3) dan 8 mL/200 gBB/hari (K4) seperti pada tabel 5.1. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan hiperkolestroemia akan memicu terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid*, PUFA) yang terdapat pada membran sel dan LDL. Akibatnya pembuluh darah dapat semakin tebal oleh hal tersebut. Asam lemak tak jenuh ganda yang mengalami peroksidasi membentuk produk yang bersifat toksik bagi tubuh yaitu *Malondialdehid* (MDA). (Lusiantari et al., 2018)

Kadar MDA pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan pemberian air kelapa muda dengan dosis 4 mL/200 gBB/hari dan 8 mL/200 gBB/hari mengalami penurunan seperti pada tabel 5.1. Pemberian air kelapa muda terbukti dapat menghambat kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dan dapat menurunkan kadar MDA. Air kelapa muda selain mengandung vitamin dan mineral, juga mengandung DPPH *free radical scavenging* yang dapat meredam peningkatan radikal bebas. Air kelapa juga mengandung asam askorbat. Asam askorbat selain berperan dalam sintesis kolagen, karnitin dan neurotransmitter, juga berperan pada metabolisme mikrosomal serta mempunyai aktifitas sebagai antioksidan. Asam askorbat sebagai agen reduksi atau sebagai donor elektron pada sistem antioksidan. Asam askorbat memberikan gugus ion *hydrogen* pada ROS/NOS pada intraseluler. (Mulyanti, 2016) Penelitian lain yang hampir sama dilakukan oleh Nova menyatakan bahwa air kelapa muda dosis 4mL/100gBB mampu meningkatkan kadar insulin plasma dan menurunkan kadar glukosa dan MDA pada tikus hamil DM tipe 2. (Nova et al., 2020)

Hasil pemeriksaan kadar IL-6 pada kelompok K2 yang diberi diet tinggi lemak tanpa pemberian air kelapa muda mengalami peningkatan yang signifikan dibanding dengan kelompok kontrol (K1), kelompok yang diberi air kelapa dengan dosis 4 mL/200 gBB/hari (K3) dan 8 mL/200 gBB/hari (K4) seperti pada tabel 5.1. Pemberian pakan lemak mampu menginduksi ROS yang akan berdampak pada metabolisme lipid. Saat terjadi gangguan metabolisme lipid akan terjadi peningkatan massa jaringan adiposa yang disebabkan oleh energi yang masuk lebih tinggi dari pada energi yang

dikeluarkan, sehingga terjadi peningkatan ukuran dan jumlah pada jaringan adiposa. Terjadinya peningkatan ukuran dan jumlah pada jaringan adiposa, menghantarkan produksi sitokin pro inflamatori salah satunya IL-6. Hal tersebut diakibatkan adanya stres oksidatif yang akan mengaktivasi Bax pada mitokondria sehingga terjadi pelepasan *cytochrome-c*. (Ferenčić et al., 2018) Pelepasan tersebut berdampak pada penghambatan aliran elektron pada rantai respirasi. Level β -oksidasi dan FFA juga mengalami peningkatan sehingga adanya peningkatan pada kadar NADH, FADH, dan pengiriman elektron menuju ke rantai respirasi. Ketidakseimbangan pengiriman elektron dan pengeluaran elektron tersebut menimbulkan adanya akumulasi elektron pada rantai respirasi yang akan membentuk kelebihan *nitric oxide* (NO) oleh *nitric oxide synthase* (iNOSS) yang selanjutnya terjadi aktivasi ekspresi NF- κ B untuk menginduksi IL-6. (Glass & Olefsky, 2012)

Kadar IL-6 pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan pemberian air kelapa muda dengan dosis 4mL/200gBB/hari dan 8mL/200gBB/hari mengalami penurunan seperti pada tabel 5.1. Air kelapa mengandung Vitamin B, asam folat, piridoksin, gula, vitamin C, asam amino bebas, phytohormon (*auxin*, *1,3-diphenylurea*, *cytokinin*), beberapa enzim, serta *growth promoting factors*. Asam amino bebas yaitu L-arginin yang terkandung dalam air kelapa dapat menurunkan secara signifikan kadar radikal bebas dalam tubuh. Efek antioksidan pada air kelapa dapat memulihkan sensitivitas dari insulin dan memiliki efek antihipertensi. Arginin juga memiliki efek untuk meregenerasi sel β pankreas yang menyebabkan aktivitas dari enzim yang mengatur metabolisme karbohidrat dan kerusakan pada pankreas dapat kembali normal. (DebMandal & Mandal, 2011)

Keterbatasan penelitian ini adalah pemberian dosis air kelapa muda yang tidak sesuai dengan berat badan tikus. Berat badan tikus rata-rata 250 gram dengan pemberian air kelapa muda dosis 4mL/200gBB/hari dan 8mL/200gBB/hari, seharusnya perhitungan dosis disesuaikan berat badan tikus dengan pemberian air kelapa muda. Peneliti tidak melakukan pemeriksaan kolesterol, LDL dan HDL setelah akhir perlakuan sehingga diharapkan dapat dilakukan pemeriksaan kolesterol, LDL dan HDL setelah perlakuan.

KESIMPULAN

Pemberian air kelapa muda dengan dosis 4mL/200 gBB/hari dan dosis 8mL/200 gBB/hari terbukti berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada tikus jantan galur *wistar* yang diberi diet tinggi lemak. Pemberian air kelapa muda dosis 4mL/200 gBB/hari dan dosis 8mL/200 gBB/hari terbukti berpengaruh terhadap penurunan kadar IL-6 pada tikus jantan galur *wistar* yang diberi diet tinggi lemak. Kadar MDA dan IL-6 kelompok yang diberi air kelapa muda lebih rendah secara signifikan dibanding dengan kelompok kontrol. Terdapat perbedaan yang signifikan rerata kadar MDA dan kadar IL-6 antar kelompok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami berterima kasih kepada Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran UNISSULA untuk laboratorium yang telah kami gunakan untuk penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak Ada. Setiap kepentingan, hubungan keuangan, hubungan pribadi, keyakinan agama atau politik yang mungkin mempengaruhi objektivitas penulis dapat dianggap sebagai sumber potensial konflik kepentingan. Semua naskah yang dikirimkan ke jurnal harus menyertakan pernyataan pengungkapan konflik kepentingan atau pernyataan oleh penulis bahwa mereka tidak memiliki konflik kepentingan untuk dinyatakan.

REFERENSI

- Agung, L. R. (2021). Pengaruh Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Kadar Triglicerida dan Kolesterol Total Darah Pada Penderita Dislipidemia. *Jurnal Ilmu Kesehatan Sandi Husada*, 10, 408-412. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.617>
- DebMandal, M., & Mandal, S. (2011). Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3), 241-247. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60078-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60078-3)
- Elmadfa, I., & Meyer, A. L. (2019). The Role of the Status of Selected Micronutrients in Shaping the Immune Function. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders -*

- Drug Targets*, 19(8), 1100-1115.
<https://doi.org/10.2174/1871530319666190529101816>
- Ferdian, J., & Wijayahadi, N. (2018). Pengaruh pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus Rotundus* L.) Terhadap Kuantitas Asi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Betina. *Journal Kedokteran Diponegoro*, 7(2), 655-666.
- Ferenčić, A., Šoša, I., Stemberga, V., & Cuculić, D. (2018). *Obesity-related low-grade chronic inflammation: implementation of the dietary inflammatory index in clinical practice is the milestone?* 54(2), 108-117.
<https://doi.org/10.21860/medflum2018>
- Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandez, M. S., Xu, Q., & Griendling, K. K. (2018). Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation Research*, 122(6), 877-902. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311401>
- G, M., & P, K. M. (2015). Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets. *Journal Food Microbiology*, 1, 1-2.
- Glass, C. K., & Olefsky, J. M. (2012). Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metabolism*, 15(5), 635-645.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.001>
- Lee, K. S., Chun, S. Y., Kwon, Y. S., Kim, S., & Nam, K. S. (2017). Deep sea water improves hypercholesterolemia and hepatic lipid accumulation through the regulation of hepatic lipid metabolic gene expression. *Molecular Medicine Reports*, 15(5), 2814-2822. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6317>
- Lusiantari, R., Pramaningtyas, M. D., Nurmasitoh, T., Pattimura, R. H., & Dewanti, A. (2018). Shortening tends to increase aortic foam cell count and wall thickness in male Wistar rats. *Universa Medicina*, 37(1), 13-18.
<https://doi.org/10.18051/univmed.2018.v37.13-18>
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7), 1126-1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
- Mulyanti. (2016). PENGARUH PEMBERIAN AIR KELAPA MUDA (COCOS THE EFFECTS OF TENDER COCONUT WATER (COCOS NUCIFERA L) ON PARASITEMIA INDEX , MALONDIALDEHYDE LEVELS AND HEMOGLOBIN LEVELS Magister Ilmu Gizi Mulyanti Juni. *Universitas Diponegoro*.
- Nova, F. S., Chasani, S., Hussanna, A., & Zulaikhah, S. T. (2020). Tender coconut water Inhibits the process of lipid peroxidation, reduce glucose levels, and increase plasma insulin in pregnant diabetic rats. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 162-167. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.24>

- Peluso, I., Raguzzini, A., Villano, D. V, Cesqui, E., Toti, E., Catasta, G., & Serafini, M. (2012). High Fat Meal Increase of IL-17 is Prevented by Ingestion of Fruit Juice Drink in Healthy Overweight Subjects. *Curr Pharm Des*, 12(1), 85-90. <https://doi.org/10.2174/138161212798919020>
- Pratama, A. A., Zulaikhah, S. T., & ... (2022). Pemberian Air Kelapa Muda untuk Menurunkan Kadar Glukosa Darah Puasa pada Tikus dengan Sindroma Metabolik. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 13(November 2022), 197-199. <http://dx.doi.org/10.33846/sf13nk335>
- Saragih, A. D. (2020). Terapi Dislipidemia untuk Mencegah Resiko Penyakit Jantung Koroner. *Indonesian Journal of Nursing and Health Sciences*, 1(1), 15-24. <https://doi.org/10.37287/ijnhs.v1i1.223>
- Tazkia, R., Amalia, Y., & Damayanti, D. S. (2019). The Effects of Soursop (*Annona Muricata*) Leaves Water Extract in SOD and MDA Hepar Levels of Wistar Rats Induced High Fat and High Fructose Diet. *Jurnal Biokomplementer Medicine*, 6(3), 1-8. riset.unisma.ac.id
- Upa, F. T., Saroyo, S., & Katili, D. Y. (2017). KOMPOSISI PAKAN TIKUS EKOR PUTIH (*Maxomys hellwandii*) DI KANDANG. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 7. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.14900>
- Zulaikhah, S. T., Wahyuwibowo, J., Suharto, M. N., Enggartiasto, B. H., Ortanto, M. I. R., & Pratama, A. A. (2021). Effect of tender coconut water (TCW) on TNF- α , IL-1 and IL-6 in streptozotocin (STZ) and nicotinamid (NA) induced diabetic rats. *Pharmacognosy Journal*, 13(2), 500-505. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.63>
- Zulaikhah, S. T., & Wibowo, J. W. (2020). Pengaruh Pemberian Air Kelapa Muda Terhadap Kadar Ureum Pada Tikus Galur Wistar Yang Terpapar Plumbum (Pb). *Jurnal Penelitian Kesehatan "SUARA FORIKES" (Journal of Health Research "Forikes Voice")*, 11(2), 198. <https://doi.org/10.33846/sf11221>
- Zulaikhah, S. T., Wibowo, J. W., & Wibowo, M. S. B. (2021). Pengaruh Air Kelapa Muda Terhadap Kadar Antioksidan Endogen Akibat Paparan Asap Rokok pada Tikus Jantan Galur Wistar Siti Thomas Zulaikhah. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 12(6), 290-293. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.33846/sf12315>
-

ANALISIS HASIL QUALITY CONTROL PEMERIKSAAN ELEKTROLIT BERDASARKAN ATURAN WESGRAD DILABORATORIUM RUMAH SAKIT

Feronica Putri Pratama¹ · Dewi Hartati² · Bastian^{3*} · Atika Putri Wulandari⁴

^{1,2,3,4} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, IKesT Muhammadiyah Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia
e-Mail: bastiandarwin51@gmail.com
No Tlp WA : : 081369141311

Abstract

Internal quality improvement (PMI) is a routine monitoring and prevention activity carried out by the laboratory to minimize the occurrence of errors in order to achieve accurate test results. Before the examination is carried out, of course, quality control is carried out first to maintain the quality of the results that will be issued. Various applications are carried out such as monitoring the Levey-Jenning graph, following Westgard's rules and recording the coefficient of variation (CV%) for internal quality control purposes. From this study to determine the analysis of quality control results of electrolyte examination based on Wesgrad rules in the hospital laboratory. Quantitative Descriptive, this research was conducted at RSMP and East OKU Hospital. The population taken is all secondary data on the quality control results of electrolyte examination, the samples used in this study are secondary data in October-December 2023 and January 2024. The accuracy value of electrolyte examination at RSMP and East OKU Hospital has a good bias value characterized by no bias value that exceeds the maximum limit of $\pm 10\%$. The level of precision in the electrolyte examination of RSMP and East OKU Hospital has a very precise level of precision because it has a value > 1 . Evaluation of the Levey-Jenning graph using the Westgard rule on electrolyte examination at RSMP found many errors 1-2 S, 1-3 S, 10X while at East OKU Hospital there were errors 1-2 S, R-1 S and 1-3 S. There is a significant difference in the results of the quality control analysis of electrolyte examination based on the Westgard rule in the hospital laboratory.

Keywords: Accuracy, Electrolyte, Precision, Quality Control

Abstrak

Peningkatan mutu internal (PMI) merupakan kegiatan pemantauan dan pencegahan rutin yang dilakukan oleh laboratorium untuk meminimalkan terjadinya kesalahan guna mencapai hasil pengujian yang akurat. Sebelum dilakukannya pemeriksaan tentunya dilakukan terlebih dahulu quality control untuk menjaga kualitas hasil yang akan dikeluarkan. Berbagai penerapan yang dilakukan seperti memantau grafik Levey-Jenning, mengikuti aturan Westgard dan mencatat koefisien variasi (CV%) untuk tujuan pengendalian kualitas internal. Dari Penelitian ini untuk mengetahui analisis hasil quality control pemeriksaan elektrolit berdasarkan aturan Westgard di Laboratorium Rumah sakit. Deskriptif Kuantitatif, penelitian ini dilakukan di RSMP dan RSUD OKU Timur. Populasi yang diambil adalah seluruh data sekunder hasil quality control pemeriksaan elektrolit, Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah data sekunder pada bulan Oktober-Desember 2023 dan Januari 2024. Nilai akurasi pada pemeriksaan elektrolit pada RSMP dan RSUD OKU Timur memiliki nilai bias yang baik ditandai dengan tidak ada nilai bias yang melebihi batas maksimal $\pm 10\%$. Tingkat presisi pada pemeriksaan elektrolit RSMP dan RSUD OKU Timur memiliki tingkat presisi yang sangat teliti karena memiliki nilai > 1 . Evaluasi grafik Levey-Jenning menggunakan aturan Westgard pada pemeriksaan elektrolit pada RSMP banyak ditemukan kesalahan 1-2 S, 1-3 S, 10X sedangkan pada RSUD OKU Timur terjadi kesalahan 1-2 S, R-1 S dan 1-3 S. Terdapat perbedaan yang signifikan hasil penelitian analisis quality control pemeriksaan elektrolit berdasarkan aturan Westgard di laboratorium rumah sakit.

Kata Kunci : Akurasi, Elektrolit, Presisi, Quality Control

PENDAHULUAN

Laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan pengujian spesimen klinis untuk menunjang diagnosis dengan mengidentifikasi dan menganalisis penyakit secara kuantitatif dan kualitatif. Dalam pelayanan kesehatan, laboratorium klinik berperan dalam mengumpulkan informasi kesehatan individu, terutama mendukung upaya diagnosis, pengobatan dan pemulihan kesehatan (Viona, 2022).

Pelayanan pemeriksaan laboratorium kesehatan sangat penting dalam menunjang diagnosis penyakit atau monitoring kesembuhan dari pasien. Di laboratorium, kesalahan dalam pelayanan dapat dikategorikan menjadi tiga, yaitu kesalahan preanalitik dengan presentase kesalahan 60 - 70%, kesalahan analitik dengan presentase kesalahan 10 - 15% dan kesalahan pasca analitik dengan presentase kesalahan 15 - 18% (Rahmawati, 2020).

Berdasarkan hasil survei yang diadakan oleh wesgrad QC disebutkan bahwa 55% dari 900 laboratorium dari 105 negara yang mengikuti "The Great Global QC Survei" masih sering terjadi kesalahan analitik terutama dalam menggunakan aturan QC. Dimana jika tidak memahami penggunaan aturan ini dapat menciptakan kepalsuan tingkat penolakan yang signifikan dan dijelaskan juga bahwa nilai diluar kendali banyak terjadi di laboratorium dengan rentang 2 SD yang artinya 2 SD yang ada bukanlah 2 SD yang sebenarnya. Di Indonesia pada tahun 2019 disebutkan bahwa dari 30 laboratorium yang ada di kota Bandung sebagian besar belum menerapkan quality control atau sebesar 72% laboratorium yang belum melakukan kontrol kualitas dan menangani data dengan baik (Wicaksono et al., 2019).

Mewujudkan laboratorium klinik yang baik, hasil yang berkualitas sangat diperlukan untuk mendukung upaya peningkatan mutu kesehatan masyarakat. Peningkatan mutu internal (PMI) merupakan kegiatan pemantauan dan pencegahan rutin yang dilakukan oleh laboratorium untuk meminimalkan terjadinya kesalahan atau penyimpangan guna mencapai hasil pengujian yang akurat (Rahayu, 2022).

Salah satu upaya untuk mendapatkan hasil akurat adalah dengan memperkuat pemantapan mutu. Pemantapan mutu laboratorium mengacu pada keseluruhan proses atau serangkaian tindakan yang dilakukan untuk menjamin kelengkapan dan keakuratan (akurasi dan presisi) hasil pengujian. Pemantapan mutu (QC) adalah

suatu proses atau tahapan suatu proses yang dilakukan untuk mengevaluasi proses pengujian, untuk memastikan sistem mutu berfungsi dengan baik dan dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi dan meminimalkan ketidaksesuaian serta memahami sumber dari kesalahan pemeriksaan laboratorium (Farikha et al., 2023).

Pemeriksaan laboratorium cenderung terjadi kesalahan pada analitik baik secara acak maupun secara sistematis. Kesalahan acak menandakan tingkat presisi, sementara kesalahan sistemik menandakan tingkat akurasi suatu metode atau alat. Tujuan kontrol kualitas adalah untuk memastikan apakah sistem mutu telah sesuai serta mengetahui ada atau tidak penyimpangan yang terjadi berdasarkan sumber dari penyimpangan yang dilakukan oleh teknisi laboratorium (Viona, 2022). Teknisi laboratorium medis sering kali dilatih untuk menguji dan menjalankan kembali kontrol hingga batas yang dapat diterima tercapai. Baru setelah itu spesimen dapat dianalisis. Kualitas pelayanan didasarkan pada penilaian terhadap hasil keseluruhan dari pelayanan laboratorium dan salah satu poin penting terletak pada kualitas pengujian atau parameter yang diuji. Salah satu parameter yang diuji adalah pengujian elektrolit (Rahayu, 2022).

Pengujian elektrolit dilakukan untuk mengidentifikasi gangguan keseimbangan elektrolit dalam tubuh. Elektrolit adalah senyawa yang terdisosiasi menjadi ion bermuatan positif dan negatif dalam larutan. Ion yang bermuatan positif disebut kation dan ion yang bermuatan negatif disebut anion. Kation yang terdapat dalam cairan tubuh antara lain natrium (Na^+), kalium (K^+), kalsium (Ca^{2+}) dan magnesium (Mg^{2+}), sedangkan anion meliputi klorida (Cl^-), bikarbonat (HCO_3^-) dan fosfat (HPO_4^{2-}). Berbagai gangguan yang dapat terjadi apabila kekurangan atau kelebihan cairan elektrolit. Oleh karena itu pemeriksaan elektrolit penting untuk dilakukan (Irwadi & Fauzan, 2022).

Sebelum dilakukannya pemeriksaan elektrolit tersebut tentunya dilakukan terlebih dahulu quality control untuk menjaga kualitas hasil yang akan dikeluarkan. Setiap hari pastinya pihak laboratorium melakukan quality control harian untuk melihat adanya kemungkinan terjadi perbedaan hasil, tapi selama ini tidak pernah dilakukan analisis yang mendalam terkait hasil quality control harian menggunakan aturan wesgrad untuk mengevaluasi apakah akurasi dan presisi pada pengujian tersebut telah sesuai. Hasil akurasi dan presisi yang baik serta dilakukan dengan tepat dapat memberikan nilai tambah tersendiri bagi rumah sakit serta menunjukkan

bahwa kualitas tenaga laboratorium di rumah sakit tersebut memang kompeten (Farikha et al., 2023).

Berbagai penerapan yang dilakukan untuk menjaga kualitas dalam pemeriksaan dilaboratorium, hal ini termasuk memantau grafik Levey Jenning (LJ), mengikuti aturan Westgard, dan mencatat koefisien variasi (CV%) untuk tujuan pengendalian kualitas internal. Westgard menyajikan suatu seri aturan untuk membantu evaluasi pemeriksaan grafik kontrol. Menggunakan aturan kontrol yang tepat grafik levy jennings dengan penilaian westgard sehingga dapat mendeteksi setiap sinyal diluar kendali (Prasetya et al., 2021).

Analisis grafik quality control menggunakan aturan Westgard sangat penting dilakukan sebab aturan westgard menjadi suatu kriteria keputusan untuk menilai apakah pemeriksaan yang dilakukan berada dalam kendali atau diluar kendali. Sehingga jika pemeriksaan diluar kendali dapat dilakukan perbaikan sesuai dengan penyebab yang terjadi (Nagaraj et al., 2021).

Penelitian Purnama and Atri, (2021) bahwa dalam pengawasan Quality control pemeriksaan hemoglobin didapatkan hasil akurasi dan presisi yang baik. Pada westgrad multirule tidak ada angka quality control yang melewati batas aturan westgard multirule sehingga quality control pemeriksaan hemoglobin memenuhi target pelayanan analisa sampel pasien.

Penelitian Farikha et al., (2023) analisis kontrol kualitas pemeriksaan trombosit dan leukosit ditemukan kesalahan pada Evaluasi grafik kontrol levey jennings dan aturan westgard didapatkan nilai kontrol yang keluar dari batas 2SD dan mendapatkan aturan 1-2S. Nilai sigma metrik pada pemeriksaan trombosit dan leukosit didapatkan nilai sigma >6.

Penelitian Rahayu, (2022) penilaian quality control pada pemeriksaan leukosit, eritrosit dan trombosit menunjukkan ketiga pemeriksaan memiliki presisi dan akurasi yang baik. Namun pemeriksaan leukosit setelah dievaluasi dengan grafik levey-jennings ditemukan adanya aturan 1-3s disebabkan oleh random error, aturan 3-1s dan 8x disebabkan oleh systematic error dan untuk pemeriksaan eritrosit dan trombosit setelah dievaluasi tidak didapatkan kesalahan pada aturan wesgrad.

Hasil penelitian Schmidt et al.,(2023) dalam kontrol kualitas presisi didapatkan bahwa aturan Westgard memiliki beberapa keunggulan dari grafik kontrol Shewhart seperti penafsiran yang lebih detail dan juga sederhana. Aturan wesgrad juga lebih

detail dalam menentukan risiko positif palsu dan negatif palsu. Hal inilah yang membuat aturan wesgrad sangat disarankan dalam pemantapan mutu di laboratorium.

Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis merasa tertarik untuk melakukan penelitian tentang Analisis Hasil Quality Control Pemeriksaan Elektrolit berdasarkan aturan Wesgrad dilaboratorium Rumah Sakit.

BAHAN DAN METODE

Menurut (Hardani et al., 2015) Populasi adalah keseluruhan objek penelitian yang sebagai sumber data yang memiliki karaktersitik tertentu di dalam suatu penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh data sekunder hasil quality control harian 2 parameter pemeriksaan elektrolit (kalium dan Natrium) dari bulan Oktober - Desember 2023 dan Januari 2024 di Laboratorium Rumah Sakit Muhammadiyah dan RSUD OKU Timur.

Menurut (Hardani et al., 2015) Sampel adalah sebagian anggota populasi yang mewakili populasi yang akan diambil. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah total sampling. Total Sampling adalah teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi. Sampel dalam penelitian adalah seluruh data sekunder hasil quality control harian 2 parameter pemeriksaan elektrolit (Kalium dan Natrium) di Laboratorium Rumah Sakit Muhammadiyah dan RSUD OKU Timur.

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini menggunakan data sekunder yang diperoleh dengan mengambil hasil quality control harian pemeriksaan elektrolit bulan Oktober - Desember 2023 dan Januari 2024 di Laboratorium Rumah Sakit Muhammadiyah dan RSUD Oku Timur. Instrumen pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan Ceklist yang meliputi pencatatan quality control harian elektrolit (kalium dan natrium) disetiap bulannya.

Data berupa hasil quality control pemeriksaan elektrolit. Data yang di dapatkan dari pemeriksaan laboratorium, dilakukan observasi hasil pemeriksaan elektrolit dari quality control harian dianalisis, kemudian dibuat grafik Levey Jenning dengan terlebih dahulu menghitung presisi dan akurasi. Grafik Levey Jennings dari serum control tersebut kemudian di analisis dengan menggunakan aturan Westgard (Syapitri et al., 2021).

HASIL

Hasil uji presisi Natrium RSMP dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Presisi Natrium RSMP

Bulan	Mean	SD	CV
Oktober	141	2,36	1,68
November	140,8	0,72	0,5
Desember	138,5	2,14	1,5
Januari	140,1	1,85	1,3

Hasil uji presisi Natrium RS OKU Timur dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Presisi Natrium RS OKU

Bulan	Mean	SD	CV
Oktober	136	0,86	0,63
November	136,5	0,95	0,7
Desember	136,2	0,95	0,7
Januari	136,1	0,99	0,7

Hasil uji presisi kalium RSMP dapat dilihat pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Presisi Kalium RSMP

Bulan	Mean	SD	CV
Oktober	3,76	0,23	0,06
November	3,79	0,04	1,00
Desember	3,74	0,11	0,03
Januari	3,8	0,09	0,02

Hasil uji presisi kalium RS OKU Timur dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil uji presisi kalium RS OKU Timur

Bulan	Mean	SD	CV
Oktober	3,60	0,02	0,6
November	3,60	0,03	0,9
Desember	3,59	0,03	0,7
Januari	3,59	0,02	0,4

Hasil d% Natrium di RSMP dapat dilihat pada tabel 5 sebagai berikut:

Tabel 5. Hasil d% Natrium di RSMP

Bulan	Mean	Na	d%	Rentang
Oktober	141	141	0,18	±5
November	140,8	141	0,18	±5
Desember	138,5	141	1,78	±5
Januari	140,1	141	0,60	±5

Hasil d% Natrium di RS OKU Timur dapat dilihat pada tabel 6 sebagai berikut:

Tabel 6. Hasil d% Natrium di RS OKU Timur

Bulan	Mean	Na	d%	Rentang
Oktober	136	136	0,63	±5
November	136,5	136	0,34	±5
Desember	136,2	136	0,17	±5
Januari	136,1	136	0,07	±5

Hasil uji d% kalium di di RS OKU Timur dapat dilihat pada tabel 7 sebagai berikut:

Tabel 7. Hasil uji d% kalium di di RS OKU Timur

Bulan	Mean	Na	d%	Rentang
Oktober	3,76	3,8	1,10	±5
November	3,79	3,8	0,23	±5
Desember	3,74	3,8	1,48	±5
Januari	3,8	3,8	0,05	±5

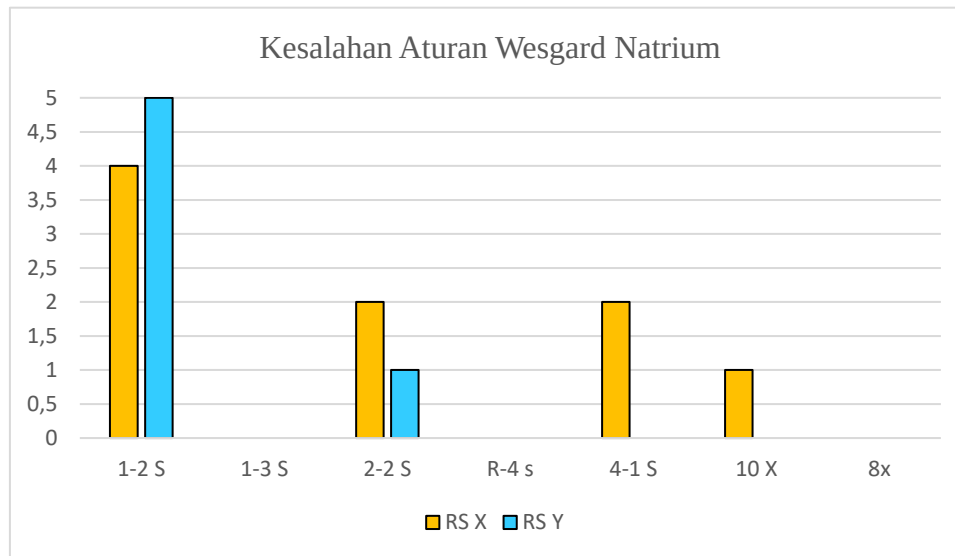
Hasil d% kalium di RS OKU Timur dapat dilihat pada tabel 8 sebagai berikut:

Tabel 8. Hasil d% kalium di RS OKU Timur

Bulan	Mean	Na	d%
Oktober	3,60	3,6	0,07
November	3,60	3,6	0,1
Desember	3,59	3,6	0,16
Januari	3,59	3,6	0,03

Kesalahan di aturan Wesgrad

a. Natrium

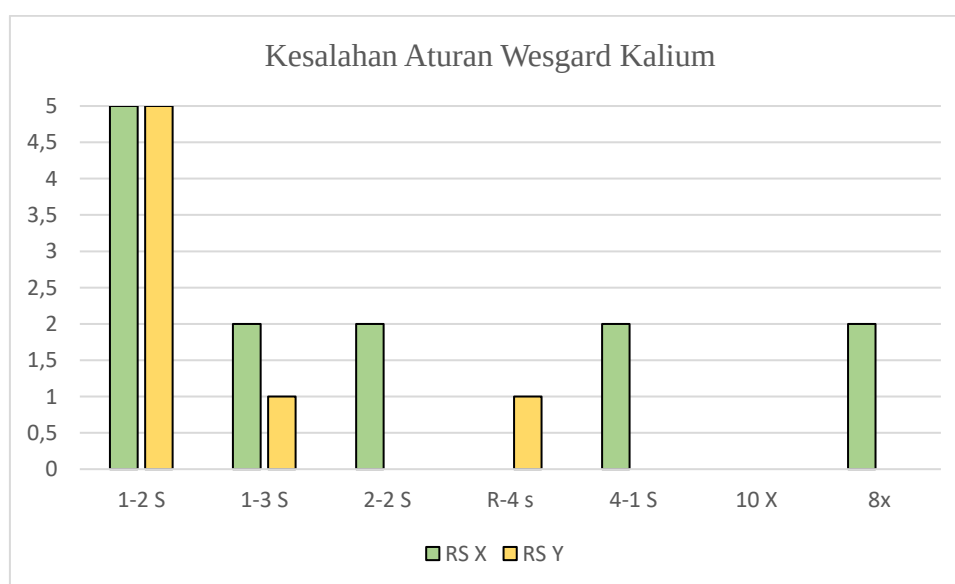


Gambar 1. Diagram kesalahan Aturan Wesgrad Natrium

Berdasarkan diagram Dilihat dari gambar grafik diatas pada aturan wesgrad Natrium 1-2 S kebanyakan bahan kontrol yang masuk di aturan ini terjadi di RSUD OKU Timur dengan jumlah kesalahan sebanyak 5 kali. Kemudian untuk RSMP kesalahan 1-2 S terjadi sebanyak 4 kali. Pada aturan ini masih bisa dilakukan pemeriksaan karena hanya peringatan saja dan terjadi karena kesalahan acak. Aturan wesgrad 1-3 S tidak ditemukan di RSMP dan RSUD OKU Timur.

Aturan wesgrad 2-2 S ditemukan pada RSMP sebanyak 2 bahan kontrol yang keluar. sedangkan, di RSUD OKU Timur ditemukan 1 bahan kontrol yang keluar. Kesalahan ini biasanya terjadi akibat kesalahan sistematis dan termasuk penolakan. Aturan wesgrad R-4 S tidak ditemukan di RSMP dan RSUD OKU Timur. Aturan wesgrad 4 1 S ditemukan di RSMP sebanyak 2 bahan kontrol yang keluar dan termasuk penolakan. Aturan 10 x juga ditemukan di RSMP kesalahan ini biasanya terjadi jika data yang didapat berturut turut di satu sisi yang sama dan termasuk kesalahan sistematis.

b. Kalium



Gambar 2. Diagram kesalahan Aturan Wesgrad Kalium

Berdasarkan diagram Dilihat dari gambar grafik diatas pada aturan wesgrad Natrium 1-2 S RSMP dan RSUD OKU Timur sama-sama terjadi kesalahan 1-2 S terjadi sebanyak 5 kali. Pada aturan ini masih bisa dilakukan pemeriksaan karena hanya peringatan saja dan terjadi karena kesalahan acak. Aturan wesgrad 1-3 S ditemukan di RSMP sebanyak 2 kesalahan dan RSUD OKU Timur sebanyak 1 kesalahan.

Aturan wesgrad 2-2 S ditemukan pada RSMP sebanyak 2 bahan kontrol yang keluar. sedangkan, di RSUD OKU Timur tidak ditemukan bahan kontrol yang keluar. Kesalahan ini biasanya terjadi akibat kesalahan sistematis dan termasuk penolakan. Aturan wesgrad R-4 S ditemukan di RSMP sebanyak 1 bahan kontrol yang keluar. Aturan wesgrad 4-1 S ditemukan di RSMP sebanyak 2 bahan kontrol yang keluar dan termasuk penolakan. Aturan 10 x tidak ditemukan di RSMP maupun RSUD OKU Timur. Aturan 8x ditemukan di RSMP sebanyak 1 bahan kontrol yang keluar aturan wesgrad. kesalahan ini biasanya terjadi jika data yang didapat berturut turut di satu sisi yang sama dan termasuk kesalahan sistematis.

DISKUSI

Pemantapan Mutu Internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium secara terus-menerus agar tidak terjadi penyimpangan atau mengurangi terjadinya kesalahan sehingga hasil pemeriksaan yang dikeluarkan tepat. Salah satu upaya dalam mendapatkan hasil

yang tepat adalah dilakukannya Quality Control. Quality Control merupakan prosedur dalam tahap analitik agar dapat memenuhi standar akurasi dan presisi (Siregar et al, 2018).

Penelitian yang menggunakan sampel data sekunder hasil quality control pemeriksaan elektrolit pada bulan Oktober - Desember 2023 dan Januari 2024. Penelitian dilakukan untuk mengetahui hasil quality control pemeriksaan elektrolit pada rumah sakit berdasarkan aturan westgard.

Hasil Penelitian didapatkan nilai presisi di RSMP dan RSUD OKU Timur memiliki nilai yang sangat teliti karena rerata CV yang didapat $< 1\%$. Nilai presisi dilihat konsistensi hasil pemeriksaan yaitu kedekatan hasil beberapa pengukuran pada bahan uji yang sama, presisi atau ketelitian juga sering dinyatakan sebagai impresi (ketidak telitian). Semakin kecil nilai CV (%) maka semakin teliti sistem atau impresi dari suatu alat.

Analisis hasil kontrol yang didapat dari hasil penelitian di RSMP dan RSUD OKU Timur didapatkan nilai akurasi yang baik karena semakin kecil bias maka semakin tinggi akurasi suatu pemeriksaan. Nilai bias dapat positif ataupun negatif dimana nilai positif menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari yang seharusnya, sedangkan nilai negatif menunjukkan nilai yang lebih rendah dari yang seharusnya.

Selain akurasi dan presisi dalam menentukan syarat mutu laboratorium perlu juga dilakukan evaluasi grafik Levey-Jennings guna untuk mendeteksi hasil yang tidak dapat diterima dengan menggunakan aturan westgard untuk menentukan penyimpangan hasil uji. Grafik kontrol Levey-Jennings dapat ditentukan dari rerata, nilai SD, dan rentang bahan kontrol yang telah di ketahui.

Kesalahan ini biasanya disebabkan oleh kesalahan sistematis. Kesalahan sistematis terjadi karena beberapa hal yaitu spesifitas reagen, metode pemeriksaan, kesalahan pada prosedur pemeriksaan dan mutu reagen yang kurang baik. Namun untuk kesalahan penolakan yang berturut turut disarankan untuk dilakukan kalibrasi pada alat untuk menjamin hasil pemeriksaan.

Penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh (Viona, 2022) pada pemeriksaan hemoglobin, grafik Levey- Jenning menunjukkan bahwa pada hari ke 10 terdapat sepuluh nilai kontrol secara berturut-turut berada pada satu sisi yang sama dari rerata dan tidak melewati batas 1 SD. Hal ini masuk ke dalam aturan 10x

yang menjadi aturan penolakan. Penyimpangan yang terjadi disebabkan oleh kesalahan sistematik yang dipicu oleh kalibrasi yang tidak sesuai, reagen yang kurang baik, atau kesalahan instrumen. Kesalahan sistematik yang dapat terjadi yaitu kesalahan sistematik konstan atau kesalahan sistematik proporsional.

Kesalahan pada aturan wesgrad juga ditemukan di RSUD OKU Timur kebanyakan data kontrol keluar di 2 SD. Di bulan November pada parameter kalium terjadi penolakan karena ada bahan kontrol yang masuk R-4 S biasanya terjadi karena kesalahan acak. Serta pada bulan desember terdapat juga penolakan disebabkan oleh bahan kontrol yang keluar dari 3 SD ini terjadi akibat kesalahan sistematis.

Menurut siregar (2018) kesalahan sistemik dapat diminimalisir yang menggambarkan kemungkinan adanya masalah pada instrument atau malfungsi pada metode yang digunakan pada suatu pemeriksaan. apabila hasil pemeriksaan terletak pada daerah peringatan ($\text{mean} \pm 2\text{SD}$ sampai $\pm 3\text{SD}$), maka kemungkinan penyimpangan hasil terjadi pemeriksaan bahan control sehingga perlu dicek kembali prosedur pemeriksaan, tetapi belum perlu dilakukan pemeriksaan ulang.

Menurut (Buyani, 2022) kesalahan acak dapat diatasi dengan melakukan beberapa cara, diantaranya ialah melakukan review instruksi persiapan reagen, melakukan cek pada expired date reagen dan alibrator, menggunakan pipet yang bersih dengan skala yang sama untuk control dan reagen. menggunakan reagen yang baik, sering melakukan prosedur pencucian baik pada alat maupun instrument, melihat hasil control yang sebelumnya dalam level yang sama, melihat hasil control lainnya pada saat yang dikerjakan secara bersamaan, serta memeriksa instrument, reagen dan melakukan kalibrasi ulang.

Dari hasil grafik kesalahan aturan wesgrad di laboratorium RSMP dan RSUD OKU Timur didapatkan hasil bahwa kesalahan sering ditemukan setiap bulannya dengan nilai kontrol yang masuk dalam batas aturan 1-2s. Kesalahan ini masih termasuk peringatan dan pemeriksaan dapat diteruskan. Didapatkan nilai kontrol yang masuk dalam batas penolakan 1-3 S, R-4 S aturan ini merupakan aturan penolakan yang disebabkan oleh kesalahan acak (random error). Serta bahan kontrol yang masuk dalam batas 2-2 S, 10 x dan 8 x aturan ini termasuk penolakan yang terjadi karena kesalahan sistematis dalam proses pemeriksaan.

Menurut (Rahayu, 2022) Hasil dapat dikeluarkan apabila tidak ada level control

yang lain melebihi batas 2SD. Kesalahan terjadi apabila hasil kontrol melewati batas $\pm 2SD$ dan $\pm 3SD$. Kesalahan tersebut dapat disebabkan oleh kesalahan acak (random error) maupun kesalahan sistematis (systematic error).

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan terdapat perbedaan hasil analisis quality control pemeriksaan elektrolit berdasarkan aturan wesgrad dilaboratorium rumah sakit. Hasil quality control sangat diperlukan menggunakan aturan wesgrad dari pada hanya melihat nilai rentang saja hal ini sangat mempengaruhi mutu hasil yang didapat serta memberikan gambaran kesalahan yang terjadi pada alat pemeriksaan. Mutu laboratorium sangat ditentukan oleh hasil yang dikeluarkan sehingga kualitas pemeriksaan memang benar-benar terjamin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang Analisis Hasil Quality Control Pemeriksaan Elektrolit berdasarkan Aturan Wesgrad dilaboratorium Rumah Sakit dapat disimpulkan sebagai berikut

1. Nilai akurasi pada pemeriksaan elektrolit pada RSMP dan RSUD OKU Timur memiliki nilai bias yang baik, ditandai dengan tidak ada nilai bias yang melebihi batas maksimal $\pm 10\%$. Pada pemeriksaan elektrolit di RSMP 0,18%, 0.18%, 1.78%, 0.60% dan 1.10%, 0.23%, 1.48%, 0.05% sedangkan untuk RSUD OKU Timur yaitu 0.63%, 0.34%, 0.17%, 0.07% dan 0.07%, 0.1%, 0.16%, 0.03%
2. Tingkat presisi pada pemeriksaan elektrolit pada memiliki tingkat presisi yang sangat teliti. Pada pemeriksaan elektrolit di RSMP yaitu 1.68 %, 0.5 %, 1.5% , 1.3 % dan 0.06 %, 1.00 %, 0.03 %, 0.02%. Sedangkan untuk RSUD OKU Timur yaitu 0.63%, 0.7 %, 0.7 %, 0.7% dan 0.6 %, 0.9%, 0.7%, 0.4,
3. Evaluasi grafik levey-jenning menggunakan aturan wesgrad pada pemeriksaan elektrolit pada RSMP banyak ditemukan kesalahan 1-2 S, 1-3 S, 10X sedangkan pada RSUD OKU Timur terjadi kesalahan 1-2 S, R-1 S dan 1-3S

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada RSUD OKU Timur dan RSMP dan semua pihak yang telah berperan dalam penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada kemungkinan terjadi konflik kepentingan pada publikasi artikel ini.

REFRENSI

- Agustina, & Sujana. (2020). Validation Method For Determination Of Niclosamide Monohidrate In Veterinary Medicine Using Uv-Vis Spectro Niklosamid Monohidrat Dalam Sediaan Obat Hewan Dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Ilmiah Farmmako Bahari*, 1(1), 153-160.
- Ardiana, C., Rizkia, & Hernawati, D. (2019). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Buah Ceremai (*Phyllanthus Acidus*) Terhadap Penggumpalan Susu Sapi Jenis Fh (Friesch Holland) Dalam Pembuatan Keju. *Life Science : Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 1(1), 1-10.
- Azizah, N., & Aliviameita, A. (2019). Pengaruh Lama Penundaan Pemeriksaan Serum Terhadap Kadar Elektrolit Natrium Dan Klorida. *Journal Of Medical Laboratory Science Technology*, 2(1), 29. <https://doi.org/10.21070/Medicra.V2i1.2589>
- Buyani, S. (2022). *A N A L I S I S H A S I L* Quality Control Pemeriksaan Hemoglobin Dan Hematokrit Di Laboratorium Rs Pku Muhammadiyah Gamping Yogyakarta.
- Eby Juliana Sabrima¹, Riona Sanjaya, Surmiasih, Y. D. S. (2020). *Biomedical Journal Of Indonesia*. 6(3), 357-363.
- Farikha, N., Astuti, T. D., Hadi, W. S., Medis, T. L., Kesehatan, F. I., & Yogyakarta, U. A. (2023). Analisis Kontrol Kualitas Pemeriksaan Trombosit Dan Leukosit. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 8, 98-108.
- Faruq, Z. H. (2021). Evaluation Of Total Error And Validation Of Reference Value On Hematology Analyzer. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 8(1), 37-46. <https://doi.org/10.36743/Medikes.V8i1.270>
- Hardani, Auliya, N. H., Andriani, H., Ustiawaty, R. A. F. J., Utami, E. F., Sukmana, D. J., & Ria Rahmatul Istiqomah. (2015). *Buku Metode Penelitian Kualitatif Dan Kuantitatif*. In Pustaka Ilmu (Issue March).
- Irwadi, D., & Fauzan, M. (2022). Pemeriksaan Elektrolit Menggunakan Alat Nova 5 Electrolyte Analyzer Di Laboratorium Cyto Rsud Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*, 2(1), 17-24.
- Jemani, & Kurniawan, M. R. (2019). Analisa Quality Control Hematologi Di Laboratorium Rumah Sakit An-Nisa Tangerang. *Binawan Student Journal*, 1(2), 80-85.
- Mahawati, E., Oviana, E., Suryan, N. I., & Khasanah, L. M. (2019). Analisis Identifikasi Dan Utentikasi Dokumen Rekam Medis Berbasis Snars. *Visikes: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, Volume 18, 130-145. [Http://Publikasi.Dinus.Ac.Id/Index.Php/Visikes](http://Publikasi.Dinus.Ac.Id/Index.Php/Visikes)

- Medica. (2017). Easylyteplus Na⁺/K⁺/Cl⁻. In Easylyteplus Na⁺/K⁺/Cl⁻.
- Munabari, F., & Syahputra, A. (2022). Pengaruh Penggunaan Spesimen Serum Dan Plasma Edta Terhadap Kadar Total Protein. *Jurnal Pranata Biomedika*, 1(2), 134-140. <https://doi.org/10.24167/Jpb.V1i2.5153>
- Nabila, S., Khotimah, E., & Pramitaningrum, I. (2023). Pemantapan Mutu Internal Pra-Analitik Pada Pemeriksaan Glukosa Darah Puasa Pre-Analytical Internal Quality Assurance In Fasting Blood Glucose Testing. *Binawan Student Journal*, 5, 58-64.
- Nagaraj, B., Ansari, M. K. A., Basavarajaiah, & Shivanna. (2021). Evaluation Of Quality Control In Clinical Hematology Laboratory By Using Six- Sigma. *Annals Of R.S.C.B.*, 25(4), 20354-20359. <https://www.annalsofrscb.ro/index.php/journal/article/view/9242/6751>
- Ode, Y. M. (2015). Operator ' S Manual Na / K Na / K / Cl Na / K / Li Na / K / Ca / Ph (Issue 2285).
- Oh, W., & Baum, M. (2019). *Nephrology And Fluid/Electrolyte Physiology Third Edition*. Philadelphia: Elsevier. In Elsevier Inc. All Rights Reserved.
- Oktaviani, S., & Fuadi, M. R. (2022). Implementation Of Six Sigma In Glucose Poct Quality Control At Dr. Soetomo General Academic Hospital. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*, 28(2), 143-148. <https://doi.org/10.24293/ijcpml.V28i2.1848>
- Permenkes. (2018). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Permenkes. (2010). Peraturan Menteri Kesehatan Ri No 411/Menkes/Per/II/2010. 210.
- Permenkes. (2013). Peraturan Menteri Kesehatan No.43 Tentang Penyelenggaraan Laboratorium Yang Baik. 1216, 5-196.
- Permenkes. (2020). Peraturan Menteri Kesehatan No.3 Tahun 2020 Tentang Klasifikasi Dan Perizinan Rumah Sakit. 3, 1-80.
- Praptomo, Agus Joko. (2018). *Pengendalian Mutu Laboraturium Medis*. Deepublish.
- Prasetya, H. R., Rambu, I., Mosa, P., & Prasetyaningsih, Y. (2022). Sigma Metric Analysis On Platelet Count Using Hematology Analyzer Analisis Sigma Metric Pada Pemeriksaan Trombosit. September, 57-61.
- Prasetya, Rayi, H., Muhajir, Farida, N., Dumatubun, & Iriyanti, M. P. (2021). Penggunaan Six Sigma Pada Pemeriksaan Jumlah Leukosit Di Rsud Panembahan Senopati Bantul. *Journal Of Indonesian Medical Laboratory And Science (Joimedlabs)*, 2(2), 165-174. <https://doi.org/10.53699/Joimedlabs.V2i2.72>
- Purnama, & Atri. (2021). Analisis Quality Control Pemeriksaan Hemoglobin Pada Alat Hematology Analyzer. 5(1), 53-59.

- Putri, A. K., & Sonia, D. (2021). Efektivitas Pengembalian Berkas Rekam Medis Rawat Inap Dalam Menjunjang Kualitas Laporan Di Rumah Sakit Bhayangkara Sartika Asih Bandung. *Agustus*, 2(3), 909-916.
- Rahayu. (2022). Analisis Quality Control Pada Pemeriksaan Eritrosit, Leukosit Dan Trombosit Dengan Hematology Analyzer Di Laboratorium Rsud Nyi Ageng Serang.
- Rahmawati, I. (2020). Pengolahan Serum Hemolisis Menggunakan Reagen Anti-Rh Pada Pemeriksaan Glukosa Darah Metode God-Pap. *Jurnal Analis Medika Biosains (Jambs)*, 7(2), 93. <https://doi.org/10.32807/Jambs.V7i2.185>
- Ramadhani, S. P. (2020). *Pengelolaan Labolatorium*.
- Saparingga, H. (2020). Ketelitian Dan Evaluasi Grafik Kontrol Levey-Jennings Pemeriksaan Kadar Asam Urat Menggunakan Pooled Sera. Unisa Yogyakarta, 1-17. <http://digilib.unisayogya.ac.id/5429/1/lnada> Hafizah Zulkifli_1611304012_D4tlm - lnada Hafizah.Pdf
- Saputra, O. D., & Aristoteles, A. (2022). Perbedaan Pemeriksaan Darah Segera Dan Ditunda Selama 6 Jam Pada Suhu 4-8oc Terhadap Kadar Hemoglobin Dengan Hematology Analyzer. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 7(2), 49-56. <https://doi.org/10.36729/Jam.V7i2.852>
- Schmidt, R. L., Moore, R. A., Walker, B. S., & Rudolf, J. W. (2023). Precision Quality Control: A Dynamic Model For Risk-Based Analysis Of Analytical Quality. *Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*, 61(4), 679-687. <https://doi.org/10.1515/Cclm-2022-1094>
- Siregar, Maria Tuntun, Wulan, Wieke Sri, Setiawan, D., & Nurhayati, A. (2018). Kendali Mutu. In *Kendali Mutu*.
- Siregar Etc Al. (2018). *Kendali Mutu*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Sudibya, A. (2019). Pemeriksaan Mikrobiologis Feses. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 1, 1-4.
- Sunarya. (2021). *Manajemen Pengelolaan Laboraturium*. Gadjah Mada University Press.
- Syapitri, H., Amila, & Aritonang, J. (2021). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. In Ahlimedia Press. www.ahlimediapress.com
- Viona. (2022). Analisis Hasil Kontrol Kualitas Pemeriksaan Hemoglobin Dan Hematokrit Di Laboratorium Rs Pku Muhammadiyah Gamping Yogyakarta. 3-5.
- Wicaksono, M. S., Rinaldi, S. F., Kurniawan, E., Rinaldi, S. F., & Kurnaeni, N. (2019). Analisa Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pelaksanaan Quality Control Di Laboratorium. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2), 218-223. <https://doi.org/10.34011/Juriskesbdg.V11i2.746>

IDENTIFIKASI SPESIES BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI TUMBUHAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)

Baiq Isti Hijriani^{1*} · Edy Kurniawan² · Aini³ · Annisa Triana Fitri⁴ · Ariyani Ayu Maulana⁵

^{1,3,4} Program studi D-III Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Indonesia

^{2,5} Program studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Indonesia

e-Mail: baiqistih@gmail.com

No Tlp WA : 085920613601

Abstract

Problems due to infectious diseases are one of the serious problems. Continuous use of synthetic antimicrobial drugs can increase the resistance of microorganisms to antibiotics. New compounds with better effectiveness are needed to overcome this problem. The biduri plant contains secondary metabolites that are useful for treatment, besides being obtained directly from plants, another way to obtain secondary metabolites is the use of endophytic bacteria. The ability of endophytic bacteria to produce secondary metabolites that are the same as their hosts is a great potential as a material for making drugs derived from natural materials. This study aims to determine the species of endophytic bacteria isolated from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*). The research method used is Observational-descriptive. The study was conducted by isolating and identifying endophytic bacterial species from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*). Samples of biduri plant leaves were obtained from Montong Sapah Village, Praya Barat Daya, Central Lombok. Identification of endophytic bacterial isolates from biduri leaves was carried out by macroscopic, microscopic and gram staining observations. While identification of endophytic bacterial species from biduri plant leaves was carried out by biochemical tests. The results of the study showed that the isolates of endophytic bacteria from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*) from the results of biochemical tests obtained endophytic bacteria of the species *Bacillus laterosporus*.

Keywords : leaves plant of biduri (*Calotropis gigantea*), bacterium endofit, biochemistry test

Abstrak

Permasalahan akibat penyakit infeksi menjadi salah satu masalah yang serius. Pemakaian obat antimikroba sintesis yang secara terus-menerus dapat meningkatkan resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik. Senyawa baru dengan efektivitas yang lebih baik diperlukan untuk mengatasi masalah tersebut. Tanaman biduri mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat untuk pengobatan, selain bisa didapatkan langsung dari tanaman cara lain mendapat metabolit sekunder adalah pemanfaatan bakteri endofit. Kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi metabolit sekunder yang sama dengan inangnya merupakan potensi besar sebagai bahan pembuatan obat yang berasal dari bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri endofit yang diisolasi dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Metode penelitian yang digunakan adalah Observasional-deskriptif. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi spesies bakteri endofit dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Sampel daun tumbuhan biduri diperoleh dari Desa Montong Sapah Kecamatan Praya Barat Daya Kabupaten Lombok Tengah. Identifikasi isolat bakteri endofit daun tumbuhan biduri dilakukan dengan cara pengamatan makroskopis, mikroskopis dan pengecatan gram. Sedangkan identifikasi spesies bakteri endofit daun tumbuhan biduri dilakukan dengan cara uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) dari hasil uji biokimia didapatkan jenis bakteri endofit spesies *Bacillus laterosporus*. Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan uji sensitivitas bakteri endofit daun tanaman biduri terhadap spesies bakteri penyebab infeksi.

Kata Kunci : Daun Tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*), Bakteri Endofit, Uji Biokimia

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang harus ditangani. Penyakit infeksi ini umumnya diberikan antibiotik sebagai upaya pengobatannya. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan timbulnya masalah baru, yaitu meningkatnya mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antibiotik (Mancuso et al., 2021). Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian senyawa bioaktif baru melalui eksplorasi bahan alam. Indonesia merupakan Negara tropis dengan beraneka ragam tanaman di seluruh Nusantara. Salah satunya adalah tanaman biduri yang berpotensi sebagai obat. Senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan daun biduri diantaranya adalah mengandung saponin, flavonoida, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat (Mawar et al., 2022).

Mikroorganisme selain dikenal sebagai penyebab penyakit bagi manusia dan hewan juga berpotensi menghasilkan antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Salah satunya adalah bakteri endofit yang hidup pada jaringan tanaman obat. Mikroba endofit baik bakteri dan cendawan endofit yang diisolasi dari organ tanaman memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya bahkan dalam jumlah yang lebih besar. Selain itu juga upaya ini lebih efisien dalam memproduksi senyawa bioaktif karena tidak membutuhkan tanaman dalam jumlah besar sehingga dapat menjaga kelestarian tanaman obat (Hamtini et al., 2022).

Secara tradisional daun biduri telah digunakan sebagai tanaman obat untuk beberapa penyakit seperti paralisis, pembengkakan, demam, gigitan ular beracun, cacing dan bisul (Maulana et al., 2015). O. Isolat yang diperoleh selanjutnya perlu untuk diidentifikasi lebih lanjut sehingga akan mempermudah pencirian dan pengklasifikasiannya. Ini penting untuk memudahkan pengembangan dan pelestariannya.

Bakteri endofit biasanya dapat ditemukan pada jaringan tanaman yang sehat seperti pada jaringan biji, akar, batang dan daun (Sianipar et al., 2020). Mikroba simbiosis endofit adalah mikroba yang berada di dalam tubuh tanaman untuk sebagian besar siklus hidup mereka tanpa ada dampak yang merugikan bagi tanaman inang, meliputi bakteri dan jamur (Kandel et al., 2017). Komunitas endofit memberikan keuntungan terhadap tanaman inangnya seperti melindungi tanaman melawan

herbivora, serangga, atau patogen, serta mampu menstimulasi pertumbuhan tanaman. Tanaman merupakan salah satu sumber daya alam yang digunakan oleh masyarakat dalam bidang pengobatan. Bakteri endofit memiliki potensi besar dalam pencarian sumber-sumber obat baru (Sihombing et al., 2018). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ismail dkk (2018), didapatkan bahwa jamur endofit dari ekstrak daun binahong berpotensi mengganggu regenerasi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan kemampuan bakteri endofit yang sangat besar dan keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia ini menjadikan prospek penelitian tentang bakteri endofit dari tumbuhan sangat besar. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang Identifikasi Spesies Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Daun Tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional-deskriptif yaitu dengan cara mengisolasi dan identifikasi bakteri endofit dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Populasi dalam penelitian ini adalah tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*), dengan teknik pengambilan sampel *simple random sampling*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, Laminar Air Flow, Mikroskop, Inkubator, Autoclaf, Erlenmeyer, dan gunting steril. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*), Media NA (Nutrient Agar), Larutan NaOCl (*Sodium Hipoklorit*) 5,3%, Aquades steril, Spiritus, Alcohol 70%, dan Pewarnaan gram.

Pengambilan sampel dilakukan mengambil bagian daun tanaman biduri, kemudian dipotong sepanjang ± 2 cm dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Setelah pencucian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan memasukkannya kedalam larutan alkohol 70% selama 5 menit, kemudian dilanjutkan kedalam larutan NaOCl 5,3% selama 5 menit kemudian dikeringkan dengan tissue steril. Daun yang telah disterilisasi kemudian dikeringkan diatas kertas saring steril. Kemudian sampel dipotong menjadi ukuran ± 2 cm dengan gunting steril selanjutnya ditanam di dalam media agar NA, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Bakteri yang tumbuh pada media isolasi NA, disubkultur pada media lempeng NA secara *streak*

plate pada suhu 37°C selama 24 jam sampai diperoleh koloni yang murni. Koloni murni kemudian dipindahkan ke media agar NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri murni yang telah diisolasi dan identifikasi yaitu dengan pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia.

HASIL

Daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) ditanam di dalam media agar NA, kemudian di subkultur pada 3 media lempeng NA secara *streak plate*. Subkultur pada 3 media lempeng NA didapatkan 1 isolat murni, diberi simbol E1. Setiap isolat bakteri endofit dibuat dua pada media agar miring, masing-masing dipergunakan sebagai *working culture* (kultur kerja) dan *stock culture* (kultur stok).



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*)



Gambar 2. Pewarnaan gram bakteri endofit

Isolat dengan kode E1 yang telah dimurnikan selanjutnya diamati bentuk selnya dan diuji secara biokimiawi untuk kepentingan karakterisasi dan identifikasi dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik isolat bakteri endofit daun biduri (*Calotropis gigantea*)

Pengamatan Makroskopik						
No.	Kode Isolat	Ukuran	Bentuk	Warna	Tepian	Permukaan
1	E1	Besar	Bulat	Krem keputihan	Tidak rata	Rata
Pengamatan Mikroskopik						
No.	Kode Isolat	Morfologi	Spora	Endospora	Gram	Genus
1	E1	Basil Berantai	Positif (+)	Oval (+)	Positif (+)	<i>Bacillus spp</i>

Tabel 2. Karakterisasi dan identifikasi Isolat bakteri endofit daun biduri (*Calotropis gigantea*)

(Calotritops gigantea)			
No.	Parameter Uji	Hasil Isolat E1	Spesies
1	Katalase	Positif (+)	Bacillus laterosporus
2	Indol	Negatif (-)	
3	Motility	Negatif (-)	
4	Urea	Positif (+)	
5	TSI B/A	Negatif (-/-)	
6	PATI	Negatif (-)	
7	MR dan VP		
	a. MR	Positif (+)	
	b. VP	Positif (+)	
8	Karbohidrat		
	a. Manitol	Negatif (-)	
	b. Maltosa	Positif (+)	
	c. Sukrosa	Negatif (-)	
	d. Glukosa	Negatif (-)	
	e. Laktosa	Negatif (-)	

DISKUSI

Berdasarkan hasil identifikasi uji biokimia isolat bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) didapatkan spesies bakteri endofit genus *Bacillus* spesies *Bacillus laterosporus*. Hasil penelitian ini serupa dengan bakteri endofit yang diisolasi dari daun kelor, dimana pada isolasi tersebut ditemukan bakteri genus *Bacillus* pada permukaan daun kelor (Sadikin et al., 2021). Bakteri *Bacillus laterosporus* juga sering ditemukan pada tanah, batu permata, lahar, air tawar, air laut, susu, puyuh (Curtis et al., 2020). Berdasarkan hal tersebut bakteri *Bacillus laterosporus* merupakan bakteri kosmopolit. Bakteri *Bacillus laterosporus* adalah bakteri berbentuk batang, endospora yang terbentuk secara morfologis yang ditandai dengan produksi tubuh parasporal berbentuk kano (CSPB) yang melekat erat pada satu sisi spora, yang menentukan posisi lateral dalam sporangium. Beberapa strain *Bacillus laterosporus* menunjukkan aktifitas antimikroba spektrum luas terhadap berbagai bakteri dan jamur (Rui, 2014).

Bacillus laterosporus dapat menghambat pertumbuhan jamur seperti pada fitopatogenik *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*, *F. Semitectum*, *Magnoportha*, *Rhizoctonia oryzae*, bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Diarta et al., 2016)(Curtis et al., 2020). Sifat anti jamur dan anti bakteri dari strain *Bacillus laterosporus* telah menemukan minat dalam pengobatan untuk produksi antibiotik dengan efek terapi. *Bacillus laterosporus* memiliki sifat antagonisme terhadap berbagai mikroorganisme berbahaya, selain itu juga dilaporkan menghasilkan efek menguntungkan dalam usus mamalia setelah diberikan sebagai aditif pakan (Bahaddad et al., 2023).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mamangkey et al (2022), didapatkan spesies bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa* dari ekstrak daun *Anredera cordifolia* memiliki aktivitas antioksidan, serta mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 35216, *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, sedangkan jamur endofit dari ekstrak daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu isolat bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*calotropis gigantea*) dari hasil identifikasi didapatkan bakteri endofit spesies *Bacillus laterosporus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada seluruh tim yang telah membantu dalam penyusunan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dengan ini penulis menyatakan bahwa data-data yang dipublikasikan pada naskah tersebut tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak-pihak manapun.

REFRENSI

- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2023). *Pedoman Penilaian Khasiat dan Keamanan Obat Antibakteri*.
- Bahaddad, S. A., Almalki, M. H. K., Alghamdi, O. A., Sohrab, S. S., & Yasir, M. (2023). *Bacillus Species as Direct - Fed Microbial Antibiotic Alternatives for Monogastric Production*. 1-16. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09909-5>
- Curtis, A. K., Lamb, C., Hassan, W. M., & Foxworth, J. (2020). *Brevibacillus Laterosporus Bacteremia in an Adult*. 12(9), 12-14. <https://doi.org/10.7759/cureus.10481>
- Diarta, I. M., Javandira, C., & I Ketut Widnyana. (2016). ANTAGONISTIK BAKTERI *Pseudomonas* spp. DAN *Bacillus* spp. TERHADAP JAMUR *Fusarium oxysporum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU TANAMAN TOMAT. *Jurnal Bakti Saraswati*, 05(01).
- Hamtni, Nurhati, W., Rahmita, M., Trisna, C., Rahmawati, J., & Shufiyani. (2022). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit pada Batang dan Daun Tanaman Songgolangit (Tridax procumbens (Lour .))*. 1(1), 19-22.
- Mamangkey, J., Pardosi, L., & Wahyuningtyas, R. S. (2022). Aktivitas Mikrobiologis Endofit dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Pro-Life*, 9(1).
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). *Bacterial Antibiotic Resistance : The Most Critical Pathogens*. 1-14.

- Maulana, G. K., Bagus, I., Oka, M., Dwinata, I. M., Pendidikan, M., & Dokter, P. (2015). *Aktivitas Vermisidal dan Ovisidal Daun Biduri (Calotropis Spp .) Terhadap Cacing Fasciola Gigantica Secara In Vitro Indonesia Medicus Veterinus Agustus 2015*. 4(4), 314-320.
- Mawar, Parawansa, A. K., & Abdullah. (2022). Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemberian Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantean*) dalam Menekan Perkembangan Keong Mas pada Tanaman Padi Sawah. *Jurnal Agrotek*, 6(2), 11-16.
- Rui, L. (2014). *Brevibacillus laterosporus*, a Pathogen of Invertebrates and a Broad-Spectrum Antimicrobial Species. *Insects*, 4, 476-492. <https://doi.org/10.3390/insects4030476>
- Sadikin, N. A. N., Bintari, S. H., Widiatningrum, T., Pramesti, & Dewi. (2021). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*, 10(2), 109-119.
- Sianipar, G. W. S., Sartini, S., & Riyanto, R. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(2), 83-92. <https://doi.org/10.31289/jibioma.v2i2.312>
- Sihombing, M. C. H., Simbala, H. E. I., & Yudistira, A. (2018). Isolasi, Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Simbion Endofit Alga *Padina* Sp . *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 41-52.

EFEKTIVITAS PENGHAMBATAN FORMULASI ASAP CAIR DAN MINYAK BUNGA CALENDULA TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Waode Ziren Saskiyah Fadillah^{1*} · Sanatang² · Shoiman Jaya³ ·
Siti Fatimah Arradiyah⁴ · Waode Egri Dian⁵ · Vetri Vera⁶

^{1,2,3,4,5,6} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya,
Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: irenfadillah04@gmail.com
No Tlp WA : 082151006415

Abstract

Staphylococcus aureus is a pathogenic bacteria that often causes skin infections and wounds. Excessive use of antibiotics will trigger bacterial resistance. The formulation of coconut shell liquid smoke and Calendula flowers has the potential as an antimicrobial and anti-inflammatory agent that plays a role in wound healing and inhibiting bacterial infections. This study aims to determine the effectiveness of the formulation of coconut shell liquid smoke and Calendula flower oil in inhibiting the growth of *S. aureus* and to see the potential for antimicrobial synergy between the two natural ingredients. The methods used include the manufacture of coconut shell liquid smoke and Calendula flower oil formulations and antibacterial sensitivity tests using the Kirby-Bauer method by measuring the inhibition zone. The results showed that in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria, Clindamycin (C+) had an average diameter of 16.6 mm, distilled water (C-) had no inhibition zone, and the formula had an average diameter of 3.3 mm. Based on research, it can be obtained that the formulation of coconut shell liquid smoke and Calendula flower oil has the ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria and can be used as a natural treatment for skin infections and wounds.

Keywords : Liquid smoke, Calendula flower, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial

Abstrak

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi kulit dan luka. Penggunaan antibiotik yang berlebihan akan memicu resistensi bakteri. Formulasi asap cair tempurung kelapa dan bunga Calendula memiliki potensi sebagai agen antimikroba dan anti- inflamasi yang berperan dalam penyembuhan luka dan menghambat infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas formulasi asap cair tempurung kelapa dan minyak bunga Calendula dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan melihat potensi sinergi antimikroba di antara kedua bahan alami tersebut. Metode yang digunakan meliputi pembuatan formulasi asap cair tempurung kelapa dan minyak bunga Calendula serta uji sensitivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dengan mengukur zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* diperoleh yaitu Clindamycin (C+) memiliki diameter rata-rata 16,6 mm, aquades (C-) tidak memiliki zona hambat, dan formula memiliki diameter rata-rata 3,3 mm. Berdasarkan penelitian dapat diperoleh formulasi asap cair tempurung kelapa dan minyak bunga Calendula memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan dapat digunakan sebagai pengobatan alami infeksi kulit dan luka.

Kata Kunci : Asap cair, bunga Calendula, *Staphylococcus aureus*, antimikroba

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri masih menjadi permasalahan dalam bidang kesehatan. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri, sehingga penyakit menjadi lebih sulit diobati (Ventola, 2015).

Staphylococcus aureus adalah bakteri patogen pada manusia yang kerap kali menimbulkan infeksi kulit dan luka. Bagian strain *S. aureus* yang menunjukkan resistensi terhadap antibiotik turunan *penicillin* dan *methicillin* adalah bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Penanganan infeksi adalah dengan menggunakan pemberian antibiotik, tetapi pemberian antibiotik sering menimbulkan resisten antibiotik pada bidang kesehatan (Intan et al., 2021). Oleh karena itu, potensi dalam penelitian ini adalah dikembangkan pengobatan alternatif dengan berbahan dasar asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula untuk menangani infeksi kulit akibat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula memiliki banyak potensi dalam bidang kesehatan seperti, membantu menyembuhkan luka, meredakan gatal, dan mengurangi peradangan, karena kedua bahan tersebut memiliki sifat antibakteri, antijamur, dan anti-inflamasi (Buntaran et al., 2019).

Keunggulan salep dengan formulasi asap cair tempurung kelapa dan bunga Calendula adalah mengandung bahan-bahan alami sehingga bersifat aman digunakan dan minim efek samping, mempercepat penyembuhan luka, mencegah infeksi pada luka, teksturnya yang halus, kekentalannya yang cukup baik dan tidak menyebabkan iritasi pada kulit serta mudah di aplikasikan.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan salep asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula menggunakan bahan yaitu asap cair, minyak bunga calendula, vaselin album, nipasol, dan aroma vanilla sintetis. Bahan-bahan yang digunakan dalam uji sensitivitas antibakteri yaitu isolat *Staphylococcus aureus*, media *Muller Hinton Agar* (MHA),

aquades, antibiotik *Clindamycin*, dan salep.

Pembuatan salep dengan kombinasi asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula dilakukan dengan metode tritulasi, yaitu dengan menggerus bahan aktif dan bahan tambahan dalam mortar hingga homogen. Pembuatan salep dibuat dengan konsentrasi bahan yaitu asap cair *food grade* (5%), minyak bunga calendula (15%), vaselin album (78%), nipasol (0,25%), dan aroma vanilla sintetis *food grade* (1,75%).

Pengujian sensitivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer dengan mengukur zona hambat di sekitar cakram menggunakan penggaris dan mengukur diameter cakram yang terdapat pada cawan sehingga diperoleh diameter rata-rata dari cakram tersebut. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan dengan metode *pour plate* pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dan dihomogenkan dengan cara digoyangkan cawan membentuk angka 8. Masing- masing kertas cakram direndam dalam salep sebagai bahan uji, clindamycin sebagai kontrol positif dan *aquades* sebagai kontrol negatif. Selanjutnya masing- masing kertas cakram diletakkan pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24-48 jam, diamati serta dihitung zona bening yang terbentuk (Intan et al., 2021).

HASIL

Pembuatan Formulasi Salep

Proses pengembangan salep ini melibatkan berbagai percobaan untuk menentukan perpaduan bahan yang paling efektif dan sesuai. Formulasi akhir merupakan hasil dari penyempurnaan berbagai literasi sebelumnya. Data hasil pembuatan formulasi salep terdapat pada tabel 1.

Tabel 1. Formulasi salep asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula

No.	Bahan	Bahan yang ditimbang (g)	Konsentrasi (%)
1.	Asap cair tempurung kelapa	1	5

2.	Minyak bunga calendula	3	15
3.	Nipasol	0,02	0,25
4.	Vaseline album	15,98	78

Uji Sensitivitas Antibakteri

Berdasarkan tabel 2. hasil penelitian menunjukkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* diperoleh yaitu *Clindamycin* (C+) memiliki diameter rata-rata 16,6 mm, *aquades* (C-) tidak memiliki zona hambat, asap cair tempurung kelapa tidak memiliki zona hambat, minyak bunga calendula memiliki diameter rata-rata 11,3 mm dan salep memiliki diameter rata-rata 3,3 mm.

Tabel 2. Hasil pengamatan uji zona hambat

Kode Sampel	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Cakram I	Cakram II	Cakram III	
AC	-	-	-	-
CDL	10	12	12	11,3
F	2	3	5	3,3
C-	-	-	-	-
C+	15	17	18	16,6

Keterangan:

AC = Asap cair

CDL = Minyak bunga calendula

F = Salep

C- = Kontrol negatif (*aquades*)

C+ = Kontrol positif (*clindamicyn*)



Gambar 1. Kontrol negatif (a), kontrol positif (b), asap cair tempurung kelapa (c), minyak bunga calendula (d), salep (e)

DISKUSI

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan salep berbasis bahan alami, yang terbuat dari asap cair tempurung kelapa dan minyak bunga calendula. Asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula memiliki banyak manfaat kesehatan seperti, membantu menyembuhkan luka, meredakan gatal, dan mengurangi peradangan, karena kedua bahan tersebut memiliki sifat antibakteri, antijamur, dan anti-inflamasi (Nur et al., 2019).

Penelitian terhadap formulasi salep asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula terhadap *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil bahwa kombinasi asap cair tempurung kelapa dan bunga calendula mempunyai daya hambat terhadap bakteri dengan melihat adanya zona bening di sekeliling cakram dan membandingkan sampel tersebut dengan antibiotik *Clindamycin*.

Evaluasi efektivitas antibakteri dilakukan memakai metode Kirby-Bauer dengan mengukur diameter zona hambat. Pengujian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai organisme target dan media kultur *Muller Hinton Agar* (MHA). Beberapa substansi diuji dalam percobaan adalah asap cair, minyak bunga calendula, salep, antibiotik *Clindamycin* (sebagai standar positif), dan *aquades* (sebagai standar negatif). Pengujian ini untuk mengamati dan membandingkan kemampuan masing-masing zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media MHA, dengan menggunakan *clindamycin* dan *aquades* sebagai parameter pembanding.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa mengandung senyawa fenol dan memiliki fungsi sebagai penghambat perkembangan bakteri. Asap cair memiliki senyawa fenol karena proses pirolisis pada kayu dan tempurung kelapa yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin (Sasongko et al., 2014). Dengan kemampuannya untuk menekan perkembangan bakteri dan peradangan, asap cair tempurung kelapa dapat menjadi terapi yang efektif dalam mengatasi masalah penyembuhan luka dan infeksi kulit.

Hasil studi literatur diperoleh bahwa penggunaan ekstrak bunga calendula

terbukti efektif dalam penyembuhan luka pada kulit. Uji fitokimia menunjukkan adanya beberapa golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam bunga calendula diantaranya karotenoid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan minyak atsiri. Kandungan-kandungan tersebut yang diduga memiliki peranan aktif dalam penyembuhan luka (Husnul Khotimah et al., 2023). Sehingga ekstrak bunga calendula memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi, antibakteri, antijamur, dan antioksidan dalam penyembuhan luka dan infeksi kulit akibat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pemanfaatan sumber daya alam yang memiliki harga jual rendah dan berfokus pada pengolahan limbah pertanian, seperti tempurung kelapa dan bunga calendula, menjadi produk bernilai tambah. Dengan demikian, tidak hanya limbah yang dapat dimanfaatkan secara optimal, tetapi juga dapat mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan. Selain itu, penelitian ini berpotensi meningkatkan pendapatan masyarakat dengan membuka peluang kerja baru, yang akan membantu mengurangi angka pengangguran dan meningkatkan kesejahteraan ekonomi lokal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa salep berbahan dasar asap cair tempurung kelapa dan minyak bunga calendula, memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan untuk luka ulkus diabetik dengan sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Meskipun efektivitasnya tidak sekuat antibiotik *clindamycin*, salep ini menawarkan keamanan penggunaan dengan bahan-bahan alami. Pengembangan lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan efektivitas antibakteri, sekaligus memperluas penerapan produk dalam pengobatan infeksi kulit lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya disampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi atas dukungan dana melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM). Terima kasih juga disampaikan kepada

Universitas Mandala Waluya Kendari atas fasilitas dan bimbingan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada seluruh tim dan responden yang telah berpartisipasi, serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas kontribusi dan dukungan yang sangat berarti dalam menyelesaikan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan pada instansi/perorangan.

REFRENSI

- Buntaran, L., Meles, D. K., & Wibisono, L. K. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Calendula (*Calendula officinalis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(1), 69-75.
- Husnul Khotimah, Novida Ariani, & Lubna Maimunah. (2023). Pengaruh Ekstrak *Calendula Officinalis* Terhadap Lama Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Penelitian Sains Dan Kesehatan Avicenna*, 2(3), 14-21. <https://doi.org/10.69677/avicenna.v2i3.57>
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal)*, 8(2), 121-127. <https://doi.org/10.33653/jkp.v8i2.679>
- Nur, M., Ramli, M., & Mokhtar, K. S. (2019). Potensi asap cair tempurung kelapa sebagai antibakteri pada ikan segar. *Journal of Agritech Science*, 3(1), 1-11.
- Sasongko, P., Mushollaeni dan Herman, W., Studi Teknologi Industri Pertanian, P., & Pertanian, F. (2014). Aktivitas Antibakteri Asap Cair Dari Limbah Tempurung Kelapa Terhadap Daging Kelinci Asap. *Buana Sains*, 14(2), 193-197.
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283.

ANALISA KADAR ALKOHOL PADA TAPE SINGKONG (*Manihot utilissima*) YANG DIJUAL DI SUPERMARKET DAERAH SURABAYA TIMUR

Ani Sofiyati^{1*} · Diah Ariana² · Rinza Rahmawati³ · Siti Mardiyah⁴

^{1,2,3,4} D3 Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu kesehatan, Universita Muhammadiyah Surabaya, Jawa Timur, Indonesia
e-Mail : anisofiyatiii@gmail.com
No Tlpn WA : 081235641411

Abstract

Cassava tape is a fermented cassava product that is unique. Cassava tape is processed from a type of cassava that is not bitter and after fermenting it can be consumed immediately. Consuming tape with a high alcohol content can cause negative impacts on the body. The maximum limit for alcohol consumption in food and drinks according to SNI No. 01-4018-1996 namely 8% - 20% v/v. This type of research is descriptive with a method of determining specific gravity which is measured using a pycnometer at a certain temperature of the test solution, after a detailed process is carried out and the alcohol content is determined based on a table that describes the relationship between specific gravity and alcohol content. Sampling was carried out using the sampling technique used in this research, random sampling, namely by collecting several types of cassava tape brands. From the results of alcohol content checks carried out on 30 cassava tape samples sold at the East Surabaya Regional Supermarket, an average percentage of 6.23% was obtained, with 25 tape samples with a percentage of 83% and 5 tape samples with a percentage of 17%. Thus, 83% of cassava tape sold in the East Surabaya Regional Supermarket meets the requirements (MS) and 17% of cassava tape sold in the East Surabaya Regional Supermarket does not meet the requirements (TMS).

Keyyword: Cassava, Destilation, Alcohol

Abstrak

Tape singkong merupakan salah satu produk fermentasi singkong yang unik. Tape singkong diolah dari jenis singkong yang tidak pahit dan setelah difermentasi dapat langsung dikonsumsi. Konsumsi tape dengan kandungan kadar alkohol tinggi dapat menyebabkan dampak negatif pada tubuh batas maksimum konsumsi alkohol pada makanan dan minuman menurut SNI No. 01-4018-1996 yaitu 8% - 20% v/v. Urgensi penelitian ini adalah pemanfaatan sumber pangan lokal, Peningkatan kualitas dan nilai gizi dan keamanan dan kualitas tape singkong. Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan metode penetapan berat jenis yang diukur menggunakan piknometer dengan suhu tertentu dari larutan uji, setelah dilakukan proses destilasi dan kadar alkohol ditetapkan berdasarkan tabel yang menggambarkan hubungan berat jenis dan kadar alkohol. Tujuan penelitian untuk menentukan kandungan alkohol yang aman untuk dikonsumsi, Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan teknik sampling yaitu random sampling dengan mengumpulkan beberapa macam merk tape singkong. Kesimpulan peneliitian kadar alkohol yang dilakukan pada 30 sampel tape singkong yang dijual di Supermarket Daerah Surabaya Timur diperoleh persentase rata-rata 6,23% sebanyak 25 sampel tape dengan persentase 83% dan sebanyak 5 sampel tape dengan persentase 17%. Dengan demikian 83% tape singkong yang dijual di Supermarket Daerah Surabaya timur memenuhi syarat (MS) dan 17% tape singkong yang dijual di Supermarket Daerah Surabaya timur tidak memenuhi syarat (TMS). Saran bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian menggunakan metode lain seperti Gravimetri dalam menentukan alkohol pada tape singkong.

Kata kunci: Tape, Destilasi, Alkohol

PENDAHULUAN

Indonesia adalah daerah yang Sebagian besar kehidupan penduduknya ditopang oleh produk pertanian. Produk pertanian diantaranya singkong atau umbi singkong yang bisa diolah dalam satu produk yang berbeda pada makanan bisa diolah menjadi sebuah tape. Tape merupakan makanan yang cukup populer di Indonesia. Secara umum tape menjadi dua, tape pulut dan tape singkong. Di Indonesia, tape singkong dan tape pulut lebih dikonsumsi sebagai makanan semacam kue, es teler, permen, kolak. Tape mempunyai rasa yang manis, mengandung alkohol, memiliki aroma yang segar serta tekstur lembut dan sedikit cair (Dwina et al., 2023).

Republika, Jakarta (Ameera, 2023). Mengatakan mengenai tape difermentasi 1 hari, kadar alkohol tape telah mencapai 1,7%. Sedangkan setelah 2,5 hari kadar alkoholnya mencapai 3,3%. Jika dibiarkan terus, tentu kadar alkoholnya akan terus bertambah jika tape berair pasti kadar alkoholnya tinggi. Sementara kadar alkohol yang diperbolehkan menurut fatwa Majelis Ulama Indonesia adalah 0,5. Fatwa MUI Nomer 10 tahun 2018. Fermentasi pada tape melalui proses polisakarida dirombak menjadi disakarida, kemudian disakarida dipecah menjadi glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim amilase yang berasal dari kapang. Ragi yang semakin banyak maka enzim amilase juga akan semakin banyak sehingga glukosa dan fruktosa juga akan semakin banyak dan rasanya menjadi semakin manis. Proses selanjutnya glukosa dirombak menjadi alkohol dan CO₂ oleh bantuan enzim invertase yang berasal dari khamir atau bakteri.

Urgensi penelitian ini adalah pemanfaatan sumber pangan lokal, Peningkatan kualitas dan nilai gizi dan keamanan dan kualitas tape singkong. Semakin banyak jumlah glukosa maka akan semakin banyak juga alkohol yang dihasilkan, dan apabila fermentasi berlangsung lebih lama jumlah alkohol juga akan semakin meningkat. Bahaya mengkonsumsi tape pada kesehatan bisa mengakibatkan gangguan pencernaan seperti perut kembung dan diare.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan: Labu Destilasi (Iwaki Jepang), Pendingin Leibbig(Iwaki Jepang), Piknometer 25ml (Iwaki Jepang). Bahan yang digunakan: Tape singkong dan Aquadest, Waktu penelitian dilakukan pada bulan Desember 2023 sampai bulan Juni

2024, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan april 2024. Data yang dikumpulkan adalah melalui uji laboratorium dengan tahap pemeriksaan pengambilan sampel yaitu Random Sampling. metode penetapan berat jenis yang diukur menggunakan piknometer dengan suhu tertentu dari larutan uji, setelah dilakukan proses destilasi dan kadar alkohol ditetapkan berdasarkan tabel yang menggambarkan hubungan berat jenis dan kadar alkohol, analisa data Data penelitian diolah menggunakan statistik deskriptif dengan cara menghitung persentase (%) Memenuhi syarat (MS), tidak memenuhi syarat (TMS) dan nilai rata-rata kadar alkohol pada tape singkong (*Manihot utilissima*).

HASIL

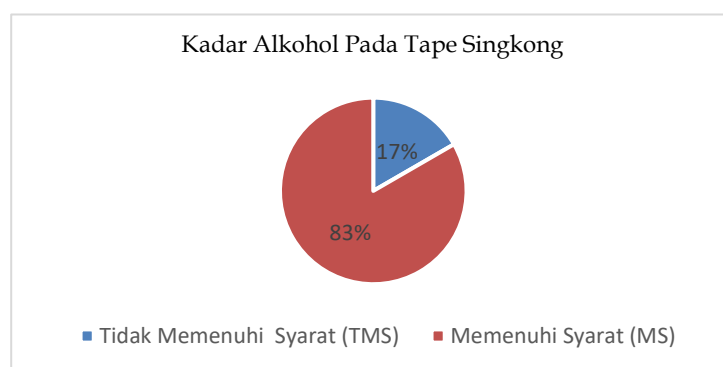
Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, hasil kadar alkohol pada tape singkong yang dijual di Supermarket daerah Surabaya Timur di peroleh 5 sampel tape singkong yang tidak memenuhi syarat persentase kadar alkohol dalam makanan dan minuman berdasarkan Standar SNI No. 01-4018-1996 dan diperoleh 25 sampel tape singkong memenuhi syarat persentase kadar alkohol dalam makanan dan minuman berdasarkan Standar SNI No. 01-4018-1996, kemudian dipersentasikan untuk mempermudah pengelompokan hasil kadar alkohol pada tape singkong (*Manihot utilissima*) yang dijual di Supermarket daerah Surabaya Timur. Persentase kadar alkohol tape singkong.

Tabel 1. Tabel Hasil Penelitian kadar alkohol tape singkong

Kode Sampel	Kadar Alkohol	Kode Sampel	Kadar Alkohol
1	1,4	16	7,9
2	1,1	17	7,1
3	8,4	18	8,7
4	3,8	19	2,4
5	0,8	20	6,8
6	7,7	21	6,3
7	6,3	22	8,7
8	9,7	23	6,5
9	7,7	24	7,9
10	6,6	25	7,3
11	6,5	26	7,7
12	2,7	27	7,3
13	7,9	28	6,6
14	2,4	29	7,3
15	6,7	30	8,7

Tabel 2. Jumlah persentase kadar alkohol kategori

Kategori	Kadar Alkohol pada Tape Singkong	
	Jumlah	Presentase (%)
Memenuhi Syarat (MS)	25	83%
Tidak Memenuhi Syarat (TMS)	5	17%
Jumlah	30	100%
Nilai rata-rata		6.23%



Gambar 1. Diagram Pie Kadar Alkohol Pada Tape Singkong

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian (Wahid et al., 2021). Kedudukan tape dalam perspektif hukum Islam, mulai dari proses pembuatan hingga wujudnya menjadi makanan dan minuman hasil fermentasi. untuk menganalisis status hukum halal dan haramnya fermentasi tape dan minas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses pembuatan tape dan minas menggunakan sistem fermentasi non-alkoholis, yaitu fermentasi yang tidak bertujuan membentuk alkohol berkadar tinggi dengan menggunakan alkohol tertentu sehingga unsur keharaman tidak ditemukan dalam proses pembuatannya. Dari sisi status hukum, wujud keberadaan tape dan minas dilihat dari aspek zat yang dikandung berupa etanol adalah bagian alkohol berkadar tinggi, namun jika dilihat dari sisi sifat, sesungguhnya tape dan minas tidak memabukkan.

Berdasarkan penelitian Ariana (2016) tentang penetapan kadar alkohol pada tapai singkong yang difermentasi 3 hari, 5 hari dan 7 hari menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan tapai maka semakin tinggi pula kadar alkoholnya yaitu

sampel hari ke 3 sebesar 5,7%, sampel hari ke 5 sebesar 9,5% dan sampel hari ke 7 16,2%.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan Lubis (2023), bisa diambil kesimpulan sebagai berikut: tapai singkong yang difermentasi 3 hari sebanyak 500 gram sebesar 4,48% dan tapai singkong yang difermentasi 6 hari sebanyak 500 gram sebesar 8,31%. Tapai singkong fermentasi 6 hari bertambah tinggi kandungan alkoholnya dibandingkan 3 hari, bisa diambil kesimpulan jika bertambah lama waktu penyimpanan kandungan alkoholnya akan bertambah tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada alkohol yang terdapat dalam tape singkong yang dijual di Supermarket daerah Surabaya Timur didapatkan hasil dari 30 sampel tape singkong dengan persentase rata-rata mengandung alkohol sebanyak 6,23% dimana Sebanyak 25 sampel mengandung alkohol kategori memenuhi syarat (MS) dan sebanyak 5 sampel kategori tidak memenuhi syarat (TMS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Puji Syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Kesehatan, kesabaran, kekuatan, Rahmat, hidayah, serta kemudahan sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan. Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi syarat dalam menempuh ujian akhir Program Studi D-III Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Surabaya, Tahun 2024 dengan judul “Analisa Kadar Alkohol pada Tape Singkong (*Manihot Utissima*) yang dijual Di Supermarket Daerah Surabaya Timur”

KONFLIK KEPENTINGAN

Konflik penting dalam penelitian ini adalah adanya beberapa kandungan alkohol yang tinggi didalam tape singkong dimana jika kadar alkohol tinggi maka akan berdampak tidak baik bagi kesehatan yang konsumsinya dimana dapat mengakibatkan penyakit seperti kembung dan diare.

REFRENSI

- Ariana, R. (2016). *Penetapan Kadar Alkohol Pada Tape Singkong yang Difermentasi 3 hari, 5 hari dan 7 hari*. 1-23.
- Aini Uwar, N., Souselissa, R., Teknologi, J., Perikanan, H., Perikanan, P., Tual, N., Raya, J., Km, L.-S., Tenggara, K. M., & Maluku, P. (n.d.). *Pengaruh penggunaan air pendingin kondensor terhadap hasil destilasi sampah plastik kapasitas 3 kg*. 3(1), 2022.
- Al Zuhri, M., & Dona, F. (n.d.). *Penggunaan Alkohol untuk Kepentingan Medis Tinjauan Istihsan*.
- Atmaningsih, & Dewi Tri. (2020). Pengaruh Pemberian Alkohol Terhadap Sistem Rangka. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 806-811. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.409>.
- fauzi ahmad. (2021). Pengaruh Beban Kerja Terhadap Turnover intention Melalui stres pada BNI Life Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ekonomi Bisnis*, 3, 368-380. <http://ejournal.stiepancasetia.ac.id/index.php/jieb>
- Hermanto, D. (2021). Penentuan Kandungan Etanol dalam Makanan dan Minuman Fermentasi Tradisional Menggunakan Metode Kromatografi Gas. *CHEMPUBLISH JOURNAL*, 5(2), 105-115. <https://doi.org/10.22437/chp.v5i2.8979>
- Islami, R. (2019). Pembuatan ragi tape dan tape. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 56-62.
- Juwita, L. P. (2020). Kadar Alkohol Pada Air Nira (Arenga pinnata) Berdasarkan Penambahan Susu Dan Tanpa Penambahan Susu. *Jurnal Borneo Cendekia*, 3(2), 40-46.
- K fajar. (2020). Produksi Dan Pemasaran Stik Tape Singkong (Manihot Utilissima) Laporan Akhir Proyek Usaha Mandiri, 1-7.
- Komuna, D. R. (2018). *Penentuan Kadar Etanol Pada Tape Singkong (Manihot esculenta Crantz) Berdasarkan Lama Waktu Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Ragi*. 97.

PERBANDINGAN HASIL ANALISIS KADAR GLUKOSA DARAH, ASAM URAT DAN KOLESTEROL TOTAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV- VIS DAN FOTOMETER

Pangeran Andareas^{1*} · Justina Andrea Renjaan² · Ermi Maria Lukwaka³ · Icha Paulina Simbolon⁴

^{1,2,3,4} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan, Provinsi Banten, Indonesia.

*e-Mail: pangeran.andreas@uph.edu

No Tlp WA : 089602694333

ABSTRACT

UV-Vis spectrophotometer and photometer have similarities in measuring light absorption due to the interaction of light that has a certain wavelength with the solution that passes through it. But in terms of analysis, UV-Vis spectrophotometer and photometer have differences in the light source used and the purpose of their use. UV-Vis spectrophotometer are used to analyze the chemical structure and concentration of compounds using absorbance spectra, while photometer are used to measure the intensity of light transmitted by a solution. This study was conducted to compare whether there is a significant difference in the test results of the analysis of blood glucose, uric acid, and total cholesterol level using Spectrophotometer UV-Vis and photometer. This comparison aims to see the quality of the test results of the two tools by paying attention to the advantages and disadvantages of each tool. Thus, this can be a consideration for laboratory assistants in analyzing a sample. The results of statistical testing carried out on the three test parameters stated that the data were normally distributed and homogeneous with a value (sig) > 0.05. While the results of the T-test, the significance value of the two instruments on the three test parameters is stated to have no significant difference, with a sig (2-tailed) value > 0.05. Therefore, it can be concluded that spectrophotometer and photometer instruments have the same quality to be used in the analysis of blood glucose, uric acid, and total cholesterol.

Keywords: Spectrophotometer, Photometer, Blood glucose, Uric acid, Cholesterol.

ABSTRAK

Spektrofotometer UV-Vis dan fotometer memiliki kesamaan dalam pengukuran penyerapan cahaya karena interaksi cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu dengan larutan yang melewatinya. Namun dalam hal analisis, spektrofotometer UV-Vis dan fotometer memiliki perbedaan pada sumber cahaya yang digunakan dan tujuan penggunaannya. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menganalisis struktur kimia dan konsentrasi senyawa menggunakan spektrum absorbansi, sedangkan fotometer digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh larutan. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan terhadap hasil uji analisis kadar glukosa darah, asam urat, dan kolesterol total dengan menggunakan Instrumen Spektrofotometer UV-Vis dan fotometer. Perbandingan ini bertujuan untuk melihat kualitas hasil uji dari kedua alat tersebut dengan memperhatikan kelebihan dan kekurangan alat masing-masing. Sehingga hal ini, bisa menjadi pertimbangan bagi ATLM dalam melakukan analisis suatu sampel. Hasil pengujian statistik yang dilakukan pada ketiga parameter uji dinyatakan bahwa data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai (sig) > 0,05. Sedangkan hasil uji T-Test, nilai signifikansi kedua instrumen pada ketiga parameter uji dinyatakan tidak memiliki perbedaan yang signifikan, dengan nilai sig(2-tailed) > 0,05. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa instrumen spektrofotometri dan Fotometer memiliki kualitas yang sama untuk digunakan dalam analisis glukosa darah, asam urat, dan kolesterol total.

Kata kunci: Spektrofotometer, Fotometer, Glukosa darah, Asam urat, Kolesterol.

PENDAHULUAN

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan sebagai standar pemeriksaan klinis dan dapat dipastikan memberikan hasil pemeriksaan yang akurat. Pengukuran glukosa darah menggunakan prinsip enzimatis yang lebih spesifik untuk glukosa yaitu konversi glukosa melalui proses enzimatis menjadi produk yang diukur menggunakan kolorimetri sebagai reaksi kimia akhir dan dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Jumlah darah yang ada dalam sampel tercermin dalam intensitas warna (Firgiansyah A., 2016). Spektrofotometer menggunakan serum atau plasma untuk menghindari pengaruh sel darah seperti pada sampel whole blood (Stevens et al., 2019). Penggunaan alat spektrofotometer membutuhkan sampel serum, yang berarti dibutuhkan lebih banyak darah dan prosedurnya membutuhkan waktu yang lama. Spektrofotometer UV-Vis memiliki kelebihan diantaranya akurasi dan presisi yang tinggi, fleksibilitas, mudah digunakan, spesifik, selektivitas tinggi, sensitivitas tinggi, serta pengukuran mudah dengan kinerja yang cepat. Adapun **kelemahan** spektrofotometer UV-Vis yaitu memiliki ketergantungan terhadap reagen, membutuhkan sampel darah yang banyak, perawatan rumit pengoperasian sulit (perlu tenaga ahli), memerlukan alat-alat pendukung, dipengaruhi kondisi ruangan seperti suhu dan kelembaban serta pemeliharaan alat dan reagent memerlukan tempat yang khusus.

Fotometer merupakan alat analisis kimia klinis semi-otomatis yang dibuat untuk memberikan solusi yang tepat, dapat diandalkan, dan terjangkau untuk berbagai penggunaan di laboratorium klinis, rumah sakit, dan klinik. Fotometer dapat melakukan lebih dari 60 tes yang berbeda termasuk tes hematologi, urinalisis, dan kimia darah. Selain itu, alat ini memiliki 12 panjang gelombang yang dapat dikonfigurasi dan menu pengujian yang komprehensif. Fotometer memiliki beberapa **kelebihan** yaitu mudah digunakan, analisis hasil cepat, harga terjangkau, dan kemampuan analisis yang memadai. **Kelemahan** fotometer yaitu rentang analisis yang terbatas, dan tidak cocok untuk semua jenis sampel.

Spektrofotometer UV-Vis dan Fotometer di laboratorium klinis banyak digunakan untuk melakukan analisis kimia klinik. Analisis kimia klinik yang paling sering dilakukan antara lain uji glukosa, asam urat dan total kolesterol. Ketiga

paramter uji tersebut merupakan data yang dapat membantu dalam mengetahui kondisi fisiologi seseorang.

Glukosa adalah produk terakhir dari metabolisme karbohidrat yang digunakan sebagai sumber energi utama dalam makhluk hidup dan diatur oleh insulin. Salah satu jenis karbohidrat terpenting yang digunakan tubuh sebagai sumber energi utama yaitu karbohidrat jenis monosakarida yaitu glukosa. Glukosa adalah energi utama yang banyak digunakan oleh sel-sel tubuh, terutama sel-sel dalam otot dan jaringan. Kadar glukosa darah mengacu pada pengukuran glukosa darah yang digunakan untuk mendiagnosis diabetes melitus. Pemeriksaan enzimatik dengan menggunakan sampel darah vena adalah pemeriksaan yang umum digunakan untuk glukosa darah (Yunus EM, 2021).

Kolesterol adalah komponen lemak darah yang dibutuhkan tubuh selain protein, vitamin, mineral, dan karbohidrat. Mengonsumsi makanan tinggi kolesterol dapat meningkatkan kemungkinan hiperkolesterolemia atau peningkatan kolesterol darah. Penyakit jantung sangat berhubungan dengan peningkatan kadar kolesterol darah (Malik, 2013). Kolesterol total merupakan indikator kemungkinan penyakit kardiovaskular karena dapat merusak endotel dan merusak fungsi vasomotor, kolesterol total harus diawasi dengan ketat (Umar & Mariana, 2021).

Perbedaan kelebihan dan kelemahan pada alat spektrofotometer UV-Vis dan fotometer diduga dapat memberikan hasil yang berbeda dalam analisis sampel. Hal ini perlu dilakukannya suatu penelitian untuk membandingkan signifikansi kedua alat tersebut dalam memberikan hasil dalam berbagai pemeriksaan kimia klinik seperti glukosa, asam urat, dan kolesterol. Hal ini akan bermanfaat bagi para Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) atau dokter patologi klini dalam menentukan instrumen untuk menganalisis suatu sampel.

BAHAN DAN METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan untuk membandingkan instrumen Spektrofotometer dan Fotometer terhadap hasil analisis kadar Kolesterol Total, Asam Urat dan Glukosa Darah. Penelitian ini di lakukan pada bulan April 2024 di Laboratorium Kimia dan Farmakologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Pelita Harapan, Tangerang. Bahan uji dan sampel yang digunakan dalam

penelitian ini adalah serum dari tiga pasien berbeda berjenis kelamin perempuan. Parameter uji dalam penelitian ini adalah kadar Kolesterol Total, Asam Urat dan Glukosa Darah menggunakan Spektrofotometer dan Fotometer.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific GENESYS 30), Fotometer (Microlab 300). Sementara bahan yang digunakan adalah serum dan Manual KIT ReiGed Diagnostik ISO 9001:2000.

Penentuan Kadar

Penentuan kadar dilakukan dengan preparasi sampel darah vena sebanyak 3 sampel untuk 3 parameter yang akan dilakukan. Pengujian dilanjutkan dengan reaksi enzimatis antara sampel dan reagen dari setiap parameter uji. Hasil reaksi diukur pada alat Spektrofotometer UV-Vis dan fotometer. Pengukuran reaksi enzimatis berlaku pada setiap tabung sampel yang berbeda. Sebelum dilakukan pengukuran pada Spektrofotometer UV-Vis, perlu disesuaikan dengan panjang gelombang dari masing-masing parameter yang digunakan (Glukosa = 500 nm, Kolesterol total = 500 nm, dan Asam urat = 520 nm).

Sementara itu, pengukuran dengan fotometer dilakukan *flushing* terlebih dahulu menggunakan akuades, lalu di lanjutkan dengan pemilihan parameter, memasukkan parameter standar, satuan parameter dan panjang gelombang parameter.

Nilai rujukan dari parameter uji yang dilakukan diantaranya:

- Glukosa sewaktu adalah 70-115 mg/dL.
- Kolesterol yang disarankan <200 mg/dL, tinggi 200-239 mg/dL, dan sangat tinggi >240 mg/dL.
- Pria 3,4-7,0 mg/dL dan Wanita 2,4-6,0 mg/dL.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran akan dianalisis menggunakan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau homogen. Selanjutnya data dianalisis secara statistik menggunakan uji T-Test untuk mengetahui apakah terdapat signifikansi nilai dari kedua alat tersebut menggunakan SPSS 22.

HASIL

Hasil pengukuran yang diperoleh, dilakukan beberapa rangkaian uji statistik, seperti uji normalitas, homogenitas, dan uji menggunakan T-Test dari hasil pengukuran sampel uji (Tabel 1, 2 dan 3). Hasil uji normalitas untuk parameter glukosa pada Spektrofotometer UV-Vis dan Fotometer secara berturut-turut adalah 0,894 dan 0,249, kolesterol total 0,344 dan 0,739, dan asam urat adalah 0,843 dan 0,081. Selanjutnya pada uji homogenitas diperoleh diperoleh nilai glukosa adalah 0,786, Kolesterol total 0,777 dan Asam Urat sebesar 0,248. Secara statistik uji normalitas dan homogeneitas diperoleh nilai signifikan (sig) > 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen. Data selanjutnya dilakukan analisis dengan uji T-Test menggunakan SPSS 22. Hasil uji T-Test diperoleh data bahwa nilai signifikansi sig(2-tailed) pada parameter glukosa dari kedua instrumen ini adalah 0,806, kolesterol total 0,765 dan asam urat sebesar 0,115. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa nilai sig(2-tailed) ketiga parameter tersebut > 0.05 (Tabel 4). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara alat spektrofotometer UV-Vis dan fotometer dalam analisis glukosa, asam urat dan kolesterol total.

Tabel 1. Hasil pengukuran glukosa

Sampel	Spektrofotometer UV-Vis	Fotometer	Keterangan
1	115,3 mg/dL	165 mg/dL	-
2	75 mg/dL	94 mg/dL	Normal
3	148,5 mg/dL	104 mg/dL	-

(-) perbedaan hasil

Tabel 2. Hasil pengukuran kolesterol total

Sampel	Spektrofotometer UV-Vis	Fotometer	Keterangan
1	198,6 mg/dL	204 mg/dL	-
2	232,8 mg/dL	220 mg/dL	Tinggi
3	188,1 mg/dL	178 mg/dL	Normal

(-) perbedaan hasil

Tabel 3. Hasil pengukuran asam urat

Sampel	Spektrofotometer UV-Vis	Fotometer	Keterangan
1	4,7 mg/dL	4,9 mg/dL	Normal
2	3,3 mg/dL	5,0 mg/dL	Normal
3	4,1 mg/dL	7,0 mg/dL	Normal

Tabel 4. Hasil T-Test

Parameter uji	Nilai Sig (2-tallied)	Keterangan
Glukosa	0,806	Nilai Sig yang diperoleh menunjukan angka yang >0,05
Kolesterol Total	0,765	
Asam Urat	0,115	

DISKUSI

Analisis Hasil

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah sewaktu, kolesterol total, dan asam urat menggunakan instrumen spektrofotometri dan fotometer, terdapat perbedaan hasil jika dilihat dari hasil pengukuran dan perbandingan dengan nilai normal pada beberapa parameter uji (Tabel 1, 2 dan 3). Namun, perbedaan ini secara langsung **tidak menunjukan perbedaan yang signifikan**.

Kelayakan penggunaan alat dalam melakukan pemeriksaan kimia klinik di laboratorium dilakukan rangkaian pengujian statistik yaitu uji normalitas, homogenitas, dan uji T-Test. Uji normalitas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui data pengujian atau penelitian berdistribusi normal atau tidak. Sebab dalam uji statistik, distribusi data yang normal menjadi suatu keharusan yang mutlak.

Uji homogenitas merupakan pengujian yang dilakukan untuk melihat sama atau tidaknya variansi-variansi dari dua buah distribusi atau lebih. Pengujian normalitas dan homogenitas menjadi syarat penting dalam uji statistik T-Test. Sementara itu, uji T-Test sendiri merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan dari dua data, sampel, ataupun instrumen yang tidak berpasangan.

Sesuai dengan hasil pengujian statistik yang dilakukan, hasil pengujian normalitas dan homogenitas dari ketiga parameter uji dinyatakan terdistribusi normal dan homogen, karena nilai signifikansi (sig) yang diperoleh berada di atas 0,05

atau lebih dari 0,05. Sama halnya dengan uji T-Test, nilai signifikansi dari kedua instrumen atau sig(2-tailed) dari ketiga parameter uji dinyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan, karena nilai sig(2-tailed) yang diperoleh berada di atas 0,05 atau lebih dari 0,05. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa kedua instrumen laboratorium yang digunakan yaitu spektrofotometri dan fotometer mempunyai kelayakan yang sama, dan dapat digunakan untuk pemeriksaan kimia klinik, karena tidak ada perbedaan yang signifikan dari hasil pemeriksaan glukosa sewaktu, kolesterol total, dan asam urat dari pengujian ini.

Secara prinsip spektrofotometer UV-Vis menggunakan sumber cahaya yang dapat menghasilkan sinar UV-Vis, yang kemudian dibiaskan melalui monokromator untuk menghasilkan sinar dengan panjang gelombang tertentu. Sinar diteruskan ke dalam kuvet yang berisi sampel, di mana sebagian sinar akan diabsorpsi oleh senyawa, sementara sisanya ditransmisikan. Detektor radiasi mengukur intensitas sinar yang diabsorpsi dan ditransmisikan, yang kemudian diolah untuk menghasilkan data spektrum absorbansi (Shi et al., 2022).

Prinsip dasar fotometer adalah pengukuran penyerapan sinar akibat interaksi sinar yang mempunyai panjang gelombang tertentu dengan larutan atau zat warna yang dilewatinya. Fotometer mendeteksi cahaya menggunakan photoresistors, dioda, atau photomultipliers (LISON L., 1950). Spektrofotometer UV-Vis dan fotometer memiliki perbedaan dalam sumber cahaya yang digunakan dan tujuan penggunaan. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menganalisis struktur kimia dan konsentrasi senyawa dengan menggunakan spektrum absorbansi, sedangkan fotometer digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi oleh suatu larutan untuk aplikasi yang lebih sederhana (Shi et al., 2022).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah, instrumen laboratorium berupa spektrofotometri UV-Vis dan fotometer tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam melakukan pemeriksaan glukosa, kolesterol total, dan asam urat. Oleh karena itu, kedua instrumen ini dinyatakan layak digunakan dalam pemeriksaan kimia klinik di laboratorium kesehatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan yang telah menyediakan fasilitas penggunaan laboratorium farmakologi untuk melakukan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Kami menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini.

REFRENSI

- Anisa Yahya. (2022). Analisis Perbedaan Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah Menggunakan Glukometer dan Spektrofotometer Pada Ibu Hamil Trimester II dan III. Universitas Binawan. Jakarta.
- Eka, M., Pusparatri Cahya Kemala, Win, L., Triana, D., & Arini, M. (2021). Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Menggunakan Point of Care Testing (POCT) dan Gold Standard (Chemistry Analyzer). *Journal of Telenursing*, 3(2), 679-686. <https://doi.org/10.31539/joting.v3i2.2895>
- Firyansyah A. (2016). Perbandingan kadar glukosa darah menggunakan spektrofotometer dan glukometer. *Karya Tulis Ilmiah*, 1(27), 31-35.
- H. Adam Malik. (2013). *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- LISON L. (1950). Etude et réalisation d'un photomètre à l'usage histologique (Description and construction of a photometer for histological use). *Acta anatomica*, 10(4), 333-347.
- Shi, Z., ddk., (2022). Applications of Online UV-Vis Spectrophotometer for Drinking Water Quality Monitoring and Process Control: A Review. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 22(8), 2987. <https://doi.org/10.3390/s22082987>
- Stevens, V. L., Hoover, E., Wang, Y., & Zanetti, K. A. (2019). Pre-analytical factors that affect metabolite stability in human urine, plasma, and serum: a review. *Metabolites*, 9(8), 156.
- 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/jekkk.v6i1.8398>
- Yunus, EM., Delilah, S., & Santi, M. (2021). Hubungan faktor risiko pada ibu hamil trimester III dengan kadar gula darah. *Citra Delima Jurnal Ilmiah Stikes Citra Delima Bangka Belitung*, 5(1), 23-27.

PROFIL KADAR ALBUMIN PADA ANAK *STUNTING* DI KABUPATEN CIAMIS

Maya Yulia Putri¹ · Atun Farihatun² · Euis Tia Istianah^{3*} · Rivana Ariyadi⁴

^{1,2,3,4} D3 Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Muhammadiyah Ciamis, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : eustiaistianah241093@gmail.com

No Tlp WA : 085321755567

Abstract

Background and Objectives: The prevalence of stunting in Ciamis Regency in 2022 has increased to 18.6% compared to 2021. Albumin is one of the main proteins in blood plasma that is often used as an indicator to evaluate a person's nutritional status. In stunted individuals, albumin levels are often one of the parameters to assess the presence of malnutrition and possible infections. Stunting, which is a condition of stunted child growth due to chronic malnutrition, affects physical and mental development. The purpose of this study was to determine the description of albumin levels in stunted children in Ciamis Regency. **Methods:** This research method is descriptive which was conducted on stunted children in the working area of the Baregbeg Health Center with a sample of 35 respondents. **Results:** The results of the research that have been carried out get normal results in all stunted children as many as 35 respondents. **Conclusion:** Research conducted in the working area of the Baregbeg Health Center, Ciamis Regency, showed that all 35 stunted children sampled had albumin levels in the normal range (3.81-4.65 g/dL). This indicates that although the children were stunted, their albumin levels remained within the normal range, which may indicate other factors affecting their nutritional and health status besides albumin levels. Further research is needed to explore other factors that may affect nutritional status in stunted children.

Keywords: Malnutrition, Stunting, Albumin

Abstrak

Latar Belakang dan Tujuan: Prevalensi *stunting* di Kabupaten Ciamis pada tahun 2022 mengalami peningkatan mencapai 18,6% dibandingkan pada tahun 2021. **Albumin** adalah salah satu protein utama dalam plasma darah yang sering digunakan sebagai indikator untuk mengevaluasi status nutrisi seseorang. Pada individu yang mengalami *stunting*, kadar albumin sering menjadi salah satu parameter untuk menilai adanya malnutrisi serta infeksi yang mungkin terjadi. *Stunting*, yang merupakan kondisi pertumbuhan anak yang terhambat akibat kekurangan gizi kronis, mempengaruhi perkembangan fisik dan mental. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gambaran kadar albumin pada anak *stunting* di Kabupaten Ciamis. **Metode:** Metode penelitian ini adalah deskriptif yang dilakukan pada anak *stunting* di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg dengan sampel sebanyak 35 responden. **Hasil:** Hasil penelitian yang telah dilakukan mendapatkan hasil normal pada semua anak *stunting* sebanyak 35 responden. **Kesimpulan:** Penelitian yang dilakukan di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg, Kabupaten Ciamis, menunjukkan bahwa seluruh 35 anak *stunting* yang dijadikan sampel memiliki kadar albumin dalam rentang normal (3,81-4,65 g/dL). Hal ini mengindikasikan bahwa meskipun anak mengalami *stunting*, kadar albumin mereka tetap dalam kisaran yang normal, yang mungkin menunjukkan faktor lain yang mempengaruhi status gizi dan kesehatan mereka selain kadar albumin. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi faktor-faktor lain yang dapat memengaruhi status gizi pada anak *stunting*.

Kata kunci: Malnutrisi, *Stunting*, Albumin

PENDAHULUAN

Stunting di Indonesia menduduki peringkat kelima tertinggi di Asia. Pada tahun 2022, prevalensi *stunting* global mencapai 148,1 juta anak (22,3%) di bawah usia lima tahun (WHO, 2022). Di Indonesia, prevalensi *stunting* berdasarkan Studi Status

Gizi Indonesia (SSGI) tahun 2022 sebesar 22,44% (Dinas kesehatan, 2022), sedangkan di Kabupaten Ciamis mencapai 18,6%. Puskesmas Baregbeg menjadi lokasi dengan kasus stunting tertinggi kelima di Kabupaten Ciamis, dengan 153 anak terdampak (Dinas Kesehatan, 2023).

Kekurangan gizi kronis merupakan penyebab utama *stunting*. *Stunting* dipandang sebagai masalah kesehatan masyarakat yang signifikan karena berdampak pada kualitas sumber daya manusia suatu generasi (WHO, 2022). Ketidakcukupan asupan nutrisi selama kehamilan dapat menyebabkan bayi mengalami kekurangan gizi. Anak yang tidak mendapatkan gizi adekuat selama masa pertumbuhan dan perkembangan juga berisiko mengalami *stunting* (Kemenkes, 2018).

Anak dengan kondisi stunting memerlukan pemberian ASI eksklusif, dan setelah usia 6 bulan, membutuhkan MP-ASI yang kaya nutrisi dan protein hewani. Protein esensial penting dalam mencegah *stunting* karena mengandung asam amino yang mendukung pertumbuhan. Asupan protein serta kadar protein total merupakan faktor kunci dalam pencegahan *stunting* (Gupta & Gupta, 2020).

Dampak jangka panjang dari pertumbuhan terhambat dan kondisi terkait kekurangan gizi meningkatkan risiko diabetes, hipertensi, obesitas, dan kematian akibat infeksi (Kemenkes, 2018). Kadar albumin yang rendah dapat mengindikasikan malnutrisi dan kurangnya asupan protein. Pemeriksaan protein total dan albumin digunakan sebagai indikator status gizi seseorang (Gupta & Gupta, 2020).

Albumin merupakan protein terlarut yang paling umum ditemukan dalam plasma. Pada individu sehat, kadar total protein plasma berkisar antara 3,5-5 g/dL (Kit Insert Glory Diagnostik, 2023). Albumin yang disimpan di hati sangat sedikit, sebagian besar cepat diekskresikan ke dalam sirkulasi darah. Fungsi utama albumin adalah mempertahankan tekanan onkotik plasma serta mengangkut ligan endogen dan eksogen, termasuk obat-obatan (Momen et al., 2017).

Studi yang relevan dilakukan oleh Siahaan et al. (2020) yang mengamati hubungan antara status gizi, termasuk kadar albumin, dengan kejadian stunting di Indonesia. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa anak-anak dengan stunting umumnya memiliki kadar albumin yang lebih rendah, yang mencerminkan adanya kekurangan protein dalam diet mereka. Penurunan kadar albumin juga sering kali disertai dengan gejala klinis lain yang terkait dengan malnutrisi, seperti penurunan berat badan dan gangguan fungsi kekebalan tubuh. Selain itu, penelitian oleh Mustari

(2018) yang memeriksa anak-anak dengan malnutrisi di daerah pedesaan Indonesia juga menemukan bahwa sebagian besar anak dengan status gizi buruk menunjukkan kadar albumin yang lebih rendah dari normal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan *ethical clearance* dari KPEK LPPM STIKes Muhammadiyah Ciamis. Penelitian ini menggunakan metode analitik laboratorium dengan merekrut anak stunting di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg. Populasi 153 anak pada Agustus 2023, diambil 35 sampel menggunakan *purposive sampling* berdasarkan kriteria tertentu. Data dikumpulkan melalui data primer berupa hasil pemeriksaan kadar albumin dan kuesioner, serta data sekunder berupa data anak *stunting*.

Responden dalam penelitian ini adalah anak stunting di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg sebanyak 35 responden. Pemeriksaan ini menggunakan alat fotometer 5010 V5+ dengan pemeriksaan metode kolorimetri (metode *bromocresol green*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium STIKes Muhammadiyah Ciamis. Hasil pemeriksaan di olah secara manual dan disajikan dalam bentuk tabel untuk dinarasikan.

HASIL

Sampel pada penelitian ini sejumlah 35 sampel pada bulan Agustus 2023 sampai bulan Mei 2024. Sampel yang diidentifikasi merupakan darah yang diolah menjadi serum pada anak *stunting* di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg. Karakteristik responden yang didapat ditunjukkan pada tabel 1.

Variabel	N	%
Jenis Kelamin		
Laki-laki	12	34,3
Perempuan	23	65,7
Total	35	100

Dari tabel 1. Terlihat Hasil pemeriksaan kadar albumin ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Kadar Albumin Pada Anak *Stunting*

Kadar Albumin	N	%
Rendah	0	0
Normal	35	100
Tinggi	0	0
Total	35	100

Hasil pemeriksaan yang terdapat pada tabel 2. dapat dilihat bahwa kadar albumin pada anak *stunting* semuanya berada dalam batas normal dengan nilai normal (3,81-4,65 g/dL)

DISKUSI

Mayoritas anak *stunting* di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg adalah perempuan (65,7%), sedangkan laki-laki sebanyak 34,3%. *Stunting* merupakan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan karena berdampak pada kualitas sumber daya manusia suatu generasi. (WHO, 2022).

Hasil pemeriksaan kadar albumin pada 35 anak *stunting* menunjukkan nilai normal, disebabkan oleh perawatan khusus berupa pemberian makanan tambahan (PMT) dari Puskesmas dan desa setempat. PMT adalah program pemberian makanan berkualitas dan aman, serta kegiatan pendukung lainnya, yang mempertimbangkan kualitas, keamanan, dan kecukupan gizi sesuai kebutuhan sasaran (Darubekti, 2021). Makanan tinggi protein dapat meningkatkan kadar albumin dengan memastikan asupan protein yang memadai (Kee, 2014).

Asam amino yang berasal dari hidrolisis protein makanan merupakan sumber bahan baku untuk sintesis protein dalam tubuh. Jika asupan protein makanan tidak mencukupi kebutuhan dasar, tubuh tidak dapat mensintesis protein, termasuk albumin, dalam jumlah yang memadai. Albumin disimpan sebagai cadangan asam amino, dan jika asupan protein rendah dalam jangka waktu lama, albumin akan dipecah menjadi asam amino untuk sintesis protein esensial bagi kehidupan. (Sadikin, 2016).

Kadar albumin normal berkaitan dengan asupan makanan tinggi protein yang dikonsumsi anak. Nutrisi adalah komponen utama yang mengatur sintesis albumin. Kadar albumin yang normal pada anak *stunting* tidak selalu mengindikasikan defisiensi Kurang Kalori Protein (KKP). Penelitian (Nikmah, 2019) bahwa kadari albumin serum pada balita *stunting* didapatkan hasil normal dengan rata-rata 4,53

g/dL, yang menggunakan metode *Brom Cresol Green* (BCG) dengan *cut-off* 3,5-5,0 g/dL.

Selain disebabkan penyakit kejadian *stunting* dapat dipengaruhi oleh keberhasilan pemberian ASI eksklusif. Menurut (Purwanti & Ratnasari, 2020) bayi yang diberi ASI saja tanpa makanan tambahan sampai berusia enam bulan akan lebih kuat dan lebih tahan terhadap penyakit. Hal ini sama dengan hasil kuisioner yang telah dilakukan bahwa semua orang tua anak memberikan ASI eksklusif pada anak sampai usia 6 bulan.

Albumin adalah komponen pertumbuhan yang membawa bilirubin, asam lemak, kalsium, logam seperti tembaga dan seng, steroid dan hormon lainnya (Murray et al., 2014). Sintesis albumin terjadi di hati dan sangat dipengaruhi oleh asupan protein. Konsumsi protein yang rendah dapat mengurangi ketersediaan asam amino, yang berdampak pada penurunan sintesis albumin. Pada anak dengan *stunting*, meskipun mereka mungkin mengalami kekurangan gizi, tubuh cenderung mempertahankan kadar albumin dalam rentang normal sebagai upaya menjaga keseimbangan fungsional. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ada kekurangan protein, faktor lain seperti adaptasi tubuh atau kondisi kesehatan hati mungkin memainkan peran penting dalam mempertahankan kadar albumin (Telussa et al., 2023).

KESIMPULAN

Hasil penelitian mengenai kadar albumin pada anak *stunting* di Kabupaten Ciamis, yang dilakukan di wilayah kerja Puskesmas Baregbeg, menunjukkan bahwa seluruh 35 anak yang dijadikan sampel memiliki kadar albumin dalam rentang normal, yaitu 3,81-4,65 g/dL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah mendukung dalam penelitian ini khususnya STIKes Muhammadiyah Ciamis, semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam mempersiapkan penelitian ini.

REFRENSI

- Darubekti, N. (2021). Pemberian Makanan Tambahan (PMT) Pemulihan Bagi Balita Gizi Buruk. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian 2021*, 3(49), 978-623.
- Dinas kesehatan. (2022). Profil Kesehatan Kabupaten Ciamis. *Dinas Kesehatan Kabupaten Ciamis*, 0265.
- Dinas Kesehatan. (2023). *Prevalensi Stunting di Kabupaten Ciamis*.
- Gupta, S. S., & Gupta, P. S. (2020). Serum albumin and total protein level as plausible marker for diagnosis of protein energy malnutrition in children under age 5 years. *International Journal of Contemporary Pediatrics*, 7(8), 175. <https://doi.org/DOI: http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20203171>
- Kee, L. J. (2014). *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. EGC.
- Kemenkes. (2018). *Mengenal Stunting dan Gizi Buruk. Penyebab, Gejala, Dan Mencegah*. Direktorat Promosi Kesehatan Dan Pemberdayaan Masyarakat Kementerian Kesehatan RI. <https://promkes.kemkes.go.id/?p=8486>
- Luvriyani, E. (2019). Gambaran Kadar Albumin pada Ibu Hamil Trimester III di Puskesmas Watu Belah Kecamatan Sumber Kabupaten Cirebon. *Jurnal An Nasher*, 1(1), 1-8.
- Momen, R., Gupta, N., & Varacallo, M. (2017). *Physiology, Albumin*. Europe PMK. <https://europepmc.org/article/nbk/nbk459198>
- Nikmah, A. (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.
- Purwanti, D. Y., & Ratnasari, D. (2020). Hubungan Antara Kejadian Diare, Pemberian Asi Eksklusif, Dan Stunting Pada Batita. *Jurnal Ilmiah Gizi Kesehatan*, 1(02), 15-23.
- Telussa, F. F., Mahani, A. M., & Syawal, A. K. (2023). *Hubungan Antara Kadar Serum Albumin Dengan Kejadian Stunting Pada Balita Di Desa Tulehu, Kecamatan Salahutu, Kabupaten Maluku Tengah*. 3, 391-400.
- WHO. (2022). *Composite child malnutrition estimates*. World Health Organization. <https://www-who-int.translate.google.com/data/gho/data/themes/topics/joint-child-malnutrition-estimates-unicef-who.id>
- Widjaja, N. A., Hidayati, S. N., & Irawan, R. (2013). Pengaruh Penyakit Infeksi terhadap Kadar Albumin Anak Gizi Buruk. *Sari Pediatri*, 15(1), 1-5.

DETEKSI MUTASI GEN *kasA* KODON G312S PADA ISOLAT *Mycobacterium tuberculosis* SEBAGAI PENANDA RESISTENSI ISONIAZID

Elshinta Latuheru^{1*} · Nurfitri Arfani² · Ayusti Dirga³

^{1,2,3} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky
Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia
e-Mail : elshintalatuheru5@gmail.com
No Tlp WA : 0823 1115 6606

Abstract

Tuberculosis is a disease caused by the bacterium Mycobacterium tuberculosis which is still a public health problem throughout the world, especially in Indonesia. Handling and controlling of tuberculosis (TB) disease is becoming increasingly difficult with the increasing cases of resistance of Mycobacterium tuberculosis to anti-tuberculosis drugs such as isoniazid. Resistance can occur due to medicines that encode or code for OAT targets such as the kasA gene (β-Ketoacyl-Acyl) for isoniazid. The study aimed to detect the presence of kasA gene mutations codon G312S from TB patients undergoing treatment using the Multiplex Allele Specific-Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR) method in as many as 15 samples. The results showed that there were 6 (40%) isolate samples that experienced kasA gene mutations due to substitutions in the G312S codon and 9 (60%) isolate samples that did not experience mutations (Wild Type) characterized by the appearance of a band at 197 bp. So it can be concluded that there is a mutation of the kasA gene codon G312S in Mycobacterium tuberculosis isolates from patients who are undergoing treatment with OAT isoniazid.

Keywords: INH, *kasA* G312S, MAS-PCR, *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculosis

Abstrak

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di seluruh dunia terutama di Indonesia. Penanganan dan pengendalian penyakit tuberkulosis (TB) menjadi semakin sulit dengan meningkatnya kasus resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) seperti isoniazid. Resistensi dapat terjadi karena penggunaan obat yang tidak tepat dan tidak teratur, sehingga menimbulkan mutasi pada gen yang mengkode atau menyandi target OAT seperti gen *kasA* (*β-Ketoasil-Asil*) untuk isoniazid. Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi adanya mutasi gen *kasA* kodon G312S dari penderita TB yang sedang menjalani pengobatan. Metode pemeriksaan yang digunakan adalah *Multiplex Allele Specific-Polymerase Chain Reaction* (MAS-PCR) dengan jumlah sampel sebanyak 15 sampel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 6 (40%) sampel isolat yang mengalami mutasi gen *kasA* karena adanya substitusi pada kodon G312S dan 9 (60%) sampel isolat yang tidak mengalami mutasi (*Wild Type*) yang ditandai dengan munculnya pita pada 197 bp. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat mutasi gen *kasA* kodon G312S pada isolat *Mycobacterium tuberculosis* dari pasien yang sedang menjalani pengobatan dengan OAT isoniazid.

Kata Kunci : INH, *kasA* G312S, MAS-PCR, *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberkulosis

PENDAHULUAN

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang telah menjadi masalah kesehatan masyarakat di seluruh dunia (Kamrin *et al.*, 2023). Tuberkulosis adalah penyakit menular yang dapat menyerang berbagai organ, terutama paru-paru. Bila pengobatannya tidak tuntas, penyakit ini dapat mengakibatkan komplikasi berbahaya hingga kematian (Muhammad & Fadli, 2019).

Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), total kasus TB di dunia pada tahun 2023 mencapai 10,6 juta kasus, 6 juta diantaranya laki-laki, 3,4 juta perempuan dan 1,2 juta anak-anak. Dua negara yang memberikan kontribusi terbesar terhadap peningkatan jumlah penderita TB secara global adalah India dan Indonesia yaitu sebesar 56% antara tahun 2021 dan 2022 (WHO, 2023).

Kementerian Kesehatan RI mencatat kasus Tuberkulosis di Indonesia mencapai 1.060.000 kasus pada tahun 2023 dan diperkirakan 150.000 orang meninggal karena TB (Kemenkes RI, 2024). Jumlah kasus TB di Sulawesi selatan yang tersebar di 24 kabupaten/kota tahun 2023 adalah 47.075 kasus (Dinkes Sulawesi Selatan, 2023). Jumlah penderita TB di kota Makassar pada tahun 2023 sebanyak 5.444 kasus (Dinkes Kota Makassar, 2023).

Salah satu usaha yang dilakukan pemerintah Indonesia dalam penanggulangan kasus TB yaitu dengan pemberian terapi pengobatan terhadap pasien TB (Siregar, 2019). Obat anti-TB yang digunakan sebagai lini pertama pengobatan TB adalah Rifampicin (RIF), Isoniazid (INH), Ethambutol (EMB), Streptomisin dan Pirazinamid (PZA) (Umar, 2023).

Saat ini, tantangan penting dalam pengendalian dan pengobatan TB adalah munculnya berbagai resistensi obat di antara isolat *Mycobacterium tuberculosis*. *Indonesian Tuberculosis Roadmap Overview* oleh USAID menyebutkan bahwa sebanyak 8.268 orang didiagnosis menderita TB yang resisten terhadap obat (TB-DR) dan 5.234 orang (63%) menjalani pengobatan (USAID, 2023). Dibandingkan dengan kasus yang rentan terhadap obat, pengobatan untuk TB yang resisten terhadap obat lebih lama dan kurang berhasil (Bakhtiyariniya *et al.*, 2022)

INH adalah obat pro yang digunakan untuk mencegah bakteri *M.tuberculosis* berkembang biak dalam tubuh dengan cara menghambat biosintesis asam mikolat, penyusun dinding sel mikobakteri penting, yang menyebabkan kematian sel mikobakteri (Anton, 2021). INH memerlukan aktivasi oleh Gen *kasA* yaitu gen target potensial dari INH (Jayaraman *et al.*, 2019). Mutasi pada kodon tertentu dalam Gen *kasA* dapat menyebabkan hilangnya aktivitas enzim ini, sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri yang resisten terhadap obat (Rudraraju *et al.*, 2022). Oleh karena itu, resistensi INH dapat diketahui dengan mendeteksi mutasi gen (Siregar, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk mendeteksi adanya mutasi *kasA* kodon G312S pada penderita TB yang telah mengonsumsi OAT dari golongan INH dengan menggunakan metode *Multiplex Allele Specific-Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)*.

BAHAN DAN METODE

Sampel isolat diambil di Laboratorium *Hasanuddin University Medichal Research Center* (HUM-RC) Makassar pada bulan Juli 2024. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium HUM-RC pada bulan Juli 2024.

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah isolat *Mycobacterium tuberculosis*, kit ekstraksi DNA (gSYNC™ DNA Extraction Kit), Primer gen *kasA* Primer Forward [5'-GTCAGATCGTGATGGGCGAC-3'], dan Primer Reverse [5'-GTCTCGATGAGCATCAGC-3'], isolat *M.tuberculosis* strain H37Rv, ddH₂O, Buffer Tris-Borate EDTA (TBE), agarose (OmniPur Agarose), tabung eppendorf, GS column, ethidium bromide, satu set alat elektroforesis (*Biorad*), collection tube, tip.

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan pendekatan *cross sectional study* untuk mendeteksi adanya mutasi gen *kasA* pada isolat *Mycobacterium tuberculosis*.

Penelitian ini terdiri dari empat tahap penelitian yaitu:

1. Ekstraksi DNA *M. tuberculosis*

Prosedur ekstraksi DNA mengikuti protokol *gSYNC™ DNA Extraction Kit*. Sebanyak 200 µL sampel isolat dipipet ke dalam tabung mikrosentrifus steril 1,5 mL dan ditambahkan 20 µL proteinase K dan dihomogenkan melalui pipetting kemudian diinkubasi pada suhu 60 °C selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 200 µL GSB buffer, campuran tersebut kemudian di vorteks sebelum diinkubasi kembali pada suhu yang sama selama 5 menit. Setelah inkubasi tambahkan 200 µL etanol absolut (96%) dan kemudian di vorteks selama 10 detik. Campuran kemudian dipindahkan ke spin column dan disentrifuge pada 10.000 RPM selama 1 menit. Buang sisa pada GS column ganti dengan collection tube yang baru. Tambahkan 400µl w1 buffer kemudian sentrifuge dengan kecepatan 10.000 RPM. Buang cairan bagian bawah tabung, tambahkan 600 µL wash buffer yang telah ditambahkan etanol 96%, sentrifuge dengan kecepatan 10.000 RPM selama 30 detik, kemudian dibuang cairan pada collection tube, dilakukan sentrifuge lagi dengan kecepatan 10.000 RPM selama 3 menit. Setelah di sentrifuge, masukkan spin column ke dalam tabung eppendorf atau mikrosentrifuge untuk mengumpulkan DNA yang diekstraksi, tambahkan *buffer elution* sebanyak 100 µL yang telah dipanaskan, diamkan selama 3 menit agar elusi buffer dapat menyerap pada bagian tengah *spin column*, dilanjutkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan yang sama selama 30 detik. DNA hasil ekstraksi yang terkandung dalam cairan yang terkumpul di dalam tabung mikrosentrifuge, buang spin column dan hasil elusi DNA dilanjutkan ke tahapan MAS-PCR (Harini *et al.*, 2019).

2. Amplifikasi MAS-PCR

DNA hasil ekstraksi dipipet ke dalam PCR Mix yang terdiri dari 12,5 µL Enzim *Taq Polymerase (HS Bioline)*, 0,5 µL Primer *kasA*, 0,5 Primer *katG*, 5 µL sampel DNA, 5,5 µL NFW, kontrol positif (K+) menggunakan *H37Rv*, kontrol negatif (-) menggunakan ddH₂O. Tahapan amplifikasi MAS-PCR terdiri dari beberapa fase diantaranya fase pradenaturasi pada suhu 95 °C selama 15

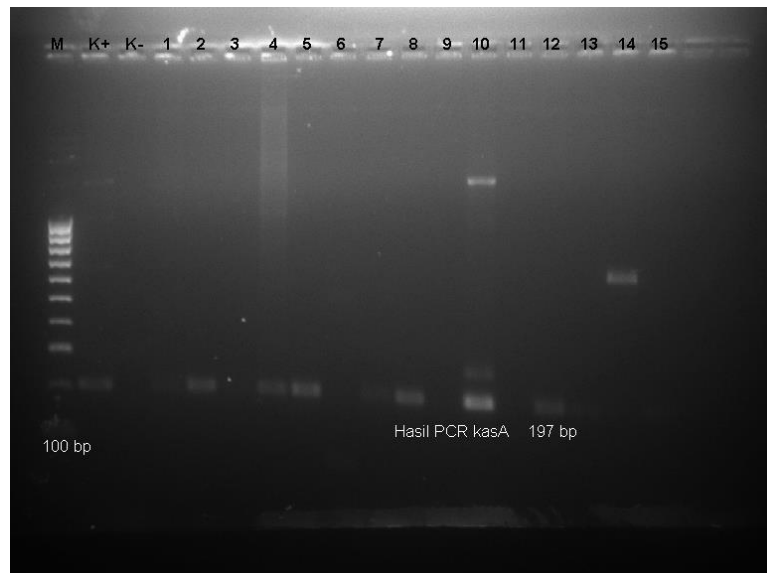
menit, fase denaturasi pada suhu 95 °C selama 50 detik, kemudian fase annealing pada suhu 57 °C selama 20 detik, dan fase extension pada suhu 72 °C selama 1 menit. Pengulangan dilakukan sebanyak 34 siklus. Siklus terakhir ialah final extension pada suhu 72 °C selama 7 menit. Kemudian DNA hasil dari amplifikasi dilanjutkan dengan elektroforesis menggunakan gel agarose 2% yang mengandung *ethidium bromide*. Selanjutnya hasil gel elektroforesis kemudian divisualisasikan di bawah sinar UV.

3. Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis

Gel agarose 2% dibuat dengan mencampurkan 2 gram serbuk agarose ke dalam 100 mL TBE buffer di botol schott kemudian dipanaskan ke dalam microwave selama 2 menit hingga mendidih. Campuran tersebut lalu ditambahkan 3 µL *ethidium bromide*. Cairan gel lalu didinginkan di suhu kamar. Setelah agak dingin, cairan gel dituang ke cetakan gel elektroforesis dan digunakan 17 sumur yang terdiri dari 1 sumur marker, 1 sumur kontrol negatif, 1 sumur kontrol positif dan 15 sumur hasil amplifikasi DNA. Masing-masing 5µL hasil amplifikasi dimasukkan ke dalam sumur gel agarose 2% yang terendam dalam tangki yang berisi TBE Buffer 0,5x. Selanjutnya, elektroforesis dijalankan selama 40 menit dengan tegangan konstan 100 volt. Setelah 40 menit elektroforesis dihentikan dan gel diangkat untuk diamati pada mesin *gel doc*.

HASIL

Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Gen *kasA* kodon G312S dengan metode MAS-PCR. Keterangan M=Marker; K-=Kontrol Negatif; K+ = Kontrol Positif; 1-15 = Sampel

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1, yaitu munculnya pita pada ukuran 197 bp pada 9 sampel sementara 6 sampel lainnya tidak menunjukkan adanya pita.

Tabel 1. Interpretasi Hasil Pemeriksaan

No	Keterangan Sampel	Hasil PCR
1	Kontrol Positif	Positif
2	Kontrol Negatif	Negatif
3	Sampel 1	<i>Wild Type</i>
4	Sampel 2	<i>Wild Type</i>
5	Sampel 3	<i>Mutasi</i>
6	Sampel 4	<i>Wild Type</i>
7	Sampel 5	<i>Wild Type</i>
8	Sampel 6	<i>Mutasi</i>
9	Sampel 7	<i>Wild Type</i>
10	Sampel 8	<i>Wild Type</i>
11	Sampel 9	<i>Mutasi</i>
12	Sampel 10	<i>Wild Type</i>
13	Sampel 11	<i>Mutasi</i>
14	Sampel 12	<i>Wild Type</i>
15	Sampel 13	<i>Wild Type</i>

No	Keterangan Sampel	Hasil PCR
16	Sampel 14	Mutasi
17	Sampel 15	Mutasi

Hasil distribusi pasien TB berdasarkan hasil pemeriksaan dengan *Multiplex Allele Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)* yang diinterpretasikan ke dalam Tabel 1. yaitu dari 15 sampel isolat didapatkan hasil mutasi pada 6 sampel yaitu pada sampel 3, 6, 9, 11, 14, 15 sedangkan 9 sampel lainnya didapatkan hasil *Wild Type* yaitu pada sampel 1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 12, 13.

Tabel 2. Distribusi Hasil Pemeriksaan Mutasi Gen *kasA* kodon G312S

Hasil	Jumlah	Persentase
Mutasi	6	40%
<i>Wild Type</i>	9	60%
Total	15	100%

Hasil penelitian yang diinterpretasikan ke dalam Tabel 2, yaitu dari 15 sampel didapatkan hasil mutasi sebanyak 6 sampel (40%) dan 9 sampel (60%) sampel didapatkan hasil *Wild Type*.

DISKUSI

Deteksi mutasi gen *kasA* dimulai dari tahapan ekstraksi DNA untuk mendapatkan DNA murni dengan menggunakan metode *Spin Column*. Prosedur ekstraksi mengikuti protokol gSYNC™ DNA Extraction Kit. Setelah itu dilanjutkan dengan metode MAS-PCR dengan menggunakan primer spesifik yang akan mengenali secara spesifik keberadaan suatu *Allele* dari ujung 5'-3' dari primer spesifik yang akan menempel pada DNA cetakan yang mengalami mutasi, setelah itu dilanjutkan dengan tahapan elektroforesis, yaitu pemisahan molekul berdasarkan muatan.

Primer yang digunakan dalam penelitian ini didesain khusus untuk mengenali area *Wild Type*. Pada Gambar 1, keberadaan pita menunjukkan bahwa sampel termasuk dalam kategori *Wild Type*, sedangkan tidak adanya pita mengindikasikan adanya mutasi atau perubahan basa nukleotida pada sampel tersebut. Jika urutan target tidak mengalami mutasi, maka primer *Wild Type* akan mengikat dengan baik, dan produk PCR yang dihasilkan akan menunjukkan pita pada elektroforesis. Jika terjadi mutasi pada lokasi yang dikenali oleh primer *Wild Type*, primer ini tidak

akan dapat mengikat dengan baik, dan pita tidak muncul pada elektroforesis, menunjukkan adanya mutasi pada lokasi tersebut (Bertolotti & Cirillo, 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 6 (40%) sampel isolat yang mengalami mutasi gen *kasA* karena adanya substitusi pada kodon G312S dan 9 (60%) sampel isolat yang tidak mengalami mutasi (*Wild Type*) yang ditandai dengan munculnya pita pada 197 bp. Mutasi terjadi pada 6 sampel yaitu sampel 3, 6, 9, 11, 14, dan 15. Mutasi yang terjadi menandakan adanya resistensi terhadap antibiotik golongan INH (Bakhtiyariniya et al., 2022).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh *Bakhtiyariniya et al.*(2022), menunjukan bahwa dari 15 isolat resisten INH, terdapat 4 isolat yang mengalami mutasi pada gen *kasA*. Salah satu titik mutasi pada gen *kasA* adalah mutasi pada kodon 312 (GGC→AGC). Mutasi gen *kasA* ini dianggap sebagai mutasi yang berhubungan dengan resistensi INH (Bakhtiyariniya et al., 2022).

Sampel yang tidak mengalami mutasi (*Wild Type*) menandakan bahwa sampel tersebut tidak mengalami resistensi terhadap antibiotik jenis INH yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satu diantaranya yaitu pengobatan yang telah diberikan sudah adekuat dan sesuai standar. Hal ini erat kaitannya dengan patomekanisme resistensi yang menandakan semua aktivitas enzim, proses metabolisme, dan efektivitas antibiotik pada *M. tuberculosis* sudah berjalan sesuai dengan fungsi dan peran dari antibiotik itu sendiri (Siregar, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Inaya et al.(2020), menyatakan bahwa ada hubungan antara fungsi pengawas konsumsi obat (PMO) dan hasil pengobatan pasien TB yang berhasil. Keterlibatan PMO dalam memfasilitasi pemulihan pasien TB paru merupakan salah satu variabel yang dapat mempengaruhi efektivitas pengobatan. Pengobatan TB paru adalah proses yang panjang, dan untuk menjaga konsistensi pengobatan, organisasi manajemen pasien (PMO) diperlukan untuk mendukung pasien selama fase pengobatan agar tidak terjadi hal-hal yang tidak diinginkan seperti resistensi antibiotik.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 15 sampel yang diperiksa terdapat 6 (40%) sampel isolat yang mengalami mutasi gen *kasA* kodon G312S.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Megarezky Makassar khususnya kepada Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis atas dukungan moral dan kesempatan yang diberikan untuk menjalankan penelitian ini, serta kepada Laboratorium HUM-RC yang telah menyediakan fasilitas laboratorium yang memadai, serta bimbingan yang sangat membantu dalam proses penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Anton, R. M. (2021). Jenis-Jenis Mutasi Gen *Mycobacterium tuberculosis* Terhadap Penyebab Resistansi Isoniazid (Studi Pustaka). Diploma Thesis, Poltekkes Tanjungkarang.
- Bakhtiyariniya, P., Khosravi, Dokht, Hashemzadeh, A., Mohammad, & Mohammad Savar. (2022). Detection and Characterization of Mutations in Genes Related to Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates from Iran. *Molecular Biology Repair*, 49(7).
- Bertolotti, & Cirillo, D. (2018). *Mycobacterium tuberculosis*: Drug resistance and genetic diversity. *Microbiology and Molecular Biology*, 82(3).
- Harini, S., Hafsan, Sahara, Aziz, I. R., & Rahim, R. (2019). ICOST 2019: 1st International Conference on Science and Technology. European Alliance for Innovation (Vol. 004). Retrieved from http://www.geneaid.com/sites/default/files/GS15_0.pdf
- Inaya, F., Agnes, M., Dedy, E., & Sagita, S. (2020). Hubungan Pengawasan Menelan Obat Terhadap Keberhasilan Pengobatan Tuberculosis Di Kupang. *Cendana Medical Journal*, 20(2), 206-207.

- Jayaraman, M., Rajendra, S. K., & Ramadas, K. (2019). Structural Insight Into Conformational Dynamics of Non-Active Site Mutations in KasA: A Mycobacterium tuberculosis Target Protein. *Gene*, 7(20).
- Kamrin, Huwriyati, J., Rahayu, Syanti, D. Y., Naningsi, A., Ulva, S. M., ... Ramadhani, T. (2023). *Epidemiologi Penyakit Menular*. (T. B. T. Satoto & R. Tosepu, Eds.), Correspondencias & Análisis (1st ed.). Jawa Tengah: EUREKA MEDIA AKSARA.
- Muhammad, M., & Fadli, F. (2019). Analisis Faktor Penyebab Multi-Drug Resistance (Mdr) Pada Penderita Tuberkulosis. *Jurnal Publikasi Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 6(2), 62-67. <https://doi.org/10.20527/jpkmi.v6i2.7454>
- Rudraraju, R. S., Daher, S. S., Gallardo-Macias, R., Wang, X., Neiditch, M. B., & Freundlich, J. S. (2022). Mycobacterium tuberculosis KasA as a drug target: Structure-based inhibitor design. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12(September), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1008213>
- Siregar, M. I. T. (2015a). Mekanisme Resistensi Isoniazid & Mutasi Gen KatG Ser315Thr (G944C) Mycobacterium tuberculosis Sebagai Penyebab Tersering Resistensi Isoniazid. *JMJ*, 3(2).
- Siregar, M. I. T. (2015b). Mekanisme Resistensi Isoniazid & Mutasi Gen KatG Ser315Thr (G944C) Mycobacterium tuberculosis Sebagai Penyebab Tersering Resistensi Isoniazid. *Jmj*, 3(2), 119-131.
- Siregar, S. R. (2019). Extensively Drug Resistant Tuberculosis (XDR TB). *Jurnal Averrous*, 5(2).
- Umar, F. (2023). *Kajian Mekanisme Resistensi Intrinsik dan Resistensi Genetik Terhadap Obat Anti Tuberkulosis* (1st ed.). Jawa Barat: PT. Toko Buku Indonesia.
- USAID. (2023). *Indonesian Tuberculosis Roadmap Overview, Fiscal Year 2023*. USAID From The American People.
- WHO. (2023). *Global Tuberculosis Report 2023*. World Health Organization.

EVALUASI EFEK KOMBINASI EKSTRAK BIJI *Sterculia foetida* DAN VIRGIN COCONUT OIL TERHADAP KONSENTRASI DNA *Bifidobacterium longum* PADA MODEL TIKUS KANKER KOLOREKTAL

Burhannuddin^{1*} · I Wayan Karta² · Luh Putu Rinawati³ ·
I Gusti Ngurah Dwija Putra⁴

^{1,2,3,4} Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
e-Mail : boerhannuddin@gmail.com
No Tlp WA : 082398655686

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a global health problem with high incidence and mortality. One of the natural ingredients that has the potential to be used as an anticancer is *Sterculia foetida* seed extract (*Sterculia foetida*). This study aims to determine the effect of the combination of *Sterculia foetida* seed extract with Virgin Coconut Oil on the intestinal microbiota profile and histological structure of the colon in colorectal cancer rat models. *Sterculia foetida* seed extract was prepared by maceration technique using ethanol as a solvent. *Sterculia foetida* seed ethanol extract was supplemented with VCO at concentrations of 5, 10, and 15%. The test animals used were 25 male Wistar rats, evenly divided into 3 treatment groups and 2 control groups. Rats were induced with 1,2-dimethylhydrazine (DMH) at a dose of 40 mg/Kg rat weight for 2 weeks to obtain a colorectal cancer mouse model. Rats were treated with supplementation of *Sterculia foetida* seed extract and VCO according to the treatment group for 5 weeks. Bacterial DNA was isolated from faeces, as a template for PCR reactions for the analysis DNA Concentration of *Bifidobacterium longum*. Data were analyzed descriptively and quantitatively using statistical analysis to determine the effect of the combination of *Sterculia foetida* seed extract with VCO on DNA Concentration of *Bifidobacterium longum* in colorectal cancer rat models. Supplementation of *Sterculia foetida* seed extract with VCO at concentrations of 5, 10, and 15% reduced the population of the bacteria *Bifidobacterium longum* which increased in a mouse model of colorectal cancer. *Sterculia foetida* seed extract supplementation with VCO has the potential as a colorectal anticancer that balances the composition of the microbiome and prevents inflammation of the colonic tissue

Keywords : *Sterculia foetida* seed extract, VCO, DNA Concentration, *Bifidobacterium longum*

Abstrak

Kanker kolorektal (CRC) merupakan permasalahan kesehatan global dengan insidensi dan mortalitas yang tinggi. Salah satu bahan alam yang berpotensi digunakan sebagai antikanker adalah ekstrak biji *Sterculia foetida* (*Sterculia foetida*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan Virgin Coconut Oil terhadap konsentrasi DNA *Bifidobacterium longum*. Ekstrak biji *Sterculia foetida* disiapkan dengan teknik maserasi menggunakan etanol sebagai pelarut. Ekstrak etanol biji *Sterculia foetida* dikombinasikan dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 %. Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 tikus wistar jantan, dibagi rata dalam 5 kelompok yaitu 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Tikus diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) pada dosis 40 mg/Kg berat tikus selama 2 minggu untuk memperoleh tikus model kanker kolorektal. Tikus kemudian ditreatmen dengan kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dan VCO sesuai kelompok perlakuan selama 5 minggu. DNA bakteri diisolasi dari feses, sebagai template reaksi PCR untuk analisis konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*. Data dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif dengan analisis statistika untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO terhadap konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*. Pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 % menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium longum* yang meningkat pada model tikus kanker kolorektal. Kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO berpotensi sebagai antikanker kolorektal yang menyeimbangkan populasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*.
Kata kunci : Ekstrak biji *Sterculia foetida*, VCO, Konsentrasi DNA, *Bifidobacterium longum*

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (CRC) merupakan permasalahan kesehatan global dengan insidensi dan mortalitas yang tinggi, terutama pada penyakit stadium lanjut (Oliveira et al., 2020). Lebih dari 1,9 juta kasus kanker kolorektal (CRC) terjadi pada tahun 2020, dan hampir 0,9 juta pasien meninggal karenanya di seluruh dunia (Roshandel et al., 2024). Pada penderita kanker kolorektal terjadi keganasan yang berasal dari jaringan usus besar (kolon dan atau rectum). Keganasan tersebut muncul karena adanya proliferasi sel yang tidak terkendali sebagai akibat perubahan pada jalur pathogenesis dan perubahan molekuler dalam tahap-tahap karsinogenesis penyakit (Guinney et al., 2015)

Dalam tata laksana kanker kolorektal, stadium penyakit menjadi faktor prognostik terpenting yang menentukan kelangsungan hidup pasien (Oliveira et al., 2020). Ketika pasien berada dalam stadium lanjut (dengan perkembangan metastasis), prognosisnya sangat buruk dan kelangsungan hidup diperkirakan dalam beberapa bulan (Langan et al., 2013). Oleh karena itu, deteksi dini dan terapi yang sesuai untuk penderita kanker kolorektal dapat meningkatkan prognositis penyakit.

Kemoterapi adjuvan merupakan terapi standar untuk pasien kanker kolorektal, misalnya pemberian fluorourasil dan leucovorin. Penggunaan bahan-bahan tersebut sebagai antikanker menimbulkan berbagai efek samping pada pasien seperti mual muntah, mielosupresi, mukositis, alopesia, infertilitas dan karsinogenesis (André et al., 2004). Alternatif terapi dengan efek samping yang lebih rendah diperlukan misalnya dengan terapi berbasis bahan alam yang dapat bertindak sebagai agen antikanker.

Salah satu bahan alam yang berpotensi digunakan sebagai antikanker adalah ekstrak biji *Sterculia foetida*. Hasil uji kualitatif pada ekstrak etanol biji *Sterculia foetida* terdapat alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, dan tannin yang secara signifikan menunjukkan anti oksidan (Jafri et al., 2019). Flavonoid merupakan bioaktif dengan aktivitas antikanker yang tinggi. Flavonoid berpotensi sebagai agen antikanker sitotoksik yang mempromosikan apoptosis pada sel-sel kanker dan memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat menghambat perkembangan sel-sel kanker (Abotaleb et al., 2019). Flavonoid juga dapat berinteraksi dan mengatur protein seluler, faktor transkripsi, dan enzim pensinyalan pada tingkat molekuler yang memodulasi jalur transduksi sinyal pada

sel-sel kanker (Rodríguez-García et al., 2019).

Dalam penelitian ini, potensi ekstrak biji *Sterculia foetida* sebagai bahan antikanker dikombinasikan dengan VCO. Asam laurat pada VCO memiliki aktivitas antikanker dengan menginduksi apoptosis pada sel-sel kanker (Sheela et al., 2019). VCO juga berpotensi digunakan sebagai adjuvan alami pada kemoterapi dengan mereduksi respon pro-inflamasi dan stres oksidatif (Famurewa et al., 2018). Kombinasi antara ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO dapat memperkuat potensi antikanker yang terdapat pada masing-masing bahan. VCO dapat menstabilkan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak biji *Sterculia foetida* dan memudahkan pengadministrasian obat ketika diaplikasikan.

Potensi antikanker kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO dilihat melalui gambaran ekspresi gen bakteri *Bifidobacterium longum*, *Roseburia intestinalis*, dan *Faecalibacterium prausnitzii* pada tikus yang diinduksi kanker kolorektal. Ekspresi gen bakteri-bakteri tersebut dianalisis dengan real time PCR setelah tikus model kanker kolorektal diterapi dengan bahan uji. Bakteri yang menjadi target terapi merupakan anggota microbiome usus yang memiliki peran dalam kesehatan usus (Yao et al., 2021). Kanker kolorektal dapat memicu terjadinya ketidakseimbangan jumlah mikroorganisme dalam saluran pencernaan atau dysbiosis. Menurut beberapa penelitian praklinis, mikrobioma usus sangat memengaruhi karsinogenesis dan perkembangan usus. Kanker kolorektal tampaknya berhubungan dengan dysbiosis mikroba yang melibatkan spesies bakteri tertentu (Garvey, 2024). Analisis DNA *Bifidobacterium longum*, pada model tikus kolorektal setelah diterapi bahan uji penting untuk pengembangan terapi dan penanda penyakit kanker kolorektal berdasarkan pada komposisi mikrobiotik usus.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Material yang digunakan yaitu : etanol 96%, 1,2-dimethylhydrazine (DMH), DNA extraction mini kit (intron), dan kit Bioline-SensiFAST SYBR Lo ROX Mix. Equipment yang digunakan: Oven, Rotary Evaporator (Rotavapor BUCHI R.300), ABI-StepOne Real-Time PCR System, BioSafety Cabinet (Esco AC2-458), Microsentrifus (Eppendorf 5424 R), neraca analitik, Blender).

Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan 25 tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok control. Tikus yang digunakan memiliki kriteria sebagai berikut : tikus jantan, berumur 2-3 bulan, sehat dan beraktivitas normal, dan berat badan kurang 150-200 gram. Tikus dipelihara dengan kondisi pemeliharaan seperti jenis pakan, suhu lingkungan, dan penyinaran yang sesuai. Penggunaan tikus sebagai subjek penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik penelitian Kesehatan Poltekkes Denpasar berdasarkan surat persetujuan etik No. LB.02.03/EA/KEPK/0578/2022

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 %.

Metode

Preparasi Bahan Uji

Biji *Sterculia foetida* yang telah kering diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dengan 500 mL etanol 96% dan dimaserasi selama 3 hari. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi menggunakan evaporator pada suhu 40-60 °C sampai didapatkan ekstrak dari biji *Sterculia foetida*. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang dan digunakan sebagai bahan uji. Bahan uji berupa kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* pada konsentrasi 5, 10, 15 % dengan VCO sebagai pelarut

Induksi Tikus Model Kanker Kolorektal

Tikus wistar sebanyak 25 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kombinasi P1 (5 %), P2 (10 %), P3 (15 %) dan 2 kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif). Kelompok tikus kombinasi P1, P2, P3 dan kontrol positif diinduksi dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) pada dosis 40 mg/Kg berat tikus selama 2 minggu untuk mencapai kondisi tikus dengan model kanker kolorektal. Kelompok kontrol negatif diberi diet standar

Pemberian Kombinasi Ekstrak Biji *Sterculia foetida* dengan VCO

Setelah diinduksi DMH, kelompok tikus P1, P2, dan P3 masing-masing diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 % tiga kali sehari @1.2 ml selama 5 minggu melalui sonde lambung. Kelompok tikus kontrol negatif dan kontrol positif diberi tambahan air tiga kali sehari @1.2 ml selama 5 minggu melalui prosedur yang sama. Selama perlakuan, semua kelompok tikus diberi diet standar per oral dan air per oral ad libitum.

Isolasi DNA Template

Setelah 5 minggu pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO, feses dari masing-masing tikus dikoleksi dan digunakan sebagai sumber isolasi DNA *Bifidobacterium longum*. DNA diisolasi sesuai prosedur dari kit i-genomic stool, DNA extraction mini kit (intron)

Amplifikasi DNA *Bifidobacterium longum* dengan Teknik Real Time PCR

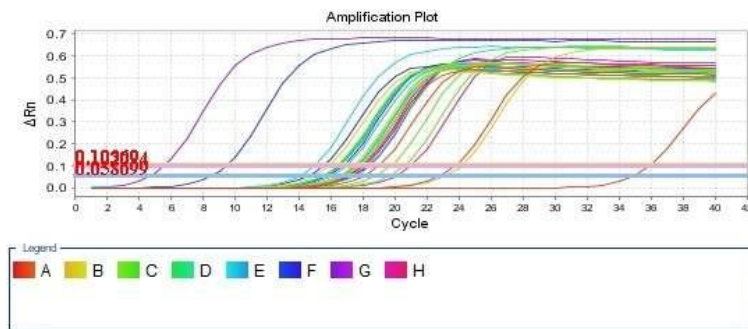
Setelah Reaksi qPCR gen bakteri *B. longum*, *Roseburia intestinalis*, dan *Faecalibacterium prausnitzii* dikerjakan dengan prosedur sesuai kit Bioline-SensiFAST SYBR Lo ROX Mix. Master mix untuk reaksi qPCR dibuat sebanyak 20 µL, yang mengandung 10 µL 2x SensiFAST SYBR Lo ROX Mix, 0.8 µL primer Forward 10 µM, 0.8 µL primer Reverse 10 µM, 4,4 µL H₂O dan 4 µL DNA template. Pasangan primer yang digunakan dalam reaksi qPCR masing-masing bakteri target memiliki sekuen sebagai berikut : Primer Forward 5'-CGGCGTTGTGACCGTTGAAGAC-3'; Reverse 5'-TGCTTCGCCGTCGACGTCCTCA-3'

Reaksi qPCR menggunakan mesin ABI-7500FAST PCR System, dengan pengaturan reaksi sebagai berikut : Polymerase activation pada suhu 95 °C, waktu 2 menit, siklus 1; Denaturasi pada suhu 95 °C, waktu 5 s, siklus 40.

HASIL

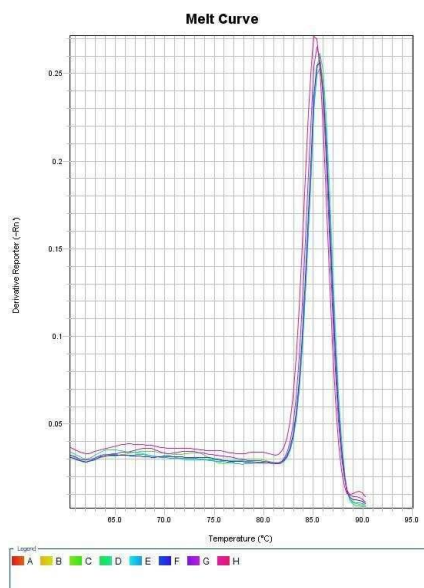
Hasil Amplifikasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* dengan teknik real time PCR

Hasil amplifikasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* dengan teknik qPCR menggunakan pasangan primers spesifik untuk masing-masing bakteri. Hasil amplifikasi DNA dari seluruh sampel ditunjukkan pada Gambar 1 di bawah ini :



Gambar 1. Hasil Amplifikasi DNA bakteri dengan metode qPCR

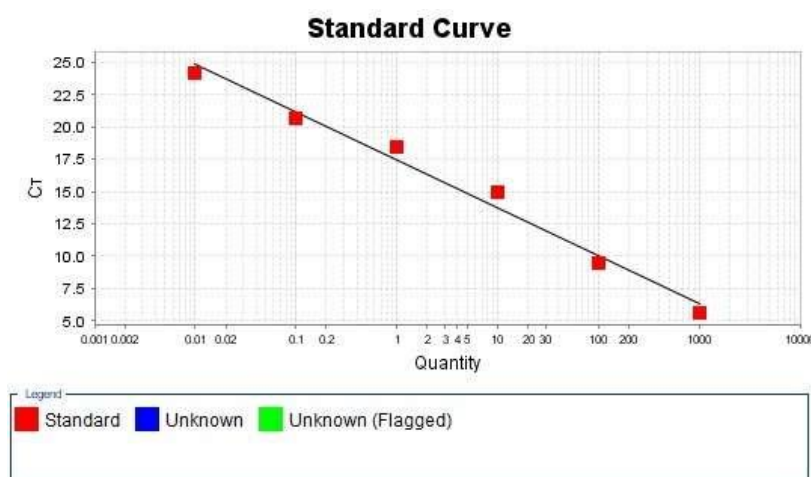
Spesifisitas reaksi real time PCR dianalisis dengan melt curve. Spesifisitas reaksi ditunjukkan pada Gambar 2 di bawah ini :



Gambar 2. Hasil analisis melt curve dari reaksi qPCR

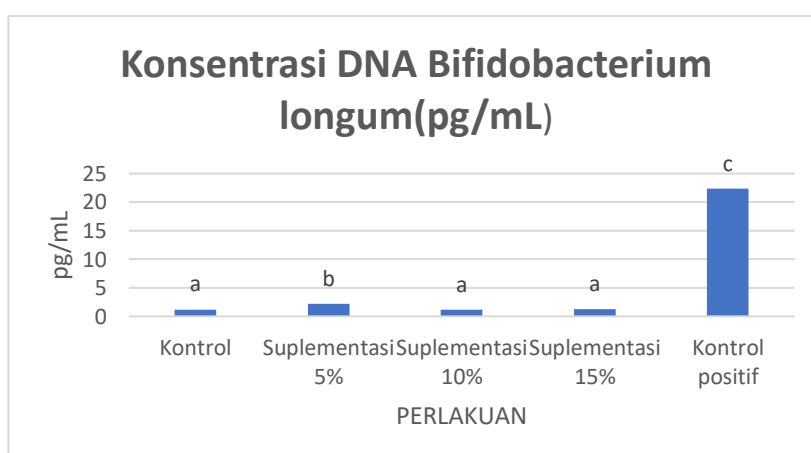
Analisis Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum*

Dalam analisis ini, dibuat kurva standar untuk mendapatkan persamaan yang digunakan untuk menghitung konsentrasi DNA sampel. Berdasarkan hasil analisis didapatkan kurva standar reaksi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 di bawah ini :



Gambar 3. Kurva Standar reaksi real time PCR

Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* setelah tikus diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi ditunjukkan pada Gambar 4 di bawah ini :



Gambar 4. Konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* setelah pemberian kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO

Berdasarkan Gambar 4 di atas, konsentrasi DNA bakteri *Bifidobacterium longum* pada tikus yang diberi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi rata-rata lebih rendah dibandingkan kelompok tikus kontrol positif. Hasil uji oneway anova menunjukkan terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan ($P < 0.05$). Pada semua kelompok uji, tikus yang diberi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO pada berbagai konsentrasi berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol positif ($P < 0.05$). Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO secara signifikan mampu menurunkan komposisi bakteri *Bifidobacterium longum* yang mengalami kenaikan setelah

diinduksi bahan penyebab kanker kolorektal.

DISKUSI

Kurva berbentuk sigmoid pada plot amplifikasi (Gambar 1) menunjukkan bahwa DNA bakteri *Bifidobacterium longum* berhasil diamplifikasi. Terbentuknya kurva sigmoid menggambarkan adanya kenaikan intensitas fluoresensi. Semakin banyak produk amplifikasi yang dihasilkan, semakin besar akumulasi fluoresen yang terbaca (Kralik & Ricchi, 2017). Peningkatan intensitas flouresensi yang terjadi pada awal-awal siklus reaksi proporsional dengan jumlah produk yang dihasilkan. Reaksi qPCR untuk bakteri target berlangsung secara spesifik, ditunjukkan dengan terbentuknya satu puncak (single peak) dengan nilai t_m 85 °C pada kurva melting (Gambar 2). Nilai T_m menunjukkan temperatur saat 50 % dsDNA berdisosiasi menjadi ssDNA. Analisis hasil amplifikasi dengan kurva melting bertujuan untuk mengevaluasi spesifisitas dari reaksi qPCR (Downey, 2014).

Hasil analisis DNA bakteri *Bifidobacterium longum* mengindikasikan bahwa induksi tikus dengan 1,2-dimethylhydrazine (DMH) meningkatkan populasi bakteri. Konsentrasi DNA bakteri yang meningkat pada kelompok tikus kontrol positif menunjukkan peningkatan populasi bakteri setelah tikus diinduksi dengan DMH pada dosis 40 mg/Kg berat tikus. DMH merupakan agen kuat alkilasi DNA yang banyak digunakan sebagai karsinogen untuk menginduksi kanker usus besar pada model hewan. Tikus yang diinduksi DMH akan mengembangkan karsinogenesis. DMH yang mencapai usus besar akan menghasilkan karsinogen utama yang selanjutnya mengalkilasi DNA. Proses ini yang menandai dimulainya karsinogenesis usus besar (Venkatachalam et al., 2020).

Peningkatan populasi bakteri di usus besar menunjukkan adanya ketidakseimbangan microbioma usus atau dysbiosis. Berbagai studi telah menunjukkan hubungan antara kanker kolorektal dengan dysbiosis. Dalam keadaan disbiosis, ketidakseimbangan bakteri penyusun usus dapat meningkatkan fungsi yang terkait dengan kanker seperti angiogenesis, hilangnya apoptosis, dan proliferasi sel (Artemev et al., 2022). Disbiosis mikrobiota usus mengakibatkan ketidakseimbangan homeostasis mikroba, sedangkan mikrobiota tertentu memicu perkembangan kanker kolorektal (CRC) dan mempercepat perkembangannya melalui berbagai jalur, seperti memicu respons inflamasi, menyebabkan

kerusakan DNA, dan/atau mendorong proliferasi sel (Fan et al., 2021).

Mikrobioma usus memainkan peran penting dalam perkembangan kanker kolorektal (CRC). Microbiome terlibat dalam karsinogenesis, pembentukan dan perkembangan CRC serta responsnya terhadap terapi sistemik. Komposisi strain bakteri penyusun mikrobioma, jenis kelamin, ras, dan pola makan dapat berfungsi sebagai informasi penting untuk skrining, deteksi dini, dan prediksi hasil pengobatan CRC (Rebersek, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa treatment tikus model kanker kolorektal dengan kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO mampu menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium longum* yang meningkat setelah tikus diinduksi DMH. Hasil ini mengindikasikan potensi kombinasi ekstrak biji *Sterculia foetida* dengan VCO sebagai agen antikanker yang memelihara atau mengembalikan keseimbangan mikroba usus. Ekstrak biji *Sterculia foetida* mengandung 35 fitokimia aktif dan metabolit sekunder, alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, terpenoid, dan tanin, yang menunjukkan anti-mikroba dan secara signifikan berpotensi sebagai anti oksidan (Jafri et al., 2019). Pada VCO terdapat asam laurat yang dapat menghambat viabilitas sel kanker, memicu produksi ROS dan fosforilasi EGFR, ERK, dan c-Jun, dan mengubah ekspresi gen. Asam laurat menginduksi antiproliferasi dan respons pro-apoptosis pada kanker payudara (Lappano et al., 2017).

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak biji kepuh dengan VCO pada konsentrasi 5, 10, dan 15 % menurunkan populasi bakteri *Bifidobacterium* yang meningkat pada model tikus kanker kolorektal, sehingga berpotensi sebagai antikanker kolorektal yang menyeimbangkan komposisi mikroba usus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah mendanai penelitian ini berdasarkan SK Direktur No HK.02.03/P3M/2338/2022 tanggal 10 Mei 2022

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidaknya terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/cancers11010028>
- André, T., Boni, C., Mounedji-Boudiaf, L., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., Topham, C., Zaninelli, M., Clingan, P., Bridgewater, J., & Tabah-Fisch, I. (2004). Oxaliplatin, fluorouracil and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *The New England Journal of Medicine*, 350, 2343-2351. <https://doi.org/10.1007/s11725-011-0275-8>
- Artemev, A., Naik, S., Pougno, A., Honnavar, P., & Shanbhag, N. M. (2022). The Association of Microbiome Dysbiosis With Colorectal Cancer. *Cureus*, 14(2). <https://doi.org/10.7759/cureus.22156>
- Downey, N. (2014). Explaining multiple peaks in qPCR melt curve analysis. Integrated DNA Technologies, Inc. <https://sg.idtdna.com/pages/education/decoded/article/interpreting-melt-curves-an-indicator-not-a-diagnosis>
- Famurewa, A. C., Folawiyo, A. M., Enohnyaket, E. B., Azubuike-Osu, S. O., Abi, I., Obaje, S. G., & Famurewa, O. A. (2018). Beneficial role of virgin coconut oil supplementation against acute methotrexate chemotherapy-induced oxidative toxicity and inflammation in rats. *Integrative Medicine Research*, 7(3), 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2018.05.001>
- Fan, X., Jin, Y., Chen, G., Ma, X., & Zhang, L. (2021). Gut Microbiota Dysbiosis Drives the Development of Colorectal Cancer. *Digestion*, 102(4), 508-515. <https://doi.org/10.1159/000508328>
- Garvey, M. (2024). Intestinal Dysbiosis : Microbial Imbalance Impacts on Colorectal Cancer Initiation , Progression and Disease Mitigation. 1-14.
- Guinney, J., Dienstmann, R., & Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine*, 21, 1350-1356.
- Jafri, A., Bano, S., & Khan, F. (2019). Phytochemical screening of *Sterculia foetida* seed extract for anti-oxidant , anti-microbial activity , and detection of apoptosis through reactive oxygen Phytochemical screening of *Sterculia foetida* seed extract for anti-oxidant , anti- microbial activity. April. <https://doi.org/10.1080/01478885.2019.1592832>
- Kralik, P., & Ricchi, M. (2017). A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: Definitions, parameters, and everything. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108>

- Langan, R. C., Mullinax, J. E., Raiji, M. T., Upham, T., Summers, T., Stojadinovic, A., & Avital, I. (2013). Colorectal cancer biomarkers and the potential role of cancer stem cells. *Journal of Cancer*, 4(3), 241-250. <https://doi.org/10.7150/jca.5832>
- Lappano, R., Sebastiani, A., Cirillo, F., Rigiracciolo, D. C., Galli, G. R., Curcio, R., Malaguarnera, R., Belfiore, A., Cappello, A. R., & Maggiolini, M. (2017). The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discovery*, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.63>
- Maioli, T. U., Borrás-Nogues, E., Torres, L., Barbosa, S. C., Martins, V. D., Langella, P., Azevedo, V. A., & Chatel, J. M. (2021). Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 12(December), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.740636>
- Nie, K., Ma, K., Luo, W., Shen, Z., Yang, Z., Xiao, M., Tong, T., Yang, Y., & Wang, X. (2021). *Roseburia intestinalis*: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(November), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.757718>
- Oliveira, R. C., Abrantes, A. M., Tralhão, J. G., & Botelho, M. F. (2020). The role of mouse models in colorectal cancer research—The need and the importance of the orthotopic models. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(1), 1-8. <https://doi.org/10.1002/ame2.12102>
- Rebersek, M. (2021). Gut microbiome and its role in colorectal cancer. *BMC Cancer*, 21(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-09054-2>
- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C., Gaforio, J. J., & Gaforio, J. J. (2019). Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: An updated review of human studies. *Antioxidants*, 8(5), 1-23. <https://doi.org/10.3390/antiox8050137>
- Roshandel, G., Ghasemi-Kebria, F., & Malekzadeh, R. (2024). Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers*, 16(1350).
- Sheela, D., Narayanankutty, A., Nazeem, P., & Raghavamenon, A. (2019). Lauric acid induce cell death in colon cancer cells mediated by the epidermal growth factor receptor downregulation: An in silico and in vitro study. *Human & Experimental Toxicology*, 38(7), 753-761.
- Venkatachalam, K., Vinayagam, R., Anand, M. A. V., Isa, N. M., & Ponnaiyan, R. (2020). Biochemical and molecular aspects of 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon carcinogenesis: A review. *Toxicology Research*, 9(1), 2-18. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa004>
- Yao, S., Zhao, Z., Wang, W., & Liu, X. (2021). *Bifidobacterium Longum*: Protection against Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8030297>

INOVASI TEKNOLOGI AI (PROTOTIPE APLIKASI LAYAK SPUTUM) DALAM UJI PRA-ANALITIK KELAYAKAN SAMPEL DAHAK UNTUK SCREENING TB PARU DI PUSKESMAS DENPASAR UTARA III

Moh Fairuz Abadi^{1*} · Didik Prasetya²

^{1,2} D3 Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Wira Medika, Bali, Indonesia

e-Mail : fairuzabadi@stikeswiramedika.ac.id

No Tlp WA :081335983900

Abstract

Pulmonary tuberculosis (TB) remains a major public health issue in Indonesia. The quality of sputum specimens is crucial for accurate diagnosis, as inadequate specimens can lead to diagnostic errors. An artificial intelligence (AI)-based application called "Layak Sputum" was developed to automatically assess specimen suitability and provide recommendations for recollection if needed. This study employs a descriptive quantitative method using the Google AppSheet platform to analyze 14 specimens from TB screening patients at Puskesmas Denpasar Utara III. The application's results were compared with those of the Molecular Rapid Test (TCM) to evaluate their concordance. The application achieved a 71.4% agreement rate with TCM. Some discrepancies were found, such as specimen 0196T, which was deemed unsuitable by the application but tested positive for TB via TCM, indicating that TCM is more sensitive in detecting TB bacterial DNA. Adjustments to the application's algorithm are necessary to improve accuracy, including consideration of TB exposure risk. This study demonstrates the potential of the "Layak Sputum" application in supporting pulmonary TB diagnosis

Keywords : *Pulmonary tuberculosis diagnosis, Artificial intelligence (AI) application, Sputum specimen quality*

Abstrak

Tuberkulosis (TB) paru masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia. Kualitas spesimen dahak sangat penting untuk diagnosis yang akurat, karena spesimen yang tidak layak dapat menyebabkan kesalahan diagnosis. Aplikasi berbasis kecerdasan buatan (AI) bernama "Layak Sputum" dikembangkan untuk secara otomatis menilai kelayakan spesimen dan memberikan rekomendasi pengambilan ulang jika diperlukan. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif dengan platform Google AppSheet untuk menganalisis 14 spesimen dari pasien screening TB di Puskesmas Denpasar Utara III. Hasil aplikasi dibandingkan dengan Tes Cepat Molekuler (TCM) untuk menilai kesesuaiannya. Aplikasi mencapai tingkat kesesuaian sebesar 71,4% dengan TCM. Beberapa ketidaksesuaian ditemukan, seperti pada spesimen 0196T yang dinyatakan tidak layak oleh aplikasi namun positif TB melalui TCM, menunjukkan bahwa TCM lebih sensitif dalam mendeteksi DNA bakteri TB. Penyesuaian algoritma aplikasi diperlukan untuk meningkatkan akurasi, termasuk mempertimbangkan risiko paparan TB. Penelitian ini menunjukkan potensi aplikasi "Layak Sputum" dalam mendukung diagnosis TB paru.

Kata kunci: Diagnosis tuberkulosis paru, Aplikasi kecerdasan buatan (AI), Kualitas spesimen dahak.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis paru masih menjadi permasalahan kesehatan yang signifikan di Indonesia. Meskipun telah ada usaha untuk mengendalikannya, angka kejadian TB paru masih tinggi, terutama di kalangan kelompok rentan dan daerah dengan keterbatasan akses terhadap fasilitas kesehatan. Faktor-faktor seperti kemiskinan, ketidakmerataan distribusi layanan kesehatan, resistensi terhadap obat, dan rendahnya kesadaran mengenai pentingnya pengobatan yang tepat, menjadi pendorong utama penyebaran TB paru di Indonesia (Sagung, 2021). Penanganan terhadap kasus penularan baru TB paru di Indonesia sudah sangat baik, pada tahun 2021 Indonesia bersama 5 negara lainnya yaitu India, China, Filipina dan Myanmar bersama-sama berkontribusi sebesar 90% terhadap penurunan kejadian kasus baru, namun di sisi lain Indonesia termasuk negara yang memiliki beban tinggi dalam penanganan kasus TB yang telah terjadi sebelumnya, yaitu penanganan pasien penyakit TB saja, pasien TB terkait HIV, dan TB yang resisten terhadap obat/MDR/RR-TB. (WHO, 2022). Penanganan kasus tersebut memerlukan pemeriksaan laboratorium untuk memastikan ketuntasan dan kesembuhan pasien.

ATLM memainkan peran penting dalam diagnosis Tuberkulosis (TB) paru. Mereka bertanggung jawab dalam proses pengumpulan spesimen dahak yang berkualitas, yang merupakan langkah kunci dalam diagnosa TB (WHO, 2014). Kualitas sampel dahak memiliki peran yang sangat penting dalam diagnosis yang tepat untuk tuberkulosis (TB). Sampel yang optimal perlu merepresentasikan materi yang berasal dari bagian saluran pernapasan bagian bawah di mana bakteri penyebab TB, yaitu *Mycobacterium tuberculosis*, umumnya ditemukan (Steingart KR, Schiller I. et al, 2019). Keberadaan spesimen dahak yang tidak memenuhi kualifikasi pemeriksaan (eligible spesimen) akan menimbulkan bertambahnya beban pembiayaan dalam paket pemeriksaan dahak.

Upaya untuk menjamin kualitas sampel dahak yang optimal menjadi kunci penting dalam penegakan diagnosis TB yang akurat dan efisien. Spesimen yang baik harus mematuhi sejumlah standar yang ketat, diantaranya spesimen dahak harus murni bersifat purulent, yaitu berasal dari saluran pernapasan bagian bawah, selanjutnya jumlah volume dahak antara 5-10 untuk memastikan analisis laboratorium yang akurat. Selain itu, kualitas visual dari sampel dahak harus jernih dan tidak tercampur dengan lendir atau saliva yang bisa mempengaruhi hasil

tes. Pengambilan sampel pada waktu yang tepat, seperti pagi hari, juga dapat meningkatkan konsentrasi bakteri TB dalam sampel, selanjutnya adalah informasi lengkap tentang riwayat pengobatan TB sebelumnya, penggunaan obat anti-TB, dan faktor-faktor lain yang berpotensi memengaruhi hasil pemeriksaan harus dicatat dengan teliti. Pai M, Behr M. et al. (2022).

Perkembangan sistem pakar berbasis web dalam diagnosa penyakit telah menjadi sorotan utama dalam dunia medis kontemporer. Sistem-sistem ini menggunakan kecerdasan buatan untuk memberikan diagnosis atau rekomendasi terkait kondisi kesehatan pasien berdasarkan informasi yang diinputkan. Wu X, Jiang X. et al. (2023) Teknologi sistem pakar mengintegrasikan data klinis, gejala penyakit, riwayat medis, dan bahkan hasil tes diagnostik untuk menghasilkan saran atau diagnosis yang lebih akurat. Sistem-sistem pakar ini dapat diakses secara luas oleh praktisi medis, pasien, atau masyarakat umum dengan mudah melalui platform online. (Wu X, Jiang X. et al, 2023).

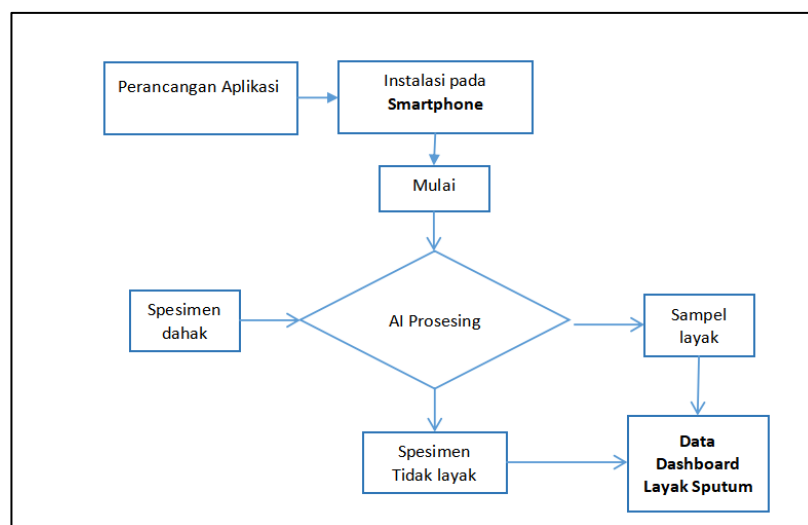
Teknologi sistem pakar berbasis web juga telah dikembangkan untuk menilai kualitas spesimen dalam pemeriksaan laboratorium. Melalui sistem pakar berbasis web untuk diagnosa kelayakan spesimen dapat diperoleh rekomendasi apakah spesimen tersebut cocok untuk analisis tertentu atau memerlukan pengambilan ulang. Hal ini membantu menghindari pengujian yang tidak akurat atau mengurangi kesalahan dalam diagnosa yang disebabkan oleh non eligible spesimen. Uji kelayakan spesimen dapat meningkatkan efisiensi laboratorium dan membantu dalam pengambilan keputusan yang lebih baik dalam perawatan pasien (Kim Y, Lee S. et al. 2023)

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat deskriptif. Variabel Penelitian ini adalah aplikasi artificial Intelligence (AI) Sistem Pakar Berbasis Web dalam diagnosis Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen dahak. Penelitian ini akan dilakukan di Puskesmas Denpasar Utara III, Kota Denpasar Provinsi Bali. Penelitian dilakukan pada bulan September sampai dengan bulan Oktober 2024. Populasi penelitian ini adalah spesimen dahak dari pasien screening TB berdasarkan form permintaan pemeriksaan laboratorium, teknik sampling non probability *consecutive sampling*, jumlah sampel 14 spesimen.

Peralatan yang digunakan adalah: Pot dahak, aplikasi sistem pakar berbasis web Google Appsheet, perangkat uji tes cepat molekuler TB. Pada Gambar 1, disajikan sistem kerja Aplikasi Layak Sputum.

Aplikasi "Layak Sputum" yang berbasis Google AppSheet dirancang untuk menilai kelayakan spesimen dahak dalam diagnosis tuberkulosis (TB) dengan menggunakan pendekatan berbasis kecerdasan buatan (AI). Setelah data dimasukkan, aplikasi Layak Sputum melakukan analisis berdasarkan algoritma yang telah diprogram. Algoritma ini menggunakan kriteria tertentu untuk menilai apakah spesimen layak atau tidak, berdasarkan parameter yang diinput. Pada Gambar 1 berikut ini merupakan alur kerja Aplikasi Layak Sputum berbasis Google AppSheet.



Gambar 1. Alur Kerja Aplikasi Layak Sputum berbasis Google AppSheet

Prosedur penelitian adalah sebagai berikut, petugas ATLM diberikan informasi tentang penggunaan Aplikasi Layak Sputum, selanjutnya menginstal Aplikasi Layak Sputum pada *smartphone* masing-masing, setelah itu petugas ATLM puskesmas melakukan penilaian kelayakan sampel menggunakan aplikasi sistem pakar berbasis web, sehingga dihasilkan status berupa layak atau tidak layak spesimen dilanjutkan ke tahap uji laboratorium. Data hasil penilaian melalui Aplikasi Layak Sputum secara otomatis terkirim pada dashboard aplikasi peneliti dalam bentuk Google sheet. Tahap selanjutnya adalah pengujian spesimen dahak dengan uji Tes Cepat Molekuler TB. Selanjutnya peneliti menguji perbedaan antara sampel yang dinyatakan tidak layak dan yang dinyatakan layak berdasarkan hasil pemeriksaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang ditemukan.

Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Dinas Kesehatan Propinsi Bali melalui nomor surat 000.9.2/ 12611 / Dikes. Uji statistik penelitian ini menggunakan aplikasi komputer program excel.

HASIL

Para Tabel dibawah ini disajikan algoritma penentuan kelayakan spesimen dahak.

Tabel 1. Algoritma Penentuan Kelayakan Spesimen Dahak

Kriteria kelayakan	Daftar Pernyataan	YES	NO
Sampel diterima	Pasien berkumur dengan air minum sebelum pengeluaran dahak, bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur.	√	√
	Diperoleh volume dahak antara tiga setengah hingga lima mililiter.	√	√
	Dahak tersebut ditampung dalam pot dahak steril dan terstandar tertutup.	√	-
	Spesimen dikirim ke laboratorium secepat mungkin segera setelah pengambilan, atau jika tunda lebih dari 8 jam maka disimpan pada kondisi dingin suhu 2-8 o C dan diantar ke laboratorium dengan speciment transport.	√	-
	Dahak yang diperoleh berwarna hijau kekuningan atau purulen.	√	-
	Dahak yang diperoleh bersifat mukoid.	√	-
Sampel ditolak	Pasien berkumur dengan air minum sebelum pengeluaran dahak, bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur.	√	√
	Diperoleh volume dahak antara tiga setengah hingga lima mililiter.	√	√
	Dahak tersebut ditampung dalam pot dahak steril dan terstandar tertutup.	-	√
	Spesimen dikirim ke laboratorium secepat mungkin segera setelah pengambilan, atau jika tunda lebih dari 8 jam maka disimpan pada kondisi dingin suhu 2-8 o C dan diantar ke laboratorium dengan speciment transport.	-	√
	Dahak yang diperoleh berwarna hijau kekuningan atau purulen.	-	√
	Dahak yang diperoleh bersifat mukoid.	-	√

Pada Tabel 1 diatas dijelaskan kriteria sampel diterima dan sampel ditolak berdasarkan checklist (Yes/No) pada aplikasi hasil pengamatan ATLM terhadap sampel yang masuk.

Pada Tabel 2 disajikan kesesuaian hasil yang diperoleh dari aplikasi Layak Sputum dengan hasil tes TCM pada spesimen dahak screening TB.

Tabel 2. Kesesuaian Hasil Apps Layak Sputum Dengan Hasil Tes TCM

NO	Kode Sampel	Pernyataan Algoritma Aplikasi Layak Sputum						Hasil Apps Layak Sputum	Hasil konfirmasi uji TCM
		1	2	3	4	5	6		
1	0193 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
2	0194 T	NO	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
3	0195 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
4	0196 T	NO	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	DETECTED*
5	0197 T	YES	YES	YES	YES	YES	YES	Sampel Diterima	NEGATIF*
6	0198 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
7	0199 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
8	0200 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
9	0007 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
10	0201 T	YES	YES	YES	YES	YES	YES	Sampel Diterima	NEGATIF*
11	0202 T	YES	YES	YES	YES	YES	YES	Sampel Diterima	NEGATIF*
12	0203 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
13	0204 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF
14	0205 T	YES	YES	YES	YES	NO	YES	Sampel Ditolak	NEGATIF

Keterangan

1. Pasien berkumur dengan air minum sebelum pengeluaran dahak, bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur.
2. Diperoleh volume dahak antara tiga setengah hingga lima mililiter.
3. Dahak tersebut ditampung dalam pot dahak steril dan terstandar tertutup.
4. Spesimen dikirim ke laboratorium secepat mungkin segera setelah pengambilan, atau jika tunda lebih dari 8 jam maka disimpan pada kondisi dingin suhu 2-8 o C dan diantar ke laboratorium dengan specimen transport.
5. Dahak yang diperoleh berwarna hijau kekuningan atau purulen.
6. Dahak yang diperoleh bersifat mukoid.

* Tidak sesuai

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa pada sampel 0196T, aplikasi "Layak Sputum" menolak spesimen karena tidak memenuhi kriteria "dahak hijau dan purulen." Namun, hasil TCM menunjukkan adanya deteksi kuman TB. Sebaliknya, pada sampel 0197T, 0201T, dan 0102T, meskipun aplikasi menyatakan sampel layak, hasil TCM menunjukkan negatif. Tingkat kesesuaian antara aplikasi dan TCM mencapai 71,4%.

DISKUSI

Hasil ketidaksesuaian antara aplikasi dan TCM, seperti yang dijumpai pada spesimen 0196T, mengindikasikan bahwa TCM lebih sensitif dalam mendeteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* dibandingkan dengan evaluasi fisik spesimen yang digunakan oleh aplikasi Layak Sputum. Teknologi TCM, seperti GeneXpert, telah dikenal memiliki sensitivitas yang tinggi dalam mendeteksi DNA bakteri TB, bahkan dalam spesimen yang mungkin tidak memenuhi kriteria fisik ideal seperti warna dan konsistensi dahak. TCM bekerja dengan mendeteksi gen spesifik TB dan memberikan hasil dalam waktu yang relatif singkat, yang membuatnya menjadi alat unggulan dalam diagnosis cepat dan akurat TB. Karena TCM langsung mendeteksi material genetik, keandalannya tidak sepenuhnya bergantung pada kualitas fisik spesimen, sehingga mampu mendeteksi infeksi TB bahkan dalam spesimen yang dianggap tidak layak oleh aplikasi berdasarkan kriteria fisik (Steingart, 2014).

Aplikasi "Layak Sputum" mengandalkan penilaian visual dan parameter fisik seperti warna, konsistensi, dan volume sputum untuk menilai kelayakan spesimen. Kim Y, Lee S. et al. (2023) menyebutkan bahwa Integrasi sistem pakar berbasis web membuka kemungkinan untuk mengoptimalkan penilaian kelayakan spesimen secara real-time dan mempercepat proses diagnosa, namun demikian meskipun metode ini bisa membantu menilai kelayakan spesimen dahak pada metode pemeriksaan dengan akurasi tinggi dapat menyebabkan beberapa spesimen yang secara fisik terlihat tidak layak, ternyata mengandung DNA TB yang dapat dideteksi oleh TCM.

Selain itu, aplikasi belum sepenuhnya mengakomodasi faktor risiko keterpaparan TB pada subjek penelitian. Proses infeksi Tuberkulosis Paru dimulai saat *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri penyebab TB, masuk ke saluran pernapasan manusia melalui udara yang terkontaminasi. Setelah terhirup, bakteri tersebut cenderung menyerang paru-paru dan diambil oleh makrofag, sel pertahanan tubuh. Meskipun makrofag biasanya berupaya menghancurkan bakteri TB, *M. tuberculosis* memiliki kecenderungan untuk bertahan hidup di dalamnya. Ini memicu pembentukan granuloma, struktur pertahanan tubuh yang terdiri dari sel-sel kekebalan dan jaringan yang berupaya mengisolasi bakteri tersebut. Proses

ini menyebabkan pembentukan tuberkel, di mana bakteri TB berada dalam keadaan laten atau tidak aktif. Saat sistem kekebalan tubuh seseorang melemah, bakteri TB dapat menjadi aktif kembali, menyebabkan penyakit TB paru yang dapat menular. Patogenesis TB paru melibatkan interaksi kompleks antara bakteri, sel-sel tubuh, dan faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivasi kembali bakteri yang sebelumnya tidak aktif (Saktiawati, 2021). Faktor risiko sebagaimana disebutkan oleh penelitian Saktiawati 2021 belum terakomodasi oleh aplikasi ini, oleh karena itu, pengembangan lebih lanjut dari algoritma aplikasi "Layak Sputum" yang tidak hanya mempertimbangkan aspek fisik spesimen, tetapi juga memperhitungkan profil risiko pasien.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun aplikasi "Layak Sputum" memiliki potensi besar dalam mendukung proses diagnosis TB, penyesuaian dan peningkatan akurasi dengan mengadopsi pendekatan berbasis risiko dan pengenalan citra yang lebih sensitif sangat diperlukan. Kolaborasi dengan metode diagnostik lain seperti TCM tetap menjadi langkah penting untuk memastikan hasil yang lebih akurat dan komprehensif

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada STIKES Wira Medika Bali atas fasilitasi melalui skema hibah internal dalam penelitian ini, dan juga kepada Dinas Kesehatan Propinsi Bali atas izin yang telah diberikan. Apresiasi yang tinggi peneliti kepada Tim ATLM Puskesmas Denpasar Utara III atas kerjasama yang baik selama penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada potensi dan situasi yang mengarah pada konflik kepentingan.

REFRENSI

Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

- Kim, Y., Lee, S., et al. (2023). Application of Web-Based Expert Systems Using Artificial Intelligence for Specimen Feasibility Assessment in Laboratory Medicine. *Journal of Clinical Medicine*.
- Kim, Y., Lee, S., et al. (2023). Application of Web-Based Expert Systems Using Artificial Intelligence for Specimen Feasibility Assessment in Laboratory Medicine. *Journal of Clinical Medicine*.
- Pai, M., Behr, M., et al. Tuberculosis. *Nature Reviews Disease Primers*. (2022).
- Sagung Sawitri, I. A., Munir, M. R., et al. (2021). Tuberculosis in Indonesia: Incidence, Prevention, and Control Programs. *Journal of Epidemiology and Public Health Reviews*.
- Saktiawati (2021). *Diagnosis dan Terapi Tuberkulosis Secara Inhalasi*. Gadjah Mada University Press.
- Steingart, K. R., Schiller, I., et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (2014).
- World Health Organization. (2014). Implementing tuberculosis diagnostics: A policy framework. WHO/HTM/TB/2010.16.
- World Health Organization. (2019). *Global Tuberculosis Report*. WHO Press.
- World Health Organization. (2021). Tuberculosis (TB). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
- Wu, X., Jiang, X., et al. (2023). Integration of Clinical Data and Artificial Intelligence in Web-Based Expert Systems for Disease Diagnosis. *Journal of Medical Internet Research*.
-

PENGARUH GARIS BAGI PADA BILIK HITUNG *IMPROVED NEUBAUER* TERHADAP KESESUAIAN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

Sabrina Savira Putri^{1*} · Eva Ayu Maharani² · Dewi Astuti³

^{1,2,3} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes KemenKes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail : sabrinaputri2992@gmail.com
No Tlp WA : 085774202183

Abstract

Platelet count is routine examination in clinical laboratories, and the manual counting chamber method is performed as confirmatory examination. Currently, the Improved Neubauer counting chamber type (two outer lines variation type) has been invented, which is different from the outer limits of the counting chamber area (three outer lines standard type). The purpose of this study was to determine whether there is an effect of the dividing line in the Improved Neubauer counting chamber on the suitability of platelet counts between the standard type and the variation of the counting chamber. The design of this study was experimental using 20 samples of students in good health. The significant difference test was measured to see the effect of the dividing line on the Improved Neubauer counting chamber on the accuracy of platelet count. The results showed that the data were normally distributed and the significant difference test obtained the Sig value of the standard type counting chamber 0.000 (<0.05) and the variation type counting chamber 0.000 (<0.05) indicating a significant difference. In conclusion, there is an effect of the dividing line in the Improved Neubauer counting chamber on the suitability of platelet count. The use of standard Improved Neubauer counting chamber is more recommended than Improved Neubauer variation counting chamber.

Keywords: Platelet Count, Improved Neubauer Counting Chamber, Standard Type, Variation Type.

Abstrak

Hitung jumlah trombosit merupakan pemeriksaan rutin di laboratorium klinik, dan metode manual bilik hitung dilakukan sebagai pemeriksaan konfirmasi. Saat ini, telah ditemukan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* (tipe variasi batas dua garis terluar) yang berbeda dari batas terluar area bilik hitung (tipe standar tiga garis terluar). Tujuan penelitian ini mengetahui apakah ada pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit antara tipe standar dan variasi bilik hitung tersebut. Desain penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan 20 sampel mahasiswa dalam kondisi sehat. Uji perbedaan bermakna diukur untuk melihat pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan uji beda bermakna didapatkan nilai Sig bilik hitung tipe standar 0.000 (<0.05) dan bilik hitung tipe variasi 0.000 (<0.05) menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Kesimpulan penelitian ini adanya pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit. Penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* standar lebih disarankan dibanding bilik hitung *Improved Neubauer* variasi.

Kata Kunci : Hitung Jumlah Trombosit, Bilik Hitung *Improved Neubauer*, Tipe Standar, Tipe Variasi.

PENDAHULUAN

Trombosit disebut juga keping darah atau platelet merupakan salah satu jenis sel darah yang berfungsi sebagai pembekuan darah dan hemostasis (mekanisme menghentikan kehilangan darah yang berlebihan) (AMK, 2014). Hitung jumlah

trombosit merupakan salah satu parameter pemeriksaan darah rutin yang dilakukan untuk menentukan adanya kondisi trombositopenia (hitung jumlah trombosit di bawah nilai normal) dan kondisi trombositosis (hitung jumlah trombosit di atas nilai normal). Kondisi trombositosis ini dapat dijumpai pada kasus infeksi, inflamasi, dan keganasan. Trombositopenia dapat disebabkan oleh produksi trombosit yang berkurang, kelainan distribusi atau destruksi yang meningkat, kelainan mekanisme autoimun (anemia hemolitik autoimun) dan anemia aplastik (Dosen Teknologi Laboratorium Medis 2020).

Saat ini pemeriksaan hitung trombosit dilakukan menggunakan alat hitung otomatis (hematology analyzer) menggunakan beberapa teknik pengukuran atau prinsip kerja. Teknik pengukuran impedansi aliran listrik menggunakan prinsip hambatan arus listrik untuk mengukur sel darah dan teknologi flowcytometry menggunakan prinsip-hamburan dan pemancaran cahaya untuk mengukur karakteristik sel darah. Keuntungan penggunaan hematology analyzer adalah pada proses pemeriksaan lebih cepat dibandingkan dengan pemeriksaan secara manual (hanya membutuhkan waktu sekitar 2-3 menit) sehingga lebih efisien, volume sampel yang dibutuhkan lebih sedikit, serta memiliki ketepatan hasil dengan didukung oleh quality control internal laboratorium yang baik (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020).

Pemeriksaan sel trombosit secara manual masih menjadi pemeriksaan rujukan jika pada alat otomatisasi terdapat status flagging yang membutuhkan konfirmasi perhitungan. Metode yang direkomendasikan adalah metode manual bilik hitung menggunakan ammonium oxalat 1% (brecher concrite) dengan bilik hitung *Improved Neubauer* (Yani et al., 2018). Bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar memiliki batas kesalahan toleransi $\pm 2\%$ untuk kedalaman 0,1 mm. Oleh karena itu, alat ini digunakan untuk menghitung sel darah dengan tingkat kesalahan yang rendah. Bilik hitung ini memiliki area mikroskopis berukuran 9,0 mm², yang terbagi menjadi 9 kotak besar (masing-masing kotak berukuran 1,0 mm²). Kotak besar di tengah (1 mm²) dibagi lagi menjadi 25 kotak, yang masing-masing berisi 16 kotak kecil (masing-masing berukuran 0,05 x 0,05 mm) untuk hitung trombosit. Setiap area kotak di dalam bilik hitung didesain sesuai peruntukannya untuk hitung setiap sel darah dalam volume tertentu. Ketentuan penghitungan sel darah sudah terstandar dengan memperhitungkan batas kotak

terluar yaitu batas tiga garis (Labmart, 2024).

Penggunaan bilik hitung yang terstandar menjadi hal mutlak yang harus dilakukan karena terkait dengan faktor perhitungan yang menjadi penentu dalam hitung jumlah trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Oleh karena itu, pemilihan bilik hitung yang digunakan menjadi salah satu tahapan pra-analitik yang penting untuk dilakukan dengan tepat. Saat ini, telah ditemukan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* variasi yang berbeda dari tipe yang terstandar, yaitu batas terluar area hitung. Pada bilik hitung tipe standar batas terluar area hitung terdapat tiga garis sedangkan pada tipe bilik hitung variasi terdapat dua garis. Ketentuan hitung jumlah trombosit dengan memperhatikan ketentuan “kiri atas” yaitu sel yang dihitung merupakan sel trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kiri dan batas atas sedangkan trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung. Perbedaan garis pada batas terluar area perhitungan dapat saja menimbulkan perbedaan hitung trombosit dengan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar. Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan analisis perbedaan hitung jumlah trombosit antara bilik hitung *Improved Neubauer* standar (tiga garis batas terluar area hitung) dan bilik hitung *Improved Neubauer* variasi (dua garis batas terluar area hitung).

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium untuk menguji adanya perbedaan bermakna dan variasi hasil dari hitung jumlah trombosit menggunakan dua tipe bilik hitung *Improved Neubauer*. Populasi penelitian ini berasal dari mahasiswa tingkat empat prodi Sarjana Terapan Poltekkes Jakarta III tahun akademik 2024, sebanyak 20 mahasiswa dalam kondisi fisik sehat yang dipilih sebagai sampel. Kedua puluh mahasiswa tersebut dilakukan pengambilan darah EDTA.

Darah EDTA dilakukan pengenceran dengan reagensia ammonium oksalat sebanyak 200 kali. Campuran tersebut dihomogenisasi, larutan tersebut dimasukkan ke dalam bilik hitung dan diinkubasi selama 10 menit. Trombosit dihitung pada 25 kotak kecil di bagian tengah bilik hitung dengan luas 1mm^2 menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40X. Perhitungan

dilakukan dengan memperhatikan ketentuan “kiri atas”. Ketentuan “kiri atas” adalah trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kiri dan batas atas dihitung, sedangkan trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung. Jumlah trombosit yang ditemukan dikalikan dengan faktor pengenceran (Iverson & Dervan, 2018).

Analisis data dilakukan terhadap hasil hitung jumlah trombosit pada bilik hitung tipe standar dan tipe variasi. Rekap hasil dilakukan uji statistik beda bermakna dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Jika nilai sig. (p) < 0.05 maka dinyatakan beda bermakna yang berarti ada pengaruh garis bagi bilik hitung improved Neubauer terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit.

HASIL

Berikut ini adalah rekap data hasil hitung trombosit pada metode manual antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi.

Tabel 1. Rekap Hasil Pemeriksaan Hitung jumlah trombosit

No	Uji Univariat	Bilik Hitung Standar	Bilik Hitung Variasi
1	Rentang (/ μ L darah)	190.000-306.000	180.000-290.000
2	Rata-rata (/ μ L darah)	247.100	234.100
3	Standar Deviasi (/ μ L darah)	34.861	33.919

Hasil pada Tabel 1 kemudian dilanjutkan ke uji beda bermakna yang diawali dengan uji kenormalan data, pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Uji Kenormalan data (Shapiro-wilk)

Tipe bilik Hitung	Statistik	Df	Sig.
Bilik Hitung Standar	0.935	20	0.192
Bilik Hitung Variasi	0.928	20	0.142

Berdasarkan Tabel 2 uji kenormalan data, didapatkan nilai Sig. pada kedua hasil hitung trombosit > 0.05 , yang diinterpretasikan sebagai sebaran data normal dan uji statistik dilanjutkan dengan uji Paired T-Test.

Tabel 3. Hasil Uji Berpasangan (*Paired T-test*)

Hitung Jenis Trombosit	Nilai (2 tailed Sig)
Bilik Hitung Standar	0.000
Bilik Hitung Variasi	0.000

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan nilai Sig. 0.000 (<0.05) yang menunjukkan adanya bermakna. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit.

DISKUSI

Penghitungan jumlah trombosit, selain menggunakan alat otomatisasi dapat juga dilakukan secara manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* (Yani et al., 2018). Penggunaan bilik hitung yang terstandar adalah hal yang penting karena terkait dengan faktor perhitungan yang mempengaruhi jumlah trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Garis batas pada area bilik hitung mempunyai fungsi sebagai area hitung untuk memungkinkan menghitung jumlah sel trombosit secara sistematis dan mengurangi kemungkinan terjadinya kesalahan hitung. Bilik hitung tipe standar dengan tiga garis terluar, merupakan bilik hitung yang direkomendasikan untuk hitung jumlah trombosit metode manual. Penelitian ini menganalisis hasil hitung jumlah trombosit antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* standar (tiga garis batas terluar area hitung) dengan tipe bilik hitung variasi (dua garis batas terluar area hitung).

Bilik hitung dengan dua garis batas terluar (tipe variasi) memungkinkan jumlah trombosit yang terhitung lebih sedikit dibandingkan bilik hitung dengan tiga garis terluar (tipe standar). Hal ini dibuktikan dengan jumlah rata-rata trombosit yang terhitung pada bilik hitung tipe variasi lebih rendah dibandingkan tipe standar (Tabel 1).

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah trombosit antara penghitungan dengan bilik hitung tipe standar dengan tipe variasi (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa garis are terluar yang merupakan batas perhitungan trombosit mempunyai pengaruh terhadap perhitungan jumlah trombosit. Selain itu, kualitas bilik hitung seperti garis bagi menjadi berpengaruh pada proses penghitungan trombosit. Pengamatan secara mikroskopik diketahui bahwa garis bagi pada bilik hitung tipe standar lebih jelas

terlihat dibandingkan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi yang memiliki garis batas terlihat samar, garis terlihat tidak lurus dan terdapat perbedaan ketebalan pada garisnya. Oleh karena itu pada proses pemilihan bilik hitung harus diperhatikan benar kesesuaiannya dengan bilik hitung tipe standar, mengingat saat ini terdapat berbagai variasi bilik hitung improved Neubauer dengan berbagai merk dagang.

Pada praktiknya, hitung trombosit metode manual kurang dapat diaplikasikan pada pelayanan laboratorium klinik rutin, namun metode manual masih diandalkan untuk pemeriksaan konfirmasi. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan variasi proses penghitungan trombosit diantaranya proses pemipetan pada saat pengenceran, tidak menghomogenkan terlebih dahulu sebelum dipipet, tidak meratanya sebaran sel trombosit di kamar hitung, penghitungan sel trombosit berulang, serta terbentuknya agregasi trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Pada penelitian ini, faktor-faktor yang menyebabkan variasi hitung trombosit dapat diminimalisir melalui beberapa cara seperti pengerjaan duplo yang langsung dikerjakan setelah pemeriksaan pertama selesai tanpa penundaan, pengerjaan setiap pemeriksaan dilakukan oleh satu orang untuk meminimalisir variasi hitung sel, waktu antara pengambilan sampel dan tahap perhitungan jumlah trombosit tidak terlalu jauh artinya sampel masih mempunyai stabilitas sesuai, dan pengambilan darah yang sesuai, yaitu tidak reposisi untuk mencegah terbentuknya agregasi trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Selain itu, alat dan bahan yang digunakan sesuai dengan standar, yaitu penggunaan mikroskop dengan tipe standar, reagensia yang belum kadaluwarsa serta ketentuan batas penghitungan yang seragam yaitu menggunakan “kiri atas” untuk meminimalisir adanya perbedaan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan terdapat pengaruh penggunaan tipe bilik hitung terhadap hasil hitung jumlah trombosit. Penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar lebih disarankan dibanding bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Ketua Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III serta seluruh pihak yang telah membantu tim peneliti menyelesaikan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam publikasi prosiding ini.

REFRENSI

- Syaifuddin. (2019). Ilmu Biomedik Dasar I: anatomi fisiologi. Jakarta: EGC.
- Dosen Teknologi Laboratorium Medik. (2020). *Hematologi Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC
- Yani, N., & Chairan (2018). Validasi Hasil Pemeriksaan Jumlah Trombosit Secara Autoanalyzer Dan Manual Menggunakan Amonium Oksalat 1%. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis E*, (Vol. 1 No. 1, p. 2622-2256). 1 Stikes Perintis Padang.
- Astuti, D., & Durachim, A., (2018). *Hemostasis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Eva, A. M., & Dewi. A., (2022). Pemeriksaan Penyaringan Hemostasis. Modul Hematologi III. (pp. 19-27). Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

STABILITAS POOLED SERA SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN KONTROL POSITIF PEMERIKSAAN C-REACTIVE PROTEIN

Doni Setiawan^{1*} · Ranita Nurjamilah² · Nabil Ridla Firdaus³ · Ary Nurmalasari⁴ ·
Euis Tia Istianah⁵

^{1,2,3,4,5} Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Muhammadiyah Ciamis, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : donisetiawan@stikesmucis.ac.id

No Tlp WA : 082218714206

Abstract

Clinical laboratories must provide examination services, measurement and testing of specimens to be examined to provide results that match the actual value so that quality assurance is needed. One of the laboratory examinations, namely C-reactive protein, has a limited amount of control material available so that it will cause problems, namely not testing the control material. As an alternative if the commercial control material runs out can utilize Pooled sera. This study aims to determine the stability of pooled sera without the addition of preservatives and with the addition of 0.1% and 2% sodium azide preservatives. The design of this study was descriptive with an experimental approach using a population of CRP positive serum that was not hemolyzed, icteric and lipemic and had levels ≥ 48 mg/L as much as 10 mL. The examination method used latex agglutination with semi-quantitative procedures. The instrument used was a black background slide which was measured at the beginning of the study and measured again with a period of once a week for one month. This study was conducted at the Immunoserology Laboratory of STIKes Muhammadiyah Ciamis in May - June 2024. The research that has been done obtained the results of C-reactive protein positive pooled sera without preservatives at 2-8 ° C there is a decrease in levels, while pooled sera without preservatives stored at -20 ° C and pooled sera added with 0.1% and 2% sodium azide preservatives at 2-8 ° C can be stable. It can be concluded that pooled sera stored at -20 ° C and added preservatives can maintain stability and can be an alternative positive control material for C-reactive protein examination.

Keywords : Agglutination, Quality Stabilization, Serum Preservation

Abstrak

Laboratorium klinik harus memberikan pelayanan pemeriksaan, pengukuran dan pengujian spesimen yang akan diperiksa memberikan hasil yang sesuai dengan nilai sebenarnya sehingga diperlukannya kendali mutu (*quality assurance*). Salah satu pemeriksaan laboratorium yaitu *C-reactive protein* memiliki keterbatasan jumlah bahan kontrol yang tersedia sehingga akan menimbulkan masalah yaitu tidak dilakukannya pengujian bahan kontrol. Sebagai alternatif apabila bahan kontrol komersial habis dapat memanfaatkan *Pooled sera*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui stabilitas *pooled sera* positif CRP pada variasi penyimpanan pada suhu -20 ° C dan suhu 2-8 °, serta pengaruh penggunaan pengawet Natrium azida dengan variasi konsentrasi 0,1% dan 2% yang disimpan pada suhu 2-8 ° C selama 4 minggu. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuantitatif eksperimental untuk mengetahui pengaruh variasi suhu -20 ° C dan 2-8 ° C, serta pengawet Natrium azida 0,1% dan 2% yang disimpan pada suhu 2-8 ° C. Populasi dalam penelitian ini adalah serum positif CRP yang tidak hemolisis, ikterik dan lipemik serta memiliki kadar ≥ 48 mg/L sebanyak 20 mL. Metode pemeriksaan menggunakan aglutinasi latex dengan prosedur semi-kuantitatif. Penelitian yang telah dilakukan mendapatkan hasil *Pooled sera* positif *C-reactive protein* tanpa pengawet pada suhu 2-8 ° C terjadi penurunan kadar, sementara *pooled sera* tanpa pengawet yang disimpan pada suhu -20 ° C dan *pooled sera* yang ditambahkan pengawet Natrium azida 0,1% dan 2% pada suhu 2-8 ° C dapat stabil. Dapat disimpulkan bahwa *pooled sera* yang disimpan pada suhu -20 ° C dan ditambahkan pengawet Natrium azida 0,1 dan 2% yang disimpan pada suhu 2-8 ° C dapat mempertahankan stabilitas dan dapat menjadi alternatif bahan kontrol positif pemeriksaan *C-reactive protein*.

Kata Kunci : Aglutinasi, Pemantapan Mutu, Pengawet Serum

PENDAHULUAN

Laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melakukan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk mengumpulkan data tentang kesehatan seseorang untuk diagnosis, penyembuhan, dan pemulihan (Kemenkes, 2013). Pelaksanaan laboratorium klinik dalam pelayanan pemeriksaan, pengukuran dan juga pengujian terhadap spesimen yang akan diperiksa harus memberikan hasil yang sesuai dengan nilai yang sebenarnya. Laboratorium akan diakui memiliki mutu tinggi apabila memperhatikan presisi dan akurasi (Siregar *et al.*, 2018).

Kegiatan yang bertujuan untuk memastikan bahwa hasil pemeriksaan laboratorium klinik dapat dipercaya dari segi kualitas, ketelitian, dan pengawasan dikenal sebagai pengendalian mutu laboratorium klinik (Praptomo, 2018). Pemantapan mutu internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilakukan oleh laboratorium itu sendiri untuk mengurangi kesalahan dan penyimpangan untuk mendapatkan hasil yang akurat (Muslim, Kustiningsih and Yanuarti, 2015). PMI dilakukan dengan melakukan pengukuran ketelitian dan ketepatan hasil dengan menggunakan bahan kontrol (Kemenkes, 2013).

Pooled sera merupakan campuran dari bahan sisa serum pasien yang sehari-hari dikirim ke laboratorium (Siregar *et al.*, 2018). Pemanfaatan *pooled sera* sebagai alternatif pemeriksaan bahan kontrol memberikan efisiensi karena tidak memerlukan biaya yang besar dalam pembuatannya atau bahkan tidak memerlukan biaya sama sekali. Berdasarkan Siregar *et al.* (2018) dalam buku Kendali Mutu, bahan kontrol yang digunakan untuk PMI pemeriksaan imunoserologi biasanya tidaklah banyak, sehingga dapat memanfaatkan sisa sampel yang sudah digunakan untuk pembuatan *pooled sera*.

C-reactive protein merupakan salah satu protein fase akut yang dapat ditemukan di dalam serum normal (Mus, 2023). Pemeriksaan CRP bertujuan untuk diagnosa terjadinya proses inflamasi atau juga dapat digunakan untuk menilai perkembangan penyakit dan terapi (Sarmen, Mayetti and Bachtiar, 2016). Untuk menjamin kualitas, ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan CRP agar dapat

dipercaya maka diperlukan pemeriksaan bahan kontrol sebelum dilakukan pemeriksaan kepada pasien (Tuna and Widyaningsih, 2017).

Organisasi Kesehatan Dunia atau WHO menyarankan untuk menambahkan zat pengawet etilen glikol pada Pooled sera sebagai bahan kontrol karena sifatnya yang anti beku dan anti bakteri. Karena sifatnya yang anti bakteri, tidak berwarna, dan tidak berbau, natrium azida juga sering digunakan sebagai pengawet serum (Fauziah *et al.*, 2019).

Pada hasil observasi yang dilakukan oleh tim peneliti di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Ciamis, dilakukan analisis perhitungan pada kit pemeriksaan CRP latex dimana pada hasil observasi ini didapatkan ketidakseimbangan antara reagen dengan bahan kontrol yang tersedia pada kit. Dalam kit tersebut terdapat dua botol reagen sebanyak 5 mL dengan masing-masing 2,5 mL, satu botol kontrol positif sebanyak 1 mL dan satu botol kontrol negatif sebanyak 1 mL. Dalam satu kali pemeriksaan CRP dibutuhkan 50 μ L reagen sehingga pada kit tersebut dapat digunakan untuk 100 test uji. Dalam satu kali pengujian terdapat tiga uji yaitu untuk kontrol positif, kontrol negatif dan sampel maka setelah diratakan dalam kit CRP latex dapat melakukan 33 test uji. Bahan kontrol positif dan negatif hanya terdapat 1 mL yang setelah dibagi 50 μ L hanya dapat digunakan untuk 20 test uji, setelah dianalisis dapat disimpulkan bahwa terdapat 13 test uji yang tidak menggunakan bahan kontrol yang dimana hal ini akan menimbulkan masalah yaitu tidak dilakukannya pengujian bahan kontrol. Sebagai alternatif apabila bahan kontrol komersial habis yaitu dapat memanfaatkan *Pooled sera* sebagai alternatif terutama untuk bahan kontrol positif.

Berdasarkan Brennan (2021) menyatakan bahwa penggunaan Natrium azida sebagai pengawet untuk di laboratorium adalah dengan konsentrasi 0,1-2% karena mampu larut dengan mudah dalam air dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri yang dapat mencemari reagen-reagen di laboratorium, terutama jika reagen-reagen tersebut mengandung protein yang diisolasi dari cairan biologis. Dari uraian tersebut penulis bermaksud untuk melakukan penelitian stabilitas *Pooled sera* dengan penambahan natrium azida 0,1% dan 2% sebagai alternatif bahan kontrol positif pemeriksaan CRP pada suhu 2-8°C selama 4 minggu dan

dilakukan pengujian setiap minggunya untuk mengetahui perbandingan stabilitas kadar titer dengan penambahan pengawet tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan stabilitas pooled sera tanpa pengawet yang disimpan pada suhu 2-8°C dan -20°C serta *pooled sera* yang penambahan Natrium azida 0,1% dan 2% yang disimpan pada suhu 2-8°C sebagai alternatif bahan kontrol positif pemeriksaan *C-reactive protein* berdasarkan lamanya penyimpanan.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuantitatif eksperimental untuk mengetahui pengaruh variasi suhu -20°C dan 2-8°C, serta pengawet Natrium azida 0,1% dan 2% yang disimpan pada suhu 2-8°C. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Imunoserologi STIKes Muhammadiyah Ciamis pada bulan Mei - Juni 2024. Bahan penelitian ini berupa serum positif CRP yang tidak hemolisis, ikterik, lipemik dan memiliki kadar ≥ 48 mg/L sebanyak 20 mL.

Pengumpulan pooled sera dilakukan dengan cara serum positif CRP yang kadarnya ≥ 48 mg/L dipisahkan dengan menggunakan mikropipet ke dalam labu Erlenmeyer. Selanjutnya disimpan di freezer. Sisa serum pada setiap pemeriksaan CRP dengan hasil positif ditambahkan kedalam Erlenmeyer tanpa menyebabkan campuran serum yang telah ada mencair kembali [2].

Pembuatan pooled sera dilakukan dengan cara serum yang sudah terkumpul dikeluarkan dari freezer kemudian dibiarkan mencair pada suhu kamar. Homogenkan campuran serum sampai homogen. Campuran serum kemudian dicentrifuge untuk menghilangkan fibrin dan kotoran lain. Supernatan dipisahkan lalu dimasukkan ke dalam dua wadah yang berbeda masing-masing sebanyak 5 mL. Pembuatan pooled sera dengan penambahan Natrium azida 2% yaitu dengan menimbang Natrium azida sebanyak 0,1 gram dan dimasukan kedalam labu ukur 5 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 75 μ L untuk melarutkan kemudian ditambahkan serum kumpulan sampai tanda batas. Homogenkan sampai benar-benar tercampur dan lakukan dengan hati-hati.

Pembuatan pooled sera dengan penambahan penambahan Natrium azida

0,1% dilakukan dengan memipet sebanyak 250 μL serum kumpulan yang sudah ditambahkan Natrium azida 2% kedalam labu ukur 5 mL. Selanjutnya ditambahkan serum sampai tanda batas. Homogenkan sampai benar-benar tercampur dengan hati-hati. Sebelum dimasukkan ke dalam mikrotube, pooled sera akan dilakukan pengujian terlebih dahulu dengan metode semi-kuantitatif dengan 5 kali pengulangan untuk mengetahui nilai awal pooled sera. Masukkan pooled sera kedalam masing-masing mikrotube sebanyak 500 μL . Simpan pooled sera kedalam kulkas dengan suhu 2-8°C [4].

Pemeriksaan CRP semi-kuantitatif: siapkan pooled sera yang telah dibuat dan reagen pada suhu ruangan sebelum digunakan. Selanjutnya diteteskan masing-masing 50 μL saline pada slide test 1 sampai 5. Ditambahkan 50 μL pooled sera pada lingkaran pertama kemudian homogenkan. Pindahkan 50 μL pada lingkaran pertama lalu masukkan ke lingkaran kedua. Lakukan pengulangan tersebut sampai lingkaran kelima dan kemudian buang 50 μL . Dihomogenkan reagen latex dan tambahkan 1 tetes pada setiap lingkaran. Dihomogenkan dengan batang pengaduk, goyangkan atau rotator slide selama 2 menit dan amati terbentuknya aglutinasi. Perhitunglah konsentrasi yaitu dengan nilai titer dikali 6 mg/L. Titer adalah hasil pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan nilai positif dengan adanya aglutinasi [17]. Dilakukan lima kali pengulangan pemeriksaan pooled sera untuk menjamin kualitas bahan kontrol yang digunakan. Pemeriksaan dilakukan setiap minggu dalam kurun waktu empat minggu. Replikasi dilakukan untuk memastikan keandalan dan validitas hasil.

Analisis Statistik yang digunakan pada penelitian ini non-parametrik Kruskal-Wallis, yang digunakan untuk melihat pengaruh dari suhu penyimpanan dan konsentrasi pengawet terhadap kadar CRP, serta interaksi antara kedua variabel tersebut.

HASIL

Hasil kontrol kualitas metode aglutinasi lateks yang disajikan pada tabel 1 dan hasil pemeriksaan *pooled sera* yang disajikan pada Tabel 2,3,4 dan Tabel 5 yang digambarkan secara grafis pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Bahan Kontrol Komersial

Bahan Kontrol	Hasil Pemeriksaan Bahan Kontrol				
	Pemeriksaan Awal	Minggu ke-			
		1	2	3	4
Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	
Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan CRP Positif Tanpa Pengawet suhu -20°C

Pengulangan	Hasil Kadar CRP (mg/L)				
	Pemeriksaan Awal	Minggu ke-			
		1	2	3	4
1	96	96	96	96	96
2	96	96	96	96	96
3	96	96	96	96	96
4	96	96	96	96	96
5	96	96	96	96	96

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan CRP Positif Tanpa Pengawet suhu 2-8°C

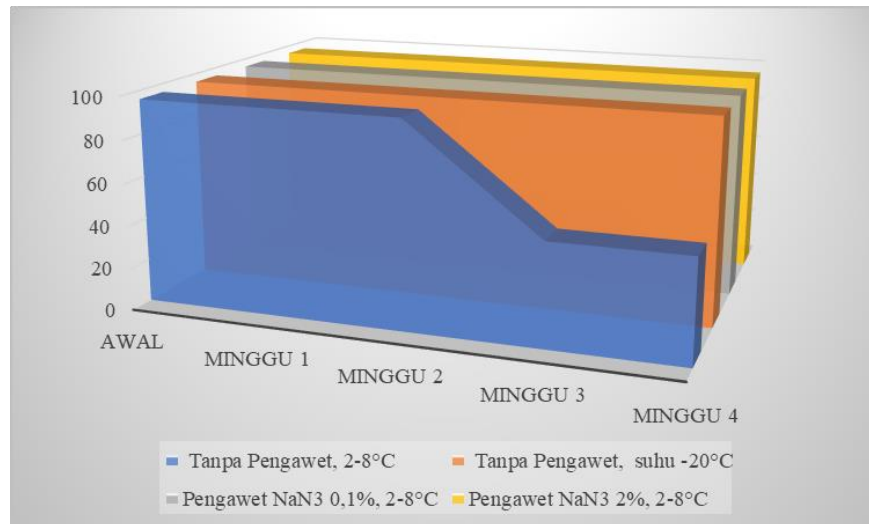
Pengulangan	Hasil Kadar CRP (mg/L)				
	Pemeriksaan Awal	Minggu ke-			
		1	2	3	4
1	96	96	96	48	48
2	96	96	96	48	48
3	96	96	96	48	48
4	96	96	96	48	48
5	96	96	96	48	48

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan CRP Positif dengan Pengawet NaN₃ 0,1% suhu 2-8°C

Pengulangan	Hasil Kadar CRP (mg/L)				
	Pemeriksaan Awal	Minggu ke-			
		1	2	3	4
1	96	96	96	96	96
2	96	96	96	96	96
3	96	96	96	96	96
4	96	96	96	96	96
5	96	96	96	96	96

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan CRP Positif dengan Pengawet NaN₃ 2% suhu 2-8°C

Pengulangan	Hasil Kadar CRP (mg/L)				
	Pemeriksaan Awal	Minggu ke-			
		1	2	3	4
1	96	96	96	96	96
2	96	96	96	96	96
3	96	96	96	96	96
4	96	96	96	96	96
5	96	96	96	96	96



Gambar 1. Grafik Stabilitas Pooled sera Positif CRP

Data yang diperoleh dari analisis uji normalitas, dan hasilnya menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi secara normal dengan nilai signifikansi (sig) $< 0,024$. Oleh karena itu, dilakukan uji non-parametrik Kruskal-Wallis sebagai langkah lanjutan. Hasil uji ini mengungkapkan adanya perbedaan yang signifikan, dengan nilai $\text{Asymp.sig} < 0,012$, yang lebih kecil dari $0,050$, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara penyimpanan pooled sera pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dengan pooled sera yang disimpan pada suhu -20°C , ditambahkan pengawet natrium azida $0,1\%$ dan 2% pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ terhadap kadar CPR.

DISKUSI

Pemantapan mutu bidang imunoserologi kualitatif metode aglutinasi adalah dengan melakukan pemeriksaan bahan kontrol yang telah tersedia satu paket pada kit dan dilakukan sebelum pemeriksaan pada sampel (Siregar et al., 2018; Setiawan, 2023). Bahan kontrol yang tersedia pada pemeriksaan CRP Latex adalah serum kontrol positif dan serum kontrol negatif. Pemeriksaan dengan metode aglutinasi sangat sensitif dan relatif mudah untuk dilakukan. Mekanisme terjadinya reaksi aglutinasi yaitu ketika reaksi antara antigen pada salah satu reseptor pengikat yang terdapat pada antibody (Hartini, Fikri and Agrijanti, 2019). Performen reagen yang benar ditunjukkan oleh reaksi yang diharapkan yaitu

terjadinya gumpalan pada serum kontrol positif dan tidak terjadinya gumpalan pada serum kontrol negatif. Pada penelitian ini dilakukan pengujian bahan kontrol setiap sebelum melakukan pemeriksaan pada *pooled sera* yang disajikan pada tabel 1 dan didapatkan hasil sesuai dengan reaksi yang diharapkan sebagaimana diatas.

Berdasarkan gambar 1 pada grafik yang menggambarkan hasil tabel 2, 3, 4 dan 5 didapatkan hasil *pooled sera* tanpa pengawet yang disimpan pada suhu 2-8°C terjadi penurunan, sementara *pooled sera* yang disimpan pada suhu -20°C dan penambahan pengawet Natrium azida 0,1% dan 2 dapat stabil sampai minggu ke 4. Sehingga dari keempat hasil tersebut *pooled sera* yang disimpan pada suhu -20°C dan ditambahkan pengawet Natrium azida 0,1% dan 2% dapat mempertahankan kadarnya sampai penelitian ini berakhir.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2020) yang meneliti stabilitas serum positif yang diawetkan dengan penambahan Natrium azida 0,1% dan tanpa pengawet. Nilai titer pada *pooled sera* yang ditambahkan pengawet Natrium azida 0,1 % yang disimpan pada suhu 2-8°C stabil meskipun sudah didiamkan selama 4 minggu. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Supriyanta & Nuryati (2018) mengenai uji homogenitas dan stabilitas serum sapi dengan penambahan pengawet Natrium azida 2% sebagai alternatif serum kontrol pemeriksaan kadar total protein menunjukkan hasil kadar yang stabil setelah disimpan selama 10 minggu.

Bahan kontrol yang baik adalah bahan yang memiliki komposisi analit yang sama atau mirip dengan spesimen (Syamsudin, Solihat and Kurnaeni, 2023). Syarat lainnya yaitu komponen yang terkandung didalam bahan kontrol harus stabil yang berarti selama masa penyimpanan tidak boleh mengalami perubahan. Kestabilan bahan kontrol komersial lebih panjang dibandingkan *pooled sera* yang terbatas. Kontaminasi oleh kuman, mikroorganisme, dan bahan kimia, paparan sinar matahari, pengaruh suhu, dan metabolisme sel hidup, seperti sel darah, dapat mempengaruhi stabilitas bahan kontrol yang dibuat dari kumpulan serum . Jadi, sampel darah dapat disimpan dalam beberapa cara, seperti dalam bentuk serum di dalam lemari es pada suhu 2-8°C atau pada suhu -20°C, dan dijaga agar tidak

membeku cair berulang (Hartini and Suryani, 2016).

Berdasarkan artikel penelitian yang ditulis oleh Russo et al. (2014) Natrium azida merupakan pengawet yang sangat larut dalam air dan dapat digunakan untuk mencegah kontaminasi bakteri, terutama yang mengandung protein yang diisolasi dari cairan biologis. Dari penelitian ini, *Pooled sera* yang ditambahkan pengawet Natrium azida 0,1% dan 2% dapat menjadi alternatif bahan kontrol positif untuk pemeriksaan *C-reactive protein* karena dapat stabil pada suhu 2-8°C sampai minggu ke 4. Keuntungan dari penggunaan *Pooled sera* ini adalah mudah didapatkan, tidak perlu dilarutkan (rekonstitusi) dan memiliki harga yang lebih ekonomis dibandingkan dengan bahan kontrol komersial.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah waktu pengujian yang terbatas dimana hanya dilakukan selama empat minggu. Sementara pada beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, *pooled sera* yang ditambahkan pengawet Natrium azida dapat stabil sampai 10 minggu. Dengan ini maka dapat dijadikan saran untuk penelitian selanjutnya menambahkan lama waktu penyimpanan *pooled sera* dengan Natrium azida untuk mengetahui seberapa lama Natrium azida dapat menstabilkan kadar CRP pada *pooled sera*.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa *Pooled sera* tanpa penambahan pengawet yang disimpan pada suhu -20°C dan ditambahkan pengawet natrium azida 0,1% dan 2% pada suhu 2-8°C dapat stabil selama empat minggu sehingga dapat menjadi alternatif bahan kontrol positif untuk pemeriksaan *C-reactive protein*. Peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian yang sama dengan jangka waktu yang lebih lama sehingga dapat diketahui batas waktu penyimpanan bahan kontrol positif alternatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dan bekerjasama, khususnya civitas akademika STIKes Muhammadiyah Ciamis, sehingga penelitian ini dapat.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Brennan, C. (2021) 'Standard Operating Procedure for Sodium Azide', *University of North Carolina at Chapel Hill*, August. Available at: <https://doi.org/132075>.
- Fauziah, S. *et al.* (2019) 'Perbandingan Stabilitas Kadar Glukosa Darah Pada Pooled Sera yang Ditambah Etilen Glikol dengan Natrium Azida', *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2), pp. 287-293. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v11i2.788>.
- Hartini, S., Fikri, Z. and Agrijanti, A. (2019) 'Hasil Pemeriksaan Rheumatoid Arthritis (Ra) Pada Atlet Voli di Lapangan Atletik Gomong Lawatametode Aglutinasi Latex', *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 4(1), pp. 17-22. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.32807/jambs.v4i1.79>.
- Hartini, S. and Suryani, M.E. (2016) 'Uji Kualitas Serum Simpanan Terhadap Kadar Kolesterol Dalam Darah di Poltekkes Kemenkes Kaltim', *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), pp. 65-69. Available at: <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.51352/jim.v2i1.49>.
- Kemenkes, R.I. (2013) 'Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 43 Tahun 2013 tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik', in. Jakarta: Kemenkes RI.
- Mus, R. (2023) *Imunoserologi*. 1st edn. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Muslim, M., Kustiningsih, Y. and Yanuarti, E. (2015) 'Pemanfaatan Pool Serum Sebagai Bahan Kontrol Ketelitian Pemeriksaan Glukosa Darah', *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2), pp. 54-60. Available at: <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.31964/mltj.v1i2.17>.
- Praptomo, A.J. (2018) *Pengendalian Mutu Laboratorium Medis*. 1st edn. Edited by C.M. Sartono. Sleman Yogyakarta: Deepublish Publisher.
- Pratiwi, D.M.A. (2020) 'Uji Stabilitas Serum Positif yang Diawetkan Sebagai Alternatif untuk Bahan Kontrol Pemeriksaan Widal'. Yogyakarta: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Russo, I. *et al.* (2014) 'Sodium azide, a Bacteriostatic Preservative Contained in Commercially Available Laboratory Reagents, Influences the Responses of Human Platelets Via the cGMP/PKG/VASP Pathway', *Clinical biochemistry*, 41(4-5), pp. 343-349. Available at:

<https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2007.10.012>

- Sarmen, S., Mayetti, M. and Bachtiar, H. (2016) 'High Sensitivity C-Reactive Protein sebagai Parameter Diagnostik dan Prediktor Luaran Sepsis pada Anak yang Menderita Systemic Inflammatory Response Syndrome', *Sari Pediatri*, 16(4), pp. 278-283. Available at: <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.14238/sp16.4.2014.278-83>.
- Setiawan, D. (2023) 'Konsentrasi Anti-HBs pada Karyawan Rumah Sakit Yang Telah Melakukan Vaksinasi Hepatitis B', *Masker Medika*, 11(1), pp. 55-61. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i1.518>.
- Siregar, M.T. *et al.* (2018) 'Kendali Mutu Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM)', in *Jakarta: PPSDM*. Jakarta. Available at: <https://patologiklinik.com/2019/02/10/download-kendali-mutu-bahan-ajar-tlm/>.
- Supriyanta, B. and Nuryati, A. (2018) *Uji Homogenitas dan Stabilitas Serum Sapi dengan Penggunaan Pengawet NaN3 2% Yang Disimpan Pada Suhu -20° C Sebagai Alternatif Serum Kontrol Terhadap Kadar Total Protein*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Syamsudin, A.R., Solihat, M.F. and Kurnaeni, N. (2023) 'Stabilitas Pooled Sera Dengan Penambahan Propilen Glikol, Etilen Glikol Dan Natrium Azida Sebagai Bahan Kontrol Alternatif: Pada Pemeriksaan Kadar Kreatinin, Protein Total, Albumin Dan Glukosa Darah', *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1), pp. 128-135. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i1.2187>.
- Tuna, H. and Widyaningsih, A. (2017) 'Perbandingan antara Bahan Kontrol Komersial Merk diasys-trulab n dengan Siemens-biorad Level 1 terhadap Akurasi untuk Pemeriksaan Glukosa, Kolesterol dan Asam Urat', *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 3(1), pp. 85-91.

HISTOPATOLOGI POTENSI PENYEMBUHAN LUKA EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* L.) YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN MINYAK KELAPA MURNI PADA MODEL TIKUS DIABETES

Desak Made Lestari Dewi¹ · Burhannuddin² · Nur Habibah³ ·
Heri Setiyo Bakti⁴ · I Wayan Karta⁵ · Luh Ade Wilan Krisna^{6*}

^{1,2,3,4,5,6} Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Indonesia
e-Mail : saklestaridw19@gmail.com
No Tlpn WA : 085936182867

ABSTRACT

Background: High blood glucose levels in diabetes mellitus (DM) impair wound healing and increase infection risk, while commercial anti-inflammatory drugs are expensive and have side effects. Virgin coconut oil (VCO) combined with Neem leaves extract has potential as an alternative therapy with anti-inflammatory effects, but the correct dose requires further research. **Aim:** This study aimed to evaluate the effectiveness of VCO combined with Neem leaves extract for wound healing in diabetic rats. **Method:** Diabetes was induced in 25 male Wistar rats using Streptozotocin (40 mg/kg BW intravenously), and circular wounds were created using a sterile punch biopsy tool. The rats were divided into five groups: VCO with Neem extract at 5% (P1), 10% (P2), and 20% (P3), povidone iodine (K+), and no treatment (K-). Wound healing was assessed histopathologically by evaluating fibroblast and lymphocyte counts and epithelial thickness. **Results:** The 10% VCO-Neem extract group (P2) demonstrated the highest efficacy, with a wound diameter of 3.01 mm, fibroblast count of 19.16, lymphocyte count of 19.22, and epithelial thickness of 173.26 μ m on day 14 ($p < 0.05$). **Conclusion:** The combination of VCO and Neem leaves extract at 10% accelerates wound healing effectively in diabetic rats.

Keywords: Diabetic ulcer, Neem leaves, Interleukin-6, Fibroblast

ABSTRAK

Kadar glukosa darah tinggi pada diabetes melitus (DM) menghambat penyembuhan luka dan meningkatkan risiko infeksi, sementara obat antiinflamasi komersial mahal dan memiliki efek samping. Virgin coconut oil (VCO) yang dikombinasikan dengan ekstrak daun Neem memiliki potensi sebagai terapi alternatif dengan efek antiinflamasi, tetapi dosis yang tepat masih memerlukan penelitian lebih lanjut. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas kombinasi VCO dan ekstrak daun Neem dalam penyembuhan luka pada tikus diabetes. **Metode:** Diabetes diinduksi pada 25 ekor tikus Wistar jantan menggunakan Streptozotocin (40 mg/kg BB secara intravena), dan luka melingkar dibuat menggunakan alat biopsi punch steril. Tikus dibagi menjadi lima kelompok: VCO dengan ekstrak daun Neem 5% (P1), 10% (P2), dan 20% (P3), povidone iodine (K+), serta tanpa perlakuan (K-). Penyembuhan luka dievaluasi secara histopatologi berdasarkan jumlah fibroblas dan limfosit serta ketebalan epitel. **Hasil:** Kelompok VCO-ekstrak daun Neem 10% (P2) menunjukkan efektivitas tertinggi dengan diameter luka 3,01 mm, jumlah fibroblas 19,16, jumlah limfosit 19,22, dan ketebalan epitel 173,26 μ m pada hari ke-14 ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Kombinasi VCO dan ekstrak daun Neem 10% secara efektif mempercepat penyembuhan luka pada tikus diabetes. **Kata Kunci:** ulkus diabetik, daun Neem, fibroblas, interleukin-6.

Kata Kunci: Ulkus diabetik, daun Neem, Interleukin-6, Fibroblas

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (ADA, 2017). Prevalensi DM di dunia pada tahun 2014 sekitar 387 juta jiwa dan diperkirakan akan mencapai 592 juta jiwa pada tahun 2035. Di Indonesia juga diprediksi jumlah penderita DM akan meningkat dari 2,1 juta jiwa pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta jiwa pada tahun 2035.

Diabetes melitus disebut sebagai silent killer karena dapat menyerang seluruh organ tubuh dan menimbulkan komplikasi. Komplikasi pada pasien DM terjadi apabila mengalami hiperglikemia dalam jangka waktu yang lama. Salah satu keluhan yang terjadi pada pasien DM adalah munculnya luka yang sulit sembuh yang disebut dengan ulkus diabetikum. Sekitar 15% dari total penderita diabetes di Indonesia mengalami ulkus diabetikum yang menyebabkan 23,5% dari seluruh penderita ulkus diabetikum mengalami amputasi.

Ulkus diabetikum merupakan salah satu komplikasi diabetes yang berasal dari komplikasi neuropati dan/atau penyakit arteri perifer.¹ Sekitar 20-40% penderita diabetes menderita neuropati diabetikum dan hampir 50% berkembang menjadi penyakit pembuluh darah perifer yang berujung pada amputasi (Jan et al., 2016). Biaya pengobatan ulkus diabetikum diperkirakan sekitar US\$3.096-107.900. Biaya tersebut tergantung pada tingkat keparahan ulkus.

Saat ini pemanfaatan tanaman sebagai obat diminati oleh masyarakat karena efek sampingnya yang rendah dibandingkan dengan penggunaan obat kimia dan menjadi alternatif untuk menekan tingginya biaya pengobatan. Tanaman obat tradisional di Indonesia banyak digunakan sebagai alternatif penyembuhan karena mudah digunakan dan relatif lebih aman dari segi efek samping. Daun mimba (*Azadirachta indica* L.) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, terpena, dan tanin. Diperkirakan kandungan metabolit sekundernya sekitar 135 jenis senyawa. Daun mimba berpotensi sebagai anti mikroba terhadap mikroorganisme infeksius. Ekstrak etanol daun mimba memiliki aktivitas antiinflamasi sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti antibiotik yang lebih efektif dan efek sampingnya lebih sedikit. Daun mimba

(*Azadirachta indica*) memiliki sifat antiinflamasi dan antibiotik yang saling melengkapi sehingga mempercepat penyembuhan luka. Efek antiinflamasi yang ditimbulkan oleh senyawa seperti nimbin dan quercetin mampu menghambat mediator inflamasi, sehingga mengurangi pembengkakan dan kerusakan jaringan. Sementara itu, gedunin dan salanin berperan dalam aktivitas antibiotik mimba, sehingga efektif dalam melawan patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang umum ditemukan pada luka terinfeksi. Kombinasi sifat-sifat tersebut menjadikan ekstrak mimba sebagai alternatif terapi luka yang menjanjikan. Penelitian terkini, seperti Sharma et al. (2019) dan Kaur et al. (2021), menyoroti khasiat antimikroba dan antiinflamasinya, yang mendukung penerapannya dalam model luka diabetes. VCO telah terbukti menunjukkan aktivitas antiinflamasi dalam peradangan akut. Penelitian telah membuktikan bahwa VCO menunjukkan khasiat gel ekstrak etanol VCO yang disuplemen dengan ekstrak daun nimba terhadap penyembuhan luka pada punggung kelinci. Ekstrak etanol VCO yang disuplemen dengan ekstrak daun nimba juga diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi. VCO yang disuplemen dengan ekstrak daun nimba mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid dapat digunakan untuk mempercepat penutupan luka pada tikus diabetes. Pada penelitian Karta, I. W. & Burhannudin (2022) dilaporkan bahwa diantara kelima konsentrasi suplementasi VCO dengan ekstrak daun Intaran yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, konsentrasi 10% menunjukkan zona hambat paling besar yaitu dikategorikan kuat dalam menghambat pertumbuhan *P. acnes*. Berdasarkan penelitian yang telah disebutkan dan hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan terhadap daun Mimba mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, terpene, dan tanin yang berperan sebagai antiinflamasi, anti bakteri, anti alergi yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka, maka perlu dilakukan pengujian efektivitas suplementasi VCO dengan ekstrak daun Mimba dalam mempercepat proses penyembuhan luka insisi pada tikus model diabetes.

BAHAN DAN METODE

Penelitian eksperimental ini menggunakan *Posttest Only Control Group Design* yang terdiri dari dua kelompok. Penelitian ini dilakukan di laboratorium imunologi Poltekkes Kemenkes Denpasar Jl. Sanitasi No. 1, Sidakarya, Denpasar Selatan, Kota Denpasar dan Laboratorium Pemeliharaan dan Pembiakan Mencit Bio dan Hewan Coba Tikus. Persetujuan etik untuk semua prosedur yang melibatkan hewan diberikan oleh Komite Etik Poltekkes Kemenkes Denpasar (No. DP.04.02/F.XXXII.25/0680/2023). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tikus putih jantan umur 2-3 bulan dengan berat 100-120 gr, pakan standar dan air minum, NaCl 0,9%, Streptozotocin (STZ), pembalut steril, plester penutup luka, dan bahan suplementasi seperti daun nimba, etanol, dan Virgin Coconut Oil (VCO). Pembuatan simplisia dan ekstrak daun nimba diawali dengan pencucian daun, penjemuran di udara terbuka, pemanggangannya selama 24 jam, penghancuran, dan ekstraksi dengan etanol selama tujuh hari. Pembuatan suplementasi VCO dilakukan dengan membuat ekstrak daun nimba dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% menggunakan rumus %b/b sehingga menghasilkan massa total campuran tiap konsentrasi sebesar 5 g (Karta & Burhannudin, 2022). Pengelompokan hewan coba meliputi 25 ekor tikus yang dibagi menjadi lima kelompok yaitu kontrol negatif (NaCl 0,9%), kontrol positif (povidone iodine), dan 3 kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Penimbangan berat badan dan pemberian STZ dilakukan dengan cara menimbang berat badan tikus dan menyuntikkan STZ 40 mg/kg untuk menginduksi diabetes. Pengukuran gula darah puasa dilakukan dengan mengambil darah dari vena lateralis setelah tikus dipuasakan selama 10 jam. Luka eksisi dibuat dengan cara mencukur, membersihkan, dan mensterilkan punggung tikus, kemudian dibuat luka melingkar dengan diameter 5 mm. Perlakuan dan pengukuran diameter luka dilakukan setiap hari dengan cara mengukur diameter luka secara vertikal, horizontal, dan diagonal. Preparat

histologi dibuat untuk mengukur tebal epitel, jumlah fibroblas, dan jumlah limfosit.

Preparat histologi diamati di bawah mikroskop pada 5 lapang pandang, pada keempat sudut dan tengah preparat, dengan perbesaran 100x dan 400x. Sasaran yang dibaca adalah persentase jaringan granulasi, re-epitelialisasi, infiltrasi sel radang dengan kriteria sebagai berikut: Skoring jaringan granulasi dan re-epitelialisasi, skor 0 bila tidak terdapat perubahan histologis. Skor 1 bila jaringan granulasi dan re-epitelialisasi ditemukan pada kurang dari sepertiga lapang pandang. Skor 2 bila jaringan granulasi dan re-epitelialisasi ditemukan pada sepertiga sampai dua pertiga lapang pandang. Skor 3 bila ditemukan jaringan granulasi dan re-epitelialisasi pada lebih dari dua pertiga lapang pandang. Skor infiltrasi sel inflamasi, skor 0 bila tidak ada perubahan histologis. Skor 1 bila terdapat infiltrasi sel inflamasi pada kurang dari sepertiga lapang pandang. Skor 2 bila infiltrasi sel inflamasi pada sepertiga sampai dua pertiga lapang pandang. Skor 3 bila infiltrasi sel inflamasi pada lebih dari dua pertiga lapang pandang (Yohana, 2015). Uji in vivo dianalisis menggunakan metode *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

HASIL

Hasil rata-rata pengukuran diameter luka yang telah dilakukan pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter luka di setiap kelompok.

Group	n	Wound Diameter Measurement Day (mm)			Asymp. Sig One Way Anova
		Day 1	Day 7	Day 14	
K (-)	4	5,00	4,07	1,58	0.008
K (+)	4	5,00	2,55	0,83	
P1	4	5,00	4,57	1,21	
P2	4	5,00	3,04	0,40	
P3	4	5,00	4,36	1,98	

Catatan: (K-) kontrol negatif; (K+) Povidone Iodine; (PI) Ekstrak daun Nimba 5%+VCO; (PII) Ekstrak daun Nimba 10%+VCO; (PIII) Ekstrak daun Nimba 15%+VCO.

DISKUSI

Data rata-rata lama penyembuhan luka selama 14 hari pada Tabel 1 dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil uji normalitas diperoleh nilai $p=0,200>0,05$ yang berarti data berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai $p=0,554>0,05$ yang berarti data bersifat homogen. Data tersebut diuji dengan *One Way ANOVA* dan diperoleh hasil signifikansi sebesar 0,028 ($p<0,05$) dan dari hasil uji F menunjukkan nilai F hitung lebih besar dari F tabel ($2,902>2,87$), selanjutnya dilakukan uji komparasi berganda (*Post Hoc test*) dengan menggunakan uji Duncan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan ekstrak daun mimba yang disuplemen dengan VCO konsentrasi 10% (PII) merupakan kelompok perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka yang dilihat dari lama penyembuhan luka mencit yang cepat. Dari Tabel 1 terlihat bahwa rata-rata lama penyembuhan luka mencit untuk setiap perlakuan berbeda-beda. Luka yang diobati dengan konsentrasi 10% (PII) memberikan efek penyembuhan yang lebih cepat jika dibandingkan dengan pengobatan lainnya dan pengobatan konsentrasi 5% (PI) memberikan efek penyembuhan yang paling lama dari semua pengobatan. Penyembuhan luka yang normal dapat berlangsung secara alami tanpa bantuan seperti penyembuhan yang terjadi pada pengobatan kontrol negatif (K-), namun pengobatan yang diberikan pada luka seperti konsentrasi 10% (PI[^]) akan membantu dalam mempercepat penyembuhan luka karena mengandung metabolit sekunder yang memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri seperti triterpenoid dan alkaloid. Hal ini sesuai dengan Rahman et al. (2013) yang mengatakan bahwa kecepatan proses penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder seperti triterpenoid, alkaloid dan tanin yang berfungsi untuk meningkatkan perbaikan dan penguatan sel-sel kulit serta merangsang pertumbuhan jaringan ikat dan menurut Krishnaiah et al. (2009) bahwa triterpenoid merupakan komponen yang memiliki peran aktif dalam penyembuhan luka. Triterpenoid membantu memperkuat struktur kulit, meningkatkan konsentrasi antioksidan pada luka dan memulihkan jaringan

inflamasi atau radang dengan meningkatkan suplai darah ke area luka, serta membantu mempercepat proses penutupan luka.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wu et al. (2012) bahwa komponen triterpenoid pada daun pegagan sebagian besar mengandung dua glikosida yang dapat membantu mempercepat penyembuhan luka bakar dengan cara mengaktifkan faktor pertumbuhan seperti TGF- β yang akan menghasilkan fibroblas, tidak hanya meningkatkan proliferasi sel.

Adanya faktor pertumbuhan seperti *transforming growth factor- β* (TGF- β) untuk menginisiasi proses pembentukan sel atau luka tersebut telah memasuki fase proliferasi. Faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh makrofag akan mendorong migrasi sel yang baru terbentuk ke area luka dan menghasilkan matriks jaringan ikat baru (Robson et al., 2001). TGF- β juga dapat meningkatkan faktor pertumbuhan keratinosit KGF (keratinocyte growth factor) pada fibroblas yang dibantu oleh interleukin IL-1. Fibroblas akan membentuk dan mensekresikan KGF-1, KGF-2, dan IL-6 yang akan merangsang keratinosit yang ada untuk menuju ke area luka, yang akan berproliferasi dan berdiferensiasi di epidermis. Penambahan vaselin atau parafin sebagai sediaan obat juga dapat membantu merawat luka dengan baik. Lapisan basal merupakan sumber utama penyembuhan bagi sel epitel, terutama dalam hal replikasi sel. Gangguan yang terjadi lebih dalam ke dermis akan membutuhkan waktu lebih lama untuk menutup luka (Prasetyono, 2009).

Dapat dilihat pada Gambar 1 bahwa setelah dilakukan pengamatan kondisi luka mencit selama 14 hari didapatkan kondisi luka pada perlakuan salep ekstrak daun mimba yang disuplemen VCO konsentrasi 5% (PI) dan konsentrasi 10% (PII) yang awalnya bengkak merah pada hari ke-1 dan ke-2 berubah menjadi merah rata-rata pada hari ke-3, namun pada perlakuan salep ekstrak daun mimba yang disuplemen VCO konsentrasi 15% (PIII), kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) perubahan kondisi luka dari bengkak merah menjadi merah rata-rata terjadi pada hari ke-5. Perubahan kondisi luka dari bengkak merah menjadi merah menunjukkan bahwa luka telah mengalami fase inflamasi, yang mana menurut Supriyanto dan Luviana (2010) bahwa inflamasi ditandai dengan adanya kemerahan (rubor), panas (calor), bengkak (tumor), dan nyeri (dolor).

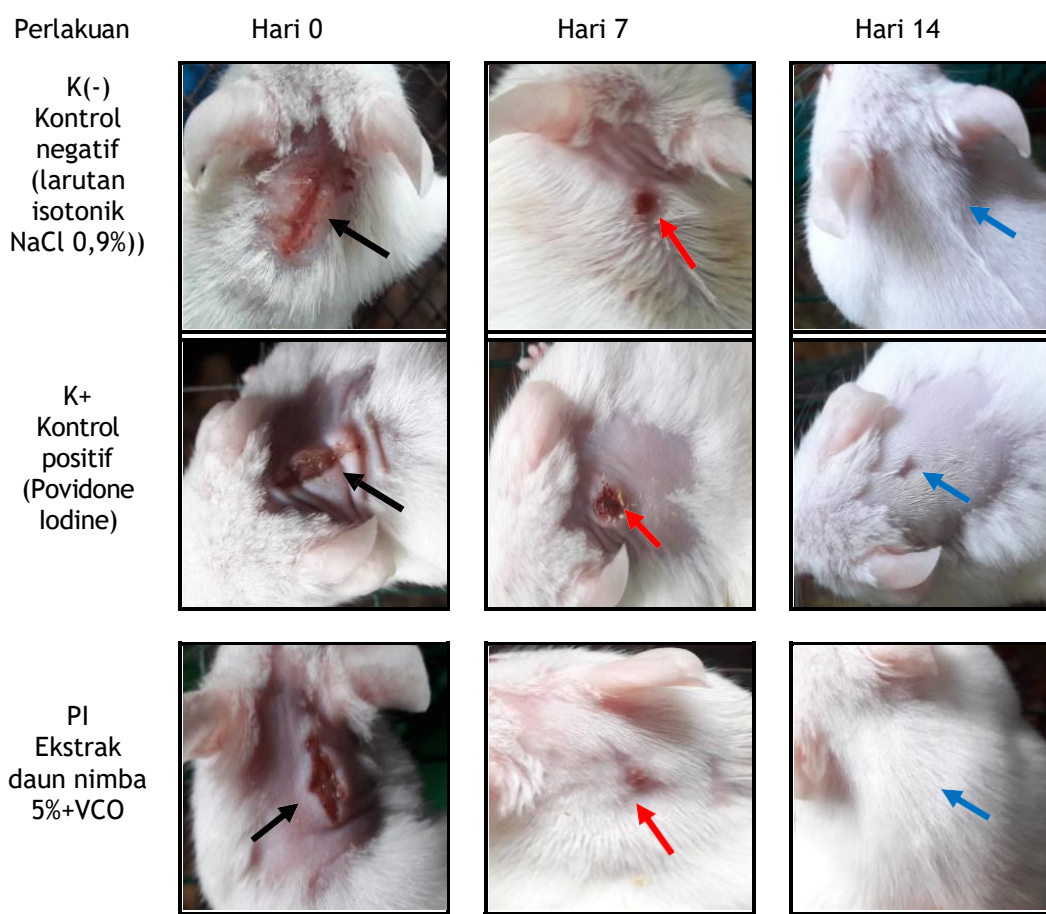
Kemerahan merupakan hal awal yang terlihat pada daerah yang mengalami peradangan disertai pembengkakan yang disebabkan oleh peningkatan cairan dan sel dari peredaran darah ke jaringan luka serta peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan pelebaran pembuluh darah. Kemungkinan pengobatan salep ekstrak daun mimba bersuplemen VCO dengan konsentrasi 10% (PII) efektif untuk mempercepat penyembuhan luka dengan mengurangi lamanya fase peradangan yang terjadi pada luka.

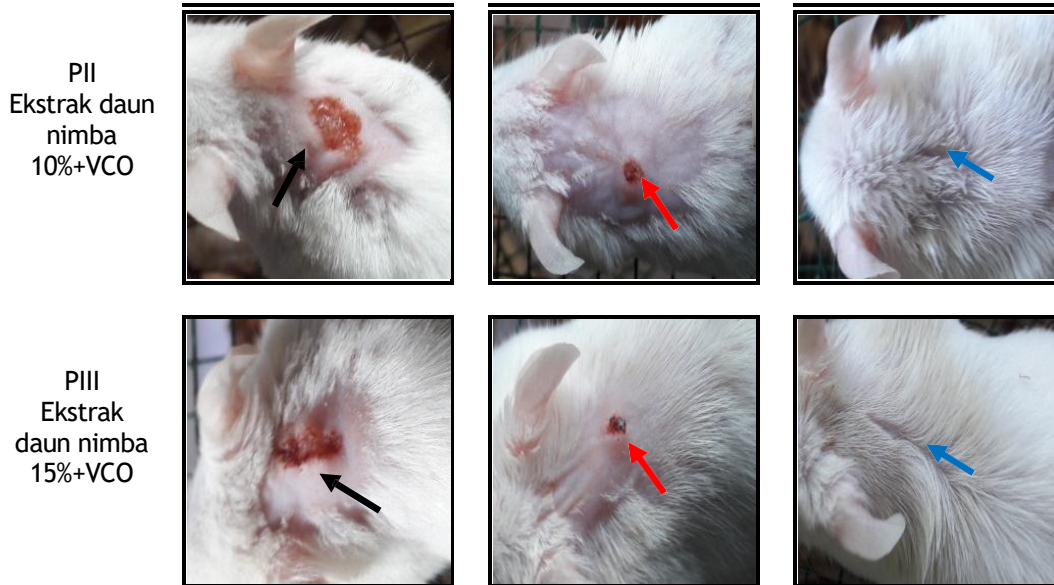
Dari hasil skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak daun mimba bersuplemen VCO yang digunakan dalam penelitian ini, mengandung metabolit sekunder berupa triterpenoid, alkaloid dan tanin. Kandungan sebagian metabolit sekunder tersebut mempunyai efek antiinflamasi (Banno et al., 2005), antibakteri, dan antialergi (Tan et al., 2017) yang dapat mempersingkat lamanya fase inflamasi terjadi pada luka sehingga mempercepat penyembuhan luka.

Hal ini sesuai dengan Robson et al. (2001) bahwa fase inflamasi merupakan tahapan yang normal dan harus terjadi untuk membentuk kekebalan tubuh yang kuat terhadap mikroba yang mengganggu proses penyembuhan luka dimana fase hemostatik hingga fase inflamasi pada luka umumnya berlangsung sejak hari terbentuknya luka hingga seminggu. Namun menurut Setyoadi dan Sartika (2010), apabila fase inflamasi semakin luas dan berkepanjangan maka akan memperlambat proses penyembuhan luka. Mediator inflamasi juga diperlukan untuk mempercepat fase inflamasi: 1) eikosanoid (prostaglandin, lipoksin, tromboksan), 2) sitokin (limfokin, monokin, interferon, interleukin), 3) oksida nitrat dan 4) faktor pertumbuhan (Prasetyono, 2009). Mediator inflamasi ini akan terakumulasi di area luka selama respon inflamasi terjadi di luka, terjadi interaksi antara mediator inflamasi dengan sel sekitar dan matriks sel. Tanda-tanda umum inflamasi dini setelah cedera meliputi rubor, tumor, calor, dolor dan functio laesa sebagian besar diatur oleh mediator inflamasi (Robson et al., 2001).

Pada kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), konsentrasi 15% (PIII) menunjukkan perubahan kondisi luka yang terjadi rata-rata pada hari ke 5 lebih lama dibandingkan dengan konsentrasi 5% (PI) dan konsentrasi 10% (PII),

hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberikan perlakuan apapun yang menyebabkan kemungkinan masuknya kuman yang menginfeksi luka relatif lama. Dan pada kelompok kontrol positif (K+) lamanya penyembuhan kemungkinan disebabkan oleh infeksi kuman pada tikus yang membutuhkan waktu lebih lama untuk membunuh kuman tersebut. Hal ini sesuai dengan Kaur et al. (2014) bahwa povidone iodine hanya mengandung bahan antiseptik dan tidak memiliki kandungan antiinflamasi. Bahan antiseptik tersebut memiliki unsur yodium yang akan berinteraksi dengan enzim dan protein pada membran sel sehingga mempengaruhi struktur sel yang berujung pada kematian sel dan menurut Pratiwi et al. (2015) povidone iodine tidak hanya menyeleksi sel mikroba sebagai target, tetapi juga sel normal yang berakibat terganggunya sintesis kolagen dan mempengaruhi migrasi sel epitel ke area luka.





Gambar 1. Proses penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*) dilihat dari hari ke-0 (→) luka berwarna merah, basah dan bengkak, hari ke 7 (→) luka mengecil dan mengering dan hari ke 14 (→) luka sembuh.

Berdasarkan hasil pengamatan histologi diperoleh data rata-rata jumlah fibroblas pada tikus kelompok kontrol perlakuan K-, K+, dan kelompok perlakuan PI, PII dan PIII pada hari ke-14 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata jumlah fibroblas pada preparat histologi kulit tikus

Kelompok	Fibroblas $\pm$ SD Hari-14
K(-)	5,24 ^a $\pm$ 3,63
K(+)	11,16 ^b $\pm$ 1,83
PI	15,42 ^c $\pm$ 5,83
PII	19,16 ^{bc} $\pm$ 3,85
PIII	14,74 ^{bc} $\pm$ 3,55

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai rata-rata jumlah fibroblas hari ke-14 tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan konsentrasi 10% (PII) sebesar 19,16 sedangkan terendah terdapat pada kelompok perlakuan kontrol negatif (K-) sebesar 5,24. Berdasarkan hasil uji statistik dengan uji *One Way ANOVA* diperoleh hasil signifikan sebesar 0,002 ($p < 0,05$). Dilanjutkan dengan uji Duncan dan diperoleh hasil bahwa kelompok perlakuan konsentrasi 10% (PII) merupakan kelompok perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka dilihat dari jumlah fibroblas.

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan PI, PII dan PIII menunjukkan jumlah fibroblas paling tinggi dibandingkan dengan jumlah fibroblas terendah pada kelompok kontrol. Penggunaan ekstrak daun Mimba yang disuplemen VCO dapat mempengaruhi penambahan nutrisi pada area luka yang dapat mengoptimalkan penyembuhan luka dengan meningkatkan jumlah fibroblas. Rendahnya jumlah fibroblas pada kelompok kontrol kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya tambahan zat gizi yang dibutuhkan untuk proses penyembuhan luka.

Kandungan metabolit sekunder pada daun nimba yang mungkin berperan dalam fase proliferasi adalah alkaloid dan triterpenoid. Dimana menurut Reyes et al. (1993) alkaloid dapat menginisiasi fibroblas ke area luka tanpa bantuan makrofag untuk mensintesis *transforming growth factor- β* (TGF- β), sehingga semakin banyak fibroblas di area luka akan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler (ECM) dan mempercepat penutupan luka. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wu et al. (2012) bahwa komponen triterpenoid dapat membantu fibroblas untuk mensintesis kolagen tipe I dan tipe III, yang mana menurut Sabirin et al. (2013) bahwa kolagen fibrosa tipe III mulai disintesis pada fase proliferasi oleh fibroblas yang distimulasi oleh *growth factor* (TGF- β) dari sel fibroblas dan makrofag sendiri. Semakin banyak jaringan ikat pada luka, maka daya kontraksi luka akan semakin besar sehingga sisi luka akan tertarik dan menyebabkan area luka mengecil (Prasetyo et al., 2010). Fibroblas mensekresikan growth factor akan meningkat pada hari ke 7-14 pasca luka seiring dengan jumlah fibroblas pada hari ke 7 (Sabirin et al., 2013). Fibroblas mensintesis dan melepaskan glikosaminoglikan dan proteoglikan yang juga merupakan komponen penting matriks ekstraseluler. Bersamaan dengan itu terjadi angiogenesis (regenerasi vaskular) dengan terpakainya matriks yang telah lengkap. Kepadatan fibroblas pada luka akut mencapai maksimum antara hari ke 7 sampai dengan hari ke 14 pasca luka terjadi (Robson et al., 2001).

Angiogenesis atau proses pembentukan pembuluh darah terjadi untuk mensuplai nutrisi dan faktor penyembuhan pada area luka. Angiogenesis memediasi migrasi fibroblas ke dalam jaringan luka. Peningkatan jumlah fibroblas merupakan indikator proses penyembuhan luka yang lebih cepat yang

merupakan hasil dari limfokin yang diinduksi dan disekresikan oleh limfosit CD4+. Limfosit CD4+ berperan sebagai promotor penyembuhan bagi respon imun. Berkurangnya jumlah limfosit CD4+ akan menurunkan ketegangan kulit dan komponen matriks ekstraseluler (Prakoso dan Kurniasih, 2018). Angiogenesis ditandai dengan migrasi pembentukan endotel dan kapiler. Pembuluh darah baru akan terbentuk ke dalam matriks kolagen yang dibentuk oleh fibroblas (Prasetyono, 2009). Kolagen merupakan komponen protein utama jaringan ikat luka akut. Berbagai modifikasi komposisi kimia kolagen menentukan fungsinya sebagai jaringan struktural utama tubuh yang akan mengikat jaringan (Robson et al., 2001). Pada hari ke-7, sel inflamasi dan makrofag mulai bermigrasi bersama dengan sel fibroblas ke dalam jaringan luka. Fibroblas akan berproliferasi dengan bantuan faktor pertumbuhan, terutama *transforming growth factor-β* (TGF-β) dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF) yang disekresikan oleh trombosit dan makrofag. Makrofag akan mengalami pengurangan jumlah sebagai akibat perbaikan jaringan yang akan dilanjutkan oleh fibroblas, sel endotel, dan keratinosit (Sabirin et al., 2013). Berdasarkan pengamatan histologis, rata-rata jumlah limfosit pada tikus pada kelompok kontrol perlakuan K-, K+, dan kelompok perlakuan PI, PII, dan PIII pada hari ke-14 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah rata-rata limfosit dalam sampel histologi kulit tikus

Kelompok	Limfosit ± SD Hari ke-14
K(-)	5,08 ^a ± 2,96
K(+)	4,08 ^a ± 2,04
PI	11,02 ^c ± 3,97
PII	19,22 ^b ± 3,63
PIII	13,45 ^b ± 4,98

Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa nilai rerata jumlah limfosit tertinggi pada hari ke-14 terdapat pada kelompok perlakuan konsentrasi 10% (PII) yaitu sebesar 19,22, sedangkan nilai rerata terendah terdapat pada kelompok perlakuan kontrol positif (K+) yaitu sebesar 4,08. Berdasarkan hasil uji statistik diperoleh hasil signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Dilanjutkan dengan uji Duncan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan

konsentrasi 10% (PII) merupakan kelompok perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka dilihat dari jumlah limfosit.

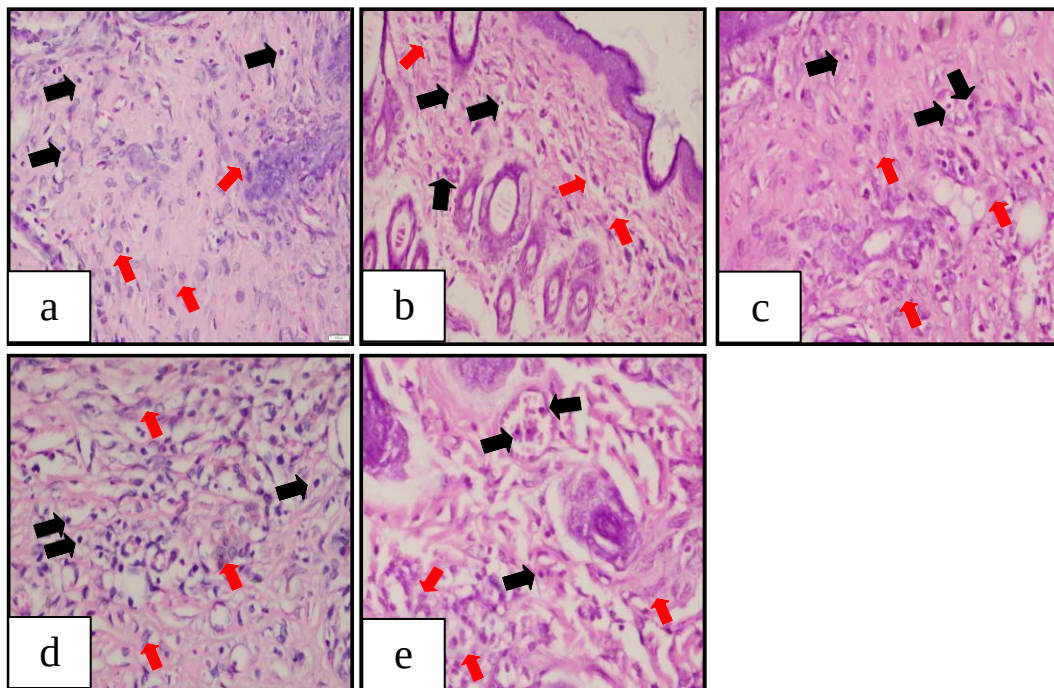
Tabel 3 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan PI, PII dan PIII menunjukkan jumlah limfosit tertinggi dibandingkan dengan jumlah limfosit terendah pada kelompok kontrol. Pengaruh ekstrak daun mimba terhadap jumlah limfosit ditunjukkan dengan semakin rendah konsentrasi ekstrak maka jumlah limfosit semakin tinggi. Kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak daun nimba yang disuplemen VCO kemungkinan dapat mempercepat terjadinya fase inflamasi yang terlihat dari tingginya jumlah limfosit pada kelompok perlakuan ekstrak daun nimba yang disuplemen VCO yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme pada area luka.

Salah satu kandungan gizi yang tinggi pada tanaman nimba adalah vitamin A (Kumar et al., 2014) yang dapat berperan dalam mempercepat fase inflamasi menuju fase proliferasi dengan cara meningkatkan monosit, limfosit dan makrofag ke area luka yang akan mengeluarkan bakteri dari area luka dan menghasilkan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk proliferasi sel fibroblas dan angiogenesis (Martin dan Muir, 1990; Negara et al., 2014). Pada kelompok kontrol negatif dan positif jumlah limfosit cukup rendah sehingga menyebabkan proses penyembuhan luka menjadi tertunda, kemungkinan hal ini disebabkan oleh munculnya infeksi yang cukup besar pada saat fase inflamasi yang disebabkan oleh adanya mikroorganisme di area sekitar luka dan infeksi kuman pada tikus yang membutuhkan waktu lebih lama untuk membunuh kuman tersebut tetapi tidak sebanding dengan jumlah limfosit yang ada.

Limfosit pada tikus muncul paling lambat 2 hari setelah luka terjadi, jumlahnya bertambah pada hari ke 7 dan akan terus berkurang saat luka masih ada atau sudah sembuh. Limfosit diperlukan untuk penyembuhan luka karena limfosit dapat menjadi pengatur fibroblas melalui makrofag. Limfosit merupakan pengatur utama aktivitas fibroblas dalam penyembuhan luka baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada fase proliferasi, limfosit CD4+ akan menginduksi keratinosit untuk melepaskan interleukin IL-1 guna merangsang sel endotel membentuk angiogenesis dan fibroblas yang

selanjutnya akan membentuk matriks ekstraseluler (Martin dan Muir, 1990). Pada fase proliferasi, limfosit CD4+ akan menginduksi keratinosit untuk melepaskan interleukin IL-1 guna merangsang sel endotel untuk membentuk angiogenesis dan fibroblas yang selanjutnya akan membentuk matriks ekstraseluler. Keratinosit berperan penting dalam re-epitelialisasi, proliferasi dan pematangan epidermis. IL-1 yang telah dilepaskan oleh keratinosit akan menginduksi sel endotel untuk membentuk angiogenesis dan fibroblas yang akan membentuk matriks ekstraseluler (Prakoso dan Kurniasih, 2018). Pengamatan histologi dilakukan pada preparat kulit mencit pada hari ke-14 dengan mengidentifikasi keberadaan sel fibroblas dan sel limfosit menggunakan perbesaran 400x menggunakan mikroskop cahaya.

Histologi fibroblas dan limfosit preparat kulit tikus hari ke 14 dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.:



Gambar 2. Histologi fibroblas dan limfosit kulit mencit hari ke-14 dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin dan perbesaran 400x (a) kontrol negatif; (b) kontrol positif; (c) Ekstrak daun nimba yang disuplemen VCO dengan konsentrasi 5%; (d) Ekstrak daun nimba yang disuplemen VCO dengan konsentrasi 10%; (e) Ekstrak daun nimba yang disuplemen VCO dengan konsentrasi 15%, (➡) fibroblas (➡) limfosit.

Menurut Balqis et al., (2014) bahwa pada hari ke 14 penyembuhan luka pada tikus masih terlihat infiltrasi sel radang dan serat kolagen sudah menyebar. Pada jaringan normal jarang ditemukan sel fibroblas. Setelah luka terjadi, fibroblas akan aktif bermigrasi ke area luka yang akan berproliferasi menghasilkan kolagen yang berperan dalam pembentukan jaringan. menghasilkan kolagen yang berperan dalam pembentukan jaringan baru hingga kulit kembali normal. Terbentuknya kolagen yang disebabkan oleh bertambahnya jumlah fibroblas yang aktif menuju area luka menandakan bahwa luka berada pada tahap proliferasi fibroblas. Pengamatan Ketebalan Epitel pada Sediaan Histologi Kulit Mencit (*Mus musculus*) Pengamatan histologi ketebalan epitel mencit pada sediaan histologi kulit mencit dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Mikroskop Olympus BX 53) yang dihubungkan dengan kamera dan pengamatan dilakukan melalui monitor komputer. Pengamatan ketebalan epitel diukur dari lapisan stratum korneum sampai stratum basale. Data rata-rata ketebalan epitel mencit pada kelompok kontrol K-, K+, dan kelompok perlakuan PI, PII dan PIII pada hari ke-14 dapat dilihat pada Tabel 3.

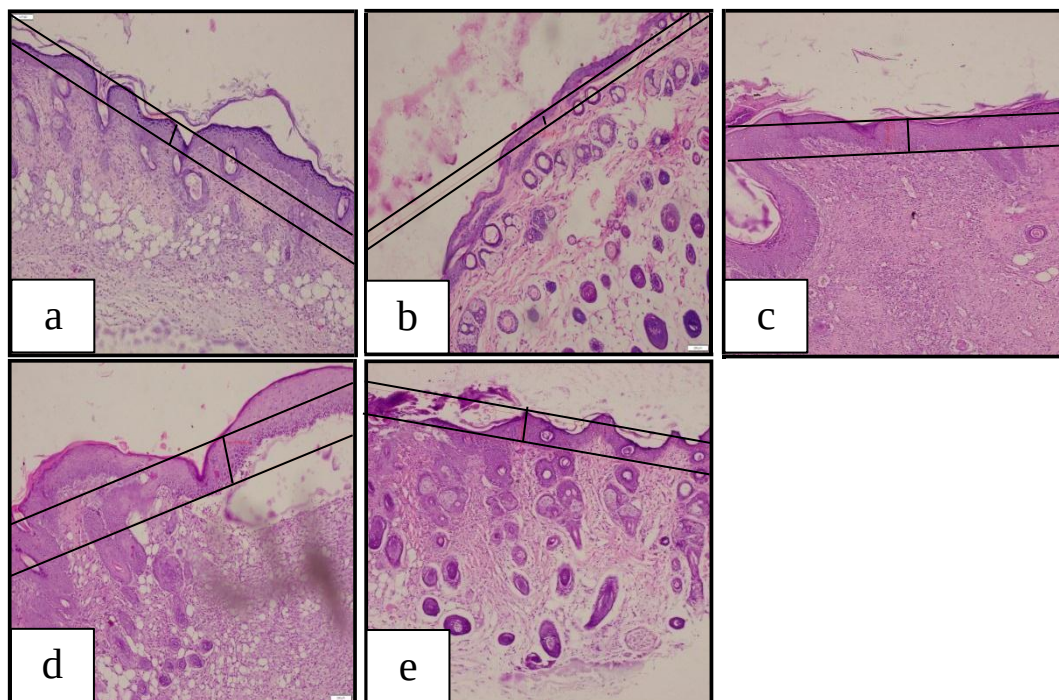
Tabel 3. Rata-rata ketebalan epitel pada preparat histologi kulit tikus

Kelompok	Ketebalan epitel $\pm$ SD (μ m) Hari ke-14
K-	85,10 ^a $\pm$ 25,11
K+	100,90 ^{ab} $\pm$ 39,99
PI	165,19 ^c $\pm$ 38,22
PII	173,26 ^c $\pm$ 40,25
PIII	156,38 ^{bc} $\pm$ 47,60

Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa rata-rata tebal epitel kulit tikus hari ke-14 paling tinggi pada kelompok perlakuan konsentrasi 10% (PII) yaitu sebesar 173,26 μ m sedangkan yang terendah pada kelompok perlakuan kontrol negatif (K+) yaitu sebesar 85,10 μ m. Berdasarkan hasil uji statistik didapatkan hasil yang signifikan sebesar 0,010 ($p < 0,05$). Dilanjutkan dengan uji Duncan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan konsentrasi 10% (PII) paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka dilihat dari tebal epitelnya.

Dari Tabel 3 bahwa tebal epitel pada kelompok kontrol negatif memiliki nilai yang rendah kemungkinan dikarenakan tidak adanya zat yang dapat menghambat bakteri pada daerah sekitar luka. Pada kelompok kontrol tidak dilakukan penambahan nutrisi pada kontrol negatif dikarenakan tidak adanya penambahan perlakuan dan kontrol positif dikarenakan tidak adanya nutrisi povidone iodine yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Kelompok perlakuan PI, PII, PIII menunjukkan ketebalan epitel yang tinggi. Ketebalan epitelisasi dapat menunjukkan proses re-epitelisasi yang lebih cepat, sehingga mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka. Proses re-epitelisasi yang cepat pada kelompok perlakuan dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia dalam daun nimba seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi et al. (2015) bahwa pemberian ekstrak kuncup bunga cengkeh yang mengandung eugenol, vitamin A, C, E, tanin dan saponin dapat membantu proses re-epitelisasi pada luka dengan meningkatkan diferensiasi sel epitel.

Hasil pengamatan histologi sediaan kulit mencit pada hari ke-14 dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini:



Gambar 3. Histologi ketebalan epitel kulit tikus pada hari ke-14 dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin dan perbesaran 100x (a) kontrol negatif; (b) kontrol positif; (c) ekstrak daun nimba yang diberi suplemen VCO pada konsentrasi 5%; (d) ekstrak daun nimba yang diberi suplemen VCO pada konsentrasi 10%; (e) ekstrak daun nimba yang diberi suplemen VCO pada konsentrasi 15%

Tanaman nimba mengandung efek antioksidan dan metabolit seperti alkaloid yang memiliki efek antibakteri dan vitamin A tinggi yang dapat menjaga integritas kulit (Kumar et al., 2014), serta berperan dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen, diferensiasi sel epitel dan meningkatkan imunitas (Negara et al., 2014). Efek antioksidan dapat menebalkan lapisan epitel. Pergantian jaringan epitel terjadi pada permukaan sel epitel yang terus-menerus mengalami kematian sel. Epitel memiliki daya pertahanan yang tinggi terhadap benda asing (Yohana, 2015).

KESIMPULAN

Luka yang diberi perlakuan VCO konsentrasi 10% dikombinasikan dengan ekstrak daun nimba (PII) memberikan penyembuhan paling cepat. Rata-rata ketebalan epitel, jumlah fibroblas dan jumlah limfosit pada kelompok perlakuan VCO kombinasi ekstrak daun nimba konsentrasi 10% (P2) lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya dengan hasil analisis statistik yang signifikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak sehingga penelitian ini dapat selesai sebagaimana yang diharapkan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Asrul, N. A. M., Rivai, A. T. O., Syisnawati, S., & Haristiani, R. (2023). Ekstrak *Moringa Oleifera* Mempercepat Proses Penyembuhan Luka: *Systematic Review*. *Jurnal Farmasetis*, 12(2), 187-194.
- Dafriani, P., Niken, N., Ramadhani, N., & Marlinda, R. (2020). Potensi Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Minyak Herbal Sinergi (MHS) Terhadap Ulkus Diabetes. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 7(1), 51-56.
- Dewi, A. A. L. N., Wati, N. L. C., & Dewi, N. M. A. (2017). Uji Efektivitas Larvasida Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Larva Lalat

- Sarcophaga Pada Daging Untuk Upakara Yadnya di Bali. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 6(1).
- Ferdina, R., Busman, B., & Putri, R. A. (2022). Penggunaan Obat Kumur Povidone Iodine Sebagai Tindakan Pra-Prosedural Untuk Mengurangi Risiko Penularan Covid-19. *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*, 16(2), 77-83.
- Hafizsha, N. I., Gunanti, G., Noviana, D., & Widhyari, S. D. (2021). Konsentrasi IL-6 Serum terhadap Penyembuhan Luka Pasca Pemasangan Implan Paduan Logam pada Babi (*Sus scrofa*). *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 9(1), 21-29.
- Ibrenna, G. M., Silalahi, J., Yuandani, & Satria, D. (2023). Wound Healing Potential of Formulated Ointment by Using Virgin Coconut Oil in Combination with Ethanol Extract of *Artocarpus lakoocha* Roxb. *Leaves. Research Journal of Pharmacy and Technology*, 16(8), 3530-3534.
- Jasmine, J., Purwanto, D. S., & Kaligis, S. H. (2022). Peran Interleukin-6 sebagai Faktor Prediktif Derajat Keparahan COVID-19. *eBiomedik*, 10(1), 98-106.
- Jaharuddin, N. F. (2020). Efektivitas Aplikasi Topikal Madu Hutan dan Propolis terhadap Penyembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus*). *Alami Journal (Alauddin Islamic Medical) Journal*, 4(2), 1-9.
- Karta, I. W., & Burhannudin. (2022). Suplementasi Produk Olahan Kelapa Virgin Coconut Oil (VCO) Dengan Ekstrak Daun Neem (*Azadirachta indica*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Jerawat *Propionibacterium Acnes*. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 19(1), 1-26.
- Karta, I. W., Jannah, S. Y., & Burhannudin. (2022). Uji Fitomikia dan Uji Repellent Virgin Coconut Oil (VCO) yang Tersuplementasi Minyak Atsiri Serai Wangi (*Citronella oil*). *Meditory*, 10(1), 54-63.
- Kartika, R. W. (2015). Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. *Dunia Kedokteran*, 42-46.
- Kaur, R., Kaur, S., & Puri, S. (2021). A Comprehensive Review on Medicinal Properties of *Azadirachta indica*. *Journal of Phytochemistry and Pharmacology*, 10(4), 320-328.
- Masfufatun, M., Tania, P. O. A., Raharjo, L. H., & Baktir, A. (2018). Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang terinfeksi *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30(1), 19-23.
- Nurmalasari, Y., Nofita, N., Warganegara, E., & Sijabat, A. I. (2020). Artikel Penelitian Perbandingan Air Perasan *Daucus Carota L.* Dengan Povidone Iodine Topikal Dalam Penyembuhan Luka Insisi Mencit. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(2), 673-679.
- Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, D. S. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika: Jurnal Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya*, 3(1), 31-43.

- Sarihati, I. G. A. D., Cahyani, K. I. S., Arjani, I. A. S., Kurniawan, S. B., & Bkti, H. S. (2020). Gambaran Kadar Serum Interleukin-6 pada Perokok Aktif. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 8(2), 109-120.
- Sharma, R., Bhatnagar, M., & Gupta, R. (2019). Antibacterial and Anti-inflammatory Activity of *Azadirachta indica* (Neem) Leaves: A Review. *International Journal of Pharmacology*, 15(5), 520-526.
- Shihotang, T. F., Jayawardhita, A. A. G., & Berata, D. I. (2019). Efektivitas Pemberian Gel Ekstrak Daun Binahong terhadap Kepadatan Kolagen pada Penyembuhan Luka Insisi Mencit Diabetes. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(2019), 456-463.
- Surya, W. A., Ali, H., & Aprilia, D. (2023). Pengaruh Ekstrak Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Ekspresi Interleukin-6 Tikus Diabetes Melitus Gestasional. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 4(2), 109-114.
- Suarni, L., & Fitarina, F. (2019). Perbandingan Penyembuhan Ulkus Diabetik dengan Menggunakan Minyak Kelapa Murni, Madu, dan Produk Farmasi. *Jurnal Kesehatan*, 10(2), 231-235.
- Zulkarnain, O., Yusra, S., & Cahyanto, H. N. (2023). Pengaruh Penggunaan Topikal Kandungan Zink terhadap Proses Penurunan Inflamasi pada Ulkus Diabetik Pasien Home Care Surabaya. *Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Rekayasa*, 5(1), 14-20.

PENUNDAAN PEMERIKSAAN SPESIMEN URIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT DAN NITRIT PADA PENDERITA INFEKSI SALURAN KEMIH

I Nyoman Jirna ^{1*} · Kadek Ulan Citrayani ² · I.G.A Putu Ayu Swastini³

^{1,2,3} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia

Email : nyomanjirna@gmail.com

No.Telp : 085333380568

Abstract

Pre-analytical errors that often occur in hospitals are related to specimen examination times that exceed the normal recommended time. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), the recommended urine examination must be carried out no later than two hours at room temperature after the urine is excreted. Study purpose is to identify differences between leukocytes and nitrite examination times as soon as (0 hours), 3, 4, and 5 hours. Types research is a true-experiment with post-test only control design. The sampling technique is an accidental sample and the number of samples of 24 samples with four times the treatment. The results of one way anova test show (p) value leukocytes are distinct from the value (p)= 0.023. A post-hoc test of LSD quantities leukocytes obtained results that have significant difference being a 0 hour of 4 hours (p) value= 0.014 and a 0 hour with 5 hours (p) value= 0.005. Nitrite's data analysis with kruskal-wallis test (p)= 0.916 means that there is no discrepancy in nitrite's levels with a delay of 0 hours, 3, 4, and 5 hours. Conclusion the urine test that was delayed 3,4,5 hours at room's temperature affected the leukocytes count, but delayed 3,4, and 5 hours, does not affect the level of nitrite urine on the UTI patient.

Keyword: Delaying examination, Leukocytes, Nitrite, UTI

Abstrak

Kesalahan praanalitik yang sering terjadi di rumah sakit adalah terkait waktu pemeriksaan spesimen yang melebihi waktu normal yang dianjurkan. *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*, pemeriksaan urin yang dianjurkan harus dilakukan paling lambat dua jam pada suhu ruang setelah urin dikeluarkan. Penelitian bertujuan mengetahui perbedaan rata-rata jumlah leukosit dan nitrit pada waktu segera (0 jam), 3, 4, dan 5 jam. Jenis penelitian adalah true-eksperimen dengan desain *post-test only control group design*. Teknik sampling adalah *accidental sampling* dan jumlah sampel sebanyak 24 sampel dengan 4 kali perlakuan. Hasil uji *one way anova* menunjukkan (p) value jumlah leukosit terdapat perbedaan dengan nilai (p)=0,023. Uji *post-hoc* LSD jumlah leukosit menunjukkan perbedaan signifikan pada 0 jam dengan 4 jam (p) value= 0,014 dan 0 jam dengan 5 jam (p) value= 0,005. Hasil analisis data nitrit dengan uji *kruskal-wallis* (p) value= 0,916 artinya tidak terdapat perbedaan hasil kadar nitrit dengan perlakuan penundaan 0, 3, 4, dan 5 jam. Kesimpulan pemeriksaan urin yang ditunda 3, 4, 5 jam di suhu ruang memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit pada pasien ISK, tetapi penundaan 3,4 dan 5 jam tidak berpengaruh terhadap kadar nitrit urin pada pasien ISK.

Kata kunci : Penundaan Pemeriksaan, Leukosit, Nitrit, Infeksi Saluran Kemih.

PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih terjadi akibat infeksi oleh patogen yang dapat menyebabkan adanya bakteri pada urin penderita (Pratistha et al., 2018). Kasus infeksi saluran kemih secara global ditafsirkan terdapat 404,61 juta kasus, 236.790 kematian, dan 520.200 *Disability-Adjusted Life Years (DALY)*. Secara spesifik,

terdapat pertumbuhan *motilitas* sebesar 2,4 kali lipat dari tahun 1990 hingga 2019 seiring dengan peningkatan angka kematian standar usia dari 2,77/100.000 menjadi 3,13/100.000 (Yang et al., 2022). Berdasarkan penelitian, prevalensi infeksi saluran kemih di Indonesia tahun 2021 mencapai 5-15% dengan 90-100 kasus pertahunnya (Ruckle et al., 2020)

Pemeriksaan urinalisis merupakan tes skrining untuk infeksi saluran kemih yang direkomendasikan dan dapat menggambarkan kondisi sistem perkemihan, serta sering dikerjakan di laboratorium karena memiliki efisiensi waktu, tidak mahal, akurat, dan cepat (Di Lorenzo & Stransinger, 2014). Setiap instalasi laboratorium sangat penting untuk melakukan kegiatan pemantapan mutu internal (PMI) pada setiap tahapan praanalitik, analitik, dan pascaanalitik. Kesalahan pemeriksaan paling besar terjadi pada tahap pra-analitik, yaitu sebesar 68% (Yayuningsih et al., 2020). Penundaan antara berkemih dan pemeriksaan urinalisis dapat mengurangi validitas hasil dan dapat memberikan pengaruh terhadap pemeriksaan urinalisis (Tuntun et al., 2018)).

Infeksi saluran kemih merupakan infeksi pada saluran perkemihan yang disebabkan oleh bakteri uropatogenetik yaitu *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus agalactiae* dan 90% infeksi tersebut disebabkan oleh *Escherichia coli*. Bakteri tersebut dapat masuk ke kandung kemih dan mengalahkan kekebalan bawaan tubuh (Emily K. Glover, 2023). Leukosit (sel darah putih) melawan bakteri penyebab infeksi saluran kemih (ISK) dengan cara membantu tubuh melawan infeksi. Saat tubuh melawan infeksi, jumlah leukosit dalam urine akan meningkat. Berdasarkan penelitian dari Ferina (2019) menunjukkan bahwa penderita infeksi saluran kemih yang melakukan pemeriksaan sedimen urin, sel yang paling sering ditemukan adalah leukosit dengan persentase 35,60%. Seharusnya dalam urin normal, leukosit ditemukan 1-5 sel /LPB, Ferina, 2020. (dalam Tandjungbulu et al., 2023). Selain leukosit, dalam urin penderita infeksi saluran kemih juga ditemukan nitrit. Nitrit merupakan hasil oksidasi nitrat yang dilakukan oleh bakteri golongan *Enterobacteriaceae* (Sabriani et al., 2021).

Menurut *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*, pemeriksaan urin yang dianjurkan harus dilakukan paling lambat dua jam pada suhu ruang setelah urin dikeluarkan. Urin yang ditunda harus disimpan pada suhu 2-8 °C atau diberi zat pengawet (Dolscheid-Pommerich et al., 2016). Urin yang telah didiamkan terlalu

lama tanpa bahan pengawet dan suhu penyimpanan tidak sesuai, hal itu dapat menyebabkan pengaruh pada setiap parameter urin. Semakin pemeriksaan ditunda, maka dapat menyebabkan terjadinya perubahan susunan bakteri yang berasal dari urin (Parwati et al., 2020).

Kasus tertundanya sampel urin sering terjadi di rumah sakit yang dapat disebabkan oleh beberapa hal, salah satunya di Rumah Sakit Umum Daerah Karangasem. Rata-rata 50% dari sampel yang datang ke laboratorium sudah tidak segar akibat pengumpulan spesimen urin tidak langsung dibawa ke laboratorium dan spesimen dibiarkan menumpuk di tempat pengumpulan sampel. Spesimen yang sudah tidak segar lagi dengan penundaan lebih dari dua jam terpaksa harus tetap dikerjakan untuk efisiensi waktu dan kenyamanan pasien. Secara teori, parameter urinalisis yang dapat dipengaruhi akibat penundaan pemeriksaan urin adalah pH, keton, protein urin, nitrit, bilirubin, sedimen urin, bau, bakteri, dan glukosa urin (Krisdianti et al., 2023).

Hasil penelitian yang berbeda-beda pada waktu penundaan terhadap pengaruh jumlah leukosit urin dan nitrit, Penelitian sarihati, dkk., 2019, ada pengaruh jumlah leukosit urin pada pasien ISK bila dilakukan penundaan tiga jam dan penelitian oleh (Krisdiantietal., 2023) dengan variasi waktu 1, 2, dan 3 jam menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi antara lama waktu penundaan dan suhu penyimpanan terhadap hasil leukosit urine pada pasien ISK. Berdasarkan penelitian (Pinontoan et al., 2023) menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh penundaan urin terhadap kadar nitrit yang ditunda 3 jam.

Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penundaan pemeriksaan spesimen urin terhadap jumlah leukosit dan nitrit pada penderita ISK.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan spesimen urin sewaktu, bahan penelitian yang digunakan adalah *dipstick urine reagent strips produksi ACON Biotech Hangzhou* nomor lot URS3100223 verivy U 10. Penelitian ini menggunakan rancangan *True Eksperimental* dengan desain *posttest-only control design* dengan 4 kelompok perlakuan waktu, yaitu pemeriksaan segera (0 jam)/kontrol, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Penelitian ini dilakukan di laboratorium patologi klinik RSUD Kabupaten

Klungkung, maret 2024. Teknik sampling berupa *accidental* sampling, dengan total 24 sampel dari 6 responden 4 perlakuan. Racangan metode pemeriksaan menggunakan *dipstick rapid detection of multiple analytest* urin carik celup dengan analisis menggunakan *urine analyzer* verivy U120 untuk mengukur kadar nitrit dan secara mikroskopis perhitungan jumlah leukosit. Analisis data jumlah leukosit berupa *One way anova* dan analisis data nitrit menggunakan uji *kruskal-wallis*. (Di Lorenzo and Stransinger, 2014).*dipstick*

HASIL PENELITIAN

Rerata jumlah leukosit tertinggi diperoleh pada kelompok pemeriksaan segera (0 jam)/kontrol dengan nilai 41,1 sel/LPB dengan standar deviasi 19,4. Sedangkan rerata terendah didapatkan pada urin yang diperiksa 5 jam dengan nilai 13,1 sel/LPB dengan standar deviasi 12,3. Uji *one way anova* menunjukkan ada perbedaan jumlah leukosit pada perlakuan pemeriksaan segera, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam pada penderita infeksi saluran kemih dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Perbedaan rata-rata hasil hitung jumlah leukosit

	Sum of squares	Df	Mean square	F	Sig
Between groups	2738.991	3	912.997	3.937	
Within groups	4637.758	20	231.888		0,023
Total	7376.750	23			

Tabel 2. Hasil uji post-hoc *tukey LSD*

Perlakuan	Uji <i>post-hoc tukey LSD</i>
Segera dengan penundaan 3 jam	0,067
Segera dengan penundaan 4 jam	0,014*
Segera dengan penundaan 5 jam	0,005*

Pengaruh paling signifikan terjadi antara kelompok yang diperiksa segera dengan penundaan 4 jam dengan p (0,014)dan kelompok pemeriksaan segera dengan perlakuan 5 jam dengan p sebesar 0,005 pada uji *post-hoc tukey LSD*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah leukosit antara pemeriksaan segera (0 jam) dengan penundaan 4 jam dan 5 jam.

Tabel 3. Hasil uji *kruskal-wallis* perbedaan nilai nitrit urin

	Perlakuan	N	Mean rank	Chi-square	Sig
Nitrit Urin	Segera (0 jam)	6	12.00	5.111	0.916
	Ditunda 3 jam	6	12.00		
	Ditunda 4 jam	6	12.00		
	Ditunda 5 jam	6	14.00		
	Total	24			

Pada kadar nitrit, uji *kruskal-wallis* menunjukkan tidak ada pengaruh penundaan terhadap kadar nitrit urin pada penderita infeksi saluran kemih dengan nilai p sebesar 0,916. Perlakuan penundaan tersebut tidak memberikan perbedaan hasil yang signifikan sehingga perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar nitrit yang diperiksa segera, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam.

DISKUSI

Infeksi saluran kemih merupakan infeksi yang terjadi akibat masuknya patogen pada ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra. Melalui pemeriksaan urinalisis dapat diperoleh hasil yang lebih cepat (Rinawati & Aulia, 2022). Ditemukannya leukosit dalam urin >5/LPB disebabkan oleh bakteri yang masuk ke dalam saluran kemih melalui orifisium uretra ataupun peradangan lain yang merangsang pembentukan leukosit sebagai bentuk pertahanan tubuh dari patogen yang mencoba masuk ke dalam tubuh. Apabila pemeriksaan urin tidak memungkinkan dilakukan segera dan memungkinkan terjadinya penundaan lebih dari 2 jam di suhu ruang, maka spesimen urin harus disimpan dalam lemari pendingin suhu 2-8 °C dan diberi zat pengawet (Dolscheid-Pommerich et al., 2016). Terjadinya penundaan lebih dari dua jam menyebabkan perubahan komposisi dan komponen urin sehingga memengaruhi stabilitas spesimen urin dan dapat menyebabkan penurunan jumlah leukosit

Menurut *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*, pemeriksaan urin yang dianjurkan harus dilakukan paling lambat dua jam pada suhu ruang setelah urin dikeluarkan. Menurut penelitian Supardi dalam (Maharani et al., 2017) menyatakan bahwa pemeriksaan urin yang ditunda tanpa diberikannya pengawet dapat menyebabkan menurunnya jumlah leukosit yang dikandung sebanyak 15% setiap jam

penyimpanan. Spesimen urin yang tidak diberikan pengawet dan didiamkan di suhu ruang dapat menyebabkan bakteri berkembang biak sehingga dapat menguraikan NH_3 (amoniak) yang bersifat basa. Pada kondisi urin basa, urin akan semakin encer, pH urin meningkat dan dapat memengaruhi komponen sedimen urin termasuk leukosit urin menjadi cepat lisis sehingga jumlahnya akan berkurang (Purwaningsih & Widyastuti, 2018). Lisisnya leukosit urin sejalan dengan kenaikan pH, leukosit akan rentan lisis pada urin dengan pH tinggi atau bersifat alkali $\text{pH} > 8$ dan berat jenis akan berkurang < 1.005 , kepekatan urin juga semakin berkurang, dan susunan komponen sedimen urin akan menurun secara signifikan seiring lama waktu penyimpanan (Zarmila & Ridwan, 2023).

Hasil Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian (Dewanti et al., 2019) menyatakan bahwa terdapat pengaruh terhadap penundaan pemeriksaan urin selama 3 jam pada sedimen leukosit urin. Leukosit dapat dideteksi pada parameter leukosit melalui reaksi antara reagen dengan enzim leukosit esterase yang terkandung di dalam sel neutrofil (Tuntun et al., 2018). Spesimen urin yang tidak diberikan pengawet dan didiamkan di suhu ruang dapat menyebabkan bakteri berkembang biak sehingga dapat menguraikan NH_3 (amoniak) yang bersifat basa (Purwaningsih & Widyastuti, 2018). Jumlah leukosit terus menurun seiring lamanya urin tersebut diperiksa. Urea dipecah oleh bakteri menjadi amonia dan karbon dioksida, pH urin juga menjadi basa dan encer karena amonia serta memberikan bau khas pada urin, terdapat endapan kalsium magnesium fosfat, dan bakteri akan memecah glukosa yang menyebabkannya keluar melalui urin dan hilang (Zarmila & Ridwan, 2023).

Penanganan spesimen urin untuk pemeriksaan sebaiknya disimpan pada suhu ruangan dan diperiksa paling lambat dua jam setelah pengambilan sampel. Penundaan pemeriksaan sering kali terjadi disebabkan oleh sistem efisiensi pengerjaan yang diberlakukan oleh masing-masing instansi laboratorium, dapat disebabkan oleh kondisi teknis instrumen yang digunakan, keterbatasan analisis laboratorium, dan keterlambatan pengiriman sampel dari tempat awal pengumpulan (Pinontoan et al., 2023). Pada pemeriksaan nitrit tidak diperoleh perbedaan pada perlakuan yang diberikan dan tidak memberikan hasil perbedaan yang bermakna, yang artinya perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap perlakuan penundaan yang diberikan. Hasil uji *kruskal-wallis* menunjukkan bahwa

nilai signifikansi probabilitas hasil nitrit sebesar 0,916, yang mana nilai tersebut lebih besar daripada α (0,005), (p)=(0,916) sehingga data tersebut menunjukkan bahwa hasil kadar nitrit pada perlakuan yang diberikan tidak memberikan dampak atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Namun, hasil dapat memberikan negatif palsu apabila bakteri yang terdapat di dalam urin tidak menghasilkan nitrit, seperti *Streptococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoea*, dan *Mycobacterium tuberculosis*, dan jamur serta dapat disebabkan juga oleh tingginya kadar asam askorbat dapat menyebabkan negatif palsu pada nitrit urin (Firdausa & Suryantoro, 2018).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh ((Pinontoan et al., 2023) hasil yang diperoleh adalah negatif atau normal sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil nitrit tidak terdapat perbedaan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti dalam urin tersebut tidak terdapat nitrit, yang artinya tidak terdapat cukup bakteri yang dapat menguraikan nitrat menjadi nitrit. Pada urin normal, seharusnya tidak terdapat nitrit dalam urin, tetapi nitrat yang terdapat dalam urin dapat mengalami reduksi oleh bakteri-bakteri yang mempunyai enzim nitrat reduktase menjadi nitrit. Perubahan nitrat menjadi nitrit memerlukan waktu sekurang-kurangnya 4 jam untuk bakteri dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit (Pinontoan et al., 2023). Nitrat yang terdapat dalam urin akan mengalami reduksi oleh bakteri yang mempunyai enzim reduktase, seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *citrobacter*, dan *Proteus* yang mereduksi nitrat menjadi nitrit. Sehingga, hasil positif dari pemeriksaan kimia urin nitrit menunjukkan adanya aktivitas bakteri yang menghasilkan enzim reduktase, sebaliknya pemeriksaan urin dengan hasil kimia nitrit negatif dapat mengeksklusi adanya infeksi bakteri, tetapi bukan bakteri nitrifikasi (Berhandus et al., 2016).

Hasil positif palsu pada dipstick test urine analyzer dapat terjadi karena urin terkontaminasi, carik celup terpapar udara yang lebih dari 1 minggu atau pasien menggunakan obat fenazopiridin. Sedangkan hasil negatif palsu dapat disebabkan oleh adanya mikroorganisme penyebab bakteriuria simtomatis yang tidak menghasilkan nitrit atau pada bakteri yang melakukan metabolisme nitrat menjadi amonia dengan cepat sehingga nitrit hanya sebentar berada di dalam urin. Hasil negatif palsu juga dapat disebabkan oleh adanya peningkatan berat jenis, peningkatan urobilinogen, pH 6,0 dan pasien mengonsumsi vitamin C. Penyebab lain hasil negatif palsu adalah inhibisi metabolisme bakteri oleh adanya antibiotik, asam

askorbat yang sangat banyak yang dapat mengganggu reaksi diazo dan penurunan sensitivitas pada spesimen dengan berat jenis tinggi. Sejumlah besar asam askorbat berkomptisi dengan nitrit untuk bergabung dengan garam diazonium sehingga mencegah pengukuran nitrit yang sebenarnya (Berhandus et al., 2016). Terdapat beberapa gangguan dalam pemeriksaan nitrit urin secara kimia dengan dipstick *urine analyzer* sehingga hasil diperoleh negatif dengan gejala suspect klinis, yaitu bakteri yang menurunkan enzim reduktase tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit. Reduktase dapat dijumpai pada bakteri gram negatif (*Enterobacteriaceae*) yang paing sering menyebabkan ISK, yaitu *Eschericia coli* dapat menyebabkan ISK dengan prevalensi 90% kejadian.

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian yaitu ada pengaruh penundaan pemeriksaan urin terhadap jumlah leukosit urin bila dilakukan penundaan 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Tidak ada pengaruh penundaan pemeriksaan urin terhadap jumlah nitrit urin bila dilakukan penundaan 3 jam, 4 jam, dan 5 jam pada penderita infeksi saluran kemih.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan pada Institusi Poltekkes Kemenkes Denpasar, khususnya Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Berhandus, L. A. H., Mongan, A. E., & Wowor, M. F. (2016). Gambaran nitrit urin pada pasien tuberkulosis paru dewasa di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik (EBm)*, 4(2). <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/ebiomedik/article/view/14650>
- Dewanti, B., Sarihati, I. G. A. D., & Burhannuddin. (2019). PENGARUH PENUNDAAN PEMERIKSAAN URIN TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT PADA PENDERITA INFEKSI SALURAN KEMIH. *Meditory*, 7(1), 2338-1159. <http://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/M>
- Di Lorenzo, M. schaub, & Stransinger, susan king. (2014). *Urinalisis dan Cairan Tubuh* (Mardiana & E. A. Mardella, Eds.). F.A. Davis Company, Philadelphia, Pennsylvania.

- Dolscheid-Pommerich, R. C., Kiarmann-Schulz, U., Conrad, R., Stoffel-Wagner, B., & Zur, B. (2016). Evaluation of the appropriate time period between sampling and analyzing for automated urinalysis. *Biochemia Medica*, 26(1), 82-89. <https://doi.org/10.11613/BM.2016.008>
- Firdaus, Sarah, & Suryantoro, S. Dwi. (2018). Arti Klinis Urinalisis pada Penyakit Ginjal. *Jurnal Kedokteran N Med*, 1(1), 34-43.
- Krisdianti, R., Puspitasari, P., & Alivameita, A. (2023). The Effect Of Delay Time And Storage Temperature On The Results Of Urine Leukocyte Examination In Patients Of Urinary Tract Infection (UTI). *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 6(1), 1-5. <https://doi.org/10.21070/medicra.v6i1.1660>
- Maharani, D. M. S., Inayati, N., & Wiwin, M. (2017). Jenis dan Jumlah Sedimen Urine Menggunakan Variasi Konsentrasi Pengawet Formalin. *Quality: Jurnal Kesehatan*, 11(2), 2655-2434. <https://ejournal.poltekkesjakarta1.ac.id/index.php/adm/article/view/74>
- Parwati, A. Putu, Bintari, N. W. D., & Putra, G. Putu Agus Fery. (2020). Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kimia Urin Dengan Variasi Jenis Pengawet Urin. *Jurnal Analisis Laboratorium Medik*, 5(23-27).
- Pinontoan, S. P. M., Pascoal, M. E., Samaili, F. A. C., & Andaria, A. J. (2023). PENGARUH WAKTU PENUNDAAN PADA PEMERIKSAAN KIMIA URIN METODE CARIK CELUP DENGAN SUHU PENYIMPANAN 2-8 °C. 11(96), 96-104.
- Pratistha, F. S. M., Sudhana, I. W., & Adnyana, I. W. L. (2018). Diagnosis Cepat Infeksi Saluran Kemih Dengan Menghitung Jumlah Leukosituria Pada Urinalisis Metode Flowcytometry Sysmex Ux-2000 Dengan Baku Emas Kultur Urin Di Rsup Sanglah Denpasar. *Jurnal Penyakit Dalam Udayana*, 1(2), 52-56. <https://doi.org/10.36216/jpd.v1i2.4>
- Purwaningsih, V N., & Widyastuti, R. (2018). Perbandingan Pemeriksaan Leukosit Urine Segar Dengan Setelah 2 Jam Di Suhu Kamar. *Surabaya: The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1(2), 14-20. https://repository.um-surabaya.ac.id/2920/1/LEUKOSIT_URINE.pdf
- Rinawati, W., & Aulia, D. (2022). Update Pemeriksaan Laboratorium Infeksi Saluran Kemih. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 9(2), 124. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v9i2.319>
- Ruckle, A. F., Maulana, A., & Ghinowara, T. (2020). FAKTOR RESIKO INFEKSI SALURAN KEMIH PADA PASIEN DENGAN BATU SALURAN KEMIH. *Biomedika*, 12(2), 124-130. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v12i2.10812>

- Tuntun, M. S., Wulan, W. S., Setiawan, D., & Nuryati, A. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis (TLM) : Kendali Mutu*. http://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wp-content/uploads/2018/09/Kendali-Mutu_SC.pdf
- Yang, X., Chen, H., Zheng, Y., Qu, S., Wang, H., & Yi, F. (2022). Disease burden and Long-term Trends Of Urinary Tract Infections : A Worldwide Report. *Journal Frontiers in Public Health*, 10, 13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.888205>
- Yayuningsih, D., Arisatianti, A. R., Farihatun, A., Fitria, S., & Setawan, D. (2020). Result of Internal Quality Control of HbA1C Examination. *STIKes Muhammadiyah Ciamis*, 7(2), 44-50.
- Zarmila, U, Asriyani Ridwan, A. (2023). Pengaruh Penundaan Pemeriksaan Urine Rutin Terhadap Hasil Leukosit Esterase. *Nuhela Journal Of Injury*, 2(2), 110-116.

PENGARUH SUHU DAN WAKTU TERHADAP DIAMETER UJI RESISTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Nurul Pathia¹ · Bastian^{2*} · Aristoteles³ · Wulandari⁴

^{1,2,3,4} D-IVTeknologi Laboratorium Medis, Fakultas sains dan Teknologi, IkesT Muhammadiyah
Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia
e-Mail: bastiandarwin51@gmail.com
No Tlp WA : 081369141311

Abstract

Background : Antibiotic resistance is a threat to the effectiveness of prevention and treatment of infectious diseases. Antibiotics work to prevent bacteria from growing and destroying parts of the bacteria so that it is easier for the immune system to fight them. Antibiotic sensitivity testing is a test used to test the sensitivity of bacteria to the effectiveness of an antibiotic. **Research Objective :** This study aims to determine the effect of temperature and time on the diameter of the resistance test of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. **Research Method:** The method experimental, this research was carried out at the IkesT Muhammadiyah Palembang Microbiology Laboratory. The population taken is the population used in this research is the bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. The sample used in this research was the bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). **Results:** The average diameter of the inhibition zone for the antibiotic gentamicin in *Pseudomonas aeruginosa* bacteria after incubation at 37°C for 12 hours was 17 mm, 19 mm at 24 hours and 21 mm at 48 hours. The average diameter of the inhibition zone for the antibiotic gentamicin in *Pseudomonas aeruginosa* bacteria after incubation at 25°C for 12 hours was 1.5 mm, 21 mm at 24 hours, and 21 mm at 48 hours. **Conclusion :** In this study, there was an influence of temperature and incubation time on antibiotic resistance testing in *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Keywords : Antibiotic, Resistance Testing, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstrak

Latar Belakang : Resistensi antibiotik merupakan ancaman bagi efektifitas pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit infeksi. Antibiotik bekerja untuk mencegah bakteri berkembang dan merusak bagian bakteri sehingga sistem imun mudah untuk melawanya. Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap efektifitas dari suatu antibiotik. **Tujuan Penelitian :** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu terhadap diameter uji resistensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. **Metode Penelitian :** Experimental murni, penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi IkesT Muhammadiyah Palembang. Populasi yang diambil adalah Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Sampel dari penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). **Hasil :** Rata- rata hasil diameter zona hambat antibiotik gentamicin pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam didapatkan hasil yaitu 17 mm, pada waktu 24 jam 19 mm dan 48 jam 21 mm. Rata- rata diameter zona hambat antibiotik gentamicin pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah diinkubasi pada Suhu 25°C selama 12 jam didapat 1,5 mm, 24 jam 21 mm, dan 48 jam 21 mm. **Kesimpulan :** pada penelitian ini terdapat pengaruh suhu dan waktu inkubasi terhadap uji resistensi antibiotik pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci : Antibiotik, Uji Resistensi, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Penyakit menular merupakan salah satu penyebab masalah kesehatan yang sering terjadi di Indonesia. Mikroorganisme adalah penyebab utama penyakit infeksi yang hidup didalam tubuh. Mikroorganisme biasanya tidak berbahaya atau bahkan bisa berguna bagi tubuh kita, tetapi dalam keadaan tertentu beberapa mikroorganisme dapat menyebabkan penyakit. Salah satu mikroorganisme penyebab penyakit adalah bakteri yang resisten terhadap antimikroba (Konoralma, 2019).

Menurut Global Studi Resistensi Antimikroba tahun 2019 terdapat 7.7 juta kematian terkait infeksi bakteri patogen yang resisten dan rentan terhadap antimikroba. Salah satu bakteri penyebab kematian sebanyak 54,9% yaitu pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Data infeksi yang ada di Indonesia tahun 2023 melaporkan bahwa angka kejadian infeksi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 6-16% dengan rata-rata 9,8%, sedangkan di kota Palembang didapatkan data infeksi *Pseudomonas aeruginosa* banyak ditemukan pada trankea sebanyak 45%. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik disebut dengan *Multidrug Resistance Pseudomonas aeruginosa* (MDRPA) (Kusmawijaya & Yanti, 2023).

Bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik disebut dengan *Multidrug Resistance Pseudomonas aeruginosa* (MDRPA). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mengalami peningkatan terhadap resistensi sebanyak 12%-36%. Jumlah pasien pneumonia yang terkena infeksi *Pseudomonas aeruginosa* mencapai 13,5% kemudian meningkat menjadi 35,8% pada MDR *Pseudomonas aeruginosa* (Saputra *et al.*, 2021).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang berbentuk batang Gram negatif, bersifat aerob, dan bergerak dengan menggunakan flagel. Bakteri ini bersifat patogen oportunistik dimana dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, sistem pernafasan dan sistem peredaran pada darah, mata, telinga (otitis eksternal), jantung (endocarditis), kulit, tulang, sistem saraf pusat, saluran pencernaan. *Pseudomonas aeruginosa* mengalami resistensi terhadap antibiotik (Yosias Beslar *et al.*, 2022).

Resistensi antibiotik merupakan ancaman bagi efektifitas pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit infeksi. Penggunaan antibiotik yang berlebihan

terbilang umum terjadi di dunia, termasuk di Indonesia. Prevalensi penyalahgunaan antibiotik sangat umum terjadi di lingkungan rumah sakit yaitu sekitar 40-50% yang tidak sesuai dengan pedoman pemakaian antibiotik lokal dan tidak sesuai dengan hasil kultur mikrobiologi (Chinemerem Nwobodo *et al.*, 2022).

Antibiotik adalah golongan obat yang sering digunakan dibidang kesehatan. Antibiotik bekerja untuk mencegah bakteri berkembang dan merusak bagian bakteri sehingga sistem imun mudah untuk melawanya. Tes yang digunakan untuk kepekaan antibiotik dapat dilakukan dengan metode difusi Kirby-Bauer yaitu menempelkan antibiotik pada Media Mueller Hinton Agar (MHA) menggunakan pinset kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Periode setelah inkubasi, senyawa antimikroba akan terbentuk sebaran pada media agar. Hasil dilihat dengan cara mengukur resistansi diameter (mm) dan dibandingkan dengan Kirby Standar CLSI Bauer. Pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui resistensi bakteri adalah pemeriksaan laboratorium (Trianes *et al.*, 2022).

Diagnostik laboratorium pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu dapat dilakukan dengan cara isolasi bakteri, pewarnaan gram, uji biokimia, diikuti dengan uji sensitivitas terhadap antibiotik. Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap efektifitas dari suatu antibiotik. sensitivitas antibiotik *Pseudomonas aeruginosa* dilaporkan sensitif terhadap meropenem (92.6%), amikacin (94.4%), ciprofloxacin (92.6%), piperacillin/tazobactam (90.7%), cefepime (92.6%), gentamicin (96.3%), ceftazidime (92.6%), aztreonam (81.5%) and resistant to cefazolin (98.1%) and tigecycline (92.6%) (Kusmawijaya, 2023).

Antibiotik yang termasuk golongan aminoglikosida adalah streptomisin, neomisin, framisetin, kanamisin, paromomisin, tobramisin, gentamicin dan amikasin. Antibiotik tersebut efektif terhadap bakteri gram negatif, dan semua aminoglikosida bersifat bakterisida. Antimikroba yang bersifat bakterisida berarti dapat membunuh bakteri. Pada pemeriksaan laboratorium ada faktor yang dapat memberikan pengaruh terhadap kerentanan pertumbuhan bakteri (Fabian *et al.*, 2020)

Faktor yang dapat memberikan pengaruh terhadap kerentanan pertumbuhan bakteri adalah suhu inkubasi. Suhu merupakan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Suhu optimal untuk patogen yaitu

suhu 37°C menggunakan inkubator, akan tetapi terdapat hambatan saat menggunakan alat tersebut, karena sering terjadi hal yang tidak terduga seperti pemadaman listrik, ketidakstabilan suhu dengan permasalahan tersebut diperlukan suhu tertentu sebagai alternatif yaitu pada suhu 25°C karena pada suhu tersebut bisa digunakan untuk melihat diameter resistensi antibiotik. Selain suhu, waktu inkubasi juga bisa mempengaruhi diameter resistensi bakteri (Trianes *et al.*, 2022).

Tahapan pertumbuhan bakteri berdasarkan waktu inkubasi yaitu pada waktu 4 jam hingga 8 jam, disebut fase eksponensial dimana bakteri mengalami pertumbuhan yang berlangsung sangat cepat hingga dua kali lipat dari jumlah semula. Jam ke-8 sampai jam ke-16 bakteri mengalami fase statione tahap ini pertumbuhan bakteri sama dengan waktu kematiannya. Jam ke-20 hingga jam ke-24 bakteri mengalami penurunan jumlah sel atau penurunan populasi bakteri dan peningkatan kematian dikarenakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan sel mulai habis (Kurniawati *et al.*, 2021).

Waktu optimal untuk inkubasi bakteri yaitu selama 24-48 jam menggunakan alat inkubator, akan tetapi saat menggunakan alat tersebut terdapat hambatan seperti terjadinya pemadaman listrik sehingga membuat waktu inkubasi semakin lama karena jika waktu inkubasi yang lama bisa membuat zona hambat antibiotik terus berkurang atau mengecil dan bisa mendapatkan hasil yang invalid. Dari permasalahan tersebut diperlukan waktu alternatif untuk inkubasi yaitu pada waktu 12, 24 dan 48 jam yang bisa digunakan sebagai perbandingan untuk melihat diameter zona hambat (Martsiningsih *et al.*, 2023).

Menurut penelitian Martsiningsih *et al.*, (2023), Pengaruh waktu inkubasi terhadap diameter zona hambat antibiotik pada uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumonia* mengatakan bahwa variasi waktu inkubasi selama 6-48 jam mempengaruhi hasil dari pembentukan rerata diameter zona hambat pada masing-masing jenis antibiotik. Pada waktu inkubasi awal yaitu 6-18 jam berpengaruh semakin lebar atau besar pembentukan diameter zona hambat dan pada waktu inkubasi selanjutnya yaitu 18-48 jam berpengaruh semakin menyempit atau mengecilnya pembentukan diameter zona hambat.

Menurut Gajic *et al.*, (2022), Pengujian kerentanan antimikroba pengaruh waktu inkubasi selama 10 jam. Pertumbuhan yang jelas dengan zona

penghambatan yang dapat dibaca terlihat setelah 6-7 jam inkubasi. Setelah 10 jam inkubasi, tingkat kesalahan kecil, hasil penelitian ini dengan jelas menunjukkan bahwa pembacaan awal zona hambat hingga 10 jam setelah inkubasi layak dilakukan dan akurat sehingga dapat menghemat waktu penyelesaian secara signifikan.

Menurut Trianes *et al.*, (2022), mengatakan bahwa setelah melakukan penelitian menunjukkan hasil rata-rata nilai pengukuran zona hambat diameter bakteri *K. pneumonia* pada media Mueller Hinton diinkubasi pada suhu 37°C, didapatkan hasil yaitu 21 mm dan pengukuran diameter zona hambat *K. pneumonia* bakteri pada media Mueller Hinton diinkubasi pada suhu 25°C, yaitu hasil rata-rata 20 mm. Menurut penelitian Baron *et al.*, (2021), pada perbedaan uji kepekaan dengan metode difusi cakram dan minimum inhibitory (MIC) bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Yersinia ruckeri* yang diinkubasi selama 24-48 jam dan 44-48 jam pada suhu 22°C setelah pembacaan hasil tidak ditemukan perbedaan zona hambat terhadap metode difusi cakram dan minimum inhibitory (MIC) pada suhu inkubasi 22°C.

Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis merasa tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh suhu dan waktu terhadap diameter uji resistensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian menggunakan studi Experimental murni dengan rancangan penelitian Post test - Only Control Design dimana pemeriksaan dilakukan setelah adanya perlakuan pada sampel penelitian. Eksperimen merupakan metode yang bertujuan untuk mencari pengaruh dan melakukan perlakuan tertentu. Dimana pada penelitian ini yaitu dengan melihat perbedaan diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah inkubasi suhu 37°C dan 25°C pada waktu inkubasi selama 12, 24 dan 48 jam.

Besaran sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan rumus federer. Subjek pada penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Bakteri spesies *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi IkesT Muhammadiyah Palembang, Jl. Jendral Ahmad Yani, 13 Ulu, Kec. Seberang ulu II. Kota Palembang, Sumatra Selatan dan Penelitian ini dilakukan Maret-April 2024. Instrument digunakan dalam pengolahan data pada penelitian ini yaitu jangka sorong untuk mengukur diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Data yang didapatkan berbentuk numerik berupa diameter zona hambat (rasio). Data yang di dapatkan dari pemeriksaan laboratorium, diolah dengan program SPSS. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* karena dengan kriteria $\geq 0,05$ data terdistribusi normal, dan $< 0,05$ data dinyatakan tidak terdistribusi normal. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dipilih *statistic parametric* yang dianalisa dengan menggunakan uji *One Way Anova*, untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika data tidak berdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskal Wallis* pada rata-rata dua kelompok yang berbeda yaitu pada suhu dan waktu (Artha *et al.*, 2021).

Tahapan pertama yaitu mempersiapkan alat dan bahan. Tahapan kedua yaitu pembuatan media Mueller Hinton, standar Mac Farland 0,5, media *Sulfid Indol Motility* (SIM), media Gula-gula, media Urea, media Pepton, media TSIA, media *Methyl Red* (MR), media *Voges Preskauer* (VP), media Simon Sitrat. Tahapan ketigan yaitu uji sterilisasi media *Mueller Hinton* (MH) dengan menyiapkan media MH yang telah dibuat dan telah mengeras. Kemudian menginkubasi media tersebut pada inkubator selama 24 jam, amati pertumbuhan bakteri, jika terdapat pertumbuhan bakteri, hal ini menandakan bahwa media ini tidak steril dan tidak dapat digunakan. Tahapan keempat yaitu uji strain murni, uji biokimia, uji gula-gula, uji urease, uji indol, uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Methyl Red* (MR), uji *Voges Proskauer* (VP), uji simmon sitrat, pembuatan suspensi bakteri, uji kepekaan media *Mueller Hinton* (MH) pada suhu 37 °c, uji kepekaan media Mueller Hinton (MH) pada suhu 25 °c, perhitungan diameter zona hambat, mensterilkan biakan murni bakteri *pseudomonas aeruginosa*

HASIL

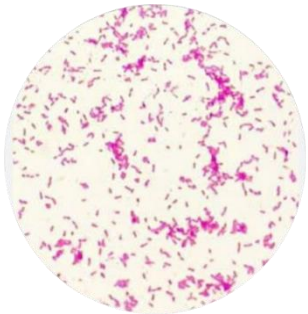
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu terhadap diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan

rumus Federer pengulangan masing-masing perlakuan sebanyak 12 kali pada media Mueller Hinton (MH) yang diberi antibiotik gentamicin yang diinkubasi selama 12, 24, dan 48 jam pada suhu 37 °C dan 25 °C.

a. Hasil Uji Strai Murni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Strain Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebelum digunakan terlebih dahulu uji strain yang bertujuan untuk membuktikan bahwa apakah benar bakteri tersebut merupakan strain murni dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian yang dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia. Hasil Pemeriksaan dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Table 1. Uji Strain Murni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian	Karakteristik Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hasil
Makroskopis	Koloni bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yaitu berukuran besar-besar, berwarna abu-abu, keeping dan berpigmen	 Berukuran besar-besar dan berpigmen
Mikroskopis	Bakteri gram negatif (-) yang berbentuk batang (basil), motil dan berukuran 0,6 x 2 mm	 - Berbentuk batang (basil), motil - Bakteri gram (-)

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

Tes biokimia	Hasil pemeriksaan	Keterangan
SIM	(+)	Positif
Glukosa	(+)	Positif
Laktosa	(-)	Negatif
Manosa	(-)	Negatif
Maltose	(-)	Negatif
Sukrosa	(-)	Negatif
Urease	(+)	Positif
Indol	(-)	Negatif
TSIA	A/A	A/A
	H ₂ S (+)	H ₂ S (+)
	Gas (-)	Gas (-)
Methyl Red	(-)	Negatif
Voges Proskauer	(-)	Negatif
Simon Citrat	(+)	Positif
Orginin	(-)	Negatif
Lisin	(-)	Negatif
Ornithine	(-)	Negatif
Phenil Alanin	(-)	Negatif

Berdasarkan tabel 1 dan tabel 2 mendapatkan hasil uji strain murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pengujian yang dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan hasil tersebut bahwa penelitian bisa di lanjutkan.

b. Uji Sterilisasi Media

Tabel 3. Hasil uji sterilitas media

Pengujian	Media	Hasil pengujian	Keterangan
Uji sterilisasi	Media Mueller Hinton (MH)	Tidak tumbuh	Steril



Berdasarkan tabel 3 mendapatkan hasil uji sterilisasi media hasil didapatkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada media Mueller Hinton, berdasarkan hasil tersebut bahwa penelitian bisa di lanjutkan.

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri sebelum digunakan dilakukan uji kesuburan media. Hasil uji kesuburan media dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Uji Kesuburan

Pengujian	Media	Hasil pengujian	Keterangan
Uji kesuburan	Media Mueller Hinton (MH)	>300 koloni	Subur



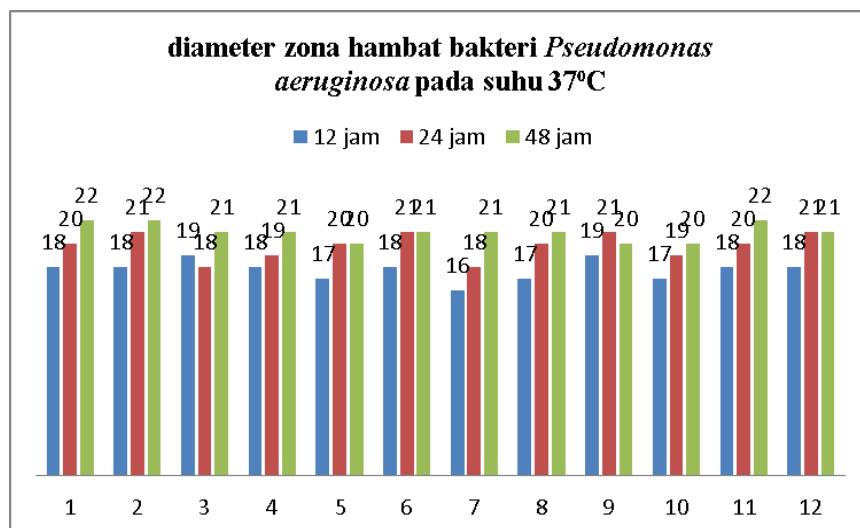
Berdasarkan tabel 4 mendapatkan hasil uji kesuburan media Mueller Hinton didapatkan >300 koloni dapat disimpulkan bahwa media dinyatakan subur dapat digunakan dalam pertumbuhan bakteri.

c. Diameter Zona Hambat Antibiotik Gentamicin Pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Setelah Diinkubasi selama 12, 24 dan 48 jam Pada Suhu 37°C dan 25°C

Suspensi bakteri ditanam pada media Mueller Hinton (MH) yang diberi antibiotik gentamicin yang diinkubasi selama 12, 24, dan 48 jam pada suhu 37°C dan 25 °C sebanyak 12 pengulangan, dan pada media Mueller Hinton (MH). Diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton (MH) yang diinkubasi selama 12, 24, dan 48 jam pada suhu 37°C dan Suhu 25°C dapat di lihat pada tabel 5.5 sebagai berikut:

Tabel 5. Diameter Zona Hambat Pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Setelah Diinkubasi Pada Suhu 37°C

Diameter zona hambat pada suhu 37°C			
No	12 jam	24 jam	48 jam
1	18	20	22
2	18	21	22
3	19	18	21
4	18	19	21
5	17	20	20
6	18	21	21
7	16	18	21
8	17	20	21
9	19	21	20
10	17	19	20
11	18	20	22
12	18	21	21
Σ	17	19	21

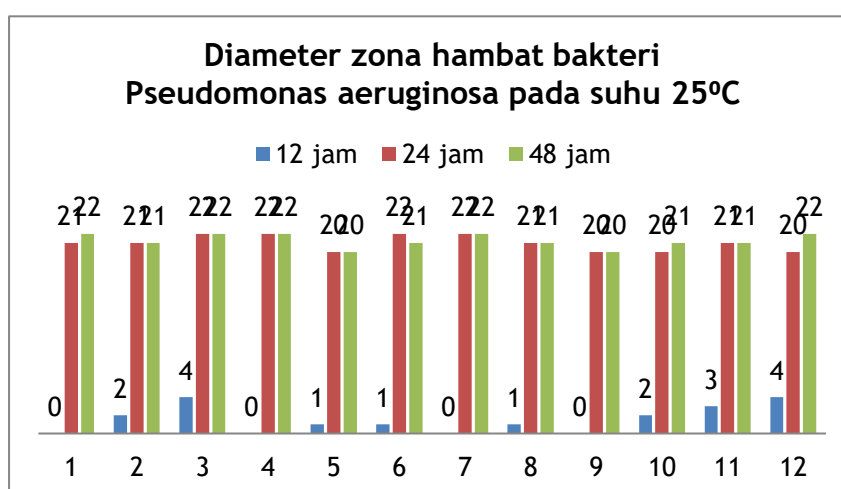


Gambar 1 Persentase Hasil diameter zona hambat pada suhu 37°C

Berdasarkan tabel 5 dan gambar diagram 1 diatas mendapatkan hasil nilai rata-rata pengukuran diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton yang diinkubasi pada suhu 37°C didapatkan hasil rata-rata inkubasi selama 12 jam yaitu 17 mm, 24 jam 19 mm dan 48 jam 21 mm.

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Setelah Diinkubasi Pada Suhu 25 °C

Diameter zona hambat pada suhu 25 °C			
No	12 jam	24 jam	48 jam
1	0	21	22
2	2	21	21
3	4	22	22
4	0	22	22
5	1	20	20
6	1	22	21
7	0	22	22
8	1	21	21
9	0	20	20
10	2	20	21
11	3	21	21
12	4	20	22
Σ	1,5	21	21

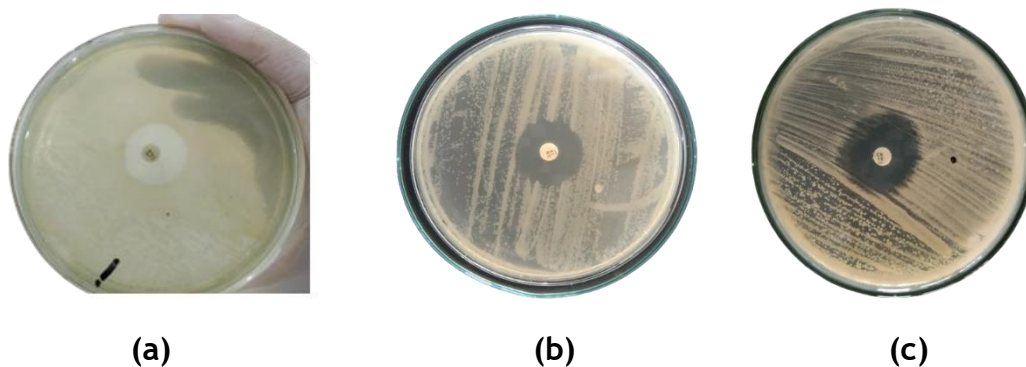


Gambar 2. Persentase Hasil diameter zona hambat pada suhu 25 °C

Berdasarkan tabel 6 dan gambar diagram 2 mendapatkan hasil nilai rata-rata pengukuran diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton yang diinkubasi pada suhu 25 °C didapatkan hasil rata-rata inkubasi selama 12 jam didapat 1,5 mm, 24 jam 21 mm, dan 48 jam 21 mm.

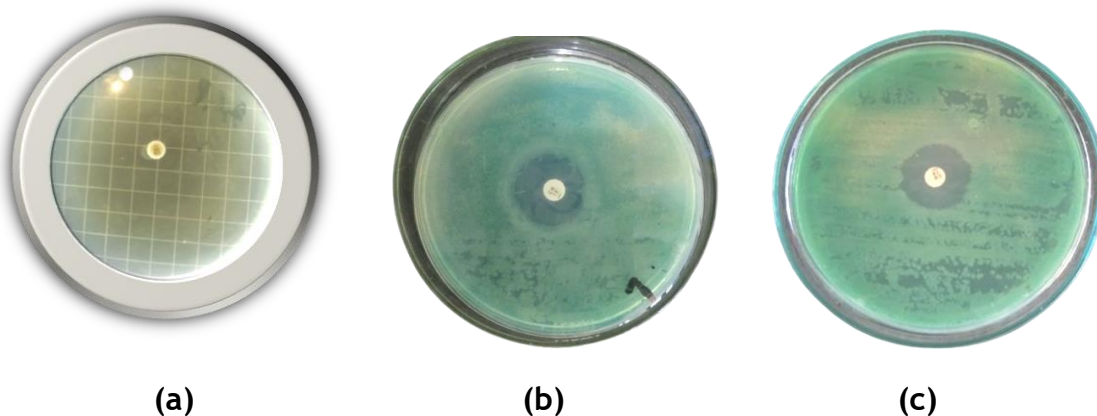
Berdasarkan hasil diatas didapatkan Perbedaan diameter zona hambat

bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton pada suhu 37°C yang diinkubasi selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam serta suhu 25°C diinkubasi selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam mendapatkan hasil relatif cukup berbeda. Secara makroskopis pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diinkubasi pada suhu 37°C dan yang diinkubasi pada suhu 25°C, dapat di lihat seperti gambar 3 dan gambar 4 sebagai berikut:



Gambar 3

Perbedaan diameter zona hambat pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media Mueller Hinton (MH); a) pengukuran diameter zona hambat yang diinkubasi selama 12 jam; b) pengukuran diameter zona hambat yang diinkubasi selama 24 jam dan c) pengukuran diameter zona hambat yang diinkubasi selama 48 jam



Gambar 4

Perbedaan diameter zona hambat pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media Mueller Hinton (MH); a) pengukuran diameter zona hambat yang diinkubasi selama 12 jam; b) pengukuran diameter zona hambat yang diinkubasi selama 24 jam dan c) pengukuran diameter zona hambat yang

inkubasi selama 48 jam.

Hasil penelitian dicantumkan dapat berupa gambar, table atau narasi dengan penjelasan atau deksripsi yang jelas. Format penulisan **harus** mengikuti template ini dengan ukuran kertas A4, rata kiri - kanan, margin kiri kanan, atas bawah adalah 3 cm. Naskah ditulis menggunakan Microsoft word, alignment Justify, spasi 1,5 line, Trebuchet MS ukuran 12.

DISKUSI

Uji kepekaan bakteri pada suatu antibiotik dapat mempunyai arti yang sangat penting, karena bakteri dapat dipengaruhi oleh antibiotik yang akan mengalami perubahan pada tempat dan waktu yang berbeda. Factor yang dapat memepengaruhi uji kepekaan pertumbuhan bakteri yaitu salah satunya adalah waktu dan suhu inkubasi. Suhu merupakan factor yang terpenting karena dapat mempengaruhi mikroorganisme, jika suhu naik maka kecepatan metabolisme juga turun dan pertumbuhan diperlambat. Waktu inkubasi juga memepengaruhi pertumbuhan mikroorganisme karena jika waktu inkubasi yang lama akan membuat zona hambat antibiotik terus berkurang atau mengecil sehingga suhu dan waktu inkubasi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Menurut Trianes et al., (2022), mengatakan bahwa setelah melakukan penelitian menunjukkan hasil rata-rata nilai pengukuran zona hambat diameter bakteri *K. pneumonia* pada media Mueller Hinton diinkubasi pada suhu 37°C, didapatkan hasil yaitu 21 mm dan pengukuran diameter zona hambat *K. pneumonia* bakteri pada media Mueller Hinton diinkubasi pada suhu 25°C, yaitu hasil rata-rata 20 mm sedangkan Menurut penelitian Baron et al., (2021), pada perbedaan uji kepekaan dengan metode difusi cakram dan minimum inhibitory (MIC) bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Yersinia ruckeri* yang diinkubasi selama 24- 48 jam dan 44-48 jam pada suhu 22°C setelah pembacaan hasil tidak ditemukan perbedaan zona hambat terhadap metode difusi cakram dan minimum inhibitory (MIC) pada suhu inkubasi 22°C.

Uji sterilisasi media yang digunakan untuk penelitian yaitu uji sterilisasi dan uji kesuburan media. Tujuan dilakukannya uji sterilisasi media adalah untuk menghindari kontaminasi mikroorganisme lain. Media Mueller Hinton (MH) diinkubasi tanpa di tanami apapun, apabila tidak mengalami pertumbuhan

mikroorganisme baik bakteri ataupun jamur, maka hal tersebut menunjukkan bahwa media dapat digunakan dalam pengujian.

Uji kesuburan media dilakukan dengan menanam suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton (MH) yang di bandingkan dengan standar Mc Farland 0,5, serta dilakukan inkubasi selama 24 jam. Jumlah rata-rata koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton (MH) didapatkan >300 koloni. Hasil ini dapat diterima karena koloni yang tumbuh pada media dinyatakan subur.

Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan sebelum penelitian yang bertujuan untuk memastikan kemurnian strain yang akan digunakan. Hasil uji secara makroskopis bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah koloni berukuran berukuran besar-besar, bewarna abu-abu, dan berpikmen. Hasil ini dapat dilihat setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan uji Sulfat Indol Motility (SIM) yang ditunjukkan hasil positif yaitu terdapat pergerakan kuman, kemudian uji glukosa didapatkan hasil positif sedangkan laktosa, maltosa, manitol dan sukrosa didapatkan hasil negatif. Pada uji urea didapatkan hasil positif karena kemampuan pemecahan urea menjadi amoniak, uji TSIA didapatkan hasil A/A H₂S (+) dan Gas (-).

Hasil uji secara mikroskopis bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif (-) yang berbentuk batang (basil), motil dan berukuran 0,6 x 2 mm. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada uji (Indol, Methyl Red, dan Voges Proskauer) didapatkan hasil negatif sedangkan pada uji Simon Citrate didapatkan hasil positif.

Diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton yang diinkubasi pada suhu 37°C didapatkan hasil rata-rata inkubasi selama 12 jam yaitu 17 mm, 24 jam 19 mm dan 48 jam 21 mm sedangkan pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Mueller Hinton yang diinkubasi pada suhu 25°C didapatkan hasil rata-rata inkubasi selama 12 jam didapat 1,5 mm, 24 jam 21 mm, dan 48 jam 21 mm.

Aktivitas daya hambat antibiotik gentamicin terhadap bakteri

Pseudomonas aeruginosa masuk dalam kategori sensitif dimana zona hambat yang dihasilkan pada suhu 37°C yang inkubasi selama 12 jam, 24 jam dan 48 jam diameter zona hambat sudah terbentuk dikarenakan pada suhu 37°C aktivitas enzim meningkat sehingga pertumbuhan bakteri terbentuk. Hasil rata-rata inkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam yaitu >19 mm.

Hasil inkubasi pada suhu 25°C yang diinkubasi selama 12 jam, 24 jam dan 48 jam didapatkan hasil pada waktu inkubasi selama 12 jam diameter zona hambat pada antibiotik gentamicin terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* belum terbentuk dikarenakan aktivitas enzim pada suhu 25°C waktu 12 jam belum meningkat dan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk terbentuknya diameter zona hambat. Waktu inkubasi 24 dan 48 jam diameter zona hambat terbentuk dan berpigmen. Hasil rata-rata inkubasi pada suhu 25°C selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam yaitu >20 mm

Pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa kondisi pengujian memiliki pengaruh yang signifikan terhadap ketepatan data yang diperoleh. Ketepatan data diameter zona hambat ini menurun saat suhu menurun dan waktu inkubasi meningkat sehingga pengukuran diameter zona hambat terganggu. Suhu sangat mempengaruhi aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi, semakin meningkatnya suhu aktifitas enzim semakin aktif. Aktivitas enzim meningkat pada kecepatan mencapai optimum. Peningkatan suhu melebihi suhu optimum menyebabkan lemahnya ikatan didalam enzim.

Perhitungan secara statistik menggunakan uji Kruskal wallis pada suhu 37°C dan 25°C yang diinkubasi selama 12 jam, 24 jam, 48 jam didapatkan nilai $P= 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan antara diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah diinkubasi pada suhu 37°C dan suhu 25°C.

Pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa kondisi pengujian memiliki pengaruh yang signifikan terhadap ketepatan data yang diperoleh. Ketepatan data diameter zona hambat ini menurun saat suhu menurun dan waktu inkubasi meningkat sehingga pengukuran diameter zona hambat

terganggu. Suhu sangat mempengaruhi aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi, semakin meningkatnya suhu aktifitas enzim semakin aktif. Waktu inkubasi juga mempengaruhi zona hambat antibiotik karena jika inkubasi terlalu lama akan menyebabkan zona hambat terus meningkat sehingga suhu dan waktu inkubasi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian Trianes et al., (2022), menunjukkan hasil rata-rata nilai pengukuran zona hambat diameter bakteri *K. pneumonia* pada media Mueller Hinton diinkubasi pada suhu 37°C, didapatkan hasil yaitu 21 mm pada suhu 25°C, yaitu hasil rata-rata 20 mm yang berarti terdapat perbedaan antara suhu 37°C dan 25°C.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan tentang “Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Diameter Uji Resistensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*” dapat disimpulkan bahwa : pada penelitian ini terdapat pengaruh suhu dan waktu inkubasi terhadap uji resistensi antibiotik pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Bapak Heri Shatriadi CP., M.Kes selaku Rektor Institut Ilmu Kesehatan Dan Teknologi Muhammadiyah Palembang
2. Ibu Zairinayati, S,KM., M.Kes selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Muhammadiyah Palembang Institut Ilmu Kesehatan dan Teknologi Muhammadiyah Palembang
3. Bapak Bastian, S.Si.T., M.Biomed selaku ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Institut Ilmu Kesehatan Dan Teknologi Muhammadiyah Palembang
4. Bapak Aristoteles, S.Kep., M.Kes., Ph.D dan Bapak Bastian, S.Si.T., M.Biomed selaku pembimbing saya
5. Ibu/ bapak selaku penguji saya
6. Para Dosen Dan Staf Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium

Medis Institut Ilmu Kesehatan Dan Teknologi Muhammadiyah Palembang

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

- Adawiyah, L., Diarti, M. W., & Tatontos, E. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Morfologi Bakteri *Neisseria gonorrhoeae*. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes Ri Pangkalpinang*, 7(2), 36. <https://doi.org/10.32922/jkp.v7i2.83>
- Admi, M., Sitorus, A. A., Rinidar, R., Sutriana, A., Rosmaidar, R., & Sugito, S. (2021). 1. The Sensitivity Level Of Gentamicine, Cholramphenicol and Penicillin Inhibiting The Growth Of *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteria Isolate From Aceh Bull Prepunce. *Jurnal Medika Veterinaria*, 15(1), 1-6. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v15i1.20856>
- Amin, N. F., Garancang, S., & Abunawas, K. (2023). Konsep Umum Populasi dan Sampel dalam Penelitian. *Jurnal Pilar*, 14(1), 15-31.
- Arimbawa, P. E., Santika, I. W. M., Farmasi, J., Matematika, F., Alam, P., & Udayana, U. (2019). Pengaruh Suhu Terhadap Potensi Antibiotika Cefotaxime Multiple Dose Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* Program Studi Farmasi Klinis , Institut Ilmu Kesehatan Medika Persada Bali Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penye. 3(April).
- Artha, D., Kadek, I., & Dwipayana, A. (2020). Gambaran Hasil Peningkatan Kadar Hemoglobin Pada Pasien Anemia Yang Ditransfusi Dengan Packed Red Cell Dan Whole Blood Di Rsud Kabupaten Polewali Mandar. *Jurnal Media Laboran*, 10(2), 22-27. <https://uit.e-journal.id/MedLab/article/view/1181>
- Baron, S., Larvor, E., Jouy, E., Kempf, I., Le Bouquin, S., Chauvin, C., Boitard, P. M., Jamin, M., Le Breton, A., Thuillier, B., & Smith, P. (2021). Agreement between the categorization of isolates of *Aeromonas salmonicida* and *Yersinia ruckeri* by disc diffusion and MIC tests performed at 22°C. *Journal of Fish Diseases*, 44(7), 979-985. <https://doi.org/10.1111/jfd.13356>
- Chinemerem Nwobodo, D., Ugwu, M. C., Oliseloke Anie, C., Al-Ouqaili, M. T. S., Chinedu Ikem, J., Victor Chigozie, U., & Saki, M. (2022). Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(9), 1-10.

- <https://doi.org/10.1002/jcla.24655>
- Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (United Kingdom)*, 166(1), 30-33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
- Fabian, P., Alimsardjono, L., & Indiasuti, D. N. (2020). Pola resistensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii* pada spesimen darah terhadap antibiotik golongan β -laktam dan aminoglikosida di Rumah Sakit DR. Soetomo periode Januari 2016 - Desember 2016. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 20(1), 31-36. <https://doi.org/10.24815/jks.v20i1.18296>
- Fadhli, H., & Kusdiyantini, Endang, N. (2019). Karakterisasi morfologi , biokimia , dan uji enzimatis isolat khamir buah apel (*malus domestica* Borkh .) yang berpotensi menghasilkan bioetanol morphological , biochemical and enzymatic characterization of yeast isolates from apple. *Biologi Tropika*, 2(2), 62-73. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jbt/article/view/6583/3438>
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101-108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*, 11(4), 1-26. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>
- Istini, I. (2020). Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 41. <https://doi.org/10.22146/ijl.v2i3.57424>
- Jauhari, Supriyadi, Asih, S. W., Kurniawati, D., & Abdi, E. (2020). Upaya peningkatan kemampuan penelitian dan penulisan artikel ilmiah bagi perawat. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(2), 66-74.\
- Joegijantoro, Rudy. (2019) Penyakit Infeksi. Malang hlm 1-15
- Kartikasari, A. M., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E., Damayanti, R., Fikri, F., & Praja, R. N. (2019). Isolation And Identification Of *Escherichia Coli* As Bacterial Contamination In Broiler Chicken Meat In Poultry Slaughterhouse Lamongan District. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 66-71. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.66-71>
- Kim, C., Alrefaei, R., Bushlaibi, M., Ndegwa, E., Kaseloo, P., & Wynn, C. (2019). Influence of growth temperature on thermal tolerance of leading

- foodborne pathogens. *Food Science and Nutrition*, 7(12), 4027-4036. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1268>
- Konoralma, K. (2019). Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Umum Gmim Pancaran Kasih Manado. *Jurnal Kesmas*, 8(1), 23-35.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Alga *Turbinaria Ornata* (Turner) J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 351. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29301>
- Kurniawati, L., Kusdiyantini, E., & Wijanarka, W. (2021). Pengaruh Variasi Suhu Dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Dari Bakteri *Serratia marcescens*. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 23(1), 33-42. <https://doi.org/10.14710/bioma.23.1.33-42>
- Kusmawijaya, V., & Yanti, L. A. (2023). *Comparison of Bacterial Pattern in Trachea and Tracheal Stoma with the Incidence of Tracheal Stoma Infection at Mohammad Hoesin Central Hospital Palembang*. 10(1), 38-43.
- Li, X., Gu, N., Huang, T. Y., Zhong, F., & Peng, G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1114199>
- Linda, T. M., Ningsih, M. D. S., Fibriarti, B. L., Andini, S., & Futra, D. (2021). Aktivitas Urease dan Pembentukan Kalsium Karbonat oleh Bakteri Ureolitik. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), 139-143. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n1.p139-143>
- Mardlotillah, H. F., Hidayat, T., & Krisbianto, A. D. (2021). Desain Workstation Pengambilan sampel darah untuk laboratorium rumah sakit A-B. *Buku*, 10(1), 9-15. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v10i1.61188>
- Martsiningsih, M., Suyana, A., Rahmawati, U., & Sujono, F. (2023). Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Diameter Zona Hambat Antibiotik Pada Uji Sensitivitas Bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Ejournal.Poltekkes-Denpasar.Ac.Id*, 11(1), 2338-1159. <https://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/M/article/view/2361>
- Nainggolan, N. P. S., Widayati, R., Mutiasari, D., Raya, P., Raya, P., & Raya, P. (2021). LITERATUR REVIEW : Efektifitas Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L .) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Program Studi Pendidikan Dokter , Fakultas Kedokteran Universitas Palangka Departemen Biokimia dan Biomolekul.

Jurnal Kedokteran Vol.IX No. 1, April 2021, IX(1), 1275-1286.

- Novitasari, T. M., Rohmi, R., & Inayati, N. (2019). Potensi Ikan Teri Jengki (*Stolephorus indicus*) Sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i1.119>
- Nufus, L. S., & Pertiwi, D. (2019). Tingkat Pengetahuan Masyarakat Terhadap Penggunaan Antibiotik (Amoxicilin) Berdasarkan Usia Di Dusun Karang Panas. *Jurnal Keperawatan*, 54-62. <https://e-journal.lppmdianhusada.ac.id/index.php/jk/article/view/92>
- Nurfadilah, R. (2020). *Uji Kepekaan Antibiotik Terhadap Isolat Bakteri Pseudomonas Aeruginosa Dari Luka Operasi: Literatur Review*. 39. <http://repository.lp4mstikeskhg.org/54/>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Penerapan, P., Operasional, S., Dan, P., Artha, S., & Intan, R. (2021). Pengaruh Penerapan Standar Operasional Prosedur Dan Kompetensi Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan Divisi Ekspor Pt. Dua Kuda Indonesia. *Jurnal Ilmiah M-Progress*, 11(1), 38-47. <https://doi.org/10.35968/m-pu.v11i1.600>
- Prayoga, A., Bastian, B., & Aristoteles, A. (2023). Perbedaan Jumlah Koloni Jamur Candida Albicans Pada Media Sabouraud Dextrose Agar (Sda) Dan Media Modifikasi Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* lamk). *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 4(1), 78-86. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v4i1.142>
- Putri, P. K. P. D., & Yustiantara, I. P. S. (2023). Review: Efektivitas Sterilisasi Dengan Ozon (O3) Pada Peralatan Laboratorium Sebagai Upaya Penjaminan Kualitas Dan Mutu. *Journal Scientific Of Mandalika (Jsm) E-Issn 2745-5955 | p-ISSN 2809-0543*, 4(5), 62-70. <https://doi.org/10.36312/10.36312/vol4iss5pp62-70>
- Rifai, K. R. (2021). Uji Indole sebagai Kegiatan Penjaminan Mutu Tambahan pada Hasil Pengujian Coliform dalam Sampel Air Mineral. *Jurnal Teknologi Proses Dan Inovasi Industri*, 6(1), 1-6.
- Saputra, I. P. G. S., Iswari, I. S., & Pinatih, K. J. P. (2021). Prevalensi Dan Pola Kepekaan Multidrug Resistance *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Antibiotika Pada Pasien Pneumonia Di Rsup Sanglah. *E-Jurnal Medika Udayana*, 10(12), 89. <https://doi.org/10.24843/mu.2021.v10.i12.p15>

- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105-114. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2022.007.02.5>
- Trianes, J., Bastian, B., & Hartati, D. (2022). Differences in Diameter of the Growth Inhibition Zone of *Klebsiella pneumonia* Bacteria After Incubation at 37°C and 25°C. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 4(2), 120-127. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v4i2.2919>
- Wulandari, D. (2019). Bioteknologi & Biosains Indonesia Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik Pada Umbi Colocasia Esculenta L. Secara Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler Morphological, Biochemical, and Molecular Identification and Characterization of Amylolytic Bact. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Yanti, F., & Rosmania. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86. <http://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index>
- Yosias Beslar, S., Norma Ethica, S., Srikandi Fitria, M., & Rahman Ernanto, A. (2022). Deteksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Isolat Pus Luka Berbasis Polymerase Chain Reaction dengan Target Gen Penkode Flagelin fliC. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 5, 1-13. <https://prosiding.unimus.ac.id>
- Zamilah, M., Ruhimat, U., & Setiawan, D. (2020). Media Alternatif Kacang Tanah Untuk Pertumbuhan Bakteri. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 1(1), 57-65. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.11>

UJI DIAGNOSTIK LINE PROBE ASSAY DENGAN LOWENSTEIN JENSEN LINI DUA PADA PASIEN *Mycobacterium tuberculosis* RIFAMPICIN RESISTEN

Titi Yuliana¹ · Nurhidayanti^{2*} · Bastian³ · Regy Andrean Sesta⁴

^{1,2,3,4} Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas sains dan Teknologi, IkesT Muhammadiyah Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia

e-Mail: nuri89_yanti@yahoo.com

No Tlp WA : 08112648222

Abstract

Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) or MDR TB is drug-resistant TB to at least 2 (two) of the most potent anti-TB drugs, namely INH and Rifampicin together or accompanied by resistance to other first-line anti-TB drugs such as ethambutol, streptomycin and pyrazinamide. Molecular techniques have been developed by WHO for rapid detection of MDR-TB is essential for timely initiation of treatment. To determine the difference between the Line Probe Assay and second-line Lowenstein Jensen diagnostic tests in rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis patients. Cross Sectional. The research was conducted at BBLK Palembang from January to March 2023 with a total sample of 38 samples. The results showed that the Genotype MTBDRsl ver 2.0 with Lowenstein Jensen as the Gold Standard was 100% sensitivity, 100% specificity, 100% PPV, 100% NPV, and 100% accuracy. Data analysis using the Line Probe Assay method showed no difference between the Lowenstein Jensen method as the gold standard and Asymp. Sig. (2-tailed) that is equal to 1,000. Two-line MDR TB resistance Line Probe Assay method is as good as the Lowenstein Jensen method.

Keywords : Line 2 MDR TB resistance, Line Probe Assay, Lowenstein Jensen

Abstrak

Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) atau TBC MDR adalah TBC resisten Obat terhadap minimal 2 (dua) obat anti TBC yang paling poten yaitu INH dan Rifampisin secara bersama-sama atau disertai resisten terhadap obat anti TBC lini pertama lainnya seperti etambutol, streptomisin dan pirazinamid. Teknik molekular sudah dikembangkan WHO untuk diagnosa cepat TB-MDR yaitu Gen expert dan Line Probe. Deteksi yang akurat dan cepat TB-MDR sangat penting untuk memulai pengobatan yang tepat waktu. Untuk mengetahui perbedaan antara uji diagnostic Line Probe Assay dan Lowenstein Jensen lini dua pada pasien Mycobacterium tuberculosis rifampicin resisten. Penelitian ini dilakukan di BBLK Palembang pada bulan Januari - Maret 2023. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode cross sectional dengan desain post-test only control grup design antara hasil uji antibiotik Mycobacterium tuberculosis lini dua antara metode Line probe Assay dengan Lowenstein Jensen. Hasil penelitian menunjukkan Genotype MTBDRsl ver 2.0 dengan Lowenstein Jensen sebagai Gold Standar adalah sensitivitas 100%, Spesifisitas 100%, PPV 100%, NPV 100%, dan Accuracy 100%. Analisis data metode Line Probe Assay menunjukkan tidak ada perbedaan dengan metode Lowenstein Jensen sebagai gold standar dengan Asymp. Sig. (2-tailed) yaitu sebesar 1,000. Resistensi TB MDR Lini Dua metode Line Probe Assay sama baiknya dengan metode Lowenstein Jensen.

Kata Kunci : Resistensi TB MDR lini 2 , Line Probe Assay, Lowenstein Jensen

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang merupakan penyebab utama kesehatan yang buruk dan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Sampai pandemi virus corona (COVID-19), TB adalah penyebab utama kematian dari

agen infeksi tunggal, peringkat di atas HIV/ AIDS. TBC disebabkan oleh basil *Mycobacterium tuberculosis*, yang menyebar ketika orang yang sakit TBC mengeluarkan bakteri ke udara (misalnya melalui batuk). Penyakit ini biasanya mempengaruhi paru-paru (TB paru) tetapi dapat mempengaruhi tempat lain. Kebanyakan orang (sekitar 90%) yang mengembangkan penyakit ini adalah orang dewasa, dengan lebih banyak kasus di antara pria dari pada wanita. Sekitar seperempat dari populasi dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis* (WHO, 2021).

Pada tahun 2020 kasus TB terbanyak berada di wilayah WHO Asia Tenggara (43%), Afrika (25%) dan Pasifik Barat (18%), dengan bagian yang lebih kecil di Mediterania Timur (8,3%), Amerika (3,0%) dan Eropa (2,3%). 30 negara dengan beban TB tinggi menyumbang 86% dari semua perkiraan kasus insiden di seluruh dunia, dan delapan dari negara ini menyumbang dua pertiga dari total global: India (26%), Cina (8,5%), Indonesia (8,4%), Filipina (6,0%), Pakistan (5,8%), Nigeria (4,6%), Bangladesh (3,6%) dan Afrika Selatan (3,3%) (WHO, 2021).

TB yang resisten terhadap multi-obat (TB-MDR) tetap menjadi krisis kesehatan masyarakat dan ancaman keamanan kesehatan. WHO memperkirakan ada 558.000 kasus baru dengan resistensi terhadap rifampisin - obat lini pertama yang paling efektif di mana 82% memiliki TB-MDR. Dari 558.000 kasus TBC RO tersebut hanya 160.684 yang berhasil ditemukan dan diobati pada tahun 2017. WHO memperkirakan sekitar 190.000 pasien TBC RO akan meninggal karena tidak adanya akses terhadap layanan TBC RO yang efektif. Data surveilans TBC RO di seluruh dunia juga menunjukkan hasil yang kurang memuaskan dalam hal angka keberhasilan pengobatan dengan paduan pengobatan individual, yaitu sekitar 55% (WHO, 2018b).

Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) atau TBC MDR adalah TBC resistan Obat terhadap minimal 2 (dua) obat anti TBC yang paling poten yaitu INH dan Rifampisin secara bersama-sama atau disertai resisten terhadap obat anti TBC lini pertama lainnya seperti etambutol, streptomisin dan pirazinamid (Kemenkes RI, 2019b).

Pada bulan Mei 2016 WHO mengeluarkan rekomendasi penggunaan paduan pengobatan jangka pendek 9-11 bulan untuk tiga kelompok pasien, yaitu: pasien TBC RR atau MDR yang belum pernah diobati dengan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) lini kedua; atau pada pasien yang kemungkinan kecil terjadi resistensi; atau terbukti tidak resisten terhadap fluorokuinolon dan obat injeksi lini kedua (SLID/Second Line

Injectable Drug). Rekomendasi ini berdasarkan pada hasil kajian dari berbagai studi observasional mengenai penggunaan paduan pengobatan jangka pendek di beberapa negara Asia dan Afrika (Bangladesh, Benin, Burkina Faso, Burundi, Kamerun, Afrika Tengah, Kongo, Nigeria, Swaziland, dan Uzbekistan) yang menunjukkan angka keberhasilan pengobatan menggunakan paduan jangka pendek mencapai 84% (95%CI: 79%-87%) dibandingkan dengan angka keberhasilan pengobatan menggunakan paduan pengobatan individual yang hanya mencapai 62% (95%CI: 53%-70%) (Kemenkes RI, 2018).

Teknik molekular sudah dikembangkan WHO untuk diagnosa cepat TB-MDR yaitu Gen expert dan Line Probe. Deteksi yang akurat dan cepat TB-MDR sangat penting untuk memulai pengobatan yang tepat waktu. Line Probe Assay (LPA) adalah tes diagnostik in vitro kualitatif berdasarkan teknologi DNA-STRIP untuk identifikasi kompleks *M. tuberculosis* dan resistensinya terhadap fluorokuinolon, amikasin dan kanamisin. Hain Lifescience, GmbH, Jerman telah meningkatkan sensitivitas Genotipe MTBDRplusVER 2.0 LPA untuk deteksi TB-MDR, dengan kemungkinan menerapkan alat dalam sampel dahak BTA negatif (Yadav et al., 2019).

DST lini dua TB-MDR bisa dilakukan dengan dua cara yaitu, kultur padat Lowenstein Jensen dan kultur cair MGIT. Kultur Lowenstein Jensen melihat resistensi dengan metode proporsi jumlah koloni *M. tuberculosis* pada hari ke 28-42 dibandingkan dengan jumlah koloni tanpa obat, sedangkan kultur cair MGIT melihat resistensi dengan break point angka pertumbuhan > 100 pada hari ke 5-19 (rata-rata 17 hari) dengan obat. Kedua kultur tersebut jauh lebih lambat bila dibandingkan dengan LPA (Maningi et al., 2019).

Pada penelitian sebelumnya dilakukan penelitian menggunakan Gene-Xpert, LPA dengan kultur cair sebagai gold standar dengan hasil Gene-Xpert memiliki karakteristik kinerja diagnostik yang lebih baik daripada Mikroskop AFB tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan LPA (Aricha et al., 2019).

LPA direkomendasikan oleh WHO sebagai alat diagnostik cepat untuk menentukan kerentanan obat *M. Tuberculosis* dalam spesimen smear positif atau pada isolat dari spesimen negatif smear. LPA memiliki akurasi tinggi untuk mendiagnosis TB dan multi drug resistance. Diagnosa TB-MDR lini dua dengan LPA dapat di deteksi dalam waktu 24-48 jam (1-2 hari) jauh lebih cepat bila dibandingkan dengan DST lini dua kultur Lowenstein Jensen (Yadav et al., 2019).

Saat ini belum ada data yang cukup tentang efektivitas klinis tes ini di berbagai negara dan kurangnya bukti tentang minimalisasi biaya dalam diagnosis dan pengobatan TB-MDR karena menggunakan teknik LPA ini. Diagnosis yang tepat dalam waktu yang singkat dapat meminimalkan waktu pengobatan TB-MDR dengan menggunakan Shorter Therapy Regimen (STR) 9-11 bulan (Kemenkes RI, 2019a).

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul Uji Diagnostik Line Probe assay dengan Lowenstein Jensen Lini Dua pada Pasien *Mycobacterium tuberculosis* Rifampicin Resisten.

BAHAN DAN METODE

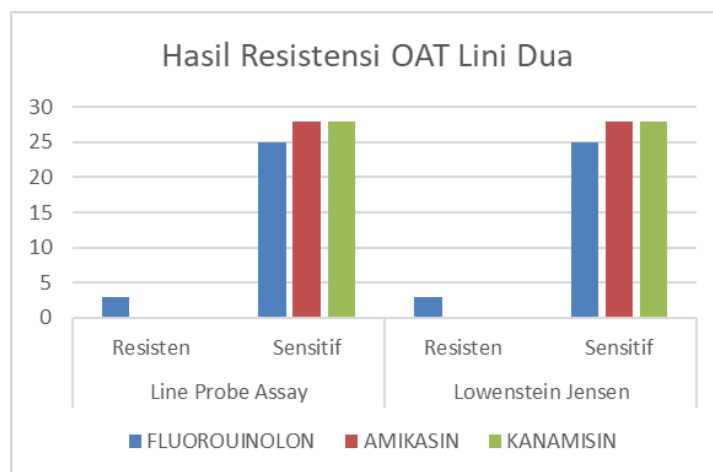
Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode cross sectional. (Syapitri et al., 2021). Kriteria inklusi terdiri atas *Mycobacterium tuberculosis* BTA positif, Spesimen *Mycobacterium tuberculosis* Rimpaficin Resisten, *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten yang tumbuh di media Lowenstein Jensen, Pertumbuhan koloni > 5 koloni Sedangkan kriteria eksklusi ialah Pot atau wadah Sputum tidak steril, pecah, rusak atau bocor, specimen non sputum, specimen tanpa permohonan pemeriksaan atau tidak menggunakan formular TB 04. (Joyce et al., 2021)

Populasi penelitian menggunakan seluruh specimen sputum *Mycobacterium tuberculosis* yang diterima BBLK Palembang bulan Januari 2023 dengan Teknik purposive sampling.

Data dalam penelitian uji diagnostik dimana test uji berskala data nominal 2 kategori maka hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabulasi silang 2 (dr.Hardisman, MHID., 2021).

HASIL

Hasil uji kepekaan fluorokuinolon, amikasin dan kanamisin pada *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten menggunakan Line Probe Assay dan Lowenstein jensen dari 28 sampel dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Hasil Resistensi OAT Lini Dua

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan hasil frekuensi *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten terhadap OAT lini dua fluorokuinolon sebanyak 3(10,7%) sampel resisten sedangkan yang sensitif sebanyak 25(89,3%) sampel. Sedangkan pada OAT Second Line Lini Dua semua menunjukkan hasil sensitive. Berdasarkan pemeriksaan GenoType MTBDRsl ver 2.0 dan DST didapatkan hasil dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten dapat dihitung Sensitivitas, Spesifisitas, Positive Predictive Value, Negative Predictive Value Dan Accuracy sebagai berikut:

Line Probe Assay	Lowenstein Jensen			Sensitivitas	Spesifisitas	PPV	NPV
	Sensitif	Resisten	Total				
Sensitif	25	0	25	100	100	100	100
Resisten	0	3	3				
Total	25	3	28				

Berdasarkan gambar 2 didapatkan hasil dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten performans LPA genotype MTBDRsl ver 2.0 dengan DST terhadap resistensi OAT lini dua di dapatkan sensitivitas 100% , spesifisitas 100% , PPV 100%, NPV 100% dan accuracy 100%.

DISKUSI

Berdasarkan penelitian ini dari 28 sampel *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten dilakukan pemeriksaan LPA genotype MTBDRsl ver 2.0 dan dibandingkan dengan pemeriksaan DST masing-masing untuk resistensi fluorokuinolon, second line injeksi (amikasin dan kanamisin) maupun gabungan ketiga OAT lini dua tersebut didapatkan analisa spesifisitas 100%, sensitivitas 100%, PPV 100%, NPV 100% dan accuracy 100.

Gao et al pada tahun 2018 melakukan penelitian genotype MTBDRsl ver. 2.0 dibandingkan dengan DST lini dua dari 353 spesimen TB MDR didapatkan sensitivitas uji MTBDRsl untuk mendeteksi resistensi FQ adalah 80,5% (95% CI: 72,0-87,4%), 80,7% (95% CI: 67,7-89,5%) untuk deteksi resistensi SLID dan 73,5% (95% CI: 53,3-86,5%) untuk resistensi XDR. Sedangkan spesifisitas uji MTBDRsl adalah 100 % (95% CI: 98,5-100,0%) untuk mendeteksi resistensi terhadap FQ 99,3% (95% CI: 97,3-99,9%) untuk resistensi terhadap SLID dan 99,1% (97,3-99,8%) untuk mendeteksi XDR. PPV pada penelitian Gao et al adalah sebesar 100% (95% CI: 95,0-100,0%) untuk FQ dan 95,8% (95% CI: 84,6-99,3%) untuk agen injeksi lini kedua, sedangkan NPV adalah 91,6% (95% CI: 88,2-94,1%) untuk FQ dan 96,4% (95% CI: 93,5-98,1%) untuk lini kedua agen injeksi (Gao et al, 2018).

Hasil penelitian ini sesuai dengan dua studi sebelumnya yang mengevaluasi MTBDRsl versi 2.0 pada 187 orang, termasuk 37 (19,8%) dikonfirmasi kasus TB dengan resistensi terhadap fluorokuinolon dengan pengujian langsung pada sampel dahak yang diproses dibandingkan dengan standar referensi DST berbasis kultur fenotipik, didapatkan sensitivitas dan spesifisitas perkiraan (95% CI) genotype MTBDRsl versi 2.0 adalah 100% (59% hingga 100%) dan 100% (86% hingga 100%) berdasarkan penelitian FIND 2018 dan 97% (83% hingga 100%) dan 98%(93% hingga 100%) berdasarkan penelitian Tagliani 2015 (WHO, 2018).

Berdasarkan penelitian ini dari 28 sampel *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten dilakukan pemeriksaan LPA genotype MTBDRsl ver 2.0 dan dibandingkan dengan pemeriksaan DST masing-masing untuk resistensi fluorokuinolon, second line injeksi (amikasin dan kanamisin) maupun gabungan ketiga OAT lini dua tersebut didapatkan bahwa hasil yang sama pada kedua

metode pemeriksaan ini sehingga resistensi TB MDR Lini Dua metode Line probe Assay bisa digunakan sebagai metode cepat untuk membantu pengobatan.

Batas deteksi LPA adalah 10.000 CFU / ml yaitu sama dengan mikroskop smear, sedangkan kultur adalah 10-100 CFU/ml. Sangat mungkin bahwa LPA telah melewati sampel dengan jumlah basiler rendah. Pasien dengan TB yang resisten terhadap rifampisin atau MDR yang dikonfirmasi, SL-LPA dapat digunakan sebagai tes awal dibandingkan DST berbasis kultur fenotipik, karena lebih cepat untuk mendeteksi resistensi terhadap fluorokuinolon (WHO, 2016).

Line Probe Assay bukan pengganti untuk kultur konvensional dan DST. Kultur mikobakteriologis masih diperlukan untuk spesimen BTA-negatif, sementara konvensional DST masih perlu untuk mengkonfirmasi TB-XDR. Namun, implementasi Line Probe Assay dalam algoritma skrining TB-MDR dapat secara signifikan mengurangi permintaan konvensional kultur dan kapasitas laboratorium DST karena dapat meminimalisasi waktu dan biaya dalam pengobatan TB-MDR (Kemenkes RI, 2018).

Penelitian juga sejalan dengan yang dilakukan oleh Anthwal et al di India dengan isolat sebanyak 207 Tingkat kesesuaian yang tinggi antara 99% sampai 100% (nilai $\bar{y}$: 0,83-1,0). Studi ini menunjukkan keberhasilan integrasi kit yang dikembangkan dengan LPA. Meskipun metode LPA ini tidak memiliki efektivitas dan kualitas yang lebih baik dalam mendeteksi bakteri resisten dengan melihat mutasi (yang terdeteksi oleh probe MUT) jika bakteri resisten mewakili < 5% dari total populasi. Apabila bakteri resisten disimpulkan oleh tidak munculnya pita pada probe WT mungkin akan ada kasus resisten yang terlewatkan, jika populasi resisten kurang dari 95% dari total populasi bakteri. Namun Pemeriksaan metode LPA ini menunjukkan keunggulan dalam efisiensi waktu (Anthwal et al., 2021).

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan jurnal sebelumnya yaitu studi Mchaki et al tahun 2022 yang mengevaluasi MTBDRsl versi 2.0 dengan 357 isolat dengan hasil besarnya Asymp. Sig. (2-tailed) yaitu sebesar 0.853 dengan akurasi 95,2%. Ini juga menunjukkan keunggulan LPA mengenai deteksi dalam membedakan isolat TB yang resisten dan sensitif (Mchaki et al., 2022). Pemeriksaan uji isolat *Mycobacterium tuberculosis* rifampisin resisten

menggunakan Line Probe Assay MTBDRsl Ver 2.0 adalah multiplex PCR dengan deteksi mutasi 4 gen yaitu, *gyrA* dan *gyrB* (resisten fluorokuinolon), *rrs* (resisten amikasin) dan *eis* (resisten kanamisin). DNA yang sudah teramplifikasi kemudian dihibridisasi dengan probe. Jika DNA dan probe berikatan maka akan terbentuk pita yang akan terdeteksi secara visual melalui pembentukan warna. Warna yang terbentuk disebabkan reaksi enzimatis antara streptavidin yang berikatan dengan primer biotinilasi.

Hasil yang sama juga dilakukan oleh Maningi et al tahun 2019 dengan Uji probe garis menunjukkan kesepakatan yang sangat baik ($k = 0,93$) (Manningi et al., 2019)

KESIMPULAN

Sensitifitas Line Probe Assay MTBDRsl Ver 2.0 pada penelitian ini dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* didapatkan sebesar 100%, Spesifisitas Line Probe Assay MTBDRsl Ver 2.0 pada penelitian ini dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* didapatkan sebesar 100% , Positive predictive value Line Probe Assay MTBDRsl Ver 2.0 pada penelitian ini dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* didapatkan sebesar 100% , Negative predictive value Line Probe Assay MTBDRsl Ver 2.0 pada penelitian ini dari 28 isolat *Mycobacterium tuberculosis* didapatkan sebesar 100% , Line probe assay MTBDRsl ver. 2.0 sama baiknya dengan gold standar DST lini dua Lowenstein Jensen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada tim Instalasi Laboratorium TB BBLK Palembang dan semua pihak yang telah berperan dalam penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada kemungkinan terjadi konflik kepentingan pada publikasi artikel ini.

REFRENSI

Anthwal, D., Gupta, R. K., Singhal, R., Bhalla, M., Verma, A. K., Khayyam, K. U., Myneedu, V. P., Sarin, R., Gupta, A., Gupta, N. K., Singh, M., Tyagi,

- J. S., & Haldar, S. (2021). Compatibility of a novel filter paper-based bio-safe sputum transport kit with line probe assay for diagnosing drug-resistant tuberculosis: A single-site evaluation study. *ERJ Open Research*, 7(3), 1-11. <https://doi.org/10.1183/23120541.00137-2021>
- Aricha, S. A., Kingwara, L., Mwirigi, N. W., Chaba, L., Kiptai, T., Wahogo, J., Otwabe, J. S., Onyango, P. O., Karanja, M., Ayieko, C., & Matu, S. W. (2019). Comparison of GeneXpert and line probe assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin-mono resistance at the National Tuberculosis Reference Laboratory, Kenya. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4470-9>
- Barnard M. ed al. (2018). *GenoType MTBDRsl Line Probe Assay Shortens Timeto Diagnosis of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in a High-Throughput Diagnostic Laboratory*. Vol 186, p.
- Bawonte, T. G., Mambo, C. D., & Masengi, A. S. R. (2021). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Tuberculosis Multidrug Resistance (TB MDR). *Jurnal E-Biomedik*, 9(1), 117-125. <https://doi.org/10.35790/ebm.v9i1.31949>
- Deelder, W., Christakoudi, S., Phelan, J., Benavente, E. D., Campino, S., McNERney, R., Palla, L., & Clark, T. G. (2019). Machine Learning Predicts Accurately *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance From Whole Genome Sequencing Data. *Frontiers in Genetics*, 10, 922. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00922>
- Depkes RI. (2009). *Klasifikasi umur menurut kategori*. Ditjen Yankes.
- dr.Hardisman, MHID., P. . (2021). *Penelitian Diagnostik dan Prognostik*. Prenada Media.
- Hidayat, A. A. A. (2014). *Metode penelitian keperawatan dan teknik analisis data* (Nurchasanah (ed.)). Salemba Medika.
- Kemenkes. (2017). *Profil Dinas Kesehatan Kota Surabaya*. Dinas Kesehatan, 163.
- Kemenkes, P. (2020). *Temukan TB Obati Sampai Sembuh Penatalaksanaan Tuberkulosis Resisten Obat di Indonesia*.
- Kemenkes RI. (2019a). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor hk.01.07/menkes/755/2019 Tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberkulosis*. 2, 89.
- Kemenkes RI. (2019b). *Manajemen Terpadu Pengendalian TB Resistan Obat (MTPTRO)*. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Kemenkes RI. (2021). *Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan Mycobacterium tuberculosis complex terhadap Obat Anti Tuberkulosis pada Media Padat dan Media Cair*.

- Kemenkes RI, D. J. P. P. dan P. L. (2018). Petunjuk Teknis Pemeriksaan Line Probe Assay (LPA) Lini 2. 2018(September).
- Kementerian Republik Indonesia. (2020). Pemeriksaan Line Probe Assay (LPA) dua Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mahon, C.R. and Lehman, D. C. (2019). Textbook of Diagnostic Microbiology.
- Maksum, I. P., Suhaili, S., Amalia, R., Kamara, D. S., Rachman, S. D., & Rachman, R. W. (2018). PCR Multipleks untuk Identifikasi Mycobacterium tuberculosis Resisten terhadap Isoniazid dan Rifampisin pada Galur Lokal Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Barat. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(2), 107-118. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i2.7226>
- Maningi, N. E., Malinga, L. A., Antiabong, J. F., Lekalakala, R. M., & Mbelle, N. M. (2019). Comparison of line probe assay to BACTEC MGIT 960 system for susceptibility testing of first and second-line anti-tuberculosis drugs in a referral laboratory in South Africa. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2898-3>
- Mchaki, B. R., Mgaya, F. X., Kunambi, P. P., Hang'ombe, B., Matee, M. I., & Munyeme, M. (2022). Comparative Performance of Line Probe Assay and GeneXpert in the Detection of Rifampicin Monoresistance in a TB-Endemic African Country. *Antibiotics*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111489>
- Muslim, A. S. (2020). Determinan yang mempengaruhi hasil error pada metode pemeriksaan tes cepat molekuler tuberculosis. *Jurnal Bagus*, 02(01), 402-406.
- Rahayu, S. R., Fauzi, L., & Maharani, C. (2021). Kualitas Pelayanan Kesehatan Tuberculosis melalui Quote Tb Light sebagai Upaya “ To End Tb .” *Inovasi Sains Dan Kesehatan*, 3, 49-82.
- Rivani, E., Sabrina, T., & Patricia, V. P. (2019). Perbandingan uji diagnostik GeneXpert MTB/RIF untuk mendeteksi resistensi rifampicin Mycobacterium tuberculosis pada pasien Tb paru di RSUP dr. Moh. Hoesin Palembang. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan : Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 6(1), 23-28. <https://doi.org/10.32539/jkk.v6i1.7236>
- UNAIR, L. (2022). Buku Ajar Tuberculosis Diagnostik Mikrobiologis - Google Books.https://www.google.co.id/books/edition/Buku_Ajar_Tuberculosis_Diagnostik_Mikrob/vkiRDwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1
- Wardani, K. A. (2022). Teori Mikrobiologi (S. Arianto (ed.)). Yayasan Penerbit Muhammad Zaini.

- WHO. (2016). Be Po. *European Respiratory Journal*, 44(1), 23-63.
- WHO. (2018a). Global tuberculosis control report. *The National Medical Journal of India*, 14(3), 189-190.
- WHO. (2018b). TB burden report 2018. In World Health Organization (Vol. 63, Issue 10). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274453>
- WHO. (2021). GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2021.
- Widodo, Devi Etivia Purlinda, A. R. (2022). Dasar-Dasar Mycobacterium Tuberculosis. In Pustaka Rumah C1nta. https://books.google.co.id/books?id=LiiKEAAAQBAJ&newbks=0&printsec=frontcover&pg=PA109&dq=karakteristik+mycobacterium+tuberculosis&hl=id&source=newbks_fb&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Wulandari, C., & Maritska, Z. (2022). Detection of Fluoroquinolone Resistance in Mycobacterium Tuberculosis Isolate Caused By Mutation in the GyrA Gene. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 9(1), 117-122. <https://doi.org/10.32539/jkk.v9i1.16554>
- Yadav, R. N., Singh, B. K., Sharma, S. K., Sharma, R., Soneja, M., Sreenivas, V., Myneedu, V. P., Hanif, M., Kumar, A., Sachdeva, K. S., Paramasivan, C. N., Vollepore, B., Thakur, R., Raizada, N., Arora, S. K., & Sinha, S. (2019). Comparative Evaluation of GenoType MTBDRplus Line Probe Assay with Solid Culture Method in Early Diagnosis of Multidrug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) at a Tertiary Care Centre in India. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072036>
- Zhang, Y., & Yew, W. W. (2022). Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis [State of the art series. Drug-resistant tuberculosis. Edited by C-Y. Chiang. Number 1 in the series]. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 13, 1320-1330.

DETEKSI GEN *nuc* PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* DARI PASIEN ULKUS DIABETIKUM DAN POLA SENSITIVITASNYA TERHADAP ANTIBIOTIK DI RSUD DR. WAHIDIN SUDIRO HUSODO MOJOKERTO

Siti Nur Azizah¹ · Amellya Octifani² · Yulianto Ade Prasetya³

^{1,2,3} D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia

e-Mail: amellya.octifani@uam.ac.id

No Tlp WA: 082257249206

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by increased blood sugar and caused by disruption of the insulin hormone. One of the complications of diabetes that is often encountered is diabetic ulcers and is caused by Staphylococcus aureus bacteria. The purpose of this study was to determine the prevalence of the nuc gene and antibiotic sensitivity patterns in S. aureus causing diabetic ulcers which were identified molecularly from DM patients at Dr. Wahidin Sudiro Husodo Hospital, Mojokerto in May - July 2024. The method used was polyphasic systematics including conventional identification, PCR, and antibiotic sensitivity testing using the Kirby-Bauer method. Based on the research that has been done, the results of the identification of the nuc gene of Staphylococcus aureus bacteria causing diabetic ulcers at Dr. Wahidin Sudiro Husodo Hospital, Mojokerto molecularly were 4 isolates (57%) from 7 isolates originating from the general surgery clinic polyclinic with an amplicon of 270bp. The results of the antibiotic sensitivity test using the Kirby-Bauer method showed that the most sensitive results were 100% against gentamicin, 100% ampicillin, and 50% chloramphenicol, so it can be used as a therapy for diabetic ulcer patients because it can inhibit the spread of S. aureus bacteria.

Keywords : *Staphylococcus aureus*; diabetic ulcer; *nuc* gene; PCR

Abstrak

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya kenaikan gula darah dan disebabkan oleh terganggunya hormon insulin. Salah satu komplikasi diabetes yang sering dijumpai yaitu ulkus diabetikum dan disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui prevalensi gen *nuc* dan pola sensitivitas antibiotik pada *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum yang diidentifikasi secara molekular dari pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto pada bulan Mei - Juli 2024. Metode yang digunakan yaitu sistematika polifasik antara lain identifikasi konvensional, PCR, dan uji sensitivitas antibiotik dengan metode *Kirby-Bauer*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil identifikasi gen *nuc* bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto secara molekular yaitu 4 isolat (57%) dari 7 isolat yang berasal dari ruangan poli klinik bedah umum dengan ampikon sebesar 270bp. Hasil uji sensitivitas antibiotik metode *Kirby-Bauer* didapatkan hasil sensitif dengan urutan terbesar sebanyak 100% terhadap gentamisin, ampicilin 100%, dan kloramfenikol 50% sehingga dapat dijadikan sebagai terapi pada pasien ulkus diabetikum karena dapat menghambat penyebaran bakteri *S. aureus*.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*; ulkus diabetikum; gen *nuc*; PCR

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya kenaikan gula darah dan disebabkan oleh terganggunya hormon insulin yang

memiliki fungsi untuk menjaga hemostasis tubuh dengan cara menurunkan kadar gula dalam darah (Dewa *et al.*, 2022). Indonesia merupakan negara yang menduduki peringkat keempat dari jumlah penyandang diabetes melitus tertinggi di dunia dan diperkirakan akan meningkat hingga 2-3 kali lipat di tahun 2030 dibandingkan tahun 2000 (Leonita & Muliani, 2015). Salah satu komplikasi diabetes yang sering dijumpai yaitu ulkus diabetikum (Hasdianah, 2021).

Ulkus diabetikum merupakan luka terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan oleh adanya makroangiopati sehingga vaskuler insufisiensi dan neuropati berkembang menjadi infeksi karena masuknya kuman (Setyoningsih *et al.*, 2022). Risiko amputasi terjadi 10-30 kali lebih tinggi pada pasien diabetes dibandingkan dengan populasi umum dan secara global diperkirakan terdapat satu juta pasien mengalami beberapa amputasi ekstremitas bawah setiap tahunnya (Setiawan *et al.*, 2022). Penyebab amputasi tersering pada ulkus diabetikum adalah iskemik (50-70%) dan infeksi (30-50%) (Wibisono *et al.*, 2022). Bakteri Gram positif penyebab ulkus diabetikum paling banyak disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, selain itu juga dapat disebabkan oleh bakteri spesies *Streptococci* group b, *Enterococcus* sp., dan bakteri Gram negatif seperti *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Escherichia coli* (Rizqiyah *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah (Deyno *et al.*, 2017) (Rianti *et al.*, 2022). Bakteri ini mampu menyebabkan ulkus diabetikum dan menduduki peringkat pertama untuk infeksi luka diabetes. Menurut penelitian Naeem *et al.* (2019) prevalensi bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum sebesar 83% (Darmawati, 2019).

Metode sistematika polifasik merupakan sistematika modern yang mengintegrasikan data fenotipik dan genotipik yang terdiri atas sistematika numerik-fenetik, sistematika kimiawi (konvensional), dan sistematika molekular yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme secara akurat (Darmawati, 2019). Sejak penemuan PCR dan sekuensing DNA, perbandingan urutan gen dari spesies bakteri *S. aureus* menghasilkan nuklease termostabil ekstraseluler yang dikode oleh gen *nuc* yang merupakan gen pengkode Tnase (*thermonuclease*) yaitu berupa enzim yang bersifat termostabil atau tahan pada suhu tinggi penanda

spesifik yang berguna untuk mengidentifikasi bakteri *S. aureus* (Sugireng & Rosdarni, 2021).

Identifikasi molekular bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) pada rumah sakit di Indonesia masih jarang dilakukan, termasuk di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto. Di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo belum dilakukan identifikasi molekular bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) yang merupakan standar baku emas dalam identifikasi bakteri. Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian deteksi gen *nuc* bakteri *Staphylococcus aureus* dan uji pola sensitivitas antibiotik pada sampel ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto.

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan yang digunakan adalah media *blood agar plate* (BAP), media *mueller hinton agar* (MHA), media *nutrient agar* (NA), media *triple sugar iron agar* (TSIA), media *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), media *sulfide indol motility* (SIM), media *simmons citrate* (SC), media *mannitol salt agar* (MSA), reagen pewarnaan *crystal violet*, iodine, alkohol 96%, safranin, reagen metil merah, reagen *kovac*, reagen Barrit, reagen H_2O_2 , kertas cakram dan antibiotik (gentamisin, klindamisin, tetrasiklin, ampicilin, kloramfenikol). Reagen PCR yaitu Mastermix dengan merk promega sebanyak 12.5 μ l yang terdiri dari (0.5 U *Taq polymerase*, 0.2mM dNTP, 1.5mM $MgCl_2$, dan *Buffer* 1x), primer spesifik *forward nuc* yang terdiri dari (6.705,4 g/nmol MW, 5.2 OD, dan TM 54.4°C) dengan urutan basa nitrogen yaitu [5'TCAGCAAATGCATCACAACAG-3'], primer *reverse nuc* yang terdiri (6.421,2 g/nmol MW, 4.1 OD, dan TM 54.6°C) dengan urutan basa nitrogen yaitu [5'CGTAAATGCACTTGACAGG-3'], *nuclear for water* (NFW), dan *DNA template*. Reagen elektroforesis berupa 2% *agarosa gel* yang dibuat dengan dicampurkan 0.4 gr *agarosa ultrapure* dengan 1x *TBE Buffer* (Tris Base 242.0 gr ditambahkan asam asetat glasial 57.1 mL dan dilarutkan dengan 0.5 M EDTA pH 8.00), dan *gel green*.

Desain penelitian yang digunakan adalah observatif dengan pendekatan deskriptif kualitatif. Populasi target dari penelitian ini adalah ulkus diabetikum pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto yang dikumpulkan selama dua bulan yaitu bulan Juni-juli 2024.

Isolasi dan Identifikasi Sampel Ulkus Diabetikum Metode Konvensional

Tahap awal dari penelitian ini adalah sampel yang sebelumnya telah diambil menggunakan swab steril dan dimasukkan dalam tabung ulir berisi media transport *nutrient broth* (NB) diinokulasikan pada media *blood agar plate* (BAP). Setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, masing-masing media diperiksa dan dilanjutkan dengan menanam koloni yang tumbuh pada media uji biokimia dan uji resisten. Identifikasi konvensional dari sampel ulkus diabetikum yaitu dengan pewarnaan Gram, karakteristik morfologi, dan uji biokimia seperti uji *triple sugar iron agar* (TSIA), uji *sulfide indol motility* (SIM), uji *simmons citrate* (SC), uji *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), uji katalase, dan uji *mannitol salt agar* (MSA).

Pemurniaan Bakteri dan Panen Sel

Koloni bakteri yang tumbuh pada cawan Petri berisi media BAP di kultur pada media *tryptic soy agar* (TSA) dengan metode gores (*streak plate method*) menggunakan jarum ose lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap koloni murni yang bebas dari hasil pemurnian dipindahkan ke media NA miring untuk mendapatkan isolat bakteri dan dilakukan ekstraksi DNA dengan metode *boiling heat* di mini PCR 16.

Isolasi Genom Bakteri Metode Molekular

1) Ekstraksi DNA Genom Bakteri

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode *boiling heat* di mini PCR 16. Satu ose koloni yang tumbuh disuspensikan dalam 0,1 mL akuadest steril dalam microtube dan diinkubasi dalam mini PCR 16 suhu 99°C selama 5-10 menit untuk melisiskan sel. Sel yang telah lisis kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruang. Supernatan yang terbentuk diambil secara hati-hati sebanyak 15 µl dan digunakan untuk *template* PCR.

2) Amplifikasi Gen *nuc* dengan Teknik PCR

Tabel 1. Primer yang digunakan dan metode dilakukan dengan PCR

Nama Primer	Sekuensi Primer	Gen Target	Amplicon in bp
<i>nuc</i> - F	5'TCAGCAAATGCATCACAAACAG-3'	<i>nuc</i>	270bp
<i>nuc</i> - R	5'CGTAAATGCACTTGCAAGG-3'		

Tahapan amplifikasi gen *nuc* metode PCR yang digunakan yaitu denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit, denaturasi pada suhu 94°C

selama 60 detik, *annealing* pada suhu 53°C selama 50 detik, *extension* pada suhu 72°C selama 70 detik, dan *final extension* pada suhu 72°C selama 10 menit.

3) Visualisasi Produk PCR

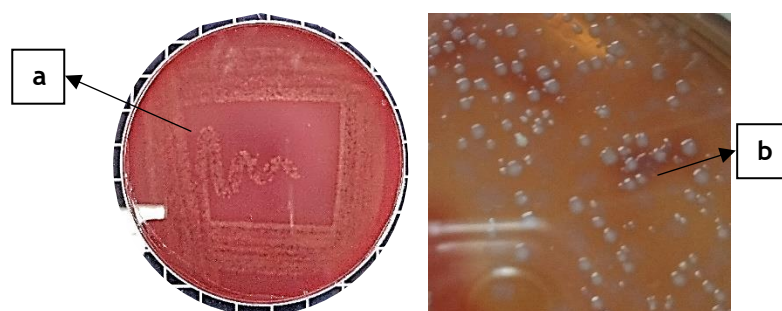
Produk hasil PCR divisualisasikan dengan metode elektroforesis dalam gel agarosa 2%. Gel agarosa ditimbang sebanyak 0.4 gr dan dilarutkan dalam 20 mL 1x TBE *buffer* lalu dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan pewarna *gel green* kemudian dicetak ke dalam cetakan gel lalu dibiarkan hingga mengeras. Jika gel agarosa sudah mengeras, dipindahkan ke dalam alat elektroforesis. Produk PCR sebanyak 5 µl dan marker sebanyak 7 µl dimasukkan ke dalam sumur gel. Marker yang digunakan adalah 1000bp dengan amplikon gen *nuc Staphylococcus aureus* sebesar 270bp. penentuan ukuran fragmen dilakukan dengan cara membandingkan pergerakan fragmen DNA dengan DNA penanda yang telah diketahui ukurannya.

Uji Pola Sensitivitas Antibiotik Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji pola sensitivitas bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram sumuran *Kirby-Bauer*. Isolasi biakan bakteri pada *mueller hinton agar* (MHA) hingga rata memenuhi semua zona media. Kertas cakram yang digunakan yaitu gentamisin 10 µg, klindamisin 2 µg, tetrasiklin 30 µg, ampicilin 10 µg, dan kloramfenikol 30 µg. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur menggunakan penggaris untuk menghitung diameter zona hambat.

HASIL

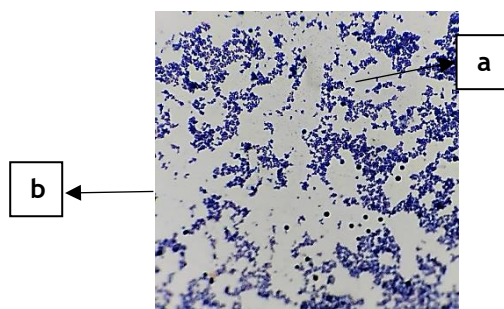
Penelitian telah dilaksanakan pada Juni - Juli 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Anwar Medika. Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada sampel ulkus diabetikum diperoleh sebanyak 10 sampel. Dari 10 sampel dilakukan kultur pada media *blood agar plate* (BAP) dan dihasilkan 15 isolat dengan pertumbuhan koloni penuh yaitu berbentuk bulat, berwarna putih, berukuran kecil, halus, kering, dan dapat menghemolisis media yang ditunjukkan pada (Gambar 1.) dibawah ini:



Gambar 1. Hasil Koloni *Staphylococcus aureus* Pada Kultur Media BAP

a) Beta Hemolisis Pada Media BAP ; b) Koloni Warna Putih, Kecil, Kering

Identifikasi bakteri dilakukan secara mikroskopik dengan pewarnaan Gram dan diperoleh 7 isolat dari 15 isolat Gram positif berbentuk bulat bergerombol, berwarna ungu dengan latar belakang putih ditunjukkan pada (Gambar 2.) sebagai berikut:



Gambar 2. Hasil Mikroskopis Gram *Staphylococcus aureus* Perbesaran 1000x/lp

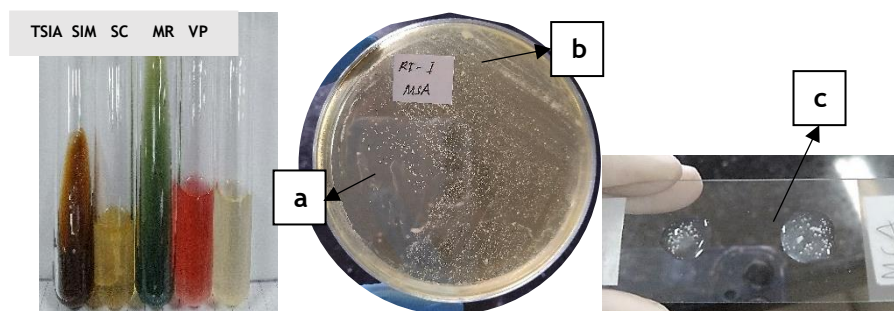
a) Bentuk Bulat Bergerombol dan Warna Sel Ungu ; b) Warna Latar Putih

Pemeriksaan lanjutan dalam identifikasi bakteri adalah reaksi biokimia. Uji konvensional dijadikan sebagai parameter pendukung dalam mengidentifikasi bakteri melalui karakteristik biokimia yang biasa dilakukan diantaranya adalah uji *triple sugar iron agar* (TSIA), uji sulfur, indol, motil (SIM), uji *simmons citrate* (SC), uji katalase, dan uji *mannitol salt agar* (MSA). Dari 7 isolat diperoleh hasil pada Tabel 1. dan Gambar 3. sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik Biokimia *S. aureus* dari Sampel Ulkus Diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

No	Karakteristik Biokimia	Kode Isolat						
		J3a	J4a	J4c	J4d	J6	J8	I1
1	Gram Positif	+	+	+	+	+	+	+
2	Motilitas	-	-	-	-	-	-	-
3	Sitrat	-	-	-	-	-	-	-

No	Karakteristik Biokimia	Kode Isolat						
		J3a	J4a	J4c	J4d	J6	J8	I1
4	Indol	-	-	-	-	-	-	-
5	MR/VP	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
6	TSIA	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
7	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
8	Katalase	+	+	+	+	+	+	+
9	Fermentasi Manitol	+	+	+	+	+	+	+



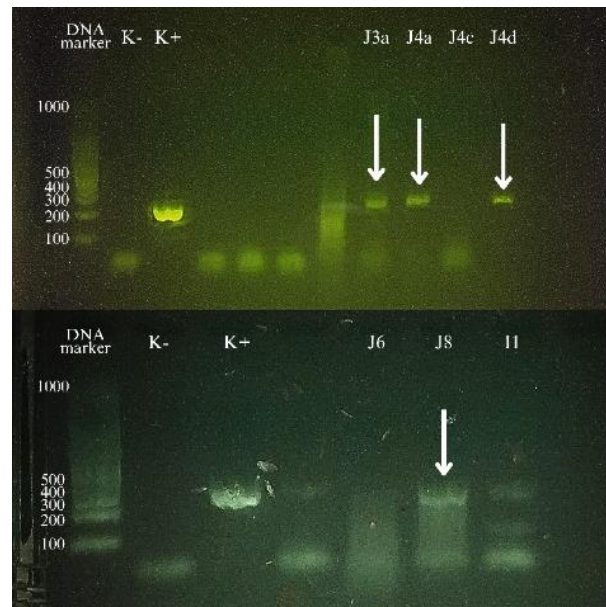
Gambar 3. Hasil Uji Biokimia *Staphylococcus aureus*

- a) Koloni Warna Kuning Keemasan, Kecil, Berlendir ; b) Warna Media Berubah Menjadi Kuning (Fermentasi Mannitol) ; c) Terbentuk Gelembung (+)

Berdasarkan hasil penelitian secara molekular didapatkan hasil prevalensi gen *nuc* bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum sejumlah 4 dari 7 isolat yang dapat dilihat pada (Tabel 2.). Hasil elektroforesis pada (Gambar 4.) menunjukkan isolat urutan J3a, J4a, J4d, dan J8 terdapat pita DNA bakteri sejajar dengan ampikon sebesar 270bp.

Tabel 2. Distribusi Keberadaan *Staphylococcus aureus* di Ruang RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

Ruang RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo	Jumlah Isolat (%)	Jumlah Positif <i>S. aureus</i> (%)	Jumlah Positif Gen <i>nuc</i> (%)
Poli Klinik Bedah Umum (J)	87% (13/15)	86% (6/7)	57% (4/7)
Rawat Inap (I)	13% (2/15)	14% (1/7)	0% (0/7)
TOTAL	100%	100% (7/7)	57% (4/7)



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Gen *nuc Staphylococcus aureus* Besar Amplikon 270bp

Berdasarkan hasil uji antibiotik metode *Kirby-Bauer* dapat dilihat pada Tabel 3. dan Gambar 5. menunjukkan bahwa resistensi bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik klindamisin dan tetrasiklin yaitu 75% (3/4). Sedangkan hasil sensitif spektrum luas terhadap antibiotik gentamisin 100% (4/4), ampisilin 100% (4/4), dan kloramfenikol 50% (2/4).

Tabel 3. Pola Sensitivitas Antibiotik *S. aureus* dari Ulkus Diabetikum Pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

Antibiotik	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Resisten	Intermediet	Sensitif
Gentamisin	0% (0/4)	0% (0/4)	100% (4/4)
Klindamisin	75% (3/4)	25% (1/4)	0% (0/4)
Tetrasiklin	75% (3/4)	0% (0/4)	25% (1/4)
Ampisilin	0% (0/4)	0% (0/4)	100% (4/4)
Kloramfenikol	25% (1/4)	25% (1/4)	50%(2/4)



Gambar 5. Hasil Uji Sensitivitas *S. aureus* Terhadap Antibiotik

DISKUSI

Sampel diambil dengan metode swab steril dari bagian pus yang mengandung protein dari hasil proses inflamasi yang terbentuk dari sel leukosit, cairan jaringan, dan debris seluler (Idris *et al.*, 2020)(Travis *et al.*, 2020).

Media *blood agar plate* (BAP) mengandung glukosa atau karbohidrat yang bersifat *fermentable* sehingga dapat merubah jenis hemolisa yang dihasilkan (Nurhidayanti & Ratna, 2022). Hasil pada kultur 15 isolat dengan pertumbuhan koloni penuh yaitu berbentuk bulat, berwarna putih, berukuran kecil, halus, kering, dan menghemolisis media.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan bakteri Gram positif berbentuk bulat bergerombol, berwarna ungu dengan latar belakang putih (Putu *et al.*, 2022).

Berdasarkan identifikasi karakteristik biokimia hasil yang diperoleh mengarah pada bakteri *S. aureus* memiliki ciri-ciri negatif SC menunjukkan bahwa bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada media sehingga tetap berwarna hijau. Bakteri ini pada media TSIA menghasilkan fermentasi laktosa ditandai dengan warna media permukaan miring asam (kuning), bagian dasar asam (kuning) dan tidak terbentuk gas serta H₂S yang menandakan bahwa bakteri *S. aureus* tidak membentuk hidrogen sulfida. Uji indol bakteri tidak menghasilkan lapisan merah ceri setelah ditambahkan pereaksi *kovac* yang terdiri dari p-dimetilaminobenzaldehida, butanol, dan asam hidroklorida. Indol negatif menunjukkan bahwa substrat triptofan tidak terhidrolisis dalam media agar SIM. Media yang sama juga menunjukkan bahwa *S. aureus* bersifat non motil ditandai dengan tidak adanya pergerakan yang menjalar dari bekas tusukan, hal ini sesuai dengan morfologi bakteri tersebut tidak memiliki flagella. Uji keasaman didapatkan hasil positif setelah ditambahkan indikator metil merah yaitu pH terjadi perubahan dari warna kuning muda menjadi merah. Indikator tersebut yang berperan dalam mendeteksi pembentukan asam dengan konsentrasi tinggi yang dihasilkan bakteri sedangkan uji *voges-preskauer* menunjukkan hasil negatif setelah ditambahkan pereaksi Barrit

yang terdiri atas campuran senyawa alkohol α -naftol dan gugus guanidine dalam pepton sehingga tidak terbentuk warna merah mawar (Lasmini *et al.*, 2022).

Terdapat uji lanjutan biokimia yaitu uji katalase didapatkan hasil terbentuk gelembung udara menandakan bahwa bakteri dapat memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen karena secara alami bakteri menghasilkan metabolisme karbohidrat secara aerobik sehingga ketika ditetaskan reagen H_2O_2 3% akan terbentuk gelembung-gelembung udara. Pada bakteri yang bersifat anaerob fakultatif dilakukan uji *mannitol salt agar* (MSA) didapatkan hasil positif dengan adanya perubahan warna pada media menjadi kuning keemasan menandakan bahwa bakteri dapat memfermentasi mannitol (Filmayanti *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian secara molekular pada Tabel 2. dan Gambar 4. menunjukkan 4 isolat terdapat pita DNA gen *nuc* dengan ampikon sebesar 270p dan 3 isolat tidak terdapat pita DNA gen *nuc* yang disebabkan oleh kondisi penelitian yang tidak optimal untuk metode PCR. Hal ini sejalan dengan penelitian Brakstad *et al.* (2014) bahwa beberapa isolat *S. aureus* yang secara fenotip dapat menunjukkan hasil negatif sehingga terdapat perbedaan urutan nukleotida antar gen *nuc* yang disebabkan oleh beberapa pengobatan atau tidak adanya gen *nuc* pada beberapa strain *S. aureus* sehingga hasil metode PCR yang negatif untuk gen *nuc* tidak dapat membuktikan tidak adanya *S. aureus* di antara isolat klinis. Pemilihan suhu juga dapat mempengaruhi hasil sehingga jika suhu yang digunakan terlalu tinggi maka primer tidak akan menempel sedangkan penggunaan suhu rendah maka primer menempel pada gen lain yang tidak diinginkan (Herman *et al.*, 2017).

Berdasarkan uji antibiotik metode *Kirby-Bauer* pada Tabel 3. dan Gambar 5. menunjukkan bakteri *S. aureus* resistensi terhadap antibiotik klindamisin dan tetrasiklin. Sensitif menghambat terhadap antibiotik gentamisin dan ampicilin. Penelitian Mardiah (2017) bahwa bakteri *S. aureus* bersifat resisten terhadap tetrasiklin sebesar 7,3% dan klindamisin sebesar 4,8% (Purnamasari *et al.*, 2023). Resistensi klindamisin pada *S. aureus* diakibatkan oleh metilasi ribosom yang dipengaruhi oleh gen *erm* (*eritromisin ribosom metilase*) sehingga ribosom akan mengalami perubahan dan mengakibatkan antibiotik golongan *lincomsamides* tidak mengenali target sehingga mengurangi efektivitas dari antibiotik (Abbasi *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan Mardiah (2017) menunjukkan isolat *S. aureus*

bersifat resisten 100% terhadap tetrasiklin. Mekanisme resistensi oleh tetrasiklin yaitu mengembangkan *efflux pump* yang aktif untuk mengeluarkan antibiotik dari sitoplasma lebih cepat daripada kecepatan senyawa tersebut berdifusi masuk menyebabkan konsentrasi senyawa menjadi terlalu rendah sehingga menjadi tidak efektif (Pratiwi, 2017).

Antibiotik gentamisin merupakan salah satu antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki kemampuan untuk mengikat subunit 30S dari ribosom bakteri yang akan menyebabkan kodon mRNA dan kodon *aminoasil*-tRNA tidak cocok sehingga akan terjadi kesalahan pada proses tranlasi protein sehingga sintesis protein pada bakteri terhambat dan bakteri tersebut tidak dapat berkembang biak atau mati (Ahmadian *et al.*, 2021). Kloramfenikol juga dapat dijadikan sebagai pilihan terapi kedua setelah gentamisin (Septiana *et al.*, 2024). Pada penelitian lain tentang gambaran antibiotik pada pasien ulkus diabetikum di RSUD Ulin Banjarmasin yaitu persentase gentamisin 100% diikuti kloramfenikol 75% (Aryzki *et al.*, 2020). Antibiotik kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri. Struktur kloramfenikol memungkinkan untuk berikatan dengan subunit 50S dari ribosom sehingga menghalangi perlekatan asam amino oleh tRNA pada rantai peptide dengan mengganggu daya kerja *peptidyl transferase* dan bakteri tersebut akan mati atau tidak berkembang biak (Abbasi *et al.*, 2019). Ampisilin dapat juga dijadikan pilihan untuk terapi antibiotik tetapi sebagian besar isolat *S. aureus* sensitif dengan ampisilin dan Sebagian besar resisten dengan ampisilin. Beberapa penelitian menunjukkan adanya mutasi terutama pada gen penyandi *penicilin binding protein* sehingga memicu sifat resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik beta-laktam sehingga perlu dipertimbangkan kembali untuk penggunaan antibiotik ampisilin (Putz *et al.*, 2020). Oleh karena itu antibiotik gentamisin dan kloramfenikol memiliki spektrum luas yang tergolong sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga antibiotik tersebut dapat dijadikan sebagai pilihan terapi pengobatan pasien ulkus diabetikum.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan yaitu prevalensi keberadaan *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto secara molekular dari hasil elektroforesis diperoleh pita

DNA positif gen *nuc S. aureus* sebanyak 57% (4/7) ditunjukkan pada amplikon 270bp. Uji kepekaan antibiotik didapatkan hasil resisten terbesar bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik klindamisin 75% (3/4) diikuti dengan tetrasiklin 75% (3/4) dan kloramfenikol 25% (1/4). Sedangkan hasil sensitif dengan urutan terbesar sebanyak 100% (4/4) terhadap genatmisin, ampicilin 100% (4/4), kloramfenikol 50% (2/4), dan tetrasiklin 25% (1/4). Oleh karena itu antibiotik gentamisin, ampicilin, dan kloramfenikol dapat dijadikan sebagai pilihan terapi pengobatan pada pasien ulkus diabetikum.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih Universitas Anwar Medika Sidoarjo, bagian Poli Bedah Umum dan ruang rawat inap Kerta Bumi RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto, dosen pembimbing 1 dan 2 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.

PENDAHULUAN

- Abbasi, A. S., Niaz, S., & Mahjbeen, W. (2019). Commonly Occurring Bacteria in Diabetic Foot Infections and their Sensitivity to various Antibiotics. *Journal of Islamabad Medical & Dental College*, 8(1), 8-12.
- Ahmadian, L., Norouzi Bazgir, Z., Ahanjan, M., Valadan, R., & Goli, H. R. (2021). Role of Aminoglycoside-Modifying Enzymes (AMEs) in Resistance to Aminoglycosides among Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the North of Iran. *BioMed Research International*, 2021(1), 707-734.
- Aryzki, S., Alicia, M., & Rahmah, S. (2020). Gambaran Penggunaan Antibiotik pada Pasien Ulkus Diabetikum di Instalasi Rawat Jalan Penyakit Dalam RSUD Ulin Banjarmasin Periode Juli-Desember 2018. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 265-272.
- Brakstad, O. G., Aasbakk, K., & Maeland, J. A. (2014). Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of The *nuc* Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(7), 1654-1660. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.7.1654-1660.1992>

- Cholifah, N., & Azizah, N. (2016). Hubungan Antara Pola Makan Dan Aktivitas Fisik Dengan Kadar Gds Pada Pasien Diabetes Mellitus (DM) Tipe II Di Puskesmas Mayong II Jepara Tahun 2015. *Jurnal Ilmu Keperawatan Dan Kebidanan*, 7(2), 1-79.
- Darmawati, S. (2019). Sistematisasi Polifasik Untuk Deteksi Keanekaragaman Genetik *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 2(1), 27-33.
- Dewa, I., Eka, A., Astutisari, C., Yuliati Darmini, A. A. A., Ayu, I., & Wulandari, P. (2022). The Correlation Between Physical Activity and Blood Sugar Level in Patient with Type 2 Diabetes Mellitus in Public Health Centre Manggis I. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, 6(2), 79-87. <https://ejournal.itekes-bali.ac.id/jrkn>
- Deyno, S., Fekadu, S., & Astatkie, A. (2017). Resistance of *Staphylococcus aureus* to Antimicrobial Agents in Ethiopia: a meta-analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(1), 1-15.
- Filmayanti, W., Rosdarni, & Umi Nurlila, R. (2022). Deteksi Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Jajanan Makanan Dipasar Basah Mandonga Kota Kendari. *Jurnal MediLab Mandala Waluya*, 6(1), 39-47. <https://doi.org/10.36566/medilab.v5i1%20juli.148>
- Hasdianah, H. R. (2021). Mengenal Diabetes Mellitus Pada Orang Dewasa Dan Anak-Anak Dengan Solusi Herbal. *Yogyakarta: Nuha Medika*.
- Herman, H., Natalya, L. N., Berampu, S. M., & Roslim, D. I. (2017). Optimasi Suhu Annealing Untuk Primer g-Ssr dan Est-Ssr Pada Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *DINAMIKA PERTANIAN*, 33(1), 95-102.
- Hilda, & Berliana. (2015). Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik. *Jurnal Mahakam Husada*, 4(1), 1-71.
- Idris, Palisoa, Z., & Ernawati, A. (2020). *Pola Resistensi Bakteri Pada Ulkus Diabetik*. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>
- Lasmini, T., Saphira, A., Dos Marlina, L. B., & Sherly Margaretta, T. (2022). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Swab Rongga Hidung Penjamah Makanan Di Jalan Durian Kota Pekanbaru. *Prosiding Rapat Kerja Nasional Asosiasi Perguruan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 281-292.
- Leonita, E., & Muliani, A. (2015). Penggunaan Obat Tradisional Oleh Penderita Diabetes Mellitus Dan Faktor-Faktor Yang Berhubungan Di Wilayah Kerja Puskesmas Rejosari Pekanbaru Tahun 2015. *Jurnal Kesehatan Komunitas*, 3(1), 47-52.
- Lestari, Zulkarnain, S., & Asiyah Sijid. (2021). *Diabetes Melitus: Review Etiologi*. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- Mangarengi, Y. (2019). Infeksi Saluran Kemih (ISK) Komplikata Di Rumah Sakit Ibnu Sina Makassar. *UMI Medical Journal*, 4(1), 130-140.

- Mardiah. (2017). Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik Amoxilin, Tetracyclin dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 8(16), 1-6.
- Naeem, F., Anjum, F. R., Arshad, M. A., Bukhari, A. A., Aslam, B., Khan, J. A., & Arshad, M. I. (2019). Isolation and Antibiotic Sensitivity Pattern of Drug Resistant Bacteria in Ulcerative Foot of Type 2 Diabetic Patients. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(4), 1843-1848.
- Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri Secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1-6. www.alimetrics.net
- Nurhidayanti, & Ratna Sari, R. (2022). Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Manusia. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(1), 30-34.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418-429.
- Purnamasari, I., Suwarno, & Tyasningsih, W. (2023). Identification of *Staphylococcus* sp. and Antibiotic Resistance in Tukur District, Pasuruan. *Jurnal Medik Veteriner*, 6(1), 93-104. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol6.iss1.2023.93-104>
- Putu Risky Vidika Apriyanthi, D., Saka Laksmi, A. W., & Putu Widayanti, N. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu. *Jurnal Biologi Makassar*, 7(2), 24-33. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Putz, E. J., Palmer, M. V, Ma, H., Casas, E., Reinhardt, T. A., & Lippolis, J. D. (2020). Characterization of a Persistent, Treatment-Resistant, Novel *Staphylococcus aureus* Infection Causing Chronic Mastitis in a Holstein Dairy Cow. *BMC Veterinary Research Journal*, 16, 1-8.
- Rianti, E. D. D., Tania, P. O. A., & Listyawati, A. F. (2022). Kuat Medan Listrik AC Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 79-88. <https://doi.org/10.26877/bioma.v11i1.9561>
- Rizqiyah, H., Umiana Soleha, T., Hanriko, R., & Apriliana, E. (2020). Pola Bakteri Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Melitus di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek. *Medical Journal of Lampung University*, 9(2), 128-135.
- Saleh, R. H., & Hadi, B. (2019). Bacterial Profile in Patients With Diabetic Foot Infections and its Association With TNF- α . *Plant Archives*, 19(1), 222-228.
- Sanu, E. M., Urias, M., Sanam, E., & Tangkonda, E. (2015). Uji Sensitivitas Antibiotika Terhadap *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi Dari Luka Kulit Anjing di Desa Merbaun, Kecamatan Amarasi Barat Kabupaten Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner Desember*, 3(2), 175-189.

- Septiana, Viona Putri Anjarani, A., & Wahyudi, D. (2024). Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus* Sp. Terhadap Beberapa Antibiotik Pada Ulkus Diabetikum. *Jurnal Politeknik Kesehatan*, 19(1), 91-95. <https://doi.org/10.32382/medkes.v19i1>
- Setiawan, D., Putri, D. A., Yulianti, D. K., & Farihatun, A. (2022). PENGGUNAAN FAKTOR KOREKSI VOLUME PEMERIKSAAN SEDIMEN URINE. *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 1, 91-98.
- Setyoningsih, H., Purno Yudanti, G., Ismah, K., Handayani, Y., & Nurun Nida, H. (2022). Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Diabetes Mellitus Dengan Ulkus Diabetikum Berdasarkan Metode Gyssens di Rumah Sakit Islam Kudus. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 6(2), 257-269. <http://cjp.jurnal.itekescendekiautamakudus.ac.id>
- Sugireng, S., & Rosdarni, R. (2021). Deteksi Gen nuc Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Dari Pasien Ulkus Diabetikum Dengan Metode PCR. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 7(1), 133-136.
- Suhartati, R. (2015). Identifikasi Bakteri Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus* (Orsa) Pada Ulkus Penderita Diabetes Mellitus di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Tasikmalaya. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 11(1), 161-167.
- Travis, J., Malone, M., Malone, M., Malone, M., Hu, H., Baten, A., Johani, K., Johani, K., Huygens, F., Huygens, F., Vickery, K., Benkendorff, K., & Benkendorff, K. (2020). The Microbiome of Diabetic Foot Ulcers: A Comparison of Swab and Tissue Biopsy Wound Sampling Techniques Using 16S rRNA Gene Sequencing. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01843-2>
- Wahyudi, D. A., Susanto, G., Stiexs, A., Wahyudi, M. T., & Sadhana, W. (2023). Hubungan Kadar Glukosa dan Tekanan Darah dengan Kejadian Ulkus Diabetikum pada Pasien DM Tipe 2 di Puskesmas Tiuh Tohou Menggala. *Health Research Journal of Indonesia*, 1(6), 229-236.
- Wibisono, B., Triani, V. M., & Amanah, A. (2022). Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen Pada Pasien Ulkus Diabetikum di RSUD Waled Cirebon. *Indonesian Journal of Biomedicine & Health Sciences*, 1(1), 1. <https://jurnal.ugj.ac.id/index.php/inabhs>

DETEKSI GEN ND3 PADA *Taenia asiatica* PADA SAMPEL FESES DENGAN METODE *Polymerase Chain Reaction* DI PUSKESMAS SUKAWATI I

Hafit Febri Wijaya^{1*} · I.Gusti Agung Ayu Putu Swastini² · Heri Setiyo Bekt³

^{1,2,3} Program Studi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
e-Mail : agungswastini18@gmail.com
No Tlpn WA : 085855603591

Abstract

Background: Sukawati sub-district has a programme for taeniasis. However, challenges remain due to the strong attachment of the community to the tradition of lawar plek consumption. Current diagnosis of taeniasis still uses microscopic methods which have limitations in identification specificity. Therefore, the development of molecular detection methods is important. PCR is a sensitive and specific technique to detect the ND3 gene, which is a specific gene of *Taenia asiatica*, for more accurate diagnosis. **Objective:** to develop a PCR method to detect *Taenia asiatica* in faecal samples. **Methods:** Descriptive research using non-probability sampling technique with saturated sampling technique with a total of 15 samples. Results: On microscopic examination of faeces, all 15 respondents were positive (+) (100%). And molecular examination obtained negative (-) results in 15 respondents (100%). **Conclusion:** From this study it can be concluded that all fecal samples examined were positive for *Taenia* sp parasite eggs and proglotids and in molecular examination all samples showed negative results, no DNA bands appeared at 186 bp.

Keywords: *Taeniasis*, PCR, ND3 Gene

Abstrak

Latar Belakang: Kecamatan Sukawati memiliki program untuk taeniasis. Namun, tantangan tetap ada karena keterikatan yang kuat dari masyarakat terhadap tradisi konsumsi lawar plek. Diagnosis taeniasis saat ini masih menggunakan metode mikroskopis yang memiliki keterbatasan dalam spesifisitas identifikasi. Oleh karena itu, pengembangan metode deteksi molekuler menjadi penting. PCR merupakan teknik yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi gen ND3 yang merupakan gen spesifik *Taenia asiatica*, untuk diagnosis yang lebih akurat. **Tujuan:** mengembangkan metode PCR untuk mendeteksi *Taenia asiatica* pada sampel tinja. **Metode:** Penelitian deskriptif menggunakan teknik non-probability sampling dengan teknik sampling jenuh dengan jumlah sampel sebanyak 15 sampel. **Hasil:** Pada pemeriksaan mikroskopis tinja, seluruh 15 responden positif (+) (100%). Dan pemeriksaan molekuler didapatkan hasil negatif (-) pada 15 responden (100%). **Kesimpulan:** Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semua sampel tinja yang diperiksa positif mengandung telur dan proglotid parasit *Taenia* sp dan pada pemeriksaan molekuler semua sampel menunjukkan hasil negatif, tidak ada pita DNA yang muncul pada 186 bp.

Kata kunci : *Taeniasis*, PCR, Gen ND3

PENDAHULUAN

Taeniasis atau penyakit cacing pita merupakan infeksi parasit disebabkan oleh tiga spesies cacing pita: *Taenia solium*, *Taenia saginata*, dan *Taenia asiatica*. Manusia dapat terinfeksi *T. asiatica* jika memakan jaringan hati babi atau daging babi

yang terinfeksi dan tidak dimasak secara matang sempurna (WHO, 2022). *Taeniasis* merupakan salah satu jenis penyakit *zoonosis* menular strategis di Indonesia. Infeksi cacing pita akan mengeluarkan telur melalui kotoran pembawa cacing pita yang dapat menginfeksi babi. Telur yang telah dikeluarkan dapat ditularkan ke manusia jika tertelan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, sehingga mengakibatkan infeksi parasit larva pada jaringan (*sistiserkosis* manusia) (WHO, 2022).

Saat ini diagnosis standar terhadap *taeniasis* didasarkan pada deteksi telur dengan pengamatan mikroskopis pada sampel feses (Samorek-Pieróg *et.al*, 2018). Dalam proses diagnosis mikroskopis metode yang diterapkan adalah metode morfologi, yaitu dengan mengamati adanya telur dan *proglotid* pada feses penderita. Metode ini memiliki kekurangan dimana kepekaan mikroskopis tidak dapat membedakan morfologi telur atau *proglotid* dari spesies *Taenia* sehingga identifikasi menjadi tidak spesifik. Maka dikembangkan beberapa metode baru dengan tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang lebih baik antara lain metode molekuler. Pengembangan teknik berbasis molekuler yang cepat dan sensitif untuk deteksi adanya infeksi *Taenia asiatica* sangat diperlukan, sehingga nantinya dapat membantu diagnosis terhadap penyakit *Taeniasis* serta membantu dalam pengobatan (Symeonidou, I *et.al*, 2018).

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik atau metode amplifikasi (replikasi) DNA secara enzimatik tanpa melibatkan organisme hidup. Dengan teknik ini, DNA dapat diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat, memudahkan penggunaan berbagai teknik lain yang memerlukan DNA (Iskandar, A.S dkk. 2023). Dalam deteksi ini gen yang dapat digunakan yaitu Gen NADH *dehydrogenase subunit 3* (ND3) merupakan salah satu gen yang dimiliki oleh parasit *Taenia asiatica* dengan kode gene ID: 807590. Gen ND3 merupakan gen dengan tipe protein coding. Gen ND3 ini memiliki persentase indentifikasi 100% terhadap mitochondrial dari parasit *Taenia asiatica* (NCBI, 2022). Kelebihan utama dari PCR adalah tingkat sensitivitasnya yang jauh lebih tinggi daripada mikroskop cahaya, sehingga sangat berguna untuk mendeteksi jumlah parasit yang sangat kecil dalam sampel tinja. Untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifikasinya, gen yang digunakan harus mampu membedakan satu spesies dari yang lain dengan tepat (Iskandar, A.S dkk. 2023).

Tujuan dari penelitian yaitu untuk mengidentifikasi karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin, frekuensi konsumsi lawar plek, tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi oleh responden, *personal hygiene*, tingkat pengetahuan responden, tingkat pendidikan terakhir responden, frekuensi konsumsi obat cacing terakhir, dan jenis obat cacing yang dikonsumsi; Mendesain primer gen ND3 spesifik terhadap parasit *Taenia asiatica* secara *in silico*.; Untuk mengidentifikasi *proglotid* dan telur *Taenia sp* secara mikroskopis pada sampel feses; Untuk menganalisis gen target ND3 terhadap parasit *Taenia asiatica* pada sampel feses secara molekuler dengan menggunakan metode PCR.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Penelitian ini digunakan untuk menggambarkan pemeriksaan *Taenia asiatica* dengan menggunakan PCR. Sampel penelitian adalah feses pasien yang mengkonsumsi lawar plek yang mengalami *taeniasis* di wilayah Puskesmas Sukawati I selama periode 2021-2024. Pengumpulan sampel dilaksanakan di Puskesmas Sukawati I, Kabupaten Gianyar, dan pemeriksaan sampel dilaksanakan di laboratorium terpadu bagian laboratorium biologi sel dan molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar. Teknik pengambilan sampel yang diterapkan adalah menggunakan cara metode *non-probability sampling*, dengan teknik *sampling* jenuh. Total sampel pada penelitian ini yaitu 15 sampel.

Pada tahap pengumpulan sampel, responden melakukan pengambilan sampel feses yang diletakan pada wadah yang sudah diberikan identitas responden dan diberi pengawet *Potasium dikromat* 2,5% (Bekti,H.S, dkk, 2021). Dilanjutkan dengan persiapan sampel, sampel feses dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm untuk memisahkan pengawet dan feses. Kemudian tambahkan aquadest dengan perbandingan 1:1, lakukan centrifugasi kembali dan buang supernatan; Lakukan langkah tersebut sebanyak 3 kali; Sampel siap untuk digunakan (Habibah, N. Dkk. 2021).

Desain primer dengan analisis *in silico* diawali dengan pencarian full genome parasit *Taenia asiatica* dari *genbank* pada website NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). FASTA dari *full genome* yang didapat kemudian

disejajarkan dengan FASTA full genome parasit lain yang memiliki kemiripan tinggi dengan *Taenia asiatica*. Desain primer dibuat dengan sekuen yang memiliki perbedaan. Primer didesain dan dianalisis menggunakan program Primer-BLAST. Spesifisitas primer diperiksa secara *in silico* menggunakan BLAST di laman NCBI. Pengecekan spesifisitas dilakukan dengan mengunjungi(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), menyalin primer ke kolom 'use my own forward/reverse primer', dan mengklik 'Get primer'. Setelah mendapatkan sekuens yang diinginkan kemudian dilakukan analisis pada website Benchling (<https://www.benchling.com/>) pada perangkat lunak ini berfungsi untuk merancang primer (Melati,R.P, dkk, 2022).

Kemudian dilakukan Ekstraksi Sampel : Ditimbang sebanyak 180 - 220 mg feses dan dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml; Ditambahkan 1 ml inhibitex buffer ke dalam sampel feses; Divorteks selama 1 menit, sampai sampel homogen; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Disiapkan tabung mikrosentrifus 2 ml yang baru dan ditambahkan 25µL proteinase K; Ditambahan 600µL dari langkah no. 4, kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml yang telah terdapat proteinase K; Ditambahkan 600µL buffer AL; Divorteks selama 15 detik; Dilakukan inkubasi pada suhu 70°C, selama 10 menit; Ditambahkan 600µL etanol 96-100 %; Divorteks selama 15 detik; Dipindahkan 600µL, ketabung spin column; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dibuang cairan/filtrat pada tabung; Diulangi sampai lisatnya habis; Dipastikan pada tabung spin column, pada tahap terakhir tidak ada cairan (jika ada, maka dilakukan sentrigase ulang); Dipindahkan top dari tabung spin column, kedalam collecting tube yang baru; Ditambahkan 500µL buffer AW1; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm ; Dibuang cairan/filtrate pada collecting tube; Ditambahkan 500µL buffer AW2; Disentrifus selama 3 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dibuang cairan/filtrate pada collecting tube; Disentrifus selama 3 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dipindahkan top dari tabung spin column, kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml yang baru; Ditambahkan 100µL buffer ATE (yang telah diinkubasi 70°C selama 3menit); Diinkubasi selama 1 menit, pada suhu kamar; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Disimpan supernatant/filtrate yang terdapat pada tabung mikrosentrifus 2 ml (Qiagen, 2010).

Menurut Qiagen, 2010 langkah mix PCR yaitu sebagai berikut : Langkah awal sebelum dilakukan mix PCR yaitu menyiapkan alat dan bahan; kemudian campurkan semua reagen dengan menggunakan ketentuan pada Tabel 1.

Tabel 1. Mix PCR

Reagen	Quantity (µl)	Total Konsentrasi
<i>Taq PCR Master mix</i>	12.5	-
<i>Primer forward</i>	0.5	0,4 µM
<i>Primer reverse</i>	0.5	0.4 µM
RNase-free	9.5	-
Template DNA	2.0	≤1 µg/reaction
Total Volume	25	-

Lakukan *homogenisasi* reagen, dan centrifuge beberapa detik agar larutan yang menempel pada tutup dan dinding eppendorf turun ke bawah. Masukkan ke dalam alat PCR untuk dilakukan tahap amplifikasi. Memasukan sampel ke dalam alat PCR; Pada alat kemudian tekan login, lalu tekan taeniasis, kemudian tekan program overview; Tekan three step, kemudian tekan open template; Atur suhu 95°C selama; 3 menit untuk pre denaturasi; Atur suhu 95°C selama 30 detik untuk denaturasi; Atur suhu 60°C selama 30 detik untuk annealing; Pilih 39 cycles; Atur suhu 72°C selama 1 menit untuk extension; Atur suhu 72°C selama 5 menit untuk final extension; Atur suhu 4°C selama waktu tak terhingga untuk elemetion; Kemudian tunggu sampel running.

Pembuatan gel agarose : Tentukan konsentrasi atau persentase agarose yang dibutuhkan, dan hal ini tergantung dari ukuran fragmen DNA yang dianalisis. Konsentrasi gel yang digunakan yaitu 2% dalam volume 200 ml 1 x buffer TAE, maka jumlah agarose yang akan ditimbang yaitu 4 gram; Masukkan 4 gram agarose ke dalam erlenmeyer dan tambahkan larutan 1 x buffer TAE sampai volume 200 ml, homogenkan sampai rata; Panaskan diatas hotplate sampai larutan menjadi jernih; Dinginkan agarose kira-kira sampai 60°C dan tambahkan 5ul ethidium bromide dan homogenkan hingga merata; Setelah itu larutan dituang ke dalam tray dan pasang *well-forming combs*, tunggu 30 menit atau sampai gel mengeras. Lepas *well-forming combs* secara perlahan-lahan dan gel agarose siap digunakan untuk elektroforesis (Irianto, 2017).

Selanjutnya proses *elektroforesis* : Letakkan tray yang berisi agarose di dalam tank elektroforesis dan tuang larutan 1 x buffer TAE ke dalam tank tersebut hingga sekitar 1 mm di atas permukaan gel; Ambil sampel dengan mikropipet sebanyak kapasitas sumur (*well*) yang biasanya sekitar 4-8 μ l.. Letakkan sampel di atas para film atau plastic cling wrap sebanyak 8 μ dan tambahkan loading dye 2, homogenkan dengan cara *up and down* sebanyak 8 kali, kemudian ambil larutan tersebut dengan mikropipet dan masukkan ke dalam sumur (*well*) pada gel agarose dengan 15 sumur berisi sampel dan 1 sumur berisi marker sebanyak 5 μ ; Setelah sampel dan marker dimasukkan dalam sumur (*well*), tutup tank elektroforesis dan hubungkan arus listrik. Setelah itu proses *elektroforesis* siap dijalankan; volt yang digunakan yaitu sebesar 77 volt selama 90 menit. Setelah selesai, matikan arus listrik kemudian ambil tray dengan menggunakan sarung tangan. Letakan gel pada UV-*transiluminator* kemudian amati pita/band DNA (Irianto, 2017). Amati benaran pita DNA yang muncul pada 186 bp. Hasil pemeriksaan kemudian diolah meliputi tahap-tahap seperti *editing*, *coding*, *entry*, dan tabulasi dan dianalisis secara statistik deskriptif yang juga dikenal sebagai analisis *univariat*

Menurut Nurmala, 2021 persentase sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$P = F/N \times 100\%$$

Keterangan :

P : Persentase

F : Frekuensi jumlah sampel positif

N : Jumlah data/sampel

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik (*ethical approval*) Nomor: DP.04.02/F.XXXII.25/0175/2024 oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

HASIL

1. Karakteristik subyek penelitian

- a. Karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin responden dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Identitas jenis kelamin responden

No	Identitas Jenis Kelamin	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Perempuan	4	26,7
2	Laki-laki	11	73,3
	Total	15	100

b. Karakteristik responden berdasarkan frekuensi konsumsi lawar plek dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Frekuensi konsumsi lawar plek

No	Konsumsi Lawar Plek	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Setiap hari	0	0
2	3 kali dalam 1 minggu	12	80
3	>3 kali dalam 1 minggu	3	20
	Total	15	100

c. Karakteristik responden berdasarkan tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi responden dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Tingkat kematangan daging babi

No	Tingkat Kematangan Daging Babi	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Mentah	0	0
2	Setengah matang	8	53,3
3	Matang sempurna	7	47,6
	Total	15	100

d. Karakteristik responden berdasarkan *personal hygiene* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. *Personal Hygiene* Responden

No	<i>Personal Hygiene</i>	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Baik	15	100
2	Cukup	0	0
3	Kurang	0	0
	Total	15	100

e. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pengetahuan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Tingkat Pengetahuan Responden

No	Tingkat Pengetahuan	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Baik	10	66,7
2	Cukup	3	20
3	Kurang	2	13,3
	Total	15	100

f. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pendidikan terakhir dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Tingkat Pendidikan Responden

No	Tingkat Pendidikan	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	SD/Sederajat	4	26,7
2	SLTP/Sederajat	6	40
3	SLTA/Sederajat	4	26,7
4	Diploma/Strata I	1	6,6
	Total	15	100

g. Karakteristik responden berdasarkan konsumsi obat cacing terakhir dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Konsumsi Obat Cacing Terakhir

No	Konsumsi Obat Cacing Terakhir	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	2 Tahun terakhir	9	60
2	6 Bulan terakhir	3	20
3	1 Bulan terakhir	3	20
	Total	15	100

h. Karakteristik responden berdasarkan jenis konsumsi obat cacing dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Jenis Obat Cacing

No	Jenis Obat	Frekuensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Niklosamid	0	0
2	Prazikuantel	15	100
Total		15	100

2. Desain primer gen nd3 spesifik terhadap parasit *Taenia asiatica* secara *in silico*

Berdasarkan hasil spesifisitas gen ND3 menggunakan blast pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), didapatkan gen ND3 spesifik terhadap mitochondrial parasit *Taenia asiatica* dengan persentase identifikasi 100%. Hasil blast dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Blast Gen ND3

No	Description	Scientific Name	Per. Ident
1	Taenia asiatica mitochondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	100.00%
2	Taenia siatica mitochondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	100.00%
3	Taenia asiatica mitochondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	99.71%
4	Taenia saginata mitochondrion, complete genome	Taenia saginata	94.77%
5	Taenia saginata mitochondrion, complete genome	Taenia saginata	94.77%
6	Taenia madoquae mitochondrial DNA, complete genome, isolate: Tma120	Taenia madoquae	87.90%

Sequence dianalisis pada laman Benchling untuk merancang primer dan didapatkan hasil primer *forward* :Guanin; Adenin; Guanin; Guanin; Timin; Timin; Guanin; Cytosin; Guanin; Aadenin; Timin; Cytosin; Guanin; Timin; Cytosin; Timin; Guanin; Timin; Adenin; Guanin; Timin (GAGGTTGCGATCGTCTGTAGT) sedangkan primer *reverse* :Cytosin; Guanin; Cytosin; Adenin; Timin; Adenin; Guanin; Cytosin; Cytosin; Timin; Cytosin; Timin; Adenin; Adenin; Cytosin; Adenin; Guanin; Cytosin; Cytosin; Adenin (CGCATAGCCTCTAACAGCCA) dengan ukuran produk 186 bp. Primer

tersebut dianalisis kesesuaian dengan syarat-syarat primer yang baik, analisis tersebut dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Analisis Primer

No	Analisis Syarat Primer	Syarat	Primer <i>Forward</i>	Primer <i>Reverse</i>
1	Komplemen	Komplmen dengan gen target	Primer forward komplemen dengan gen target ND3 pada parasit <i>Taenia asiatica</i> .	Primer reverse komplemen dengan gen target ND3 pada parasit <i>Taenia asiatica</i> .
2	Panjang primer	18- 22 bp	21 bp	20 bp
3	Nilai Tm	52-58 °C	56.2 °C	56.3 °C
4	Nilai Ta Rumus : Ta = Tm -5	50 - 65 °C	51.2 °C	51.3 °C
5	GC content	40 - 60%	52.4 %	55.0 %
6	GC clamp	≤3 G's or C's	3	3
7	Repeats nucleutida	≤4	2	2

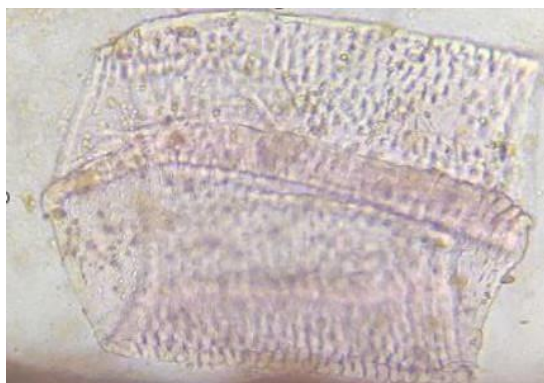
3. Data Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Feses Dan Pemeriksaan Molekuler

a. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses

No	Pemeriksaan Mikroskopis Feses	Frekuensi Sampel (f)	Presentase (%)
1	Negatif (-)	0	0
2	Positif (+)	15	100
	Total	15	100

b. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses ditemukan *proglotid* yang dapat dilihat pada gambar 1.



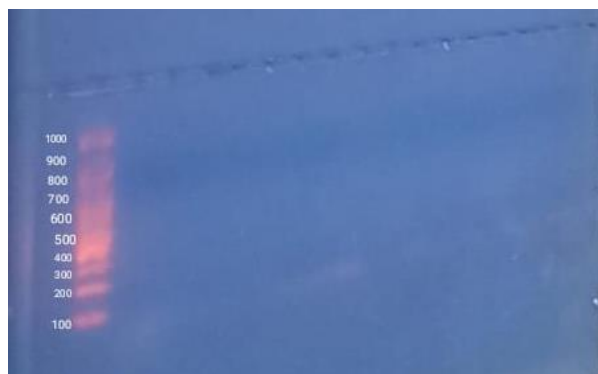
Gambar 1. *Proglotid Taenia sp.*

c. Hasil pemeriksaan molekuler dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil Pemeriksaan Molekuler

No	Pemeriksaan Molekuler (PCR)	Frekuensi Sampel (f)	Presentase (%)
1	Negatif (-)	15	100
2	Positif (+)	0	0
Total		15	100

d. Hasil pemeriksaan molekuler dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Molekuler

DISKUSI

1. Karakteristik subyek penelitian

- a. Karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin diperoleh jumlah laki laki sebanyak 11 responden (73,3%) dan perempuan sebanyak 4 responden (26,7%).

- b. Karakteristik responden berdasarkan frekuensi konsumsi lawar plek. Berdasarkan hasil penelitian, frekuensi konsumsi lawar plek diperoleh jumlah yang paling banyak yaitu responden mengkonsumsi lawar plek sebanyak 3 kali dalam 1 minggu sebanyak 12 responden (80%). Responden yang mengkonsumsi lawar plek >3 kali dalam 1 minggu sebanyak 3 responden (20%) dan responden yang mengkonsumsi lawar plek setiap hari diperoleh 0 responden (0%). Hal tersebut menunjukkan frekuensi konsumsi lawar plek ini merupakan kebiasaan yang paling umum di antara responden. Frekuensi konsumsi lawar plek yang tinggi berisiko menyebabkan *Taeniasis* (Gutama.dkk, 2021). Selain itu kebiasaan konsumsi lawar plek dengan daging babi setengah matang atau mentah merupakan faktor risiko utama terinfeksi *Taenia sp* (Sari, 2022).
- c. Karakteristik responden berdasarkan tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi responden. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi oleh responden yaitu mayoritas responden mengkonsumsi daging babi dengan tingkat kematangan daging babi setengah matang sebanyak 8 responden (53,3%), responden yang mengkonsumsi daging babi dengan tingkat kematangan matang sempurna sebanyak 7 responden (7%) dan responden yang mengkonsumsi daging babi mentah sebanyak 0 responden (0%). Hal tersebut merupakan salah satu faktor masyarakat terinfeksi parasit *Taenia sp*, karena daging yang dikonsumsi tidak dimasak dengan matang sempurna. atau makanan yang terkontaminasi oleh telur *Taenia sp*. Selain itu kebiasaan mengonsumsi daging atau usus hewan mentah atau setengah matang menyebabkan terinfeksi cacing *Taenia sp* (Sari, 2022), (Ouma, et.al 2021).
- d. Karakteristik responden berdasarkan *personal hygiene*. Berdasarkan hasil penelitian, frekuensi *personal hygiene* dari responden hasil diperoleh semua responden mendapatkan hasil baik sebanyak 15 responden (100%); Responden yang mendapatkan hasil cukup sebanyak 0 responden (0%); Responden yang mendapatkan hasil kurang sebanyak 0 responden (0%). Dengan jumlah responden yang mendapatkan nilai 80 sebanyak 3 responden; nilai 90 sebanyak 9 responden: nilai 100 sebanyak 3 responden. Faktor risiko utama penularannya melalui konsumsi daging yang tidak dimasak dengan matang sempurna dan yang terkontaminasi telur cacing pita. Meskipun kebersihan diri yang baik dapat

membantu mencegah infeksi, tetapi jika seseorang mengonsumsi daging yang tidak dimasak dengan baik atau terkontaminasi, mereka masih dapat terinfeksi. Jadi, penting untuk memastikan daging dimasak hingga matang dan menjaga kebersihan makanan secara umum untuk mencegah infeksi taeniasis (CDC, 2013).

- e. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pengetahuan. Berdasarkan hasil penelitian, tingkat pengetahuan dari responden dengan hasil baik sebanyak 10 responden (66,7%); Hasil cukup sebanyak 3 responden (20%); Hasil kurang sebanyak 2 responden (13,3%). Dengan jumlah responden yang mendapatkan nilai 40 sebanyak 2 responden; nilai 60 sebanyak 3 responden: nilai 80 sebanyak 9 responden; nilai 100 sebanyak 1 responden. Tingkat pengetahuan dipengaruhi oleh kurangnya sosialisasi dari pihak terkait tentang oleh tingkat pendidikan individu. Individu yang memiliki tingkat pendidikan yang lebih tinggi cenderung memiliki pengetahuan yang lebih luas karena kemampuan mereka dalam menyerap informasi secara efektif. Selain itu faktor-faktor tersebut mencakup pendidikan, pengalaman pribadi, tradisi, dan budaya (Sylvia Amanda, N. K. 2023). Sejalan dengan tingkat pendidikan akhir dari responden yaitu tingkat pendidikan tamat SD/Sederajat sebanyak 4 responden: Tamat SLTP/Sederajat 6 responden; Tamat SLTA/Sederajat sebanyak 4 responden; Tamat Diploma/Strata I sebanyak 1 responden.
- f. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pendidikan terakhir. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tingkat pendidikan terakhir responden SD/Sederajat sebanyak 4 responden (26,7%); Tingkat pendidikan terakhir responden SLTP/Sederajat sebanyak 6 responden (40%); Tingkat pendidikan terakhir responden SLTA/Sederajat sebanyak 4 responden (26,7%); tingkat pendidikan terakhir responden Diploma/Strata I sebanyak 1 responden (6,6%).
- g. Karakteristik responden berdasarkan konsumsi obat cacing terakhir. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi konsumsi obat cacing terakhir responden mengonsumsi obat cacing 2 tahun terakhir dengan 9 responden (60%); Responden yang mengonsumsi obat cacing 6 bulan terakhir dengan 3 responden (20%); Responden yang mengonsumsi obat cacing 6 bulan terakhir dengan 3 responden (20%). Konsumsi obat secara rutin dan teratur sangat penting untuk mengeluarkan cacing parasit, termasuk cacing pita.

Pengendalian cacing pita sangat bergantung pada konsistensi dalam pemberian obat cacing (Puskesmas Meninting, 2024).

- h. Karakteristik responden berdasarkan jenis konsumsi obat cacing. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi jenis obat cacing yang diminum, semua responden mengkonsumsi jenis obat praziquantel (100%) dan jenis obat niklosamida sebanyak 0 responden (0%). Jenis obat praziquantel merupakan pengobatan utama untuk sebagian besar cacing pita dalam saluran pencernaan, sementara niklosamida menjadi pilihan kedua jika diperlukan. Praziquantel maupun niklosamida adalah obat oral yang umumnya dapat ditoleransi dengan baik dan memiliki efek langsung dalam membunuh parasit cacing. Namun niklosamida tidak tersedia untuk dijual secara komersial (Lloyd., dkk, 2014). Praziquantel dapat membunuh dan menghancurkan cacing pita dewasa yang berada di saluran pencernaan (usus), serta membunuh sistiserkus yang berada di jaringan otot hospes (babi) (Ratna sari, 2022).

2. Desain primer gen nd3 spesifik terhadap parasit *taenia asiatica* secar *In silico*

Dalam desain primer ini gen target yang dipilih yaitu ND3 yang memiliki kode *genebank* 807590 yang spesifik terhadap *Taenia asiatica*. Pada desain primer secara *in silico* ini diawali dengan mencari gen target yang diinginkan dengan mencari kode *genebank* pada laman *website bioinformtika national center of biotechnology information* (NCBI). Analisis spesifitas *sequence* harus diperhatikan agar primer mampu mengenali dan berikatan dengan tepat pada gen target yang diinginkan. Untuk menganalisanya dapat menggunakan BLAST dari NCBI. Dengan menggunakan perangkat lunak ini, sekuens primer yang diusulkan akan dibandingkan dengan *database* sekuens dari berbagai organisme yang tersedia di NCBI. Dari hasil blast yang dilakukan diperoleh hasil sekuens gen spesifik dengan mitochondrial parasit *Taenia asiatica* dengan persentase identifikasi (100%).

Kesesuaian antara primer dan gen dari organisme tertentu akan tercermin dalam persentase identitas. Semakin tinggi nilai persentase ini, semakin spesifik primer terhadap gen yang dituju. Apabila terdapat sekuens yang memiliki spesifitas tinggi untuk mengenali gen selain ND3, maka primer tidak dapat digunakan (Saraswati, dkk. 2019).

3. Data Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Feses Dan Pemeriksaan Molekuler

Penelitian ini memiliki tujuan yaitu untuk mengidentifikasi keberadaan telur cacing atau *proglotid* dari parasit spesies *Taenia* pada sampel feses responden yang mengalami gejala *taeniasis* di Puskesmas Sukawati I periode tahun 2021-2024. Peneliti mengambil sampel ke masing-masing rumah responden. Setelah mengisi data *informed consent* dan kuisioner peneliti menjelaskan tata cara pengambilan sampel. Sampel dilakukan pemeriksaan di laboratorium terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dengan menggunakan metode secara langsung atau *direct test*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dari sampel 15 responden didapatkan hasil positif sebanyak 15 sampel (100 %). Sampel tersebut ditemukan *proglotid Taenia sp.* Yang memiliki ciri-ciri yaitu ukuran sekitar 16-20 x 5-7 mm. Setiap sisi *proglotid* ini memiliki cabang uterus sebanyak 15-30 (Widodo, 2013).

Hasil tersebut sejalan dengan frekuensi konsumsi lawar plek atau daging babi mentah yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat kecamatan Sukawati dan laporan kasus *taeniasis* yang terjadi di puskesmas Sukawati 1. Penularan parasit *Taenia sp* melalui konsumsi daging babi yang terdapat pada makanan lawar plek yang mentah atau makanan yang terkontaminasi oleh telur *Taenia sp.* Mengubah perilaku konsumsi makanan lokal seperti Lawar. Lawar biasanya dikonsumsi di daerah endemik di Bali, terutama di Kabupaten Gianyar (Candra, dkk. 2020).

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengidentifikasi gen ND3 yang dimiliki oleh parasit *Taenia asiatica* pada sampel feses responden yang mengalami *taeniasis*. Setelah dilakukan PCR hasil tersebut dibaca dengan elektroforesis dahulu dan dibaca dengan menggunakan alat gel doc. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa masyarakat rutin dalam mengkonsumsi obat cacing dan dapat mempercepat dalam proses penyembuhan.

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan pada pemeriksaan mikroskopis diperoleh hasil semua sampel responden ditemukan telur dan *proglotid* dari parasit *Taenia sp* sedangkan pada pemeriksaan molekuler didapatkan hasil semua sampel responden negatif (100%) artinya tidak ditemukan gen ND3 pada 186 bp pada sampel feses responden tersebut. Hasil negatif diperoleh karena desain primer secara *in silico* diperoleh gen ND3 spesifik 100% terhadap mitochondrial *Taenia asiatica* dan pada pemeriksaan feses ditemukan telur/*proglotid* dari *Taenia*

sp dalam jumlah yang sedikit sehingga primer tersebut tidak spesifik terhadap telur atau *proglotid* dari *Taenia sp.*

Kelemahan pada penelitian ini yaitu tidak diketahui konsentrasi dari kemurnian DNA yang didapat setelah dilakukan ekstraksi. Syarat mendasar dalam studi molekuler adalah kuantitas (konsentrasi) dan kualitas (kemurnian) DNA yang diperoleh dari ekstraksi. Kedua faktor ini juga memengaruhi hasil amplifikasi DNA melalui PCR (Priyastomo, Dity A, 2023). Untuk memberikan hasil yang optimal jumlah template DNA memiliki jumlah yang sesuai dengan prosedur yang dianjurkan yaitu : DNA genom manusia optimal pada 1 ng-200 ng; cDNA optimal pada 10 ng-100 ng; DNA bakteri optimal pada 10 pg-10 ng; PCR fragment (1 kb DNA) optimal pada 10 fg-1 ng; Plasmid DNA optimal pada 0.1 ng-50 ng (Qiagen, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa mayoritas responden adalah laki-laki (73,3%) dan umumnya mengonsumsi lawar plek sebanyak 3 kali dalam seminggu (80%), serta daging babi setengah matang (53,3%). Semua responden memiliki personal hygiene yang baik (100%) dan tingkat pengetahuan yang baik (66,7%). Sebagian besar responden mengonsumsi obat cacing dalam 2 tahun terakhir (60%), dengan semua responden menggunakan obat prazikuantel (100%). Analisis *in silico* menunjukkan gen ND3 spesifik terhadap mitochondrial *Taenia asiatica* dengan identifikasi 100%. Mikroskopis feses menunjukkan semua sampel positif mengandung *proglotid* atau telur *Taenia sp.*, namun pemeriksaan molekuler untuk gen ND3 menunjukkan semua sampel negatif tidak menghasilkan pita DNA pada 186 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terimakasih kepada bapak/ibu dosen pembimbing yang selalu memberikan saran terhadap penelitian ini, bapak/ibu pranata laboratorium pendidikan laboratorium bakteriologi dan laboratorium biologi molekuler yang membantu memfasilitasi untuk pemeriksaan serta semua pihak yang mendukung penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Bekti, H. S., Habibah, N., Rinawati, L. P., Yasa, N. P. C. D. P., Rindi, O. D. G., Dewi, N. K. A. K., & Rakhmawati, A. (2021). Identifikasi *Taenia solium* secara Mikroskopis pada Peternakan Babi. *Jurnal Kesehatan*, 12(1), 74-82.
- Candra Dewi Pradnya Yasa, N. P., Mastra, N., Nyoman, I., & Jirna, S. K. M. (2020). *Gambaran Kecacingan Taeniasis pada Penduduk di Wilayah Kerja UPT Kesmas Sukawati I* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Denpasar).
- CDC. Prevention and Control, Center For Disease Control and Prevention. [Internet] 2013 [cited 2024 Januari 10]. Available at :<https://www.cdc.gov/parasites/taeniasis/prevent.html>.
- Gutama, L. G. M., Salim, A., Jaya, N. M., Suyasa, I. K., Devinta, M. R. S., & Wahyuniari, I. A. I. (2021). Program Lawar Merah Bebas Cacingan Bagi Masyarakat Desa Adat.
- Habibah, N., Bekti, H. S., Dewi, N. W. R. K., Rinawati, L. P., Burhannuddin, B., & Rakhmawati, A. (2021). Primers application with the Tso31 gene target in the molecular identification of *Taenia solium*. *Muhammadiyah Medical Journal*, 2(1), 35-40.
- Irianto, K. Biologi Molekuler (*Molecular Biology*) Teori-Praktikum-Glosarium, Kesatu. 2017: Bandung: Alfabeta, CV.
- Iskandar, A. S., Safitri, D., Lidya, B., & Setyaningrum, S. (2023). Penentuan Sensitivitas dan Spesifisitas Kit PRIME-CYTO untuk Deteksi Kandungan Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Halal Research Journal*, 3(1), 47-64.
- Lloyd, A. E., Honey, B. L., John, B. M., & Condren, M. (2014). Treatment options and considerations for intestinal helminthic infections. *Journal of Pharmacy Technology*, 30(4), 130-139.
- Melati, R. P., Nurjanah, S., & Rahayu, W. P. (2022). Desain Primer Gen Virulensi invA untuk Identifikasi dan Sekuensing Salmonella pada Sampel Karkas Ayam. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 10(2), 91-97.
- Qiagen. Kit Ekstraksi DNA. Sample and Assay Technologies. 2020.
- NCBI. Gen ND3, [Internet] 2022 [cited 2024 Januari 10]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/807590>
- Nurmala, I. (2021). *Analisis Kepuasan Penumpang Terhadap Rekonstruksi Terminal Check-In Counter Di Bandar Udara Internasional Radin Inten II Lampung* (Doctoral dissertation, STTKD Sekolah Tinggi Teknologi Kerdigantaraan Yogyakarta).
- Ouma, E., Dione, M., Mtimet, N., Lule, P., Colston, A., Adediran, S., & Grace, D. (2021). Demand for *Taenia solium* cysticercosis vaccine: lessons and insights from the pig production and trading nodes of the uganda pig value chain. *Frontiers in veterinary science*, 8, 611166.
- Priyastomo, Dity A, Nena H, Estria Furry P, Romi Zamhir i. (2023). Analisis Konsentrasi serta Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi Rumpot Raja (*Pennisetum purpureoides*) dan Rumpot Gajah (*Pennisetum purpureum*) Menggunakan

- Metode CTAB dan DNAzol. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Balai besar Padi Sukamandi Subang; Pastura vol 12. No 2 : 82-92.
- Qiagen. Taq PCR Handbook. Sample and Assay Technologies. 2010.
- Samorek-Pieróg, M., Karamon, J., & Cencek, T. (2018). Identification and control of sources of infection-the attempts to eradicate the parasite. *Journal of veterinary research*, 62(1), 27-34.
- Saraswati, H., Seprianto, S., & Wahyuni, F. D. (2019). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen cryiii dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(1), 33-38.
- Sari, I. Z. R. (2022). Gambaran Sistiserkosis dan Taeniasis. *Cermin Dunia Kedokteran*, 49(3), 134-137.
- Sylvia Amanda, N. K. (2023). Gambaran Telur Cacing Taenia Sp. Pada Peternak Babi Di Desa Bongan Kabupaten Tabanan (Doctoral Dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wira Medika Bali).
- Symeonidou, I., Arsenopoulos, K., Tzilves, D., Soba, B., Gabriël, S., & Papadopoulos, E. (2018). Human taeniasis/cysticercosis: a potentially emerging parasitic disease in Europe. *Annals of gastroenterology*, 31(4), 406.
- UPT Puskesmas Meninting. Sistem Informasi Pentingnya Minum Obat Cacing Bagi Anak. [Internet] 2024 [cited 2024 April 17]. Available at: <https://puskesmasmeninting-dikes.lombokbaratkab.go.id/artikel/pentingnya-minum-obat-cacing-bagi-anak/>.
- WHO. Taeniasis/Sistiserkosis [Internet] 2022 [cited 2023 November 10]. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>
- Widodo, H. Parasitologi Kedokteran. 2013: Yogyakarta: Kaktus (iPusnas).

POTENSI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI ALTERNATIF PENGGANTI EOSIN PADA PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN

Fitri Nadifah^{1*} · Yuliana Prasetyaningsih² · Nurlaili Farida Muhajir³ ·
Elisabet Della Puspita⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Guna Bangsa Yogyakarta, Indonesia
e-Mail: fitri@gunabangsa.ac.id
No Tlp WA : 0896 0536 7007

Abstract

*The final stage of making tissue preparations is the staining process. Staining is the process of giving color to the tissue that has been cut, in staining tissue preparations usually use Hematoxylin-Eosin (HE) solution. Eosin Y is included in the category of class-3 carcinogenic chemical solutions, carcinogenic is defined as chemicals that can cause cancer. Therefore, synthetic dyes need to be replaced using natural dyes to reduce the problem. One fruit that has potential as an alternative to eosin is mangosteen. The skin of mangosteen fruit has several pigments, one of which is anthocyanin. The purpose of this study is to determine the potential of mangosteen peel extract (*Garcinia mangostana* L.) as an alternative to eosin in coloring mice liver tissue which will be compared with hematoxylin eosin reagent. The research method used is the direct method with a real experimental design (true experimental). The subjects in the study were mice liver tissue sections from the results of the stages of the tissue manufacturing process. Data analysis of the results was done descriptively and presented in the form of tables and narratives. The results of staining of mice liver tissue preparations using a solution of *Garcinia mangostana* L. skin extract with a concentration of 30%, 60% and 90% obtained the results of an assessment of the quality of staining of mice liver tissue that is not good. Liver tissue preparations stained with *Garcinia mangostana* L. peel extract solution at concentrations of 30%, 60% and 90% can color tissue preparations, but the resulting staining quality has a color gradation that is still lacking when compared to staining using eosin.*

Keywords: Extract, Mangosteen Peel, Slide, Tissue

Abstrak

Tahapan paling akhir dari pembuatan sediaan jaringan adalah proses pewarnaan. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong, pada pewarnaan sediaan jaringan biasanya menggunakan larutan Hematoksin-Eosin (HE). Eosin Y termasuk dalam kategori larutan kimia karsinogenik kelas-3, karsinogenik didefinisikan sebagai bahan kimia yang dapat menyebabkan kanker. Oleh karena itu pewarna sintesis perlu diganti menggunakan pewarna alami untuk mengurangi masalah tersebut. Salah satu buah yang berpotensi sebagai alternatif pengganti eosin adalah buah manggis. Kulit dari buah manggis memiliki beberapa pigmen yang salah satunya yaitu antosianin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai alternatif pengganti eosin dalam mewarnai jaringan hepar mencit yang akan dibandingkan dengan reagen hematoksin eosin. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode langsung dengan desain eksperimental nyata (*true eksperimental*). Subjek dalam penelitian adalah preparat jaringan hepar mencit dari hasil tahapan proses pembuatan jaringan. Analisis data hasil dilakukan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan narasi. Hasil pewarnaan preparat jaringan hepar mencit menggunakan larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90% diperoleh hasil penilaian kualitas pewarnaan jaringan hepar mencit yang kurang baik. Preparat jaringan hepar mencit yang diwarnai dengan larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% dapat mewarnai preparat jaringan, namun kualitas pewarnaan yang dihasilkan memiliki gradasi warna yang masih kurang jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan eosin.

Kata kunci : Ekstrak, Kulit Manggis, Preparat, Jaringan

PENDAHULUAN

Selain fiksasi dan pematangan jaringan, proses terpenting dalam pembuatan preparat histologi adalah pewarnaan. Pewarnaan yang umum digunakan untuk pemeriksaan histopatologi adalah Hematoksin-Eosin (HE). Meskipun umum digunakan, namun eosin yang digunakan dalam pewarnaan HE memiliki sejumlah kelemahan, seperti relatif mahal, mengandung senyawa karsinogenik, mudah terbakar, serta sulit larut dalam air dan udara. Selain itu, paparan yang lama oleh eosin dapat menyebabkan iritasi kulit gangguan saluran pencernaan apabila tertelan (Pradeepthi et al., 2023; Sarode et al., 2022). Untuk itu, diperlukan usaha menemukan pewarna alternatif pengganti eosin.

Tanaman yang dapat dijadikan sebagai bahan pewarna alternatif adalah tanaman yang mengandung senyawa warna alami, seperti antosianin. Sejumlah penelitian telah melaporkan penggunaan ekstrak tanaman yang memiliki kandungan antosianin, seperti pada ekstrak kembang sepatu (Nadifah et al., 2024) dan daun jati (Jumardi et al., 2023).

Manggis (*Garcinia mangostana* L) adalah tanaman yang tersebar di berbagai wilayah di Indonesia. Di sisi lain, kulit buah manggis belum banyak yang memanfaatkan. Padahal kulit buah ini mengandung antosianin total 2909,57 µg/g (Li et al., 2023). Ekstrak kulit manggis dilaporkan dapat menggantikan eosin dalam pewarnaan Papanicolaou buccal smear (Mariana dkk., 2023). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai alternatif pewarna alami pengganti eosin pada pewarnaan HE.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK-KMK Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Farmakologi dan Terapi FK KMK Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta pada bulan Juni 2024.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode langsung dengan desain eksperimental nyata (*true eksperimental*). Subyek dalam penelitian adalah perparat jaringan hepar mencit dari hasil tahapan proses pembuatan jaringan. Obyek dalam penelitian ini yaitu ciri-ciri khusus hasil pewarnaan pada preparat jaringan hepar mencit dengan ekstrak kulit manggis.

a) Pembuatan Simplisia

Buah manggis diambil dari petani buah manggis langsung yang telah siap dipanen sebanyak 4 kg. Kulit buah manggis kemudian dicuci dan dikeringkan dengan oven dalam suhu 40°C selama 18 jam. Setelah proses pengeringan selesai kulit manggis dihaluskan menggunakan blender.

b) Ekstraksi

Metode yang digunakan dalam proses ekstraksi ini yaitu menggunakan metode maserasi. Dengan metode maserasi simplisia kulit manggis diekstrak sebanyak 500 gram. Simplisia kulit manggis kemudian ditambahkan dengan 2500 ml pelarut etanol teknis 96%, kemudian dilakukan pengadukan dan didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam setelahnya dilakukan proses penyaringan (diulang sebanyak 3 kali). Filtrat dari hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 50°C dan kecepatan 80 rpm hingga tidak ada pelarut yang menetes dan diperoleh ekstrak kulit manggis yang kental (berupa pasta). Ekstrak kental kemudian ditimbang beratnya (Fauziyah et al., 2022).

c) Uji fitokimia

Proses uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta. Uji fitokimia diawali dengan memasukkan beberapa tetes ekstrak kulit buah manggis ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes natrium hidroksida (NaOH) 10% sehingga terjadi perubahan warna. Selanjutnya, ditambahkan dengan asam klorida (HCl) pekat sebanyak 2 tetes, apabila warna berubah menjadi merah maka menunjukkan adanya antosianin (Asni et al., 2020). Pada uji fitokimia yang telah dilakukan didapatkan hasil uji fitokimia pada ekstrak kulit manggis menunjukkan warna merah.

d) Pengenceran Ekstrak

Ekstrak kulit manggis diencerkan dengan ethanol 96% dengan konsentrasi ekstrak yaitu 30%, 60% dan 90% kemudian ditambahkan dengan larutan HCl 1% sebanyak 2-3 tetes.

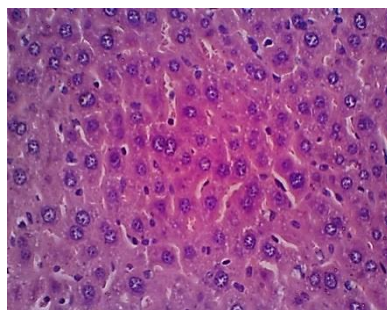
e) Pengecatan dengan larutan HE/ekstrak kulit manggis

Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan. Sediaan direndam di dalam xilene, selama 30 menit, kemudian direndam di dalam alkohol 96% selama 10 menit, alkohol 85% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 1 menit.

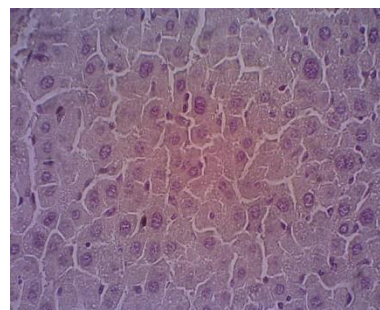
Selanjutnya sediaan direndam di dalam pewarna hematoxylin, 5 menit. Lalu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan tissue. Sediaan direndam di dalam pewarna eosin/ekstrak selama 30 detik. Lalu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan kain pengering atau tissue. Sediaan kemudian direndam lagi ke dalam alkohol 96% selama 2 menit saja dengan pengulangan sebanyak 2 kali. Kemudian direndam di dalam xilene selama 10 menit dengan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Sediaan yang telah dikeringkan dengan tissue disegel dengan menggunakan enteln dan siap diamati menggunakan mikroskop.

HASIL

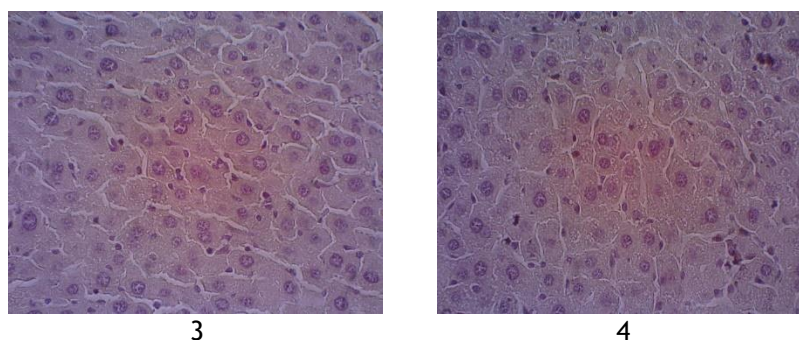
Proses pemanfaatan ekstrak kulit manggis menggunakan metode langsung sebagai pewarna alami pengganti pewarna eosin dilaksanakan di laboratorium klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta. Hasil dari proses pewarnaan masing-masing preparat kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x selanjutnya dilakukan penilaian oleh peneliti dan seorang laboran dengan menggunakan kontrol yaitu dengan *Hematoxylin Eosin* sebagai pembanding, sehingga diperoleh data hasil penelitian pada setiap perlakuan (konsentrasi ekstrak 30%, 60% dan 90%) seperti pada (Gambar 1). Penilaian preparat dilakukan berdasarkan interpretasi pada tabel kriteria penilaian kualitas pewarnaan yang selanjutnya akan dikategorikan sesuai dengan skor kualitas mikroskopis (Tabel 2).



1



2



Gambar 1. Struktur mikroskopis sel hepar mencit jantan: 1. Kontrol (pewarnaan HE); 2. Ekstrak 30%; 3. Ekstrak 60%; 4. Ekstrak 90%. Perbesaran total 400x.

Tabel 2. Hasil penilaian kualitas preparat jaringan hepar mencit yang diwarnai dengan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L dan reagen Hematoxylin-Eosin sebagai kontrol.

Pewarnaan Preparat	Penilaian	Kualitas Pewarnaan
Kontrol (HE)	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat jelas.	Baik
Ekstrak Kulit Manggis 30% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik
Larutan Ekstrak Kulit Manggis 60% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik
Larutan Ekstrak Kulit Manggis 90% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa hasil pengamatan mikroskopis jaringan hepar mencit dengan perlakuan pewarnaan menggunakan larutan ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90% didapatkan hasil penilaian kualitas pewarnaan preparat jaringan hepar mencit yang kurang baik, dimana didapatkan warna ungu muda-pink pada sitoplasma yang terlihat kurang jelas. Apabila dibandingkan dengan pewarna reagen Eosin yang digunakan sebagai kontrol menunjukkan gradasi warna yang masih kurang dari kualitas pewarnaan tersebut.

DISKUSI

Penelitian mengenai pemanfaatan antosianin dalam kulit buah manggis telah banyak dilakukan sebagai zat pewarna alternatif. Kualitas dan sumber pewarna alami yang terbatas mengakibatkan penggunaan pewarna sintetis berkembang semakin pesat. Penggunaan pewarna sintetis secara berkesinambungan dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh. Melihat bahaya dari efek negatif pewarna

sintetis, maka diperlukan adanya pewarna alami yang lebih ramah lingkungan dan tidak berbahaya bagi kesehatan sebagai pewarna alternatif untuk mengganti pewarna sintetis. Limbah kulit buah manggis dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami karena memiliki kandungan antosianin yang cukup tinggi yaitu sebesar 593 ppm (Yani, dkk., 2020).

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi untuk memperoleh zat warna pada kulit buah manggis. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan suatu kandungan kimia yang dapat larut sehingga akan terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi adalah ekstrak (Saputra, dkk., 2020). Metode ekstraksi yang dilakukan untuk membuat ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. dalam penelitian ini yaitu dengan teknik maserasi karena lebih sederhana serta tidak memerlukan peralatan mahal, sehingga kandungan kimia dalam simplisia yang diekstraksi menjadi aman. Bahan pelarut yang digunakan pada proses perendaman yaitu ethanol 96%.

Dalam penelitian ini ethanol yang digunakan adalah ethanol 96% dikarenakan memiliki sifat yang polar, tidak toksik, absorbansinya baik dan kemampuan dalam penyaringannya yang tinggi sehingga dapat menyaring senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar seperti pigmen antosianin dalam kulit manggis. Menurut Wendersteyt dkk (2021) pelarut ethanol 96% akan lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel jika dibandingkan dengan ethanol yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat.

Proses penelitian ini diawali dengan prosedur preparasi sampel, pembuatan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. dengan teknik maserasi dimana filtrat dari hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C, uji fitokimia, pembuatan pengenceran ekstrak dengan berbagai konsentrasi yaitu 30%, 60% dan 90% dengan penambahan larutan ethanol 96% dan HCl 1%, pewarnaan preparat jaringan sampai dengan pengamatan hasil pewarnaan preparat pada mikroskop. Prosedur dalam penelitian ini dapat dilihat pada lembar lampiran VII yang telah disajikan dalam bentuk gambar. Pada penelitian ini dilakukan proses uji fitokimia pada ekstrak *Garcinia mangostana* L. secara kualitatif, dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan antosianin dalam kulit buah manggis. Uji fitokimia pada ekstrak kulit manggis dilakukan penambahan HCl pekat dengan tujuan untuk menghidrolisis antosianin yang ada di dalam ekstrak. Hasil dari pengujian

fitokimia menunjukkan terjadinya perubahan warna menjadi merah setelah dilakukan penambahan larutan HCl pekat atau larutan asam, yang menandakan bahwa dalam ekstrak kulit buah manggis tersebut mengandung antosianin.

Berdasarkan observasi evaluasi hasil pewarnaan spesimen histologi jaringan hepar mencit menggunakan pewarnaan alternatif dari ekstrak *Garcinia mangostana* L. konsentrasi 30%, 60% dan 90% dengan penambahan HCl 1% mempunyai potensi untuk menggantikan eosin namun menghasilkan kualitas pewarnan yang kurang baik jika dibandingkan dengan kontrol yaitu eosin. Hasil pengamatan preparat sediaan dengan ekstrak konsentrasi 30%, 60% dan 90% menunjukkan bahwa warna ungu muda-pink pada area sitoplasma terlihat kurang jelas. Apabila dibandingkan dengan pewarna reagen Eosin yang digunakan sebagai kontrol menunjukkan gradasi warna yang masih kurang dari kualitas pewarnaan tersebut karena pada sediaan kontrol terlihat sel terwarnai dengan baik.

Tujuan dari penambahan HCl 1% pada larutan ekstraksi yaitu agar menciptakan suasana asam, dikarenakan pigmen antosianin akan stabil dalam suasana yang asam karena HCl adalah pelarut asam yang mempunyai sifat polar. Pada penelitian ini penambahan HCl diharapkan dapat bereaksi dengan pigmen antosianin pada kulit manggis yang sudah di ekstrak dan akan memberikan warna yang hampir mendekati warna eosin yaitu warna merah orange pada pH asam.

Menurut Mutoharoh dkk (2020) faktor lain yang dapat menghambat masuknya warna ekstrak kedalam sel disebabkan karena perubahan konsentrasi dari ekstrak. Kelemahan dalam pewarnaan ini yaitu ketidakstabilan zat warna alami (antosianin) yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis jika dibandingkan dengan pewarna eosin yang merupakan zat warna sintesis. Selain faktor sulit menyerapnya ekstrak ke dalam jaringan yang diwarnai masih banyak juga ditemukan faktor yang mempengaruhi ketidakstabilan zat warna antosianin pada penelitian ini yaitu pH, suhu, pencahayaan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi kualitas sediaan yang diujikan.

Menurut Pedro, dkk (2016) penggabungan pelarut yang polar dengan asam organik yang sesuai menghasilkan pH sangat asam (pH 1-2), namun jika pelarut tersebut dicampurkan dengan asam lemah, warna dari antosianin memudar pada pH 3; warna akan berubah menjadi merah keunguan pada pH 4; ungu pada pH 5-6; dan pada pH 7 menjadi biru keunguan. Pada penelitian yang telah dilakukan ini warna

ekstrak setelah dilakukan pengenceran dan penambahan larutan asam menunjukkan warna merah dengan pH 4. Stabilitas antosianin juga dapat dipengaruhi oleh pencahayaan, ekstrak kulit manggis direkomendasikan untuk disimpan dalam botol kaca gelap. Namun, dalam penelitian ini penyimpanan ekstrak menggunakan botol kaca bening sehingga ekstrak terpapar langsung dengan sinar dan mengakibatkan rusaknya struktur antosianin.

Selain disimpan di dalam botol gelap, ekstrak kulit manggis juga perlu disimpan di dalam kulkas. Kulkas bisa membantu ekstrak menjadi stabil daripada ekstrak disimpan di ruang yang terbuka. Peningkatan suhu dapat menyebabkan disosiasi molekul dalam antosianin sehingga menghasilkan senyawa tidak berwarna. Suhu yang baik untuk menjaga stabilitas antosianin dalam ekstrak kulit manggis yaitu pada suhu 4°C.

Adapun kendala yang ditemukan dalam penelitian ini, yaitu ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. yang keras dan penyimpanan ekstrak yang kurang tepat. Kulit manggis sendiri memiliki kandungan senyawa resin kuning. Resin pada kulit manggis merupakan zat organik yang kental dan lengket yang dihasilkan oleh tanaman, termasuk oleh kulit manggis (Maliana dkk., 2013). Dalam kulit manggis resin mengandung senyawa bioaktif seperti tanin, xanthone, dan flavonoid. Zat resin ini dapat menjadi keras ketika terkena udara karena proses oksidasi atau penguapan komponen volatil (mudah menguap), yang menyebabkan ekstrak menjadi kering dan kaku. Tekstur dari resin ini yaitu lengket dan cenderung mengeras saat terpapar udara dalam jangka waktu yang lama. Tekstur dari resin yang lengket dalam ekstrak ini mengakibatkan warna ekstrak tidak dapat menyerap dengan sempurna pada jaringan sediaan yang diwarnai karena menempel pada kaca preparat.

Proses penyimpanan ekstrak pada botol dengan kaca bening membuat ekstrak kulit manggis terpapar langsung dengan sinar sehingga mengakibatkan struktur antosianin berubah. Menurut Kurniawati & Alauhdin (2020), penyimpanan ekstrak di dalam botol berkaca gelap menghasilkan rata-rata penurunan perubahan warna antosianin yang lebih kecil jika dibandingkan dengan rata-rata penurunan perubahan warna antosianin yang disimpan dalam botol berkaca terang. Antosianin yang ada di dalam ekstrak kulit manggis ini akan menyerap cahaya. Sinar tersebut merusak struktur antosianin yang ada di dalam kulit manggis sehingga menyebabkan perubahan warna.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% berpotensi sebagai pewarna alternatif pengganti eosin, namun kualitas pewarnaan yang dihasilkan memiliki gradasi warna yang masih kurang jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan eosin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada STIKES Guna Bangsa Yogyakarta yang telah memberikan kesempatan kepada tim peneliti untuk melakukan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penyusunan naskah ini.

REFRENSI

- Asni, H., Manurung, R., & Bonella, D. 2020. Aplikasi Pelarut Eutektik K₂CO₃-Gliserol pada Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Jurnal Teknik Kimia USU*. Vol. 9(2), 64-69. <https://doi.org/10.32734/Jtk.V9i2.3562>
- Fauziyah, R., Widyasanti, A. & Rosalinda, S. 2022. Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Sisa Pelarut Dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Kimia Padjadjaran*, 1, 18-25. <https://jurnal.unpad.ac.id/jukimpad/article/view/47007/20234>
- Jumardi, M., Iswara, Putri, G.S.A. & Ariyadi, T. 2023. Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan menggunakan Hematoxylin-Eosin dan Ekstrak Daun Jati sebagai Pengganti Eosin. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*. Vol. 6, 18 Oktober 2023.
- Kurniawati, A., & Alauhdin, M. 2020. Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garciana Mangostana* L.) Serta Aplikasinya Sebagai Indikator Asam-Basa. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 9(1), 56-62.
- Li, R., Baskaran, S.I. & Bing-Huei, C. 2023. Quantification of Xanthone and Anthocyanin in Mangosteen Peel by UPLC-MS/MS and Preparation of Nanoemulsions for Studying Their Inhibition Effects on Liver Cancer Cell. *International Journal of Molecular Science*. 24, 3934. <https://doi.org/10.3390/ijms24043934http>

- Maliana, Y., Khotimah, S., & Diba, F. 2013. Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia Mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* Dan *Enterobacter* Dari *Coptotermes Curvignathus Holmgren*. *Protobiont*, 2(1), 7-11. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v2i1.1347>
- Mariana, V., Amelia, R. & Nurfaejriah, S. 2023. Potential of Mangosteen Peel Extract (*Garcinia mangostana*) as Alternative Dye to Eosine in Papanicolaou Buccal Smear Method. *Proceedings The 3rd International Allied Health Students Conference (IAHSC)*-Desember 2023.
- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* L.) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Sediaan Sitologi Pengganti Eosin Pada Pengecatan Diff Quik. *Jurnal Sainhealth*, 4(2), 21. <https://doi.org/10.51804/Jsh.V4i2.770.21-26>
- Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., Muhajir, N.F., Murtiningrum, S., Ohoiwutun, C.S.D.P. & Puspita, E.D., 2024. Potential of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*) Extract as a Substitute for Eosin in Hematoxylin-Eosin Histological Staining. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. Vol. 11 (1).
- Pedro, A. C., Granato, D., & Rosso, N. D. 2016. Extraction Of Anthocyanins And Polyphenols From Black Rice (*Oryza Sativa* L.) By Modeling And Assessing Their Reversibility And Stability. *Food Chemistry*, 191, 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.045>
- Pradeepthi, K., Rajani, K., Rao, G., Sravya, T., Wahed, S. & Sailaja, J. 2023. Evaluation of biosafe alternative to eosin in hematoxylin and eosin staining procedure: A comparative study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, vol. 27 (2). doi: [10.4103/jomfp.jomfp.146.22](https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp.146.22)
- Saputra, A., Arfi, F., & Yulian, M. 2020. Literature Review: Analisis Fitokimia Dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Amina*, 2(3), 114-119. DOI: [10.22373/amina.v2i3.1220](https://doi.org/10.22373/amina.v2i3.1220)
- Sarode, S., Pradeep, G., Prakash, N., Mahajan, A. & Mangle, N. 2022. Exploring a safer alternative to eosin in soft tissue staining. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. Vol. 26 (4). doi: <https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp.27.22>
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi *Ascidian Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* Dan *Candida albicans*. *Pharmakon*, 10(1), 706. <https://doi.org/10.35799/Pha.10.2021.32758>
- Yani, G. F., Abbas, M., & Samiyarsih, S. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Pewarna Alami Jaringan Daun Dan Batang Krokot (*Portulaca Oleracea* L.). *Bioeksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 2(2), 288. <https://doi.org/10.20884/1.Bioe.2020.2.2.2139>

POTENSI EKSTRAK KACANG METE *Anacardium occidentale* Linn SEBAGAI INHIBITOR PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Ika Nurfajri Mentari^{1*}. Idham Halid². Bustanul Atfal³. Astri Sulistiawati⁴

^{1,2,3,4} Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram,
Nusa Tenggara Barat, Indonesia
e-Mail: ikanurfajri26@gmail.com.
No Tlp WA : 085337366100

Abstract

Antibiotics have the ability to inhibit bacteria (bacteriostatic) or kill bacteria (bactericidal). In Indonesia there are various types of plants. One natural substitute for antibiotics is cashew nut extract (*Anacardium Occidentale* Linn). An important problem is the emergence of bacteria that are resistant to various types of antibiotics, which can cause new infectious diseases. The incidence of resistance must be overcome by looking for alternative drug options that come from plants, one of which is cashew nuts. This research aims to determine the inhibitory power of cashew nut extract on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The research used laboratory experimental methods with cashew nut samples. This research was conducted at West Nusa Tenggara General Hospital. Data processing in this research uses the statistical product service solution for windows (SPSS) program. Concentration of cashew nut extract used; 100%, 80%, 60%, 40%, and 20%. The results showed that the inhibitory power of cashew nut extract on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria at concentrations of 100%, 80% and 60% formed an inhibitory zone but was relatively weak, concentrations of 100% and 80% formed an inhibitory zone of 2.5 mm, but at a concentration of 40 % and 20% form an inhibition zone with an average of 24.40 mm. Conclusion: Cashew nut extract at concentrations of 40% and 20% produces a larger zone of inhibition compared to other concentrations.

Keywords : Antibiotics, cashew nuts, *Staphylococcus aureus*

Abstrak

Antibiotik memiliki kemampuan menghambat bakteri (bakteriostatik) atau membunuh bakteri (bakterisida). Di Indonesia terdapat berbagai macam jenis tanaman. Salah satu pengganti antibiotik alami adalah ekstrak kacang mete (*Anacardium Occidentale* Linn). Masalah penting adalah timbulnya bakteri resisten terhadap berbagai jenis antibiotik sehingga dapat menyebabkan penyakit infeksi baru, kejadian resistensi harus ditanggulangi dengan mencari alternatif pilihan obat yang bersumber dari tanaman salah satunya kacang mete. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak kacang mete terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan sampel kacang mete. Penelitian ini dilakukan di RSUP Nusa Tenggara Barat. Pengolahan data pada penelitian ini menggunakan *program statistical product service solution for windows* (SPSS). Konsentrasi ekstrak kacang mete yang digunakan; 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak kacang mete terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100%, 80% dan 60% terbentuk zona hambat tetapi tergolong lemah, konsentrasi 100% dan 80% membentuk zona hambat sebesar 2,5 mm, namun pada konsentrasi 40% dan 20% membentuk zona hambat dengan rata-rata 24,40 mm. Kesimpulan ekstrak kacang mete pada konsentrasi 40% dan 20% menghasilkan zona hambat yang lebih besar bila dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

Kata kunci: Antibiotik, kacang mete, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang berbahaya dan mengawatirkan, penyakit infeksi juga termasuk jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di seluruh dunia termasuk Negara berkembang seperti Indonesia yang merupakan negara tropis. Salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi ialah disebabkan oleh virus dan bakteri (zuhri,2013). Agen infeksi berupa bakteri dapat bersifat eksogen (berasal dari luar tubuh) atau endogen (flora normal) (Ungki,2013). salah satu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama bagi manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami infeksi yang di sebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (zuhri, 2013).

Staphylococcus aureus dapat ditemukan di lingkungan masyarakat dan dapat menular melalui udara, debu, kotoran, air, susu dan makanan atau terdapat pada peralatan makan, manusia maupun pada hewan. Manusia dan hewan merupakan tempat berkumpulnya bakteri tersebut. Kebanyakan pada individu yang sehat *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan dalam saluran pernafasan, rambut dan kulit (Taylor, T.A., & Unakal, C. G, 2021). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menghasilkan enzim koagulase. Bakteri ini menempati hidung, tenggorokan, ketiak, sela jari kaki, dan perineum. Pada orang yang sehat tanpa menyebabkan infeksi kilinis. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab sering pembentukan nanah dan menyebabkan beragam infeksi yang meliputi bisul, abses, jari septik, stye impetigo dan mata lengket pada neonates (Nurhidayanti & Sari, 2022)

Pada tahun 2007 infeksi *Staphylococcus aureus* cukup tinggi di Asia, yaitu mencapai 70%, sementara di Indonesia pada tahun 2006 mencapai 23,5% (Nurhidayanti & Sari, 2022). Adapun obat antibakteri yang sering digunakan oleh masyarakat adalah antibiotik. Antibiotik merupakan obat yang sering diresepkan untuk pasien namun sering terjadi penggunaan obat yang tidak tepat dan berakibat terjadinya resistensi terhadap kuman, hal ini terjadi karena kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan antibiotik yang tepat (Nufus L S & Pertiwi D, 2019). Menurut penelitian (Uddin M T, et al, 2021) Antibiotik memiliki kemampuan menghambat bakteri (bakteriostatik) atau membunuh bakteri (bakterisida). Bagi

kehidupan manusia antibiotik terbukti sangat bermanfaat, Namun dapat menyebabkan berbagai masalah jika dengan penggunaanya yang terlalu sering. Masalah yang paling penting adalah timbulnya bakteri resisten terhadap berbagai jenis antibiotik yang dapat menyebabkan penyakit infeksi dan antibiotik tidak lagi efisien. Selain itu, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dosis dan dalam jangka waktu panjang dapat mengganggu fungsi kinerja organ-organ seperti organ jantung, dan organ ginjal. Oleh sebab itu, infeksi ini juga dapat diobati dengan pengobatan tradisional dengan cara memanfaatkan tanaman yang ada di sekitar kita, dan salah satunya ialah tanaman Kacang Mete *Anacardium occidentale* L.

Indonesia merupakan negara tropis yang telah memiliki keanekaragaman hayati yang sangat melimpah dan berpotensi untuk digali manfaatnya. Salah satu keanekaragaman hayati ini adalah tanaman Kacang Mete *Anacardium occidentale* Linn. Prospek perkembangan Kacang Mete Indonesia di dunia cukup baik mengingat Indonesia merupakan salah satu negara produsen Kacang Mete di dunia. Kacang Mete banyak dibudidayakan di berbagai pelosok Indonesia termasuk kecamatan sekotong, Nusa Tenggara Barat, sebagian besar warga kecamatan Sekotong memiliki mata pencaharian sebagai petani dan beternak jadi tidak heran masyarakat memanfaatkan tanaman Kacang Mete sebagai pakan ternak, dan daun yang masih muda di konsumsi oleh sebagian masyarakat sebagai lalapan, dan buahnya bisa dimakan secara langsung yang mana buah Kacang Mete memiliki rasa asam-asam kecut, buah Kacang Mete juga bisa di olah menjadi jus Kacang Mete, dan sebagai lauk pauk contohnya pembuatan abon dari buah semu Kacang Mete. Bijinya biasa diperjualbelikan dan sebagaian masyarakat memanfaatkan kacang mete sebagai pengganti serbuk kopi. Kacang Mete *Anacardium occidentale* Linn sebagai salah satu tanaman yang mempunyai aktifitas anti mikroba yang termasuk famili *Anacardiaceae*. Bagian tanaman Kacang Mete yang biasanya digunakan sebagai obat tradisional adalah kulit kayu, daun muda, biji, minyak biji, kulit biji, buah, dan akar (Ratna dkk, 2016).

Banyak penelitian yang telah menunjukkan Kacang Mete *Anacardium occidentale* Linn mempunyai khasiat antibakteri, antijamur, antiradang dan penurun gula darah. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa Kacang Mete mengandung fenol, flavonoid, steroid, triterpen, fenolik dan minyak atsiri, asam anakardat dan tatrol, saponin, tanin, alkaloid, steroid, triterpenoid dan glikosida. Sejauh ini penelitian

yang dilakukan yang berkaitan dengan kacang mete adalah penelitian yang dilakukan oleh Salehi B, *et al* (2020) dengan hasil bahwa ada Efek Antioksidan, Antimikroba, dan Antikanker dari Tanaman *Anacardium*. Selain itu, Penelitian yang dilakukan oleh Permatasari (2020) dengan hasil bahwa ekstrak etanol 96% dan fraksi daun jambu mete mempunyai aktivitas antibakteri yang secara statistik berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, sehingga secara spesifik yang melakukan uji sensitivitas untuk mengetahui daya hambat ekstrak kacang mete terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* belum banyak dilakukan dan perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi ekstrak kacang mete sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Kacang mete

BAHAN DAN METODE

Anacardium occidentale L Sebanyak 0,5 kilogram yang diambil dari kecamatan sekotong, Kabupaten Lombok Barat, Bakteri *staphylococcus aureus* sebagai bakteri uji, NaCL 0,9% sebagai larutan supensi bakteri, etanol 96%, Natrium agar (NA) sebagai media pertumbuhan bakteri, antibiotik tetrasiklin 200 mg sebagai kontrol positif, dan DMSO sebagai kontrol negatif, kertas saring, kertas label untuk memberikan penanda, kertas pH untuk mengukur pH media, aluminium foil untuk menutup wadah (erlenmeyer atau tabung reaksi).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *Autoclave*, Corong, Oven, Gelas kimia 200 mL, Gelas ukur 100 mL, Erlenmeyer, Inkubator, Ose mata, Drigalsky, Spuit 1 cc, Pisau, Belender, Cawan petri, Cawan porselin, Tabung reaksi, Pinset, Lampu spiritus, jangka sorong, Spiritus, Timbangan analitik.

Etik tidak digunakan dalam penelitian ini karena tidak menggunakan sampel dari manusia dan hewan coba.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium (*Experimental Research Laboratory*). Teknik Pengambilan sampel *Simple Random Sampling*. Pada penelitian ini, Ekstrak kacang mete (*Anacardium occidentale L.*) dengan berbagai konsentrasi diuji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Prosedur Penelitian di mulai dari :

1. Pra Analitik

a. Sterilisasi Alat yang akan digunakan

- 1) Bahan kaca yang digunakan seperti cawan petri, pinset dan labu Erlenmeyer dicuci terlebih dahulu.
- 2) Bahan kaca dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 180°C selama 3 jam. Dibungkus alat gelas yang kering dengan kertas jagung sebelum dimasukkan kedalam oven.
- 3) Dibiarkan alat gelas yang telah disterilisasi di dalam oven mencapai suhu lingkungan
- 4) Diambil alat gelas yang sudah steril dari oven, kemudian disimpan pada tempat yang tertutup sebelum digunakan.

b. Pembuatan Simplisia

- 1) Kacang mete yang sudah terpisah dari cangkangnya diambil sebanyak 0,5 kg dicuci menggunakan air mengalir kemudian ditiriskan dan di potong dengan potongan kecil kecil lalu dikeringkan dengan cara di oven dengan suhu 70°C selama 3 hari (Litri, 2014).
- 2) Dilakukan sortasi kering. Proses sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
- 3) Dihaluskan Kacang mete yang sudah kering dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk halus dan di ayak menggunakan mesh nomer 40, selanjutnya dilakukan penimbangan sebanyak 200 gr dan disimpan dalam wadah atau toples kaca.

c. Pembuatan ekstrak kacang mete *Anacardium occidentale* L. metode remaserasi, yaitu

- 1) Sebanyak 200 gram serbuk simplisia kacang mete *Anacardium occidentale* L. dimasukkan ke dalam wadah atau toples kaca dengan ukuran 1 L.
- 2) Dicampur 200 gram serbuk simplisia kacang mete dengan etanol 96% sebanyak perbandingan 1:2 atau sebanyak 400 ml selama 24

jam, lakukan pengulangan pada proses tersebut sebanyak tiga kali. (Ningsih, *et al.*, 2017; Kristanti, *et al.*, 2008).

- 3) Dihari pertama sebanyak 200 gram serbuk simplisia kacang yang sudah dimasukkan ke dalam toples, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml sampai seluruh simplisia terendam dan dilakukan pengadukan. Setelah 24 jam ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan maserat. Maserat tersebut kemudian ditampung dalam toples kaca yang kemudian ditutup dengan aluminium foil terlebih dahulu, lalu ditutup dengan tutup wadah.
- 4) Dihari kedua ampas/residu sisa penyaringan hasil maserat pertama ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml kemudian dibiarkan terendam selama 24 jam dan dilakukan pengadukan.
- 5) Setelah 24 jam ekstrak disaring kembali dengan kertas saring. Maserat kemudian ditampung dan disatukan dengan maserat hasil penyaringan pertama.
- 6) Dihari ketiga ampas/residu sisa penyaringan hasil maserat kedua ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml kemudian dibiarkan terendam selama 24 jam dan dilakukan pengadukan.
- 7) Setelah 24 jam ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan maserat. Maserat ditampung dan disatukan dengan maserat hasil penyaringan pertama dan kedua. Hasil Maserat kemudian diuapkan dengan alat penguap Rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.
- 8) Ekstrak kental kacang mete yang didapat berwarna kuning dan mengandung minyak atsiri. Setelah itu dituang ke dalam botol steril kaca tertutup dan disimpan di lemari pendingin setelah ekstrak didapat.

d. Pembuatan Media Nutrie Agar (NA) untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

- 1) Ditimbang 5,1 gram Nutrien Agar (NA) dilarutkan dalam 180 mL air aquadest.

- 2) Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media
- 3) Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit
- 4) Tunggu suhu sampai hangat (45 °C -50 °C)
- 5) Tuang kedalam cawan petri steril
- 6) Simpan pada suhu 2-8 °C.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi bakteri dibuat dengan diambil 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen, kemudian disamakan dengan standar Mc Farland (Misna dan Khusnul, 2016).

f. Pembuatan Konsentrasi ekstrak kacang mete

Konsentrasi dibuat dengan menimbang hasil ekstrak kental kacang mete untuk konsentrasi 100%, 80%,60%,40%,20% dibuat dengan cara melakukan pengenceran dengan Rumus : Volume sari biji mete yang diambil dihitung dengan rumus

Pengenceran:

$$V^1.M^1 = V^2.M^2 \text{ (Susilowati, 2007)}$$

Keterangan :

V^1 = Volume sari kacang mete yang digunakan

M^1 = Konsentrasi sari kacang mete yang akan dibuat

V^2 = Volume sari kacang mete yang akan dibuat

M^2 = Konsentrasi sari kacang mete yang akan diencerkan

Larutan Stok Kosentrasi

1) Konsentrasi 100%

$$V1.M1 = V2. M2$$

$$V1.100\% = 1 \text{ ml}.100\%$$

$$V1.100\% = 100$$

$$V1 = \frac{100}{100}$$

$$100$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

1) Konsentrasi 80%

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 1 \text{ ml} \times 80\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = 80 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{80 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ ml}$$

Di ambil larutan stok sebanyak 0,8ml di tambah dengan DMSO sebanyak 0,2ml

2) Konsentrasi 60%

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 1 \cdot 60\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = 60 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{60 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ ml}$$

Di ambil larutan stok sebanyak 0,6ml di tambah dengan DMSO sebanyak 0,4ml

3) Konsentrasi 40%

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 1 \times 40\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = 40 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,4$$

Di ambil larutan stok sebanyak 0,4ml di tambah dengan DMSO sebanyak 0,6ml

4) Konsentrasi 20%

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 1 \times 20\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

Di ambil larutan stok sebanyak 0,2ml di tambah dengan DMSO sebanyak 0,8 ml

h. Pembuatan kontrol positif

1). Pembuatan kontrol positif

Antibiotik Tetrasiklin 200 mg dibuat konsentrasi dengan menimbang 0,1 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest steril sebanyak 5 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 2%

$$2\% = \frac{x}{v} \times 100$$

$$2 = \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$2 \times 5 = x \times 100$$

$$10 = x \times 100$$

$$x = \frac{100}{10} = 1 \text{ ml}$$

2. Analitik

1) Prosedur Pengujian Daya Hambat kacang Mete:

- a) Siapkan suspensi *Staphylococcus aureus*
- b) Siapkan 6 cawan petri yang telah dituangi media NA dan telah padat dengan ketebalan 2 - 4 mm
- c) Disiapkan swab kapas steril kemudian dicelupkan ke dalam suspensi bakteri 0,5 unit *Mc Farland*.
- d) Didiamkan beberapa saat kemudian swab kapas tersebut diperas pada dinding tabung, kemudian dioleskan pada permukaan media NA secara merata, inkubasi selama 15 menit.
- e) Metode yang digunakan adalah difusi sumuran. Dibuat sumuran dengan alat sumuran (*cork borer*) dengan diameter 6 mm yang ditekan pada permukaan media NA. Dengan memasukan 50 mikropipet ke masing-masing sumuran.
- f) Dimasukan ekstrak kacang mete pada masing-masing konsentrasi ekstrak biji mete 100%, 80%, 60%, 40%, 20% dilubang sumuran yang dibuat.
- g) Dimasukkan juga tetrasiklin (kontrol positif) dan DMSO (kontrol negatif) 50 mikropipet pada lubang sumuran yang dibuat.
- h) Diinkubasi pada suasana aerob suhu 25 °C selama 24 jam dengan posisi petri disk tidak terbalik agar ekstrak biji mete tidak tumpah.

- i) Pengamatan dilakukan dengan melihat zona bening di sekeliling lubang pada cawan yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri.
- j) Pembacaan daerah hambat dilakukan dengan mengukur diameter sumuran dan diameter total atau diameter zona bening di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong.

3. Pasca Analitik

Berdasarkan Zona Hambat

Pengamatan dilakukan dengan melihat zona bening di sekeliling lubang pada cawan yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Pembacaan daerah hambat dilakukan dengan mengukur diameter sumuran dan diameter total atau diameter zona bening di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong.

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang diperoleh langsung oleh peneliti sendiri dari hasil pengukuran berupa diameter zona hambat ekstrak kacang mete *Anacardium Ocidatele L.* dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20% diukur menggunakan jangka sorong.

Data yang telah dikumpulkan akan diolah dan dianalisis ke dalam software dengan menggunakan program *Statistical Product Service Solution for Windows* (SPSS). Data yang telah didapat dilakukan uji normalitas Kolmogorov-smirnov. Uji ini digunakan untuk melihat normalitas distribusi data, mengetahui apakah data yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak. Data yang berdistribusi normal memiliki nilai $p > 0,05$, sedangkan data yang tidak berdistribusi normal memiliki nilai $p < 0,05$. Selanjutnya, data dilakukan uji homogenitas Levene untuk mengetahui varian data, apakah varian homogen atau tidak. Apabila data homogen, dapat dilakukan analisis varian satu arah (*One Way ANOVA*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara variabel-variabel yang diuji.

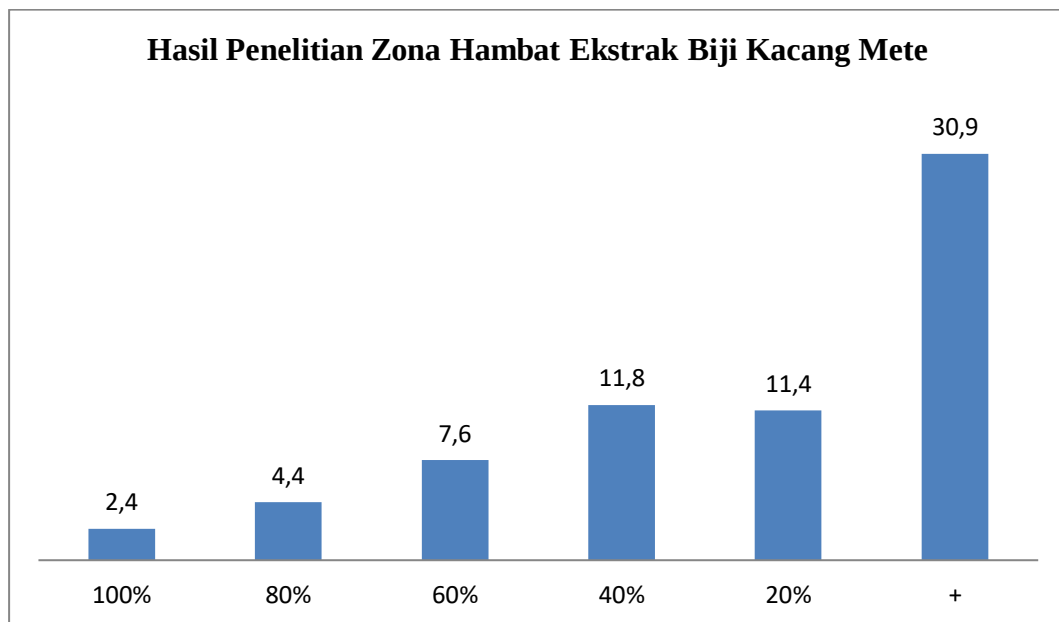
HASIL

Penelitian ini mulai dilakukan mulai dari bulan Juni sampai Juli 2024 di Litbangkes RSUDP NTB dan laboratorium Fisika Unram. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah adanya pengaruh ekstrak kacang mete dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi. Sampel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah kacang mete yang sudah terpisah dari cangkangnya.

Pengamatan di lakukan dengan melihat zona hambat atau zona bening di yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Adapun hasil uji daya hambat dapat di lihat pada tabel berikut :

Gambar 4.1 Grafik Hasil Penelitian Zona Hambat Ekstrak Biji Mete



Tabel 4.1 test of normality

Test of normality

Kolmogorov-Smirnov

Shapiro-Wilk

Statistic	Df	Sig	Statistic	df	Sig
100%	.437	5	.001	5	.000
80%	.367	5	.026	5	.006
60%	.352	5	.042	5	.018
40%	.349	5	.046	5	.046
20%	.367	5	.026	5	.006
K+	.437	5	.001	5	.000
K-	.	5	.	5	.

Hasil uji normalitas menyatakan bahwa nilai signifikan mulai dari perlakuan 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, K+, dan K- sama-sama memiliki nilai lebih kecil dari ALPHA 0,05 sehingga dapat dikatakan data tidak terdistribusi normal, sehingga uji selanjutnya yang dapat dilakukan adalah uji non parametrik kruskal Wallis test

Tabel 4.2 rata- rata daya hambat ekstrak kacang mete

	Perlakuan	N	Mean Rank
Daya hambat	Konst.100%	5	11.7
	Konst.80%	5	12.50
	Konst.60%	5	21.50
	Konst.40%	5	24.40
	Konst.20%	5	24.50
	Kontrol positif	5	24.50
	Kontrol negatif	5	7.50
	Total	35	

Tabel 4.3 Uji perbedaan daya hambat ekstrak kacang mete

	Daya hambat
Kruskal-Wallis H	16.559
df	6
Asymp.sig	0.011

- Kruskal-Wallis test
- Grouping variabel perlakuan

Hasil uji perbedaan daya hambat dari beberapa konsentrasi tersebut didapatkan bahwa nilai signifikan sebesar 0,011 yang artinya nilai tersebut lebih kecil daripada nilai alpha 0,05. Hasil tersebut menandakan bahwa ada perbedaan daya hambat dari beberapa konsentrasi Ekstrak kacang Mete *Anacardium occidentale*, Linn Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*.

Adapun perbedaan daya hambat secara rata-rata juga dapat dilihat pada Tabel Ranks yang menyatakan bahwa perlakuan yang memiliki daya hambat maksimal dan hamper sama dengan control positif adalah konsentrasi 40% dan 20% dengan rata-rata daya hambat 24.40 mm.

DISKUSI

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada bulan juli 2024 di Litbangkes RSUP NTB tentang uji daya hambat ekstrak kacang mete *Anacardium Ocideale* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan 5 konsentrasi yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20% setiap konsentrasi dan kontrol positif dan negatif dilakukan lima kali pengulangan yang diamati dalam waktu 1×24 jam dan digunakan 2 kontrol yaitu kontrol positif menggunakan antibiotik tetrasiklin dan kontrol negatif menggunakan DMSO.

Hasil uji normalitas pada penelitian ini dapat dilihat dari tabel diatas, yang dimana nilai normalitas yang didapatkan adalah nilai $\alpha < 0,05$, yang menandakan bahwa data yang didapatkan tidak terdistribusi dengan normal. Sehingga uji selanjutnya yang dapat dilakukan adalah uji non parametrik yaitu dengan menggunakan uji *Krusall Wallis Test*. Berdasarkan tabel *Krusall Wallis Test* tabel 4.2 dapat dilihat bahwa, hasil diperoleh yaitu rata-rata pada konsentrasi 100%, 80% dan 60% tidak terbentuk zona hambat dan ini artinya ekstrak kacang mete *Anacardium occidentale Linn* pada konsentrasi ini tidak memiliki daya hambat antibakteri, karna aktifitas antibakteri dinyatakan positif apabila terdapat zona hambat atau zona bening dan dinyatakan negatif apabila tidak terdapat zona hambat (Presky, 2017). Dalam penelitian Nurlayly dkk 2024, menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil zona hambatnya, konsentrasi yang besar tidak memberikan efek hambatan besar akan tetapi sebaliknya memberikan efek hambatan kecil dibandingkan konsentrasi lainnya. Hal ini dikarenakan beberapa faktor diantaranya, pemberian larutan *tween* 80 dengan campuran minyak atsiri pada konsentrasi tinggi mengakibatkan rendahnya tingkat kelarutan, sehingga dapat memperlambat difusi bahan aktif minyak atsiri pada media dan mengurangi kemampuan disinfektan alami minyak atsiri daun ekor kucing dalam menghambat bakteri. Konsentrasi terbaik menurut Farmakofe pada rata rata diameter zona hambat yaitu konsentrasi 5% dengan besar zona hambat 14,13 mm. Konsentrasi 40% dan 20% terbentuk zona hambat yang sama dengan kontrol positif dengan nilai rata-rata yaitu 24,40 mm dan ini artinya ekstrak kacang mete pada konsentrasi ini memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *staphilococcus aureus*. Terbentuknya zona hambat

diakibatkan oleh kandungan zat aktif antibakteri pada biji Kacang Mete yaitu Tanin, Saponin, Flavonoid.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Maulina Muskito (2019) menyatakan bahwa kacang mete mengandung senyawa penolik, flavonoid, Tanin, dan aktivitas anti oksidan. Kandungan fenol yang bertanggung jawab untuk aktivitas antioksidan. Mekanisme kerja Flavonoid yaitu menghambat fungsi membran sel yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase.

Mekanisme kerja Tanin yaitu mempunyai daya hambat anti bakteri dengan mepreptasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk.

Mekanisme kerja Saponin sebagai antibakteri yaitu menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. (Rijayanti,2014).

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dimana yang digunakan yaitu etanol 96% pelarut yang baik yang bersifat polar dan non polar untuk mendapatkan kandungan zat aktif saponin, flavonoid, tannin. Sehingga komponen kimia yang ada pada biji Kacang Mete diharapkan dapat diekstraksi secara sempurna. Semakin tinggi konsentrasi, maka pertumbuhan bakteri semakin terhambat. Hal ini dikarenakan zat kimia yang terkandung pada kacang mete. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa pada tabel tersebut

telah diketahui ekstrak daun Kacang Mete memiliki daya hambat. Telah dilakukan uji berbagai konsentrasi mulai dari 100%, 80%, 60%, 40% dan 20% kacang mete rata-rata terdapat zona hambat kecuali pada konsentrasi 100% , dan 80% tidak membentuk zona hambat. Dan ini membuktikan bahwa ekstrak kacang mete sebagai anti bakteri mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Dengan demikian, ekstrak kacang mete memiliki peluang yang bagus untuk dikembangkan dengan metode pengerjaan maupun metode ekstraksi yang berbeda sebagai obat antibakteri, diantaranya infeksi kulit, bisul, jerawat, dan luka.

Ekstrak kacang mete pada konsentrasi 40% dan 20% menghasilkan zona hambat yang lebih besar bila dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu sehingga penelitian ini dapat selesai.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- 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*.
- Kiswari, R. (2014). Hematologi dan Transfusi. *Jakarta: Erlangga*.
- Armstrong, D. (2019). Malory and character. In M. G. Leitch & C. J. Rushton (Eds.), *A new companion to Malory* (pp. 144-163). D. S. Brewer.
- Fachniar, G., Koentjoro, M. P., Isdiantoni, Ekawati, I., & Prasetyo, E. N. (2020, April). Effect of laccase oxidation on phenol content and antioxidant capacity of roasted coffee. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2215, No. 1, p. 070003). AIP Publishing LLC.
- Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2021). *Staphylococcus aureus*. *StatPearls [Internet]*.
- Permatasari, D. A. (2020). *Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun jambu mete (Anacardium Occidentale Linn.) terhadap Propionibacterium Acnes menggunakan metode Difusi Sumuran* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).