

**PEMERIKSAAN HBV-DNA METODE PCR DI RSUD ABDUL WAHAB
SJAHRANIE SAMARINDA
LAPORAN TUGAS AKHIR (STUDI KASUS)**



**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
INSTITUT TEKNOLOGI KESEHATAN & SAINS WIYATA HUSADA
SAMARINDA**

2020

**PEMERIKSAAN HBV-DNA METODE PCR DI RSUD ABDUL WAHAB
SJAHRANIE SAMARINDA**

LAPORAN TUGAS AKHIR (STUDI KASUS)

Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Diploma Analis Kesehatan (Amd. A. K)



**DISUSUN OLEH :
JULPANI SAPUTRA**

173060103

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
INSTITUT TEKNOLOGI KESEHATAN & SAINS WIYATA HUSADA
SAMARINDA**

2020

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Julpani Saputra
NIM : 1730606103
Program Studi : D-III Analis Kesehatan
Judul Laporan Tugas Akhir : Pemeriksaan HBV DNA metode PCR di
RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.

Menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber, baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Samarinda, 19 Maret 2020

Yang membuat pernyataan



ITKES WHS

(Julpani Saputra)

LEMBAR PENGESAHAN

PEMERIKSAAN HBV-DNA METODE PCR DI RSUD ABDUL WAHAB
SJAHRANIE SAMARINDA

LAPORAN TUGAS AKHIR

Disusun Oleh :

JULPANI SAPUTRA

NIM : 17.306.061.03

Laporan Tugas Akhir Telah Disetujui

Tanggal 13 Juni 2020

Pembimbing I

dr. Edis Harianja, Sp.PK
NIK. 196802132000031006

Pembimbing II

Agus Joko Praptomo, S.Si., M. Si
NIK. 1141046810019

Penguji I

dr. Didi Irwadi, Sp.PK.,M.kes
NIK. 196612041997031001

Penguji II

Hj. Huzaimah, S.,KM., M.Si
NIP : 197007271990022002

Mengetahui,
Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan



Siti Raudah S. Si., M. Si
NIK. 1141048510012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, berkat Rahmat dan BimbinganNya saya dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir dengan judul Pemeriksaan HBV DNA metode PCR di RSUD Abdul Wahab Sjahranie. Laporan Tugas Akhir (Studi Kasus) ini merupakan salah satu syarat untuk lulus di Program Studi D-III Analis Kesehatan ITKES Wiyata Husada Samarinda.

Bersamaan ini perkenankanlah saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dengan hati yang tulus kepada :

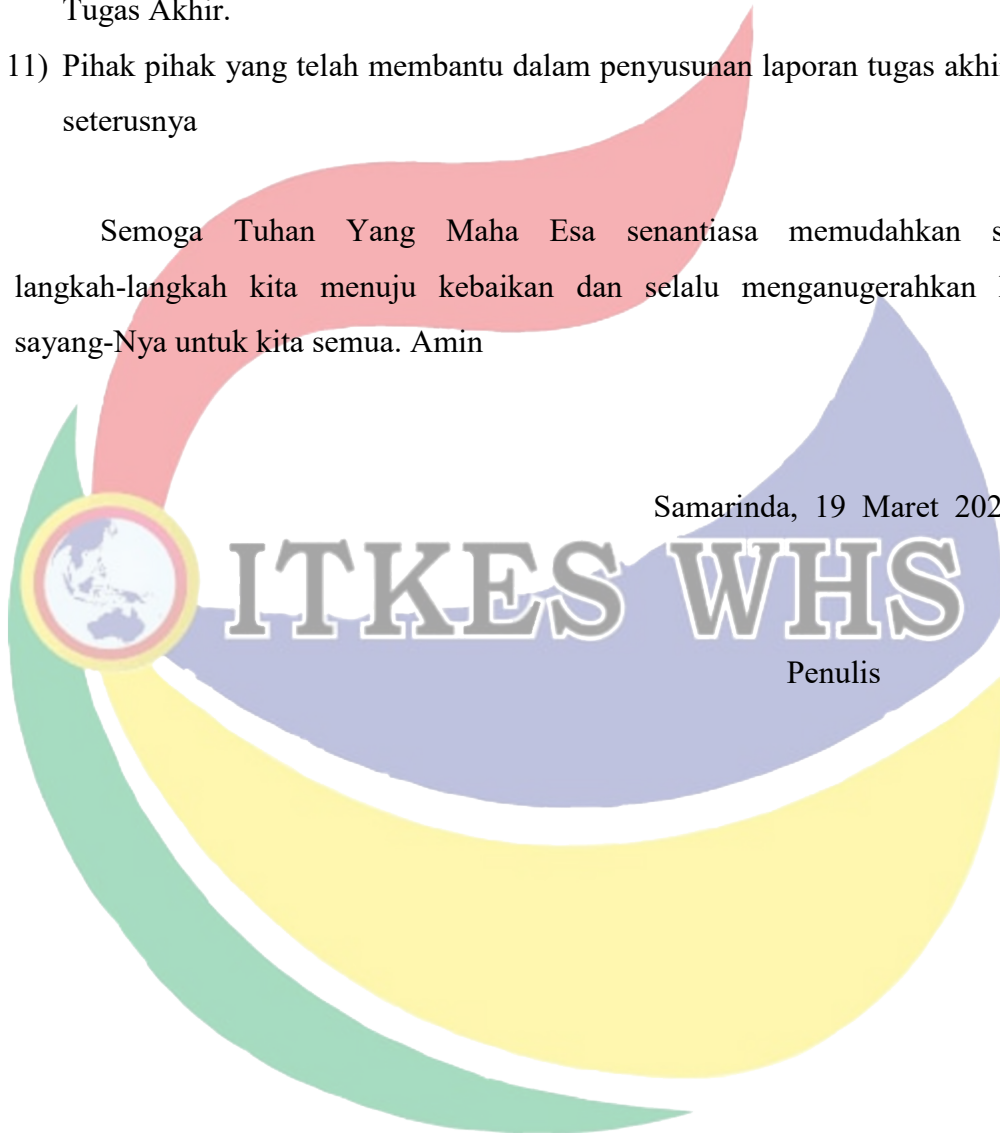
- 1) Bapak Mujito Hadi, MM selaku Ketua Yayasan ITKES Wiyata Husada samarinda
- 2) Bapak Dr. Eka Ananta Sidharta, S.E., Ak., CA., CSRS., CSRA., CfrA. selaku Ketua ITKES Wiyata Husada Samarinda
- 3) Ibu Siti Raudah, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda. Terima kasih atas masukan dan semua ilmu yang telah diberikan dan juga dedikasinya terhadap Analis Kesehatan.
- 4) Bapak dr. Edison Harianja, SP.PK selaku pembimbing 1 saya dan Bapak Agus Joko Praptomo, S.Si.,M.Si selaku dosen pembimbing 2 saya yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir .
- 5) Bapak dr. Didi Irwadi, Sp.Pk.,M.Kes selaku penguji 1 saya yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan kepada saya dalam menyelesaikan Laporan Tugas Akhir.
- 6) Ibu Hj. Huzaimah, S.KM., M.Si., selaku penguji 2 saya yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan kepada saya dalam menyelesaikan Laporan Tugas Akhir.
- 7) Kepala Instalasi dan Kepala Ruangan Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda
- 8) Kedua orang tua saya (Bapak Aswin dan Ibu Norhayati) beserta saudara dan keluarga saya yang selalu memberikan dukungan dan mendoakan saya untuk

selalu maju dan sukses selama melakukan Laporan Tugas Akhir.

- 9) Seluruh Bapak dan Ibu dosen DIII Analis Kesehatan Institut Teknologi Kesehatan & Sains Wiyata Husada Samarinda atas ilmu yang telah diberikan.
- 10) Seluruh teman-teman Analis Kesehatan 3B angkatan 2017 yang sudah memberikan dukungan dan membantu saya dalam menyelesaikan Laporan Tugas Akhir.
- 11) Pihak pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan tugas akhir dan seterusnya

Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa memudahkan setiap langkah-langkah kita menuju kebaikan dan selalu menganugerahkan kasih sayang-Nya untuk kita semua. Amin

Samarinda, 19 Maret 2020



LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Julpani Saputra
NIM : 1730606103
Program studi : D-III Analis Kesehatan

Dengan ini menyetujui dan memberikan hal kepada ITKES Wiyata Husada Samarinda atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pemeriksaan HBV DNA metode PCR di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak ini, ITKES Wiyata Husada berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Samarinda, 19 Maret 2020

Yang menyatakan

(Julpani Saputra)

ABSTRAK

Pemeriksaan HBV DNA metode PCR di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

Julpani Saputra¹, Edison Harianja², Agus Joko Praptomo³

Latar belakang : Hepatitis adalah suatu penyakit yang ditandai dengan suatu peradangan yang terjadi pada organ hati atau liver. Pemeriksaan ini menggunakan beberapa metode, salah satunya PCR yang menggunakan alat Abbott m2000sp dan Abbott m2000rt. **Tujuan :** Untuk melakukan pemeriksaan, pengamatan, dan analisa pemeriksaan HBV DNA metode PCR. **Tata laksana:** Pengamatan dilakukan pada tanggal 19 Desember 2019 sampai 19 Januari 2020 di laboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. **Hasil :** Terdapat 39 sampel dengan hasil terdeteksi HBV DNA sebanyak 23 sampel dengan persentase (59%) dan hasil tidak terdeteksi HBV DNA sebanyak 16 sampel dengan persentase (41%). Pasien terdeteksi HBV DNA terbanyak pada usia 26 - 45 th sebanyak 13 sampel. **Kesimpulan :** Pemeriksaan HBV DNA metode PCR terdapat 39 sampel dengan hasil terdeteksi 23 sampel (59%) dan tidak terdeteksi 16 sampel (41%). Pasien terdeteksi terbanyak pada usia 26 - 45 th sebanyak 13 sampel.

Kata Kunci : HBV DNA, Menghitung jumlah Virus Hepatitis B DNA, PCR

¹Mahasiswa Program Studi D-III Analis Kesehatan, ITKES Wiyata Husada Samarinda

²Dosen Program Studi D-III Analis Kesehatan, ITKES Wiyata Husada Samarinda

³Dosen Program Studi D-III Analis Kesehatan, ITKES Wiyata Husada Samarinda

ABSTRACT

The Examination HBV DNA Method PCR in RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

Julpani Saputra¹, Edison Harianja², Agus Joko Praptomo³

Background : Hepatitis is a disease that is characterized by an inflammation that occurs in the liver or liver. This examination uses several methods, one of which PCR uses Abbott m2000sp and Abbott m2000rt. **Objective** : To perform examination, observation, and analysis of HBV DNA PCR examination. **Governance** : Observations were made on 19 December 2019 to 19 January 2020 in the microbiology laboratory of Abdul Wahab Sjahranie Hospital Samarinda. **Results** : There were 39 samples with the results of HBV DNA detected by 23 samples with a percentage (59%) and the results of undetected HBV DNA by 16 samples with a percentage (41%). Patients detected the most HBV DNA at the age of 26 - 45 years as many as 13 patients. **Conclusion** : Examination of HBV DNA PCR method, there were 39 samples with the results detected by 23 samples (59%) and not detected by 16 samples (41%). Most patients were detected at the age of 26 - 45 years as many as 13 samples.

Keywords: HBV DNA, Calculating the amount of Hepatitis B Virus DNA, PCR

¹Student of study Program D-III Health Analyst, ITKES Wiyata Husada Samarinda

²Lecturer of study Program D-III Health Analyst, ITKES Wiyata Husada Samarinda

³Lecturer of study Program D-III Health Analyst, ITKES Wiyata Husada Samarinda

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang.....	1
B. Ruang lingkup	2
C. Tujuan	2
D. Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Hepatitis	4
B. Hepatitis B Virus <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>	5
C. Pengendalian Mutu.....	14
D. <i>Good Laboratory Practice</i> (GLP).....	19
E. Keselamatan dan Kesehatan Kerja (K3).....	21
F. Kerangka Teori	28
BAB III TATA LAKSANA TUGAS AKHIR	29
A. Waktu pelaksanaan.....	29
B. Tempat Pelaksanaan tugas akhir	29
C. Metode.....	29
D. Interpretasi Hasil	38
E. <i>Spill Kit</i>	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
A. Gambaran Umum RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.....	40
B. Hasil Pengamatan	42
C. Pemantapan Mutu HBV DNA.....	43
D. <i>Good Laboratory Practice</i> HBV DNA	47
E. Kesehatan dan Keselamatan Kerja	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Virus Hepatitis B *Dane*4
Gambar 2.2 Skema amplifikasi DNA dengan teknik PCR14
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....27



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kode warna limbah klinis	24
Tabel 2.2 Simbol-simbol dan bahan kimia berbahaya	25
Tabel 3.1 Interpretasi hasil	37
Tabel 4.1 Jumlah persentase pasien HBV DNA berdasarkan jenis kelamin	41
Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan HBV DNA berdasarkan umur	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Pemeriksaan HBV DNA Metode PCR di RSUD Abdul Wahab Sjahranie	52
Lampiran 2 Peralatan dan bahan pemeriksaan HBV DNA dilaboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda	54
Lampiran 3 Keselamatan Kesehatan Kerja (K3) dilaboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda	59



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hepatitis adalah suatu penyakit yang ditandai dengan suatu peradangan yang terjadi pada organ tubuh seperti hati atau liver. Istilah hepatitis berasal dari kata hepar (hati/liver) dan itis (peradangan). Keadaan ini mengakibatkan peradangan dan pembengkakan hati, dan kadang-kadang kerusakan hati yang nyata. Sering terjadi bahwa penderita sama sekali tidak merasakan dan menyadari bahwa dirinya sedang terinfeksi oleh virus, karena keluhan yang khas yaitu keluhan seperti flu tidak berkembang segera, bahkan tidak muncul sama sekali. (Misnadiarly, 2007)

Virus Hepatitis B adalah suatu virus DNA yang berlapis ganda (double shelled), dengan diameter 42nm. Bagian luar virus ini terdiri dari HbsAg, sedangkan bagian dalam adalah nukleokapsid yang terdiri dari HBcAg. Didalam nukleokapsid didapatkan kode genetik VHB yang terdiri dari DNA untai ganda (*double stranded*) dengan panjang 3200 nukleotida. (Soehardjo & Gunawan, 2007)

Pada pemeriksaan HBV DNA ini menggunakan metode yaitu PCR (*Polymerase Chain Reaction*) berasal dari *deoxyribonucleic acid* (DNA) *polymerase* yang digunakan replikasi enzim secara *in vitro*. Proses ini dikenal sebagai “reaksi rantai” atau “*chain reaction*” karena template DNA diperbanyak secara eksponensial disetiap siklus penggandaannya. (Mengko, 2013).

Pemeriksaan HBV DNA ini di RSUD Abdul Wahab Sjahranie, karena di RSUD Abdul Wahab Sjahranie terutama di laboratorium Mikrobiologi terdapat pemeriksaan HBV DNA menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) untuk memahami golden Standard pada HBV DNA, diagnostik PCR terhadap HBV DNA, anti Viral mentoring terapi.

Berdasarkan pemaparan diatas, maka penulis ingin melakukan pengamatan laporan tugas akhir RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda, dikarenakan dirumah sakit tersebut melakukan pemeriksaan HBV DNA

menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) dan alat Abbott Molecular 2000sp dan m2000rt di laboratorium Mikrobiologi di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda, dimana pemeriksaan tersebut merupakan judul yang akan penulis amati sebagai laporan tugas akhir.

B. Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam laporan tugas akhir ini adalah tentang pemeriksaan HBV-DNA menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan alat Abbott Molecular 2000sp dan m2000rt di laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.

C. Tujuan

Tujuan dari penulisan laporan tugas akhir ini meliputi tujuan umum dan tujuan khusus yaitu :

1. Tujuan umum

Untuk melakukan pemeriksaan, pengamatan, dan analisa pemeriksaan HBV DNA menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) di laboratorium Mikrobiologi di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.

2. Tujuan khusus

- a. Untuk melakukan pengendalian mutu teoritis laboratorium pemeriksaan HBV DNA di RSUD Abdul Wahab Sjahranie.
- b. Untuk mengetahui *Good Laboratory Practice* (GLP) pemeriksaan laboratorium HBV DNA
- c. Untuk mengetahui Kesehatan dan Keselamatan Kerja di laboratorium mikrobiologi.

D. Manfaat

1. Manfaat bagi akademik

Dapat memberikan penambahan referensi khususnya dibidang Mikrobiologi pada perpustakaan sekolah tinggi ilmu kesehatan samarinda.

2. Manfaat bagi petugas laboratorium kesehatan

Dapat menambah wawasan pelayanan laboratorium tentang HBV DNA metode PCR bagi tenaga kesehatan dalam bekerja dilaboratorium sehingga hasil pemeriksaan lebih akurat



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hepatitis

Hepatitis adalah suatu penyakit yang ditandai dengan suatu peradangan yang terjadi pada organ hati atau liver. Istilah hepatitis berasal dari kata hepar (hati/liver) dan itis (peradangan). Keadaan ini mengakibatkan peradangan dan pembengkakan hati, dan kadang-kadang kerusakan hati yang nyata. Sering terjadi bahwa penderita sama sekali tidak merasakan dan menyadari bahwa dirinya sedang terinfeksi oleh virus, karena keluhan yang khas yaitu keluhan seperti flu tidak berkembang segera, bahkan tidak muncul sama sekali. (Misnadiarly, 2007)

Hepatitis merupakan penyakit yang serius. Penyakit ini banyak dikenal sebagai penyakit kuning, padahal kekuningan (kuku, mata, kulit) hanya salah satu gejala dari penyakit hepatitis itu. (Misnadiarly, 2007)

Diperkirakan 4-40 juta penduduk Indonesia mempunyai kemungkinan mengidap hepatitis (semua tipe), dan hepatitis B menduduki urutan pertama dalam hal jumlah penderita. Namun demikian hanya sedikit orang saja yang mengetahui tentang penyakit ini. (Misnadiarly, 2007).

Penularan virus ini dapat terjadi melalui hubungan seksual, baik secara vaginal, anal, maupun oral. Selain itu berbagi alat cukur, sikat gigi, atau jarum suntik yang telah terkontaminasi dengan darah penderita juga meningkatkan resiko tertularnya penyakit ini (Misnadiarly, 2007).

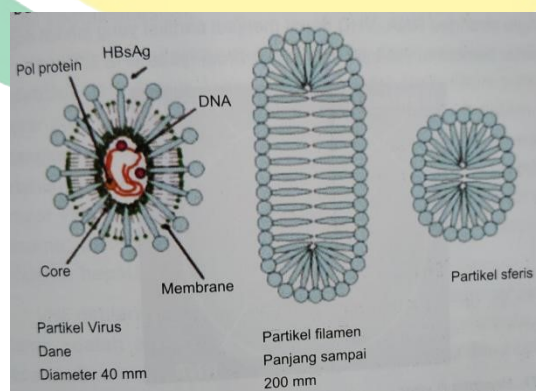
Penyakit hepatitis yang disebabkan oleh virus hingga sekarang belum ditemukan obatnya. Tindakannya yang paling tepat adalah pencegahan baik tindakan sehari-hari maupun secara vaksinasi. Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, sampai sekarang telah dikenal dengan 7 macam hepatitis virus, yaitu Virus Hepatitis A (VHA), Virus Hepatitis B (VHB), Virus Hepatitis C (VHC), Virus Hepatitis D (VHD), Virus Hepatitis E (VHE), Virus Hepatitis F (VHF), Virus Hepatitis G (VHG) (Hadi, 2000).

B. Hepatitis B Virus *Deoxyribo Nucleic acid*

Virus Hepatitis B adalah Suatu virus DNA yang berlapis ganda (double shelled), dengan diameter 42nm. Bagian luar virus ini terdiri dari HbsAg, sedangkan bagian dalam adalah nukleokapsid yang terdiri dari HbcAg. Didalam nukleokapsid didapatkan kode genetik VHB yang terdiri dari DNA untai ganda (double stranded) dengan panjang 3200 nukleotida. (Soehardjo & Gunawan, 2007)

HBV termasuk dalam famili Hepadnaviridae genomnya merupakan pastially double stranded DNA yang tersusun atas sekitar 3200 nukleotida. Mempunyai 4 open reading frame (ORF), yaitu ORF C yang menyandi sintesa protein core (HBcAg) dan antigen e (HbeAg), ORF P yang menyandi sintesa protein polimerase, ORF S yang menyandi sintesa protein permukaan virus (HBsAg), dan ORF X yang menyandi sintesa protein X, suatu protein trans-activator translasi. Urutan rangkaian nukleotida dari genom HBV bisa berbeda-beda, antara lain tergantung tipe jaringan (etnis) hostnya. (Sulaiman dkk, 2010)

Anggota famili Hepadnaviridae ini merupakan kecil, sekitaran 42 nm, mengandung DNA sirkular yang *double stranded partial*, dengan virion yang juga mengandung polimerase DNA. Virus mempunyai *core nukleokapsid* dengan selubung yang mengandung lipid. *Hepadnavirus* merupakan penyebab penyakit hepatitis yang akut maupun kronis yang apabila infeksiya menetap dapat meningkatkan terjadinya resiko kanker hati. Mempunyai 3 bentuk morfologi, yaitu bentuk Sferis, bentuk filamen, dan bentuk partikel *Dane*. (Soedarto, 2010)



Gambar 2.1 Hepatitis B Virus Dane dan partikel tak lengkap

(Sumber : Hunt,R. Microbiology and Immunology Online, University of South California)

Bila individu terinfeksi HBV, tanda-tanda dapat diketahui melalui pemeriksaan serologik, baik pemeriksaan terhadap antigen virus maupun terhadap respon imun host serta pemeriksaan virologik yaitu pemeriksaan HBV-DNA petanda serologik dari bagian *core virion* menunjukkan berlangsungnya replikasi virus, dengan demikian hepatitis B e antigen (HBeAg) berkorelasi dengan berlangsungnya replikasi virus (tingginya jumlah virus dalam darah). HBeAg muncul selama serangan akut, kemudian menghilang apabila penderita mengalami penyembuhan. HBeAg tetap bertahan pada individu yang menderita penyakit kronik atau pada infeksi kronik fase *immune toleranse*. Antibodi terhadap HBeAg (anti-Hbe), merupakan parameter kurang aktifnya virus dan petanda relatif rendahnya infeksi. (Sulaiman dkk, 2010).

1. Pemeriksaan HBV-DNA

Pemeriksaan HBV-DNA (*Hepatitis B Virus Deoxyribonucleic Acid*) setelah skrining serologik dan menunjukkan adanya infeksi VHB replikatif, maka pemeriksaan selanjutnya HBV DNA dilakukan. Hal ini secara umum dilaksanakan untuk menetapkan bahwa penderita masuk kategori harus diobati atau tidak (*Final Diagnostik*), mengawasi efektivitas dan kepatuhan pengobatan, serta mengidentifikasi jenis yang resisten atau untuk mengidentifikasi adanya jenis *pre-core* mutan VHB. (Sulaiman dkk, 2010)

Pemeriksaan HBV-DNA awalnya merupakan parameter jumlah virus kuantitatif data dasar, dan pengukur selanjutnya yang berkelanjutan selama pemantauan lanjutan sangat direkomendasikan. Pemantauan dipandang penting untuk menentukan apabila dipertimbangkan perubahan regimen obat pada pasien. Lebih lanjut, metode yang sensitif untuk perhitungan kuantitatif diperlukan guna virus dengan mendeteksi viremia dalam jumlah rendah pada pasien yang terinfeksi virus dengan

resiko tinggi karsinoma hepatoselular. Resiko tinggi tersebut didapatkan pada jenis HbeAg negatif dengan mutasi *precore*. (Sulaiman dkk, 2010)

Salah satu kriteria yang telah disetujui untuk infeksi HBV kronik adalah terdeteksi kadar virus yang terukur sebagai DNA di dalam serum atau plasma minimal 6 selama bulan. Pada kasus ini, refleksi dianggap aktif bila dapat dideteksi HBV-DNA sebanyak >20.000 UI/ml atau >100.000 kopi/ml, sedangkan pada kasus dengan anti-Hbe positif muatan virus hanya diperlukan lebih dari >10.000 kopi/ml. Lebih lanjut pengukuran HBV-DNA baik secara kuantitatif dan kualitatif penting untuk memantau kondisi lain, misalnya *accult* hepatitis. Hal ini dicirikan dengan infeksi virus hepatitis B dengan kadar HBV-DNA yang terukur sementara HbsAg sudah terdeteksi. Uji untuk kemungkinan adanya infeksi virus hepatitis B *accult* direkomendasikan bila (a) ada kecurigaan penyakit hati kriptogenik (b) berhubungan dengan immunosupresi, dan (c) donor transplantasi organ dengan serologi VHB positif terdapat rekomendasi bahwa jumlah virus sebaiknya diukur tiap 3-6 bulan terapi. (Sulaiman dkk, 2010)

2. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1985. Nama PCR (*Polymerase Chain Reaction*) berasal dari *deoxyribonucleic acid* (DNA) *polymerase* yang digunakan replikasi enzim secara *in vitro*. Proses ini dikenal sebagai “reaksi rantai” atau “*chain reaction*” karena template DNA diperbanyak secara eksponensial disetiap siklus penggandaannya. (Mengko, 2013)

Metode PCR telah dimodifikasi dan digunakan dibidang molekuler, mikrobiologi, genetika, diagnosis, klinis, forensik, dan laboratorium lingkungan. Setiap pemeriksaan bakteri atau virus dengan menggunakan PCR memiliki protokol tersendiri, protokol ini berisi prosedur dalam melakukan reaksi dan parameter yang perlu diatur dalam sampel. (Mengko, 2013)

3. Prinsip Kerja PCR

Secara umum teknik PCR terbagi atas empat tahap, yaitu initialization (pra-denaturasi) dapat dilakukan sekali pada awal proses PCR untuk memastikan putusya untai ganda DNA menjadi dua untai tunggal. Bila menggunakan Taq DNA polymerase, suhu yang digunakan pada initialization umumnya 94-95 °C. Tahap kedua, yaitu denaturasi DNA (denaturing), tahap penempelan primer (annealing) dan tahap pemanjangan (elongation). Tahap denaturasi merupakan tahap awal dari teknik PCR. Pada tahap denaturasi, untai ganda DNA template mengalami denaturasi (proses perubahan sifat suatu benda) yang disebabkan oleh suhu yang sangat tinggi. Pada umumnya denaturasi terjadi pada kisaran suhu 93-100 °C. Tahap ketiga merupakan tahap penempelan primer (annealing) di daerah yang komplementer dengan DNA template yang telah terdenaturasi dengan menurunkan suhu hingga mendekati 50-60 °C. (Buwono dkk, 2018)

Spesifitas reaksi bergantung pada suhu annealing. Suhu optimal untuk proses annealing umumnya berkisar antara 3-5°C di bawah melting temperature (T_m) atau suhu lebur dari primer yang digunakan. Nilai T_m ditentukan oleh urutan dan panjang nukleotida primer yang secara umum diperkirakan berdasarkan rumus $[(\text{jumlah G+C}) \times 4^\circ\text{C} + (\text{jumlah A+T}) \times 2^\circ\text{C}]$. Suhu tinggi menyebabkan spesifitas yang tinggi pula, namun amplifikasi akan lebih efisien jika proses annealing dilakukan pada suhu yang lebih rendah dari T_m meskipun sebagai akibatnya spesifitas akan menurun. (Buwono dkk, 2018)

Tahap keempat adalah tahap pemanjangan primer (elongation) dengan bantuan enzim DNA polimerase dan campuran nukleotida (dNTP). Tahap ini umumnya berlangsung pada suhu 72°C. (Buwono dkk, 2018)

Ketiga tahap ini (denaturasi, annealing, elongation) merupakan siklus dalam teknik PCR yang terjadi secara berulang-ulang paling sedikit 20 siklus. Final elongation dan final hold masing-masing dilakukan sekali setelah elongation siklus terakhir. Final elongation

dilakukan untuk memastikan teramplifikasinya semua sekuan DNA target, dengan pengaturan suhu seperti elongation. Final hold dilakukan pada suhu 4 °C, untuk penyimpanan sementara setelah selesainya keseluruhan siklus PCR. Reaksi polimerisasi atau elongasi pada dasarnya merupakan proses pemanjangan rantai polipeptida yang dilakukan oleh DNA polimerase isozim. Protein adalah produk dari gen dan alel-alel yang berbeda pada gen mungkin menghasilkan protein dengan komposisi asam amino yang berbeda. Perbedaan muatan atau urutan dapat dideteksi dengan menggunakan gel elektroforesis. Kelemahan analisis keragaman menggunakan isozim adalah jumlah lokus penanda ini terbatas dan tidak terdapat pada semua jaringan, serta tergantung pada tahap perkembangan organisme yang bersangkutan. (Buwono dkk, 2018)

Penanda molekular DNA ini pada prinsipnya tidak berbeda dengan penanda-penanda genetik lainnya, hanya saja penanda genetik DNA ini dapat dikembangkan dengan cepat dan dalam jumlah yang lebih banyak. Dengan banyaknya jumlah penanda ini memungkinkan untuk memberikan informasi genetik yang konsisten dalam kromosom. Hal ini memungkinkan untuk membuat peta genetik dari gen-gen yang berdekatan dengan penanda DNA tersebut. Disamping itu, keunggulan penanda ini adalah lebih efisien, tidak dipengaruhi oleh faktor luar, dan dapat dilakukan setiap saat, walaupun dibandingkan menggunakan penanda morfologi teknik ini cukup rumit dan mahal. (Buwono dkk, 2018)

Penanda DNA adalah sebagian kecil daerah yang khas pada DNA yang dapat menunjukkan fragmen polimorfisme yang berbeda pada masing-masing individu dalam satu spesies. Fragmen tersebut bisa dideteksi melalui dua pendekatan, yaitu hibridisasi asam nukleat, misalnya RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) atau melalui amplifikasi segmen DNA dengan berbasis PCR, seperti Mikrosatelit, RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) dan AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). (Buwono dkk, 2018)

Keberhasilan PCR sangat ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu (1) *deoksiribonukleotida triphosphat* (dNTP), (2) *oligonukleotida primer*, (3) DNA template (cetakan), (4) komposisi larutan buffer,. Keunggulan metode PCR adalah kemampuannya dalam melipatgandakan suatu fragmen DNA sehingga dapat mencapai 10^9 kali lipat. Dengan demikian, kontaminasi fragmen DNA dalam jumlah sangat sedikit sekalipun dapat menyebabkan terjadinya kesalahan yaitu dengan didapatkannya produk amplifikasi yang tidak diinginkan. Kontaminasi tersebut dapat berasal dari beberapa sumber, antara lain dari reaksi-reaksi PCR yang dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, dalam melakukan PCR perlu diperhatikan beberapa hal (Yuwono, 2006)

a. *Deoksiribonukleotida Triphosphat* (dNTP)

Larutan stok dNTP yang akan digunakan dalam PCR sebaiknya dinetralkan menjadi pH 7,0. Untuk menentukan konsentrasinya sebaiknya digunakan metode spektroskopi. Larutan stok tersebut kemudian perlu dituang dalam volume kecil (*aliquot*) dengan konsentrasi 1mM dan disimpan pada suhu -20°C . Konsentrasi masing-masing dNTP yang diperlukan dalam PCR berkisar antara 20-200 μM dan keempat dNTP yang digunakan sebaiknya mempunyai konsentrasi yang sama untuk memperkecil kemungkinan kesalahan penggabungan nukleotida selama proses polimerisasi. Sebagai patokan, konsentrasi masing-masing dNTP sebesar 20 μM dalam 100 μl secara teoritis cukup untuk menyintesis 2,6 Hg atau 10 pmol DNA yang mempunyai panjang 400 bp (Yuwono, 2006)

b. *Oligonukleotida Primer*

Konsentrasi primer yang optimal berkisar antara 0,1 - 0,5 μM , meskipun konsentrasi primer sampai 1,0 μM masih dapat menghasilkan produk yang sangat spesifik. Konsentrasi primer yang lebih tinggi dari 1,0 μM dapat menyebabkan terakumulasinya hasil polimerisasi yang nonspesifik. Panjang oligonukleotida yang digunakan sebagai primer umumnya 18 -28 nukleotida dan mempunyai kandungan G + C sebesar 50 -60%. Sekuen

oligonukleotida primer sebaiknya dicek apakah mempunyai kemungkinan membentuk hibrid antara *primer* yang satu dengan *primer* lainnya. Di samping itu, jika memungkinkan sebaiknya dihindari pula rancangan (design) primer yang mempunyai nukleotida C atau G secara berurutan tiga atau lebih pada ujung 3' karena hal ini dapat menyebabkan kesalahan peng-awal-an (mispriming) terutama pada daerah-daerah yang kaya akan sekuen G + C (Yuwono, 2006)

Primer-primer yang digunakan (primer sense dan primer antisense) sebaiknya mempunyai nilai T_m (*melting temperature*) yang serupa. T_m adalah suhu pada saat setengah dari molekul DNA mengalami denaturasi. Nilai T_m oligonukleotida dapat dihitung dengan menggunakan formula $T_m = 2^\circ\text{C} \times (\text{A} + \text{T}) + 4^\circ\text{C} \times (\text{G} + \text{C})$.

Urutan sekuen oligonukleotida primer dapat berupa urutan yang dapat berhibridisasi secara spesifik dengan suatu molekul DNA cetakan atau dapat bersifat "universal". Primer universal adalah suatu primer yang komplementer dengan suatu sekuen nukleotida yang umum terdapat dalam banyak molekul DNA sehingga dapat berhibridisasi dengan bermacam-macam DNA cetakan. Sebagai contoh, gen yang mengode RNA ribosom pada bakteri mengandung suatu urutan nukleotida yang terdapat pada semua bakteri. Dengan demikian, primer universal dapat dirancang sehingga dapat bersifat komplementer dengan sekuen tersebut. Di dalam sel hewan terdapat urutan nukleotida yang dikenal sebagai gen *alu*. Pada genom manusia terdapat sekitar 900.000 kopi gen *alu*. Gen *alu* tersebut dapat digunakan untuk merancang primer universal yang dapat diterapkan untuk bermacam-macam sel hewan (Yuwono, 2006)

c. DNA Cetakan

DNA cetakan yang digunakan sebaiknya berkisar antara 10^5 – 10^6 molekul. Cara perhitungan untuk menentukan banyaknya molekul DNA cetakan dapat dilihat pada appendix. DNA cetakan yang digunakan dapat berupa DNA yang sudah dimurnikan dengan sentrifugasi gradien CSCI maupun dengan menggunakan sel yang

dicampur dengan komponen PCR yang lain. Pada waktu suhu inkubasi PCR mencapai 95°C, yang dimaksudkan untuk mendenaturasi DNA, sudah cukup untuk merusak sel yang memungkinkan oligonukleotida primer menempel pada DNA cetakan yang ada di dalam sel. DNA yang digunakan sebagai cetakan dapat berupa rantai-tunggal maupun rantai-ganda. Efisiensi amplifikasi biasanya lebih tinggi jika menggunakan molekul DNA yang sudah dilinierkan dengan suatu enzim restriksi tertentu daripada kalau menggunakan molekul DNA yang berbentuk sirkular (Yuwono, 2006)

d. Larutan Buffer

Buffer yang dianjurkan untuk melakukan PCR adalah 10 - 50 mM Tris-HCl, pH 8,3 - 8,8 (pada suhu 20°C). Untuk membantu proses penempelan primer (primer annealing), dapat juga ditambahkan KCl sampai konsentrasi 50 mM. Di atas konsentrasi ini, KCl justru akan menghambat aktivitas Taq DNA polimerase. Di samping itu, perlu juga ditambahkan 1,5 mM MgCl₂. Komponen lain yang perlu ditambahkan adalah gelatin atau BSA (bovine serum albumin) sebanyak 0,1 % (berat/volume) dan deterjen sebanyak 0,05-0,1 % untuk mempertahankan kestabilan enzim Taq DNA polimerase (Yuwono, 2006)

Proses sintesis dan penggandaan DNA menggunakan PCR terdiri dari beberapa tahap, yaitu denaturation, annealing, dan extension. Setiap tahap tersebut diatur pada kondisi suhu yang berbeda (Soedarto, 2010)

Berikut ini adalah tiga tahap tersebut :

a) Tahap *initialization* (inisialisasi)

Langkah ini terdiri dari pemanasan reaksi hingga suhu 94-96 ° C (atau 98°C jika polimerase yang sangat termostabil digunakan), yang ditahan selama 1-9 menit. Ini hanya diperlukan untuk DNA polimerase yang memerlukan aktivasi panas dengan PCR. (Buwono dkk, 2018)

- b) Tahap *denaturation* (denaturasi),
merupakan tahap pemisahan sebuah untai ganda DNA agar terpisah menjadi dua buah untai tunggal DNA yang dilakukan pada suhu 94°C. (Soedarto, 2010)
- c) Tahap *annealing* (penempelan),
merupakan tahap awal sintesa DNA secara *in vitro*. Suhu dan waktu yang diperlukan untuk proses *annealing* tergantung dari komposisi dan panjang 18-30 pasang basa, digunakan suhu 55°C selama 1-2 menit. Suhu panjang menurun menjadi 55°C mengakibatkan untai tunggal DNA cenderung akan bergabung dengan untai tunggal DNA tersebut dihambat untuk berpasangan kembali. (Soedarto, 2010)
- d) Tahap *extension* (Perpanjangan),
biasanya dilakukan pada suhu 72°C. Tahap ini merupakan proses pemanjangan primer oleh DNA *polymerase*. DNA *polymerase* dalam keadaan aktif karena adanya perubahan suhu menjadi 72°C. (Soedarto, 2010)
- e) *Final elongation*
Langkah tunggal ini terkadang dilakukan pada suhu 70-74°C selama 5-15 menit setelah siklus PCR berakhir untuk memastikan bahwa ada DNA untai tunggal yang tersisa dan diperpanjang sepenuhnya. (Buwono dkk, 2018)
- f) *Final hold*
Langkah ini pada 4-15 ° C untuk waktu yang tidak terbatas dapat digunakan untuk penyimpanan jangka pendek reaksinya. Untuk memeriksa apakah PCR menghasilkan fragmen DNA yang diantisipasi (terkadang juga disebut sebagai amplimer atau ampikon), elektroforesis gel agarosa digunakan untuk pemisahan ukuran produk PCR. Ukuran produk PCR ditentukan oleh perbandingan dengan tangga DNA (penanda berat molekul), yang mengandung DNA fragmen dengan

ukuran yang diketahui, gunakan gel di samping produk PCR.
(Buwono dkk, 2018)

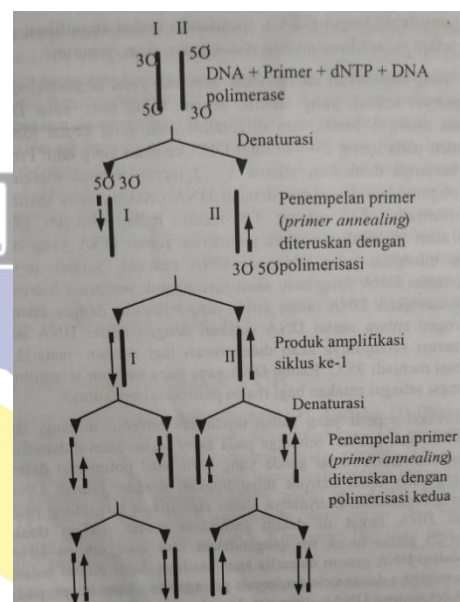
4. Proses Penggandaan DNA Menggunakan PCR

Reaksi pelipatgandaan suatu fragmen DNA dimulai dari melakukan denaturasi DNA *template* (cetakan) sehingga rantai DNA yang berantai ganda (*double stranded*) akan terpisah menjadi rantai tunggal (*singel stranded*). Denaturasi DNA dilakukan dengan menggunakan panas (95°C) selama 1-2 menit kemudian suhu turunkan menjadi (55°C) sehingga *primer* akan “menempel” (*annealing*) pada cetakan yang telah terpisah menjadi rantai tunggal. *Primer* akan membentuk jembatan hidrogen dengan cetakan pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen *Primer*. Suhu 55°C yang digunakan untuk penempelan primer pada dasarnya merupakan kompromi. Amplifikasi akan lebih efisien jika dilakukan pada suhu yang lebih rendah (37°C), tetapi biasanya akan terjadi *mispriming* yaitu penempelan premier pada tempat yang salah. Pada suhu yang lebih tinggi (55°C), spesifisitas reaksi amplifikasi akan meningkat, tetapi secara keseluruhan efisiensinya akan menurun. (Yuwono, 2006)

Primer yang digunakan dalam PCR ada dua yaitu oligonukleotida yang mempunyai sekuen yang identik dengan salah satu rantai DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat, dan oligonukleotida yang kedua identic dengan sekuen pada ujung 3'-OH rantai DNA cetakan yang lain. Proses *annealing* biasanya dilakukan selama 1 - 2 menit. Setelah dilakukan *annealing* oligonukleotida primer dengan DNA cetakan, suhu inkubasi dinaikkan menjadi 72°C selama 1,5 menit. Pada suhu ini DNA polimerase akan melakukan proses polimerasi rantai DNA yang baru berdasarkan informasi yang ada pada DNA cetakan. Setelah terjadi polimerasi, rantai DNA yang baru akan membentuk jembatan hydrogen dengan DNA cetakan. DNA rantai ganda yang terbentuk dengan adanya ikatan hidrogen antara rantai DNA cetakan dengan rantai DNA baru hasil polimerasi selanjutnya akan didenaturasi lagi dengan menaikkan suhu inkubasi menjadi 95°C . Rantai DNA yang baru tersebut selanjutnya

akan berfungsi sebagai cetakan bagi reaksi polimerasi berikutnya. (Yuwono, 2006)

Reaksi-reaksi seperti yang sudah dijelaskan tersebut diulangi lagi sampai 25-30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan didapatkan molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target di dalam campuran reaksi. Paling tidak, diperlukan 25 siklus untuk melipatgandakan satu kopi sekuen DNA target di dalam DNA genom mamalia agar hasilnya dapat dilihat secara langsung, misalnya dengan elektroforesis gel agarose. Akan tetapi, pada umumnya konsentrasi DNA polimerase Taq menjadi terbatas setelah 25-30 siklus amplifikasi. (Yuwono, 2006)



Gambar 2.2 : Skema amplifikasi DNA dengan teknik PCR. I dan II : DNA target yang akan di amplifikasi

— : oligonukleotida primer

→ : DNA baru hasil amplifikasi

(Sumber : Yuwono, Teori dan Amplifikasi *Polymerase Chain Reaction*)

C. Pengendalian Mutu Pemeriksaan HBV DNA

1. Pra Analik

a. Persiapan pasien

Pada pemeriksaan HBV DNA, tidak ada persiapan khusus untuk pasien pengambilan darah/spesimen

b. Pengambilan spesimen

Sebelum melakukan pengambilan spesimen, kita harus mempersiapkan alat-alat yang ingin digunakan seperti, spuit 3cc, tourniquet, alkohol swab dan blanko pemeriksaan. Apabila alat-alat telah siap, maka dilanjutkan dengan pengambilan sampel/spesimen darah. Pertama menyuruh pasien untuk menyebutkan nama, tanggal lahir, dan nomor rekam medik/medis. Jika telah sesuai nama, tanggal lahir dan nomor rekam medik maka pengambilan sampel/spesimen dimulai dengan pemasangan tourniquet diatas siku kurang lebih 2-3 jari, kemudian tangan dikepal, lalu meraba vena pasien, jika vena telah teraba, maka bagian vena di swab menggunakan alkohol swab satu kali swab atau swab memutar ke arah luar, lalu membuka bungkus spuit 3cc dan kencangkan bagian hub dan barrel dan menarik plunger sebanyak tiga kali. Lalu lepas cap spuit dan tusuk bagian vena yang telah diswab alkohol tinggi kurang lebih 2/3 bagian. Setelah spuit mengenai vena, lalu tarik plunger sampai full (3cc) dan masukan masukan sampel pada tabung kimia.

c. Penanganan spesimen

Sampel yang digunakan dalam pemeriksaan adalah Darah. Untuk pasien rawat jalan terlebih dahulu mendaftarkan ke administrasi, identitas akan di input, kemudian diberikan blanko untuk dibawa keruangan sampling (pengambilan sampel Darah), pemberian identitas dan *barcode* pada sampel serta permintaan untuk pemeriksaan yang akan dilakukan.

Petugas akan melakukan sampling pengambilan darah, kemudian darah tersebut dimasukkan kedalam tabung dengan tutup merah atau disebut tabung kimia, lalu sampel tersebut dikirim ke laboratorium mikrobiologi.

Setelah sampel datang ke laboratorium mikrobiologi, sampel akan dicatat nama dan nomor rekam medisnya dibuku khusus HBV DNA kemudian sampel disentrifuge untuk memisahkan serum dan darah selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

Setelah sampel selesai disentrifuge, serum dan darah akan dipisahkan, serum dipindahkan ketabung kimia dan sisa darah tersebut dibuang ke *safetybox*, lalu serum disimpan di kulkas dan dibekukan dengan suhu 2-10°C sekurang-kurangnya 22 sampel untuk 1 set *running* dan 46 sampel untuk 2 set *running*.

Untuk sampel rujukan HBV DNA berupa cup sampel yang telah terisi dengan serum, dicatat dahulu nama dan nomor rekam medisnya apabila telah sesuai, sampel lalu di simpan dikulkas dan dibekukan di suhu 2-10°C.

2. *Quality Control*

a. Abbott m2000sp

- 1) Vortex hingga homogenya kalibrator dan control
- 2) Kemudian masukan 6 botol kalibrator dengan 3 kalibrator A dan 3k kalibrator B dan 3 botol control dengan urutan control negatif, control + dan control ++ ke dalam rak sampel dengan barcode menghadap kekanan. Jika pertama kali pemeriksaan atau setelah 6 bulan dikalibrasi. Untuk pemeriksaan berikutnya hanya control yang dipakai
- 3) Kemudian masukan tabung yang berisi sampel 1 ml (1000µl) ke dalam rak sampel
- 4) Kemudian buka tutup botol kalibrator dan control masukan rak sampel ke dalam alat Abbot m2000sp dimulai dari no 1
- 5) Kemudian tutup pintu m2000sp dan lepaskan sarung tangan.
- 6) Untuk mengetahui hasil pemeriksaan, harus memindahkan data *result* dari alat Abbott m2000sp ke Abbott m2000rt

b. Abbott m2000rt

- 12) Isi aquadest 50 ul ke *well optical reaction*. Tidak boleh ada gelembung

- 13) Lalu tutup menggunakan *cover adhesive optical*.
- 14) Masukkan ke alat Abbott m2000rt
- 15) Tunggu hingga 15 menit

c. Memindahkan data dari alat m2000sp ke m2000rt

- 1) Klik tulisan "*result*" kemudian pilih "*view by PCR Plate*".
- 2) Kemudian pilih nama *PCR Plate* yang diinginkan .
- 3) Kemudian masukan CD-R pada *driver* dan klik tulisan "Export.
- 4) Kemudian keluarkan CD-R pada *drive*
- 5) Kemudian *PCR Plate* dan CD-R dibawa ke Instrument m2000rt

d. Selanjutnya cetak hasil

- 1) Klik tulisan "*Order*" kemudian pilih "*Test Orders*"
- 2) Kemudian klik tulisan "*Import*"
- 3) Kemudian klik tulisan "*Set Up Run*"
- 4) Kemudian masukan "*PCR Plate*" ke dalam alat m2000rt
- 5) Kemudian masukan CD-R yang berisi data dari komputer m2000sp dan klik tulisan "*Next*"
- 6) Kemudian setelah daftar sampel tampil lalu pilih pemeriksaan yang akan diperiksa dan klik tulisan "*Next*"
- 7) Kemudian klik tulisan "*Start*" pada kanan bawah layar dan biarkan alat memproses hasil ekstraksi
- 8) Pada layar monitor akan muncul tampilan perkiraan jam selesai proses
- 9) Setelah pemeriksaan selesai klik tulisan "*Close*"
- 10) Kemudian klik tulisan result lalu klik *View By Plate* untuk melihat hasil pemeriksaan
- 11) Kemudian pilih nama plate PCR yang akan dilihat hasilnya
- 12) Kemudian untuk mencetak hasil klik "*Print Result List*" lalu klik tulisan "*Yes*" maka hasil akan dicetak.

3. Pasca Analitik

Dibawah LLQ (batas bawah kuantitasi atau LloQ); HBV DNA tidak terukur

Hasil dihitung berada dalam jangkauan uji linear. Jika hasil perhitungan diperoleh, bidang interpretasi dibiarkan kosong

>ULQ diatas batas atas kuantitasi atau UloQ; jika hasil UI/ml berada diatas kisaran linear dari uji ini. Hasilnya dilaporkan sebagai >1000000000 UI/mL HBV DNA

D. Good Laboratory Practice (GLP)

1. Teknisi Laboratorium

a. Keterampilan tenaga ditentukan oleh kualitas pendidikan, pelatihan, pengalaman dan kondisi kerja. Tenaga laboratorium harus dilatih untuk menguasai alat dan teknik di laboratorium. Petunjuk menjalankan alat dan prosedur pemeriksaan harus di dokumentasikan dan diletakkan di dekat alat yang bersangkutan. (Praptomo, 2018)

b. Tenaga laboratorium harus diberikan beban kerja seimbang dengan jam yang memadai sehingga dapat bertanggung jawab terhadap kualitas pekerjaan. Untuk mengurangi kejenuhan oleh suatu pekerjaan yang menetap dapat diatur suatu perpustakaan/rotasi pekerjaan yang seimbang beratnya (Praptomo, 2018)

2. Lingkungan

Faktor lingkungan dalam laboratorium medik mencakup keadaan ruangan kerja, pencahayaan, suhu kamar, kebisingan, luas tata ruang dan lain-lain. Keadaan lingkungan ruangan yang sempit dan cahaya yang kurang akan mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium tersebut (Praptomo, 2018)

3. Bahan pemeriksaan

Pembahasan tentang bahan pemeriksaan dilaboratorium media meliputi : cara pengambilan specimen, cara pengiriman specimen, cara penyimpanan specimen dan cara persiapan sampel (Praptomo, 2018)

4. Reagen

a) Reagen sebagai bahan pereaksi harus baik kualitasnya.

b) Pada saat penerima semua reagen yang dibeli harus diperhatikan batas kedaluwarsa, keutuhan wadah/botol dan cara transportasinya.

- c) Reagen yang sudah dekat batas kadaluwarsanya harus dipikirkan apakah akan habis digunakan sebelum batas waktu.
- d) Pada persiapan reagen untuk pemeriksaan perlu dipertimbangkan kualitas air/aquadest sebagai pelarut reagen. Air yang mengandung bahan kaporit akan mempengaruhi reagen untuk pemeriksaan kalsium dan klorida, sedangkan air yang mengandung banyak logam-logam (besi) sangat mempengaruhi pemeriksaan logam-logam tersebut.
- e) Reagen yang belum dilarutkan sifatnya stabil sampai batas kadaluwarsa selama kemasannya utuh.
- f) Pada pemeriksaan reagen perlu diperhatikan lama dan suhu penyimpanan. Reagen yang lebih dulu dibuat digunakan lebih dulu.
- g) Untuk penyimpanan reagen sebaiknya dibuat stok yang memuat tanggal penerimaan, tanggal kadaluwarsa, tanggal wadah reagen dibuka, jumlah reagen yang diambil dan jumlah reagen sisa (Praptomo, 2018)

5. Peralatan

- a) Alat ukur, misalnya mikroskop dan fotometer sebaiknya disimpan dalam lemari yang jauh dari tempat lembab.
- b) Sebelum digunakan untuk pemeriksaan pertama kali, alat-alat ukur harus terlebih dahulu dikalibrasi.
- c) Penggunaan pipet gelas harus benar cara melihat garis meniscus, yaitu harus sederajat dengan mata.
- d) Pipet otomatis, dispenser dan dilutor yang sebenarnya sudah dikalibrasi oleh pabrik juga harus dikalibrasi ulang secara berkala. Semakin sering dipakai dan diubah-ubah maka harus makin sering alat tersebut dikalibrasi ulang.
- e) Cara pemipetan harus dipertahankan, jangan terlalu cepat menghisap cairan karena dapat menyebabkan terjadi gelembung udara sehingga volumenya menjadi lebih sedikit. Jangan memipet 2 (dua) atau lebih bahan pemeriksaan yang berbeda dengan 1 (satu) pipet gelas atau 1 (satu) tiap pipet otomatis yang sama.

- f) Tabung reaksi harus disiapkan sejumlah kebutuhan dengan kondisi bersih dan kering. Beberapa pemeriksaan menuntut penggunaan tabung yang kering, bersih, bebas ion dan tidak boleh mengandung detergen. Untuk itu tabung harus dicuci lebih dulu dengan air ledeng atau sabun, direndam semalam dalam larutan asam encer, dibilas dengan air bebas ion kemudian dikeringkan.
- g) Tidak boleh melakukan modifikasi terhadap volume reagen dan sampel, karena penggunaan volume yang berlebihan dapat mengakibatkan reaksi tidak berjalan dengan sempurna, sebaliknya pengukuran dapat mengakibatkan timbulnya efek matriks. Pencampuran sampel dan reagen kadang-kadang memerlukan waktu yang telah ditetapkan temperature selama pencampuran reaksi dapat terjadi akibat pengaruh cahaya dan udara (penguapan) (Praptomo, 2018)

6. Metode pemeriksaan

Laboratorium yang baik harus mengikuti perkembangan metode pemeriksaan, dengan mempertingkan kemampuan laboratorium harus senantiasa bekerja dengan mengacu pada metode yang digunakan. Metode pemeriksaan untuk tiap parameter harus ditempatkan yang mudah dilihat oleh petugas (Praptomo, 2018).

E. Keselamatan & Kesehatan Kerja (K3)

Keselamatan dan Kesehatan Kerja (K3) adalah suatu aspek atau unsur kesehatan yang erat hubungannya dengan lingkungan kerja dan pekerjaan. Secara langsung maupun tidak langsung keselamatan kerja dapat meningkatkan efisiensi dan produktifitas kerja atau pekerja (ILO dan WHO). Indonesia hingga saat ini masih memiliki tingkat keselamatan kerja yang rendah jika dibandingkan dengan Negara-negara maju yang telah sadar betapa penting regulasi dan peraturan tentang K3 ini untuk diterapkan (Ramli, 2010).

1. Alat Pemadam Api Ringan (APAR)

- a. Apar jenis air, beisi cairan air biasa yang umumnya bervolume sekitar 9 liter dengan jarak semprotnya mencapai 20-25 inci

selama 60-12 detik. Apar ini sangat efektif untuk memadamkan kebakaran jenis A.

- b. Apar jenis debu kering, ini terdiri atas sodium bikarbonat 97%, magnesium steatite 1,5%, magnesium karbonat 1% dan trikalsium karbonat 0,5%, jarak semprotan mencapai 15-20 inci dengan waktu semprotan hingga 2 menit. Sangat efektif untuk tipe kebakaran kelas A,B dan C. namun debu yang ditinggalkan apar ini dapat merusak bahan-bahan tertentu seperti mesin dan bahan makanan.
- c. Apar jenis gas, terdiri dari cairan karbondioksida dan BCF dalam tekanan dan berukuran berat 2-5 lbs. Jarak semprotan biasa mencapai 8-12 inci dengan waktu semprotan 8-30 detik saja. Efektif untuk kebakaran kelas B dan C.
- d. Apar jenis buih atau busa (*foam*), alat ini biasanya terdiri atas 2 tabung dalam (aluminium sulfat) dan tabung luar (natrium bikarbonat). Jarak semprotan alat ini berkisar antara 20 inci dengan lama semprotan 30-90 detik. Efektif untuk memadamkan kebakaran kelas B (Ramli, 2010).

2. Pengolahan Limbah

a. Buangan Bahan Berbahaya

1) Pengendapan, koagulasi dan flokulasi

Kontaminasi logam berat dalam limbah cair dapat dipisahkan dengan pengendapan, koagulasi dan flokulasi. Tawas, garam besi dan kapur amat efektif untuk mengendapkan logam berat dan partikel koloidnya. Contoh: 50 mg/ FeCl_3 yang membentuk $\text{Fe}(\text{OH})_3$ dapat mengikat arsen, seng, nikel, mangan, dan air raksa. Pengendapan dapat pula dilakukan dengan menambahkan sulfida.

2) Oksidasi-reduksi

Terhadap zat organik dalam limbah dapat dilakukan reaksi oksidasi-reduksi sehingga terbentuk zat yang kurang/tidak toksik.

3) Penukaran Ion

Ion logam berat nikel dapat diserap oleh kation, sedangkan anion beracun dapat diserap oleh resin anion.

b. Limbah Infeksi

Semua limbah infeksi harus diolah dengan cara disinfeksi, dekontaminasi, sterilisasi dan insinerasi. Insinerasi adalah metode yang berguna untuk membuang limbah laboratorium (cair/padat), sebelum atau sesudah di *autoclave* dengan membakar limbah tersebut dalam air insinerasi (*incinerator*). Insinerasi bahan infeksi dapat digunakan sebagai pengganti *autoclave* hanya jika alat insinerasi berada dibawah pengawasan laboratorium dan dilengkapi dengan alat pengontrol suhu dan ruangan bakar sekunder.

Limbah padat harus dikumpulkan dalam kotak limbah yang tutupnya dapat dibuka dengan kaki sebelah dalamnya dilapisi kantong kertas atau plastik. Kantong harus diikat dengan selotipe sebelum diangkat dari dalam kotak.

Pengolahan limbah padat selanjutnya mengikuti hal berikut :

- 1) Biarkan meluruh sehingga mencapai nilai batas yang diijinkan jika limbah mengandung zat radioaktif dengan waktu paruh pendek (30 hari).
- 2) Tambahkan tanah diatomite, larutan formaldehid, kapur atau hipoklorit untuk limbah padat yang mudah busuk (misalnya: bangkai hewan percobaan)
- 3) Lakukan insinerasi jika limbah dapat dibakar (misalnya: kain, kertas) Limbah gas harus dibersihkan melalui penyaringan (filter) sebelum dibuang ke udara. Penyaringan harus diperiksa secara teratur.

c. Limbah Radioaktif

Ada 2 sistem pengelolaan limbah radioaktif :

- 1) Dilaksanakan seluruhnya oleh pemakai secara perorangan dengan memakai proses seluruhan, penguburan atau pembuangan.
- 2) Dilaksanakan secara kolektif oleh instansi pengolahan limbah radioaktif seperti Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN).

Pengolahan limbah radioaktif dibedakan berdasarkan :

- a) Bentuk : cair, padat dan gas.

- b) Tinggi-rendahnya tingkat radiasi gama.
- c) Tinggi-rendahnya aktivitas.
- d) Panjang-pendeknya waktu paruh.
- e) Sifat : dapat dibakar atau tidak

Sebelum diolah limbah cair harus dikumpulkan dalam wadah khusus yang terbuat dari plastik. Tidak dibenarkan menggunakan wadah dari gelas karena dapat pecah. Jika limbah mengandung pelarut organik, wadah harus terbuat dari bahan baja anti karet. Limbah cair dapat dibuang keseluruhan pembuangan jika memenuhi syarat di bawah ini :

- a) Konsentrasi limbah radioaktif berada dibawah nilai batas yang diijinkan.
- b) Limbah radioaktif beraktivitas tinggi dengan memiliki waktu paruh < 30 hari dibiarkan meluruh sampai melewati 5x waktu paruhnya.
- c) Mudah larut dan tersebar dalam air.
- d) Limbah radioaktif beraktivitas rendah diencerkan sampai mencapai nilai atas yang diijinkan untuk dibuang.

Limbah padat harus dikumpulkan dalam kotak limbah dan tutupnya dapat dibuka dengan kaki dan sebelah dalamnya dilapisi kantong kertas atau plastic. Kantong harus diikat dengan selotipe sebelum diangkat dari dalam kotak. Pengolahan limbah pada selanjutnya mengikuti hal berikut:

- a) Biarkan meluruh sehingga mencapai nilai batas yang diijinkan jika limbah mengandung zat radioaktif dengan waktu paruh pendek (<30 hari).
- b) Tambahkan tanah diatome, larutan formaldehid, kapur atau hipoklorit untuk limbah padat yang mudah busuk (misalnya : bangkai hewan percobaan).
- c) Lakukan insinerasi jika limbah dapat dibakar (misalnya: kain, kertas).

Limbah gas harus dibersihkan melalui penyaringan (filter) sebelum dibuang keudara. Penyaringan (filter) harus diperiksa secara teratur. Jika penyaringan (filter) rusak atau tingkat radiasinya mendekati batas yang telah ditentukan, penyaringan (filter) harus diganti. Untuk mencegah

terlepasnya zat radioaktif dari penyaringan (filter), maka penyaringan (filter) harus dibungkus dengan *plastic* polietilen. Untuk keterangan lebih rinci mengenai pengolahan limbah radioaktif oleh pemakai, dapat dilihat dalam petunjuk pengelolaan limbah radioaktif oleh pemakai, dapat dilihat dan dalam ketentuan keselamatan untuk pengelolaan limbah radioaktif. Yang kedua dikeluarkan oleh Batan (Ramli, 2010).

Tabel 2.1 Kode Warna Limbah Klinis

Warna Katong	Jenis Kantong
Hitam	Limbah rumah tangga biasa, tidak digunakan untuk menyimpan atau mengangkut limbah klinis.
Kuning	Semua jenis limbah yang akan dibakar.
Kuning dengan strip hitam	Jenis limbah yang sebaiknya dibakar tetapi bisa juga dibuang di sanitary landfill bila dilakukan pengumpulan terpisah dan pengaturan pembuangan.
Biru muda atau transparan dengan strip biru tua	Limbah untuk <i>autoclaving</i> (pengolahan sejenis) sebelum pembuangan akhir

(sumber: Peraturan Menteri Kesehatan, 2017)

Table 2.2 Simbol-simbol Bahan Kimia Berbahaya

NAMA	KETERANGAN
<p><i>TOXIC</i></p> 	<p>Bahan bersifat beracun dan dapat menyebabkan sakit serius bahkan kematian jika tertelan atau terhirup. Tindakan: Jangan ditelan dan jangan dihirup, hindarkan kontak langsung dengan kulit. Contoh : Metanol dan Benzena</p>
<p><i>EXPLOSIVE</i></p> 	<p>Bahan kimia yang begitu sangat mudah meledak karna adanya panas atau percikan bunga api, gesekan ataupun benturan. Tindakan: Hindarkan dari pukulan atau benturan pemanasan gesekan api dan sumber nyala lain bahkan tanpa oksigen atmosferik. Contoh: KClO₃</p>
<p><i>FLAMMABLE</i></p> 	<p>Bahan kimia yang memiliki titik nyala rendah, mudah terbakar dengan api, permukaan metal panas ataupun loncatan bunga api. Tindakan: Jauhkan dari benda yang berpotensi mengeluarkan api. Contoh : Minyak</p>
	<p>Bahan bersifat korosif mampu merusak jaringan hidup, dapat mengakibatkan iritasi pada kulit dan gatal-gatal. Tindakan: Hindari kontak langsung dengan kulit dan hindari dari benda yang bersifat logam. Contoh: HCl, H₂SO₄, an NaOH.</p>

CORROSIVE



DANGEROUS FOR ENVIRONMENT



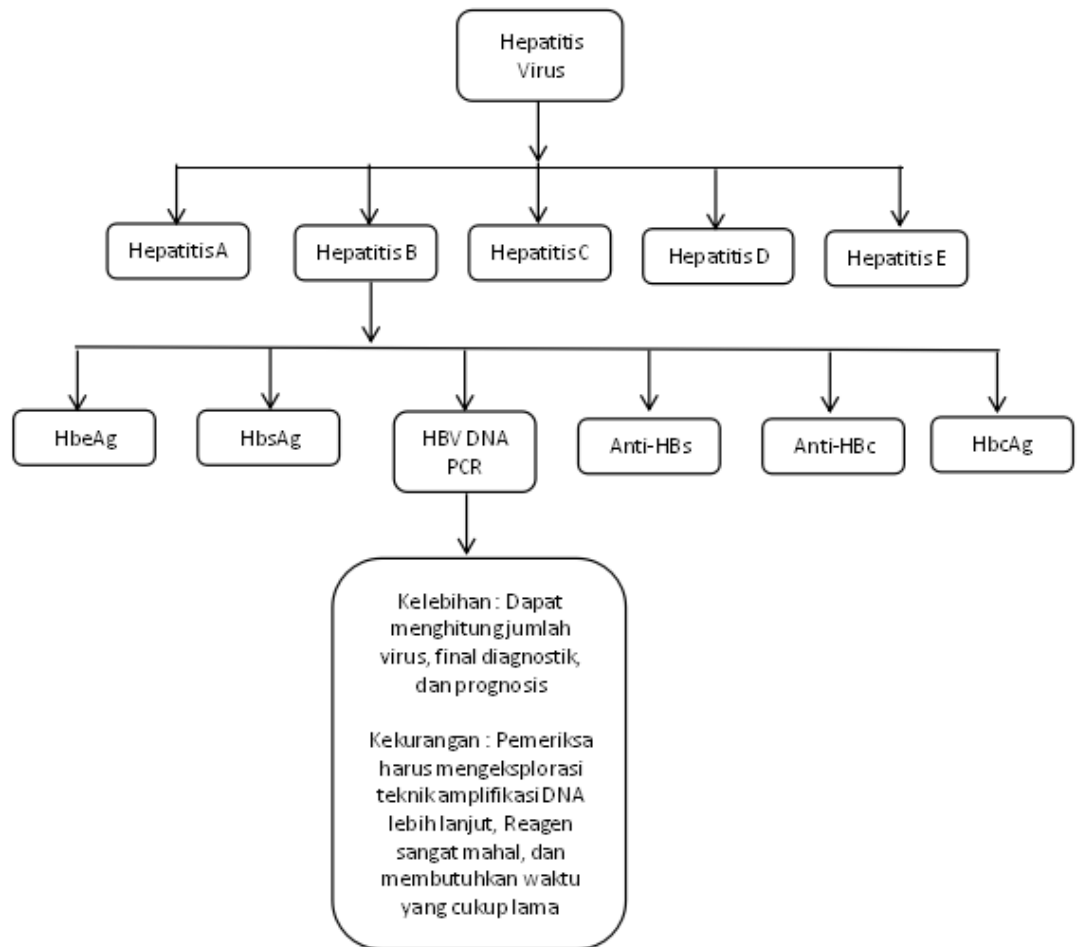
THE Bahan kimia yang sangat berbahaya bagi satu ataupun beberapa komponen lingkungan dapat mengakibatkan kerusakan ekosistem. Tindakan: Hindarkan kontak ataupun bercampur dengan lingkungan yang mampu membahayakan makhluk hidup. Contohnya: Tributyl timah klorida, Tetraklorometan dan Petroleum bensin.

(Sumber : Murjana, 2019)

3. *Spill Kit*

Terdapat *spill kit* di laboratorium patologi klinik yaitu bertujuan untuk menangani cairan infeksius yang tumpah. Isi dari *spill kit* terdiri dari : kotak *spill kit*, celemek/apron disposable, masker, sarung tangan *disposable*, kacamata, kain atau bahan yang bisa menyerap cairan tubuh, plastic kuning, sapu dan sekop kecil, pinset, desinfektan cairan klorin 0,5% dan *handrub*, tanda pembatas tumpahan cairan (Ramli, 2010).

F. KERANGKA TEORI



Gambar : 2.3 Kerangka Teori

BAB III

TATA LAKSANA TUGAS AKHIR

A. Waktu Pelaksanaan Tugas Akhir

Pelaksanaan tugas akhir dilakukan pada 19 Desember 2019 sampai dengan 19 Januari 2020

B. Tempat Pelaksanaan Tugas Akhir

Pelaksanaan tugas akhir ini di Rumah Sakit Daerah Umum Abdul Wahab Sjahranie

C. Metode

PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

1. Alat

- a. Abbott Molecular 2000sp RealTime System
- b. Abbott Molecular 2000rt
- c. *Disposable Tips (DiTi) Cone wrench*
- d. *Tissue* tanpa serat /kimwipes
- e. Klinipipet 1000 μ l
- f. Klinipipet 500 μ l
- g. Klinikipet 100 μ l
- h. *Reaction Vessel* 5 ml
- i. *Reagent Vessel* 200ml
- j. *Disposable Tips* 1000 μ l
- k. *Disposable Tips* 200 μ l
- l. *Disposable Tips Tray*
- m. *Deep Well Plate*
- n. *Master Mix Tubes*
- o. *Optical Reaction Plate*
- p. *Abbott Splash Free Support Base*
- q. *Adhesive Cover*
- r. *Adhesive Cover Aplicator*
- s. *mSystem Wrench*
- t. *Biohazar Bag*

- u. Gelar ukur 100 ml
- v. Pipet Ukur 10 ml

2. Bahan

- a. *Abbott mSampel Preparation System DNA*
- b. *Abbott Amplification System DNA*
- c. *Abbott mProteinase K*
- d. *Abbott Internal Control HBV DNA*
- e. *Absolute Etanol*
- f. *Alcohol 70%*
- g. Aquadest
- h. *Bayclin 1%*

3. Prinsip

Uji Abbott RealTime HBV menggunakan PCR untuk melepaskan produk yang diamplifikasi dari genom DNA HBV dalam spesimen klinis. Urutan DNA yang tidak terkait dengan urutan target HBV dimasukkan ke setiap spesimen pada awal persiapan sampel. Urutan DNA yang tidak terkait ini secara bersamaan diperkuat oleh PCR dan berfungsi sebagai kontrol Internal (IC) untuk menunjukkan bahwa proses telah berjalan dengan benar untuk setiap sampel. Jumlah urutan target HBV yang ada pada setiap siklus amplifikasi diukur melalui penggunaan oligonukleotida berlabel fluorescent yang secara spesifik terikat pada produk yang diamplifikasi. Siklus amplifikasi di mana sinyal fluoresensi terdeteksi oleh Abbott m2000rt berbanding terbalik dengan log konsentrasi DNA HBV yang ada dalam sampel asli.

4. Prosedur kerja

- a. Menghidupkan alat Abbott Molecular m2000sp
 - 1) Sambungkan UPS dengan sumber listrik.
 - 2) Kemudian hidupkan UPS dengan sumber listrik dengan menekan tombol “On” dan tunggu beberapa saat.
 - 3) Kemudian hidupkan alat Abbott m2000sp dengan menekan tombol “On”

- 4) Kemudian hidupkan CPU computer dengan menekan tombol “ON”
 - 5) Kemudian diisi nama pengguna “admin1” dan password nya “labpk” lalu klik tanda “Ok”
 - 6) Kemudian klik tulisan “Start” pada status instrument di layar *computer* dan akan memakan proses selama 2-3 menit.
 - 7) Kemudian instrument akan berubah status dari “Stopped” ke “Initalizing” dan pada akhirnya “Ready”.
- b. Persiapan alat Abbott Molecular 2000sp
- 1) Klik tulisan “system” kemudian pilih “Maintenance prosedur”.
 - 2) Kemudian klik tulisan “set up run” dan klik tulisan “start” pada sebelah kanan bawah layar untuk memulai.
 - 3) Kemudian klik tulisan “close”.
 - 4) Kemudian buka pintu m2000sp lalu bagian syringe “dilutor” diperiksa dengan mengencangkan sambungan dan lakukan pada 8 *chanel syringe*.
 - 5) Kemudian pintu m2000sp ditutup dan klik tulisan “resume”.
 - 6) Kemudian klik tulisan “close”.
 - 7) Kemudian buka pintu m2000sp lalu bersihkan bagian “DiTi cone” dengan menggunakan kimwipes yang telah dibasahi alcohol 70% dan lakukan pada 8 *chanel DiTi cone* lainnya.
 - 8) Kemudian pintu m2000sp ditutup dan klik tulisan “resume”.
 - 9) Kemudian klik tulisan “close”.
 - 10) Kemudian buka pintu m2000sp lalu bagian *worktable* dibersihkan dengan *bleach* dengan urutan dari sisi kanan sampai sisi kiri *worktable* dan diamkan selama 5 menit.
 - 11) Kemudian bersihkan lagi dengan *aquades* dari sisi kanan ke kiri.
 - 12) Kemudian bersihkan lagi dengan *alcohol 70%* dari sisi kanan ke kiri.
 - 13) Kemudian bagian “Output deck” dan “subsystem” dibersihkan dengan *alcohol 70%*.

- 14) Kemudian periksa level tangka aquadest dibawah alat dan jika kurang dirambah dengan aquadest.
 - 15) Kemudian periksa tempat limbah cair dan jika penuh dibuang limbahnya, dan dinilas dengan air.
 - 16) Kemudian periksa tempat limbah padat dan jika penuh diganti dengan wadah baru.
 - 17) Kemudian pintu m2000sp ditutup dan klik tulisan “*resume*”.
 - 18) Kemudian alat Abbott m2000sp akan menjalankan program *extensive flush*.
 - 19) Kemudian setelah selesai klik tulisan “*close*” dan kembalikan tampilan monitor ke menu utama dengan memilih gambar rumah.
- c. Persiapan Reagen Ekstraksi
- 1) Masukkan rak DiTi 1000 μ l pada dinding m2000sp hingga penuh kecuali rak nomor 1 harus kosong.
 - 2) Kemudian pada *carrier* DiTi 1000 μ l dan 200 μ l pada *worktable* :
 - 3) Salah satu rak DiTi harus penuh
 - 4) Pada re-use rak diletakan rak DiTi bekas dengan “*Deep Well Plate*” dibawah
 - 5) Kemudian masukann”*Deep well plate*” pada *output deck*”
 - 6) Kemudian letakan “*Reaction Vessel*” pada “*sub system carrier*” sesuai dengan jumlah sampel dan ditutup
 - 7) Kemudian pasang label barcode reagen pada “*reagent Vassel*” dengan posisi barcode dikanan
 - 8) Kemudian masukan “*reagen vessel*” pada “*reagen vessel carrier*” sesuai dengan posisi yaitu :
 - Reagen Vessel carrier 1
 - Posisi 1 : mLysis
 - Posisi 2 : mProtease K
 - Posisi 3 : mMikroparticles
 - Reagen Vessel Carrier 2
 - Posisi 1 : mWash 1
 - Posisi 2 : mWash 2

Piosisi 3 : mElution Buffer

- 9) Kemudian vortex *Internal control* dan masukan 100µl pada botol mLysis dan dicampurkan, homogenkan
- 10) Kemudian dicampurkan dan homogenkan 17,15 ml aquadest dengan 2,45 ml reagen Protease K untuk pemeriksaan 24 sampel (jika 25-48 sampel dibuat duplo)
- 11) Kemudian masukan 70 ml Absolut Ethanol ke dalam botol “wash 2” dan dicampur homogenkan
- 12) Kemudian masukan masing-masing reagen ke dalam “reagen vessel” sesuai dengan tempat dan urutannya. Dalam memasukan reagen hindari terjadinya gelembung udara pada reagen Vessel
- 13) Kemudian masukan “reagen vessel carrier” ke dalam alat Abbott m2000sp sesuai dengan nomornya

d. Persiapan sampel ekstraksi

- 1) Vortex hingga homogenya kalibrator dan control
- 2) Kemudian masukan 6 botol kalibrator dengan 3 kalibrator A dan 3 kalibrator B dan 3 botol control dengan urutan control negatif, control + dan control ++ ke dalam rak sampel dengan barkode menghadap kekanan. Jika pertama kali pemeriksaan atau setelah 6 bulan dikalibrasi. Untuk pemeriksaan berikutnya hanya control yang dipakai
- 3) Kemudian masukan tabung yang berisi sampel 1 ml (1000µl) ke dalam rak sampel
- 4) Kemudian buka tutup botol kalibrator dan control masukan rak sampel ke dalam alat Abbot m2000sp dimulai dari no 1
- 5) Kemudian tutup pintu m2000sp dan lepaskan sarung tangan.

e. Proses Ekstraksi Alat

- 1) Pada layar monitor klik tulisan “Order” dan pilih sampel “Sampel Extraction”
- 2) Kemudian pilih aplikasi ekstraksi “0,5 HBV DNA “.
- 3) Kemudian klik tulisan “Set Up Run” dan langsung pilih “Next”Kemudian masukan Lot number, tanggal kadaluarsa dan 2

nilai actual konsentrasi yang terdapat kertas dari reagen *pack* kalibrasi dan *control*

- 4) Kemudian klik "*Next*"
- 5) Kemudian klik tulisan "*Scan*" pada kiri bawah layar monitor
- 6) Kemudian "*PosID*" akan scan barcode kalibrator dan *control* pada sampel nomor 1
- 7) Kemudian setelah selesai masukkan nama pasien sesuai dengan urutan sampel dan klik tulisan "*Next*"
- 8) Kemudian scroll (klik dan tahan) urutan sampel yang tertera dan klik tulisan "*Next*"
- 9) Kemudian akan muncul peringatan dan ekstraksi yang akan dijalankan, jika pemeriksaan sebelumnya pada m2000rt semua kalibrator dapat dibaca maka pesan ini abaikan
- 10) Kemudian klik tulisan "*Next*"
- 11) Kemudian pastikan "*reagen Vessel*" berada pada "*Rak Subsystem Carrier*" sesuai dengan gambar pada layar monitor.
- 12) Kemudian klik tulisan "*Next*" Kemudian pastikan rak DiTi 1000µl nomor 1 telah kosong dan jumlah tipis pada carrier DiTi 1000µl dan DiTi 200µl sesuai.
- 13) Kemudian jika pada layar monitor terlihat rak nomor 1 masih terisi maka klik tulisan "*update*"
- 14) Kemudian klik tulisan "*next*"
- 15) Kemudian masukan nama "*Deep Well Plate*" sesuai dengan nama dan tanggal pemeriksaan yang dilakukan
- 16) Kemudian masukan nomor lot dan tanggal kadaluarsa dari reagen Abbott mSampel Preparation.
- 17) Kemudian klik "*Next*"
- 18) Kemudian klik tulisan "*scan*" pada kiri bawah layar monitor
- 19) Kemudian "*PosID*" akan scan barcode reagen pada "*Reagen Vassel*" dan "*LiHa*" akan mengecek volume reagen yang telah dimasukkan
- 20) Kemudian setelah selesai klik tulisan "*Next*"

- 21) Kemudian klik tulisan “*Start*” untuk memulai proses ekstraksi
- 22) Kemudian lihat perkiraan waktu selesai ekstraksi untuk memperkirakan kapan waktu proses “*Mastermix*” dapat dilakukan.

f. Persiapan Proses *Mastermix Addition*

- 1) 20 – 30 menit sebelum waktu ekstraksi selesai segera keluarkan reagen *Mastermix* dari kulkas
- 2) Kemudian hidupkan alat m2000rt sesuai prosedurnya
- 3) Kemudian proses ekstraksi selesai ditandai dengan berkedipnya ketiga lampu alarm pada alat m2000sp
- 4) Kemudian pada layar monitor klik tulisan “Close” sebanyak 2 kali lalu klik tulisan “*Close Proses*”
- 5) Kemudian buka pintu alat m2000sp
- 6) Kemudian didaerah “*Output Deck With Chiller*” masukan “reagen amplifikasi dengan tutup telah dibuka dalam “*Abbott Assay Reagent Holder*”
- 7) Kemudian masukan tabung *Master Mix* kosong telah terbuka kedalam “*Master Mix Holder*” pada posisi nomor 1
- 8) Kemudian letakan “*PCR Plate*” yang baru pada “*Chilled PCR Plate Holder*”
- 9) Kemudian kosongkan rak DiTi 1000 µl nomor 1
- 10) Kemudian tutup pintu alat m2000sp

g. Proses *Mastermix Addition*

- 1) Pada layar monitor klik tulisan “*Orders*” lalu pilih “*Master Mix Addition*”
- 2) Kemudian pilih nama “*Deep Well Plate*” yang akan ditambahkan dengan reagen *mastermix*
- 3) Kemudian klik tulisan “*Set Up Run*” yang terdapat pada sisi kiri layar monitor
- 4) Kemudian diperiksa apakah nama plate dan sampe sesuai lalu klik tulisan “*Next*”

- 5) Kemudian masukan nama “PCR Plate” yang disamakan dengan nama “Deep Well Plate” lalu klik tulisan “Next”
 - 6) Kemudian klik tulisan *Update* untuk mengosongkan rak DiTi 1000 µl pada nomor 1
 - 7) Kemudian klik scan sehingga “PosID” akan di scan barcode pada reagen *mastermix*
 - 8) Kemudian setelah selesai periksa posisi tabung “*master mix*” berada pada posisi tabung nomor 1 dan “PCR Plate” berada pada posisinya.
 - 9) Kemudian klik tulisan “Next”
 - 10) Kemudian klik tulisan “start” untuk memulai proses *mastermix* selama ±15 menit.
 - 11) Kemudian setelah selesai buka pintu m2000sp
 - 12) Kemudian tutup seluruh lubang “PCR Plate” dengan “Adhesive Cover”
 - 13) Kemudian rapikan dengan “amplikator” hingga semua lubang tertutup rapat
 - 14) Kemudian angkat “PCR Plate” dan letakan pada “tempat PCR Plate” dan siap dipindahkan ke alat Abbott m2000rt.
- h. Memindahkan data dari alat m2000sp ke m2000rt
- 1) Klik tulisan “*result*” kemudian pilih “*view by PCR Plate*”.
 - 2) Kemudian pilih nama PCR Plate yang diinginkan .
 - 3) Kemudian masukan CD-R pada *driver* dan klik tulisan “*Export*”.
 - 4) Kemudian keluarkan CD-R pada *drive*
 - 5) Kemudian PCR Plate dan CD-R dibawa ke Intrument m2000rt
- i. Menghidupkan alat Abbott Molecular m2000rt
- 1) Sambungkan UPS dengan sumber listrik
 - 2) Kemudian hidupkan UPS dengan sumber listrik dengan menekan tombol “*On*” dan tunggu beberapa saat
 - 3) Kemudian hidupkan alat Abbott m2000sp dengan menekan tombol “*On*”

- 4) Kemudian hidupkan CPU computer dengan menekan tombol “On”
 - 5) Kemudian isi nama pengguna dan password nya lalu klik”Ok”
 - 6) Kemudian klik tulisan “Start” pada status instrument dilayar komputer dan lamanya proses sekitar 15 menit
 - 7) Kemudian instrument akan berubah status dari “Stopped” ke “Initializing” dan akhirnya “Ready”.
- j. Pengoperasian alat Abbott Molecular 2000rt
- 1) Klik tulisan “Order” kemudian pilih “Test Orders”
 - 2) Kemudian klik tulisan “Import”
 - 3) Kemudian klik tulisan “Set Up Run”
 - 4) Kemudian masukan “PCR Plate” ke dalam alat m2000rt
 - 5) Kemudian masukan CD-R yang berisi data dari komputer m2000sp dan klik tulisan “Next”
 - 6) Kemudian setelah daftar sampel tampil lalu pilih pemeriksaan yang akan diperiksa dan klik tulisan “Next”
 - 7) Kemudian klik tulisan “Start” pada kanan bawah layar dan biarkan alat memproses hasil ekstraksi
 - 8) Pada layar monitor akan muncul tampilan perkiraan jam selesai proses
 - 9) Setelah pemeriksaan selesai klik tulisan “Close”
 - 10) Kemudian klik tulisan result lalu klik *View By Plate* untuk melihat hasil pemeriksaan
 - 11) Kemudian pilih nama plate PCR yang akan dilihat hasilnya
 - 12) Kemudian untuk mencetak hasil klik “Print Result List” lalu klik tulisan “Yes” maka hasil akan dicetak.
- k. Mematikan alat m2000rt
- 1) Keluarkan “PCR Plate dari dalam alat m2000rt
 - 2) Kemudian keluarkan CD-R dari dalam komputer m2000rt
 - 3) Kemudian matikan alat m2000rt dengan menekan tombol ‘ON’
 - 4) Kemudian kembalikan menu komputer m2000rt seperti biasa
 - 5) Kemudian matikan UPS dengan menekan tombol OFF

6) Kemudian lepaskan CPU dari sumber arus listrik

D. Interpretasi Hasil

Tabel 3.1 Interpretasi Hasil

Sampel Volume	Hasil	Interpretasi
0,5 ml	Tak Terdeteksi	Menargetkan tidak terdeteksi
	<1,00 Log UI/ml	Terdeteksi
	1,00-9,00 Log UI/ml	^d
	9,00 Log UI/ml	>ULQ _e
0,2ml	Tidak terdeteksi	Menargetkan tidak terdeteksi
	<1,18 Log UI/ml _b	Terdeteksi
	1,18-9,00 Log UI/ml	^d
	>9,00 Log UI/ml	>ULQ _e

Dibawah LLQ (batas bawah kuantitasi atau LloQ); HBV DNA tidak terukur. Hasil dihitung berada dalam jangkauan uji linear. Jika hasil perhitungan diperoleh, bidang interpretasi dibiarkan kosong

>ULQ diatas batas atas kuantitasi atau UloQ; jika hasil UI/ml berada diatas kisaran linear dari uji ini. Hasilnya dilaporkan sebagai >1000000000 UI/mL HBV DNA.

E. *Spill Kit*

Pelaksanaan:

1. Petugas sebelum tindakan melakukan kebersihan tangan
2. Memasang *biohazard weat floor*
3. Ambil dan bawa *spill kit* ke area tumpahan
4. Petugas membuka *spill kit* dan keluar kantong kuning plastik sampah kuning (infeksius)
5. Petugas memakai masker dan gaun/apron, sarung tangan
6. Petugas menutup dan membersihkan seluruh area tumpahan tersebut dengan tisuue/kertas yang menyerap darah atau cairan darah tubuh sekali pakai diamkan selama 5 sampai 10 menit

7. Petugas mengangkat bekas tumpahan tersebut dengan serok kecil dan membuang ke kantong plastik sampah warna kuning
8. Petugas membersihkan dengan cairan sabun netral untuk menghilangkan sisa kotoran dan mendisinfeksi dengan khlorin 0,5%
9. Petugas membersihkan dengan pel dan larutan disinfeksi
10. Petugas melepas semua APD (gaun/apron sarung tangan bersih, masker)
11. Petugas membuang bekas APD bekas pakai tersebut ke kantong plastik sampah kuning dan di ikat dengan kencang
12. Petugas setelah tindakan melakukan kebersihan tangan dan rapikan spill kit



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

1. Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie

Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie terletak di Jalan Palang Merah Indonesia, Kecamatan Samarinda Ulu & Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie sebagai *TOP REFERRAL* (Rujukan tertinggi) dan sebagai Rumah Sakit Kelas A berlangsung sejak tahun 2016-2018 dan sekarang pada tahun 2019 menjadi Rumah Sakit Kelas B atas dasar sesuai keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia

Nomor : 001/Menkes/SK/1/2014 (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie). Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie dibangun pada tahun 1933, kepunyaan Kerajaan Kutai (Landschap=Kerajaan) sehingga diberi nama Landschap Hospital. Terletak di Jiliama atau Emma Straat (Sekarang bernama Jl. Gurami). Sesuai dengan tuntutan perkembangan kebutuhan, Rumah Sakit Abdul Wahab Sjahranie kemudian dipindahkan dari Seili ke Jl. Dr. Soetomo dan diresmikan penggunaannya oleh Gubernur KDH Tk. I Provinsi Kalimantan Timur Bapak Abdul Wahab Sjahranie (alm) (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie)

12 November 1977, untuk rawat jalan Rumah Sakit Umum Segiri merupakan penyempurnaan dan pengembangan Rumah Sakit Umum lama yang berlokasi di daerah Selili (saat ini menjadi Rumah Sakit Islam Samarinda). Nama Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie diresmikan pada tahun 1987, untuk mengenang jasa Bapak Abdul Wahab Sjahranie (alm) Gubernur KDH Tk. I Provinsi Kalimantan Timur periode 1968-1975 21 Juli 1985 seluruh pelayanan rawat inap dan rawat jalan dipindahkan di lokasi Rumah Sakit Umum baru yang terletak saat ini di Jl. Palang Merah Indonesia (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

Tugas Pokok dari Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie Samarinda Provinsi Kalimantan Timur menurut peraturan Gubernur Provinsi Kalimantan Timur Nomor 47 tahun 2008 tentang Penjabaran Tugas Pokok. Fungsi dan Tata Kerja Rumah Sakit Daerah Provinsi Kalimantan Timur adalah melaksanakan upaya kesehatan supaya berdaya guna dan berhasil mengutamakan upaya penyembuhan, pemulihan, yang dilakukan secara serasi, terpadu dengan upaya peningkatan dan pencegahan serta melaksanakan upaya rujukan serta pelayanan kesehatan yang bermutu sesuai dengan standar pelayanan kesehatan yang bermutu sesuai dengan standar pelayanan Rumah Sakit (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie Samarinda Provinsi Kalimantan Timur mempunyai fungsi menyelenggarakan pelayanan medis, pelayanan penunjang medis dan non medis, pelayanan asuhan keperawatan, pelayanan rujukan, penelitian dan pengembangan, serta menyelenggarakan pelayanan umum dan keuangan (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

Sumber Daya Manusia (SDM) Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie pada bulan Desember 2016 sebanyak 2271 orang secara keseluruhan. Rincian secara lengkap pegawai yang dimiliki Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie yaitu untuk Medis terdapat 1211 orang, untuk Penunjang terdapat 246 orang, untuk Non-Medis terdapat 814 orang, PNS sebanyak 919 Orang, di bagian laboratorium terdapat 33 orang pegawai laboratorium, dan di ruangan Mikrobiologi terdapat 6 Orang Ahli Teknologi Laboratorium Medis (Profil RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

Adapun Visi, Misi dan Motto dilaboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda yaitu :

a. Visi

Menjadi Rumah Sakit Berstandar internasional

b. Misi

- 1) Mewujudkan pelayanan paripurna, bermutu, mudah diakses, dan berorientasi pada budaya keselamatan pasien
- 2) Mengembangkan layanan unggulan dengan teknologi terkini
- 3) Terwujudnya tatakelola Rumah Sakit yang profesional, akuntabel, dan transparan.
- 4) Tersedianya sumber daya dan lingkungan yang berkualitas serta berdaya saing.

c. Motto

BAKTI (Bersih, Aman, Kualitas, dan Informatif)

B. Hasil Pengamatan

Pengamatan ini dilakukan dengan mengambil data sekunder pada pasien yang diperiksa dengan menggunakan alat Abbott M2000sp dan Abbott M2000rt oleh dokter penanggung jawab di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda pada tahun 2019 - 2020. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat total seluruh data pasien dari tanggal 17 Desember 2019 hingga 19 Januari 2020.

Pada pasien yang melakukan pemeriksaan HBV DNA di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda terdiri dari pasien rujukan, pasien rawat inap dan pasien rumah sakit luar. Adapun pasien berdasarkan jenis kelamin didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 4.1 Jumlah persentase pasien HBV DNA berdasarkan jenis kelamin

NO	Jenis Kelamin	Terdeteksi HBV DNA	Tidak terdeteksi HBV DNA	Jumlah Pasien
1.	Laki-laki	16	9	25
2.	perempuan	7	7	14
Jumlah/persentase		23 (59%)	16 (41%)	39 (100%)

Pada pengamatan ini didapatkan data sebanyak 39 pasien yang terdiri dari pasien wanita sebanyak 14 pasien dan pasien laki-laki sebanyak 25 pasien. Jumlah pasien yang terdeteksi HBV DNA sebanyak 23 pasien dengan persentase (59%) dan jumlah pasien yang tidak terdeteksi HBV DNA sebanyak 16 pasien dengan persentase (41%). *Cut-Off* 10 IU/mL

Hepatitis B menyerang semua umur, gender, dan ras di seluruh dunia. Tetapi pria lebih cenderung menderita infeksi Hepatitis B dibanding wanita, hal ini diakibatkan oleh perbedaan perilaku dan gaya hidup antara wanita dan pria. Sebagai contoh pembuatan tatto, homoseksual, pemakai narkoba cenderung lebih banyak terjadi pada pria. Hepatitis B dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati. Data- data menunjukkan bahwa bayi yang terinfeksi HBV sebelum usia 1 tahun mempunyai resiko kronisitas sampai 90 %, sedangkan apabila infeksi HBV terjadi pada usia 2-5 tahun resikonya menurun menjadi 50%. Diatas 5 tahun hanya berisiko 5-10 % untuk terjadi kronisitas. Bayi lebih sering terinfeksi hepatitis B karena sistem imun pada bayi belum berkembang dengan sempurna terutama pada bayi yang belum mendapatkan imunisasi hepatitis B. (Amnarita dkk, 2016). (Sesuai dengan pemeriksaan)

Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan HBV DNA berdasarkan umur

Umur	Terdeteksi HBV DNA	Tidak Terdeteksi
0-16 tahun	-	-
17-25 tahun	4	1
26-35 tahun	8	2
36-45 tahun	5	3
46-55 tahun	1	4
56-60 tahun	4	4
Jumlah	23	16

Dari hasil pemeriksaan HBV DNA menggunakan metode PCR di atas didapatkan hasil pemeriksaan HBV DNA sebanyak 39 sampel. Hasil

pemeriksaan HBV DNA terdeteksi terdapat terdiri dari usia 0 - 65 keatas atau dari usia balita hingga masa manula atas. Dari usia balita hingga usia remaja awal tidak terdapat sampel pemeriksaan HBV DNA. Pada usia remaja awal atau usia 17-25 tahun, hasil pemeriksaan HBV DNA terdeteksi sebanyak 4 sampel dan tidak terdeteksi 1 sampel. Pada usia 26-35, hasil pemeriksaan HBV DNA terdeteksi sebanyak 8 sampel dan tidak terdeteksi sebanyak 2 sampel. Pada usia 36-45 tahun, terdeteksi sebanyak 5 sampel dan tidak terdeteksi sebanyak 3 sampel. Pada usia masa lansia awal atau 46-55 tahun, hasil pemeriksaan HBV DNA terdeteksi sebanyak 1 sampel dan tidak terdeteksi sebanyak 4 sampel. Pada usia 56-65 tahun. Hasil pemeriksaan HBV DNA terdeteksi 4 sampel dan tidak terdeteksi sebanyak 4 sampel. Pada usia 66- atas, hasil pemeriksaan HBV DNA, terdeteksi sebanyak 1 sampel dan tidak terdeteksi sebanyak 2 sampel.

Perubahan dalam tubuh penderita akibat infeksi virus Hepatitis B terus berkembang. Dari infeksi akut berubah menjadi kronis, sesuai dengan umur penderita. Makin tua umur, makin besar kemungkinan menjadi kronis kemudian berlanjut menjadi pengkerutan jaringan hati yang disebut dengan sirosis. Bila umur masih berlanjut keadaan itu akan berubah menjadi karsinoma hepatoseluler. (Wahyu, 2017).

Penularan virus hepatitis B sebagian besar terjadi pada masa remaja akhir dan masa dewasa awal, hal ini disebabkan karena aktifitas seksual dan perilaku yang menyimpang antara lain homoseksual, pecandu narkotika suntik, pengguna tatto permanen dan lainnya. (Wahyu, 2017).

C. Pemantapan Mutu

1. Tahap Pra Analitik

Setelah sampel datang ke laboratorium mikrobiologi, sampel akan dicatat nama dan nomor rekam medisnya dibuku khusus HBV DNA kemudian sampel disentrifuge untuk memisahkan serum dan darah selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah sampel selesai disentrifuge, serum dan darah akan dipisahkan, serum dipindahkan ke tabung kimia dan sisa darah tersebut dibuang ke safetybox, lalu serum disimpan di kulkas dan dibekukan dengan suhu $2-10^{\circ}\text{C}$ sekurang-kurangnya 21 sampel untuk 1 set

running dan 45 sampel untuk 2 set running. Untuk sampel rujukan HBV DNA berupa cup sampel yang telah terisi dengan serum, dicatat dahulu nama dan nomor rekam medisnya apabila telah sesuai, sampel lalu di simpan dikulkas dan dibekukan di suhu 2-10°C.

2. Tahap Analitik

Pada alat Abbott m2000sp terdapat 1 mL subsystem dan terdiri dari heater zone 1 (50°C), heater zone 2 (65°C), room temperatur zone (21°C), dan magnetic zone untuk proses ekstraksi sampel. Setelah sampel dan reagen telah ready. Maka akan dilanjutkan dengan proses sampel diekstraksi dimulai dari memasukan mLysis buffer ke reaction vessel yang berfungsi untuk memecah sel-sel bagian virus di heater zone 1. Setelah mLysis dimasukan ke reaction vessel dilanjutkan dengan memasukan reagen mProtease K ke reaction vessel lalu menunggu inkubasi 5 menit. Setelah inkubasi dilanjutkan dengan memasukan reagen Micropartikel ke reaction vessel, menunggu homogen dan inkubasi selama 20 menit. Fungsi reagen micropartikel untuk melekatkan DNA target ke partikel-partikel dan memisahkan pelekatan dari sel-sel lainnya. Setelah homogen dan inkubasi selama 10 menit, reaction vessel dipindah ke magnetic zone untuk memisahkan micropartikel dan sampel. Kemudian sampel dibuang dan menyisakan micropartikel pada reaction vessel. Lalu reaction vessel dipindah ke heater zone 1 dan masukan reagen wash 1 dan inkubasi selama 5 menit. Setelah inkubasi, lalu dipindah ke magnetic zone untuk memisahkan reagen wash 1 dan micropartikel. Setelah wash 1 dibuang, reaction vessel akan dipindah ke temperatur zone (21°C) dan akan ditambahkan wash 2 dan inkubasi selama 5 menit. Setelah inkubasi, lalu pindahkan reaction vessel ke magnetic zone untuk memisahkan micropartikel dan reagen wash 2. Fungsi reagen Wash 1 dan Wash 2 untuk membersihkan sisa-sisa sel dan rotein yang tidak dibutuhkan. Setelah reagen wash 2 dibuang, reaction vessel akan dipindah ke heater zone 2 (65°C) lalu ditambahkan reagen Elution dan inkubasi selama 20 menit. Setelah diinkubasi, reaction vessel akan dipindah ke magnetic zone untuk

memisahkan antara DNA target dengan micropartikel. Kemudian reaction vessel akan dipindahkan ke output untuk proses amplifikasi.

Proses amplifikasi menggunakan alat chiller suhu (8°C). setelah sampel dipindahkan ke output. Dan masukan reagen amplifikasi pada "Output Deck with chiller", reagen amplifikasi terdiri dari 1 botol amplitaq Gold Enzyme, 1 botol HBV Oligonucleotide reagen, dan 1 botol activation reagen. Tabung mastermix kosong pada mastermix holder. Setelah reagen amplifikasi dan tabung mastermix siap. Maka reagen amplifikasi akan dikombinasikan menjadi 1 dan dimasukan ke tabung mastermix. Inkubasi 2 menit, lalu pindahkan reagen amplifikasi yang telah dikombinasikan ke PCR Tray bagian well plate optical. Lalu tambahkan sampel pada well plate optical yang terisi reagen amplifikasi. Dan proses amplifikasi dimulai pada suhu 8°C selama 15 menit. Apabila telah selesai. Sampel pada well plate optical akan dikeluarkan dan dipindahkan ke alat Abbott M2000rt untuk pembacaan hasil.

3. Tahap Pasca Analitik

Pembacaan hasil amplifikasi menggunakan alat Abbott m2000rt. Well plate optical akan ditutup permukaannya dengan menggunakan adhesive cover dan direkatkan, lalu masukan well plate optical pada alat Abbott m2000rt dan CDR nya, untuk hasil di bawah Log 10 terbilang tidak terdeteksi HBV DNA.

D. *Good Laboratory Practice*

1. Teknisi

Teknisi di laboratorium ruang mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda memiliki 4 orang tenaga laboratorium yang dapat melakukan yang masing-masing 3 orang dengan pendidikan terakhir DIII Analis Kesehatan dan 1 orang dengan pendidikan terakhir Strata-2 (S2), serta telah mengikuti pelatihan dan memiliki SIP (*Session Initiation Protocol*) dan STR (Surat Tanda Registrasi) atau sudah bisa dikatakan sudah memahami dan menguasai penggunaan alat dan teknik di laboratorium ruang mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.

2. Metode

Metode yang dipakai saat ini di laboratorium RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda ialah metode PCR. Metode ini sangat berperan penting bagi tenaga analis di rumah sakit karena sangat membantu dengan proses yang cepat dan akurat.

3. Reagen

Reagen sebagai bahan pereaksi di laboratorium ruang mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda memiliki kualitas yang baik jika reagen diganti tepat waktu dan sesuai kondisi, batas kadaluwarsa dan keutuhan wadah/botol sangat diperhatikan, persiapan reagen mLysis buffer, proteinase K, microparticel, wash 1, wash 2, Elution buffer, dan reagen amplifikasi. diperhatikan dengan baik.

4. Peralatan Laboratorium

Untuk alat Abbott m2000sp rak dibersihkan terlebih dahulu bagian dalam alat abbot m2000sp. Lemari es atau kulkas digunakan untuk menyimpan sampel HBV DNA dan reagen yang harus disimpan dalam suhu dingin, pintu lemari es harus keadaan tertutup baik untuk mencegah keluarnya udara keluar, suhu lemari es dan *freezer* juga di catat suhunya setiap pagi dan sore. Suhu lemari es harus diperhatikan agar reagen di dalam lemari es tidak rusak.

Mikropipet dan sentrifuge yang telah digunakan selalu di bersihkan, tips dan tabung sisa sampel yang telah dipisahkan darah dan serumnya dibuang ke *safetybox*. Dalam pencegahan infeksi petugas analis disini sebelum melakukan prosedur kerja terlebih dahulu mencuci tangan sebelum dan sesudah menggunakan handscoon, APD (Alat Pelindung Diri) yang digunakan juga lengkap dari masker, handscoon, jaslab, dan sandal lab yang tertutup, tujuannya untuk mencegah terjadinya kontaminan bakteri, atau tertumpahnya cairan infeksius.

5. Ruang

Ruang mikrobiologi PCR di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda mempunyai tata letak yang cukup baik. Lingkungan di laboratorium memadai, pencahayaan yang baik dengan terdapat 4 lampu

besar, panjang ruangan 4 meter, lebar 4 meter dan tinggi 6 meter. Kebisingan sangat terkondisikan karena dilaboratorium mikrobiologi kedap suara, luas ruangan memadai dan tidak sempit, tata ruang seperti peletakan alat sudah memadai. Baik dari meja yang terbuat dari kayu yang kuat lalu di lapisi dengan kaca, jadi tidak menyerap cairan yang tumpah, kedap air, permukaan meja rata dan mudah dibersihkan dengan tinggi 1,00 m.

E. Kesehatan dan Keselamatan Kerja

1. Alat Pelindung Diri (APD)

Jas laboratorium yang digunakan berfungsi untuk melindungi badan dari percikan bahan reagen yang berbahaya dan cairan tubuh pasien. Sandal atau sepatu lab digunakan sebagai pelindung kaki. *Handsocon* berfungsi sebagai pelindung tangan jika terjadi tusukan jarum, dan menghindari kontaminasi dari sampel yang mudah menular ketubuh. Kegunaan dari masker sendiri untuk menghindari terhirupnya bahan reagen yang berbahaya sampel yang mudah menularkan melalui udara

2. Limbah

Adapun *handsocon* dan masker, yang telah digunakan untuk melakukan pemeriksaan dibuang pada plastik kuning infeksius dan berlambang *biohazard*. Untuk sisa, tips, tabung reaksi, di buang didalam *safety box* untuk menghindari kontaminasi sampel. Limbah kemas, botol plastik, dan lainnya yang bersifat non medis akan dibuang pada plastik kantong hitam yang telah disediakan.

3. APAR

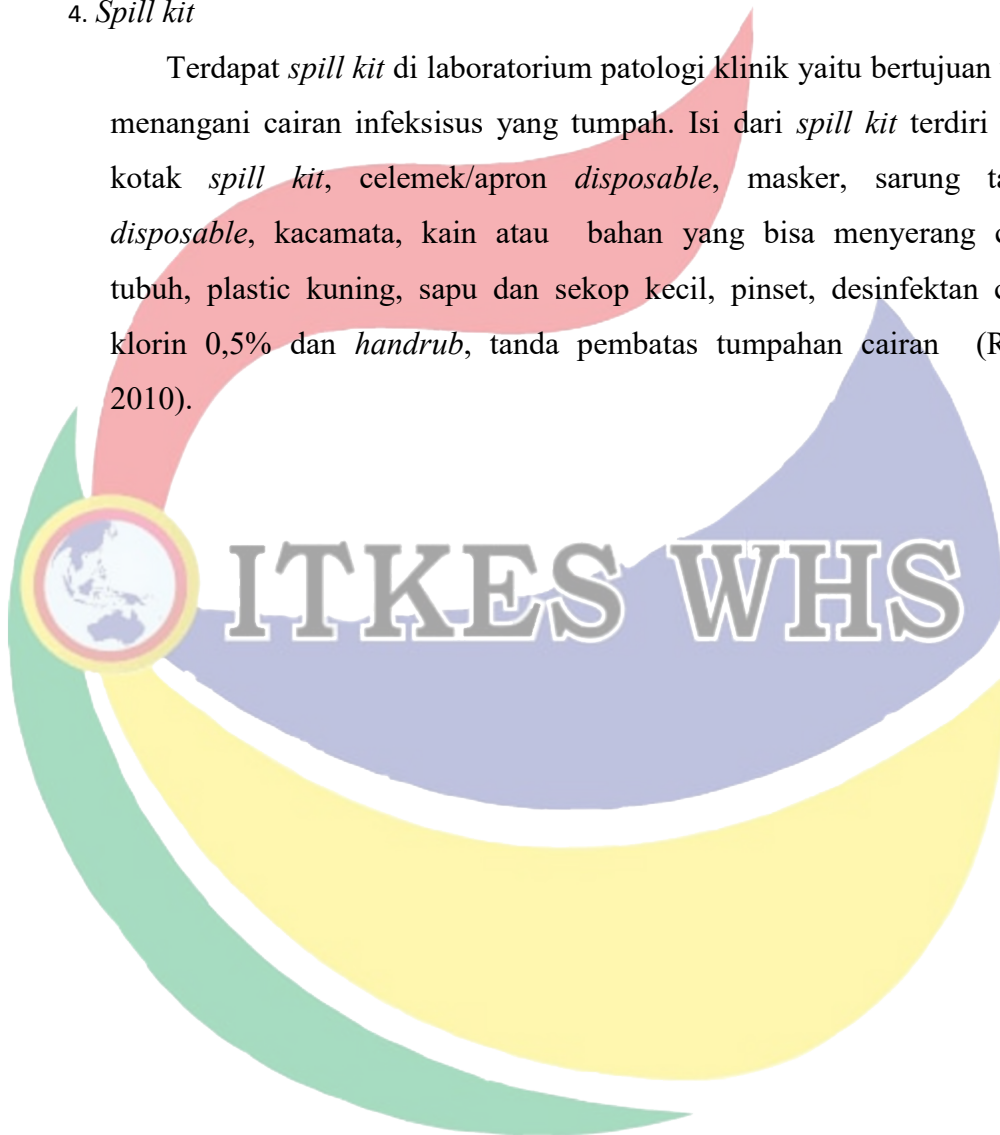
APAR yang disediakan dilaboratorium disediakan di dekat alat *Vitek 2 Compact* atau berada di dekat pintu, APAR yang disediakan masih bisa digunakan jika terjadi kebakaran. Untuk petugas analis diruang Mikrobiologi sudah mendapat pelatihan tentang penggunaan APAR jika terjadi kebakaran. Jenis APAR yang digunakan pada laboratorium RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda berupa Air (*Water*). Jenis APAR air ini bertekanan tinggi, paling ekonomis dan cocok untuk memadamkan api yang dikarenakan oleh bahan-bahan padat non-logam seperti kertas, kain, karet, plastik, dan sebagainya tetapi akan sangat berbahaya jika dipergunakan

pada kebakaran yang dikarenakan instalasi listrik yang bertegangan. Berikut bagaimana cara menggunakan Alat Pemadam Api (APAR) :

- a) Tarik pin
- b) Arahkan pada dasar sumber api
- c) Tekan tuas
- d) Semprotkan satu sisi ke sisi lainnya

4. *Spill kit*

Terdapat *spill kit* di laboratorium patologi klinik yaitu bertujuan untuk menangani cairan infeksius yang tumpah. Isi dari *spill kit* terdiri dari : kotak *spill kit*, celemek/apron *disposable*, masker, sarung tangan *disposable*, kacamata, kain atau bahan yang bisa menyerap cairan tubuh, plastic kuning, sapu dan sekop kecil, pinset, desinfektan cairan klorin 0,5% dan *handrub*, tanda pembatas tumpahan cairan (Ramli, 2010).



BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

Pemeriksaan HBV DNA Menggunakan metode PCR pada tanggal 19 desember 2019 - 19 januari 2020 dapat diambil simpulan sebagai berikut :

1. Data sebanyak 39 pasien yang terdiri dari pasien wanita sebanyak 14 pasien dan pasien laki-laki sebanyak 25 pasien. Jumlah pasien yang terdeteksi HBV DNA sebanyak 23 pasien dengan persentase (59%) dan jumlah pasien yang tidak terdeteksi HBV DNA sebanyak 16 pasien dengan persentase (41%). *Cut-Off* 10 IU/mL
2. Pada tahap pra analitik, tahap analitik, dan pasca analitik tidak ditemukan masalah ataupun kendala dalam proses pengerjaan menggunakan alat Abbott m2000sp dan Abbott m2000rt, dan pengerjaannya telah sesuai *Standart Operasional Prosedur* (SOP).
3. *Good Laboratory Practice* dan Kesehatan dan Keselamatan Kerja telah sesuai *Standart Operasional Prosedur* (SOP)

B. Saran

Berdasarkan dari hasil pengamatan dan pembahasan yang telah diuraikan maka peneliti menyarankan sebagai berikut :

1. Bagi Akademik
Bagi akademik dapat menjadikan pengamatan ini sebagai pengetahuan dan referensi mengenai bagaimana Pemeriksaan HBV DNA metode PCR.
2. Bagi Petugas Laboratorium
Dapat lebih memperhatikan dalam proses pengerjaan sampel, harus selalu memakai alat pelindung diri yang sesuai dengan SOP agar meminimalisir terjadinya kecelakaan kerja.

DAFTAR PUSTAKA

- Amtarina, dkk. (2016). *Faktor Resiko penularan Hepatitis B pada Tenaga Kesehatan Kota Pekan Baru*.
- Buwono dkk, (2018). *Buku Ajar Teknologi DNA Rekombinan Untuk Perakitan Kontruksi Vektor*. Yogyakarta Deepublish
- Hadi, S. (2000). *Metologi Reseach*. Yogyakarta: Fakultas Psikolog UGM.
- Juspar, E. (2017). *Tes Hepatitis B Virus Deoxyribo Nucleic acid (HBV DNA) Pada Ibu Hamil Hepatitis B Surface Antigen (HbsAg) Non Reaktif Di Rumah Sakit Khusus Ibu Dan Anak Pertiwi Makasar*. 7-10.
- Mengko, M. A. (2013). *Intrumentasi Laboratorium Klinik*. Bandung: Penerbit ITB.
- Misnadiarly. (2007). *Mengenal, Menanggulangi, Mencegah & Mengobati Penyakit Hati (Liver)*. Jakarta: Pustaka Obor Populer.
- Praptomo, A. (2018). *Pengendalian Mutu Laboratorium Medis*. Yogyakarta: Grup Penerbit CV BUDI UTAMA.
- Ramli, S. (2010). *System Manajemen Keselamatan dan Kesehatan Kerja*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Rizka, Ayu. (2016). *Kepatuhan Menggunakan Alat Pelindung Diri (APD) Ditinjau dari Pengetahuan dan Perilaku pada Petugas Instalasi Pemeliharaan Sarana Dan Prasarana Rumah Sakit (IPSR)*. JURNAL ILMU KESEHATAN 2 (2), 153 – 158
- Soedarto, D. P. (2010). *Virologi Klinik Membahas Penyakit-Penyakit Virus Termasuk AIDS, Flu Babi, dan, SARS*. Jakarta: Sagung Seto.
- Soehardjo, S., & Gunawan, S. (2007). *Hepatitis Virus B Edisi 2*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sulaiman, A. S., Sulaiman, B., Sulaiman, H., M.Loho, I., & Stephanie, A. (2010). *Pendekatan Terkini Hepatitis B dan C dalam Praktik klinis Sehari-hari*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Wahyu, H. (2017). *Hepatitis. Ilmu Penyakit Dalam Fk UNUD*. Jurnal Kesehatan. 18-23

Yuwono, T. (2006). *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta:
C.V ANDI OFFSET.



Lampiran 1. Hasil pemeriksaan HBV DNA pada tanggal 19 Desember 2019 sampai dengan 19 Januari 2020 dilaboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

Sample ID	KIB	Gender	Sample Type	Result/Unit Interpretation
001	43th	M	Patient	12,094,573 IU/mL
002	34th	W	Patient	833 IU/mL
003	25th	M	Patient	106 IU/mL
004	55th	M	Patient	Not detected Target not detected
005	43th	W	Patient	< 10 IU/mL Detected
006	45th	M	Patient	Not detected Target not detected
007	29th	M	Patient	15 IU/mL
008	58th	M	Patient	95 IU/mL
009	76th	M	Patient	Not detected Target not detected
010	33th	M	Patient	Not detected Target not detected
011	40th	W	Patient	50,536 IU/mL
012	53th	M	Patient	364 IU/mL
013	29th	M	Patient	174 IU/mL
014	56th	M	Patient	189,602,454 IU/mL
015	23th	M	Patient	55 IU/mL
016	48th	M	Patient	Not detected Target not detected
017	23th	W	Patient	Not detected Target not detected
018	40th	M	Patient	Not detected Target not detected
019	23th	M	Patient	43 IU/mL
020	39th	M	Patient	42, 815 IU/mL
021	26th	M	Patient	22 IU/mL
022	59th	W	Patient	Not detected Target not detected
023	37th	M	Patient	317,249 IU/mL
024	35th	W	Patient	Not detected Target not detected
025	49th	M	Patient	Not detected Target not detected
026	66th	W	Patient	Not detected Target not detected
027	69th	M	Patient	Not detected

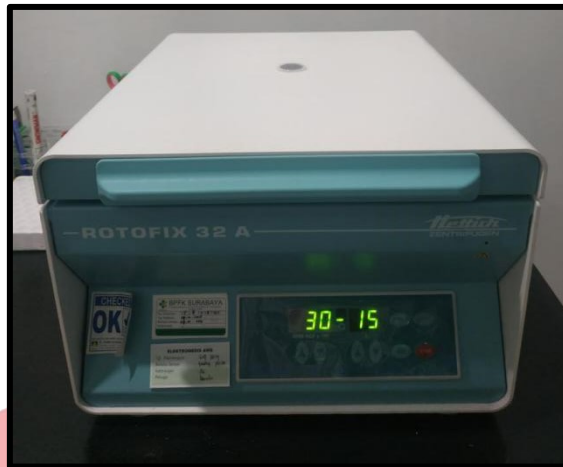
				Target not detected
028	27th	M	Patient	21 IU/mL
029	30th	W	Patient	2,899 IU/mL
030	29th	W	Patient	179 IU/mL
031	65th	W	Patient	< 10 IU/mL Detected
032	23th	M	Patient	639 IU/mL
033	48th	W	Patient	5,301 IU/mL
034	28th	W	Patient	6,425 IU/mL
035	50th	W	Patient	< 10 IU/mL Detected
036	25th	M	Patient	14 IU/mL
037	59th	M	Patient	Not detected Target not detected
038	66th	W	Patient	13 IU/mL
039	57th	M	Patient	1,687,300 IU/mL



Penanggung Jawab
Laboratorium Mikrobiologi
Abdul Wahab Sjahrani
Samarinda

Hj. Huzaimah. S.,KM., M.Si
NIP : 197007271990022002

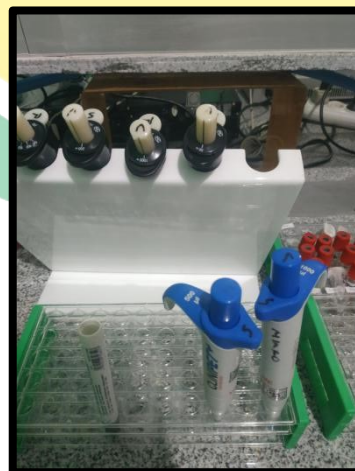
Lampiran 2. Alat dan bahan pemeriksaan HBV DNA dilaboratorium mikrobiologi di RSUD Abdul Wahab Sjahranie



Gambar 1. Sentrifuge



Gambar 2. Vortex



Gambar 3. Micropipet



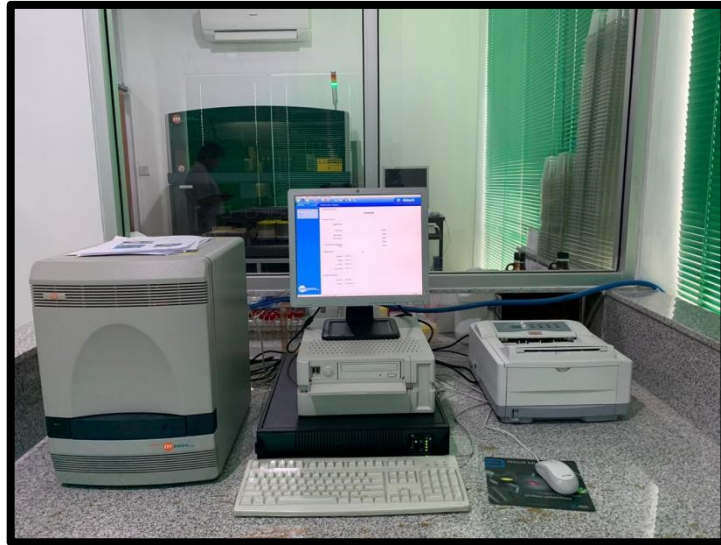
Gambar 4. Filter Tips



Gambar 5. Tabung vakum dan Rak tabung



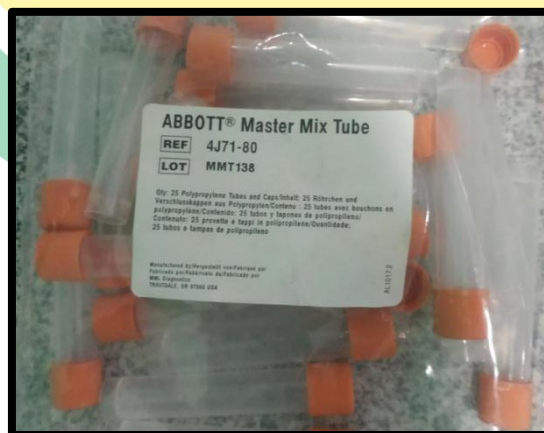
Gambar 6. Abbott m2000sp



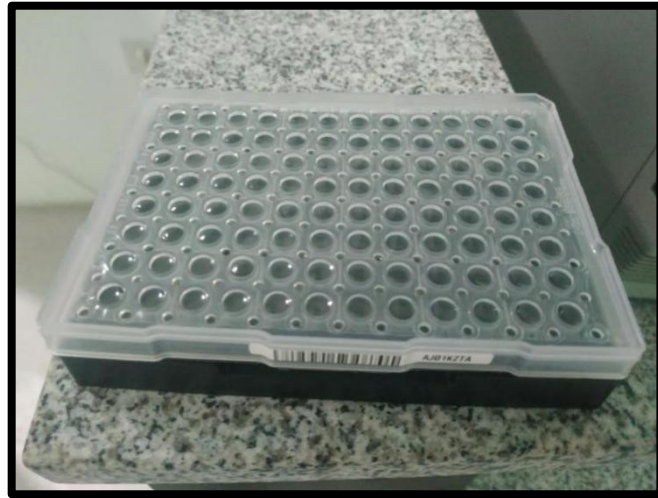
Gambar 7. Abbott m2000rt dan Printer



Gambar 8. Tabung reaksi disposable



Gambar 9. Tabung Mastex mix



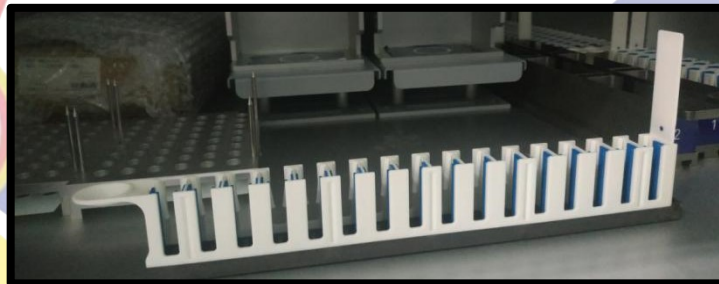
Gambar 10. Deep Well plate



Gambar 11. Lemari Peralatan HBV DNA



Gambar 12. Rotator



Gambar 13 Rak Sampel HBV DNA



Gambar 14. Rak Reagen, mLysis, protease K, Micropartikel



Gambar 15. Rak Reagen Wash 1, Wash 2, Elution



Lampiran 3. Keselamatan Kesehatan Kerja (K3) dilaboratorium mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahrani Samarinda



Gambar 16 . Bak sampah medis



Gambar 17. Masker



Gambar 18. Handscoon Nitrile



Gambar 19. Jas Laboratorium



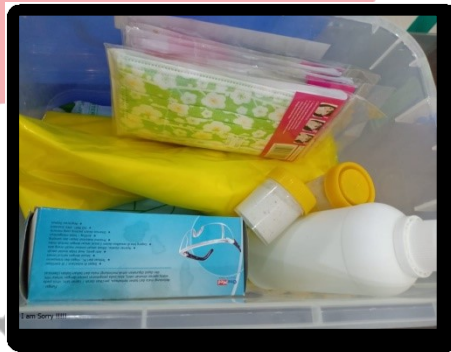
Gambar 20. Sandal Laboratorium



Gambar 21. APAR



Gambar 22. Kotak Spill kit



Gambar 23. Peralatan Spill Kit



Gambar 24. Safetybox

RIWAYAT HIDUP



Julpani Saputra lahir di Tering Seberang pada tanggal 19 Mei 1999, anak kedua dari tiga bersaudara, putra dari bapak Aswin dengan ibu Norhayati. Agama islam, Tempat tinggal Tering Seberang, Kutai Barat, Kalimantan Timur. Pendidikan sekolah dasar pada tahun 2005 di SD 001 Sendawar dan tamat pada tahun 2011. Tahun 2011 melanjutkan sekolah pendidikan menengah pertama di SMP 30 Sendawar dan tamat pada tahun 2014, serta pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Lingsang Bigung diselesaikan pada tahun 2017 pada jurusan IPA. Tahun 2017 melanjutkan pendidikan jenjang perguruan tinggi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wiyata Husada Samarinda dengan mengambil jurusan D-III Analisis Kesehatan.

Selama melakukan perkuliahan telah mengikuti kegiatan Praktek Kerja Lapangan di Laboratorium Mikrobiologi di Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie Samarinda pada bulan Desember 2019 sampai januari 2020 dan di Laboratorium RSUD Aji Muhammad Pariket Tenggarong pada bulan Januari 2020 sampai dengan maret 2020.