

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

Pengendalian Variabilitas Akurasi Pipetting: Analisis Pengaruh Volume Sampel terhadap Keandalan (Reliabilitas) Hasil Widal Test



UMSURA
Universitas Muhammadiyah Surabaya

**Fakultas Ilmu
Kesehatan**

Oleh:

Nur Vita Purwaningsi, S.ST., M.Kes.

Tri Ade Saputro, S.Tr.A.K., M.Imun.

Ellies Tunjung Sari.M., S.ST., M.Kes.

Rohmatul Hijriyah

FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS

MUHAMMADIYAH SURABAYA

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>

Tahun 2025

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	2
ABSTRAK	4
BAB I PENDAHULUAN	5
1.1 Latar Belakang.....	5
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Widal Test	8
2.2 Prinsip Reaksi Aglutinasi	8
2.3 Volume Sampel dan Rasio Reaksi	8
2.4 Akurasi dan Presisi Pipetting.....	9
2.5 Reliabilitas Hasil Widal.....	9
2.6 Pengendalian Mutu Pipetting	9
2.7 Kerangka Konseptual	10
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	11
3.1 Tujuan Penelitian.....	11
3.2 Manfaat Penelitian.....	11
BAB IV METODE PENELITIAN.....	12
4.1 Desain Penelitian	12
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
4.3 Populasi dan Sampel.....	12
4.4 Variabel Penelitian	12

4.5 Definisi Operasional	13
4.6 Alat dan Bahan	13
4.7 Prosedur Penelitian	13
4.8 Penilaian Akurasi Pipetting	14
4.9 Penilaian Reliabilitas Widal	14
4.10 Teknik Analisis Data	14
4.11 Etika Penelitian.....	15
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	16
5.1 Gambaran Umum Penelitian	16
5.2 Hasil Verifikasi Volume Pipetting	16
5.3 Hasil Reaksi Widal	16
5.4 Reliabilitas Hasil Widal.....	17
5.5 Pembahasan	17
6.1 Rencana Tahapan Berikutnya.....	19
6.2 Bentuk Tindak Lanjut.....	19
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	20
7.1 Kesimpulan.....	20
7.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA.....	21
LAMPIRAN	22

ABSTRAK

Keandalan pemeriksaan Widal tidak hanya dipengaruhi oleh kualitas reagen dan interpretasi aglutinasi, tetapi juga oleh ketepatan pemipetan volume serum. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh variasi volume sampel terhadap reliabilitas hasil Widal test serta menggambarkan hubungan antara penyimpangan volume dan konsistensi pembacaan titer. Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan 30 sampel serum berkode yang mewakili titer acuan 1:80, 1:160, dan 1:320. Setiap sampel diperiksa pada volume serum 10, 15, 20, 25, dan 30 μL dengan volume antigen 50 μL dan tiga pengulangan. Keakuratan pemipetan diverifikasi secara gravimetrik, sedangkan hasil Widal dinilai berdasarkan skor aglutinasi dan titer. Reliabilitas dinilai melalui kesesuaian hasil terhadap volume standar 20 μL , persentase kesepakatan, dan weighted kappa.

Pada data simulasi, volume 20 μL menunjukkan kesesuaian paling tinggi dengan hasil acuan, dengan weighted kappa 1,00. Volume 15 μL dan 25 μL menunjukkan kesesuaian berturut-turut 76,7% dan 83,3%, sedangkan 10 μL dan 30 μL menunjukkan penurunan kesesuaian menjadi 20,0% dan 30,0%. Secara umum, perubahan volume serum menggeser rasio serum terhadap antigen dan menyebabkan perubahan pembacaan titer. Temuan ini mendukung pentingnya pemipetan yang terstandar, pemilihan volume sesuai petunjuk kit, serta pemantauan akurasi dan presisi pipet sebagai bagian dari pengendalian mutu pemeriksaan Widal.

Kata kunci: Widal test; pipetting; akurasi; presisi; reliabilitas; volume sampel; aglutinasi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan laboratorium merupakan rangkaian kegiatan yang saling berkaitan. Hasil yang dapat dipercaya tidak hanya ditentukan oleh metode analitik, tetapi juga oleh ketepatan pelaksanaan setiap tahap pemeriksaan. Pada pemeriksaan yang menggunakan volume cairan dalam jumlah kecil, kesalahan pemipetan dapat mengubah perbandingan antara sampel dan reagen sehingga berpotensi memengaruhi hasil.

Widal test merupakan pemeriksaan aglutinasi yang mendeteksi antibodi terhadap antigen *Salmonella*. Pemeriksaan ini masih digunakan di berbagai laboratorium sebagai pemeriksaan penunjang demam tifoid, walaupun interpretasinya mempunyai keterbatasan dan hasil dapat berbeda antar-kit. Khatun et al. melaporkan bahwa penerapan SOP dan teknik pengenceran yang lebih terstandar dapat mengurangi perbedaan hasil Widal antara pemeriksa dan meningkatkan mutu pemeriksaan. (Khatun et al., 2014)

Pada metode slide, volume serum bukan sekadar langkah teknis. Beberapa prosedur menggunakan 20 μ L serum dan 50 μ L antigen, sedangkan publikasi lain menggunakan 50 μ L serum dan 50 μ L antigen. Perbedaan ini menunjukkan bahwa volume yang digunakan harus mengikuti sistem reagen dan prosedur yang telah ditetapkan. Dalam studi perbandingan empat merek Widal, salah satu merek menggunakan 20 μ L serum, sedangkan merek lain menggunakan 50 μ L serum dengan satu tetes antigen sekitar 50 μ L. (El Toukhy et al., 2011)

Volume serum yang berubah akan mengubah rasio serum terhadap antigen. Pada pemeriksaan semi-kuantitatif, variasi volume bahkan digunakan untuk menghasilkan tingkat pengenceran yang berbeda. Karena itu, apabila volume yang seharusnya digunakan sebagai volume tetap justru berubah akibat kesalahan pipetting, perubahan tersebut dapat dibaca sebagai perbedaan titer padahal sumbernya adalah tahap pra-analitik atau analitik.

Akurasi dan presisi pipetting merupakan dua hal yang berbeda. Akurasi menunjukkan kedekatan volume yang dikeluarkan dengan volume target, sedangkan presisi menunjukkan kedekatan hasil antar-pengulangan. Studi terbaru terhadap 108 personel laboratorium menunjukkan bahwa variasi pipetting lebih besar pada volume kecil; median CV pada 10 μ L

lebih tinggi dibandingkan 100 μL dan sebagian peserta tidak memenuhi batas yang ditetapkan ISO 8655. (Özcan et al., 2026)

Masalah tersebut menjadi penting pada Widal karena pembacaan hasil bersifat visual dan dapat berubah dari satu kategori titer ke kategori berikutnya ketika rasio reaksi berubah. Penelitian ini disusun untuk melihat seberapa besar perubahan volume serum dapat memengaruhi konsistensi hasil Widal. Volume 20 μL digunakan sebagai volume standar pembandingan dalam simulasi karena beberapa prosedur Widal menggunakan volume tersebut, sementara volume 10, 15, 25, dan 30 μL digunakan untuk menggambarkan penyimpangan di sekitar volume target. (El Toukhy et al., 2011; NS Bio-Tec, 2025)

Penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menentukan diagnosis demam tifoid. Fokus penelitian adalah pengendalian variabilitas pipetting dan reliabilitas hasil reaksi Widal pada kondisi volume sampel yang berbeda. Dengan demikian, hasil diharapkan dapat menjadi bahan evaluasi teknik kerja dan pengendalian mutu di laboratorium.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah variasi volume serum memengaruhi skor aglutinasi dan titer hasil Widal test?
2. Bagaimana tingkat akurasi pemipetan pada volume 10, 15, 20, 25, dan 30 μL ?
3. Berapa tingkat kesesuaian dan reliabilitas hasil Widal pada masing-masing volume dibandingkan dengan volume standar 20 μL ?
4. Volume sampel berapakah yang memberikan hasil paling konsisten dalam kondisi penelitian?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah menganalisis pengaruh volume sampel terhadap keandalan hasil Widal test sebagai bagian dari pengendalian variabilitas akurasi pipetting.

1. Menilai penyimpangan volume hasil pemipetan pada beberapa volume target.
2. Menilai perubahan skor aglutinasi pada variasi volume serum.
3. Membandingkan titer Widal pada volume 10, 15, 20, 25, dan 30 μL .
4. Menentukan persentase kesesuaian hasil terhadap volume standar 20 μL .
5. Menilai reliabilitas hasil menggunakan weighted kappa.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi laboratorium: memberikan bahan evaluasi terhadap ketepatan volume pada pemeriksaan Widal.
2. Bagi tenaga laboratorium: meningkatkan perhatian terhadap akurasi, presisi, teknik penggunaan pipet, dan kepatuhan terhadap SOP.
3. Bagi institusi pendidikan: menjadi contoh penerapan konsep pengendalian mutu pada pemeriksaan serologi.
4. Bagi peneliti selanjutnya: menjadi dasar untuk penelitian verifikasi metode Widal dengan data primer dan jumlah sampel yang lebih besar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Widal Test

Widal test merupakan uji aglutinasi yang mendeteksi antibodi terhadap antigen O dan H Salmonella Typhi serta antigen terkait Salmonella Paratyphi. Pemeriksaan dapat dilakukan secara slide untuk skrining cepat maupun secara tabung untuk penentuan titer melalui pengenceran serial. Sutomo dan Moechtar melaporkan evaluasi Widal slide di Jakarta dan menunjukkan bahwa performa pemeriksaan dipengaruhi oleh batas titer yang digunakan. (Sutomo & Moechtar, 1986)

Studi perbandingan empat merek Widal juga menunjukkan adanya perbedaan sensitivitas dan spesifisitas antarproduk. Temuan tersebut menunjukkan bahwa hasil Widal tidak dapat dilepaskan dari merek reagen, prosedur, dan interpretasi yang digunakan. (El Toukhy et al., 2011)

2.2 Prinsip Reaksi Aglutinasi

Reaksi Widal terjadi ketika antibodi dalam serum berikatan dengan antigen yang sesuai sehingga terbentuk agregat atau aglutinat yang dapat diamati secara visual. Intensitas reaksi dapat dinilai secara kualitatif atau semi-kuantitatif. Pada metode semi-kuantitatif, perubahan volume serum digunakan untuk membentuk tingkat pengenceran yang berbeda.

2.3 Volume Sampel dan Rasio Reaksi

Volume sampel menentukan jumlah antibodi yang tersedia dalam campuran reaksi. Jika volume antigen dipertahankan sementara volume serum berubah, rasio serum terhadap antigen juga berubah. Beberapa prosedur Widal menggunakan 20 μ L serum dengan 50 μ L antigen, sementara prosedur lain menggunakan 50 μ L serum dan 50 μ L antigen. (El Toukhy et al., 2011; NS Bio-Tec, 2025)

Volume serum	Antigen	Makna pada prosedur semi-kuantitatif
80 μ L	$\pm$ 50 μ L	sekitar 1:20
40 μ L	$\pm$ 50 μ L	sekitar 1:40
20 μ L	$\pm$ 50 μ L	sekitar 1:80
10 μ L	$\pm$ 50 μ L	sekitar 1:160
5 μ L	$\pm$ 50 μ L	sekitar 1:320

Tabel tersebut menunjukkan bahwa perubahan volume memang dapat digunakan untuk membentuk pengenceran pada metode semi-kuantitatif. Namun, dalam konteks penelitian ini, volume 20 μL diperlakukan sebagai volume standar yang harus dipipet secara konsisten. Volume lain digunakan sebagai kondisi uji untuk melihat konsekuensi perubahan rasio reaksi, bukan sebagai pengganti titer diagnostik.

2.4 Akurasi dan Presisi Pipetting

Akurasi pipetting adalah kedekatan volume yang dikeluarkan dengan volume target, sedangkan presisi adalah konsistensi volume pada pengulangan. Kesalahan sistematis menyebabkan rata-rata volume bergeser dari target, sedangkan kesalahan acak menyebabkan hasil pengulangan menyebar.

ISO 8655 menjadi salah satu acuan utama dalam evaluasi kinerja pipet piston. Studi pipetting pada personel laboratorium tahun 2026 menunjukkan bahwa volume 10 μL memiliki variasi lebih tinggi daripada 100 μL dan menegaskan bahwa kompetensi operator tetap perlu dipantau meskipun pipet yang digunakan telah dikalibrasi. (Özcan et al., 2026)

2.5 Reliabilitas Hasil Widal

Reliabilitas pada penelitian ini diartikan sebagai konsistensi hasil pemeriksaan ketika kondisi yang dibandingkan diulang. Reliabilitas dinilai melalui kesamaan kategori titer antarulangan dan kesesuaian hasil tiap volume terhadap volume standar. Weighted kappa digunakan karena kategori titer bersifat ordinal sehingga perbedaan satu tingkat titer tidak diperlakukan sama dengan perbedaan beberapa tingkat.

2.6 Pengendalian Mutu Pipetting

Pengendalian mutu pipetting meliputi penggunaan pipet yang sesuai rentang volume, pemilihan tip yang tepat, teknik aspirasi dan dispensing yang konsisten, penghindaran gelembung, pengaturan posisi pipet, serta pemeriksaan akurasi dan presisi secara berkala. Pada Widal, pengendalian tersebut perlu disertai kepatuhan terhadap petunjuk kit karena perbedaan merek dapat menghasilkan prosedur dan performa yang berbeda. (Khatun et al., 2014; El Toukhy et al., 2011; Özcan et al., 2026)

2.7 Kerangka Konseptual

Volume serum target → proses pipetting → volume aktual dan penyimpangan → perubahan rasio serum:antigen → skor aglutinasi → kategori titer → kesesuaian terhadap volume standar → reliabilitas hasil Widal.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

No.	Tujuan khusus	Indikator
1	Mengukur akurasi volume pipetting	Deviasi volume (%)
2	Mengukur presisi pipetting	CV (%)
3	Menilai pengaruh volume serum	Perubahan skor aglutinasi
4	Menilai kesesuaian titer	% agreement
5	Menilai reliabilitas	Weighted kappa
6	Menentukan volume paling konsisten	Volume dengan agreement dan kappa tertinggi

3.2 Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan memberikan gambaran bahwa ketepatan volume merupakan bagian dari mutu analitik yang perlu dikendalikan. Hasil dapat digunakan sebagai bahan evaluasi SOP dan pelatihan petugas, terutama pada pemeriksaan yang menggunakan volume kecil dan pembacaan visual seperti Widal.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan pendekatan komparatif. Volume serum divariasikan pada 10, 15, 20, 25, dan 30 μL , sedangkan volume antigen dipertahankan 50 μL . Volume 20 μL ditetapkan sebagai kondisi standar pembanding. Setiap kondisi dilakukan tiga kali pengulangan pada 30 sampel serum berkode.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dirancang dilakukan di laboratorium serologi/hematologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya. Pelaksanaan direncanakan selama tiga bulan, meliputi persiapan, verifikasi pipet, pemeriksaan Widal, pengolahan data, dan penyusunan laporan.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah serum yang digunakan untuk pemeriksaan Widal. Untuk contoh laporan ini digunakan 30 sampel serum berkode yang dibagi menurut titer acuan 1:80, 1:160, dan 1:320. Setiap sampel diperiksa pada lima kondisi volume dengan tiga pengulangan sehingga terdapat 450 reaksi Widal.

Kelompok acuan	Jumlah sampel	Proporsi
1:80	10	33,3%
1:160	10	33,3%
1:320	10	33,3%
Total	30	100%

4.4 Variabel Penelitian

No.	Variabel	Jenis
1	Volume serum	Bebas
2	Akurasi pipetting	Terikat
3	Presisi pipetting	Terikat
4	Skor aglutinasi	Terikat
5	Titer Widal	Terikat
6	Reliabilitas/kesesuaian hasil	Terikat

4.5 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur
Volume serum	Volume serum yang dipipet ke area reaksi.	Mikropipet	10, 15, 20, 25, 30 μ L
Akurasi pipetting	Kedekatan volume aktual terhadap target.	Gravimetri	Deviasi %
Presisi pipetting	Konsistensi volume hasil pengulangan.	Gravimetri	CV %
Skor aglutinasi	Derajat aglutinasi yang tampak secara makroskopis.	Observasi	0–4+
Titer Widal	Pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi sesuai kriteria.	Slide semi-kuantitatif	1:40–1:640
Reliabilitas	Kesepakatan hasil terhadap volume standar 20 μ L.	Agreement + weighted kappa	% dan κ

4.6 Alat dan Bahan

Alat meliputi mikropipet yang sesuai rentang volume, tip, slide Widal, mixing stick, rotator, timer, timbangan analitik untuk verifikasi gravimetri, wadah penimbangan, dan perlengkapan dokumentasi. Bahan meliputi serum berkode, antigen Widal O/H sesuai kit, kontrol positif, NaCl 0,9% sebagai kontrol negatif, serta bahan pendukung.

4.7 Prosedur Penelitian

1. Memastikan pipet dalam kondisi layak digunakan dan melakukan verifikasi volume secara gravimetri.
2. Menyiapkan serum dan reagen sesuai petunjuk kit serta membiarkan bahan mencapai suhu kerja sesuai instruksi produsen.
3. Memberi kode pada slide dan membagi setiap sampel menjadi kondisi volume 10, 15, 20, 25, dan 30 μ L.
4. Memipet volume serum sesuai kelompok kemudian menambahkan 50 μ L antigen yang telah dihomogenkan.
5. Mencampur setiap reaksi menggunakan applicator yang berbeda untuk mencegah kontaminasi silang.

6. Memutar slide sesuai waktu yang ditetapkan kit, kemudian membaca aglutinasi secara konsisten.
7. Memberikan skor 0 sampai 4+ dan menentukan kategori titer berdasarkan sistem yang digunakan dalam penelitian.
8. Melakukan tiga pengulangan pada setiap kondisi dan mencatat seluruh hasil sebelum analisis.

4.8 Penilaian Akurasi Pipetting

Verifikasi gravimetri dilakukan dengan menimbang hasil dispensing air pada target volume 10, 15, 20, 25, dan 30 μL . Deviasi sistematis dihitung sebagai: $((\text{volume aktual} - \text{volume target}) / \text{volume target}) \times 100\%$. Presisi dihitung sebagai $\text{CV} = (\text{SD} / \text{rerata}) \times 100\%$.

Target (μL)	Rerata aktual (μL)	SD (μL)	Deviasi (%)	CV (%)
10	9.74	0.41	-2.56	4.17
15	14.82	0.21	-1.17	1.41
20	20.07	0.18	0.37	0.89
25	25.09	0.26	0.36	1.05
30	29.84	0.10	-0.54	0.33

4.9 Penilaian Reliabilitas Widal

Reliabilitas dinilai dengan membandingkan hasil kategori titer pada setiap volume terhadap volume standar 20 μL . Persentase agreement dihitung sebagai jumlah hasil yang sama dibagi seluruh hasil dikalikan 100%. Weighted kappa digunakan untuk menilai kesepakatan ordinal antar-volume. Interpretasi kappa mengikuti kategori umum: <0,20 sangat rendah; 0,21–0,40 rendah; 0,41–0,60 sedang; 0,61–0,80 baik; dan >0,80 sangat baik.

4.10 Teknik Analisis Data

Data numerik disajikan sebagai rerata dan simpangan baku. Deviasi volume dan CV digunakan untuk menggambarkan performa pipetting. Skor aglutinasi dibandingkan antarvolume. Kesesuaian titer dianalisis menggunakan persentase agreement dan weighted kappa. Bila data primer memenuhi asumsi yang diperlukan, pengaruh volume dapat diuji menggunakan repeated-measures ANOVA atau uji nonparametrik Friedman.

4.11 Etika Penelitian

Penelitian menggunakan serum pasien harus memperoleh persetujuan etik dan mengikuti ketentuan kerahasiaan data. Untuk laporan contoh ini digunakan kode sampel tanpa identitas pribadi.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Umum Penelitian

Sebanyak 30 sampel serum berkode digunakan sebagai data contoh. Sampel dibagi secara seimbang berdasarkan titer acuan 1:80, 1:160, dan 1:320. Setiap sampel diuji pada lima volume serum dengan tiga pengulangan sehingga diperoleh 450 hasil reaksi. Volume 20 μL digunakan sebagai kondisi standar pembandingan.

5.2 Hasil Verifikasi Volume Pipetting

Target	Rerata aktual	SD	Deviasi	CV
10 μL	9.74 μL	0.41	-2.56%	4.17%
15 μL	14.82 μL	0.21	-1.17%	1.41%
20 μL	20.07 μL	0.18	+0.37%	0.89%
25 μL	25.09 μL	0.26	+0.36%	1.05%
30 μL	29.84 μL	0.10	-0.54%	0.33%

Hasil menunjukkan bahwa volume 20 μL menghasilkan deviasi relatif paling kecil dibandingkan beberapa kondisi lainnya. Volume 10 μL memperlihatkan variasi relatif lebih besar. Pola tersebut searah dengan laporan terbaru yang menemukan bahwa pipetting volume kecil cenderung lebih bervariasi dibandingkan volume yang lebih besar. (Özcan et al., 2026)

5.3 Hasil Reaksi Widal

Volume serum	Rerata skor aglutinasi	SD skor	SD dalam-sampel
10 μL	2.51	0.76	0.34
15 μL	2.84	0.63	0.34
20 μL	3.03	0.52	0.20
25 μL	3.17	0.55	0.30
30 μL	3.38	0.47	0.26

Peningkatan volume serum dari 10 μL menuju 30 μL diikuti kecenderungan peningkatan skor aglutinasi. Kondisi 10 μL cenderung memberikan reaksi lebih lemah, sedangkan 30 μL cenderung memberikan reaksi lebih kuat. Perubahan ini menunjukkan bahwa rasio serum terhadap antigen berpengaruh terhadap tampilan reaksi.

5.4 Reliabilitas Hasil Widal

Volume	Agreement terhadap 20 μ L	Weighted kappa	Interpretasi
10 μ L	20.0%	0.33	Rendah
15 μ L	76.7%	0.75	Baik/sangat baik
20 μ L	100.0%	1.00	Baik/sangat baik
25 μ L	83.3%	0.82	Baik/sangat baik
30 μ L	30.0%	0.38	Rendah

Volume 20 μ L memiliki kesesuaian 100% terhadap dirinya sendiri dan weighted kappa 1,00. Volume 15 μ L menunjukkan agreement 76,7% dengan kappa 0,75, sedangkan 25 μ L menunjukkan agreement 83,3% dengan kappa 0,82. Volume 10 μ L dan 30 μ L menunjukkan kesesuaian yang lebih rendah, masing-masing 20,0% dan 30,0%.

5.5 Pembahasan

Hasil memperlihatkan bahwa perubahan volume serum dapat menggeser hasil Widal. Volume yang lebih kecil mengurangi jumlah antibodi yang masuk ke dalam campuran dibandingkan kondisi standar, sedangkan volume yang lebih besar meningkatkan rasio serum terhadap antigen. Akibatnya, intensitas aglutinasi dan kategori titer dapat berubah.

Temuan ini perlu dibaca dalam konteks prosedur Widal yang memang menggunakan volume serum berbeda untuk tujuan semi-kuantitatif. Beberapa publikasi menggunakan 20 μ L serum dengan satu tetes antigen, sedangkan prosedur lain menggunakan 50 μ L serum. (El Toukhy et al., 2011; NS Bio-Tec, 2025) Karena itu, volume tidak boleh diubah secara sembarangan dari prosedur kit dan kemudian hasilnya ditafsirkan dengan skala titer yang sama.

Studi Khatun et al. menunjukkan bahwa penerapan SOP dapat mengurangi perbedaan hasil Widal antara pemeriksa. (Khatun et al., 2014) Hasil tersebut mendukung gagasan bahwa standardisasi langkah kerja, termasuk volume dan teknik pengenceran, merupakan bagian dari pengendalian mutu.

Studi pipetting terbaru menunjukkan bahwa operator dapat memiliki variasi yang berbeda walaupun menggunakan pipet yang sesuai. Variasi lebih besar terlihat pada volume kecil, sehingga pemeriksaan yang menggunakan volume kecil memerlukan perhatian lebih pada teknik, pemilihan pipet, dan evaluasi kinerja. (Özcan et al., 2026)

Widal sendiri memiliki keterbatasan diagnostik. Studi perbandingan empat merek menunjukkan perbedaan sensitivitas dan spesifisitas yang cukup besar antarproduk. (El Toukhy et al., 2011) Oleh sebab itu, penelitian ini sebaiknya diposisikan sebagai penelitian verifikasi teknis mengenai pengaruh volume dan reliabilitas hasil, bukan sebagai penilaian ulang diagnosis demam tifoid.

Secara praktis, hasil mengarah pada satu hal yang sederhana: volume yang ditetapkan dalam prosedur harus dipipet dengan konsisten. Jika kit menetapkan 20 μ L, penggunaan 15 atau 30 μ L bukan sekadar perubahan kecil pada cara kerja, tetapi dapat mengubah rasio reaksi dan akhirnya memengaruhi hasil yang dibaca.

BAB VI

RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Rencana Tahapan Berikutnya

1. Mengganti data simulasi dengan data primer hasil pemeriksaan laboratorium.
2. Melakukan verifikasi gravimetri menggunakan pipet yang benar-benar digunakan pada pemeriksaan.
3. Menggunakan satu merek/lot reagen Widal dan mengikuti petunjuk produsen secara konsisten.
4. Menambah jumlah sampel dan melakukan pengulangan pada hari yang berbeda.
5. Menilai kesepakatan antar-pemeriksa untuk melihat pengaruh interpretasi visual aglutinasi.
6. Membandingkan hasil slide dengan metode tabung sebagai metode pembanding bila fasilitas tersedia.

6.2 Bentuk Tindak Lanjut

Apabila data primer menunjukkan bahwa penyimpangan volume memberikan perubahan hasil yang bermakna, laboratorium dapat menetapkan langkah pengendalian berupa penggunaan pipet sesuai rentang volume, pemeriksaan akurasi dan presisi berkala, pencatatan hasil kontrol, pelatihan teknik pipetting, serta audit kepatuhan terhadap SOP. Tindak lanjut juga perlu mempertimbangkan petunjuk kit karena prosedur antarproduk tidak selalu sama.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Variasi volume serum pada data simulasi menunjukkan kecenderungan memengaruhi intensitas aglutinasi dan kategori titer Widal. Volume 20 μL memberikan hasil yang paling konsisten terhadap kondisi standar dalam rancangan simulasi, dengan weighted kappa 1,00. Volume 15 μL dan 25 μL masih menunjukkan kesesuaian yang relatif baik, sedangkan volume 10 μL dan 30 μL memberikan kesesuaian yang lebih rendah. Variasi volume kecil dapat menjadi sumber variabilitas hasil sehingga akurasi dan presisi pipetting perlu dimasukkan dalam pengendalian mutu pemeriksaan.

7.2 Saran

1. Penelitian aktual perlu menggunakan data primer dan mengikuti petunjuk kit Widal yang digunakan.
2. Verifikasi akurasi dan presisi pipet perlu dilakukan secara berkala dan didokumentasikan.
3. Volume sampel tidak boleh diubah dari prosedur standar tanpa verifikasi dan validasi yang memadai.
4. Penelitian lanjutan sebaiknya melibatkan beberapa operator untuk menilai variabilitas antar-pemeriksa.
5. Interpretasi hasil Widal harus mempertimbangkan keterbatasan diagnostik dan tidak digunakan sebagai satu-satunya dasar diagnosis demam tifoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Khatun K, Muazzam N, Shamsuzzaman SM, Kamal AHM, Islam MS. (2014). Quality Assessment of Widal Test in Microbiology Laboratories at Primary and Secondary Level Before and After Implementation of Standard Operating Procedure (SOP): A Comparative Study. *Journal of Dhaka Medical College*, 23(2), 227–233. doi:10.3329/jdmc.v23i2.25396.
- El Toukhy AM, Ashour MS, El Attar LA, Bakr WMK. (2011). The dilemma of Widal test— which brand to use? A study of four different Widal brands: a cross-sectional comparative study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10, 7. doi:10.1186/1476-0711-10-7.
- Özcan Ö, Grundel PJM, Heijboer AC, den Elzen WPJ. (2026). Pipetting Performance across Laboratory Personnel: A Comparative Study. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, 11(3), 460–469. doi:10.1093/jalm/jfag006.
- NS Bio-Tec. (2025). Febrile Antigen (Widal) Rapid Slide Test: Instructions for Use.
- Sutomo A, Moechtar MA. (1986). The Widal slide agglutination test, a valuable rapid diagnostic test in typhoid fever patients at the Infectious Diseases Hospital of Jakarta. *American Journal of Epidemiology*, 123(5), 869–875. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a114316.
- International Organization for Standardization. (2022). ISO 8655-2:2022. Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Pipettes.

LAMPIRAN

