



# PROSIDING

DALAM RANGKA MUSYAWARAH NASIONAL IX PATELKI  
dan TEMU ILMIAH XXIV

PERAN PEMERIKSAAN LABORATORIUM MEDIK  
DALAM MENDUKUNG PENINGKATAN KESEHATAN MASYARAKAT



# THE ROLE OF MEDICAL LABORATORY EXAMINATION FOR DIAGNOSE COMMUNICABLE DISEASES AND NON COMMUNICABLE DISEASES TO IMPROVING THE PUBLIC HEALTH DEGREE IN PUSKESMAS RASANAE TIMUR KOTA BIMA NTB

Reny Kusuma Wardani/DPC Patelki Kota Bima NTB  
e-mail: [renykusumawardani@gmail.com](mailto:renykusumawardani@gmail.com)

## ABSTRACT

One of the problems in health development today is the shift in disease patterns from infectious diseases to non-communicable diseases that affect the health status of the community. The indicators for assessing the degree of public health are increasing life expectancy, decreasing infant, maternal and child mortality rates, decreasing morbidity and disability and dependency rates and increasing community nutritional status. Medical laboratories or clinical laboratories are included in health service factors that play a role in reducing morbidity and disability rates. This study aims to determine the role of medical laboratory examinations in establishing the diagnosis of communicable and non-communicable diseases to improve the public health status in the area of Puskesmas Rasanae Timur Kota Bima. The research method is an observational analytic by distributing questionnaires to 70 respondents, respondents were selected using the Accidental Sampling technique. The results of the study, 28.6% of respondents suffered from infectious diseases and 71.4% of respondents suffered from non-communicable diseases. 17.1% of respondents felt they were not helped in establishing the diagnosis of the disease experienced through medical laboratory examinations. While the other 82.9% felt it was helped in establishing the diagnosis of the disease they were experiencing. The analysis of the two variables was continued by using a statistical test, namely the Chi Square test and the results were  $p = 0.00$ . Because  $p 0.00 < 0.05$ , the relationship between the two variables is significant.

**Keywords:** Communicable Diseases, Noncommunicable Diseases, Medical Laboratory Examination

## INTRODUCTION

Health status is very important in describing the public health profile in an area (Kemenkes, 2011). The degree of health is influenced by four factors, there is namely: environment, behavior, health services, and genetics. These four factors must be controlled properly so that the health status can be achieved optimally. Indicators for assessing the degree of public health are increasing life expectancy, decreasing infant, maternal and child mortality, decreasing morbidity and disability and dependency rates and increasing community nutritional status (Beaglehola, 2003). Medical laboratories or clinical laboratories are included in health service factors that play a role in reducing morbidity and disability rates. Clinical Laboratory is a health laboratory that carries out clinical specimen examination services to obtain information about individual health, especially to support efforts to diagnose disease, and restore health (Permenkes, 2010). Medical laboratories or clinical laboratories play an important role in describing individual health conditions, then at the next level is to describe the health status of the wider community. Laboratory examinations are carried out by competent ATLM (Medical Laboratory Technology Experts) who carry out a multiphase process starting from identifying the need for examinations, requesting examinations, preparing for physical examinations of patients and educating patients and families, collecting specimens, labeling specimens, storing specimens, and health education (Kee, 2007). In NTB, in 2019 the number of Medical Laboratory Technologists was 625 people with a ratio of 12.33 per 100,000 population (Dikes NTB, 2019).

One of the problems faced in health development today is the shift in disease patterns from communicable diseases to non-communicable diseases (Kemenkes, 2019). Communicable diseases are diseases that can be transmitted to humans caused by biological agents,

including viruses, bacteria, fungi, and parasites (Permenkes, 2014). While non-communicable diseases (NCDs) are diseases that are not transmitted or transmitted to other people, with any form of contact. Data from WHO shows that NCDs are by far the leading cause of death in the world, representing 63% of all annual deaths. NCDs kills more than 36 million people every year (Kemenkes, 2019). The results of Riset Kesehatan Dasar in 2013 showed an increasing the prevalence number of non-communicable diseases such as hypertension, stroke, and diabetes mellitus as well as an increase in the prevalence of communicable diseases, especially Acute Respiratory Infection (ARI), hepatitis and malaria (Kemenkes, 2013). The high prevalence of communicable and non-communicable diseases has an impact on decreasing productivity and disrupting the fulfillment of daily activities. This causes medical laboratory examinations be very important because laboratory examinations are useful for providing information in tracking patients with communicable and non-communicable diseases so that patients are found faster and treated more quickly (Seyoum, 2006). Information on the results of medical laboratory examinations also plays a role in the prevention, diagnosis, treatment, and management of a disease (Tefera, 2017). As many as 60-70% of critical decisions in determining diagnosis and treatment are influenced by quantitative data from medical laboratory examination results (Forsman, 2002).

This study has a purpose to determine the role of medical laboratory examinations in establishing the diagnosis of communicable and non-communicable diseases of improving public health, especially in the area of Puskesmas Rasanae Timur, Kota Bima.

#### METHODS

This type of research is analytic observational with cross sectional method. The research was conducted by distributing questionnaires to 70 respondents, where respondents were selected by accidental sampling technique. The questionnaire contains 10 questions with closed answer choices. The study held for 1 month in June 2021. The value of the answers to the questionnaire was determined by adding up the scores of the 10 questions asked, then the total scores were grouped into two, namely good (the score was 80% of the total score) and less (the score was <80% of the total score).

#### RESULTS

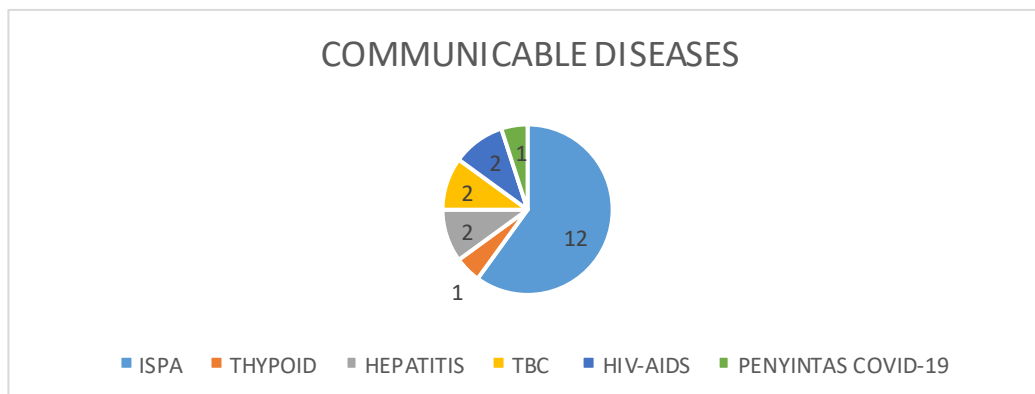
Respondents are patients who treatment at Puskesmas Rasanae Timur Kota Bima during June 2021 who are directed or not directed for medical laboratory examinations. The number of respondents who participated in this study were 70 respondents which were divided into: 29 male respondents and 41 female respondents. Of the 70 respondents, 12 respondents did not know with certainty the diagnosis of the disease, because the respondents only came when they were sick, and were not directed for laboratory examinations. After recovering, the 12 respondents did not make return visits for control or regular health check-ups. The demographics of the respondents are shown in table 1 below:

**Table 1. Demographic of Respondents**

| Characteristic | Frequency | Statistic |
|----------------|-----------|-----------|
|----------------|-----------|-----------|

|                                  |    |        |
|----------------------------------|----|--------|
| <b>Sex</b>                       |    |        |
| Male                             | 29 | 41,4 % |
| Female                           | 41 | 58,5 % |
| <b>Age</b>                       |    |        |
| 20-50 tahun                      | 28 | 40 %   |
| >50 tahun                        | 42 | 60 %   |
| <b>Education Level</b>           |    |        |
| Graduate from Elementary School  | 7  | 10 %   |
| Graduate from Juior High School  | 6  | 8,5 %  |
| Graduate from Senior High School | 41 | 58,5 % |
| Graduate from University         | 16 | 22,9 % |
| <b>Type of Diseases</b>          |    |        |
| Communicable Diseases            | 20 | 28,6 % |
| Non Communicable Diseases        | 50 | 71,4 % |

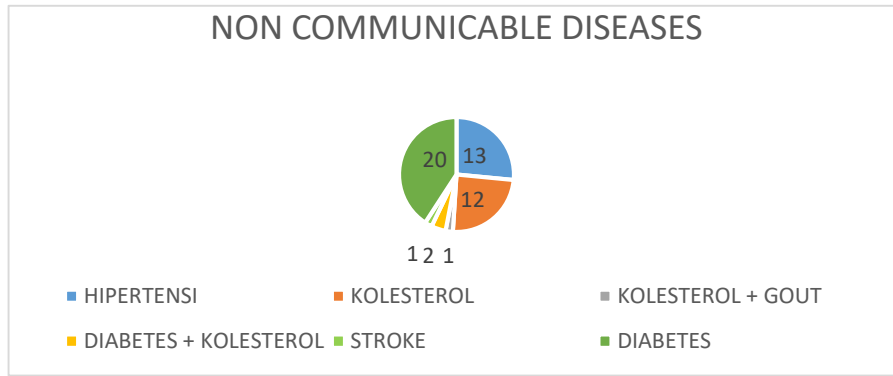
Types of infectious diseases suffered by respondents are shown in Figure 1 below:



**Figure 1. The type of Communicable Diseases by Respondents**

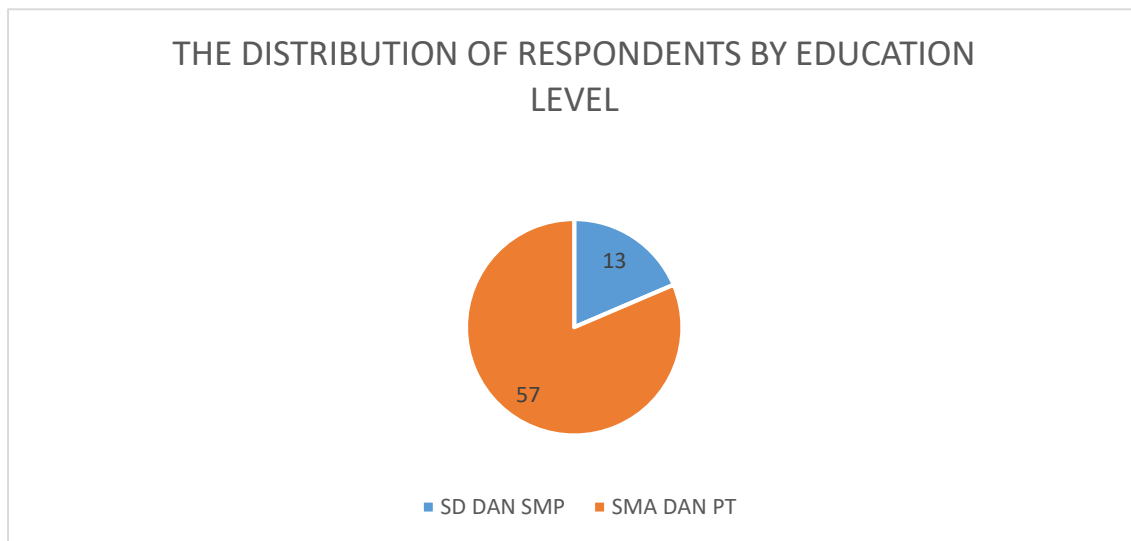
Types of non-communicable diseases experienced by respondents are shown in Figure 2 below:





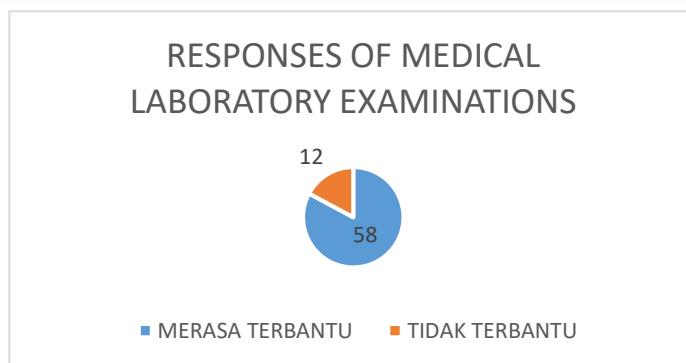
**Figure 2. The type of Non Communicable Diseases by Respondents**

The distribution of respondents based on education level is shown in Figure 3 below:



**Figure 3. The Distribution of Respondents by Education Level**

Respondents responses to the benefits of medical laboratory examinations for establishing a diagnosis of the disease they are suffering from are shown in Figure 4 below :



**Figure 4. The Respondents Responses to The Benefits of Medical Laboratory Examinations**

The two research variables, the participation of medical laboratory examinations and the diagnosis of communicable and non-communicable diseases were then analyzed using Chi

Square statistical tests and obtained  $p = 0.00$ . Because  $p 0.00 < 0.05$ , the role of medical laboratory examination in establishing the diagnosis of communicable and non-communicable diseases is significant.

#### DISCUSSION

In the last few decades, Indonesia has faced the problem of triple burden diseases. On the one hand, infectious diseases are still a problem which is marked by the occurrence of outbreaks of certain infectious diseases, the reappearance of several old infectious diseases (re-emerging diseases), as well as the emergence of new infectious diseases (new-emerging diseases) such as HIV/AIDS, Avian Influenza, Swine Flu and Nipah Disease. On the other hand, non-communicable diseases (NCDs) show an increasing trend from time to time (Kemenkes, 2012). The results of Riset Kesehatan Dasar in 2013 showed an increasing the prevalence number of non-communicable diseases such as hypertension, stroke, and diabetes mellitus as well as an increase in the prevalence of infectious diseases, especially ARI, hepatitis and malaria (Kemenkes, 2013). The high prevalence of communicable and non-communicable diseases has an impact on decreasing productivity and disrupting the fulfillment of daily activities. Communicable diseases is a diseases that can be transmitted to humans caused by biological agents, including viruses, bacteria, fungi, and parasites (Permenkes, 2014). In the case of communicable diseases, infection begins to occur after exposure to disease-causing microorganisms but the disease has not yet entered the human body. In unhealthy individuals, microorganisms can enter the body because of their vulnerable physical condition as well as pre-existing disease risk factors. At this stage there is an accumulation of factors that can cause disease (Irwan, 2017). In communicable diseases, medical laboratory examinations can be performed during the incubation period or the windows period (Irwan, 2107). Non-communicable diseases (NCDs) are diseases that are not transmitted or transmitted to other people, by any form of contact. Data from WHO shows that NCDs are by far the leading cause of death in the world, representing 63% of all annual deaths (Kemenkes, 2019 ). According to WHO, deaths from non-communicable diseases (NCDs) are expected increasing in the worldwide, with the greatest increase occurring in poor and middle-income countries. In these countries, 29% of deaths that occur in people aged less than 60 years are caused by non-communicable diseases (Kemenkes, 2012).

In the global population, more than 70% of the total global population is estimated to die from non-communicable diseases such as cancer, heart disease, stroke and diabetes. Predicted in 2030 there will be 52 million deaths per year due to non-communicable diseases, an increase of 9 million from the current number of 38 million. On the other hand, deaths from communicable diseases such as malaria, tuberculosis or other infectious diseases will decrease, from 18 million people currently reduced to 16.5 million people in 2030 (Kemenkes, 2017). According to Riskesdas data in 2018, the prevalence of non-communicable diseases such as cancer, stroke, chronic kidney disease, diabetes mellitus and hypertension increased when compared to Riskesdas data in 2013. The prevalence of cancer increased from 1.4% to 1.8%, stroke increased from 7% to 10.9%, chronic kidney disease increased from 2% to 3.8%, diabetes mellitus increased from 6.9% to 8.5%, and hypertension increased from 25.8% to 34.1% (Kemenkes , 2018). The increase in the prevalence of non-communicable diseases causes the discovery of patients with this disease to be done quickly, early detection and appropriate treatment make the control of non-communicable diseases better. Early detection of non-communicable diseases needs to be done so that patients do not come when the disease is severe and difficult to treat and if detection in the early phase, the non-communicable disease is easier to overcome

(Sulistya, 2012). Early detection of non-communicable diseases can be done by medical laboratory examination. Medical laboratory technology is part of the dynamic and rapidly developing realm of science, where modern medical practice would be incomplete without medical laboratory examinations (Waheed U, Ansari MA, and Zaheer HA, 2013). As many as 60-70% of critical decisions in determining diagnosis and treatment are influenced by quantitative data from medical laboratory examination results (Forsman, 2002). Medical laboratory examinations have a very important role in modern medicine and health systems, this role is to bridge between clinicians and patients, where medical laboratory results are the basis for determining disease diagnosis, prognosis, and treatment in this modern era. Therefore, the results of medical laboratory examinations must be accurate, reliable, and timely (Dileep, R.K, Sanjeev Kumar, Sabeerali, K, Shyju, V.S, Abdullakuty.K, Jahfar, P et al, 2016).

Medical laboratories or clinical laboratories play an important role in describing individual health conditions, then at the next level is to describe the health status of the wider community. Laboratory examinations are carried out by competent ATLM (Medical Laboratory Technology Experts) who carry out a multiphase process starting from identifying the need for examinations, requesting examinations, preparing for physical examinations of patients and educating patients and families, collecting specimens, labeling specimens, storing specimens, and health education (Kee, 2007). In NTB, in 2019 the number of Medical Laboratory Technologists was 625 people with a ratio of 12.33 per 100,000 population (NTB Health Office, 2019). Based on the results of the study, there were 28.6% of respondents suffering from infectious diseases, and 71.4% of respondents suffering from non-communicable diseases. The high percentage of respondents suffering from non-communicable diseases is caused by diet and lifestyle, because of the 50 respondents who visited the laboratory and checked for non-communicable diseases, there were 20 people with diabetes mellitus and 13 people with cholesterol who were mandatory check-up or control patients every month. This patient has also been advised by the doctor to maintain his diet, change his lifestyle, and carry out routine check-ups. Routine control of blood sugar levels is one of the prevention efforts that can be done by patients with diabetes mellitus. By controlling blood sugar levels regularly, patients can observe the success of diet, exercise, treatment success and weight loss efforts made by patients (Kurniawan, 2010). Controlling blood sugar levels regularly can also prevent complications, both microvascular and macrovascular (Kurniawan, 2010). Standards for checking blood sugar levels in health service laboratories should ideally at least once every three months after the first visit, which includes checking fasting blood sugar levels, blood sugar levels 2 hours after eating, and checking HbA1C (Mahendra, 2008).

In patients with cholesterol disease, cholesterol levels must be controlled regularly, especially when the patient begins to enter adulthood because the process of atherosclerosis has begun to occur at a young age unconsciously. If the cholesterol level is normal then the next examination is enough to be done once a year. If the cholesterol level exceeds the normal threshold or is high enough, an examination must be carried out every three months to evaluate all control efforts that have been carried out so far, such as: medication, diet, and exercise. Cholesterol checks should be repeated every month in patients with very high cholesterol levels (Listiana, 2012). Based on the results of the study, there were 17.1% of respondents who felt that medical laboratory examinations did not help in establishing the diagnosis of the disease experienced and 82.9% of respondents who felt that medical laboratory examination was very helpful in establishing the diagnosis of the disease experienced. Respondents who feel that medical laboratory examinations do

not help in establishing a diagnosis of the disease they are experiencing are ARI patients who only come when sick, and are not directed for laboratory examinations, where the Puskesmas laboratory also has not provided specific examinations related to ARI. This patient, after recovering, did not return to the Puskesmas to check his health. The average reason respondents do not do regular health checks is because they are afraid of the results of the examination or knowing their health problems, and are considered an activity that wastes money because the person seems fit.

In addition, the education level of respondents also affects, 1.85% of respondents have an education level below high school so they do not know about information on medical laboratory examinations. To overcome this, ATLM must be more aggressive in carrying out promotions and education to the public regarding information on medical laboratory examinations. The results of the Seeman-Lewis study and the Seeman Budros study show that people who have more knowledge about health are more likely to initiate disease prevention behaviors (Freudenberg, 2007). This knowledge can be obtained from formal or informal education. Especially in schools, the relationship formed is to provide social support equally in partners so that they can understand each other. This social support can reduce depression, anxiety and psychological stress that affect health as a result the individual's health status will change (Pellet, 2007). Other research shows that lack of knowledge and access to information causes a person to have limited knowledge about the dangers of unhealthy behavior so that they lack motivation to adopt healthy behaviors (Fred, 2010). Respondents who feel that medical laboratory examinations are very helpful in establishing a diagnosis of disease are respondents with a high school and college education level with a percentage of 81.4% and have received information and education about medical laboratory examinations. Various studies show that education is a protection for health. In many developed countries, the addition of one year of education can reduce mortality by about 8% (Fred, 2010). One year of education can also increase the average income by 8% and can reduce mortality twice as much, both directly and indirectly (Pellet, 2007). The existence of policies to prevent dropouts and improve educational achievement has a major impact on the health of the population (Freudenberg, 2007). The results of another study showed that based on education level, individuals who received undergraduate education or paid more attention to information from nutritionists than those who did not graduate from high school as much as 3.6 times. Similarly, people with higher levels of education are more aware of being overweight so that they can contribute to efforts to control weight (Laflamme, 2004).

This shows that the knowledge obtained from formal and informal education, has a contribution to individuals in making decisions to behave in a healthy life, which in turn will have an impact on the health status of the individual. In addition to the education level factor, respondents who feel that medical laboratory examinations are very helpful in establishing a diagnosis of their disease are respondents who are accustomed to making mandatory visits once a month to control or check-up their health conditions regularly, and are directed to laboratory examinations. The results of the medical laboratory examination make the respondent know the history and development of the respondent's disease every month to be consulted with the doctor. Non-communicable diseases have become a group of diseases that are difficult to define because these diseases are not only susceptible to the elderly but also often occur in individuals of productive age, namely at the age of 15-65 years (Kemenkes, 2014). Four behaviors such as tobacco use, alcohol consumption, poor diet, and lack of physical activity are behaviors that are risk factors and are closely related to four main types of non-communicable diseases, namely: cardiovascular disease, cancer,

chronic respiratory disease, and diabetes as 80 % of causes of death from non-communicable diseases (Kemenkes, 2017). Non-communicable diseases arise from a combination of non-modifiable risk factors and modifiable risk factors. Risk factors that cannot be modified by individuals are age, gender, and genetics. While modifiable risk factors are factors that can be changed through the individual's own awareness and social intervention (Alifariki, 2015). Modifiable risk factors include changes in the patient's diet and lifestyle, as well as being diligent in conducting regular check-ups on a regular basis. By conducting regular medical check-ups, a person can find out his health condition for a certain period of time as well as know the history and progress of the course of the disease he is suffering from. In handling communicable diseases, to monitoring the success of treatment in patients, information on the results of medical laboratory examinations is also useful in terms of monitoring or surveillance in tracking other patients in the community (Forsman, 2002). The results of monitoring and tracking of these cases are then useful for describing the number of infected patients in the community population. Information on the number of infected populations can be used as a basis by the government for decision making, determining the policy flow for handling and controlling a disease before more people are infected (Forsman, 2002). In handling non-communicable diseases, surveillance information on case tracking and surveillance of risk factors is also one of the strategies for proper and integrated disease prevention and control by the government, the private sector, and the community (Umuyana et al, 2015). Conducting counseling, laboratory examinations and surveillance of risk factors for non-communicable diseases is a form of health effort that can be carried out in preventing the increase in the prevalence of non-communicable diseases (Indriyawati, et al., 2018)

## CONCLUSION

Based on the research results, 28.6% of respondents suffer from infectious diseases and 71.4% of respondents suffer from non-communicable diseases. Based on the results of the study, 17.1% of respondents felt that they were not helped in establishing the diagnosis of the disease experienced through medical laboratory examinations. While the other 82.9% felt it was helped in establishing the diagnosis of the disease they were experiencing. This is influenced by the level of education, the lack of information about the benefits of medical laboratory examinations, also when the respondent is not treated for laboratory examinations. The analysis of the two variables, the participation of medical laboratory examinations and the diagnosis of infectious and non-communicable diseases was carried out using a statistical test, namely the Chi Square test and the result was  $p = 0.00$ . Because  $p 0.00 < 0.05$ , the relationship between the two variables is significant. The role of medical laboratory examinations in handling infectious diseases is not only to monitor the success of treatment, but also to monitor or monitor other cases in the community and the role of medical laboratory examinations in handling non-communicable diseases is as a way for screening or early detection of patients as well as risk factor surveillance, so that patients are found and treated more quickly before their health conditions get worse.

The advice of this study is the results can be taken into consideration to strengthen the role of the laboratory in improving the health status of the community and for further research, it can be done with a larger number of respondents and more diverse types of diseases.



## REFERENCES

- Permenkes No 411 /2010 Tentang Laboratorium Klinik
- Permenkes No 82/2014 Tentang Penanggulangan Penyakit Menular
- Alifariki,L.O. 2015. Analisis Faktor Determinan Proksi Kejadian Hipertensi di Poliklinik Interna BLUD RSUD Provinsi Sulawesi Tenggara. *Medula.* ;3(1):214–23.
- Beaglehole,R. 2003. Dasar-dasar Epidemiologi. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press
- Dinas Kesehatan Propinsi NTB. 2019. *Profil Kesehatan NTB Tahun 2019*. Mataram : Dikes NTB
- Dileep R.K , Sanjeev Kumar, Sabeerali K , Shyju V S, dan Abdullakuty K. 2016. *Medical Laboratory Technology Book*. State Council Of Educational Research And Training : Kerala
- Fred C. Pampel, Patrick M. Krueger, and Justin T. Denney, 2010. Socioeconomic Disparities in Health Behaviors. *Annu Rev Sociol.* August; 36: 349–370.
- Freudenberg N. 2007. Reframing school Dropouts as a public health issue. *Public health research, practice, and policy*, vol. 4, no. 4. Available at [http://www.cdc.gov/PCD/issues/2007/oct/07\\_0063.htm](http://www.cdc.gov/PCD/issues/2007/oct/07_0063.htm). [access at 12 Agustus 2008]
- Forsman RW, dan Regan,M. The Value Of The Laboratory Professional In The Continuum Of Care. *Clin Leadersh Manag Rev* 2002;16:370–373.
- Indriyawati, N.,Widodo, Nurul M., Priyatno, D., Jannah, M., 2018. Skrining dan Pemdampingan Penyakit Tidak Menular di Masyarakat, e-journal Jurusan Keperawatan, Poltekkes Kemenkes. Semarang, *LINK* Vol. 14, No. 1, hal. 50-54
- Irwan. 2017. *Epidemiologi Penyakit Menular*. Yogyakarta : Absolute Media
- Kee, J.L. 2007. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik* Edisi 6. Jakarta : EGC.
- Kemenkes RI, 2011. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2010*. Jakarta: Kemenkes RI
- Kemenkes,RI. 2012. *Pusat Data dan Informasi Kesehatan*. Jakarta : Kemenkes RI
- Kemenkes RI. 2013. *Hasil Utama Riskesdas 2013*. Jakarta : Kemenkes RI
- Kemenkes RI. 2014. *Pedoman Umum Pos Pembinaan Terpadu Penyakit Tidak Menular* Edisi 1. Jakarta : Kemenkes RI.
- Kemenkes, RI. 2017. *Rencana Aksi Pengendalian Penyakit Tidak Menular Tahun 2015-2019 oleh Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular*. Jakarta : Kemenkes RI
- Kemenkes RI. 2018. *Hasil Utama Riskesdas 2018*. Jakarta : Kemenkes RI
- Kemenkes, RI. 2019. *Buku Pedoman Pencegahan Penyakit Tidak Menular*. Jakarta : Kemenkes RI, Jakarta

- Kurniawan, I., 2010. Diabetes Mellitus Tipe 2 pada Usia Lanjut. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 60(12):576-584
- Laflamme L, K. Engström, J. Möller, J. Hallquist. 2004. Is perceived failure in schools performance a trigger of physical injury? A case-crossover study of children in Stockholm County. *Journal of Epidemiology and Community Health*, no. 58, pp. 407–411.
- Listiana L, Purbosari T. Kadar Kolesterol Total pada Usia 25-60. *Electronic Journal UM Surabaya*; Juni 2012 diakses di <http://journal.umsurabaya.ac.id/index.php/Health/article/view/7>
- Mahendra B. 2008. *Care Yourself: Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Plus
- Pellet Kathleen, Dianne L. Speake, Marie E. Cowart. 2007. *Health Perceptions and Lifestyles of The Elderly*. New York : Mary An Liebert
- Seyoum,H. 2006. *Introduction to Medical Laboratory Technology*. Ethiopia : Haramaya University
- Sulistya, A. B. (2012). *Faktor-Faktor Yang Berpengaruh Pada Pemanfaatan Layanan Medical Check-Up Di RSPAD Gatot Subroto Tahun 2011*. Jakarta : Tesis Universitas Indonesia (tidak diterbitkan)
- Tefera,Z. 2017. *Assessment Of Patient Satisfaction Towards Clinical Laboratory Services Among Strengthening Laboratory Management Towards Accreditation (SLMTA) Program Implementing Hospital Laboratories Under Addis Ababa City Administration, Ethiopia*. Ethiopia : Addis Ababa University
- Umayana, Haniek T, Cahyati, dan Hary.W, 2015. Dukungan Keluarga dan Tokoh Masyarakat Terhadap Keaktifan Penduduk ke Posbindu Penyakit Tidak Menular. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Universitas Negeri Semarang KEMAS*, 11 (1) (2015) 96-101.
- Waheed U, Ansari MA, Zaheer HA. 2013. Phlebotomy As The Backbone Of The Laboratory. *Laboratory Medicine* : 44(1): e69-71
- World Health Organization .2011. *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2010*. Geneva : WHO Global Report



# Studi Hepcidin dalam Meregulasi Besi Serum pada Model Hewan Coba *Mus Musculus* Betina Inflamasi Akut

Gilang Nugraha<sup>1,2</sup>, Widjiati<sup>3</sup>, Aryati<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Doktor Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia; gilang@unusa.ac.id

<sup>2</sup>Program Studi D-IV Analisis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Anatomi Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Surabaya, Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran dan Institut Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

## ABSTRACT

Anemia merupakan kondisi kekurangan atau tidak berfungsinya eritrosit. Hepcidin merupakan hormon sentral dalam regulasi hemostasis besi dengan dampak penurunan penyerapan dan pelepasan zat besi. Peningkatan kadar hepcidin dapat diinduksi oleh interleukin-6 (IL-6) yang telah dilaporkan pada penyakit neoplastik, peradangan, dan sepsis. Namun, studi hepcidin pada kasus inflamasi akut masih terbatas. Melihat respons hepcidin terhadap inflamasi akut serta dampaknya terhadap besi serum. Desain berupa eksperimental laboratorik menggunakan mencit betina yang diinjeksi LPS sebagai kelompok perlakuan. Besar sampel sebanyak 6 ekor mencit. Sebanyak 1 mL darah diambil untuk pemeriksaan ELISA dan hepar untuk pemeriksaan *western blot*. Setelah 4 jam injeksi LPS maka terjadi peningkatan IL-6 yaitu 937,03 pg/mL ( $P = 0,000$ ), peningkatan hepcidin-1 yaitu 440,00 ng/L ( $P = 0,011$ ), peningkatan P-SMAD2/3 yaitu 160,503 ( $P = 0,033$ ), dan penurunan besi serum yaitu 2,92 mg/L ( $P = 0,049$ ). Mencit inflamasi akut mengalami peningkatan kadar hepcidin-1 karena diinduksi IL-6 melalui jalur JAK-STAT, induksi tersebut melibatkan aktivasi jalur BMP-SMAD yang ditandai dengan peningkatan P-SMAD2/3. Peningkatan kadar hepcidin-1 tersebut dapat dengan cepat menurunkan kadar besi serum. Inflamasi akut dapat dengan cepat menginduksi hepcidin-1 dan dalam waktu bersamaan menekan besi serum, kondisi ini mampu memicu terjadinya defisiensi besi bahkan berkembang menjadi anemia defisiensi besi.

**Keywords:** Besi Serum, IL-6, Hepcidin, *Mus musculus*.

## PENDAHULUAN

Anemia merupakan suatu kondisi tubuh kekurangan eritrosit atau eritrosit tidak berfungsi dengan baik. Kondisi tersebut umumnya ditandai dengan penurunan kadar hemoglobin (Hgb) atau hematokrit (Hct) atau jumlah eritrosit (RBC) (1). Anemia masih menjadi permasalahan di Indonesia, riset kesehatan dasar melaporkan terdapat 21,7% kasus pada 2013 dan mengalami peningkatan menjadi 23,7% pada tahun 2018 (2,3).

Kasus anemia terbanyak ditemukan pada kelompok ibu hamil (49%), lansia (42%), balita (38%), dan remaja (32%) (2). Jika tidak mendapatkan perhatian khusus, anemia pada ibu hamil dapat memicu cacat bawaan, prematur, Badan Bayi Lahir Rendah (BBLR), anemia pada bayi hingga kematian bayi (4). Anemia pada balita dan remaja yang merupakan dapat menyebabkan gangguan perkembangan neurologis berupa keterlambatan kognitif, mental, dan perkembangan (1). Sedangkan anemia pada lansia dapat menyebabkan gangguan sistem kardiovaskular berupa infark miokard, angina, gagal jantung, aritmia, dan hipertrofi jantung (1).

Hepcidin merupakan hormon peptida yang berperan sentral dalam regulasi hemostasis besi di dalam tubuh. Hepcidin diproduksi oleh hati dan dilepaskan dalam sirkulasi darah. Hormon ini mengatur kadar besi plasma melalui degradasi ferroportin (Fpn) sehingga memberi dampak penurunan penyerapan zat besi pada enterosit dan pelepasan zat besi pada sel-sel yang mendaur ulang dan menyimpan zat besi. Oleh karena itu, peningkatan kadar hepcidin dapat menurunkan kadar zat besi dalam darah (5).

Hepcidin dapat diinduksi oleh interleukin-6 (IL-6) melalui interaksi dengan IL-6-receptor (IL-6R) pada membran hepatosit, interaksi tersebut akan mengaktifkan *Janus Kinase* (JAK) untuk memfosforilasi *Signal Transducer and Activator of Transcription-3* (STAT3). Selanjutnya, STAT3 yang terfosforilasi akan bertranslokasi ke dalam nukleus untuk mengatur transkripsi hepcidin. Induksi hepcidin melalui jalur JAK-STAT selama peningkatan IL-6, membutuhkan interaksi dengan jalur *Bone Morphogenetic Protein - Small*

*Mothers Against Decapentaplegic* (BMP-SMAD). Aktivasi jalur BMP-SMAD ditandai dengan adanya peningkatan protein intraseluler SMAD yang terfosforilasi (6,7).

Penelitian hepcidin sebagai penanda untuk keadaan anemia dan hemokromatosis telah terbukti dengan baik. Penelitian saat ini telah memperluas implikasi diagnostik hepcidin dalam kondisi medis lainnya. Peningkatan serum hepcidin telah dilaporkan pada penyakit neoplastik, peradangan, dan sepsis. Namun, penggunaan klinis hepcidin sebagai biomarker masih terbatas pada kasus inflamasi akut. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu studi (8).

Berdasarkan pada hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk melihat bagaimana respons hepcidin terhadap inflamasi akut serta dampaknya terhadap besi serum. Penelitian dilakukan secara eksperimental dan secara etika tidak memungkinkan untuk dilakukan langsung pada manusia, maka digunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*).

Mencit memiliki 2 gen hepcidin, yaitu Hamp1 dan Hamp2. Kedua Hamp merespon terhadap perubahan zat besi dalam tubuh, akan tetapi Hamp1 dilaporkan sebagai gen yang mengekspresikan hepcidin-1 dan memiliki fungsi sama dengan hepcidin manusia dalam regulasi metabolisme zat besi (9,10).

## METODE DAN BAHAN

### Desain Penelitian

Desain penelitian ini berupa eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *true eksperimental* melalui pendekatan *posttest only control group design*. Penelitian menggunakan mencit betina yang di bagi menjadi ke dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

### Besar Sampel

Besar sampel minimal pada penelitian ini mempertimbangkan insiden anemia, sehingga dihitung menggunakan rumus Lemeshow. Insiden anemia merujuk dari hasil studi Manolov V, dkk (11) serta mengacu pada studi Canali S, dkk (12). Selain itu, besar sampel mempertimbangkan kemungkinan hewan mati selama penelitian sebesar 17% sesuai referensi yang mengacu pada studi Snyder JM, dkk (13). Maka jumlah sampel minimum pada masing-masing kelompok dalam penelitian ini sebanyak 6 ekor mencit.

### Model Hewan Coba

Hewan coba pada penelitian ini berupa mencit (*Mus musculus*) betina galur *deutschland denken yoken* (ddy) umur 3 bulan yang didapat dari Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Prosedur penggunaan hewan coba pada penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Penggunaan Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga dengan nomor 2.KE.111.11.2020.

Perlakuan hewan coba dilakukan di laboratorium hewan, fakultas kedokteran hewan, Universitas Airlangga Surabaya. Hewan coba yang didapat di pisahkan kedalam dua kelompok, mencit pada kelompok kontrol diinjeksi 1 mL *phosphate-buffered saline* (PBS) secara intraperitoneal. Mencit kelompok perlakuan dilakukan injeksi 1 mL lipopolisakarida (LPS) dengan dosis 1 µg/g berat badan mencit. Upaya meminimalisir bias perlakuan, LPS berasal dari *Escherichia coli* serotipe O111:B4 (Sigma, Merck, Jerman).

Mencit yang telah diberikan perlakuan dikembalikan kembali pada kandangnya masing-masing sesuai kelompok. Mencit dipelihara dan mendapat akses bebas makanan dan minuman. Setelah 4 jam perlakuan, mencit eutanasia untuk pengambilan spesimen (12).

### Pengumpulan Spesimen

Mencit dieutanasia dan sebanyak 1 mL darah diambil secara intrakardial, darah yang didapat dimasukkan kedalam tabung aliquot 1,5 mL. Darah dibiarkan membeku selama 10 – 20 menit, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Serum yang didapat dipindahkan kedalam tabung aliquot baru dan digunakan untuk pemeriksaan IL-6, hepcidin-1, dan besi serum. Serum yang tidak dilakukan pemeriksaan langsung disimpan pada suhu -80°C.

Hepar mencit diambil segera setelah pengambilan darah. Hepar di bilas menggunakan PBS sebanyak tiga kali dan digunakan untuk pemeriksaan *western blot*. Hepar yang tidak segera dilakukan pemeriksaan harus dimasukkan dalam wadah berisi PBS dan disimpan pada suhu -80°C.

### Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Pemeriksaan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan menggunakan kit komersial digunakan untuk mengukur konsentrasi IL-6 (Legend Max™, BioLegend, USA) dan hepcidin-1 (BT Lab, Cina). Penetapan kadar besi serum ditentukan dengan metode kolorimetrik (Elabscience, USA). Prosedur pemeriksaan mengikuti instruksi kit.

### Uji Western Blot

Hepar mencit ditimbang seberat 0,1 gram, kemudian dicuci dengan *phosphate buffer saline* (PBS) dingin. Hepar dimasukkan kedalam mortar dan digerus, kemudian ditambahkan 1 mL buffer ekstrak (1mM

PMSF dalam DMSO, 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  [pH 7,4], 0,5% nonidet P-40) dan diratakan hingga homogen. Homogenat dimasukkan kedalam tabung eppendorf (EP), kemudian di sentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Supernatan yang didapat dilakukan uji kadar protein menggunakan NanoDrop (ND000, Thermo Fisher Scientific, USA). Protein di pisahkan menggunakan *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) poliakrilamida 12,5%. Kemudian, hasil SDS-PAGE dipindahkan secara elektroforesis ke dalam membran polivinilidena fluorida (PVDF). Membran diblokir selama 1 jam pada suhu ruang dengan 5% susu tanpa lemak dan kemudian diinkubasi dengan antibodi primer *Phospo-SMAD2/3* (pa5-99378, Thermo Fisher Scientific, USA) pada suhu 4°C semalam. Hari berikutnya diinkubasi dengan antibodi sekunder ( $\alpha$ -rabbit) terkonjugasi *horseradish peroxidase* (HRP) selama 1 jam pada suhu ruang. Pita divisualisasikan dengan *Molecular Imager*® (Gel Doc™ XR, Bio-Rad, USA).

#### Analisis Statistik

Data disajikan sebagai nilai mean dan SD. Analisis statistik dilakukan dengan uji-t tidak berpasangan (independen) menggunakan perangkat lunak SPSS versi 21 (IBM Corporation, USA). Nilai  $p < 0,050$  dianggap tidak signifikan secara statistik.

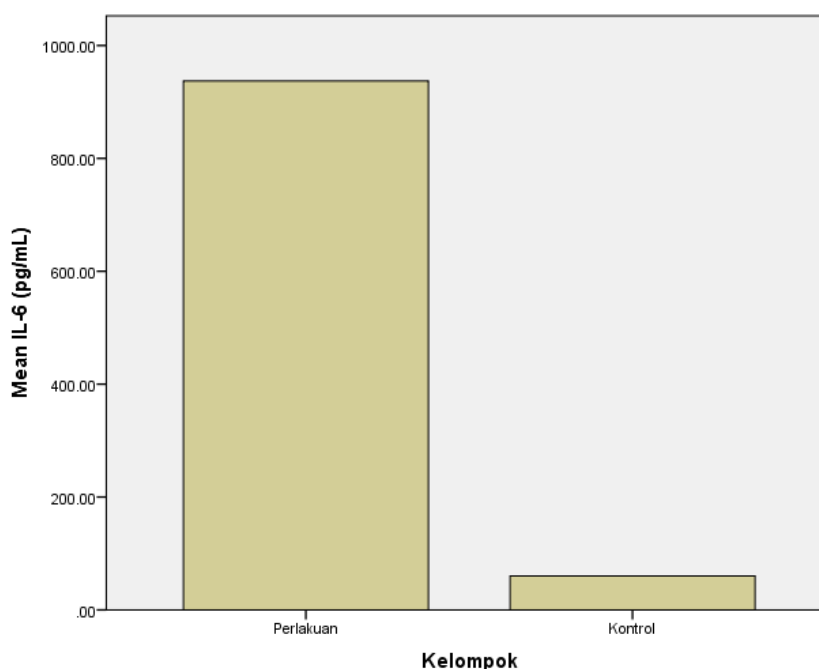
### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### Respons Mencit Terhadap Induksi LPS

Inflamasi akut merupakan respons imun adaptif yang berlangsung cepat akibat rangsangan berbahaya. Proses inflamasi akut dimulai karena adanya penginduksi berupa organisme infeksius atau rangsangan non-infeksi seperti benda asing dan sinyal sel nekrosis atau kerusakan jaringan. Mediator yang dapat digunakan sebagai biomarker proses inflamasi akut diantaranya sitokin seperti IL-6 (14).

Model hewan coba inflamasi akut berasal dari mencit yang di injeksi menggunakan LPS, setelah 4 jam perlakuan dilakukan eutanasia untuk pengamatan. Proses pengamatan setelah 4 jam perlakuan dilakukan karena studi yang dilakukan Canali, S. dkk (12) menunjukkan ekspresi mRNA IL-6 mengalami peningkatan yang lebih tinggi pada kelompok mencit yang diinduksi LPS setelah 4 jam perlakuan. Penggunaan mencit betina dilakukan karena, kasus anemia defisiensi besi banyak terjadi pada populasi ibu hamil dan wanita yang mengalami pubertas karena menstruasi (2).

Hasil pemeriksaan kadar IL-6 pada kelompok perlakuan penelitian ini didapat rerata 937,03 pg/mL (SD: 46,59 pg/mL), sedangkan nilai rerata kelompok kontrol 60,16 pg/mL (SD: 19,99 pg/mL) (Gambar 1). Berdasarkan uji-t, didapat perbedaan kadar IL-6 secara bermakna pada kedua kelompok ( $P = 0,000$ ). Dengan kata lain, mencit pada kelompok perlakuan ini mengalami inflamasi yang di tandai dengan peningkatan IL-6. Karena eutanasia dilakukan 4 jam setelah injeksi LPS maka inflamasi bersifat akut.

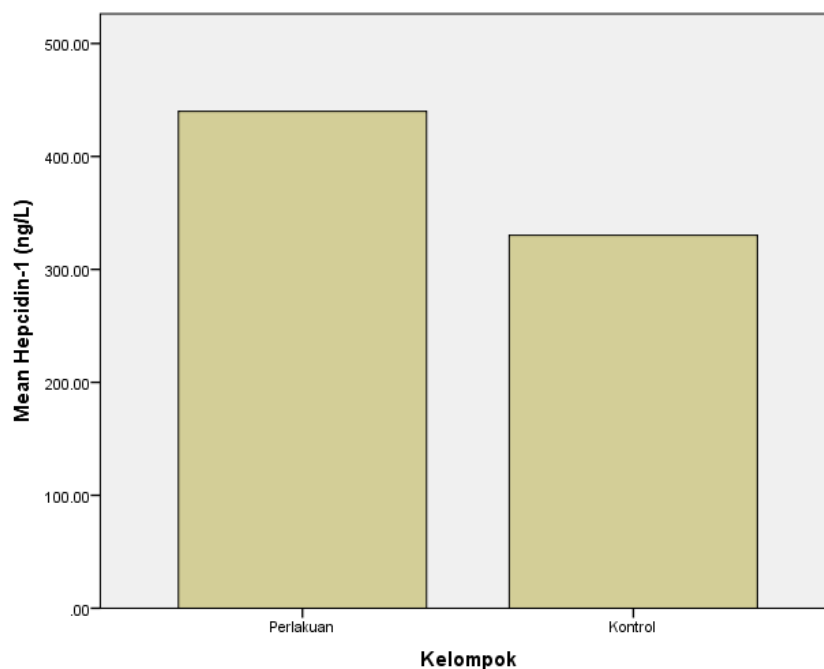


Gambar 1. Perbedaan nilai rerata pada pemeriksaan kadar IL-6 pada kelompok kontrol dan perlakuan.

Studi terdahulu seperti yang dilakukan Liu, X. dkk (15), Tessaro, FHG. dkk (16) dan Metwally, H. dkk (17) juga melaporkan adanya peningkatan IL-6 setelah dilakukannya induksi LPS. Peningkatan kadar IL-6 pada kelompok perlakuan terjadi karena LPS yang di injeksikan akan dikenali *pathogen-recognition receptors* (PRR) sel imun seperti monosit dan makrofag. PRR terdiri dari *toll-like receptors* (TLR), *retinoic acid-inducible gene-1-like receptors*, *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*, dan *DNA receptors*. Reseptor tersebut merangsang berbagai jalur pensinyalan termasuk NF- $\kappa$ B, dan meningkatkan transkripsi mRNA sitokin inflamasi seperti IL-6, *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , dan IL-1 $\beta$ . Selain itu, TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  juga mengaktifkan faktor transkripsi untuk menghasilkan IL-6 (18).

### Respons Hecpidin pada Inflamasi Akut

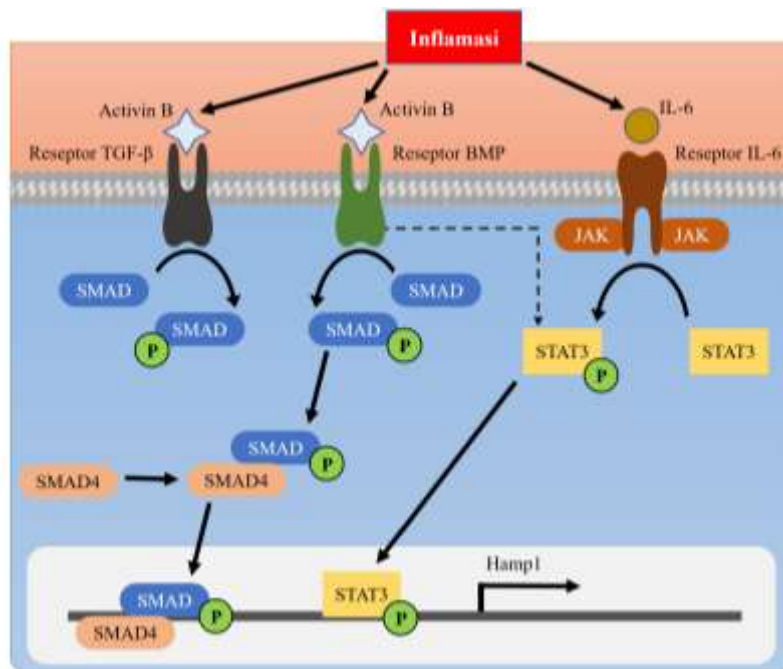
Mencit yang mengalami inflamasi akut dilakukan pemeriksaan hepcidin-1 untuk melihat respons hepcidin-1 terhadap peningkatan IL-6. Kadar hepcidin-1 rerata pada kelompok perlakuan yaitu 440,00 ng/L (SD: 70,55 ng/L), sedangkan kelompok kontrol yaitu 330,23 ng/L (SD: 50,53 ng/L). Berdasarkan uji-t, didapat perbedaan kadar hepcidin-1 secara bermakna pada kedua kelompok ( $P = 0,011$ ) (Gambar 2). Dengan kata lain, mencit yang mengalami inflamasi akut mampu menginduksi dan meningkatkan kadar hepcidin-1.



Gambar 2. Perbedaan nilai rerata pada pemeriksaan kadar hepcidin-1 pada kelompok kontrol dan perlakuan.

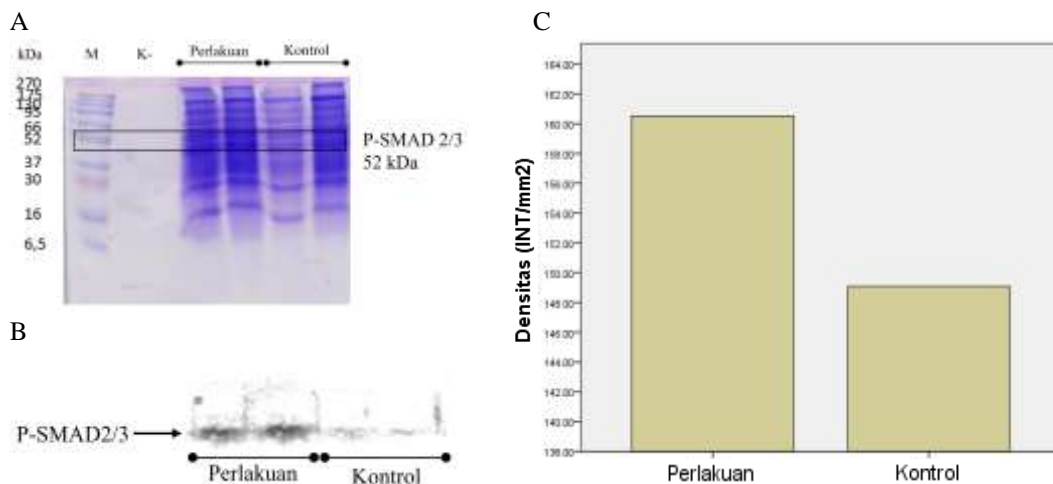
Peningkatan kadar hepcidin-1 pada mencit inflamasi akut terjadi karena IL-6 dapat menginduksi hepcidin melalui IL-6-receptor (IL-6R) pada hepatosit. IL-6 yang terikat pada ke IL-6R akan mengaktifkan *Janus Kinase* (JAK) yang memfosforilasi *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT) terutama STAT3. STAT3 yang terfosforilasi akan bermigrasi ke dalam nukleus (18). Sekitar 0,6 kb fragmen dengan urutan TTCTTGAAATGAG diidentifikasi sebagai *conserved element 9* (CE9) sebagai lokasi pengikatan STAT3 pada gen hepcidin-1 (19). Jalur induksi hepcidin pada mekanisme ini disebut jalur JAK-STAT.

Induksi hepcidin-1 pada jalur JAK-STAT bergantung pada jalur BMP-SMAD, karena hepcidin-1 tidak dapat di ekspresikan jika jalur BMP-SMAD tidak aktif. Aktivasi jalur BMP-SMAD pada inflamasi di induksi oleh activin B (20). Activin B merupakan protein pro-inflamasi bersama-sama dengan interleukin IL-6 memicu ekspresi hepcidin selama inflamasi (21,22). Activin B dapat berinteraksi dengan reseptor BMP dan reseptor TGF- $\beta$  membran hepatosit, melalui bantuan ko-reseptor HJV (*hemojuvelin*) maka akan membentuk fosforilasi SMAD (P-SMAD). Selanjutnya P-SMAD akan berikatan dengan SMAD4 dan mengalami translokasi ke nukleus untuk melakukan transkripsi mRNA Hamp1 (21). Mekanisme ekspresi hepcidin-1 disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme induksi hepcidin-1 pada jalur JAK-STAT dan BMP-SMAD.

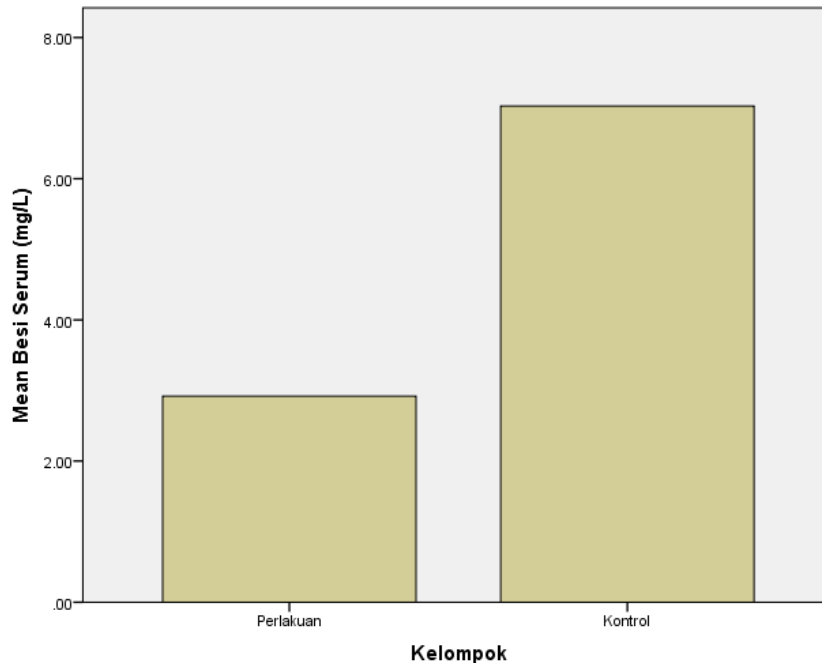
Aktivasi jalur BMP-SMAD pada penelitian ini dibuktikan dengan melakukan pengukuran *western blot* SMAD2/3 yang terfosforilasi (P-SMAD2/3). Berdasarkan hasil pemeriksaan didapat densitas rerata P-SMAD2/3 yaitu 160,503 pada kelompok perlakuan dan 149,084 pada kelompok kontrol. Berdasarkan uji-t, didapat perbedaan densitas P-SMAD2/3 secara bermakna pada kedua kelompok ( $P = 0,033$ ) (Gambar 4). Dapat diartikan bahwa mencit yang mengalami inflamasi akut mengalami peningkatan pembentukan P-SMAD2/3, dengan kata lain terjadi aktivasi jalur BMP-SMAD pada mencit inflamasi akut.



Gambar 4. Hasil pemeriksaan P-SMAD2/3. (A) SDS-PAGE P-SMAD2/3 pada 52 kDa. (B) *Western blot* P-SMAD2/3. (C) Perbedaan densitas pita *western blot*.

### Kemampuan Hepcidin dalam Meregulasi Besi Serum

Peningkatan kadar hepcidin-1 pada kelompok perlakuan tidak begitu tinggi jika di bandingkan dengan kadar IL-6 yang begitu tinggi, untuk membuktikan kemampuan hepcidin-1 dalam meregulasi hemostasis besi dalam model hewan coba maka dilakukan pengukuran besi serum. Berdasarkan hasil penelitian ini didapat nilai rerata besi serum pada kelompok perlakuan yaitu 2,92 mg/L (2,63 mg/L) sedangkan pada kelompok kontrol 7,03 mg/L (SD: 3,63 mg/L). Berdasarkan uji-t, didapat perbedaan kadar besi serum secara bermakna pada kedua kelompok ( $P = 0,049$ ) (Gambar 5). Dengan kata lain, mencit yang mengalami inflamasi akut akan mengalami penurunan kadar besi serum atau disebut juga hipoferremia.



Gambar 5. Perbedaan nilai rerata pada pemeriksaan kadar besi serum pada kelompok kontrol dan perlakuan.

Peningkatan kadar hepcidin yang cepat pada model hewan coba mencit inflamasi, tetap mampu mengatur hemostasis besi. Kondisi tersebut terjadi karena peningkatan kadar hepcidin akan meningkatkan internalisasi dan degradasi ferroportin (Fpn). Fpn merupakan protein yang bertanggung jawab untuk pelepasan besi pada sirkulasi dan membentuk ikatan dengan transferrin untuk di transportasikan ke seluruh tubuh. Fpn diekspresikan oleh enterosit pada duodenum, makrofag dan hati (23). Sehingga penurunan Fpn akan menurunkan jumlah zat besi yang di serap oleh duodenum dan mengurangi zat besi yang dilepaskan oleh sel-sel yang menyimpan zat besi dalam tubuh, oleh karena itu kadar besi serum dalam darah menurun.

Hipoferrimia selama inflamasi merupakan salah satu mekanisme pertahanan tubuh sebagai sinyal adanya zat asing yang masuk dalam tubuh. Karena, jika inflamasi akut terjadi akibat mikroorganisme, maka zat besi akan menjadi nutrisi patogen guna pemeliharaan dan proliferasi patogen selama di dalam inang melalui heme dan siderophores. Bahkan telah dilaporkan bahwa penyerapan zat besi oleh patogen dapat meningkatkan patogenitas dari mikroorganisme yang menginfeksi (24,25).

Hipoferrimia pada kondisi inflamasi akut mungkin tidak secara langsung dapat mengakibatkan anemia defisiensi besi. Akan tetapi peningkatan kadar hepcidin dapat mengganggu penyerapan zat besi makanan. Jika kondisi inflamasi akut terjadi berulang, maka asupan zat besi dapat berkurang yang dapat mengakibatkan defisiensi besi dan berkembang menjadi anemia defisiensi besi (26).

Kondisi serupa juga dapat terjadi pada individu yang sedang melakukan terapi zat besi oral, karena peningkatan kadar hepcidin dapat menghambat penyerapan zat besi (27). Selain itu pada sisi basolateral dari *syncytiotrophoblast* plasenta mengekspresikan Fpn, sehingga ibu hamil yang mengalami inflamasi akut selain berdampak langsung pada ibu juga akan mengakibatkan penurunan transfer zat besi dari ibu ke janin (28).

### KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa inflamasi akut dapat dengan cepat menginduksi hepcidin-1 hingga kadar rerata mencapai 440,00 ng/L, dan dalam waktu bersamaan mampu menekan besi serum hingga rerata kadar mencapai 2,92 mg/L. Kondisi ini mampu memicu terjadinya defisiensi besi dan dapat berkembang menjadi anemia defisiensi besi.

Peningkatan kadar hepcidin tidak terbatas hanya pada inflamasi akut, lebih jauh telah dilaporkan juga pada kondisi neoplastik, inflamasi kronis, dan sepsis. Dengan demikian hepcidin dapat disarankan sebagai

biomarker yang dapat melengkapi pemeriksaan profil besi pada pelayanan laboratorium medik. Akan tetapi perlu dilakukannya studi penelitian pada populasi manusia.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana penelitian serta bantuan beasiswa jenjang doktoral yang diberikan oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP). Ucapan terima kasih penulis sampaikan juga kepada Neisry Arysta, Aditya Tri Ananda, Mohamad Kharis Suhud, dan Supardi yang telah melakukan perawatan mencit dan bantuan teknis selama di Laboratorium Embriologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya. Selain itu penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Lidwina Faraline Triprisila dan Rista Nikmatu Rohmah atas bantuan teknis selama di laboratorium Biosains, Universitas Brawijaya Malang.

#### REFERENSI

1. Kędziora-Kornatowska K, Mađra-Gackowska K, Gackowski M. Anemia. In: Encyclopedia of Biomedical Gerontology [Internet]. Elsevier; 2019 [cited 2021 Jun 16]. p. 222–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499994/>
2. Tim Riskesdas 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2019. 500–523 p.
3. Tim Riskesdas 2013. Laporan Nasional Riskesdas 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013. 296 p.
4. Nugraha G, Masruroh N. Pengaruh Peningkatan Laju Endap Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Feritin Serum pada Ibu Hamil. *Med Technol Public Heal J* [Internet]. 2019 Sep 25 [cited 2021 Jun 16];3(2):127–32. Available from: <https://journal2.unusa.ac.id/index.php/MTPHJ/article/view/1133>
5. Chambers K, Sharma S. Physiology, Hecpidin [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2019 [cited 2021 Jun 16]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30855845>
6. Noguchi-Sasaki M, Sasaki Y, Shimonaka Y, Mori K, Fujimoto-Ouchi K. Treatment with anti-IL-6 receptor antibody prevented increase in serum hepcidin levels and improved anemia in mice inoculated with IL-6-producing lung carcinoma cells. *BMC Cancer*. 2016 Apr 11;16(1).
7. Hawula ZJ, Wallace DF, Subramaniam VN, Rishi G. Therapeutic advances in regulating the hepcidin/ferroportin axis [Internet]. Vol. 12, Pharmaceuticals. MDPI AG; 2019 [cited 2021 Jun 17]. Available from: </pmc/articles/PMC6958404/>
8. Kali A, Charles MVP, Seetharam RSK. Hecpidin - A novel biomarker with changing trends [Internet]. Vol. 9, Pharmacognosy Reviews. Medknow Publications; 2015 [cited 2021 Jun 18]. p. 35–40. Available from: </pmc/articles/PMC4441160/>
9. Lu S, Seravalli J, Harrison-Findik D. Inductively coupled mass spectrometry analysis of biometals in conditional Hamp1 and Hamp1 and Hamp2 transgenic mouse models. *Transgenic Res* [Internet]. 2015 Aug 25 [cited 2020 Sep 28];24(4):765–73. Available from: </pmc/articles/PMC4506729/?report=abstract>
10. Neves J V., Ramos MF, Moreira AC, Silva T, Gomes MS, Rodrigues PNS. Hamp1 but not Hamp2 regulates ferroportin in fish with two functionally distinct hepcidin types. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2020 Sep 28];7(1):1–14. Available from: [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports)
11. Manolov V, Marinov B, Velizarova M, Atanasova B, Vasilev V, Tzatchev K, et al. Anemia in pregnancy and serum hepcidin levels. *Int J Adv resrarch* [Internet]. 2015 [cited 2020 Apr 22];3(1):758–61. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/275473153\\_Anemia\\_in\\_pregnancy\\_and\\_serum\\_hepcidin\\_levels](https://www.researchgate.net/publication/275473153_Anemia_in_pregnancy_and_serum_hepcidin_levels)
12. Canali S, Core AB, Zumbrennen-Bullough KB, Merkulova M, Wang CY, Schneyer AL, et al. Activin B induces noncanonical SMAD1/5/8 signaling via BMP type I receptors in hepatocytes: Evidence for a role in hepcidin induction by inflammation in male mice. *Endocrinology*. 2016 Mar



- 1;157(3):1146–62.
13. Snyder JM, Ward JM, Treuting PM. Cause-of-Death Analysis in Rodent Aging Studies. *Vet Pathol.* 2016;53(2):233–43.
  14. Hannoodee S, Nasuruddin DN. Acute inflammatory response. In: *Nature* [Internet]. StatPearls Publishing; 2020 [cited 2021 Jun 22]. p. 20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556083/>
  15. Liu X, Yin S, Chen Y, Wu Y, Zheng W, Dong H, et al. LPS-induced proinflammatory cytokine expression in human airway epithelial cells and macrophages via NF- $\kappa$ B, STAT3 or AP-1 activation. *Mol Med Rep.* 2018;17(4):5484–91.
  16. Tessaro FHG, Ayala TS, Nolasco EL, Bella LM, Martins JO. Insulin Influences LPS-Induced TNF- $\alpha$  and IL-6 Release Through Distinct Pathways in Mouse Macrophages from Different Compartments. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(5):2093–104.
  17. Metwally H, Tanaka T, Li S, Parajuli G, Kang S, Hanieh H, et al. Noncanonical STAT1 phosphorylation expands its transcriptional activity into promoting LPS-induced IL-6 and IL-12p40 production. *Sci Signal.* 2020;13(624).
  18. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, Immunity, And disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014 Oct 1;6(10).
  19. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood.* 2006 Nov 1;108(9):3204–9.
  20. Kanamori Y, Sugiyama M, Hashimoto O, Murakami M, Matsui T, Funaba M. Regulation of hepcidin expression by inflammation-induced activin B. *Sci Rep.* 2016 Dec 6;6.
  21. Thielen N, van der Kraan P, van Caam A. TGF $\beta$ /BMP Signaling Pathway in Cartilage Homeostasis. *Cells.* 2019 Aug 24;8(9):969.
  22. Dituri F, Cossu C, Mancarella S, Giannelli G. The Interactivity between TGF $\beta$  and BMP Signaling in Organogenesis, Fibrosis, and Cancer. *Cells.* 2019 Sep 23;8(10):1130.
  23. Poli M, Asperti M, Ruzzenenti P, Regoni M, Arosio P. Hepcidin antagonists for potential treatments of disorders with hepcidin excess. Vol. 5 APR, *Frontiers in Pharmacology.* Frontiers Media SA; 2014.
  24. Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Ferritin: An inflammatory player keeping iron at the core of pathogen-host interactions [Internet]. Vol. 8, *Microorganisms.* MDPI AG; 2020 [cited 2021 Jun 24]. Available from: [/pmc/articles/PMC7232436/](https://pmc/articles/PMC7232436/)
  25. Gomes AC, Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Modulation of iron metabolism in response to infection: Twists for all tastes [Internet]. Vol. 11, *Pharmaceuticals.* MDPI AG; 2018 [cited 2021 Jun 24]. Available from: [/pmc/articles/PMC6161156/](https://pmc/articles/PMC6161156/)
  26. Warner MJ, Kamran MT. Anemia, Iron Deficiency [Internet]. StatPearls Publishing. 2017. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448065/>
  27. Stoffel NU, Zeder C, Brittenham GM, Moretti D, Zimmermann MB. Iron absorption from supplements is greater with alternate day than with consecutive day dosing in iron-deficient anemic women. *Haematologica* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2021 Jun 24];105(5):1232–9. Available from: [/pmc/articles/PMC7193469/](https://pmc/articles/PMC7193469/)
  28. Fisher AL, Nemeth E. Iron homeostasis during pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2017;106:1567S-1574S.

# SEROKONVERSI ANTIBODI IgM DAN IgG ANTI SARS-CoV-2 SEBAGAI MONITORING INFEKSI COVID-19

Museyaroh<sup>1</sup>, Evy Diah Woelansari<sup>2</sup>, Yan Fuana<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Rumah Sakit Husada Utama Surabaya. Email : museyaroh21@gmail.com

<sup>2</sup> Politeknik Kesehatan Kementerian kesehatan Surabaya

<sup>3</sup>. Universitas Airlangga Surabaya

---

## ABSTRACT

Serokonversi antibodi IgM dan IgG terhadap virus SARS-CoV-2 memiliki peranan penting dalam pengendalian dan prognosis pasien COVID-19 dimana IgM dan IgG dapat digunakan sebagai indikator dalam monitoring respon imun pada pasien COVID-19. Tujuan penelitian yaitu ingin mengetahui serokonversi IgM dan IgG pada pasien COVID-19 berdasarkan lama timbulnya gejala klinis

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Husada Utama Surabaya pada bulan Maret – Mei 2021. Jumlah sampel sebesar 55 pasien yang terkonfirmasi COVID-19 melalui pemeriksaan PCR yang terdiri 20 pasien tanpa gejala, 10 pasien bergejala 0 -7 hari, 10 pasien bergejala 8 -14 hari dan 15 pasien bergejala > 14 hari. Pemeriksaan antibodi IgM dan IgG menggunakan alat maindray CL-Series metode CLIA

Pada pasien tanpa gejala rerata IgM adalah 3 U/mL dan rerata kadar IgG 20,35 U/mL. Pada pasien dengan gejala klinis 0- 7 hari rerata kadar IgM 19,19 sedangkan rerata IgG 7,55 U/mL. Pasien dengan gejala klinis 8 -17 hari rerata kadar IgM 3,06 U/mL, rerata kadar IgG 85,19 U/mL. Pasien dengan gejala klinis > hari rerata kadar IgM 3,9 U/mL, rerata kadar IgG 165,3 U/mL.

Kadar antibody IgM tertinggi berada kelompok pasien dengan gejala klinis 0 -7 hari dan kadar antibodi IgM terendah berada pasien tanpa gejala sedangkan kadar antibodi IgG tertinggi berada pada kelompok pasien dengan gejala > 14 hari dan rerata kadar IgG terendah berada pada kelompok sampel 0 -7

**Kata kunci** : Serokonversi, antibodi, COVID 19

---

## PENDAHULUAN

Pada bulan Juni 2021 secara global lebih dari 177.108. 695 kasus infeksi COVID-19 dengan angka kematian 3.840.223 jiwa<sup>1</sup>. Di Indonesia jumlah kasus infeksi COVID-19 lebih dari 2 juta kasus dengan angka kematian 54.291 jiwa<sup>2</sup>. Serokonversi antibody IgM dan IgG terhadap virus SARS-CoV-2 telah banyak diamati pada pasien COVID-19, respon serologi ini biasanya dikaitkan dengan keparahan penyakit dimana antibodi IgM dan IgG memiliki peranan penting dalam pengendalian dan prognosis pasien COVID-19. IgM dan IgG dapat digunakan sebagai indikator dalam monitoring respon imun terhadap pasien

COVID-19<sup>3</sup>. Antibodi IgM dan IgG juga digunakan sebagai pemeriksaan pelengkap ketika terjadi ketidaksesuaian antara gambaran klinis/radiologis dan tes molekuler, deteksi antibodi ini dapat dijadikan sebagai elemen tambahan yang membantu dokter untuk membuat diagnosis yang benar. Hasil antibodi IgM reaktif dapat menunjukkan adanya infeksi terkini virus SARS-CoV-2 sedangkan IgG menunjukkan paparan lebih lama sehingga deteksi antibodi ini juga penting dalam memberikan informasi perjalanan waktu infeksi<sup>4</sup>. Namun hingga saat ini waktu terbentuknya antibodi pada pasien COVID-19 tidak diketahui secara jelas karena hanya sedikit penelitian dengan hasil yang berbeda sehingga tujuan dari penelitian ini adalah peneliti ingin mengetahui serokonversi IgM dan IgG pada pasien COVID-19 berdasarkan lama pasien tanpa gejala, pasien bergejala 0 – 7 hari, bergejala 8 -14 hari dan bergejala > 14 hari

## METODE

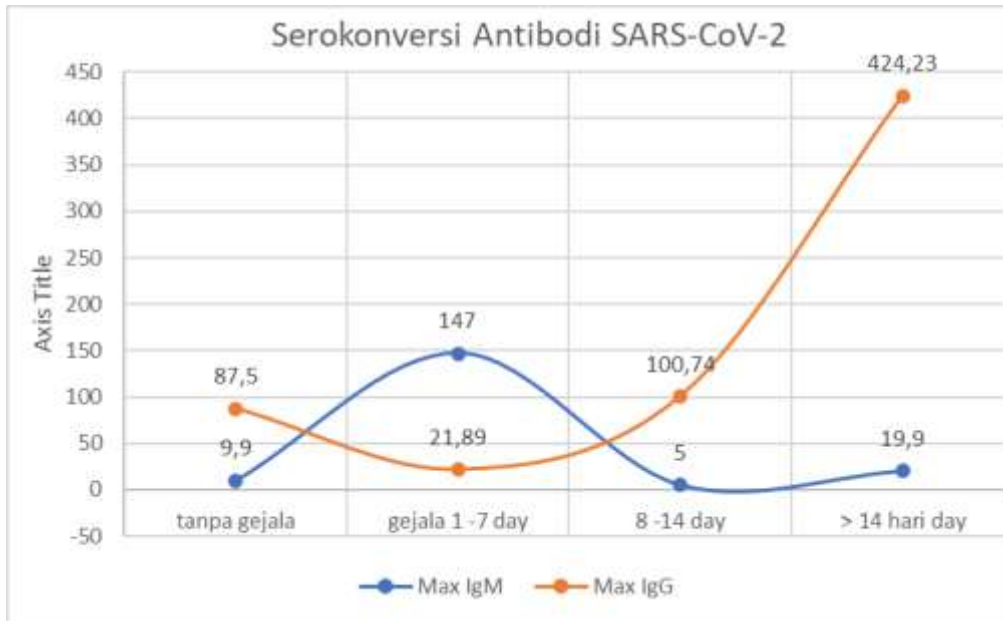
Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Husada Utama Surabaya pada bulan Maret – Mei 2021. Penelitian ini menggunakan data sekunder yang diambil secara prospektif dengan jumlah sampel sebesar 55 terkonfirmasi COVID-19 melalui pemeriksaan PCR, dimana sampel terdiri dari 20 pasien tanpa gejala, 10 pasien dengan gejala 0 -7 hari, 10 pasien bergejala 8 -14 hari dan 15 pasien bergejala > 14 hari. Pemeriksaan antibodi IgM dan IgG menggunakan alat maindray CL-Series SARS-CoV-2 IgM/ IgG dengan kit reagen lot number 2020060121 dengan metode chemiluminescent immunoassay (CLIA) kemudian dihitung rata – rata kadar antibody, kadar antibodi minimal dan kadar antibodi maksimal pada masing- masing kelompok sampel.

## HASIL PENELITIAN

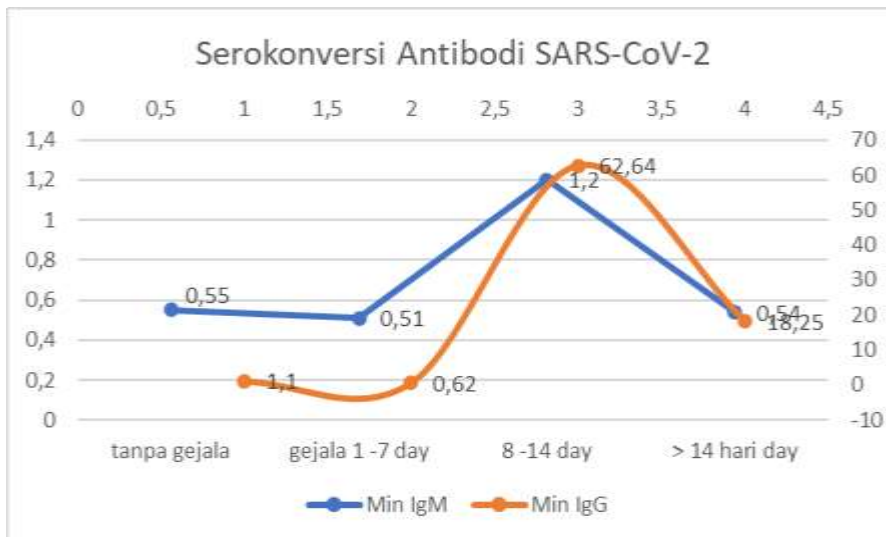
| Kadar antibodi IgM dan IgG berdasarkan lama gejala Klinis (U/mL) |              |                 |           |               |
|--|--------------|-----------------|-----------|---------------|
|  | Tanpa gejala | Gejala 0 -7 day | 8 -14 day | > 14 hari day |
| Rerata IgM   | 3,00         | 19,19           | 3,06      | 3,9           |
| Min IgM  | 0,55         | 0,51            | 1,2       | 0,54          |
| Max IgM  | 9,9          | 147             | 5,00      | 19,9          |
| Rerata IgG   | 20,35        | 7,55            | 85,19     | 165,3         |
| Min IgG  | 1,1          | 0,62            | 62,64     | 18,25         |
| Max IgG  | 87,5         | 21,89           | 100,74    | 424,23        |

Tabel 1.1 kadar antibody IgM dan IgG berdasarkan lama gejala klinis

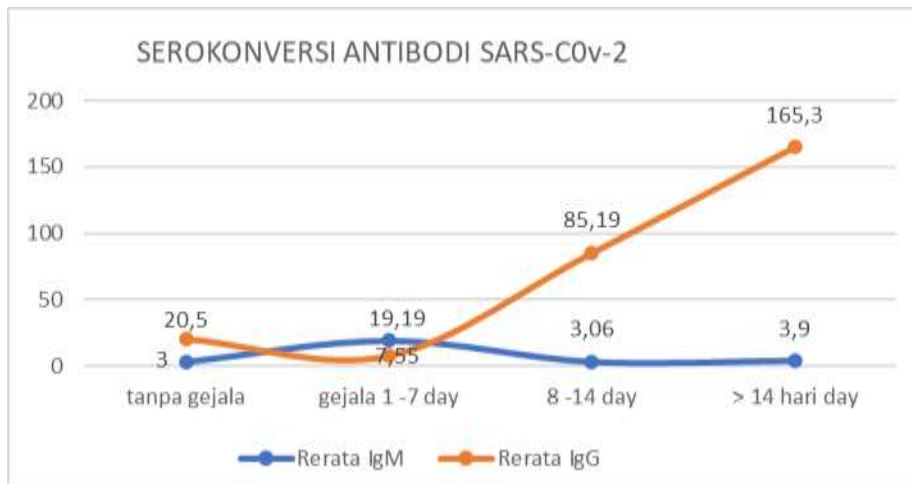
Keterangan : IgM 1.00 = Reaktif, IgG 10.00 = Reaktif



Gambar 1. Grafik 1.1 kadar antibody tertinggi pasien COVID-19 berdasarkan lama gejala



Gambar 2. Grafik 1.2 kadar antibody terendah pasien COVID-19 berdasarkan lama gejala



Gambar 3. Grafik 1.3 kadar rerata antibodi pasien COVID-19 berdasarkan lama gejala

Hasil penelitian diperoleh pada pasien tanpa gejala terjadi peningkatan kadar IgM dimana rerata kadar IgM adalah 3,00 U/mL dengan nilai minimal sebesar 0,55 U/mL dan kadar maksimal 9,9 U/mL sedangkan rerata kadar IgG 20,35 U/mL dengan kadar minimal 1,1 U/mL dan kadar maksimal 87,5 U/mL. Pada pasien dengan gejala klinis 0- 7 hari rerata kadar IgM 19,19 U/mL dengan kadar minimal 0,51 U/mL dan kadar maksimal 147,0 U/mL sedangkan IgG 7,55 U/mL kadar minimal 0,62 U/mL, kadar maksimal 21,89 U/mL. Pada pasien dengan gejala klinis 8 -17 hari rerata kadar IgM 3,06 U/mL dengan kadar minimal 1,2 U/mL dan kadar maksimal 5,0 U/mL sedangkan rerata kadar IgG 85,19 U/mL dengan kadar minimal 62,64 U/mL dan kadar maksimal 100,74 U/mL. Pada pasien dengan gejala klinis > hari rerata kadar IgM 3,9 U/mL dengan kadar minimal 0,54 U/mL dan kadar maksimal 19,9 U/mL sedangkan rerata kadar IgG 165,3 U/mL dengan kadar minimal 18,25 U/mL dan kadar maksimal 424,23 U/mL

## PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian diperoleh kadar antibodi IgM tertinggi berada pada kelompok pasien dengan gejala 0 – 7 hari kemudian kadar IgM mengalami penurunan seiring dengan lamanya gejala klinis, sedangkan rerata kadar IgM terendah berada pada kelompok sampel tanpa gejala. Rerata kadar antibodi IgG mengalami peningkatan seiring dengan lamanya gejala infeksi dimana rerata kadar antibodi IgG tertinggi berada pada kelompok pasien dengan gejala > 14 hari dan rerata kadar antibodi IgG terendah berada pada kelompok sampel pasien yang bergejala 0 -7 hari, menurut Vi wei tang, (2020) Tingkat antibodi IgM mulai meningkat kira-kira satu minggu setelah infeksi awal, sementara IgG muncul lebih lambat dari IgM (umumnya dalam 14 hari infeksi) dan dapat bertahan 6 bulan atau bahkan

beberapa tahun (Vi wei tang, 2020) sedangkan penelitian Hsueh at., al (2020) menyebutkan pada pasien COVID-19 serokonversi IgG terjadi rata-rata 10 hari pasca timbulnya gejala klinis dan puncak dari serokonversi antibodi ini terletak pada ke hari ke 15.

Menurut Hoffman *et al.*, (2020) serokonversi pada pasien COVID-19 terjadi antara 7 – 12 hari setelah timbulnya gejala, umumnya IgM diproduksi terlebih dahulu dan IgG diproduksi kemudian dan keberadaan IgG berlangsung lama didalam tubuh sedangkan menurut Dohla M *et al.*, (2020) serokonversi terjadi secara berurutan untuk IgM dan kemudian IgG dengan median waktu masing-masing 11 dan 14 hari sehingga apabila sampel diambil kurang dari waktu tersebut kemungkinan antibodi belum terbentuk dan hasil pemeriksaan antibodi menjadi negatif palsu.

Pada respons imun humoral terbentuk IgM dan IgG terhadap SARS-CoV-2 dimana IgM akan mengalami penurunan dan hilang diakhir minggu ke-2 dan IgG dapat bertahan jangka Panjang (Susilo., *et al.*,2020). Menurut WHO 2020 Serokonversi diamati lebih kuat dan lebih cepat terjadi pada pasien-pasien dengan penyakit parah dibandingkan dengan pasien dengan penyakit ringan atau infeksi asimtomatik. Antibodi sudah terdeteksi pada akhir minggu pertama penyakit pada sebagian pasien, tetapi perkembangannya juga dapat memerlukan waktu berminggu-minggu pada pasien-pasien dengan infeksi subklinis/ ringan.

Berdasarkan pembahasan diatas menjadi penting untuk mengetahui serokonversi antibodi IgM dan IgG pada pasien COVID-19 agar bisa mengetahui waktu yang tepat pengambilan sampel untuk pemeriksaan antibodi agar tidak terjadi hasil negatif palsu dan juga sebagai monitoring respon imun pada pasien COVID-19 dimana menurut Spicuzza L *et al.*, (2020) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pada 2 pasien konfirmasi COVID-19 yang memiliki hasil pemeriksaan antibodi IgM dan IgG negatif dapat disebabkan karena serokonversi dari pasien COVID-19 dan terkait waktu yang kurang tepat saat pengambilan sampel, seperti dilakukan pada minggu pertama infeksi ketika tubuh belum membentuk antibodi sehingga hasil pemeriksaan IgM dan IgG nya menjadi negatif. Menurut Andrey *et al.*, (2020) sebagian besar negatif palsu pada pemeriksaan antibody IgM/IgG SARS-CoV-2 berada dalam subkelompok sampel yang diambil pada waktu 0-6 hari setelah timbulnya gejala klinis

Keterbatasan dalam penelitian ini, adalah peneliti tidak dapat menentukan derajat klinik pasien dan penyakit penyerta (komorbid) yang mungkin dapat mempengaruhi respon imun atau pembentukan antibodi dari pasien tersebut

### KESIMPULAN

Kadar antibodi IgM tertinggi terjadi pada pasien dengan gejala klinis 0,-7 hari dan kadar antibody IgM terendah berada pada kelompok sampel tanpa gejala sedangkan kadar kadar antibodi IgG mengalami peningkatan seiring dengan lama timbulnya gejala dengan kadar tertinggi berada pada kelompok pasien dengan gejala > 14 hari dan rerata kadar IgG terendah berada pada kelompok sampel 0 -7

Saran untuk peneliti selanjutnya dapat dilakukan penelitian serokonversi antibody IgM dan IgG anti SARS-CoV-2 berdasarkan derajat keparahan pasien seperti komorbid pada pasien COVID-19.

### REFERENCE

1. World Health Organization. 2021. *Rational use of personal protective equipment for coronavirus disease (COVID-19)*. Geneva: World Health Organization; 2021
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Infeksi emerging. Diunduh pada tanggal 05 Juni melalui : <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/>
3. Adhikari., *at al.* 2020. *Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review*. Journal of Infectious Diseases of Poverty : 3
4. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. *Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis*. J Med Virol. 2020;92(9):1518–24
5. Hsueh , Huang L, Chen P, Yang CKP. 2004 Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus . Clin Microbiol Infect 2004; 10: 1062–1066 ORIGINAL ARTICLE 10.1111/j.1469-0691.2004.01009 : Available from [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(14\)63847-7Fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)63847-7Fulltext)
6. Hoffman T, Nissen K, Krambrich J, Rönnerberg B, Esmaeilzadeh M, Salaneck E, et al. Evaluation of a COVID-19 IgM and IgG rapid test ; an efficient tool for assessment of



- past exposure to SARS-CoV-2. *Infect Ecol Epidemiol* [Internet]. 2020;10(1). Available from: <https://doi.org/10.1080/20008686.2020.1754538>
7. Döhla M, Boesecke C, Schulte B, Diegmann C, Sib E, Richter E, et al. Rapid point-of-care testing for SARS-CoV-2 in a community screening setting shows low sensitivity. *Public Health*. 2020: 182:170–2
  8. Susilo A at al. 2020. *Coronavirus Disease 2019: : review of current literatures*. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia* Vol. 7, No. 1 : 45 -47
  9. Vi-Wei Tang, a Jonathan E. Schmitz,b David H. Persing,c Charles W. Stratton. 2020. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol (58). No. 6 : 12 -20 available from : <http://jcm.asm.org/Do>
  10. WHO. Tatalaksana klinis infeksi saluran pernapasan akut berat (SARI) suspek penyakit COVID-19. 2020. Di publikasi pada 23 Maret 2020. Melalui :[https://www.google.com/search?q=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+\(SARI\)+suspek+penyakit+COVID19&oq=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+\(SARI\)+suspek+penyakit+COVID19&aqs=chrome..69i57.1520j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF8https://www.google.com/search?q=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasn+akut+berat+\(SARI\)+suspek+penyakit+COVID19&oq=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+\(SARI\)+suspek+penyakit+COVID19&aqs=chrome..69i57.1520j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+(SARI)+suspek+penyakit+COVID19&oq=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+(SARI)+suspek+penyakit+COVID19&aqs=chrome..69i57.1520j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF8https://www.google.com/search?q=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasn+akut+berat+(SARI)+suspek+penyakit+COVID19&oq=Tatalaksana+klinis+infeksi+saluran+pernapasan+akut+berat+(SARI)+suspek+penyakit+COVID19&aqs=chrome..69i57.1520j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8)
  11. Spicuzza L, Montineri A, Manuele R, Crimi C, Pistorio MP, Campisi R, et al. Reliability and usefulness of a rapid IgM-IgG antibody test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: A preliminary report. *J Infect*. 2020: 81(2) : e53–4.
  12. Andrey DO, Cohen P, Meyer B, Torriani G, Yerly S, Mazza L, et al. Diagnostic accuracy of Augurix COVID-19 IgG serology rapid test. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(10):1–7

# Karakterisasi Sediaan Uji Panel Mikroskopis Tuberkulosis yang Diinkubasi dengan Larutan Mukolitik di Suhu Ruang selama 24 Jam dan di Suhu 37°C selama 10 Menit

Paulina Rosa Evriarti<sup>1(CA)</sup>

<sup>1(CA)</sup>Instalasi Mikrobiologi, Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, Indonesia;  
[rosal9oke@gmail.com](mailto:rosal9oke@gmail.com), Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-8443-3983>, (Corresponding Author)

## ABSTRAK

Pemantapan Mutu Eksternal (PME) merupakan salah satu kegiatan yang bertujuan menjamin pemeriksaan mikroskopis Tuberkulosis (TB) yang dihasilkan bermutu dan dapat dipercaya sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi kasus TB. PME dapat dilakukan dengan melaksanakan uji panel. Salah satu tahapan dalam pelaksanaan uji panel yaitu mengolah dahak dengan larutan mukolitik. Saat ini belum ada karakterisasi terkait prosedur inkubasi yang berbeda setelah penambahan larutan mukolitik dalam menghasilkan sediaan panel yang baik. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi sediaan PME mikroskopis TB yang diinkubasi dengan larutan mukolitik di suhu ruang selama 24 jam dan di suhu 37°C selama 10 menit. Dahak yang telah dikumpulkan dibagi menjadi dua bagian yang sama-sama diberikan larutan mukolitik. Satu bagian dahak diinkubasi di suhu ruang selama 24 jam dan satu bagian lainnya diinkubasi di suhu 37°C selama 10 menit. Konsistensi dahak yang diberi larutan mukolitik dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam lebih encer dan lebih mudah digunakan untuk membuat uliran dan membuat stok BTA dibandingkan yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit meskipun kualitas sediaan secara mikroskopis hampir sama. Artinya, inkubasi dahak pada suhu ruang selama 24 jam merupakan metode inkubasi yang baik dalam menghasilkan bahan stok untuk uji panel mikroskopis TB.

**Kata Kunci :** Tuberkulosis, Pemantapan Mutu Eksternal, Uji Panel, Larutan Mukolitik,

## ABSTRACT

External Quality Assesment (EQA) is one of the activities that aims to ensure the quality and reliability of Tuberculosis (TB) microscopic examination as one of the efforts to tackle TB cases. EQA can be carried out by proficiency testing. One of the stages in the preparing proficiency testing is processing sputum with a mucolytic solution. Currently there is no characterization related to different procedures after the addition of mucolytic solutions in producing good material stock. Therefore, this study aimed to characterize the sputum that was incubated with mucolytic solutions at room temperature for 24 hours and at 37°C for 10 minutes. Sputum that has been collected was divided into two parts which were equally given a mucolytic solution. One part of the sputum was incubated at room temperature for 24 hours and the other part was incubated at 37°C for 10 minutes. Sputum that was given a mucolytic solution and incubated at room temperature for 24 hours was more dilute and easier to used for making threads and making AFB stock than those incubated at 37°C for 10 minutes, although the quality of the smear were almost the same microscopically. This means that the incubation of sputum at room temperature for 24 hours is a good incubation method in producing material stock for the microscopic proficiency testing of TB.

**Keywords:** Tuberculosis, EQA, Proficiency testing, Mucolytic solution

## PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan infeksi paru kronik yang disebabkan oleh bakteri tahan asam (BTA) *Mycobacterium tuberculosis*. [1] Tahun 2019, berdasarkan laporan global, kasus TB baru di Indonesia menempati posisi kedua setelah India. [2] Hal tersebut menunjukkan penanggulangan TB di Indonesia belum sepenuhnya optimal. Salah satu program atau strategi nasional pemerintah dalam menanggulangi kasus TB yaitu peningkatan akses layanan TB yang bermutu. [3] Salah satu layanan tersebut yakni tersedianya laboratorium TB yang bermutu dan dapat dipercaya. [4]

Pemeriksaan laboratorium mikroskopis TB merupakan salah satu fungsi dari laboratorium TB. Hasil pemeriksaan mikroskopis TB memiliki peranan penting dalam menentukan diagnosis, pemantauan

pengobatan dan kesembuhan pasien TB.[4] Oleh karena itu, perlu dilakukan proses pemantapan mutu laboratorium yang dapat meningkatkan dan menjamin mutu serta efisiensi pemeriksaan laboratorium secara berkesinambungan sehingga hasilnya dapat dipercaya.[5]

Pemantapan Mutu Eksternal (PME) merupakan salah satu proses pemantapan mutu yang perlu dilakukan oleh laboratorium TB.[6] PME dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya dengan tes panel (*proficiency testing*), yaitu pemeriksaan sediaan kontrol oleh petugas laboratorium mikroskopis TB fasyankes yang dikirimkan dari laboratorium penyelenggara tes panel.[6] Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar merupakan salah satu laboratorium yang ditetapkan sebagai penyelenggara pemantapan mutu eksternal tingkat nasional.[7]

BBLK Makassar menyelenggarakan PME dua kali dalam setahun dalam format uji profisiensi atau uji panel. Uji panel dilakukan dengan menyiapkan sediaan mikroskopis dari dahak yang telah diatur sedemikian rupa jumlah bakterinya. Sebelum digunakan untuk membuat sediaan, dahak akan diolah terlebih dahulu dengan menambahkan larutan mukolitik untuk mengencerkan dahak sehingga terhomogenisasi dan mudah untuk diatur tingkat kepadatan bakterinya. Proses penambahan larutan mukolitik ini berpengaruh terhadap kualitas sediaan. Selain itu, terdapat beberapa cara dalam proses penambahan larutan mukolitik ini, yaitu dengan menginkubasi di suhu ruang selama 24 Jam dan di suhu 37°C selama 10 menit setelah ditambahkan larutan mukolitik.[8] Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai perbedaan hasil sediaan dari kedua cara pengolahan yang digunakan. Padahal, optimalisasi prosedur diperlukan untuk menghasilkan sediaan panel yang baik, sebagai salah satu bentuk penyelenggaraan PME yang baik dan bermutu.[8] Penyelenggaraan PME yang baik diperlukan untuk memastikan bahwa setiap peserta PME yang lulus mampu mengeluarkan hasil pemeriksaan mikroskopis TB yang bermutu sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan kasus TB.[3] Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melakukan karakterisasi sediaan PME mikroskopis TB yang diinkubasi dengan larutan mukolitik di suhu ruang selama 24 jam dan di suhu 37°C selama 10 menit.

## METODE

### 1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang dilakukan selama bulan Mei-Juni di Laboratorium TB BBLK Makassar, Sulawesi Selatan.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah spesimen dahak yang berasal dari Balai Kesehatan Paru Makassar. Kriteria dahak yang digunakan yaitu, purulen, berwarna putih kekuningan, tidak terdapat darah dan jumlah sel leukosit > 25 /Lp.

### 3. Persiapan Bahan

Semua spesimen dahak dikumpulkan ke dalam satu tabung falcon berukuran 60 ml. Kemudian, sejumlah larutan formalin 10 % ditambahkan ke dalam tabung yang telah berisi dahak dengan perbandingan 1 tetes formalin untuk tiap 1 ml dahak. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Penambahan formalin bertujuan mengawetkan BTA dan leukosit agar tidak rusak. Setelah 30 menit, dahak dihomogenisasi menggunakan vortex lalu dibagi ke dalam dua tabung falcon yang berbeda dengan volume sama banyak.

### 4. Persiapan Larutan Mukolitik

Larutan mukolitik terdiri dari larutan Na Sitrat 2,9 % dan larutan N-acetyl L-cystein (NALC) 2 % . Larutan Na sitrat dibuat dengan menimbang 2,9 gram Na sitrat dan melarutkannya dalam 100 ml akuades. Larutan NALC 2 % dibuat dengan menimbang 2 gram NALC dan melarutkannya dalam 100 ml akuades..

### 5. Pengolahan Bahan

Sejumlah larutan mukolitik (Na Sitrat 2,9 % dan NALC 2 %) ditambahkan ke dalam bahan dahak yang telah dikumpulkan. Pemberian larutan mukolitik dilakukan dengan perbandingan 1:1, jadi bila volume dahak 5 ml maka ditambahkan larutan Na Sitrat 2,9 % sebanyak 2,5 ml dan NALC 2 % sebanyak 2,5 ml. Selanjutnya dahak diinkubasi pada kondisi yang berbeda. Satu tabung dahak diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam (Dahak A) dan satu tabung dahak diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit sambil digoyang-goyang tiap dua menit sekali (Dahak B).

### 6. Pembuatan Sediaan

Bahan dahak yang telah selesai diinkubasi segera digunakan untuk membuat sediaan mikroskopis TB. Sediaan dibuat sebanyak 10 slide untuk masing-masing perlakuan. Satu tetes dahak dibuat menjadi satu

sediaan berbentuk oval, berukuran 2x3 cm, dengan pola uliran yang rapi dan rata. Sediaan ini kemudian difiksasi dengan melewatkannya di atas api biru dan diwarnai dengan pewarna Ziehl Neelsen.

#### 7. Pengamatan Sediaan

Sediaan yang telah diwarnai kemudian diamati kondisi sediaan secara makroskopis dan mikroskopis.

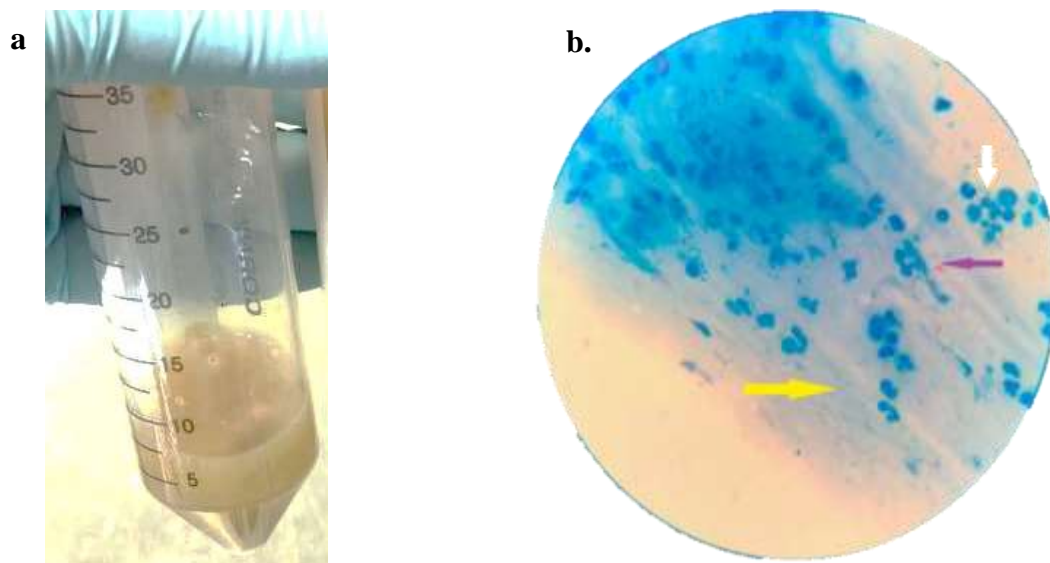
#### 8. Analisa Data

Data pengamatan yang telah terkumpul kemudian dianalisa secara deskriptif.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Panel / *Proficiency testing* merupakan salah satu bentuk PME yang biasanya diselenggarakan oleh laboratorium rujukan yang telah disetujui oleh pemerintah. pedoman,4] PME dilakukan dengan tujuan untuk mengawasi kualitas hasil tes dalam sebuah laboratorium kesehatan, mengidentifikasi masalah, dan membuat langkah koreksi terhadap masalah yang teridentifikasi.[9,10] Pada kasus TB, PME dilakukan untuk menjamin mutu hasil pemeriksaan mikroskopis TB sebagai upaya penyaringan kasus TB sehingga dapat mempercepat upaya pengobatan dan eradikasi kasus TB.[3,4]

Uji Panel mikroskopis TB dilakukan dengan menyiapkan sediaan mikroskopis dari dahak yang telah diatur sedemikian rupa jumlah bakterinya.[10] Pada penelitian ini bahan dahak yang digunakan untuk persiapan uji panel berasal dari Balai Kesehatan Paru Makassar yang memiliki karakteristik purulen, berwarna putih kekuningan sampai putih kehijauan serta memiliki jumlah leukosit lebih dari 25/lapang pandang (Lp) (Gambar 1a dan b). Dahak dengan konsistensi yang kental dan jumlah leukosit yang banyak diperlukan sebagai stok awal karena nantinya akan digunakan untuk membuat stok turunan dengan nilai positif yang lebih rendah. Bila jumlah leukosit sedikit, stok turunan yang dibuat hasilnya akan encer dan kurang baik untuk membuat sediaan.[8]



**Gambar 1. a) Bahan Dahak.** Dahak yang telah dikumpulkan memiliki konsistensi yang kental, purulent, dan berwarna putih kehijauan. **b) Gambar Mikroskopis Dahak sebelum pengolahan.** Masih terdapat mukosa (panah kuning), Leukosit > 25 (panah putih), dan BTA (panah ungu).

Bahan dahak yang sudah dikumpulkan ini kemudian diolah dengan larutan mukolitik dalam hal ini ialah larutan NALC.[8] Tujuan pemberian larutan mukolitik ialah untuk menghancurkan mukus yang terdapat pada sputum sehingga sputum lebih encer dan lebih mudah terhomogenisasi.[10] Terdapat beberapa perlakuan yang berbeda dalam hal pemberian larutan mukolitik ini yakni mengenai waktu dan suhu inkubasi. Pada penelitian ini dilakukan dua cara inkubasi yang berbeda yakni diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas bahan dahak yang diolah dengan cara diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam lebih baik daripada yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit (Tabel 1). Dahak yang di inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit memiliki konsistensi yang masih kental sehingga saat dibuat sediaan membutuhkan waktu lama untuk membuat uliran yang merata. Selain itu, saat dilakukan pewarnaan, beberapa sediaan terkelupas (Gambar 2a). Sebaliknya, bahan dahak yang diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam memiliki konsistensi yang lebih encer sehingga mudah untuk dibuat uliran. Saat diwarnai juga lebih sedikit sediaan yang terkelupas

(Gambar 2b). Meskipun secara mikroskopis gambaran kedua sediaan sama-sama baik (Gambar 2c dan 2d) karena sudah tidak terdapat lagi mukosa (Gambar 1b).

**Tabel 1. Karakteristik sediaan mikroskopis TB berdasarkan perlakuan pengolahan yang berbeda**

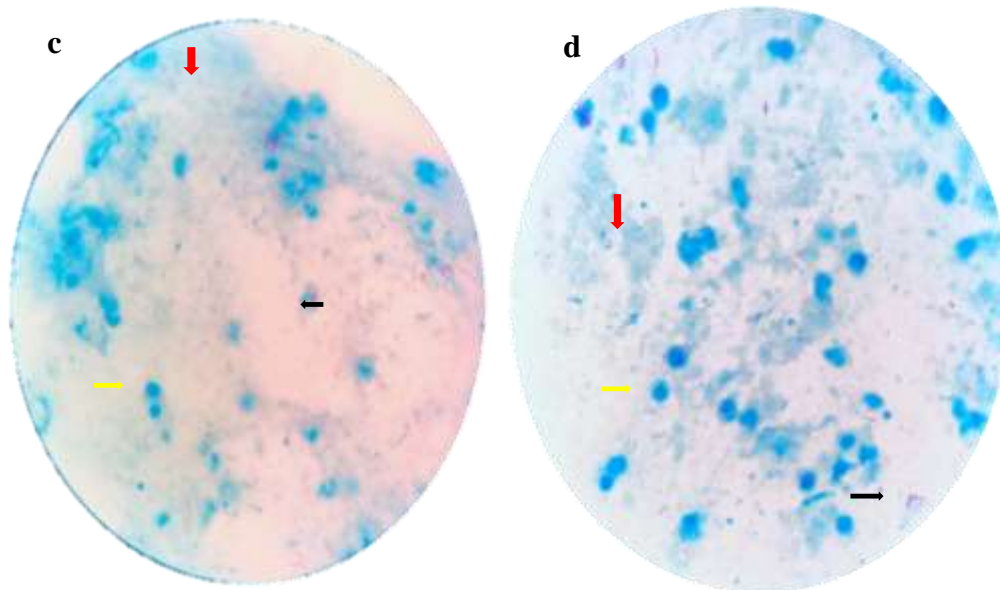
| Indikator                | Karakteristik              |  |
|--------------------------|----------------------------|--|
|                          | Dahak A*                   | Dahak B*                                   |
| Konsistensi Dahak        | Encer agak kental          | Kental dan masih ada dahak yang menggumpal |
| Proses Pembuatan sediaan | Lebih cepat                | Lebih lama                                 |
| Proses Pewarnaan         | Mudah                      | Harus lebih berhati-hati                   |
| Jumlah Slide rusak       | 10 % (1/10)                | 50% (5/10)                                 |
| Mikroskopis              | Jernih, BTA terlihat jelas | Jernih, BTA terlihat jelas                 |

Catatan : \* Dahak A : Dahak yang diinkubasi suhu ruang selama 24 jam  
 Dahak B : Dahak yang diinkubasi suhu 37°C selama 10 menit

Perbedaan karakter dari dua teknik pengolahan yang berbeda disebabkan karena adanya perbedaan suhu dan waktu. Cara kerja NALC sebagai agen mukolitik dalam memutuskan ikatan disulfida pada glikoprotein mukus tidak seperti enzim yang membutuhkan suhu tertentu untuk bekerja optimal.[ 11,12,13] Namun, suhu yang lebih tinggi dapat membantu mempercepat proses penguraian mukus sebaliknya suhu yang lebih rendah memerlukan waktu yang lebih lama.[13] Akan tetapi pada penelitian ini, kualitas dahak yang diinkubasi dengan suhu lebih tinggi justru kualitasnya kurang baik. Hal ini bisa saja disebabkan karena waktu yang kurang optimal dan perlu penambahan maupun karena tidak adanya alat *shaker* otomatis. Sehingga hasilnya jauh lebih baik pada dahak yang diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Meskipun bila dilihat dari efisiensi waktu, 24 jam sangat lama dan kurang efektif bila ingin menghasilkan sediaan panel dalam waktu singkat.







**Gambar 2. a) Sediaan dari Dahak A.** Hampir 50 % sediaan terkelupas. **b) Sediaan dari Dahak B.** Semua sediaan baik dan hanya satu yang terkelupas dibagian ujungnya (panah hitam). **c) Gambaran mikroskopis sediaan dari Dahak A** dan **d) Gambaran mikroskopis sediaan dari Dahak B.** Panah merah menandakan sisa-sisa mukosa yang sebagian sudah terdegradasi, panah kuning menunjuk sel leukosit, dan panah hitam menunjuk BTA.

#### KESIMPULAN

Pengolahan bahan dahak untuk pembuatan uji panel mikroskopis TB paling baik dilakukan dengan cara menginkubasi bahan dahak dengan larutan mukolitik pada suhu ruang selama 24 jam karena bahan dahak yang dihasilkan akan lebih encer sehingga mudah terhomogenisasi dan diatur kepadatan bakterinya, tidak mudah terkelupas saat pewarnaan, dan hasil secara mikroskopisnya terang dan jelas. Akan tetapi perlu dilakukan kembali studi untuk mengevaluasi teknik pengolahan bahan dahak dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit menggunakan *shaker*. Namun, bila laboratorium penyelenggara tidak dilengkapi dengan alat shaker dianjurkan untuk memilih teknik inkubasi 24 jam.

#### ACKNOWLEDGMENT

Terima kasih kepada Kepala Instalansi Mikrobiologi, Tim Mutu, dan Rekan Kerja di BBLK Makassar.

#### REFERENCES

1. Talaro KP. Foundations in microbiology: basic principles. MCGraw-Hill US Higher. 2017.
2. Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8.(1): 19.
3. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan menteri kesehatan no.67 tahun 2016 tentang penanggulangan tuberkulosis. 2016
4. Kusumawati R. Standar pelayanan laboratorium tuberkulosis. 2015. SN - 978-602-235-743-8
5. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan menteri kesehatan no.43 tahun 2013 tentang penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik. 2013
6. Kementerian Kesehatan RI. Pedoman jejaring dan pemantapan mutu laboratorium Tuberkulosis. 2015
7. Kementerian Kesehatan RI. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor HK.02.02/menkes/400/2016 tentang balai besar laboratorium kesehatan sebagai penyelenggara pemantapan mutu eksternal tingkat nasional. 2014
8. Kementerian Kesehatan RI. Petunjuk teknis pembuatan sediaan rujukan mikroskopis tb untuk uji profisiensi. 2013
9. Siregar MT, Wulan WS, Setiawan D, dan Nuryati A. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM). Kendali Mutu. Kemenkes RI. 2018: 481-5
10. Aziz MA. External quality assessment for AFB smear microscopy. 2002:73-80

11. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L dan Sergio F. Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radical Research*. 2018; 52(7): 751-62. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564>
12. Kubica, GP, Dye WE, Cohn M L, dan Middlebrook, G. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine—sodium hydroxide for culture of mycobacteria . *American review of respiratory disease*. 1963; 87(5): 775-779.
13. Ismail NA, Omar SV, Lewis JJ, Dowdy DW, Dreyer AW, George N, et.al. Performance of a novel algorithm using automated digital microscopy for diagnosing Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015; **191**(12): 1443-49.
14. Rusell WF, JR., dan Middlebrook G. *Chemotherapy of Tuberculosis*. Illinois: Charles Thomas.1961



# Evaluating the Use of Pneumatic Tube System on the Results of Routine Hematology Test, Prothrombin Time (PPT), Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), and Potassium

---

Yoki Setyaji<sup>1</sup>, Kurnia Fitriasisari<sup>2</sup>, Tri Novitasari<sup>3</sup>, Norma Agustin Palupi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Rumah Sakit Akademik Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; yokisetyaji@ugm.ac.id (Corresponding Author)

<sup>2</sup>Rumah Sakit Akademik Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; kurnia\_fitriasisari@ugm.ac.id

<sup>3</sup>Rumah Sakit Akademik Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; trinovitasari@ugm.ac.id

<sup>4</sup>Rumah Sakit Akademik Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; normaagustin@ugm.ac.id

---

## ABSTRACT

Pneumatic tube system (PTS) is a transport medium that is widely used in hospitals. The samples transported via PTS would get vibrations due to changing air velocity and pressure. This unstable pressure could cause pre-analytic errors in laboratory measurements. It happened because it damages erythrocytes and lymphocytes and causes hemolysis. Every hospital that uses PTS are advised to validate and investigate that PTS has the possibility of hemolysis and impacts laboratory results of blood specimens. The purpose of the study was to validate and evaluate the effect of using PTS on the results of routine hematology tests, PPT, APTT, and potassium. This research was an experimental research that used 30 samples. The research used statistical test which was paired t-test. Data were analyzed with Prism GraphPad 8 software. There was no significant difference between WBC, RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, PPT, and APTT. Moreover, there was a significant difference between the results of PLT and potassium in the samples transported via PTS and delivered by courier transport.

**Keywords:** Evaluation, *Pneumatic Tube System*, APTT, PTT, Potassium, Routine Hematology.

---

## INTRODUCTION

Pneumatic tube system (PTS) is a transport medium that is widely used in hospitals. Delivery using PTS can help hospital services become faster and more efficient, especially for sending drugs, radiology results, tissue samples, and blood specimens from various units, both laboratory, radiology, pharmacy, and wards and poly services (Shibani et al., 2018). The use of PTS can reduce laboratory Turnaround Time (TAT). TAT is the period used for laboratory measurements starting from delivery, analysis up to the results come out (Simundic, 2013). PTS can cause small vibrations in the sample due to changes in air velocity and pressure during sample delivery. The unstable pressure can cause preanalytical errors in laboratory measurements. It is because it can damage erythrocytes and lymphocytes, causing hemolysis (Felder, 2011). PTS's pressure and speed can increase potassium and Lactate Dehydrogenase (LDH) levels (Lee et al., 2017). Every hospital that uses PTS are advised to validate PTS and investigate blood specimens for the possibility of hemolysis, activation of clotting factors that affect laboratory results (Kapoula, 2017).

## METHODS

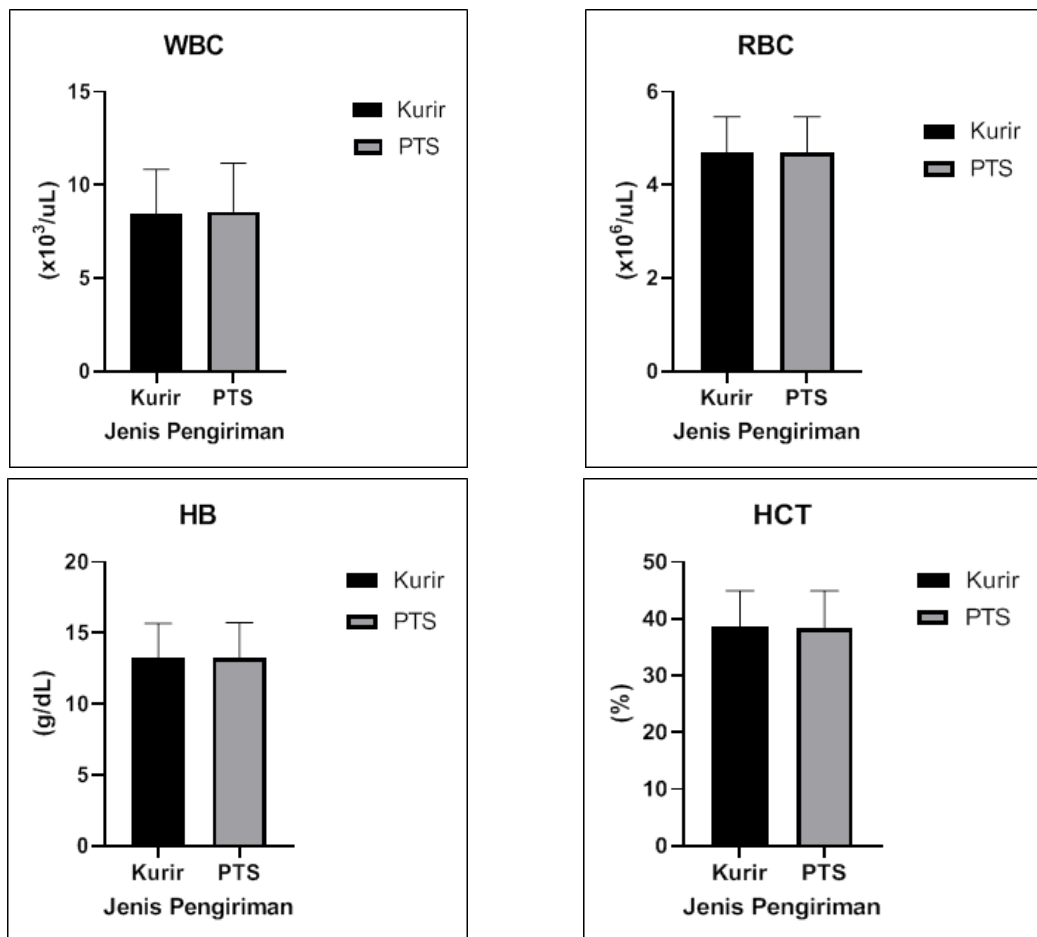
The research design was experimental research by using posttest without control (Kurniawan et al., 2015). The research was conducted at the Integrated Clinical Laboratory Installation of the Gadjah Mada University Academic Hospital in August - October 2020 with 30 preoperative patients. The criteria for the object of research were patients aged more than 18 years without comorbid diseases and not currently on blood-thinning drug therapy, and have a history of platelet disorders. Each research object was taken EDTA blood, citrate, and chemistry from two tubes each and then separated into two groups. The delivery of two groups of samples to the laboratory was conducted in two ways: Pneumatic Tube System and delivered by a delivery officer. Both groups of samples were processed for routine hematology tests, PPT, APTT, and laboratory

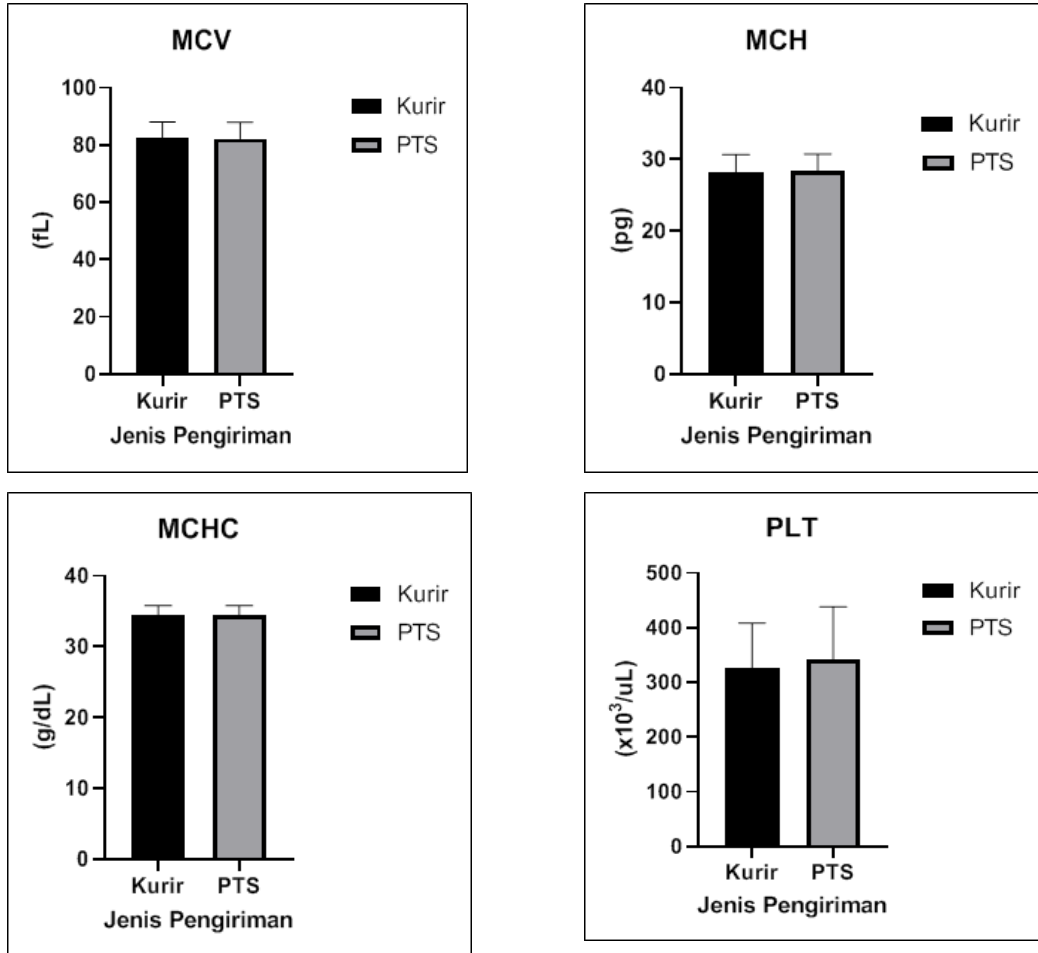
measurements. The examination data was processed using the Paired t-test with the help of Prism GraphPad 8 software.

The research had been registered and obtained research ethics permit from the Health Research Ethics Commission of the Faculty of Medicine, Public Health and Nursing Universitas Gadjah Mada – Dr. Sardjito Hospital with registration number Ref.No. : KE/FK/1069/EC/2020.

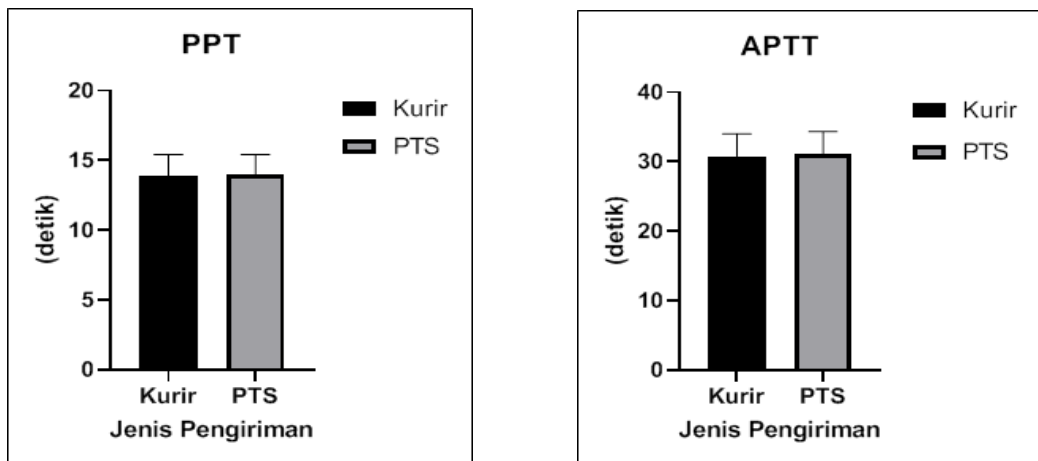
## RESULTS

The research was conducted based on primary data from the routine hematological test. PTS and courier transport transported PPT, APTT, and potassium in September 2020. The research was conducted on 30 samples of preoperative patients according to the inclusion criteria. Data on the results of laboratory measurements included the test results of White Blood Cell (WBC), Red Blood Cell (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematocrit (HCT), Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC), platelets, PPT, APTT, and potassium from the Clinical Laboratory (Instalasi Laboratorium Klinik Terpadu) at UGM academic hospital.

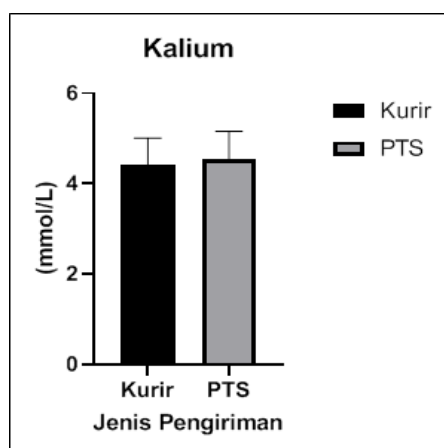




**Figure 1.** The comparison chart of Routine Hematology Test Results Using Samples transported between by PTS and by Courier Transport



**Figure 2.** The comparison chart of PTT and APTT Measurement Results Using Samples transported between by PTS and by Courier Transport



**Figure 3.** The comparison chart of Potassium Measurement Results Using Samples transported between by PTS and by Courier Transport

The data was analyzed statistically by using paired t-test. The results were in the following:

**Table 1.** The Comparison of Hematology Test Results Transported between by PTS and by Courier Transport

| Parameter | Mean              |       | SD                |         | P-value |
|-----------|-------------------|-------|-------------------|---------|---------|
|           | Courier Transport | PTS   | Courier Transport | PTS     |         |
| WBC       | 8.426             | 8.574 | 2.4099            | 2.6126  | 0.0556  |
| RBC       | 4.687             | 4.687 | 0.7750            | 0.7733  | 0.9822  |
| HB        | 13.24             | 13.28 | 2.4459            | 2.4585  | 0.1191  |
| HCT       | 38.51             | 38.46 | 6.4492            | 6.4748  | 0.6857  |
| MCV       | 82.28             | 82.17 | 5.8371            | 5.8237  | 0.1424  |
| MCH       | 28.22             | 28.32 | 2.4502            | 2.4170  | 0.0896  |
| MCHC      | 34.4              | 34.44 | 1.3736            | 1.3594  | 0.8007  |
| PLT       | 326.1             | 340.9 | 82.4867           | 97.0115 | 0.0190  |

**Table 2.** The Comparison of PTT Measurement Results Transported between by PTS and by Courier Transport

| Parameter | Mean              |       | SD                |        | P-value |
|-----------|-------------------|-------|-------------------|--------|---------|
|           | Courier Transport | PTS   | Courier Transport | PTS    |         |
| PPT       | 13.85             | 14.02 | 1.5631            | 1.3895 | 0.4243  |

**Table 3.** The Comparison of APTT Measurement Results Transported between by PTS and by Courier Transport)

| Parameter | Mean              |       | SD                |        | P-value |
|-----------|-------------------|-------|-------------------|--------|---------|
|           | Courier Transport | PTS   | Courier Transport | PTS    |         |
| APTT      | 30.79             | 31.08 | 3.2293            | 3.2463 | 0.4212  |

**Table 4.** The Comparison of Potassium Measurement Results Transported between by PTS and by Courier Transport

| Parameter | Mean              |       | SD                |        | P-value |
|-----------|-------------------|-------|-------------------|--------|---------|
|           | Courier Transport | PTS   | Courier Transport | PTS    |         |
| Kalium    | 4.407             | 4.537 | 0.6047            | 0.6223 | 0.002   |

## DISCUSSION

PTS is a transport medium that is being developed in hospitals. PTS is a fast and efficient automatic delivery system for sending drugs, patient medical record documents, X-Ray radiology results, tissue samples, and blood samples to laboratory units, pharmacies, wards, blood banks, and emergency units. The use of PTS can reduce waiting time for laboratory results and reduce manual labor. Reducing manual work can reduce the burden on workers and improve the quality of service to patients. However, PTS has a weakness as a transport medium for blood samples. Changes in velocity and pressure in the PTS vacuum system can cause the blood sample to be sent to hemolyze. Hemolysis is the disruption of the red blood cell membrane, which causes the release of hemoglobin and other intracellular components into the surrounding fluid. In vitro hemolysis caused by the use of PTS causes changes in the quality of specimens can affect the clinical laboratory measurements such as chemicals, especially potassium, lactate dehydrogenase (LDH), hematology, and coagulation parameters (Kapoula et al., 2017).

### 1. The comparison of Routine Hematology Test Transported between by PTS and by Courier Transport

A routine hematology test was carried out using the Sysmex XP 100 tool. The Sysmex XP 100 tool is a tool used for routine hematology tests using the impedance method. This research's routine hematological tests consisted of some parameters such as WBC, RBC, HB, HCT, MCV, MCH, MCHC, and PLT. In this research, there were no significant differences between the results of WBC, RBC, HB, HCT, MCV, MCH, and MCHC in samples transported between by PTS and by courier transport. However, the results of the platelet (PLT) test showed a significant difference.

The use of PTS as a specimen transport medium did not have a negative impact<sup>8</sup>. The research conducted by Kurniawan et al. (2015) showed that delivery with PTS at Dr. Hospital. Wahidin Sudirohusodo did not affect the results of routine hematological tests when compared to transport by hand. The small vibrations that occurred during sample delivery could cause small changes in the lysis of blood and undetectable by direct sample observation. The distance and speed of samples travel also affect the incidence of hemolysis. It affects the results of routine hematological tests (Evliyaoqlu et al., 2012 ; Tiwari et al., 2011). The results of this research were also in line with the research conducted by Quellec et al. (2017). The research stated no significant difference in the results of routine hematology transported between by PTS and by courier transporter. Pre-analytic factors strongly influenced the quality of the results of the hematology test. PTS was used to reduce waiting time for laboratory results. Thus it could reduce pre-analytic errors due to delays in the tests between sampling and blood analysis. The waiting time for the results of laboratory tests between samples sent using PTS was shorter than the delivery by hand. The advantage of using PTS is that it can directly deliver blood samples after blood collection. At the same time, delivery by hand is usually done after collecting several samples so that there is storage and delay of sample processing (Quellec et al., 2017).

Based on table 1, the results of the PLT test between samples transported by PTS and by courier transport had no significant differences with the SD difference of 32.64. The results of this study are in line with research conducted by Subbarayan et al., where there was a significant difference between the results of the PLT sent by the PTS by courier transport. In this research, the p-value was <0.001, with an average difference of 0.135. Samples delivered PTS showed an increase in the number of PLT yields. The increase in PLT is due to pressure from PTS during delivery which causes PLT fragmentation.

### 2. The comparison of Coagulation parameters Results (PPT and APTT) transported between by PTS and courier transport.

The coagulation parameters test conducted in this research were PPT and APTT. The tool used in the research for coagulation test is the Stago Start.

This research showed no significant difference between the results of the PPT and APTT test using samples transported between by PTS and by courier transport. This research is in line with Quellec *et al.* (2017), which reported that PPT results, Fibrinogen, PLT, and Factor VIII had no significant change between the samples transported PTS by courier transport. Kocak et al. (2012) also reported no significant

difference in coagulation tests such as PPT and APTT between samples transported between by PTS and by courier transport. According to a study conducted by Handawi, there was no significant difference in the impact of using PTS and manual transportation by the courier transport for coagulation test. The clinical observations were also found to be insignificant. The PTS transport system does not cause activation of clotting factors in the PPT test, so it is safe for PPT test results (Subbarayan, 2017).

### 3. The comparison of Potassium Test Results Transported between by PTS and by Courier Transport

In this research, there was a significant difference in the potassium test results between samples transported by PTS and by courier transport. The tool used for the potassium test in the clinical pathology laboratory of UGM academic hospital was SmartLyte Plus. The serum used for potassium testing should not be hemolyzed.

PTS can cause hemolysis because of some aspects. There is the speed of delivery, the length of the system, acceleration or sudden deceleration of the system, changes in air pressure, and changes in the direction of motion of the PTS. Hemolysis can cause false results on inspection LDH, potassium, and AST. Hemolyzed samples cannot be used for measurements and must use new samples, causing delayed laboratory results needed for diagnosis and treatment (Cakirca & Erdal, 2017). In this research, the hemolysis index level was not observed between samples transported by PTS and by courier transport but only observed by visual.

The significant differences in potassium results are possible because hemolysis micro is not perceivable by the eye. It was occurred due to delivery speed, system length, sudden acceleration or deceleration of the system, changes in air pressure, and changes in the direction of motion of the PTS causing micro hemolysis. In several types of research, the frequency of hemolysis in samples transported by PTS was 10.9% compared to 3.3% by manual labor, failure of the PTS system could also increase the frequency of hemolysis by 55% (Kara et al., 2014).

Different results were obtained by Cui et al., who reported that there was no difference between the potassium levels transported by PTS and by courier transport. On repeated deliveries with PTS, the potassium level increased slightly. Research by Kurniawan et al. also shows no significant difference between samples transported by PTS and by courier transport (Kurniawan et al., 2015).

The weakness in this research is that it is not known how the tool vendor sets much PTS speed. This research also did not evaluate the level of hemolysis of the sample. The waiting time for the test results from taking samples until the result comes out is also not counted. The effect of PTS on blood samples was not investigated at the location of other units delivered to the laboratory, such as the Arjuna ward, Yudistira, Nakula IGD, and Yudistira ER.

## CONCLUSION

There were no significant differences in the measurement result of WBC, RBC, HB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PPT, and APTT in this research. However, it was found that there were significant differences in the results of the PLT and Potassium test using samples transported by PTS and courier transport. The research can be continued by using PTS distance variations, PTS speed variations, and other laboratory examination parameters to evaluate PTS use. Measurements of platelet and potassium are not recommended with the use of PTS as a transport medium. Evaluation of the use of PTS as a delivery medium for Packed Red Cell (PRC) and Platelet Concentrate (TC) also needs to be conducted.

## ACKNOWLEDGEMENT

The researchers want to thank UGM Academic Hospital for providing research funding assistance through the RKAT Grant Fund for the 2020 Fiscal Year with the research contract number 96/H/RSA-UGM/VIII/2020.

## REFERENCES

- Evliyaoqlu O, Toprak G, Tekin A, Basarali MK, Kilinc C. 2012. Effect of Pneumatic Tube Delivery System Rate and Distance on Hemolysis of Blood Samples. *J Clin Lab Anal.* 2012; 26(2): 66–69.
- Felder, RA. 2011. Preanalytical errors introduced by sample transportation systems: a means to assess them. *Clin Chem* 2011; 57:1349-50. <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2011.172452>.
- Kapoula G V., Kontou PI, Bagos PG. 2017. The Impact of Pneumatic Tube system on laboratory parameters: A systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2017; 55(12): 1834-44.

- Kurniawan, LB. , Aswin N & Uleng B. 2015. Pneumatic tube against routine blood and lactate dehydrogenase Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory, 2015, 21(2), ISSN 0854-4263.
- Lee AJ, Suk Suh H, Jeon CH, Kim SG. 2017. Effects of one directional pneumatic tube system on routine hematology and chemistry parameters A validation study at a tertiary care hospital. Pract Lab Med. 2017; 9: 12-1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2017.07.002>
- Quelleg, S., Paris, M., Nougier, C., Sobas, F., Rugeri, F., Girard, A., Bordet, J.C., Negrier, C., & Dargaud., Y. 2016. Preanalytical Effects Of Pneumatic Tube System Transport On Routine Hematology And Coagulation Test, Global Coagulation Assays And Platelet Function Assays. Elsevier. Thrombosis Research 153 (2017) 7-13.<http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2016.12.022>
- Sandgren, P., Larsson, S., Waisan, P., & Diedrich, B.A. 2014. The effects of pneumatic tube transport on fresh and stored platelets in additive solution. Blood Transfus 2014; 12: 85-90 DOI 10.2450/2013.0097-13
- Shibani W., Zulkafli.M., Basuno.B. 2016. Methods of transport technologies: a review on using tube/tunnel systems. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Conference Series Materials Science and Engineering, 2016,160(1), DOI:[10.1088/1757-899X/160/1/012042](https://doi.org/10.1088/1757-899X/160/1/012042)
- Simundic A.M. 2013. The effect of transport by pneumatic tube system on blood cell count, erythrocyte sedimentation, and coagulation tests. Biochem Med 2013;23:206-10. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2013.024>.
- Subbarayan, D. 2018. The Effects of Sample Transport by Pneumatic Tube System on Routine Hematology and Coagulation Tests. NCBI. Advances in Hematology, 2018 <https://doi.org/10.1155/2018/6940152>.
- Tiwari AK, Pandey P, Dixit S, Raina V. 2011. Speed of Sample Transportation by A Pneumatic Tube System Can Influence The Degree of Hemolysis. Clin Chem Lab Med. 2011; 50(3): 471–474.

# Korelasi C-Reaktif Protein Dan Differential Count Pada Diagnosis Penegakan COVID-19

Sri Puspa Wahdiyanti

## ABSTRACT

Covid – 19 is an infectious disease caused by *severe acute respiratory syndrome corona virus- 2 (SARS COV-2)*. In severe cases of covid – 19 it can cause *pneumonia*, acute respiratory syndrome, kidney failure and even death. To support the doctor's diagnosis, screening tests are needed in laboratory that is anti *SARS COV-2* is an antibody that shows reactive results it is started that the body has caught the virus and supported by other filter checks are C-reaktif protein dan differential count check, this begins when clinical symptoms appear. C-reaktif protein check in response to inflammation. Because covid – 19 is an infectious disease caused by a virus. And a differential count check is also carried out to support the possibility of a covid – 19 SARS infection by looking at the results of the leukocyte type.

This scientific paper aims to purpose the discription of the results of C-reaktif protein and differential in covid – 19 patients, as expected from 100 patients. At the balaraja hospital there are 79 % positive C-reaktif protein and 14 % there was an increase in the neutrofil segment in covid – 19 patients. The conclusion obtained from this study is that there is an increase in the results of and there is relationship between C-reaktif protein and differential count in covid – 19 patients. According to the purpose of this research clinically meaningful examination to evaluate covid – 19 patients.

**Keywords** : covid – 19 , C-reaktif protein, differential count

## INTRODUCTION

Kesehatan menurut WHO (1947) adalah suatu keadaan yang sempurna baik secara fisik, mental dan sosial, serta tidak hanya bebas dari penyakit. Sehat menurut undang- undang pasal 23 tahun 1992 tentang kesehatan, menyatakan bahwa kesehatan adalah keadaan sejahtera dari badan, jiwa dan sosial, yang mungkin hidup produktif secara sosial dan ekonomi.

Pada tanggal 31 desember 2019, WHO China Country Office melaporkan kasus pneumonia yang tidak di ketahui etiologinya di kota wuhan, provinsi Hubei, Cina. Pada tanggal 7 januari 2020, china mengidentifikasi kasus tersebut sebagai jenis baru *coronavirus*. Dan pada tanggal 30 januari 2020 WHO menetapkan kejadian tersebut sebagai kedaruratan kesehatan masyarakat yang meresahkan dunia. Kemudian pada tanggal 11 maret 2020, WHO sudah menetapkan *Corona Virus Disease 2019 (Covid-19)* sebagai pandemi. ( kemenkes,2020).

Peningkatan kasus berlangsung cukup cepat dan menyebar ke berbagai negara dalam waktu singkat. Sampai dengan tanggal 9 juli 2020, WHO melaporkan 11.84.226 kasus konfirmasi dengan 545.481 kematian di seluruh dunia ( *Case Fatality Rate* atau *CFR* 4,6%). Sedangkan di Indonesia melaporkan kasus pertama pada tanggal 2 maret 2020. Kasus meningkat dan menyebar dengan cepat di seluruh wilayah Indonesia. Sampai dengan tanggal 9 juli 2020 Kementrian kesehatan melaporkan 70.736 kasus konfirmasi *covid-19* dengan 3.417 kasus meninggal (*CFR* 4,8%) ( Kemenkes,2020).

Menurut Kemenkes, Juli 2019 *Covid-19* adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome corona virus- 2 (SARS COV-2)*. Tanda dan gejala gangguan pernapasan akut seperti demam, batuk dan sesak napas. Masa inkubasi rata-rata 5-6 hari dengan masa inkubasi terpanjang 14 hari. Pada kasus *Covid-19* yang berat dapat menyebabkan *pneumonia*, sindrom pernapasan akut, gagal ginjal dan bahkan kematian.

Dengan adanya masalah kesehatan yang dialami oleh seluruh dunia bahkan Indonesia ini memerlukan pelayanan kesehatan. Menurut Menkes 2006 pelayanan kesehatan meliputi peningkatan pencegahan, pengobatan dan pemulihan. Dan salah satu pelayanan kesehatan adalah rumah sakit. Menurut undang-undang nomor 44 tahun 2009, rumah sakit yaitu institusi pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan kesehatan perorangan secara paripurna yang menyediakan pelayanan rawat inap, rawat jalan dan gawat darurat.



RSUD Balaraja merupakan rumah sakit pemerintah di Kabupaten Tangerang. Laboratorium di RSUD Balaraja adalah salah satu fasilitas pelayanan kesehatan sebagai penunjang diagnosa dokter. Menurut Permenkes RI No.411/Menkes/III/2010, laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan specimen klinik untuk mendapatkan informasi tentang kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit dan memulihkan kesehatan.

Pasien di RSUD Balaraja pertama kali akan mendapatkan tindakan kesehatan di ruang gawat darurat yaitu di Unit Gawat Darurat (UGD). Sejak terjadi masalah keadaan kesehatan di Indonesia ini setiap pasien yang menderita demam dan mengalami gangguan pernapasan dinyatakan sebagai terduga penderita *Covid-19*. Dokter di UGD akan melakukan pemeriksaan laboratorium yaitu pemeriksaan *C- reaktif protein* , darah lengkap dan *screening* anti *SARS COV-2*. Pemeriksaan tersebut wajib dilakukan sebelum menentukan pasien akan dirawat inap isolasi atau tidak.

Pemeriksaan *CRP* dilakukan karena *Covid-19* merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus. Dan pemeriksaan darah lengkap ini dilakukan untuk melihat nilai leukosit dan nilai *differential count* pasien tersebut. Pemeriksaan *CRP* dan *differential count* ini dapat di mulai dilakukan pada saat timbul gejala klinis, *CRP* biasanya akan terjadi peningkatan. Pada *differential count* dapat di lihat bila hasil hitung limfosit rendah dengan hitung segmen *neutrofil* normal atau meningkat sehingga ratio *neutrofil/limfosit* ( *Neutrofil Limfosit Ratio atau NLR* ) menjadi tinggi , maka hasil tersebut mendukung kemungkinan adanya infeksi *SARS COV-2*. Bila pemeriksaan ini dilakukan secara berkala pemeriksaan penyangar ini baik juga untuk pemantauan perkembangan penyakit. Adapun pemeriksaan penyangar anti *SARS COV-2* merupakan *antibodi* yang dengan menunjukkan hasil reaktif di nyatakan bahwa tubuh sudah kemasukkan virus. Di mana *antibodi Imunoglobulin M (IgM)* dan *Imunoglobulin G (IgG)* ini di bentuk oleh tubuh sebagai reaksi *imun humoral* terhadap masuknya virus dan bersifat spesifik, yang berarti *antibodi (IgM dan IgG)* di bentuk terhadap virus *SARS COV-2* dan tidak oleh virus lain ( Kemenkes,2020).

Inilah yang melatarbelakangi peneliti ingin melakukan penelitian mengenai “KORELASI C-REAKTIF PROTEIN DAN DIFFERENTIAL COUNT PADA DIAGNOSIS PENEGAKAN COVID-19”.

## METHODS

### Definisi Operasional Variabel

1. C-Reaktif Protein (CRP) adalah pemeriksaan dengan menggunakan CRP Latex test yang suspensi dari partikel Polystyrene yang direaksikan dengan anti-human C-Reaktif Protein (kit insert CRP AIM)
2. Differential count adalah suatu kelompok sel darah putih yang lebih rinci untuk menentukan berbagai jenis lekosit dari sel darah putih yang terdiri dari basofil, eosinofil, netrofil, monosit dan limfosit
3. Pasien penderita covid -19 adalah pasien yang masuk ruang unit gawat darurat dan telah didiagnosa dokter termasuk pasien covid-19 dan dilakukan tindakan rawat inap

### Tempat dan Waktu Penelitian.

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Balaraja Kabupaten Tangerang. Dengan cara melakukan pengambilan data di laboratorium Rumah Sakit Umum Balaraja bulan april sampai dengan bulan desember 2020.

### Populasi dan Sampel.

1. Populasi adalah seluruh data pemeriksaan c-reaktif protein yang melakukan pemeriksaan differential count yang hasil rapid antibodi positif dan telah didiagnosa dokter termasuk dalam kategori penderita covid-19
2. Sampelnya adalah data pemeriksaan c-reaktif protein dan differential count dari bulan april sampai bulan desember 2020

### Prosedur Kerja

- 1) Pemeriksaan CRP

Adapun prosedur kerjanya adalah :

- a. Menggunakan alat pelindung diri
- b. Membiarkan sampel dan reagen mencapai suhu ruang sebelum di gunakan
- c. Meneteskan 1 tetes (50µl) serum tanpa pengenceran ke dalam lingkaran pada glass slide
- d. Meneteskan kontrol positif dan kontrol negatif pada lingkaran yang lain
- e. Mencampur reagen latex test sebelum digunakan. Kemudian teteskan masing masing 1 tetes (50µl) latex test ke lingkaran yang berisi serum, sampel kontrol positif dan kontrol negatif

- f. Mengaduk campuran tersebut dengan menggunakan batang pengaduk, kemudian menyebarkan cairan dalam masing-masing lingkaran dengan menggunakan ujung pipet pengaduk yang datar.
  - g. Membaca hasil test setelah 3 menit.’
- 2) Pemeriksaan differential count
- Sebelum melakukan pemeriksaan differential count menggunakan alat pelindung diri
- a. Prosedur kerja secara manual
    - 1. Membuat sediaan apus
      - a) Memilih kaca objek yang bertepi rata untuk digunakan sebagai kaca penghapus
      - b) Meletakkan satu tetes kecil darah di letakkan pada  $\pm 2-3$  mm dari ujung kaca
      - c) Meletakkan objek kaca penghapus dengan sudut 30-45 derajat terhadap kaca objek di depan tetes darah
      - d) Menarik kaca penghapus ke belakang sehingga tetes darah menyebar pada sudut tersebut
      - e) Mendorong kaca penghapus dengan gerak cepat sehingga terbentuk apusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek.
      - f) Membiarkan apusan darah mengering di udara.
      - g) Memberi identitas pasien ditulis pada bagian tebal apusan dengan pensil kaca.
    - 2. Mewarnai sediaan
      - 1. Pewarnaan Giemsa
        - a) Meletakkan sediaan apus pada dua batang gelas
        - b) Fiksasi sediaan apus dengan metanol absolut 2-3 menit
        - c) Menggenangi sediaan apus dengan zat warna giemsa yang baru diencerkan
        - d) Membiarkan selama 10 menit
        - e) Membilas dengan air ledeng mula- mula dengan aliran lambat kemudian dengan lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna
      - 2. Pewarnaan Wright
        - a) Menggenangi sediaan apus yang sudah diwarnai dengan zat warna giemsa dengan zat warna wright yang baru diencerkan
        - b) Membiarkan selama 10 menit
        - c) Membilas dengan air ledeng mula – mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan untuk menghilangkan semua kelebihan zat warna
        - d) Meletakkan sediaan apus dalam rak dalam posisi tegak dan membiarkan mengering.
  - c. Prosedur kerja secara semi automatic
    - a) Menggunakan alat pelindung diri
    - b) Menekan tombol on/off
    - c) Melakukan maintenance harian
    - d) Melakukan quality control pada alat hematologi semi automatic
    - e) Mempersiapkan sampel pada tabung EDTA yang telah di homogenkan
    - f) Memilih CBC pada layar dan scan ID/barcode lalu klik “OK”
    - g) Menghomogenkan sampel
    - h) Memastikan sampel bebas dari lisis dan bekuan
    - i) Memasukkan sampel darah pada adaptor dan menekan tombol penghisap
    - j) Setelah mendengar suara “bip bip” melepaskan sampel dari adaptor
    - k) Hasil akan terlihat pada layar alat automatic secara otomatis.
- 3) Pemeriksaan Rapid test Antibodi Covid-19
- a) Menggunakan alat pelindung diri
  - b) Menggunakan sampel darah berupa whole blood atau serum
  - c) Mengeluarkan kaset test dari pembungkusan
  - d) Memberikan label identitas
  - e) Meletakkan kaset test pada meja datar
  - f) Meneteskan 1 tetes sampel (10  $\mu$ l) pada lubang sampel kaset test
  - g) Kemudian, meneteskan 2 tetes buffer ke dalam lubang sampel pada kaset test
  - h) Membaca hasil setelah 15 menit

## RESULTS

Penelitian ini telah dilaksanakan di laboratorium patologi klinik RSUD Balaraja kab Tangerang dengan melakukan pengambilan data dari bulan April 2020 sampai dengan Desember 2020. Subjek penelitian ini adalah semua pasien yang telah didiagnosa oleh dokter unit gawat darurat sebagai pasien Covid-19 dengan jumlah data sebanyak 100 pasien hasil rapid Antibodi Reaktif. Dan penelitian dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4. 1  
Hasil CRP pada pasien covid-19

| No | Hasil Rapid Antibodi | Hasil CRP |         | Persentase CRP |         |
|----|----------------------|-----------|---------|----------------|---------|
|    |                      | Positif   | Negatif | Positif        | Negatif |
| 1  | Reaktif              | 79        | 21      | 79%            | 21%     |

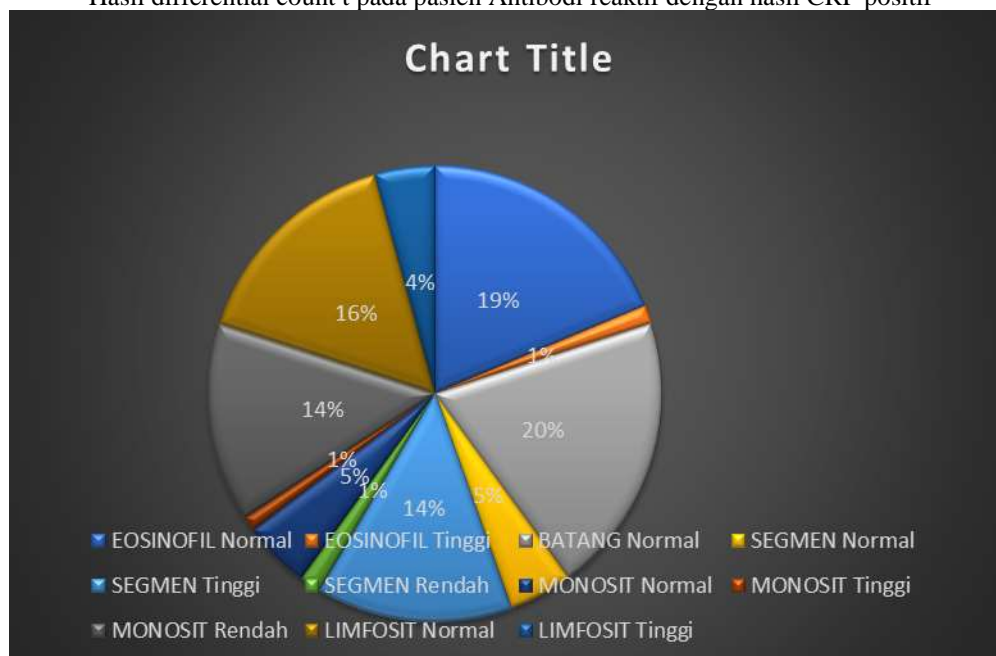
Berdasarkan tabel 1, hasil rapid Antibodi Reaktif terdapat 79 pasien yang hasil CRP nya positif ( 79%) dan dengan hasil CRP yang negatif sebanyak 21 pasien (21%).

Tabel 4. 2  
Hasil differential count pada pasien Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif

| BASOFIL | EOSINOFIL |        | BATANG | NEUTROFIL SEGMENT |        |        | MONOSIT |        |        | LIMFOSIT |        |
|---------|-----------|--------|--------|-------------------|--------|--------|---------|--------|--------|----------|--------|
|         | Normal    | Tinggi |        | Normal            | Tinggi | Rendah | Normal  | Tinggi | Rendah | Normal   | Tinggi |
| 0       | 74        | 5      | 79     | 18                | 55     | 6      | 19      | 4      | 56     | 62       | 17     |

Berdasarkan tabel 2, pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count pada 79 pasien dengan hasil basofil dengan 0 dan menunjukkan hasil normal, eosinofil dengan hasil yang normal pada 74 pasien dan hasil yang tinggi menunjukkan 5 pasien, batang menunjukkan hasil normal yaitu 79 pasien, neutrofil segmen dengan hasil yang normal 18 pasien dan hasil yang tinggi 55 pasien serta hasil rendah yaitu 6 pasien, monosit dengan hasil normal 19 pasien dan hasil tinggi yaitu 4 pasien serta hasil rendah yaitu sebanyak 56 pasien sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 62 pasien dan hasil yang tinggi sebanyak 17 pasien.

Grafik 4. 1  
Hasil differential count t pada pasien Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif



Berdasarkan grafik 1, pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count pada 79 pasien, eosinofil dengan hasil yang normal sebanyak 19% dan hasil yang tinggi sebanyak 1%, batang dengan hasil normal sebesar 20%, neutrofil segmen dengan hasil yang normal sebesar 5% dan hasil yang tinggi sebesar 14% serta hasil rendah sebesar 1%, monosit dengan hasil normal 5% dan hasil tinggi sebesar 1% serta hasil rendah yaitu sebanyak 14% sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 16% dan hasil yang tinggi sebanyak 4%.

Tabel 4. 3

Hasil perhitungan statistik dari hasil rapid Antibodi SARS COV -2 ,crp dan differential count

|           |                     | Basofil        | Eosionofil | Netrofil Segmen | Limfosit | Monosit |
|-----------|---------------------|----------------|------------|-----------------|----------|---------|
| Titer CRP | Pearson Correlation | . <sup>a</sup> | -.278**    | .384**          | -.385**  | -.093   |
|           | Sig. (2-tailed)     | .              | .000       | .000            | .000     | .188    |
|           | N                   | 200            | 200        | 200             | 200      | 200     |

Pada tabel 4 diatas dapat di lihat eosinofil nilai r sebesar 0,278,netrofil segmen nilai r sebesar 0,384, limfosit nilai r sebesar 0,385 dan pada monosit nilai r sebesar 0,093 yang menunjukkan adanya hubungan crp dengan eosinofil,netrofil segmen, limfosit dan monosit dan ditunjukkan dengan tanda bintang. Dan nilai sig. (2\_tailed) sebesar eosinofil 0.000, netrofil segmen sebesar 0.000 serta limfosit sebesar 0.000 kurang dari  $\alpha$  yang digunakan yaitu 0.05, maka hipotesa  $H_a$  di terima. Maka dapat di simpulkan bahwa terdapat hubungan positif dan signifikan antara crp dengan eosinofil, netrofil segmen dan limfosit.

### DISCUSSION

Jika dilihat dari persentase CRP yang hasil positif dan negatif pada pasien yang tes rapid antibodi reaktif, maka terdapat perbedaan yang besar sekali antara persentase CRP yang hasilnya positif dan negatif, yaitu pada CRP yang hasilnya positif sebesar 79% dan CRP yang hasilnya negatif sebesar 21%. Persentase CRP yang positif pada pasien yang hasil tes antibodi reaktif kemungkinannya adalah pertanda adanya penyakit atau infeksi didalam tubuh karena tubuh sudah terinfeksi oleh virus. Dan jika pasien tidak mengalami gejala atau bergejala ringan sehingga peradangannya juga ringan maka CRP nya bisa negatif walaupun hasil tes rapid antibodi reaktif pada pasien covid-19. Jadi kadar CRP rendah atau negatif tidak selalu berarti tidak ada peradangan.

Pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count yaitu eosinofil dengan hasil yang normal sebanyak 19% dan hasil yang tinggi sebanyak 1%, batang dengan hasil normal sebesar 20% , neutrofil segmen dengan hasil yang normal sebesar 5% dan hasil yang tinggi sebesar 14% serta hasil rendah sebesar 1%, monosit dengan hasil normal 5% dan hasil tinggi sebesar 1% serta hasil rendah yaitu sebanyak 14% sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 16% dan hasil yang tinggi sebanyak 4 % .

Dari hasil diffcount tersebut terjadi peningkatan segmen neutrofil segmen sebesar 14% kemungkinan karena ada penyusupan benda atau sel asing yang ke dalam jaringan , ketika segmen neutrofil sudah berhasil melacak infeksi dan peradangan dalam tubuh, muncul lah bahan kimia khusus yang memberi tahu segmen neutrofil untuk segera keluar dari sumsum tulang dan pindah ke bagian tubuh yang membutuhkannya sehingga sel – sel neutrofil berada dalam jumlah besar. Segmen neutrofil mempunyai kemampuan untuk melakukan fagositosis yaitu menelan atau memakan benda asing. Limfosit masih dalam tahap normal kemungkinan karena ada benda asing masuk sehingga limfosit tetap bsnyak membuat produksi antibodi meningkat sesuai dengan fungsinya limfosit. Dan monosit mengalami penurunan yang signifikan pada tubuh pasien COVID-19 kemungkinan karena kalah dengan benda asing yang masuk ke dalam tubuh pasien itu.

### CONCLUSION

1. Hasil CRP positif sebesar 79% menunjukkan adanya peradangan dan tubuh di masuki oleh virus.
2. Terjadi peningkatan neutrofil segmen sebesar 14 % menunjukkan ada penyusupan benda atau sel asing yang ke dalam jaringan
3. Terdapat hubungan antara CRP dan differential count dengan pasien Covid -19
4. Apabila seseorang mengalami tanda atau gejala dari peradangan atau infeksi maka diperlukan tes penyangring pemeriksaan CRP dan differential count.

### REFERENCES

- Andi eko, Medikal Bedah dengan Kardiovaskuler, Jakarta, 2017.  
 Handoko,Statistik Untuk Penelitian Kesehatan dengan Aplikasi Program dan SPSS, Yogyakarta, 2009.  
 Kemenkes, Penyakit Menular yang di sebabkan oleh Severe akut Respiratory Syndrom Corona Virus – 2 (SARS-Cov-2), Jakarta ,Juli 2020.  
 Lary Waterbury, Hematologi Edisi 3, EGC, Jakarta, 2001  
 Marzuki Suryaatmadja, Pemeriksaan Laboratorium pada Penyakit Covid – 19.(abclab.co.id, 4 Juni 2020).  
 Rukman Kiswari, Hematologi dan Transfusi Darah, Jakarta, 2014.  
 Sugiyono,Statistik untuk Penelitian , Bandung, 2009.  
 Sadikin M, Biokimia Darah, Jakarta, 2002.

Samik Wahab et al, Sistem Imun, imunisasi dan penyakit Imun , Jakarta, 2002.  
Susilo et al, Penyakit Dalam, indonesia, 2020.  
Sumadi Suryabrata, Metodologi Penelitian, Yogyakarta, 2009.

# Identifikasi Mutasi Gen *PfRPB9* Sebagai *Biomarker* Resistensi *Plasmodium falciparum* Terhadap Artemisinin Dan Derivatnya Pada Pasien Malaria Asal Lampung

Basuki Rachmad<sup>1</sup>, Rahman Antasari<sup>2</sup>, Achmad Ghiffari<sup>3</sup>, Chairil Anwar<sup>4</sup>

<sup>1</sup> RSUD Sijunjung dan Dosen STIKES Kesosi Jakarta; basukihelda7274@gmail.com

<sup>2</sup> Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Palembang

<sup>3</sup> Dosen Universitas Muhammadiyah Palembang

<sup>4</sup> Guru Besar Parasitologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang

## ABSTRACT

**Background** : Resistance of *P.falciparum* to anti-malarial drugs has been reported throughout the world, including Southeast Asia. This can be a serious problem for endemic areas because malaria elimination will be difficult to achieve. The cause of resistance is generally a gene mutation in the parasite's body. Lampung Province is not yet completely free of malaria. In 2020 there were 11 malaria-free areas, 3 low endemic and 1 moderate endemic. Although cases of local transmission can be reduced, endemic areas are tourist areas where the mobility of the population is high so they are at risk of infection (called imported cases). This endemic area is located in Hanura Village, Pidada Village and Padang Cermin Village, Teluk Pandan District, Pesawaran Regency, Bandar Lampung City and Pesisir Barat Regency.

**Methods**: This experimental study aims to isolate and identify *PfRPB9* gene mutations as markers of artemisinin resistance and was carried out at the Biomolecular Laboratory, Sriwijaya University Faculty of Medicine at Palembang in January-May 2018.

**Results** : Amplification of the *PfRPB9* gene using a specific primer design resulted in 23 amplicons measuring 513 bp. Contig electrophorogram sequencing results using software Geneious v8.1.9. with reference sequence No.CP016991.1. Then it is aligned using the MAFFT v7.017 software to determine the mutation pattern. Point mutations in *P.falciparum* isolates from Lampung match the results of Arie et al<sup>(12)</sup>. Even found a new mutation that can cause changes in the amino acid composition in the *PfRPB9* gene.

**Conclusion** : *P.falciparum* isolates from Lampung were resistant to artemisinin and its derivatives. Sequencing a large number of amplicons is recommended for more valid results in inferring mutation patterns. Anti-malarial therapy in the form of native Indonesian herbs can be an alternative choice in dealing with the problem of malaria parasite resistance.

**Key Words** : gene mutation, *PfRPB9*, *P.falciparum* resistance, arteminin

## INTRODUCTION

Penyakit malaria adalah penyakit yang diakibatkan gigitan nyamuk betina *Anopheles sp* yang dapat menularkan parasit *Plasmodium sp*. Dari 4 spesies *Plasmodium* yang menyerang manusia, *Plasmodium falciparum* adalah yang paling berbahaya karena dapat menyebabkan kematian.

Menurut Widyawati<sup>(1)</sup>, kasus malaria di Indonesia menurun sejak 2010-2020 dimana pada 2010 kasus positif malaria mencapai 465.700 sedangkan pada 2020 menurun menjadi 235.700. Ini terbukti dari penurunan *Annual Parasite Incidence* (API) dari 1,96 (2010) menjadi 0,87 (2020). Di sisi lain, jumlah wilayah di Indonesia yang berhasil melakukan eliminasi malaria bertambah, pada 2019 sebanyak 300 kabupaten/kota dan pada 2020 bertambah menjadi 318. Meski begitu pada 2020 masih ada 23 kabupaten/kota yang endemis tinggi, 21 endemis sedang dan 152 endemis rendah.

Akan tetapi menurut Tarmizi SN<sup>(2)</sup>, Lampung masih belum sepenuhnya bebas malaria, tercatat ada 11 daerah bebas malaria (eliminasi), 3 endemis rendah dan 1 endemis sedang. Lampung adalah daerah endemis yang berpotensi untuk mengembangkan penyakit malaria. Meskipun kasus penularan setempat dapat diturunkan di beberapa wilayah endemis, namun tetap harus diwaspadai karena daerah endemis malaria merupakan wilayah pariwisata yang memiliki mobilitas penduduk yang tinggi akan risiko adanya penularan (kasus impor). Kabupaten/kota yang merupakan daerah endemis malaria berada di Desa Hanura, Desa Pidada dan Desa Padang Cermin, Kecamatan Teluk Pandan Kabupaten Pesawaran, Kota Bandar Lampung dan Kabupaten Pesisir Barat.

Artemisinin bukan senyawa alkaloid atau amina seperti pada kuinin tetapi seskuiterpen lakton yang mempunyai ikatan peroksida dan bekerja secara spesifik pada tahap eritrositik serta bersifat skizontosida terhadap *P.falciparum* dan *P.vivax* <sup>(3,4)</sup>. Senyawa ini diekstrak dari tumbuhan tropis *Artemisia annua* (famili *Asteraceae*) yang banyak hidup di daerah Amerika Latin, Amerika Tengah, Bulgaria, Perancis, Hungaria, Rumania, Italia, Spanyol hingga Yugoslavia dan Asia Tenggara termasuk Indonesia <sup>(5)</sup>. Ribuan tahun lalu digunakan untuk mengobati penyakit demam/malaria di Cina tetapi baru pada 1971 dipatenkan oleh peneliti Cina sebagai tanaman *Qinghaosu*.

Resistensi *P.falciparum* terhadap obat anti-malaria (OAM) menjadi masalah yang serius bagi daerah endemik malaria. Karena dengan adanya resistensi ini maka program eliminasi malaria akan menjadi sulit untuk diwujudkan. Umumnya resistensi disebabkan oleh mutasi gen di dalam tubuh parasit *Plasmodium sp* yang dapat mempengaruhi struktur dan aktivitas OAM pada tingkat molekul sehingga targetnya terhadap parasit malaria tidak tepat lagi.

Berbagai gen penanda resistensi terhadap OAM telah banyak diteliti, di antaranya gen *Pfcr* sebagai biomarker resistensi terhadap klorokuin dan amodiakuin<sup>(6,7)</sup>, *Pfmdr1* terhadap arylaminoalkohol kuinolin, 4-aminokuinolin, klorokuin, meflokuin, halofantrin dan kuinin <sup>(6,7,8)</sup>, gen *Pfmrp* terhadap klorokuin <sup>(7)</sup>, *Pfdhps* terhadap pirimetamin, *Pfdhfr* terhadap sulfadoksin<sup>(7,9)</sup> dan *PfATPase6* sebagai biomarker resistensi pertama terhadap artemisinin tetapi akhirnya tidak terbukti <sup>(10)</sup>.

Banyaknya polimorfisme gen dari *Plasmodium sp* ini menyebabkan masalah resistensi tidak akan pernah selesai. Akhirnya pada 2015 ditemukan gen *P.falciparum* yang bertanggungjawab terhadap resistensi artemisinin, yaitu gen PfK13 (PF3D7\_1343700), suatu gen pada ekson ke-1 yang menyandi untuk protein Kelch, dan gen *PfRBP9* (PF3D7\_0110400), suatu gen ekson ke-2 yang menyandi untuk RNA polimerase II subunit RPB9, yakni suatu subunit polimerase II integral yang kecil dan sangat terlindung serta berperan dalam menjamin ketepatan transkripsi di dalam sel <sup>(11)</sup>. Gen sesungguhnya adalah urutan/sekuens DNA yang menyusun sebuah asam amino. Berbagai peneliti yang melaporkan tentang resistensi gen PfK13 adalah Ariey dkk <sup>(11)</sup>, Ashley dkk <sup>(12)</sup> dan Li Y dkk <sup>(13)</sup>. Ariey dkk <sup>(12)</sup> menyatakan setidaknya ditemukan 2 (dua) mutasi titik, yaitu di kodon M476I pada gen PfK13 (PF3D7\_1343700) dan kodon D56V pada gen PfRBP9 (PF3D7\_0110400), sudah cukup untuk menyatakan telah terjadi resistensi *P.falciparum* secara molekuler terhadap senyawa artemisinin.

Di Indonesia penelitian tentang munculnya resistensi *P.falciparum* yang berhubungan dengan mutasi gen PfK13 pertama kali dilakukan oleh Basuki Rachmad <sup>(14)</sup> dan telah dipublikasikan pada Rakernas XIV dan Temu Ilmiah XXII Patelki Tahun 2019 di Lampung. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan tentang gen PfRBP9 yang bertanggungjawab dalam resistensi *P.falciparum* terhadap artemisinin dan derivatnya, yaitu sediaan *dihydroartemisinin-piperaquin (DHP)*, *artesunate-amodiaquine (AAQ)* atau *artemether-lumefantrine (AL)* yang banyak dipakai sebagai OAM di rumah sakit atau puskesmas di Indonesia, termasuk Lampung.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi mutasi gen *PfRBP9* sebagai penanda resistensi artemisinin pada isolat *Plasmodium falciparum* asal Lampung.

## METHODS

### Disain Penelitian

Disain penelitian adalah deskriptif eksperimental dengan melakukan pemeriksaan mikroskopis malaria dan uji molekuler (isolasi DNA, PCR, elektroforesis gel agarosa dan sekuensing DNA).

### Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeriksaan mikroskopis malaria langsung dilakukan di puskesmas setempat, sedangkan uji molekuler dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Jl. Dr. Moh. Ali, Kompleks RSMH, Palembang 30126. Waktu penelitian adalah ± 5 bulan.

### Teknik Pengambilan Data

Sampel adalah pasien yang datang berobat ke Puskesmas Hanura, Puskesmas Sukamaju dan Puskesmas Kupang Kota dan dinyatakan positif malaria secara mikroskopis. Jumlah sampel ditentukan memakai rumus Lameslow <sup>(15)</sup> dengan mempertimbangkan angka API Lampung :

$$n = \frac{Z\alpha^2 P(1-P)}{d^2} \rightarrow \frac{(1,96)^2 \times 0,5 \times (1-0,5)}{0,1^2} = \pm 96 \text{ orang}$$

n = besar sampel yang diinginkan.

Zα = nilai Z pada derajat kemaknaan (biasanya 95% = 1,96)

P = proporsi suatu kasus terhadap populasi, bila tidak diketahui proporsinya ditetapkan 50% atau 0,5.

d = derajat penyimpangan terhadap populasi yang diinginkan ditetapkan sebesar 10% (0,1).

### Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi adalah pasien yang dinyatakan positif infeksi tunggal *P.falciparum* melalui pemeriksaan mikroskopis dan ICT rapid malaria. Sedangkan eksklusinya adalah pasien yang dinyatakan negatif malaria atau positif *mixed-infection* (*P.falciparum* + *P.vivax* atau *P.vivax* + *P.ovale*) melalui pemeriksaan mikroskopis dan ICT rapid malaria.

### Prosedur Penelitian

#### I. Pre-analitik :

- a) Sampel darah perifer dan vena (darah EDTA).
- b) Wizard® Genomic DNA Purification Kit (PROMEGA).
- c) Sepasang primer spesifik gen pFRPB9 (PF3D7\_0110400) (MacroGen) untuk amplifikasi dan sequencing DNA<sup>(12)</sup> :
  - (1) Primer pFRPB9-F: 5'-TTG AGC TTC TTT TTC CCA ATA ATG GC-3'
  - (2) Primer pFRPB9-R: 5'-TGA TAT ATG TTT GTA GGA GCT GTG AG-3'.
- d) Bahan-bahan lain yang dibutuhkan : Green GoTaq® Master Mix Kit, agarose, TBE buffer 10X, isopropanol, alkohol 70% dan alkohol absolut.

#### II. Analitik :

- a) Pemeriksaan Mikroskopis Malaria  
Dilakukan pemeriksaan malaria pada SAD tebal dan tipis, dengan dibantu oleh 2 orang ATLM puskesmas.
- b) Isolasi DNA Genom *P.falciparum*
  - (1) Pasien positif malaria Falciparum secara mikroskopis, diambil darah venanya dan dimasukkan dalam tabung EDTA.
  - (2) Sampel darah EDTA dibawa ke Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang untuk dilakukan uji-uji biomolekuler.
- c) Uji-uji Biomolekuler
  - (1) Dilakukan isolasi DNA terhadap sampel darah EDTA menggunakan reagen Promega<sup>(16)</sup>.
  - (2) Setelah didapatkan isolat DNA lalu dilakukan PCR.
  - (3) Gen diamplifikasi dengan menggunakan Primer pFRPB9-F: 5'-TTG AGC TTC TTT TTC CCA ATA ATG GC-3' dan Primer pFRPB9-R: 5'-TGA TAT ATG TTT GTA GGA GCT GTG AG-3' untuk menghasilkan pita 498 bp<sup>(12)</sup>.
  - (4) Program :
    - (a) Denaturasi awal 94 °C selama 5 menit.
    - (b) Siklus amplifikasi diulang 40 kali terdiri dari :
      - Denaturasi 94 °C, 30 detik.
      - Annealing 60 °C, 90 detik.
      - Ekstensi 72 °C, 90 detik.
      - Ekstensi final 72 °C, 10 menit.
  - (5) Produk PCR (amplikon) dideteksi dengan elektroforesis gel agarose 2% dan pewarnaan etidium bromida.
- d) Elektroforesis Gel Agarosa 2%
  - (1) Dibuat gel agarosa 2 % dengan jumlah sumur sebanyak jumlah amplikon.
  - (2) Dipipet masing-masing sebanyak 5 µl amplikon (dari dalam microtube PCR) dan masukkan ke dalam masing-masing sumur gel tadi. Catatan: urutan pemasukan amplikon ke dalam setiap sumur harus sesuai dengan peta sampel yang telah dibuat.
  - (3) Pipet 3,5 µl marker DNA ladder dan masukkan ke dalam sumur yang disiapkan untuk marker. Catatan : Marker DNA ladder yang dipakai tergantung dari pita base pairs (bp) sampel amplikon yang diharapkan, apakah 100, 200, 500 atau 1000 bp.
  - (4) Setel alat elektroforesis BIO-RAD™ PowerPac pada 80-100 Volt, 400 mA selama 25-30 menit (jangan lebih dari 30 menit).
  - (5) Setelah elektroforesis selesai, angkat gel lalu masukkan ke dalam alat UV untuk divisualisasi.
- e) Sekuensing Gen *PfRPB9*  
Sekuensing amplikon dari gen *PfRPB9* dilakukan di *IstBASE* Singapura menggunakan alat sequencing metoda Sanger (*Applied Biosystems*®).

#### III. Pasca-analitik (Interpretasi Hasil)



- a) Contiq (penjajaran/penyelarasan sekuen basa-basa nukleotida) dengan menggunakan *Software Geneious* seri 8.1.9. dengan mengambil urutan gen PfrPB9 dari *nucleotide P.falciparum 3D7 chromosome 1* sepanjang 750 klon yang diperoleh dari *GeneBank Accession Number CP016991.1* sebagai sekuen referensi.

Penentuan mutasi, setelah proses *align* sekuen menggunakan *software MAFFT v7.017* <sup>(17)</sup>.

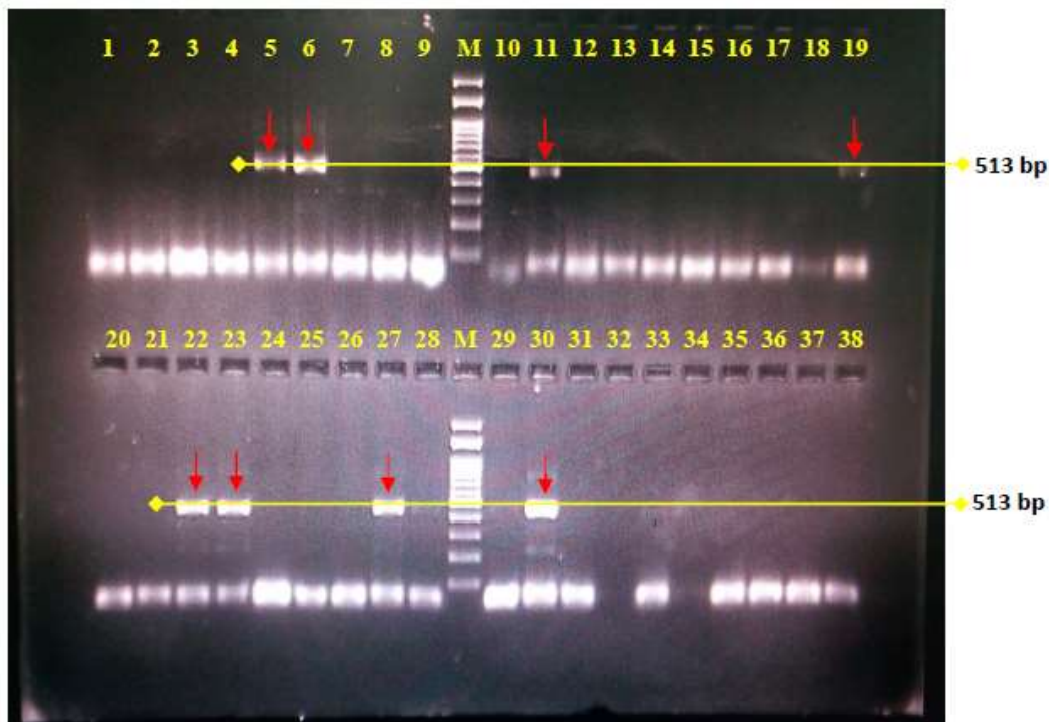
## RESULTS

### Hasil Mikroskopis

Dari jumlah 71 sampel penderita dengan diagnosis klinis malaria, ditemukan hasil (+) mikroskopis dengan infeksi tunggal *P.falciparum* sebanyak 45 sampel dan infeksi campuran *P.falciparum* + *P.vivax* sebanyak 26 sampel. Sehingga sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, maka sampel yang dilakukan isolasi DNA hanya yang positif infeksi tunggal *P.falciparum* yang berjumlah 45 sampel.

### Amplifikasi Gen PfrPB9

Amplifikasi gen *PfrPB* (PF3D7\_0110400) dari 45 isolat DNA pasien malaria *falciparum* menggunakan sepasang primer spesifik (Macrogen) yakni primer pfrPB9-F: 5' - TTG AGC TTC TTT TTC CCA ATA ATG GC - 3' dan primer pfrPB9-R: 5' - TGA TAT ATG TTT GTA GGA GCT GTG AG -3' menghasilkan pita DNA berukuran ± 513 bp. Ukuran gen tersebut mencocoki pasangan primer seperti yang dilaporkan oleh Ariej dkk <sup>(12)</sup> dan Genbank bahwa ukuran gen PfrPB9 (PF3D7\_0110400) sebesar 498 bp. Fragmen gen ini terdeteksi di dalam 23 isolat, yaitu isolat nomor 5, 6, 11, 19, 22, 23, 27, 30, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 51, 52, 57, 58, 61, 64, 66 dan 68.



**Gambar 1.** Visualisasi hasil PCR fragmen gen RPB9 pada sumur sampel nomor 5, 6, 11, 19, 22, 23, 27 dan 30 yang terdeteksi pada pita DNA di kisaran 513 bp. Anak panah merah menunjukkan pita gen pada *basepairs* yang dimaksud.



**Gambar 2.** Visualisasi hasil PCR fragmen gen RPB9 pada sumur sampel nomor 39, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 51, 52, 57, 58, 61, 64, 66 dan 68 yang terdeteksi pada pita DNA di kisaran 513 bp. Anak panah merah menunjukkan pita gen pada *basepairs* yang dimaksud.

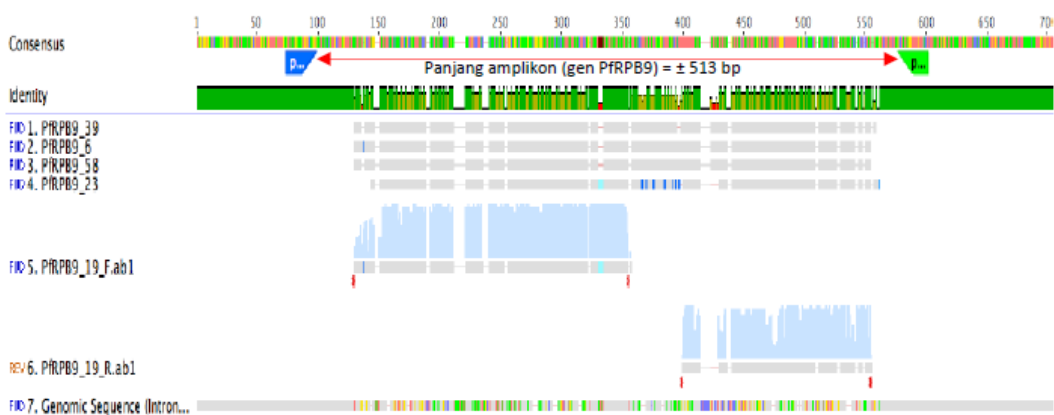
### Elektroforegram Hasil Sekuensing

Amplikon kita kirim ke 1stBASE Singapura untuk dilakukan *sequencing*. Hasil *sequencing* yang sampai ke kita masih berupa elektroforegram. Oleh sebab itu kita *contiq* menggunakan *software Geneious* seri 8.1.9. dengan sekuen referensi (*Genome Reference*) dengan *accession number CP016991.1* Selanjutnya kita *align* dengan menggunakan *software MAFFT v7.017* untuk menentukan pola mutasinya.

### Sekuensing Gen PfrPB9

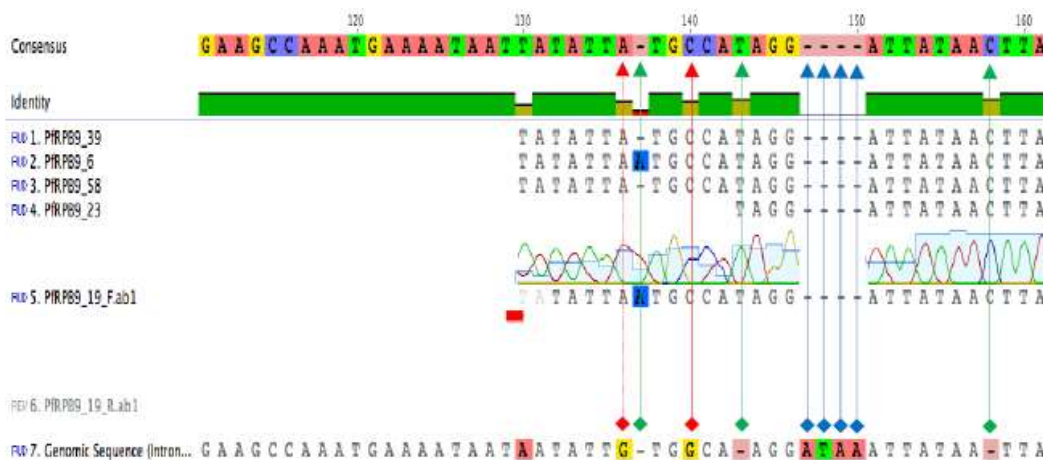
Análisis mutasi gen PfrPB9 dari 5 amplikon (sampel no 6, 19, 23, 39 dan 58) adalah sebagai berikut :

- 1) Kelima sampel di-*sequence* dalam keadaan kurang baik, namun demikian ke-5 isolat sampel masih terdeteksi sebagai isolat *Plasmodium falciparum*.
- 2) Semua sampel termasuk dalam *range* amplifikasi primer, dengan panjang PCR produk 513 bp (Gambar 3).



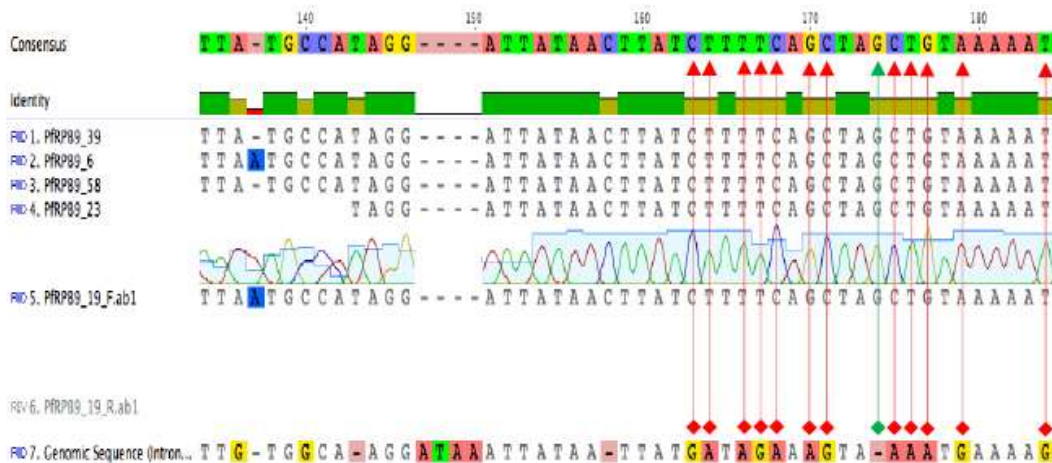
**Gambar 3.** Range amplifikasi primer dengan panjang PCR  $\pm$  513 bp.

- 3) Ke-5 isolat dirapikan dan diproses menggunakan *software Bioinformatic Geneious* seri 8.1.9. Ke-5 isolat diketahui mengalami mutasi substitusi, delesi dan addisi, kesimpulan ditarik setelah di-align dengan tool software MAFFT v7.017<sup>(17)</sup>.
- 4) Referensi rantai *nucleotide P.falciparum 3D7 chromosome 1* sepanjang 750 bp yang dipakai, berkode pada *GeneBank Accession Number CP016991.1*.
- 5) Pada Gambar 4 di bawah terdapat mutasi :
  - a) Substitusi (  $\blacklozenge \rightarrow \blacklozenge$  )
    - Nukleotida G  $\rightarrow$  A (No.19, 58, 6, 39) di titik 136 (disebut G136A).
    - G  $\rightarrow$  C (sampel no.19, 58, 6, 39) di titik 140 (G140C).
  - b) Addisi (  $\blacklozenge \rightarrow \blacklozenge$  )
    - A (sampel no.19 & 6) di titik 137 (disebut 137A).
    - T (**semua sampel**) di titik 143 (disebut 143A).
    - C (**semua sampel**) di titik 158 (disebut 58A).
  - c) Delesi (  $\blacklozenge \rightarrow \blacklozenge$  ) TAA (**semua sampel**) di titik 147, 148, 149 dan 150 (disebut A147, T148, A149 dan A150).



Gambar 4. Mutasi substitusi, addisi dan delesi pada titik 136, 137, 140, 143, 146-150 dan 158.

- 6) Pada Gambar 5 di bawah terdapat mutasi :
  - a) **Substitusi** (  $\blacklozenge \rightarrow \blacklozenge$  ) di semua sampel :
    - Basa nukleotida G  $\rightarrow$  C di titik 163 (G163C).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  T di titik 164 (A164T).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  T di titik 166 (A166T).
    - Basa nukleotida G  $\rightarrow$  T di titik 167 (G167T).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  C di titik **168** (A167C).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  G di titik 170 (A170G).
    - Basa nukleotida G  $\rightarrow$  C di titik 171 (G171C).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  C di titik 175 (A175C).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  T di titik 176 (A176T).
    - Basa nukleotida A  $\rightarrow$  G di titik 177 (A177G).
    - Basa nukleotida G  $\rightarrow$  A di titik 179 (G179A).
    - Basa nukleotida G  $\rightarrow$  T di titik 184 (G184T).
  - b) **Addisi** (  $\blacklozenge \rightarrow \blacklozenge$  ) Pada nukleotida G (semua sampel) di titik 174 (174G).




Gambar 5. Mutasi substitusi dan addisi di titik 163, 164, 166-168, 170, 171, 174-177, 179 & 184


7) Pada Gambar 6 terdapat mutasi :

a) **Substitusi** (  ) di semua sampel :

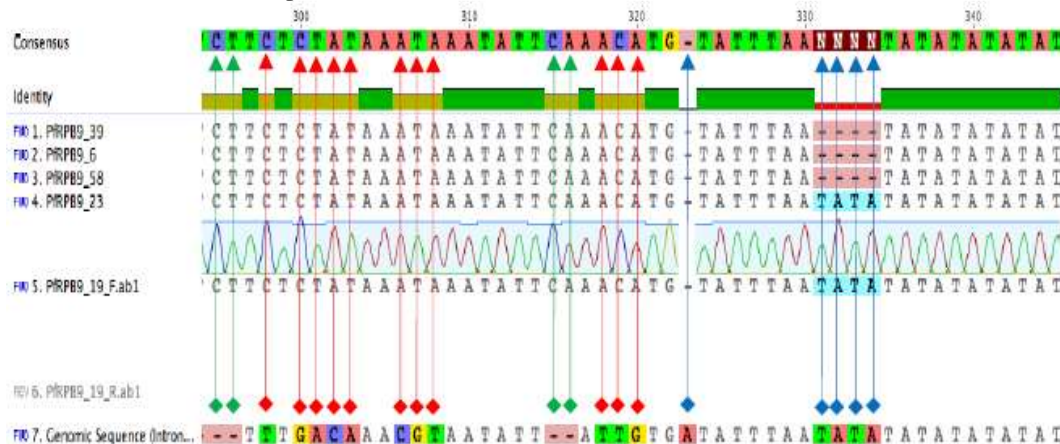
- Basa nukleotida T → C di titik 298 (T298C).
- Basa nukleotida G → C di titik 300 (G300C).
- Basa nukleotida A → T di titik 301 (A301T).
- Basa nukleotida C → A di titik 301 (C302A).
- Basa nukleotida A → T di titik 303 (A303T).
- Basa nukleotida C → A di titik 306 (C306A).
- Basa nukleotida G → T di titik 307 (G307T).
- Basa nukleotida T → A di titik 308 (T308A).
- Basa nukleotida T → A di titik 318 (T318A).
- Basa nukleotida T → C di titik 319 (T319C).
- Basa nukleotida G → A di titik 320 (G320A).

b) **Addisi** (  ) di semua sampel :

- Basa nukleotida C di titik 295 (295C).
- Basa nukleotida T di titik 296 (296T).
- Basa nukleotida C di titik 315 (315C).
- Basa nukleotida A di titik 316 (316C).

c) **Delesi** (  ) :

- A (**semua sampel**) di titik 323 (A323).
- TATA (sampel no.58, 6, 39) di titik 331-334 (T331, A332, T333 dan A334).



Gambar 6. Mutasi substitusi, addisi dan delesi di titik 295, 296, 298, 300-303, 306-308, 315, 316, 318-320, 323, 331-334.

## DISCUSSION

Perubahan, pergeseran, perpindahan maupun penghilangan basa-basa nukleotida dari urutan fragmen gen PFRPB9 di dalam parasit malaria dinamakan mutasi. Baik mutasi substitusi, delesi maupun

addisi dapat menyebabkan perubahan susunan asam amino sehingga terjadi perubahan struktur protein / enzim dari parasit malaria itu sendiri. Hal ini akan mengakibatkan perubahan fungsi biologis enzim. Enzim PfrPB9 yang tadinya berfungsi untuk menjamin ketepatan transkripsi in vivo, akibat adanya mutasi delesi maka akan membuat kesalahan transkripsi<sup>(12,18)</sup>. Kesalahan ini akan menyebabkan diekspresikannya gen-gen penyandi antioksidan untuk melepaskan antioksidan lebih banyak guna menetralkan (melalui mekanisme donor proton-elektron) radikal bebas yang dilepaskan oleh senyawa artemisinin.

Mutasi yang terjadi pada gen PfrPB9 di dalam 5 (lima) isolat terpilih ternyata mirip dengan laporan penelitian dari :

- 1) Arie *et al.*, (2014), melaporkan sedikitnya ditemukan 2 (dua) mutasi titik pada kodon M476I gen Pfk13 (PF3D7\_1343700) dan kodon D56V gen PfrPB9 (PF3D7\_0110400) sudah dapat menyatakan telah terjadi resistensi terhadap artemisinin. Dalam hal ini mutasi titik (mutasi substitusi) yang kita temukan pada fragmen gen RPB9 ada di titik 168 atau kodon 56. Pada titik 168 terjadi mutasi substitusi dari A (adenin) ke C (sitosin).
- 2) Nesser dkk<sup>(18)</sup> dan Arie dkk<sup>(12)</sup> melaporkan bahwa adanya mutasi delesi di dalam domain gen RPB9 (tetapi tidak secara spesifik menyebutkan delesi di titik atau kodon mana) akan menyebabkan kesalahan transkripsi pada enzim RPB9. Mutasi delesi pada penelitian kami ini, terjadi pada semua sampel yakni delesi ATAA (di titik 147, 148, 149, 150); delesi A (di titik 323); delesi TATA (sampel no.58, 6, 39) di titik 331 – 334.
- 3) Penelitian kami menemukan mutasi titik baru pada gen RPB9 pada isolat terpilih yang disekuensing.

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang mutasi gen Pfk13 dan penelitian lanjutan mutasi gen PfrPB9 yang sekarang, maka kami menyimpulkan telah terjadi resistensi *P.falciparum* terhadap artemisinin dan derivatnya pada isolat asal Lampung dikarenakan :

- 1) Terdapat mutasi substitusi, delesi dan addisi pada sekuens basa nukleotida dari fragmen gen PfrPB9 di hampir semua isolat sampel. Mutasi-mutasi ini akan menyebabkan perubahan susunan asam amino. Akibatnya terjadi perubahan struktur dan fungsi biologis dari enzim RPB9.
- 2) Sampel yang menunjukkan adanya mutasi ternyata sebagian besar berasal dari pasien ulangan / pernah berobat dan mendapat terapi OAM yang sama, yaitu *Dihydroartemisinin-Piperaquine* (DHP).
- 3) Gen PfrPB9 yang bermutasi akan mewariskan alel mutan kepada keturunan/generasi berikutnya di dalam tubuh nyamuk sehingga kelak akan kebal/resisten terhadap OAM yang sama.

Mekanisme terjadinya mutasi gen PfrPB9 yang diusulkan adalah sebagai berikut : paparan artemisinin pertama kali pada *P.falciparum* menyebabkan stres oksidatif dari parasit *Plasmodium* dan menjadi sinyal untuk memunculkan respon berulang sehingga meningkatkan adaptasi *P.falciparum* (dengan melakukan mutasi gen). Tidak peduli mutasi gen itu terjadi di kodon mana atau titik mana, yang jelas akibat mutasi itu, *P.falciparum* akan menangkal dan meredam dampak radikal bebas di dalam tubuh parasit, dengan cara parasit *P.falciparum* mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas sehingga aktivitas artemisinin pada paparan selanjutnya dapat dihambat. Jadi sejatinya mutasi gen merupakan proses adaptasi dari setiap makhluk hidup terhadap stresor lingkungan supaya makhluk hidup tersebut mampu "survive".

## CONCLUSION

Dari hasil penelitian lanjutan ini disimpulkan bahwa :

- a) Sebanyak 23 sampel (n=45) mempunyai gen PfrPB9 sebagai biomarker resistensi artemisinin, yaitu isolat nomor 5, 6, 11, 19, 22, 23, 27, 30, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 51, 52, 57, 58, 61, 64, 66 dan 68.
- b) Isolat *P.falciparum* asal Lampung telah resisten terhadap artemisinin karena telah ditemukan mutasi titik baik substitusi, delesi maupun addisi yang dapat menyebabkan perubahan susunan kodon asam amino di dalam domain gen PfrPB9.

## REFERENCES

Widyawati. Trend kasus malaria menurun. [SehatNegeriku].[23 April 2021]. Available from : <https://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/berita-utama/20210423/3337549/tren-kasus-malaria-menurun/>

Tarmizi SN. Waspada Lampung masih endemis malaria. [BINN].[13 Februari 2021]. Available from : <https://www.beritaindonesianet.com/2021/02/13/waspada-lampung-masih-endemis-malaria/>

Meshnick SR., Taylor TE., Kamchonwongpaisan. Artemisin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemototherapy. *Microbiol Rev.* 1996 Jun; 60(2): 301–315.

Schmuck G., Roehrdanz E., Haynes RK., Kahl, R. Neurotoxic Mode of Action of Artemisinin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 Mar; 46(3): 821–827.



Ferreira JFS., Janick J. Distribution of artemisinin in *Artemisia annua*. In : J.Janick (ed), Progress in new crops. Arlington VA: ASHS Press. 1996 : 579-84.

Warhurst DC. A molecular marker for chloroquine resistant *falciparum* malaria. *N Engl J Med*. 2001; 344(4) : 299-302.

Petersen I., Eastman R., Lanzer M. Drug-resistant malaria : Molecular mechanism and implications for public health. *FEBS Letters*. 2011; 585:1551-62.

Saliba KJ., Folb PI., Smith PJ.. Role for the *Plasmodium falciparum* Digestivevacuole in Klorokuin Resistance. *Biochem Pharmacol*. 1998; 56 : 313-20.

Bloland PB. Drugs resistance in malaria. WHO, Switzerland. 2001.

Afonso A, Hunt P, Cheesman S, Alves AC, Cunha CV.. Malaria parasites can develop stable resistance to artemisinin but lack mutations in candidate genes *atp6* (encoding the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase), *tctp*, *mdr1* and *cg10*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(2):480-9.

Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. 2014 Jan; 505 (7481):50–5.

Ashley EA., Dhorda M., Fairhurst RM., Amaratunga C., Lim P., Suon S., et al. Spread of Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. *N Engl J Med*. 2014 July 31; 371(5) : 411–23.

Li Y. Qinghaosu (Artemisinin)-A Fantastic Antimalarial Drug from a Traditional Chinese Medicine. *Wiley-interscience*. 2006 Mar; 183-256.

Rachmad B. Isolasi dan identifikasi mutasi gen *PfK13* (PF3D7\_134700) sebagai penanda resistensi artemisinin pada isolat *P.falciparum* asal Lampung. Tesis. Universitas Sriwijaya. Palembang. 2017.

Notoatmodjo S. Metode penelitian kesehatan. PT Rineka Cipta, Bandung. 2010.

Promega Inc, 2016. Wizard® Genomic DNA Purification Kit : Instruction for Use of Product. Madison USA: Promega Corp. 2016 : 1 – 17.

Katoh, Misawa, Kuma, Miyata. Tool software MAFFT v7.017 for align. *Nucleic Acids Res*. 2002; 30:3059-66.

Nesser NK., Peterson DO., Hawley DK. RNA polymerase II subunit RPB9 is important for transcriptional fidelity in vivo. *Proc Natl Acad, USA*. 2006.103 : 3268 – 73.

# Efektivitas Larutan Ekstrak Belimbing Wuluh Dengan Variasi Konsentrasi Sebagai Alternatif Pengganti Larutan Asam Asetat 6% Dalam Pemeriksaan Protein Urine Pada Pasien Proteinuria Di Rumah Sakit Sekar Kamulyan Cigugur

Oktaviani Heny Handayani

Ahli Teknologi Laboratorium Medik Rumah Sakit Sekar Kamulyan Cigugur; oktavianiheny1@gmail.com

## ABSTRACT

The abstract is a self-explanatory summary of the research and it should be written in one paragraph, without sub-headings. A good abstract should contain a clear statement of research purpose, methods (materials), results, discussion, conclusion, recommendation, and keywords. It should be prepared in 200 words, Times New Roman 10 regular, single line spacing, one paragraph: justified alignment, and two to six keywords.

**Keywords:** first key;second key;third key, etc.

## INTRODUCTION

Kesehatan merupakan hak asasi setiap manusia dan salah satu unsur yang harus diwujudkan sesuai dengan cita-cita bangsa Indonesia sebagaimana yang tertera dalam Pancasila dan pembukaan Undang-undang Dasar Negara Indonesia Tahun 1945. Oleh karena itu, setiap upaya dan kegiatan yang bertujuan untuk meningkatkan derajat kesehatan yang setinggi-tingginya direncanakan dengan sebaik-baiknya dan berprinsip melindungi kesehatan bagi segenap lapisan bangsa.<sup>1</sup>

Dalam Peraturan Menteri Kesehatan yang dimaksud dengan Laboratorium Klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk mendapatkan informasi tentang kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, penyembuhan penyakit, dan pemulihan kesehatan.<sup>2</sup>

Salah satu pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium klinik yaitu pemeriksaan protein urine. Pemeriksaan protein urine merupakan pemeriksaan skrining untuk mengetahui fungsi ginjal.<sup>3</sup> Dibeberapa laboratorium kesehatan di dunia, pemeriksaan protein urine dengan metode pemanasan umumnya menggunakan reagen asam asetat, asam sulfosalisilat, asam trichlorasetat dan asam nitrat pekat.<sup>4</sup>

Di Indonesia reagen pemeriksaan protein urine dengan metode pemanasan yang umum digunakan yaitu asam sulfosalisilat 20% dan asam asetat 6%. Metode asam asetat 6% cukup peka karena dapat menyatakan protein sebanyak 0,004%, sedangkan asam sulfosalisilat 20% tidak bersifat spesifik meskipun sangat peka, dapat menyatakan protein sebanyak 0,002% .<sup>3</sup>

Prinsip pemeriksaan protein urine metode asam asetat 6% yaitu protein dalam urine didenaturasi dengan pemanasan dan penambahan asam, derajat kekeruhan berbanding lurus dengan konsentrasi protein dalam urine.<sup>5</sup>

Adanya proteinuria dalam analisis rutin tidak selalu menandakan penyakit ginjal, namun keberadaannya mengharuskan pemeriksaan tambahan untuk menentukan apakah protein tersebut mewakili kondisi normal atau patologis. Proteinuria klinis terjadi jika protein di dalam urine 30 mg/dL atau lebih (300 mg/dL). Penyebab proteinuria beragam dan dapat dikelompokkan ke dalam tiga kategori utama, yaitu prerenal, renal dan pascarenal berdasarkan asal protein.<sup>6</sup>

Tanaman belimbing wuluh di Indonesia dikenal sebagai pohon buah yang tumbuh liar pada tempat yang tidak dinaungi dan cukup lembab. Buah belimbing wuluh banyak mengandung air, bergerombol dan rasanya asam segar. Karena keasaman dari buah belimbing wuluh ini maka kehadirannya seakan terabaikan, belimbing wuluh juga terhitung jarang ditanam apalagi sampai dikebunkan seperti belimbing manis.<sup>7</sup>

Buah belimbing wuluh mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Penelitian Monica Agustina (2013) menyatakan bahwa ekstrak belimbing wuluh mengandung beberapa macam asam organik, salah satu kandungan terbesar nya adalah asam sitrat yaitu kandungannya sebesar 92,6 – 133,8 meq / 100 g total padatan.<sup>8</sup>

Sesuai latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas larutan ekstrak belimbing wuluh menjadi alternatif pengganti larutan asam asetat 6% dalam pemeriksaan protein urine dan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi larutan ekstrak belimbing wuluh pada pemeriksaan protein urine.

## METHODS

### Pengumpulan Sampel Uji

Jenis penelitian ini bersifat eksperimen, tujuannya adalah untuk mengetahui suatu gejala dan pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu, dimana pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah ekstrak belimbing wuluh berwarna hijau yang didapat dari pohon yang tumbuh di halaman Rumah Sakit Sekar Kamulyan Cigugur dan digunakan sebagai reagen alternatif pengganti asam asetat 6% untuk pemeriksaan protein urine yang diuji menggunakan metode analisis semikuantitatif dengan menggunakan angka skala untuk tiap kategori kualitatif pada 20 pasien proteinuria di Rumah Sakit Sekar Kamulyan Cigugur.

### Pembuatan Larutan Ekstrak Belimbing Wuluh

Sebanyak 25 gram belimbing wuluh dihancurkan hingga halus, lalu dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan filtrat dan residunya dan kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak murni belimbing wuluh dan selanjutnya dibuat larutan ekstrak belimbing wuluh dengan variasi konsentrasi 2%, 6%, dan 10%.

### Pengukuran pH

Asam asetat 6%, dan larutan ekstrak belimbing wuluh berbagai konsentrasi ditampung dalam gelas kimia kemudian diukur pH larutannya menggunakan kertas pH yang memiliki kemampuan deteksi pH 0-14

### Pemeriksaan Protein Urine Metode Semikuantitatif

Urine yang telah ditampung dimasukkan ke dalam 4 tabung reaksi sebanyak 2 mL, kemudian dipanaskan di atas nyala lampu spiritus selama 30 detik. Adanya kekeruhan yang terjadi di lapisan atas setelah dipanaskan kemungkinan diakibatkan oleh protein, kalsium fosfat atau kalsium karbonat.

Setelah dipanaskan, tabung reaksi pertama ditambahkan 2 tetes tetes asam asetat 2%, tabung reaksi kedua ditambahkan 2 tetes larutan ekstrak belimbing wuluh 2%, tabung ketiga ditambahkan 2 tetes larutan ekstrak belimbing wuluh 6%, dan tabung keempat ditambahkan 2 tetes larutan ekstrak belimbing wuluh 10%.

### Interpretasi Hasil

- : Tidak ada kekeruhan
  - +
  - ++
  - +++
  - ++++
- : Ada kekeruhan tetapi tidak nampak berbutir-butir  
: Ada kekeruhan dan tampak berbutir – butir  
: Amat keruh dengan kumpalan berkeping-keping  
: Kekeruhan tebal dan bergumpal-gumpal

## RESULTS & DISCUSSION

Adanya proteinuria dalam analisis rutin tidak selalu menandakan penyakit ginjal, namun keberadaannya mengharuskan pemeriksaan tambahan untuk menentukan apakah protein tersebut mewakili kondisi normal atau patologis. Proteinuria klinis terjadi jika protein di dalam urine 30 mg/dL atau lebih (300 mg/dL). Penyebab proteinuria beragam dan dapat dikelompokkan ke dalam tiga kategori utama, yaitu prerenal, renal dan pascarenal berdasarkan asal protein.<sup>6</sup>

Arianda (2017) menjelaskan bahwa prinsip pemeriksaan protein urine metode asam asetat 6% yaitu protein dalam urine didenaturasi dengan pemanasan dan penambahan asam, derajat kekeruhan berbanding lurus dengan konsentrasi protein dalam urine.<sup>5</sup>

Dikarenakan pemeriksaan protein urine membutuhkan asam dalam reaksinya yaitu digunakan asam asetat 6%, maka pada penelitian ini digunakan pereaksi lain sebagai alternatif yaitu larutan ekstrak belimbing wuluh yang memiliki kandungan beberapa asam organik dimana salah satu kandungan terbanyak nya adalah asam sitrat sebesar 92,6-133,8 meq asam/100g total padatan.<sup>9</sup>

Pembuatan larutan ekstrak belimbing wuluh dilakukan dengan cara ditumbuk bukan dihaluskan dengan cara diblender, karena jika melalui proses penghancuran dengan blender perlu ditambahkan air agar pada proses blender lebih mudah, sedangkan untuk penelitian ini diperlukan larutan ekstrak belimbing wuluh murni tanpa campuran air ataupun aquadest.

Pengukuran pH dilakukan untuk melihat perbandingan tingkat keasaman antara larutan asam asetat 6% sebagai kontrol dan larutan ekstrak belimbing wuluh berbagai konsentrasi. Hasil pengukuran pH dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. pH berbagai jenis larutan uji**

| Jenis Larutan  | pH  |
|----------------|-----|
| Asam asetat 6% | 2,0 |



|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| Ekstrak belimbing wuluh murni | 1,0 |
| Ekstrak belimbing wuluh 2%    | 3,0 |
| Ekstrak belimbing wuluh 6%    | 2,0 |
| Ekstrak belimbing wuluh 10%   | 2,0 |

Setelah dilakukan pengujian pH larutan uji, maka dilakukan uji pendahuluan dengan membandingkan hasil protein urine menggunakan asam asetat 6% dan ekstrak murni belimbing wuluh, dengan didapatkan hasil sebagai berikut :

**Tabel 2. Hasil Uji Pendahuluan**

| Kode Sampel | Asam asetat 6% | Ekstrak belimbing wuluh murni |
|-------------|----------------|-------------------------------|
| 1           | Negatif        | Negatif                       |
| 2           | Positif 2      | Positif 2                     |

Uji pendahuluan dilakukan dengan menambahkan ekstrak murni belimbing wuluh sebagai reagen pengganti asam asetat 6% pada pemeriksaan protein urine. Uji pendahuluan dilakukan pada sampel urin yang positif mengandung protein dan negatif mengandung protein karena dikhawatirkan kekeruhan yang ditimbulkan setelah penambahan ekstrak adalah positif palsu akibat penambahan zat yang dianggap kontaminan dan menimbulkan kekeruhan yang akan dibaca sebagai hasil positif.

Setelah dilakukan uji pendahuluan lalu dilakukan pengamatan lebih lanjut dengan larutan ekstrak belimbing wuluh dengan konsentrasi 2%, 6%, 10% dan asam asetat 6% sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan pada keempat tabung reaksi, jika kekeruhan disebabkan oleh kalsium fosfat maka kekeruhan akan hilang dan jika kekeruhan disebabkan oleh kalsium karbonat maka kekeruhan akan tetap hilang tapi dengan pembentukan gas. Kekeruhan yang tetap ada atau menjadi lebih keruh lagi, menandakan bahwa tes terhadap protein dinyatakan positif.

Dengan mengetahui bahwa hasil pemeriksaan protein urine menggunakan asam asetat 6% dan larutan ekstrak belimbing wuluh murni tidak terdapat perbedaan, maka dilakukan pemeriksaan protein urine menggunakan larutan ekstrak belimbing wuluh dengan berbagai variasi konsentrasi untuk melihat pengaruh yang ditimbulkan dari perbedaan konsentrasi larutan tersebut dan melihat efektivitasnya. Dibuatnya variasi konsentrasi pada larutan belimbing wuluh adalah untuk melihat efektivitas larutan ini meski pada konsentrasi yang tidak terlalu pekat. Setelah dibandingkan pada konsentrasi yang sama dengan asam asetat yaitu pada konsentrasi 6% dan hasilnya adalah sama, maka dibuat konsentrasi yang lebih kecil dari 6%, yaitu pada konsentrasi 2% untuk melihat apakah hasil yang didapatkan juga mengurangi tingkat kekeruhannya, dan dibuat dalam konsentrasi 10% untuk melihat apakah hasil yang didapatkan menambah tingkat kekeruhannya, namun tidak ada perbedaan yang signifikan dari ketiga variasi konsentrasi larutan yang dilakukan.

Pengujian dilakukan pada 20 sampel urine positif protein yang diambil di Laboratorium Rumah sakit Sekar Kamulyan Cigugur dengan teknik insidental sampling, yaitu teknik penentuan sampel berdasarkan kebetulan, yaitu siapa saja pasien yang secara kebetulan bertemu dengan peneliti dapat digunakan sebagai sampel, bila dipandang orang yang kebetulan ditemui itu cocok sebagai sumber data.<sup>10</sup> Sampel urine pada penelitian didapat dari bermacam-macam pasien seperti pasien gagal ginjal, ibu hamil, dan infeksi saluran kemih. Data primer yang diperoleh dari penelitian kemudian dianalisis dengan analisis deskriptif. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Menggunakan Larutan Asam Asetat 6% dan Larutan Ekstrak Belimbing Wuluh Berbagai Konsentrasi**

| Kode sampel | Hasil Pemeriksaan Protein Urine |  |    |     | Interpretasi |
|-------------|---------------------------------|--|----|-----|--------------|
|             |                                 | Larutan Ekstrak Belimbing Wuluh Berbagai Konsentrasi |    |     |              |
|             | Kontrol                         | 2%   | 6% | 10% |              |
|             |                                 |  |    |     |              |

|    | (Asam<br>asetat 6%) |    |    |    |         |
|----|---------------------|----|----|----|---------|
| 1  | 3+                  | 3+ | 3+ | 3+ | Efektif |
| 2  | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 3  | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 4  | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 5  | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 6  | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 7  | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 8  | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 9  | 3+                  | 3+ | 3+ | 3+ | Efektif |
| 10 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 11 | 3+                  | 3+ | 3+ | 3+ | Efektif |
| 12 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 13 | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 14 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 15 | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 16 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 17 | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |
| 18 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 19 | 1+                  | 1+ | 1+ | 1+ | Efektif |
| 20 | 2+                  | 2+ | 2+ | 2+ | Efektif |

Dari hasil pemeriksaan protein urine menggunakan asam asetat 6% (kontrol) dan larutan ekstrak belimbing wuluh dengan konsentrasi 2%, 6%, dan 10% terhadap 20 sampel positif urine yang disajikan pada tabel 3 menunjukkan hasil yang sama.



**Gambar 1. Hasil pemeriksaan protein urine dengan 3 variasi konsentrasi larutan ekstrak belimbing wuluh**

Kesamaan hasil disebabkan karena pH dari larutan ini tidak berbeda jauh yaitu pada pH 2 dan pH 3, dimana pH sangat berpengaruh pada proses denaturasi dan pembentukan presipitasi protein dalam urine tanpa memperhatikan besar konsentrasi dari larutan.

Dengan hasil yang didapat tersebut maka larutan ekstrak belimbing wuluh dapat digunakan sebagai alternatif reagen pemeriksaan protein urine. Selain karena bahannya lebih mudah didapat, dari segi nilai ekonomis juga lebih tinggi dibandingkan larutan asam asetat 6%.

### CONCLUSION

Larutan ekstrak belimbing wuluh efektif digunakan sebagai alternatif pengganti larutan asam asetat 6% dalam pemeriksaan protein urine secara semikuantitatif, sedangkan variasi konsentrasi larutan ekstrak belimbing wuluh sendiri tidak berpengaruh pada hasil, namun yang sangat berpengaruh pada hasil adalah nilai pH dari larutan.

### REFERENCES

- Dewan Perwakilan Rakyat. Undang-Undang Dasar 1945 Pasal 28 H ayat 1 tentang Pemeliharaan Kesehatan. Jakarta: Dewan Perwakilan Rakyat, 2002 [dirujuk pada 1 Juli 2021]. Tersedia pada: <https://www.dpr.go.id/jdih/uu1945>
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 43 tahun 2013 tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik. Jakarta: Kementerian Kesehatan, 2013
- Gandasoebrata, R. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat, 1985.
- Bawazier, L.A. Proteinuria dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam FKUI. edisi ke-4 jilid 1. Jakarta: Pusat Penerbit Departemen Ilmu Penyakit Dalam, 2006
- Arianda, Dedy. Buku Saku Analisis Kesehatan. Bekasi: Analisis Muslim Publishing, 2017
- Strangsinger S.K, M.S. Lorenzo. Urinalisis dan Cairan Tubuh. Jakarta: EGC, 2017
- Dewi Nugrahawati, Yen Nur Rahayu, Ahna Wahyu S, Pemanfaatan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Cairan Secara Alami dan Ramah Lingkungan (Surakarta : Universitas Sebelas Maret, 2009 ), h. 3
- Poniman. Potensi Kerja Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Diuretik Alami Melalui Pendekatan Aktivitas Diuretik, pH, Kadar Natrium, dan Kalium. (Bogor : Institut Pertanian Bogor, 2011), h.18
- Agustina Amaliawati, Monica. Kandungan Makro-Mikro dan Total Karotenoid Telur Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.) dari Kolam Budidaya FPIK IPB: Institut Pertanian Bogor, 2013.
- Sugiyono. Metode Penelitian Kuantitatif. Bandung: Alfabeta, 2018 (2018:138)

# Korelasi Konsentrasi D-Dimer Dengan Parameter Laboratorium Kebocoran Plasma Pada Pasien Terkonfirmasi Covid-19 Di Rsud Dr. R. Koesma Tuban

Uswatun Hasanah

Laboratorium Biomolekuler Patologi Klinik RSUD Dokter R. Koesma Tuban; uswatun.ankes15@gmail.com

## ABSTRACT

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) poses a serious threat to human health and life. The virus is still spreading around the world and the cumulative number of confirmed cases is likely to increase. Prognostic hypercoagulability in COVID-19 patients can be seen in the concentration of D-Dimer. This study examines the correlation of D-Dimer concentration with plasma leakage parameters in confirmed COVID-19 patients at RSUD dr. R. Koesma Tuban. This study used a descriptive experimental method with a cross-sectional design. The study population was patients with confirmed COVID-19 without comorbidities aged 55 years with a total of 20 samples.

Fifty-two percent of patients were male and 50% of patients were female. Spearman-rho correlation test between D-Dimer and PCV obtained  $0.027 > (0.05)$ . There was a strong correlation between D-Dimer concentration and platelet count ( $r = 0.669; = 0.021$ ). There was a moderate inverse correlation between D-Dimer and albumin levels ( $r = -0.417; = 0.154$ ). While the correlation test between D-Dimer and SGOT obtained a weak correlation ( $r = 0.154; = 0.046$ ). The conclusion that can be drawn is that there is a significant correlation between D-Dimer concentrations and plasma leakage parameters in COVID-19 confirmed patients.

**Keywords:** COVID-19, D-Dimer, PCV, Platelet, Albumin, SGOT

## INTRODUCTION

Pandemi COVID-19 mempengaruhi lebih dari 120,77 juta di seluruh dunia, dan mengakibatkan sekitar 2.672.099 kematian. Sebagian besar kematian pasien COVID-19 disebabkan oleh hiperkoagulabilitas<sup>1</sup>. Prognostik hiperkoagulabilitas pada pasien COVID-19 dapat dilihat pada konsentrasi D-Dimer. D-Dimer adalah produk degradasi fibrin, dan memiliki peran mekanistik dalam trombo-inflamasi pada COVID-19<sup>1</sup>. Pasien dengan konsentrasi D-Dimer  $>1000$  ng/mL berisiko kematian 20 kali lipat dibandingkan yang memiliki konsentrasi D-Dimer lebih rendah<sup>2</sup>. Kebocoran plasma merupakan petanda patologis akibat disfungsi endotel pembuluh darah. Parameter laboratorium yang dapat digunakan untuk mengetahui kebocoran plasma adalah konsentrasi PCV, hitung jumlah trombosit, albumin, dan SGOT<sup>3</sup>. Penelitian tentang hubungan sistem koagulasi dengan kebocoran plasma diperlukan untuk mengetahui mekanisme disfungsi endotel pada infeksi COVID-19.

Berdasarkan pemaparan diatas, maka penulis tertarik untuk meneliti Korelasi Konsentrasi D-Dimer dengan Parameter Kebocoran Plasma pada Pasien Terkonfirmasi COVID-19 di RSUD dr. R. Koesma Tuban.

## METHODS

Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif eksperimental dengan rancangan penelitian *cross-sectional*. Subyek penelitian ini yaitu pasien konfirmasi COVID-19 tanpa komorbid di RSUD Dokter R. Koesma Tuban yang telah memenuhi kriteria retriaksi. Sampel yang digunakan adalah swab nasofaring-orofaring sebanyak 20 sampel. Pengambilan sampel penelitian menggunakan teknik *purposive sampling* yang didasarkan pada pertimbangan tertentu yang telah memenuhi kriteria inklusi yang ditetapkan peneliti. Kriteria inklusi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah: pasien konfirmasi COVID-19 tanpa komorbid, pria dan wanita berusia  $\geq 55$  tahun, konfirmasi COVID-19 yang melakukan pemeriksaan parameter kebocoran plasma (PCV, trombosit, albumin, dan SGOT) dalam waktu yang sama, dan pasien konfirmasi COVID-19 yang sedang menjalani isolasi. Adapun kriteria eksklusi sampel penelitian meliputi: pasien berusia  $<55$  tahun, pasien dengan diagnosis konfirmasi COVID-19 dengan komorbid. Data primer berupa hasil pemeriksaan swab PCR COVID-19. Data sekunder (konsentrasi D-Dimer, PCV, trombosit, albumin, dan SGOT) berasal dari data rekam medis pasien pada bulan April-Juni 2021.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi alat ekstraksi RNA Veri-Q PREP M16/G2-16TU (Mico BioMed, Korea), alat amplifikasi *Real Time* PCR Veri-Q PCR 316/QD-P100 (Mico

BioMed, Korea), sentrifus, vortex, *heating block*, dan mikropipet 10 – 1000  $\mu$ l. Bahan yang dipakai meliputi tip mikropipet, labchip dan rubber, 8-strip tube 0,2 mL, tabung eppendorf 2 mL, etanol, isopropil alkohol, kit ekstraksi RNA yang terdiri dari: *tray*, *sample tube*, *elution tube*, *binding buffer* (NB), *elution buffer* (NE), *washing buffer* (NW1), *carrier molecule* (NCM), *proteinase K* (NPK), *proteinase K storage buffer* (PSB), kit amplifikasi *Real Time PCR* yang terdiri dari: *nuclease free water/negative control* (DW), *positive control* (PC), *primer/probe mixture* (PPM), *one-step RT-PCR master mix* (MM), dan *internal positive control* (IPC).

Pemeriksaan swab PCR meliputi 3 tahap utama, yaitu ekstraksi RNA, preparasi PPM *Mixture*, dan preparasi pembacaan pada alat amplifikasi RT-PCR.

#### 1. Ekstraksi RNA

Sampel swab nasofaring-orofaring divortex dengan kecepatan 3.000 rpm selama 3 detik, dipipet sebanyak 500  $\mu$ l ke tabung Eppendorf 2 mL. Ditambahkan 500  $\mu$ l binding buffer, 20  $\mu$ l NPK dan 10  $\mu$ l NCM, lalu vortex dengan kecepatan 3.000 rpm selama 3 detik. Sentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 5 detik, lalu panaskan dengan menggunakan *heating block* suhu 65°C selama 10 menit. Tambahkan 500  $\mu$ l isopropil alkohol, vortex dengan kecepatan 3.000 rpm selama 3 detik. Masukkan spesimen ke alat ekstraksi RNA Veri-Q.

#### 2. Preparasi PPM *Mixture*

Pipet sebanyak 51  $\mu$ l MM, 17  $\mu$ l PPM, dan 17  $\mu$ l IPC ke dalam tabung Eppendorf. sentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 2 detik.

#### 3. Preparasi Pembacaan pada alat RT-PCR

Pipet sebanyak 5  $\mu$ l PPM *mixture* pada 8-strip tube 0,2 mL, tambahkan kontrol dan sampel hasil ekstraksi RNA sebanyak 5  $\mu$ l. Tutup *tube cap* dengan rapat, lalu sentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 2 detik.

Pipet sebanyak 8,2  $\mu$ l *mixture* yang telah disiapkan. Sejajarkan ujung pipet secara vertikal, masukkan ke inlet labchip secara perlahan dengan urutan kontrol negatif, template (sampel asam nukleat murni), dan kontrol positif. Pastikan tidak ada gelembung udara. Letakkan labchip dan rubber pada *labchip case* lalu masukkan ke dalam alat amplifikasi RT-PCR (Gambar 1).



**Gambar 1.** Prosedur memasukkan labchip

D-

Data

digunakan adalah IBM SPSS *Statistic* 23.0.

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah konsentrasi Dimer, PCV, trombosit, albumin, dan SGOT pasien konfirmasi COVID-19. Data tersebut dianalisis secara bivariat. menggunakan uji korelasi *Spearman* dengan sebelumnya dilakukan uji normalitas data. disajikan dalam bentuk tekstular dan tabular. Program statistik yang

## RESULTS

Tabel 1 menunjukkan distribusi kriteria sampel. Usia pada responden laki-laki maupun perempuan  $\geq$  55 tahun. Seluruh responden merupakan pasien isolasi di RSUD dr. R. Koesma Tuban. Pada pasien laki-laki, sebanyak 25% memiliki usia pada rentang 55-64 tahun, 20% berusia 65-74 tahun, dan hanya 5% yang berusia 75-84 tahun. Pada pasien perempuan, sebanyak 35% memiliki kategori usia 55-64 tahun, 10% berusia 65-74 tahun, dan sebanyak 5% berusia 75-84 tahun. Tabel 2 menunjukkan distribusi sampel

berdasarkan hasil pemeriksaan parameter laboratorium. Variabel yang diteliti yaitu D-Dimer, PCV, trombosit, albumin, dan SGOT yang diperoleh dari data rekam medis pasien pada bulan April-Juni 2021.

Berdasarkan Tabel 2, konsentrasi D-Dimer terendah yaitu 0,38 ug/mL dan konsentrasi D-Dimer tertinggi sebesar 13,24 ug/mL. Rerata konsentrasi D-Dimer yaitu 3,23 ug/mL dengan standar deviasi 3,57. Konsentrasi *Packed-Cell Volume* (PCV) terendah yaitu 32,1% dan konsentrasi PCV tertinggi sebesar 49,4%. Rerata konsentrasi PCV yaitu 40,48% dengan standar deviasi 4,35. Pada parameter pemeriksaan hitung jumlah trombosit, diperoleh jumlah terendah sebesar 112.000 sel/uL dan jumlah tertinggi 498.000 sel/uL. Rerata hitung jumlah trombosit diperoleh 236.950 sel/uL dengan standar deviasi 105.726,79. Dari hasil pemeriksaan responden, diperoleh kadar terendah albumin sebesar 2,25 g/dL dan kadar tertingginya yaitu 4,21 g/dL. Rerata kadar albumin diperoleh 3,55 g/dL dengan standar deviasi 0,49. Sedangkan pada parameter pemeriksaan kadar *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) diperoleh kadar terendah 15 u/L dan kadar tertinggi 147 u/L. Rerata kadar SGOT sebesar 51,35 u/L, standar deviasi sebesar 34,63.

**Tabel 1.** Distribusi Kriteria Sampel

| Jenis Kelamin | Usia (th) | Komorbid  | %   |
|---------------|-----------|-----------|-----|
| Laki-laki     | 55–64     | Tidak ada | 25% |
|               | 65–74     | Tidak ada | 20% |
|               | 75–84     | Tidak ada | 5%  |
| Perempuan     | 55–64     | Tidak ada | 35% |
|               | 65–74     | Tidak ada | 10% |
|               | 75–84     | Tidak ada | 5%  |

$N = 20$

**Tabel 2.** Distribusi Sampel Berdasarkan Parameter Laboratorium

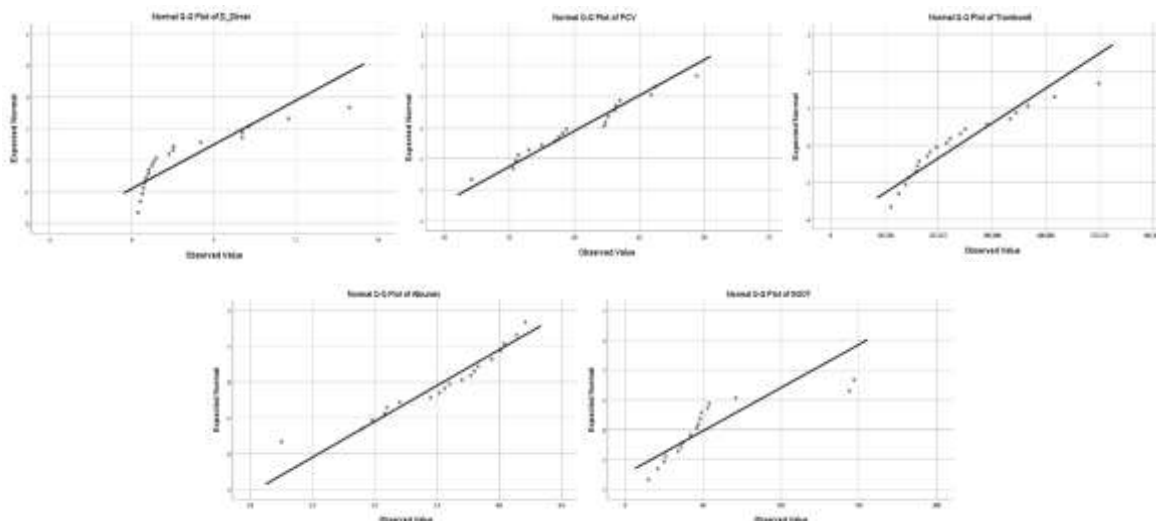
| Parameter Laboratorium | Min-Max         | Mean    | Std. Dev.  |
|------------------------|-----------------|---------|------------|
| D-Dimer (ug/mL)        | 0,38-13,24      | 3,23    | 3,57       |
| PCV (%)                | 32,1-49,4       | 40,48   | 4,35       |
| Trombosit (sel/uL)     | 112.000-498.000 | 236.950 | 105.726,79 |
| Albumin (g/dL)         | 2,25-4,21       | 3,55    | 0,49       |
| SGOT (u/L)             | 15-147          | 51,35   | 34,63      |

Gambar 2 menunjukkan distribusi data pemeriksaan D-Dimer, PCV, trombosit, albumin, dan SGOT. Uji normalitas data Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal ( $P < 0,05$ ) (Gambar 2). Korelasi statistik antara konsentrasi D-Dimer dengan PCV, trombosit, albumin, dan SGOT dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil uji korelasi *Spearman* antara D-Dimer dengan PCV menunjukkan hubungan kuat yang signifikan  $0,027 > \alpha(0,05)$ . Didapatkan korelasi kuat antara konsentrasi D-Dimer dengan hitung jumlah trombosit ( $r = 0,669$ ;  $P = 0,021$ ). Diperoleh korelasi terbalik sedang antara D-Dimer dengan kadar albumin ( $r = -0,417$ ;  $P = 0,154$ ). Sedangkan uji korelasi antara D-Dimer dengan SGOT diperoleh korelasi lemah ( $r = 0,154$ ;  $P = 0,046$ ).

**Tabel 3.** Korelasi Statistik

|                |                    | PCV    | Trombosit | Albumin | SGOT   |
|----------------|--------------------|--------|-----------|---------|--------|
| <b>D-Dimer</b> | Koefisien korelasi | 0,518* | 0,669*    | -0,417* | 0,154* |
|                | Sig. (2-tailed)    | 0,027  | 0,021     | 0,068   | 0,046  |
|                | N                  | 20     | 20        | 20      | 20     |

\*Signifikan pada  $P < 0,05$



Gambar 2. Grafik Q-Q Plot Normalitas Data

### DISCUSSION

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi konsentrasi D-Dimer dengan parameter laboratorium kebocoran plasma pada pasien terkonfirmasi COVID-19. Populasi penelitian ini adalah seluruh pasien penderita COVID-19 tanpa komorbid di RSUD dr. R. Koesma Tuban periode bulan April-Juni 2021. Jumlah pasien yang diperoleh sebanyak 62 pasien, namun hanya 20 pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Dua puluh pasien berusia  $\geq 55$  tahun dan 42 pasien lainnya memiliki diagnosis COVID-19 dengan komorbid.

Prognostik hiperkoagulabilitas pada pasien COVID-19 dapat dilihat pada konsentrasi D-Dimer. Peningkatan kadar D-Dimer menunjukkan terjadinya aktivasi dari sistem koagulasi dan fibrinolisis yang sedang berlangsung<sup>5</sup>. Pada pasien COVID-19, Sebagian besar mengalami peningkatan kadar D-Dimer 2-3 kali dari nilai normal. Hasil penelitian menunjukkan 70% pasien memiliki konsentrasi D-Dimer tinggi dan 30% lainnya memiliki konsentrasi D-Dimer normal. Delapan puluh lima persen pasien memiliki konsentrasi PCV tinggi, dan 15% lainnya memiliki konsentrasi PCV rendah. Sebanyak 12 pasien (60%) memiliki kadar albumin rendah dan 40% lainnya memiliki kadar albumin normal. Sedangkan pada pemeriksaan SGOT, 30% pasien yang memiliki kadar normal.

Sebanyak 20 sampel penelitian, baik laki-laki maupun perempuan sebanyak 50%. Tabel 1 menunjukkan bahwa sebagian besar penderita COVID-19 terjadi pada usia 55-64 tahun yaitu sebesar 25% pada laki-laki dan 35% pada perempuan. Pada kelompok usia 65-74 tahun sebesar 20% pada laki-laki dan 10% pada perempuan. Sedangkan pada kelompok usia 75-84 tahun, baik pada laki-laki maupun perempuan sebesar 5%.

Penelitian ini menggunakan empat parameter kebocoran plasma, yaitu *Packed-Cell Volume* (PCV), hitung jumlah trombosit, albumin, dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT). Hal ini berdasarkan pada penelitian sebelumnya bahwa parameter laboratorium yang memiliki korelasi kuat dengan kebocoran plasma adalah derajat hemokonsentrasi, jumlah trombosit, kadar albumin, dan kadar SGOT<sup>4</sup>. Berdasarkan Tabel 2, pada hasil pemeriksaan konsentrasi D-Dimer terendah yaitu 0,38 ug/mL dan konsentrasi D-Dimer tertinggi sebesar 13,24 ug/mL dengan nilai normal  $<1$  ug/mL. Rerata konsentrasi D-Dimer yaitu 3,23 ug/mL dengan standar deviasi 3,57. Konsentrasi *Packed-Cell Volume* (PCV) terendah yaitu 32,1% dan konsentrasi PCV tertinggi sebesar 49,4% dengan nilai normal 42-64%. Rerata konsentrasi PCV yaitu 40,48% dengan standar deviasi 4,35. Pada parameter pemeriksaan hitung jumlah trombosit, diperoleh jumlah terendah sebesar 112.000 sel/uL dan jumlah tertinggi 498.000 sel/uL dengan nilai normal pemeriksaan 200.000-400.000 sel/uL. Rerata hitung jumlah trombosit diperoleh 236.950 sel/uL dengan standar deviasi 105.726,79. Kadar normal albumin pada orang dewasa yaitu 3,5-5,2 g/dL. Dari hasil pemeriksaan responden, diperoleh kadar terendah albumin sebesar 2,25 g/dL dan kadar tertingginya yaitu 4,21 g/dL. Rerata kadar albumin diperoleh 3,55 g/dL dengan standar deviasi 0,49. Sedangkan pada parameter pemeriksaan kadar *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) diperoleh kadar terendah 15 u/L dan kadar tertinggi 147 u/L. Nilai normal SGOT yaitu  $<37$  u/L. Rerata kadar SGOT sebesar 51,35 u/L, standar deviasi sebesar 34,63., diperoleh nilai minimum 33, nilai maksimum 357, dan rerata 146,68.

*Coronavirus* dilaporkan dapat menstimulasi sel endotel untuk mengaktifasi proses fibrinolisis yang menyebabkan peningkatan D-Dimer<sup>6</sup>. Penelitian Angstwurm dkk (2004) menunjukkan bahwa konsentrasi D-Dimer dalam plasma berkorelasi kuat dengan derajat disfungsi mikrosirkulasi<sup>7</sup>. Berdasarkan hasil analisis penelitian-penelitian sebelumnya, dapat menjelaskan hasil penelitian ini yang diperoleh adanya korelasi yang



signifikan antara D-Dimer dengan PCV, trombosit, albumin, dan SGOT sebagai parameter kebocoran plasma.

Pada keadaan fisiologis, albumin dapat dipertahankan dalam intravascular, hal ini dikarenakan terdapat glikokaliks bermuatan negatif yang melapisi permukaan pembuluh darah. Lapisan glikokaliks ini berperan untuk mencegah albumin yang bermuatan negatif dan cairan plasma agar tidak keluar dari dalam pembuluh darah ke kompartemen ekstravaskuler<sup>8</sup>. Pada keadaan kebocoran plasma, selain terjadi kerusakan pada permukaan glikokaliks juga kerusakan pada ikatan antar-endotel. Kerusakan ikatan ini menyebabkan albumin dapat keluar melalui celah-celah antar sel endotel yang dikenal sebagai jalur paraselular. Penurunan kadar albumin terjadi akibat eksositosis albumin dari endotel pembuluh darah<sup>8</sup>. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin rendah kadar albumin pada penderita COVID-19, menunjukkan semakin berat jejas pada endotel pembuluh darah dan kebocoran plasma.

Penelitian Bikdeli dkk (2020) menunjukkan bahwa peningkatan bekuan trombosit untuk melapisi jejas endotel pembuluh darah sebagai mekanisme untuk mengurangi kebocoran plasma. Peningkatan bekuan trombosit ini berkontribusi terhadap penurunan jumlah trombosit<sup>1</sup>. Hasil analisis penelitian Zhan dkk (2021)<sup>9</sup> sesuai dengan korelasi yang bermakna antara hitung jumlah trombosit dengan konsentrasi D-Dimer yang ditemukan pada penelitian ini.

Menurut penelitian Michels dkk (2013), perubahan PCV selain karena kebocoran plasma, dipengaruhi juga oleh pemberian cairan yang diberikan selama pengobatan pasien. Hal ini menjelaskan bahwa adanya korelasi PCV dengan D-Dimer dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Mekanisme peningkatan konsentrasi SGOT juga dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti jejas pada sel hati, otot jantung, maupun otot rangka<sup>11</sup>. Hal ini menjelaskan bahwa adanya korelasi lemah atau bahkan tidak ada korelasi SGOT dengan konsentrasi D-Dimer.

## CONCLUSION

Konsentrasi D-Dimer berkorelasi positif dan signifikan terhadap konsentrasi PCV dan hitung jumlah trombosit. Korelasi terbalik sedang diperoleh antara D-Dimer dengan kadar albumin. Sedangkan parameter SGOT diperoleh korelasi lemah terhadap D-Dimer.

## REFERENCES

- Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-up. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(23):2950-2973.
- Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical Course and Risk Factors for Mortality of Adult Inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A Retrospective Cohort Study. *Lancet.* 2020;395(10229):1054-1062.
- Wan SW, Lin CF, Yeh TM, Liu CC, Liu HS, Wang S, et al. Autoimmunity in COVID-19 Pathogenesis. *J Formos Med Assoc.* 2013;112(1):3-11.
- Suwarto S, Hidayat MJ, Widjaya B. COVID-19 Score as A Diagnostic Predictor for Pleural Effusion and/or Ascites: External Validation and Clinical Application. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):90.
- Greenberg CS. *Advances in Hematology.* 2017;15(8):580-583.
- Abou-Ismaïl MY, Diamond A, Kapoor S, Arafah Y, Nayak L. The Hypercoagulable State in COVID-19: Incidence, Pathophysiology, and Management. *Thromb Res.* 2020;194:101-115.
- Angstwurm MW, Reiningner AJ, Spannagl M. D-Dimer as Marker for Microcirculatory Failure: Correlation with LOD and APACHE II Scores. *Thromb Res.* 2004;113(6):353-9.
- Mehta D, Malik AB. Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. *Physiol Rev.* 2006;86(1):279-367.
- Zhan H, Chen H, Liu C, et al. Diagnostic Value of D-Dimer in COVID-19: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis.* 2021; 27.
- Michels M, Sumardi U, de Mast Q, Jusuf H, Puspita M, Dewi IM, et al. The Predictive Diagnostic Value of Serial Daily Bedside Ultrasonography for Severe COVID-19 in Indonesian Adults. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(6):e2277.
- Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A Test in Context: D-Dimer. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(19):2411-20.

# PEMBUATAN MEDIA SET EDUKASI MAKRO VISUAL KAMAR HITUNG IMPROVED NEUBAUER DARI PAPAN DAN PIN MAGNETIK UNTUK PRAKTIKUM HITUNG SEL DARAH

**Dvni Amoryna<sup>1</sup>, Eka Febriyanti<sup>2</sup>, Putra Mulia<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup> Laboratorium Keperawatan Fakultas Keperawatan, Universitas Riau, Indonesia ;

<sup>1</sup>nov4ng3l@gmail.com

<sup>2</sup>eka170213@gmail.com

<sup>3</sup>putramul@gmail.com

## ABSTRAK

Kegiatan di Laboratorium seringkali berhubungan dengan komponen alat dan bahan. Terkadang beberapa permasalahan timbul dalam proses ini, mulai dari kendala yang bersifat teknis maupun non teknis. Untuk itu laboran dituntut harus melakukan hal-hal yang kreatif-inovatif dan berimprovisasi. Maka dikembangkanlah set edukasi untuk menghitung sel pada kamar hitung *Improved Neubauer* menggunakan media makro agar mahasiswa mampu memahami cara menghitung sel sebelum mengimplementasikan teknik tersebut pada pengamatan melalui mikroskop. Penelitian dilakukan menggunakan metode deskriptif kuantitatif memakai skema *Research and Development* (R&D) dengan langkah *Borg and Gall Steps Scheme* dan dianalisis berupa data univariate. Penelitian dilakukan pada 10 responden yang bekerja sebagai pembimbing praktikum, 4 Ahli materi dan 49 orang mahasiswa kesehatan. Hasil uji ahli menyatakan media yang dikembangkan sudah valid dan dapat digunakan, dengan nilai rata-rata 91.38 %. Rerata untuk materi media 98.07 % sedangkan pada item media alternatif didapatkan rata-rata 84.71 %. Berdasarkan hasil uji coba lapangan yang dilakukan pada mahasiswa dan dosen menunjukkan kategori sangat baik, yaitu 82,38% dari mahasiswa dan 85,5% dari dosen. Kesimpulan dari hasil dan analisa yang dilakukan, didapatkan bahwa media yang dikembangkan oleh peneliti dinilai dapat digunakan dalam proses belajar mengajar di Laboratorium, sehingga mampu berpengaruh kepada pencapaian hasil belajar mahasiswa dan mampu meningkatkan prestasi mahasiswa.

**Kata Kunci: Kamar Hitung Improved Neubauer, Media Edukasi, Hitung Sel Darah**

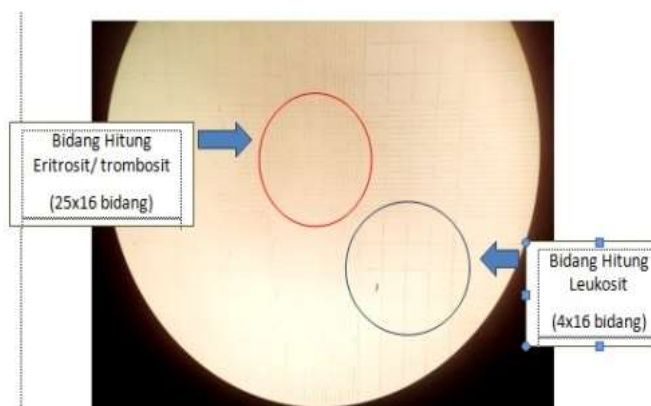
## I. Pendahuluan

Kegiatan di Laboratorium seringkali berhubungan dengan komponen alat dan bahan. Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) harus menyediakan komponen ini sebelum melaksanakan praktikum. PLP dituntut untuk dapat mengantisipasi segala hambatan yang muncul agar kegiatan praktikum tetap dapat berjalan lancar dan sesuai jadwal yang telah ditetapkan. Terkadang PLP juga harus melakukan hal-hal yang kreatif-inovatif dan berimprovisasi dengan segala teknik maupun keahlian diluar tugas utama maupun latar belakang keilmuannya. Hal ini bertujuan agar mahasiswa dapat memahami isi materi praktikum dan mendapatkan pengalaman keterampilan. Salah satu usaha inovasi itu adalah dengan menyediakan media pembelajaran. Hal ini sesuai dengan paparan dari KEMENKES (2010) yang menyatakan bahwa kegiatan belajar mengajar dilaboratorium atau kegiatan praktikum bertujuan agar mahasiswa mendapat pengalaman belajar dalam hal penerapan teori yang telah didapatkan serta sebagai bahan acuan ketika akan dilakukan penerapan dilahan praktik klinik Selain itu juga bertujuan sebagai pembentukan sikap, keterampilan, kemampuan bekerjasama, dan kreatifitas dalam menerima pengetahuan bagi mahasiswa (Adilla, 2012).

Salah satu kegiatan praktikum di Laboratorium Biomedik Fakultas Keperawatan Universitas Riau adalah teknik menghitung sel darah menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Di dalam ilmu Hematology, terdapat beberapa teknik untuk menghitung jumlah sel darah (eritrosit, leukosit, trombosit, retikulosit, dsb). Ada beberapa metoda perhitungan sel ini, namun metode manual masih digunakan di laboratorium klinik, terutama sebagai pembanding atau rujukan jika hasil yang diperoleh dengan alat otomatis terjadi keraguan atau kesalahan pemeriksaan. Metode manual yang dimaksud terdiri atas teknik perhitungan melalui Sediaan Hapus Darah Tepi (SHDT) dan melalui Kamar Hitung *Improved Neubauer* (Dina,2014). Teknik ini mengharuskan mahasiswa menggunakan lensa mikroskop dan layar/kamera proyektor sebagai alat bantu. Kegiatan ini sering mengalami kendala apabila terjadi listrik padam sehingga alat menjadi tidak bisa dipergunakan karena keduanya bersumber dari arus listrik. Apabila mahasiswa tidak memiliki kesempatan untuk mencari jadwal pengganti, akhirnya mereka hanya di sarankan untuk mempelajari teknik ini melalui buku praktikum yang diberikan pembimbing saja.

PLP merasa tingkat pemahaman mahasiswa untuk menghitung sel darah sangat rendah. Mahasiswa berpendapat, seharusnya dosen memperlihatkan terlebih dahulu secara visual menggunakan media yang dapat menggambarkan ruang-ruang di dalam objek Kamar Hitung *Improved Neubauer* dalam skala makro. PLP juga berpendapat serupa bahwa sebaiknya diberikan dahulu latihan dan pemahaman tentang teknik menghitung sel pada kamar hitung menggunakan media makro, barulah kemudian mahasiswa mengimplementasikan teknik hitung tersebut pada pengamatan mikroskop. Musfiqon (2012) dalam Suryani (2018) menyatakan bahwa media pembelajaran merupakan alat bantu yang berfungsi untuk menjelaskan sebagian dari keseluruhan program pembelajaran yang sulit dijelaskan secara verbal. Oleh karena itu, PLP merasa perlu adanya suatu media pembelajaran pengganti apabila terjadi kondisi seperti diatas. Hal inilah yang melandasi dibuatnya media set edukasi makro visual kamar hitung *Improved* untuk mengetahui efektivitas media sebagai alat peraga dan media alternative kepada mahasiswa.

Penelitian Fajariah (2010) menyatakan bahwa papan tulis magnet efektif digunakan sebagai media pembelajaran. PLP berinovasi bahwa pin magnetik akan menjadi pengganti sel darah dengan perbedaan warna dan ukuran. Penggunaan papan magnet banyak dipakai oleh tenaga pengajar-tenaga pengajar sebagai media pembelajaran. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menciptakan media yang dapat digunakan dalam proses belajar mengajar di Laboratorium, sehingga mampu berpengaruh kepada pencapaian hasil belajar mahasiswa dan mampu meningkatkan prestasi mahasiswa. Selain itu kegiatan ini juga memotivasi PLP untuk dapat mengembangkan kreativitas dalam hal menciptakan Teknologi Tepat Guna di bidang pengelolaan laboratorium agar dapat menunjang kegiatan praktikum di Laboratorium Keperawatan, khususnya di bidang Biomedik dan Klinis. Hal inilah yang melandasi dibuatnya media set edukasi makro visual kamar hitung *Improved Neubauer* dari papan dan pin magnetic untuk mengetahui efektivitas media sebagai alat peraga dan media alternative kepada mahasiswa.



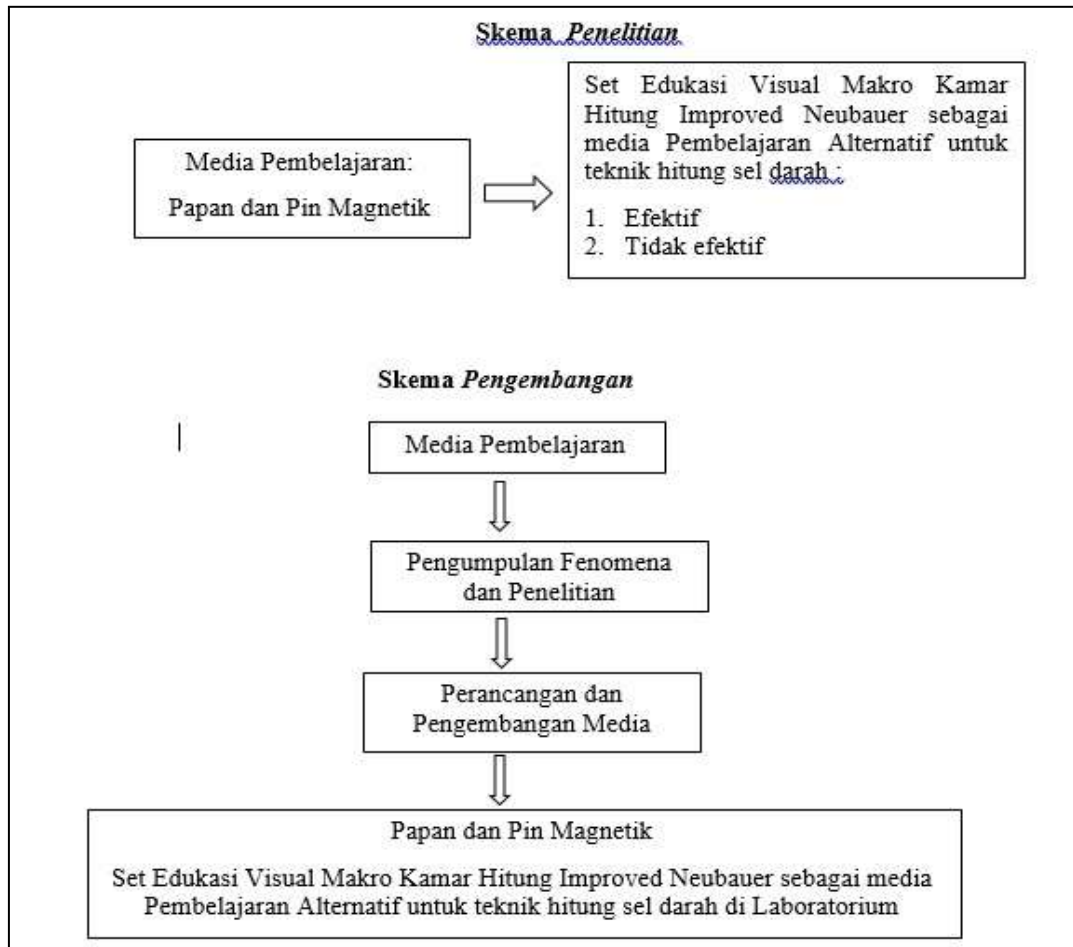
**Gambar 1. Pengamatan bidang hitung pada Kamar Hitung *Improved Neubauer* Perbesaran Mikroskop 10x (Sumber : Pribadi )**

## II. Metode

Penelitian dilakukan menggunakan metode deskriptif kuantitatif memakai skema *Research and Development* (R&D) dengan langkah *Borg and Gall Steps Scheme* dan dianalisis berupa data univariate. elitian pengembangan media pembelajaran *papan dan pin magnetik* sebagai alat peraga alternatif dilakukan dengan melewati beberapa tahapan, diawali dengan proses validasi awal dan revisi hingga uji ahli dan uji coba lapangan terbatas.

Adapun hasil penelitian dari pengembangan alat peraga alternatif ini dibedakan berdasarkan materi media dan media, alternatif serta dilihat tanggapan mahasiswa dan dosen pada uji coba lapangan secara kuantitatif dan kualitatif.

Penelitian dilakukan pada 10 responden yang bekerja sebagai pembimbing praktikum, 4 Ahli materi dan 49 orang mahasiswa kesehatan yang ada di beberapa institusi pendidikan kota Pekanbaru Riau. Lokasi penelitian dilakukan di laboratorium instansi pendidikan kesehatan di Pekanbaru. Sedangkan waktu penelitian yaitu pada bulan oktober- 2019 s/d Maret 2020.

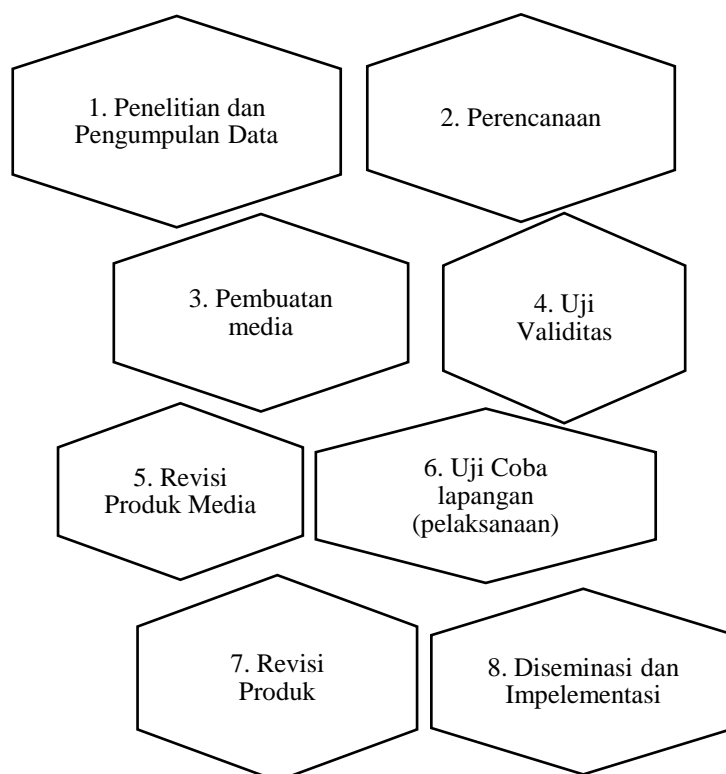


**Gambar 2. Skema Penelitian dan Pengembangan**

Langkah-langkah yang peneliti gunakan dalam penelitian dan pengembangan media pembelajaran ini mengacu kepada rancangan yang dikembangkan oleh Borg dan Gall yang dipresentasikan dalam bagan pada gambar 3.

Alat dan bahan yang dipakai membuat set edukasi ini adalah :

- |   |          |
|---|----------|
| a) Papan kayu / triplek sebagai pondasi dasar media                 | 1 lembar |
| b) Lempeng besi sebagai medan magnetic media                        | 3 pcs    |
| c) Kayu ukuran lebar 2-5 cm untuk sisi-sisi media                   | 3 batang |
| d) Pin Magnet berbagai ukuran sebagai pengganti ilustrasi sel darah | 200 pcs  |
| e) Paku kecil dan baut  | 20 pcs   |
| f) Bor tangan dan atau palu   | 1 set    |
| g) Plastik Transparan   | 1 x 1 m  |
| h) Cat & Spidol berbagai warna                                      | 1 set    |
| i) Engsel kecil 2 pcs   | 1 set    |
| j) Hekter (Stappler)  | 1 set    |
| k) Paku payung  | 1 kotak  |



**Gambar 3. Langkah-Langkah R & D yang dilakukan peneliti**

### III. Hasil Penelitian

Secara ringkas hasil uji ahli menyatakan media yang dikembangkan sudah valid dan dapat digunakan, dengan rata-rata persentase 91.38 %. Rata-rata untuk materi media 98.07 % Sedangkan pada item media alternatif didapatkan rata-rata 84.71 %. Respon yang diberikan oleh peserta didik (mahasiswa) pada saat uji coba terbatas atau uji coba lapangan cukup tinggi, yaitu 80,08 %, dengan kategori sangat baik. Sehingga dari persentase tersebut alat peraga alternatif tersebut sudah dapat digunakan. Hasil persentase tersebut sejalan dengan data kualitatif yang menyebutkan ada beberapa alasan yang membuat alat peraga ini layak, Yaitu bahwa media sudah mendukung proses pembelajaran, menarik untuk digunakan pada saat praktikum serta mewakili teknik interpretasi perhitungan sel darah yang diajarkan oleh pembimbing laboratorium selama ini.

**Tabel 1. Hasil Validasi Materi Media dan Media Alternatif**

| <b>Validasi Media</b>        | <b>Materi Media</b>                         | <b>Media Alternatif</b>                     |
|------------------------------|---|---|
| <b>Nilai</b>                 | 98,07                                       | 84,71                                       |
| <b>Kategori</b>              | Sangat Valid                                | Sangat Valid                                |
| <b>Bagian yang di Revisi</b> | Tidak ada yang direvisi dan dapat digunakan | Tidak ada yang direvisi dan dapat digunakan |
| <b>Rata-Rata</b>             | 91,38 % (Sangat Valid)                      |   |

Hasil penelitian ini sesuai dengan yang dilakukan Sari (2018) yang menyatakan bahwa dalam rangka pengembangan alat peraga berbasis *Project Based Learning* terdapat empat temuan. Dua diantaranya adalah bahan ajar yang tersedia cukup bervariasi. dan mahasiswa memiliki potensi yang cukup besar dalam memahami materi. Hal ini sesuai dengan hasil uji ahli karena materi media yang dikembangkan memiliki unsur

dalam peningkatan pemahaman mahasiswa dengan bentuk dan standar dengan Kamar Hitung *Improved Neubauer* asli

#### IV. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai rata-rata pada item media sebagai alternatif senilai 84.71 % (Sangat Valid). Sedangkan secara kualitatif didapatkan yaitu pada bagian tampilan khusus (pemilihan warna) dan penyajian media (pemberian judul dan garis pembatas chamber ). Pada dua item tersebut perlu menjadi bagian yang diperhatikan, karena itu merupakan bagian inti dari media yang dikembangkan agar meningkatkan pemahaman mahasiswa. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Soewadikun (2013) yang menyatakan bahwa pengembangan media harus memenuhi syarat berkarakter dan kemandirian pada peserta didik. Sehingga peneliti mengambil kesimpulan bahwa setiap media yang akan dikembangkan perlu memperhatikan karakteristik pengguna dan sesuai permintaan atau disesuaikan dengan kompetensi dasar yang ada.



Gambar 4. Rerata Respon Tenaga Pengajar dan Mahasiswa

Uji coba lapangan atau disebut juga uji kelayakan dilakukan untuk melakukan uji coba media pembelajaran kepada mahasiswa dan dosen, dimana mahasiswa dan dosen merupakan elemen yang akan memanfaatkan media alternatif tersebut. Secara kuantitatif didapatkan hasil uji coba pada tenaga pengajar yaitu 85,5 % dan mahasiswa 82,38 %, dengan kategori sangat baik. Nilai rata-rata diperoleh 83,94 % dengan kesimpulan akhir media layak untuk dipergunakan.

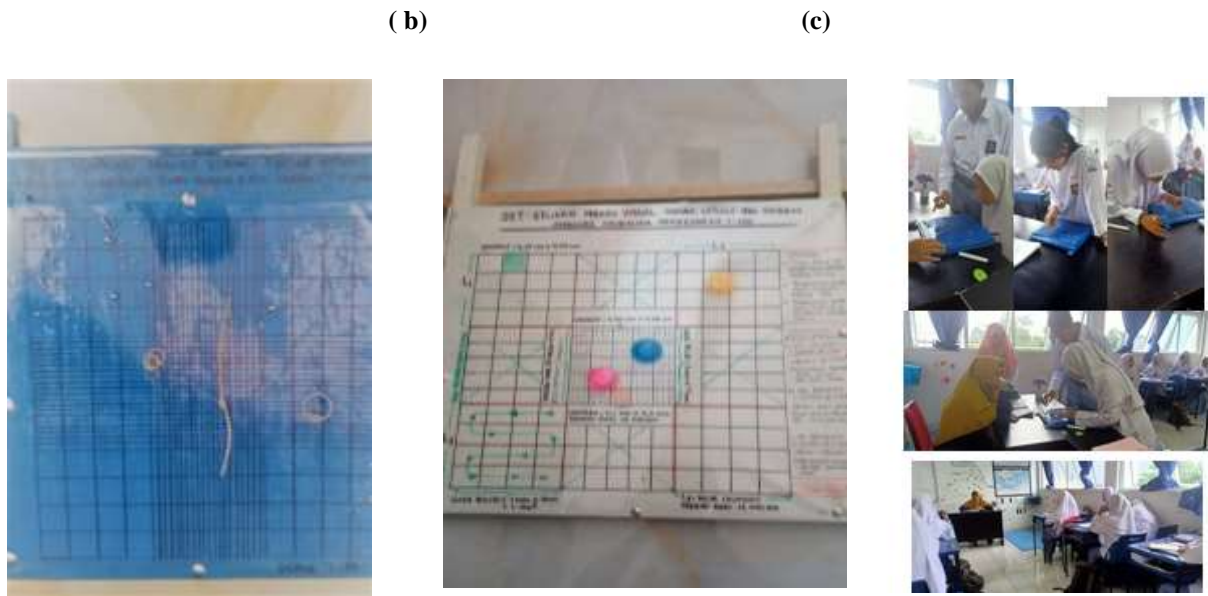
Penekanan hasil yang didapatkan dari dosen didukung berdasarkan Analisa tematik kualitatif, yaitu beberapa tenaga pengajar menyebutkan bahwa media yang dikembangkan belum mewakili bentuk garis-garis yang ada di ruangan chamber kamar hitung sehingga akan menyulitkan mahasiswa untuk perhitungan sel yang berada di batas garis terdalam. Selain itu pemilihan warna biru sebagai background dianggap tidak representative apabila media digunakan pada ruangan yang tidak memiliki cukup penerangan. Hal ini karena untuk meningkatkan prestasi belajar dan pemahaman mahasiswa diperlukan adanya peningkatan kognitif, afektif, dan psikomotor. Sejalan dengan penelitian Agustin (2011) yang menyatakan bahwa prestasi akademik tidak hanya dilandasi kemampuan kognitif, melainkan adanya keterlibatan afektif, dan psikomotor sehingga dalam pengembangan media pembelajaran ketiga unsur tersebut harus terwakili.

Media *papan magnetic* yang dikembangkan oleh peneliti berdasarkan tanggapan tenaga pengajar, sudah dianggap inovatif serta mewakili kemampuan psikomotor sehingga mampu mendorong tindakan psikomotoris mahasiswa lebih baik lagi dalam proses pembelajaran. Hal ini sejalan dengan penelitian Amin dan Eng (2003) dalam Fitri (2019) yang menyatakan bahwa pengetahuan yang baik akan mendorong psikomotor secara lebih baik juga.

Hasil penelitian peneliti secara kualitatif menghasilkan kesimpulan bahwa media yang dikembangkan sudah sederhana dan efisien, sedangkan secara kuantitatif pada uji coba lapangan menyatakan bahwa media *papan magnetic* sudah sangat baik.

Sedangkan secara kualitatif berdasarkan Analisa tematik didapatkan tiga (3) tema, Analisa tematik yang dilakukan merupakan gabungan dari pernyataan tanggapan dosen dan mahasiswa. Adapun tema yang utama yaitu (1) Media Mendukung Proses Pembelajaran, (2) Sesuai dengan teknik yang diajarkan pembimbing (3) Ekonomis dan Efisien. Tema yang telah didapatkan merupakan data pendukung dari data kuantitatif, dan kedua data memiliki kaitan yang terikat.

Hasil penelitian ini sejalan dengan jabaran dari Zulkifli (2010) dalam Fitri (2019) yang menyebutkan bahwa media pembelajaran memiliki keunggulan yaitu dapat memberikan motivasi kepada siswa, visualisasi yang baik, bersifat konsisten, dan lebih populer dikenal siswa.



**Gambar 5. (a-b) Media Edukasi Kamar Hitung *Improved Neubauer* (c) Kegiatan Uji coba penelitian media edukasi kepada responden**

## V. Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil dan analisa yang dilakukan didapatkan bahwa media set edukasi makro visual kamar hitung *Improved Neubauer* yang terbuat dari dari papan dan pin magnetik mampu memberikan pengaruh kepada pencapaian hasil belajar mahasiswa dan mampu meningkatkan prestasi mahasiswa sehingga dinilai dapat digunakan dalam proses belajar mengajar di Laboratorium sebagai media peraga alternative.

## Daftar Pustaka

- Adilla W. (2012) 'Peran pembimbing praktik klinik pada praktik klinik keperawatan Diploma III Keperawatan STIKES An Nur. Yogyakarta'. Universitas Gadjah Mada. Indonesia
- Agustin dan Mubiar (2011) 'Permasalahan Belajar dan Inovasi Pembelajaran'. Bandung: Retika Aditama
- Dina, A. (2014). 'Modifikasi Larutan Pengencer untuk Pemeriksaan Leukosit'. Sekolah Tinggi Bakti Asih. Bandung.
- Fajariah, Shobahul. (2010) 'Penggunaan media papan magnet untuk meningkatkan hasil belajar siswa pada mata pelajaran IPS di kelas V MI Hubbul Wathon Pandaan Pasuruan.' S1 Program Studi PGSD, Jawa Timur.
- Fitri, Aminatul, dkk (2019). Pengembangan Media Pembelajaran: Squishy Sebagai Alternatif Alat Peraga Payudara Pada Kegiatan Praktikum. Fakultas Keperawatan Universitas Riau. Pekanbaru
- KEMENKES. (2010). 'Standar laboratorium perekam medis dan informasi kesehatan pendidikan tenaga kesehatan.' Jakarta: Badan PPSDM Kesehatan Pusat Pelatihan Tenaga Kesehatan. Indonesia
- Sari, Eka Kartika (2018) 'Pengaruh media Gambar terhadap pemahaman materi ekonomi (penelitian eksperimen pada siswa kelas X SMA Negeri 9 Cirebon)'. FKIP : Universitas Swadaya Gunung Jati. Cirebon.
- Suryani, N. dkk. (2018). 'Media Pengembangan Inovatif dan Pengembangannya' ; edisi I. Bandung: PT Remaja Rosdakarya
- Soewadikun, D.W. (2013). 'Metodologi Penelitian Visual: Dari Seminar ke Tugas Akhir'. Bandung: Dinamika Komunika.

# Pengaruh Jenis Kelamin Terhadap Ekspresi Protein P53 Otak Tikus Pasca Transient Bilateral Common Carotis Artery Occlusion (Tbcca)

Ernadita Budiastuti<sup>1(CA)</sup>, Ety Sari Handayani<sup>2</sup>, Kuswati<sup>3</sup>  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia Yogyakarta; Zer\_dito@yahoo.com

## ABSTRACT

**Background:** Cellular mechanism of apoptosis cells after cerebral ischemia includes some pro apoptosis factors, especially P53. Administering pifithrin-alpha (PFT $\alpha$ ), a P53 inhibitor weakening transport of p53 nuclear and DNA binding, has proven that it can strengthen neurons and increase recovery after stroke. Interaction of protein kinase 1 (DAPK1) – p53 is a main factor to determine whether some cells will get necrosis or apoptosis in an ischemic stroke event. The DAPK1 binds with p53DM and catalyzes pS23 in which it will enter into its core and activate expression of pro apoptosis genes. On the other hand, if pS23 enters into mitochondrial and interacts with cyclophilin D, the cells will be necrosis. Interaction of DAPK1-p53 is an intervention target for stroke therapy (Lei *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014).

**Purpose:** This paper is to observe influences of sex identity to p53 expression of rat brains.

**Method:** This paper applied post-test only control groups design. Samples used in this research were 12 male rats and 12 female rats. Then they were divided into 4 groups: group 1 (male rats with BCCAO), group 2 (female rats with BCCAO), group 3 (male rats without BCCAO/Sham), and group 4 (female rats without BCCAO/Sham). BCCAO was performed for 10 minutes of ligase and 24 hours of reperfusion. The expression of p53 was examined by an optilab viewer on CPF preparat colored by an IHC method using antibody anti p52. The examination of p53 expression also used ALLRED Score. Moreover, average results of the expression in each group were compared by nonparametric kruskal wall test.

**Result:** The p53 expression of group 1 was 4,5; group 2 was 3,4; group 3 was 3,6; and group 4 was 3,6.

The result of kruskal wall test was 0,428 ( $p>0,05$ )

**Conclusion:** Based on this research, sex identity did not influence the p53 expression of CPF neuron in rats induced by BCCAO.

**Keyword:** sex identity, p53, cpf (cortex prefrontal), BCCAO

## INTRODUCTION

Indonesia merupakan negara dengan kepadatan penduduk tinggi, namun kualitas kesehatan masih rendah dikarenakan perhatian terhadap penyakit degeneratif seperti stroke masih kurang. Kini, jumlah penderita stroke di Indonesia menduduki peringkat pertama di Asia dan keempat di dunia (Riskesmas, 2013). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar 2013 (Riskesmas, 2013) prevalensi stroke tertinggi terjadi di Sulawesi Selatan (17,9 %), Daerah Istimewa Yogyakarta (16,9%), Sulawesi Tengah (16,6%), NAD (16,6%) dan Jawa Timur (16%). Angka kejadian stroke pada wanita Indonesia lebih rendah daripada pria, yaitu sebesar 31,1% dan 68,9% (Handayani,2013).

Angka kejadian stroke pada serangan pertama maupun serangan ulang lebih sering terjadi pada pria (Sudlow *et.al*,2007; Bonita,2008). Penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kejadian stroke pada wanita premenopausal (Pre-MW) lebih rendah dibandingkan laki-laki pada usia yang sama. Hormon estrogen memegang peranan penting sebagai vasodilator pembuluh darah (Masood *et. al*, 2013). Namun, perbedaan kejadian stroke pada wanita dan pria tidak hanya dipengaruhi oleh estrogen dan perlu dilakukan kajian mendalam, karena mekanisme kematian sel belum diidentifikasi secara nyata dan tidak terdapat perbedaan respon farmakologis dalam pengobatan stroke pada wanita maupun pria (Larson *et.al*, 2009).

Rat stroke model terdiri dari global iskemia dan focal iskemia. Iskemia ditandai dengan pengurangan aliran darah otak di daerah yang berbeda dari otak, sedangkan iskemia global pengurangan aliran darah mempengaruhi seluruh otak atau otak depan. Salah satu contoh iskemia global adalah oklusi arterii carotis communis bilateral /Bilateral Common Carotid Artery (BCCAO) (Cassalas *et al.*, 2011).



Dalam penelitian model *transient* BCCAO memiliki kelebihan dibandingkan model iskemia lainnya, yaitu angka mortalitas hewan coba yang lebih kecil jika dibandingkan dengan model iskemia otak *focal* (MCAO) (Kaya *et al.*, 2016). Model *transient* BCCAO dapat digunakan untuk menggambarkan beberapa kondisi iskemia yang sering terjadi pada manusia, seperti iskemia akibat serangan jantung (Sanderson & Wider, 2013), stroke iskemia dengan atau tanpa kondisi penyerta diabetes, dan demensia vaskular (van der Spuy *et al.*, 2015; Traystman, 2003; Kim *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2016; Barbhuiya *et al.*, 2015).

Mekanisme seluler apoptosis sel pasca iskemik serebral melibatkan faktor pro apoptosis yaitu P53. Pemberian pifithrin-alpha (PFT $\alpha$ ), suatu inhibitor p53 memperlemah transport p53 nuclear dan DNA binding, terbukti memperkuat neuron dan meningkatkan kesembuhan pasca stroke. Interaksi protein kinase 1(DAPK1) - p53 merupakan titik penting untuk menentukan apakah sel akan mengalami nekrosis atau apoptosis pada kejadian stroke iskemik. DAPK1 berikatan dengan p53DM dan mengkatalisis pS23, dimana akan masuk ke dalam inti dan mengaktifkan ekspresi gen pro apoptosis. Sebaliknya, jika pS23 masuk ke mitokondrial dan berinteraksi dengan cyclophilin D maka sel akan menjadi nekrosis. Interaksi DAPK1 - p53 merupakan target intervensi untuk terapi stroke (Lei *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014).

Berdasarkan kejadian stroke pada pria lebih tinggi dibandingkan dengan wanita, fungsi esterogen sebagai neuroprotektif, dan berkembangnya stroke model pada rat, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh jenis kelamin hewan coba terhadap ekspresi p53 otak tikus pasca tBCCAO.

## METHODS

### Rancangan Penelitian

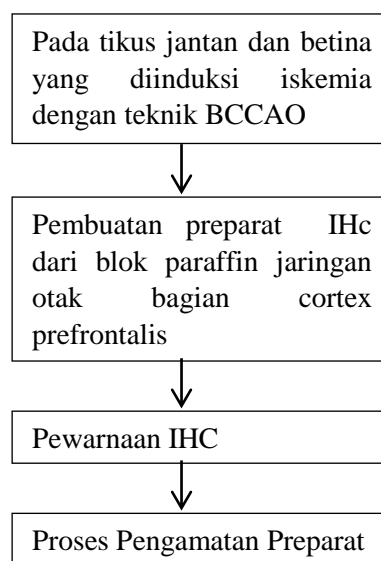
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan sampel dan bahan blok biologis tersimpan yang berasal dari 24 blok paraffin otak tikus yang sudah mendapatkan perlakuan.

### Subyek Penelitian

Subyek penelitian yaitu blok biologis tersimpan dari hewan coba yang sebelumnya telah mendapat perlakuan BCCAO. Adapun jumlah subyek yang digunakan berdasarkan prinsip 3R yaitu 24 ekor tikus. Subjek dibagi menjadi 4 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 6 tikus. Adapun gambaran kelompok adalah sebagai berikut :

1. Kelompok 1 merupakan kelompok *shame operated* 1/ Jantan (operasi yang sama tanpa ligasi arteri karotis komunis bilateral) dengan anastesi ketamine
2. Kelompok 2 merupakan kelompok *shame operated* 2/ betina (operasi yang sama tanpa ligasi arteri karotis komunis bilateral) dengan anastesi ketamine
3. Kelompok 3 adalah kelompok perlakuan 1/Jantan (*rat stroke model* dengan pemberian citicoline) dengan anastesi ketamine
4. Kelompok 4 adalah kelompok perlakuan 2/betina (*rat stroke model* dengan pemberian citicoline) dengan anastesi ketamine

### Jalannya Penelitian



## Proses Sayatan Preparat untuk Pewarnaan IHC

Blok parafin jaringan otak bagian hipocampus disayat setebal 5 µm dengan menggunakan *rotary microtome*. Diambil satu sayatan, kemudian dilakukan pewarnaan IHC (imunohistokimia) dengan *antibody anti-p53*.

## Pewarnaan IHC

Pewarnaan IHC dimulai dengan deparafinisasi menggunakan *xylol* dan alkohol dengan konsentrasi menurun. Selanjutnya jaringan diinkubasi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dalam 10% methanol selama 20 menit, kemudian dicuci dengan menggunakan akuades tiga kali dan PBS tiga kali. Kemudian dilakukan *antigen retrieval* dengan *buffer* sitrat pH 6 di dalam *microwave*. Irisan tersebut dipanaskan dalam temperatur tinggi (100°C) selama 10 menit kemudian dilanjutkan dengan temperatur sedang-rendah selama 20 menit. Setelah itu irisan didinginkan dan dicuci kembali sebanyak tiga kali menggunakan PBS.

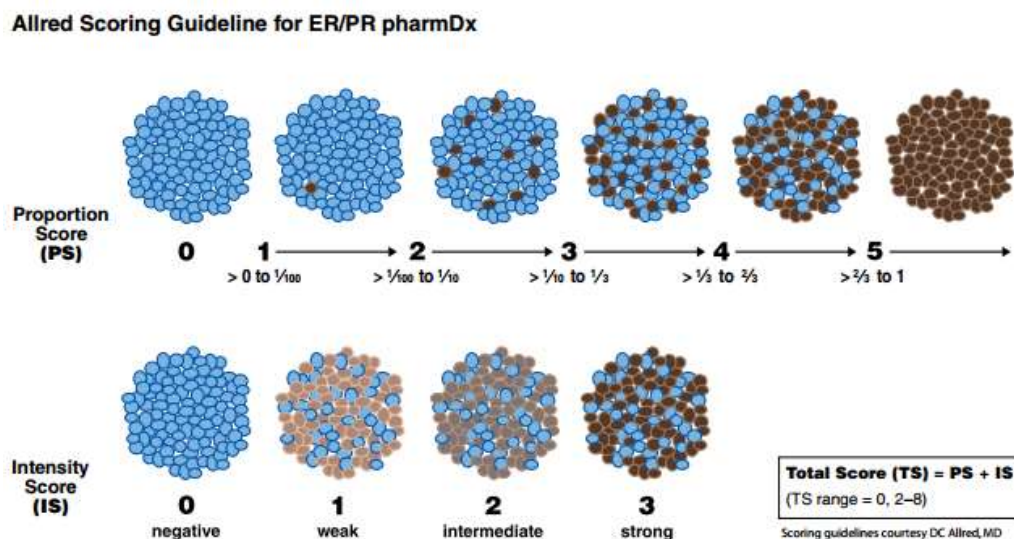
Irisan selanjutnya *blocking* dengan protein *background snipper* dalam waktu 10 menit lalu ditetesi antibodi (Ab) primer caspase-3 aktif dan diinkubasi selama satu malam dengan suhu 4°C sebelum dicuci kembali sebanyak tiga kali dengan PBS. Kemudian irisan tersebut diinkubasi dengan Trekki Universal Link selama 10 menit dan dicuci kembali menggunakan PBS sebanyak tiga kali. Selanjutnya diinkubasi dengan *horseradish peroxidase conjugated Streptavidin* (kompleks SA-HRP) selama 10 menit dan dicuci kembali dengan PBS sebanyak tiga kali.

Sel yang terlabel p53 dilakukan dengan 3,3'-diaminobenzidin (1:100) selama lima menit. Jaringan selanjutnya dicuci sebanyak lima kali menggunakan akuades dan dilanjutkan *counterstained* dengan *hematoxylin meyers* selama satu menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama dua menit. Kemudian dilakukan dehidrasi menggunakan etanol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% masing-masing selama satu menit. Kemudian dibersihkan dengan *xylene* dan *coverslip* dengan *canada balsam*.

## Proses Pengamatan Preparat

Pengamatan preparat histologis menggunakan perbesaran 400x pada mikroskop cahaya *Olympus CX21* dengan kamera *optilab* yang terhubung pada komputer. Komputer yang terhubung dengan mikroskop memiliki *software optilab viewer* untuk merekam gambar.

Ekspresi p53 dinilai menggunakan *Allred scoring* yang mempertimbangkan proporsi sel positif dalam skala 0-5 dan intensitas warna dalam skala 0-3. Hasil penilaian dari kedua parameter itu akan dijumlahkan untuk menginterpretasikan ekspresi p53. Jika didapatkan hasil penjumlahan 0-2 maka ekspresi p53 dianggap negatif, sedangkan hasil penjumlahan 3-8 maka ekspresi p53 dianggap positif.



Gambar 6. *Allred scoring* (Allred, 2005).

| Skor proporsi sel positif |           | Skor intensitas |           |
|---------------------------|-----------|-----------------|-----------|
| 1. (-)                    | : 0       | 1. (0)          | : negatif |
| 2. (+)                    | : < 1%    | 2. (1)          | : lemah   |
| 3. (++)                   | : 1 – 10% | 3. (2)          | : sedang  |

4. (+++) : 10 – 33%                      4. (3) : kuat  
 5. (++++): 33 – 66%  
 6. (+++++) : > 66%

**Etika Penelitian**

Sebelum melaksanakan prosedur penelitian, terlebih dahulu mengajukan *ethical clearance* dan meminta izin kepada laboratorium terkait.

**RESULTS**

**Hasil**

**Kelompok 1 (Perlakuan Jantan ligase 10 menit)**

|   | kode    | proporsi | intensitas | jumlah | total | rata-rata |
|---|---------|----------|------------|--------|-------|-----------|
| 1 | 5.40.1  | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 5.40.2  | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 5.40.3  | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 5.40.4  | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 5.40.5  | 2        | 1          | 3      | 15    | 3         |
| 2 | 8.40.1  | 3        | 2          | 5      |       |           |
|   | 8.40.2  | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 8.40.3  | 3        | 2          | 5      |       |           |
|   | 8.40.4  | 3        | 2          | 5      |       |           |
|   | 8.40.5  | 3        | 1          | 4      | 23    | 4.6       |
| 3 | 9.40.1  | 5        | 2          | 7      |       |           |
|   | 9.40.2  | 5        | 3          | 8      |       |           |
|   | 9.40.3  | 5        | 3          | 8      |       |           |
|   | 9.40.4  | 4        | 3          | 7      |       |           |
|   | 9.40.5  | 5        | 3          | 8      | 38    | 7.6       |
| 4 | 12.40.1 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 12.40.2 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 12.40.3 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 12.40.4 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 12.40.5 | 3        | 1          | 4      | 19    | 3.8       |
| 5 | 13.40.1 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 13.40.2 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 13.40.3 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 13.40.4 | 4        | 1          | 5      |       |           |
|   | 13.40.5 | 3        | 1          | 4      | 23    | 4.6       |
| 6 | 50.40.1 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 50.40.2 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 50.40.3 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 50.40.4 | 4        | 3          | 7      |       |           |
|   | 50.40.5 | 4        | 2          | 6      | 18    | 3.6       |

Table 1. Hasil Pengamatan Allred kelompok 1  
 Nilai rerata kelompok 1 adalah 4,5

**Kelompok 2 (Perlakuan Betina ligase 10 menit)**

|   | kode    | proporsi | intensitas | jumlah | total | rata-rata |
|---|---------|----------|------------|--------|-------|-----------|
| 1 | 41.40.1 | 3        | 1          | 4      |       |           |

|   |         |   |   |   |    |     |
|---|---------|---|---|---|----|-----|
|   | 41.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 41.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 41.40.4 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 41.40.5 | 3 | 1 | 4 | 20 | 4   |
| 2 | 42.40.1 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 42.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 42.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 42.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 42.40.5 | 3 | 1 | 4 | 19 | 3.8 |
| 3 | 45.40.1 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 45.40.2 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 45.40.3 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 45.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 45.40.5 | 2 | 1 | 3 | 15 | 3   |
| 4 | 47.40.1 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 47.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 47.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 47.40.4 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 47.40.5 | 3 | 1 | 4 | 20 | 4   |
| 5 | 48.40.1 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 48.40.2 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 48.40.3 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 48.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 48.40.5 | 2 | 1 | 3 | 15 | 3   |
| 6 | 49.40.1 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 49.40.2 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 49.40.3 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 49.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 49.40.5 | 2 | 1 | 3 | 15 | 3   |

Table 2. Hasil Pengamatan Allred kelompok 2  
**Nilai rerata kelompok 2 adalah 3,4**

**Kelompok 3( Shame Jantan)**

|   | kode    | proporsi | intensitas | jumlah | total | rata-rata |
|---|---------|----------|------------|--------|-------|-----------|
| 1 | 11.40.1 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 11.40.2 | 3        | 2          | 5      |       |           |
|   | 11.40.3 | 3        | 2          | 5      |       |           |
|   | 11.40.4 | 4        | 2          | 6      |       |           |
|   | 11.40.5 | 3        | 2          | 5      | 27    | 5.4       |
| 2 | 14.40.1 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 14.40.2 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 14.40.3 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 14.40.4 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 14.40.5 | 2        | 1          | 3      | 15    | 3         |
| 3 | 16.40.1 | 4        | 2          | 6      |       |           |

|   |         |   |   |   |    |     |
|---|---------|---|---|---|----|-----|
|   | 16.40.2 | 4 | 2 | 6 |    |     |
|   | 16.40.3 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 16.40.4 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 16.40.5 | 3 | 2 | 5 | 27 | 5.4 |
| 4 | 24.40.1 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 24.40.2 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 24.40.3 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 24.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 24.40.5 | 2 | 1 | 3 | 15 | 3   |
| 5 | 25.40.1 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 25.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 25.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 25.40.4 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 25.40.5 | 3 | 1 | 4 | 20 | 4   |
| 6 | 26.40.1 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 26.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 26.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 26.40.4 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 26.40.5 | 3 | 1 | 4 | 21 | 4.2 |

Table 3. Hasil Pengamatan Allred kelompok 3  
**Nilai rerata kelompok 3 adalah 3,6**

**Kelompok 4 (Shame Betina)**

|   | kode    | proporsi | intensitas | jumlah | total | rata-rata |
|---|---------|----------|------------|--------|-------|-----------|
| 1 | 18.40.1 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 18.40.2 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 18.40.3 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 18.40.4 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 18.40.5 | 2        | 2          | 4      | 16    | 3.2       |
| 2 | 20.40.1 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 20.40.2 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 20.40.3 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 20.40.4 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 20.40.5 | 2        | 1          | 3      | 18    | 3.6       |
| 3 | 21.40.1 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 21.40.2 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 21.40.3 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 21.40.4 | 3        | 1          | 4      |       |           |
|   | 21.40.5 | 2        | 1          | 3      | 16    | 3.2       |
| 4 | 22.40.1 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 22.40.2 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 22.40.3 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 22.40.4 | 2        | 1          | 3      |       |           |
|   | 22.40.5 | 2        | 1          | 3      | 15    | 3         |
| 5 | 23.40.1 | 3        | 1          | 4      |       |           |

|   |         |   |   |   |    |     |
|---|---------|---|---|---|----|-----|
|   | 23.40.2 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 23.40.3 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 23.40.4 | 4 | 2 | 6 |    |     |
|   | 23.40.5 | 3 | 2 | 5 | 25 | 5   |
| 6 | 68.40.1 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 68.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 68.40.3 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 68.40.4 | 3 | 2 | 5 |    |     |
|   | 68.40.5 | 3 | 2 | 5 | 22 | 4.4 |
| 7 | 70.40.1 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 70.40.2 | 3 | 1 | 4 |    |     |
|   | 70.40.3 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 70.40.4 | 2 | 1 | 3 |    |     |
|   | 70.40.5 | 2 | 1 | 3 | 17 | 3.4 |

Table 4. Hasil Pengamatan Allred kelompok 4  
**Nilai rerata kelompok 4 adalah 3,6**

**Analisa statistic**

**Tests of Normality**

|           | Group        | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|--------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|           |              | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig. |
| MeanofP53 | JantanLigasi | ,317                            | 6  | ,060  | ,831         | 6  | ,110 |
|           | BetinaLigasi | ,317                            | 6  | ,060  | ,741         | 6  | ,016 |
|           | ShameJantan  | ,207                            | 6  | ,200* | ,862         | 6  | ,196 |
|           | ShameBetina  | ,261                            | 7  | ,165  | ,849         | 7  | ,122 |

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas

Karena hasil analisa data tidak normal selanjutnya data dilakukan uji statistic non parametric yaitu kruskal wallis tes.

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

|             | MeanofP53 |
|-------------|-----------|
| Chi-Square  | 2,772     |
| df          | 3         |
| Asymp. Sig. | ,428      |

Table 6. Hasil Uji Kruskal Wallis

**DISCUSSION**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan ekspresi p53 kelompok 1 sebesar 4,5 , ekspresi p53 kelompok 2 sebesar 3,4, ekspresi p53 kelompok 3 sebesar 3,6, ekspresi p53 kelompok 4 sebesar 3,6. Dari data tersebut dilakukan uji normalitas sebelum di lakukan uji parametric atau non parametric.

**Tests of Normality**

|           | Group        | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|--------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|           |              | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig. |
| MeanofP53 | JantanLigasi | ,317                            | 6  | ,060  | ,831         | 6  | ,110 |
|           | BetinaLigasi | ,317                            | 6  | ,060  | ,741         | 6  | ,016 |
|           | ShameJantan  | ,207                            | 6  | ,200* | ,862         | 6  | ,196 |
|           | ShameBetina  | ,261                            | 7  | ,165  | ,849         | 7  | ,122 |

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas

Dari uji normalitas di dapatkan nilai normalitas  $> 0,05$  sehingga data tersebut dinilai tidak normal. Untuk selanjutnya karena data tidak normal maka dianalisa dengan uji non parametric uji kruskal wallis.

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

|             | MeanofP53 |
|-------------|-----------|
| Chi-Square  | 2,772     |
| df          | 3         |
| Asymp. Sig. | ,428      |

Dari uji kruskal wallis didapatkan nilai 0,428 ( $p>0,05$ ). Dengan nilai uji  $p>0,05$  berarti data hasil penelitian tersebut tidak signifikan atau Tidak terdapat pengaruh jenis kelamin terhadap ekspresi protein P53 otak tikus pasca Transient Bilateral Common Carotis Artery Occlusio (tBCCAO).

Mekanisme seluler apoptosis sel pasca iskemik serebral melibatkan faktor pro apoptosis yaitu P53. Pemberian pifithrin-alpha (PFT $\alpha$ ), suatu inhibitor p53 memperlemah transport p53 nuclear dan DNA binding, terbukti memperkuat neuron dan meningkatkan kesembuhan pasca stroke. Interaksi protein kinase 1(DAPK1) - p53 merupakan titik penting untuk menentukan apakah sel akan mengalami nekrosis atau apoptosis pada kejadian stroke iskemik. DAPK1 berikatan dengan p53DM dan mengkatalisis pS23, dimana akan masuk ke dalam inti dan mengaktifkan ekspresi gen pro apoptosis. Sebaliknya, jika pS23 masuk ke mitokondrial dan berinteraksi dengan cyclophilin D maka sel akan menjadi nekrosis. Interaksi DAPK1 - p53 merupakan target intervensi untuk terapi stroke (Lei *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014).

**CONCLUSION**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan ekspresi p53 kelompok 1 sebesar 4,5 , ekspresi p53 kelompok 2 sebesar 3,4, ekspresi p53 kelompok 3 sebesar 3,6, ekspresi p53 kelompok 4 sebesar 3,6. Uji kruskal wallis didapatkan nilai 0,428 ( $p>0,05$ ). Dari hasil uji statistic disimpulkan bahwa jenis kelamin tidak mempengaruhi ekspresi p53 neuron CPF tikus yang diinduksi BCCAO.

**REFERENCES**

Barbhuiya, A.M., Rahman, H. & Bardalai, D., 2015. Comparative Evaluation of Various Models of Ischemic Stroke in Rats. *Scholars Bulletin*, 2, pp.38–47.

Fann, D.Y. et al., 2013. Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes. *Ageing Research Reviews*, 12(4), pp.941–966. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2013.09.004>.

Gonca, E., 2015. Comparison of thiopental and ketamine+xylazine anesthesia in ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(6), pp.1413–1420.

Handayani, 2013, Angka Kejadian Stroke Pada Wanita Lebih Rendah Daripada Laki-laki, Skripsi, Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Himmelseher Sabine, M.D. & Durieux Ph.D., Marcel E., M.D., 2005. Ketamine for Perioperative Pain Management. *Anesthesiology*, 102(1), pp.211–220. Available at: <http://dx.doi.org/>.

Israr, Y., 2008,. Stroke, Skripsi, Fakultas Kedokteran Universitas Riau

Kim, S., Cho, K. & Kim, S.Y., 2008. White Matter Damage and Hippocampal Neurodegeneration Induced by Permanent Bilateral Occlusion of Common Carotid Artery in the Rat : Comparison between Wistar and Sprague-Dawley Strain. , 12(80), pp.89–94.

Larson, Franze, Billing, 2009, Protective effects of quercetin on rat pial microvascular changes during transient bilateral common carotid artery occlusion and reperfusion, *Journals Frontiers in Physiology*.1-12

Masood, Roach, Beauregard, et al, 2013, Window of opportunity: estrogen as a treatment for ischemic stroke. *Journals Brain Research*, 1513:83-90

Mehta, S.L., Manhas, N. & Raghubir, R., 2007. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics ☆. , 4.

Sanderson, T.H. & Wider, J.M., 2013. 2-Vessel Occlusion / Hypotension : A Rat Model of Global Brain Ischemia. *Journal of Visualized Experiments*, 76(June), pp.1–8.

Sudlow and Warlow, 2007, Stroke. *Lancet*:362:1211-1224 Townsend, 2012, Stroke Pathophysiology, <http://www.uic.edu/com/ferne/pdf/pathophys0501.pdf>[diupdate tanggal 19 Desember 2009, diakses 21 November 2016]

van der Spuy, W.J., Goosen, D.J. & Bosman, M.C., 2015. Hyperglycemic Modification to Classical Two-Vessel Occlusion for Inducing Transient Cerebral Ischemia in Sprague-Dawley Rats. *Journal of Neurophysiology and Neurological Disorders*, 2(1), pp.1–5. Available at: <http://www.jscholaronline.org/full-text/JNND/301/Hyperglycemic-Modification-to-Classical-Two-Vessel-Occlusion.php>.

- Traystman, R., 2003. Animal Models of Focal and Global Cerebral Ischemia. *ilarjournal*, 44(2), pp.85–95.
- Wang, Y. et al., 2016. White matter injury in ischemic stroke. *Progress in Neurobiology*, 141, pp.45–60. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.04.005>.
- WHO, 1986.<http://www.who.int/gho/en/> [diupdate 13 Januari 2009, diakses 21 November 2016]
- Zhang, J.Z. et al., 2007. Inhibitory effect of ketamine on phosphorylation of the extracellular signal-regulated kinase1/2 following brain ischemia and reperfusion in rats with hyperglycemia. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59(3-4), pp.227–235.
- Limor Raz , Quan-guang Zhang , Dong Han, Yan Dong, Liesl De Sevilla, Darrell W. Brann . 2011 Acetylation of the Pro-Apoptotic Factor, p53 in the Hippocampus following Cerebral Ischemia and Modulation by Estrogen DOI: 10.1371/journal.pone.0027039 PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org)
- Luna, A., Aladjem, M.I., Kohn, K.W. 2013. SIRT1/PARP1 crosstalk: connecting DNA damage and metabolism. *Genome Integrity*, 4:6
- Lei Pei, You Shang, Huijuan Jin, Shan Wang, Na Wei, Honglin Yan, Yan Wu, Chengye Yao, Xiaoxi Wang, Ling-Qiang Zhu, and Youming Lu. 2014. Neurobiology of Disease DAPK1–p53 Interaction Converges Necrotic and Apoptotic Pathways of Ischemic Neuronal Death. *The Journal of Neuroscience*, 34(19):6546 – 655
- Majid, A. 2014. Review Article Neuroprotection in Stroke: Past, Present, and Future. *ISRN Neurology*. Article ID 515716, 17 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/515716>
- Niizuma, K., Endo, H., Chan, P.H. 2009. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction as determinants of ischemic neuronal death and survival. *J Neurochem*. 109(Suppl 1): 133–138. doi:10.1111/j.1471-4159.2009.05897.x.
- Petegnief, V., Planas, A.N. 2013. SIRT1 regulation modulates stroke outcome *Translational Stroke Research*, Doi: 10.1007/s12975-013-0277-y
- Rahman, S., Islam, R. 2011. Mammalian Sirt1: insights on its biological functions. *Cell Communication and Signaling*, 9:11 <http://www.biosignaling.com/content/9/1/11>
- Secades, J.J. 2012. Probably role of citicoline in stroke rehabilitation: review of the literature. *Rev Neurol*; 54 (3): 173-179
- Shin, 2009. The NAD World: A new systemic regulatory network for metabolism and aging – Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. *Biochem Biophys*. 53(2): 65–74. doi:10.1007/s12013-008-9041-4.
- Vassilopoulos, A., Fritz, K.S., Petersen, D.R., and Gius, D. 2011. The human sirtuin family: Evolutionary divergences and functions . *Human Genomics*. VOL 5. NO 5. 485–496
- Wignall, N.D., Brown, S. 2014. Citicoline in Addictive Disorders: A Review of the Literature. *Am J Drug Alcohol Abuse*. July ; 40(4): 262–268. doi:10.3109/00952990.2014.925467
- Wang, X et al., 2014. Intervention of Death-Associated Protein Kinase 1–p53 Interaction Exerts the Therapeutic Effects Against Stroke. *45: 3089-3091* doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006348
- Yang, Y., Jiang, S., Dong, Y., Fan, C. Zhao, L., Yang, X., Li, J., Di, S., Yue, L., Liang, G., Reiter, R.J., Qu, Y. 2015. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice. *J. Pineal Res*. 58:61–70 Doi:10.1111/jpi.12193



# Screening Streptococcus Pneumoniae Dengan Gen *PsaA* Sebagai Faktor Virulensi Dari Spesimen Klinis Sputum Di RSUP Wahidin Sudirohusodo Makassar

Mustika Sari H Hutabarat

DIV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan UNIKA Musi Charitas;  
Mustikasarihutabarat33@gmail.com

## ABSTRACT

**Background and Objective:** The aim of this study was to evaluate the performance of the molecular method using PCR (Polymerase Chain Reaction) in detecting the pneumococcal surface adhesin (*PsaA*) gene which is a virulence factor of Streptococcus pneumoniae in clinical samples of sputum. **Material and Methods:** 60 clinical samples of sputum were collected from the Wahidin Sudirohusodo General Hospital, where 53 (88.3%) of them were identified microscopically, gram-positive coccus, were isolated on agar media with blood incubated with 5% CO<sub>2</sub> addition. Colony growth was confirmed by the Ophocin susceptibility test and continued by PCR to detect the presence of the *PsaA* gene. **Results:** A total of 53 sputum samples obtained microscopic, cultured, and biochemical results leading to Streptococcus then confirmed by ophocin susceptibility test and PCR test as a comparison. The results of the Ophocin 3 test (12%) were sensitive, while the PCR test using the *PsaA* gene was more sensitive by 12 (28.6%). **Conclusion:** The *PsaA* gene as a virulence factor of Streptococcus pneumoniae can be used to screen Streptococcus pneumoniae as early identification of clinical sputum samples in hospital.

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*, *PsaA*, PCR

## INTRODUCTION

*Streptococcus pneumoniae* (pneumokokus) merupakan penyebab utama penyakit manusia yang serius yang dikenal dengan *Invasive Pneumococcal Disease* (IPD), terutama pneumonia (60-80%) yang didapat dimasyarakat (*Community Acquired Pneumonia*). Di negara berkembang, pneumokokus bertanggung jawab atas kematian sejumlah besar anak di bawah usia 5 tahun akibat pneumonia pneumokokus (PnCAP), namun bakteri ini juga dapat menyebabkan *sinusitis*, *otitis media*, *mastoiditis*, *conjunctivitis*, *meningitis*, dan *endocarditis* <sup>(1)</sup>. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini terjadi melalui jalan saluran pernafasan kemudian terjadi kolonisasi di dalam nasofaring lalu bakteri akan menembus sistem pertahanan barrier dan masuk ke dalam aliran darah yang selanjutnya persisten di selaput otak dan *Cerebro Spinal Fluid* (CSF) yang pada akhirnya dapat menyebabkan meningitis <sup>(2)</sup>.

Di Indonesia belum ada data prevalensi pneumokokus sebagai penyebab IPD, namun Profil Kesehatan Indonesia (2017)<sup>(3)</sup> dikatakan Pneumonia merupakan penyebab 16% kematian balita, yaitu diperkirakan sebanyak 920.136 balita di tahun 2015. Minimnya pelaporan penyakit oleh bakteri ini salah satunya disebabkan karena diagnosis infeksi pneumokokus secara klinis sering tidak khas dan metode konvensional yang masih menjadi metode *gold standart* sering memberikan hasil negative palsu hal ini bisa disebabkan sifat bakteri yang *fastidious* <sup>(4)</sup>.

*Streptococcus pneumoniae* memiliki beberapa faktor virulensi yang dikaitkan dengan berbagai struktur bakteri dimana sebagian besar terdapat di permukaan sel bakteri seperti polisakarida, protein permukaan, protein yang dikeluarkan, dan protein cytoplasmik. Dimana faktor virulensi polisakarida meliputi *Capsular polysaccharides* (CPS), *Cell Wall Polysaccharide* (CWPS), dan *Cell Wall Polysaccharide* (CWPS). Sedangkan pada faktor protein virulensi pada *Streptococcus pneumoniae* terdiri dari *Pneumococcal surface protein A* (PspA), *Pneumococcal surface protein C* (PspC), *Autolysin* (LytA), *Pneumolysin* (Ply), *Neuraminidase*, *Pneumococcal surface adhesion A* (*PsaA*), dan *IgA* <sup>(5)</sup>.

Untuk menentukan serotype dari *Streptococcus pneumoniae* dapat menggunakan metode kultur yaitu BAP yang diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% atau dengan menggunakan Agar coklat plate (CAP). Dilakukan pewarnaan gram sebelum dan sesudah kultur untuk memastikan bahwa sampel yang diperoleh dari pasien merupakan bakteri gram positif diplococcus agar dapat dilanjutkan uji katalase, dan ophocin secara bersamaan dengan kelarutan empedu sebagai tes konfirmasi fenotip. Jika tes ini menunjukkan hasil bahwa isolate merupakan *Streptococcus pneumoniae*, tes serologi untuk mengidentifikasi serotype dapat

dilakukan. Meskipun serotype pneumokokus biasanya tidak diperlukan untuk respon klinis, namun penentuan serotype kapsularnya menjadi komponen yang sangat penting untuk mengawasi keberhasilan dalam penerapan vaksin yang ada dan menilai dampak dari vaksin tersebut <sup>(6)</sup>. Distribusi serotype dapat ditentukan dengan kultur organisme diikuti dengan uji serologi tipe kapsular yaitu dengan agutinas lateks dan reaksi quellung <sup>(7)</sup>.

Tingginya biaya uji antisera, subjektivitas dalam interpretasi hasil, sensitivitas serta spesifitasnya yang rendah dan persyaratan keahlian teknis terkait dengan dilakukannya uji serologi ini telah menghasilkan pengembangan system serotype berbasis PCR. Banyak laboratorium telah memilih untuk menggunakan metode yang lebih sederhana dan lebih murah untuk mendeduksi serotype kapsular melalui penggunaan uji PCR. Selain metode ini dapat digunakan untuk menyederhakan proses identifikasi pneumokokus, merupakan cara yang efisien untuk menghemat waktu dan media reagen yang cukup mahal <sup>(8)</sup>. Metode PCR konvensional salah satu yang telah dikembangkan untuk menentukan serotype spesimen *S.pneumoniae*. Tersedia juga uji PCR multiplex konvensional untuk mendeteksi berbagai mikroorganisme dan uji PCR secara real time juga telah banyak dipublikasikan untuk menentukan banyak serotype pneumokokus pada umumnya, dan dalam penelitian ini kami mencoba untuk melakukan deteksi gen *PsaA* dengan menggunakan uji PCR konvensional melihat bahwa belum semua laboratorium memiliki fasilitas PCR yang lebih canggih.

## METHODS

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratorik laboratorium yaitu penelitian yang memberikan gambaran mengenai karakteristik tipe DNA faktor virulensi dari *Streptococcus pneumoniae* yang diisolasi dari sputum dengan menggunakan metode PCR dengan dirancang penelitian secara *cross sectional*. Penelitian ini dilakukan terhadap pasien dengan diagnosis awal atau sekunder pneumonia dan terinfeksi saluran pernapasan lainnya yang dirawat di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo di kota Makassar, Sulawesi Selatan.

### Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel cairan tubuh pasien yaitu sputum yang diproduksi secara spontan atau dengan diinduksi dengan nebulizer NaCl. Kualitas sputum dinilai secara mikroskopis dengan rasio leukosit dan epitel >1/ Lapang pandang, namun semua sampel sputum diproses dan diuji sesuai dengan prosedur terlepas dari kualitas sputum tersebut. Sputum diisolasi pada medium agar darah dan agar darah coklat. Koloni alfa hemolitik yang diduga *S.pneumoniae* diidentifikasi dengan uji susceptibility menggunakan *Ophocin* dan menggunakan uji kelarutan empedu serta reaksi *quellung* dengan omniserum pneumokokus. Uji *PsaA* dengan PCR dilakukan menggunakan instrument Bio Rad T100™ Thermal Cycler dimana fragmen 834-bp dari gen *PsaA* diamplifikasi dan dideteksi dengan metode elektroforesis agarose 2% dibaca dengan document gel. Isolate murni *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 dari laboratorium mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan sebagai control.

### Isolasi

Semua sampel yang diperoleh diidentifikasi terlebih dahulu secara mikroskopis dengan pewarnaan gram dan didapat hasil pemeriksaannya merupakan bakteri gram positif lalu diisolasi pada media agar darah plate dan agar coklat selama 24 jam dengan suhu inkubasi 24 jam dengan tambahan CO<sub>2</sub> 5%. Pertumbuhan dari BAP dan CAP menghasilkan pertumbuhan koloni bakteri yang memiliki zona bening  $\alpha$ -hemolitik, *waterish* lalu pertumbuhan koloni bakteri ini dikonfirmasi dengan uji susceptibility yang sensitif dengan *Ophochin* <sup>(9)</sup>. Setelah hasil menunjukkan bahwa isolate koloni ini merupakan *S.pneumoniae* maka dilanjutkan dengan pemeriksaan gen faktor virulensi *PsaA* menggunakan metode PCR konvensional.

### Uji Isolat Ekspresi Gen Sebagai Faktor Virulensi *S.pneumoniae PsaA*.

*PsaA* merupakan faktor virulensi pneumokokus yang memiliki berat molekul 37 kDa dan terdiri dari 309 residu. *PsaA* berfungsi dalam transport ion Mn<sup>2+</sup> dan Zn<sup>2+</sup> ke dalam sitoplasma pneumokokus. *PsaA* melekat pada membran sel dan komponen lipid pneumokokus melalui ikatan kovalen 6. Penelitian Morrison menyatakan bahwa *PsaA* diekspresikan oleh semua serotype (90 serotype) pneumokokus dan gen *PsaA* dapat dideteksi pada semua serotype pneumokokus tersebut dengan menggunakan teknik <sup>(10)</sup>.

Penelitian Morrison et al, (2000) ini dapat menunjukkan bahwa deteksi gen *PsaA* penting dalam mengidentifikasi pneumokokus secara molekular <sup>(10)</sup>. Penelitian ini menggunakan gen *PsaA* dengan primer berupa [5'CTTTCTGCAATCATTCTTG3'] sebagai forward primer dan [3'GCCTTCTTACCTTGTCTG5'] sebagai reverse primer dengan teknik PCR <sup>(11)</sup>.

#### 1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA isolat klinik diisolasi dari sputum pasien di rumah sakit menggunakan media agar darah plate. Kemudian koloni diekstrak dengan menggunakan reagen Trizol.

#### 2. Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan untuk mendeteksi adanya gen spesifik pengkode faktor virulensi. Reaksi amplifikasi dilakukan pada 50 µl menggunakan PCR core Invitrogen. Pasangan primer yang digunakan adalah: [5'CTTTCTGCAATCATTCTTG3'] sebagai forward primer dan [3'GCCTTCTTTACCTTGTTCTGC5'] sebagai reverse primer

Campuran reagen mix PCR core system (Toyobo) 20 ul, ddH<sub>2</sub>O 23 ul, Forward Primer 1 ul, Reverse Primer 1 ul, Template 5 ul sehingga total volumenya menjadi 50 ul. Pelaksanaan pencampuran bahan-bahan tersebut dilakukan dalam box pendingin supaya DNA dan enzim yang digunakan tidak rusak (Toyoba, 2000).

Kondisi PCR dalam amplifikasi ini yaitu: Temperatur pre denaturasi 95°C selama 10 menit, setiap siklus terdiri dari: Denaturasi (pemisahan DNA) 95°C selama 30 detik, *Annealing* (penempelan primer) 52 °C selama 30 detik, Elongasi/Ekstensi (pemanjangan DNA) 72 °C selama 2 menit (berlangsung sampai 35 siklus) tahap terakhir siklus diperpanjang 1 step elongasi 72°C selama 8 menit untuk memberi kesempatan proses elongasi berjalan dengan sempurna dan 1 step 12 °C *overwait* menjaga amplicon tetap stabil walaupun ditinggal 24 jam. Produk PCR (hasil amplifikasi) dianalisis menggunakan *elektroforesis gel agarose* 2% menggunakan penyelar *ethidium bromida* 2,5 ul/100 ml dan dibaca di bawah sinar ultra violet <sup>(6)</sup>.

## RESULTS

Sampel sputum sebanyak 60 dari pasien yang dirawat di RSUP Wahidin yang berasal dari pasien rawat inap di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dengan waktu rawat inap rata-rata > 5 hari. Usia rata-rata pasien diatas 45 tahun dan 43(75%) pasien adalah laki-laki 17(25%) adalah perempuan. Sebanyak 53(88,3%) dari 60 sampel pasien yang diperiksa secara mikrobiologi dari mulai mikroskopis, kultur, dan uji biokimia mengarah kepada bakteri *Streptococcus spp* kemudian dilakukan uji suseptibiliti dengan *Ophthocin* dan diperiksa dengan PCR sebagai pembanding. Diperoleh *S.pneumoniae* yang dikonfirmasi dengan hasil uji Ophthocin 3(5%) sampel sedangkan dengan uji PCR menggunakan gen *PsaA* didapatkan hasil yang lebih sensitive yaitu sebanyak 13 (24,5%).

Sampel penelitian berasal dari pasien rawat inap yang tidak spesifik terdiagnosa pneumonia, dimana hasil isolasi sputum terkonfirmasi bakteri *Streptococcus*, 3 (5%) sampel teridentifikasi sebagai *Streptococcus pneumoniae* ditandai dengan uji sensitivitas terhadap Ophthocin dengan membentuk zona bening > 14 mm (12). Walaupun pada umumnya pneumokokus sensitif terhadap optochin, namun dapat ditemukan pula strain pneumokokus yang resisten terhadap optochin <sup>(13)</sup>. Maka dari itu seluruh sampel yang teridentifikasi *streptococcus spp* diperiksa dengan uji PCR menggunakan gen pengkode faktor virulensi *Streptococcus pneumoniae* yaitu *Pneumococcal surface adhesin A (PsaA)* <sup>(10)</sup>.

**Tabel 1.** Sampel positive dengan *PsaA* uji PCR<sup>a</sup>

| Diagnosis                                   | Pasien     | Hasil Positif <i>PsaA</i> |
|---|------------|---------------------------|
| <b>Pneumonia sebagai diagnosis utama</b>    | 13 (24,5%) | 5/13 (38,5%)              |
| <b>Pneumonia sebagai Diagnosis sekunder</b> | 16 (30,2%) | 8/16 (50%)                |
| <b>Diagnosis lainnya</b>                    | 24 (45,3%) | 0/0                       |
| <b>Total sampel</b>                         | 53         | 13                        |

<sup>a</sup> sampel berasal dari pasien rawat inap di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo.

Sampel klinis yang menunjukkan pita pada foto elektroforesis yang sesuai dengan ukuran pasangan basa (Bp) yang diharapkan menggunakan *PsaA* (table 1). Sensitivitas *PsaA* dengan PCR dalam spesimen klinis sputum sebanyak 13 (24,5%) sampel yang positif dari 53 sampel, dimana berdasarkan data rekam medik sampel positif *PsaA* sebanyak 5/13 (38,5%) dengan diagnosis utama CAP dan 8/13 sampel (61,5%) berasal dari pasien dengan diagnosis sekunder CAP. Analisis sampel klinis sputum yang diambil dari pasien yang dirawat inap lebih dari 5 hari dari penyakit klinis lebih cenderung positif oleh *PsaA* dengan PCR dibandingkan dengan sampel yang dianalisis dari pasien yang dirawat inap kurang dari 5 hari (table 2)

**Tabel.3.** Distribusi sampel positif gen *PsaA*

|               | Pneumokokus yang ditemukan | Sampel yang tidak terpapar antibiotik<br>N: 10 | sempel sebelum terpapar antibiotik <24 jam<br>N: 13 | Sampel yang telah terpapar antibiotik > dari 24 jam<br>N:30 |
|---------------|----------------------------|--|---|---|
| Metode kultur | 3/53 (5,6%)                | 2  | 1   | 0   |
| Metode PCR    | 13/53 (25.0%)              | 4  | 7   | 2   |

## DISCUSSION

Masih terbatasnya diagnosis yang akurat untuk mendeteksi *Streptococcus pneumoniae* dikarenakan metode yang ada saat ini masih kurang sensitive dan sulitnya mendapatkan spesimen yang tepat untuk diperiksa menjadi kendala dalam mengidentifikasi pneumokokus sebagai diagnosis etiologi, seperti kultur darah yang jelas dapat memberikan diagnosis etiologi namun ternyata masih kurang akurat untuk digunakan mendeteksi pneumokokus dikarenakan kejadian bakteremia pada kasus CAP kurang dari 30%, urin yang memiliki spesifisitas tinggi untuk mendeteksi antigen juga tidak akurat dikarenakan sensitivitasnya yang rendah dalam mendeteksi. Sedangkan uji molekuler dengan PCR dikatakan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mengidentifikasi<sup>(14)</sup>.

Dalam penelitian ini menggunakan sampel klinis sputum yang berasal dari pasien suspek pneumoniae bukan dari pasien yang spesifik terdiagnosis *Pneumonia Community Acquired Pneumonia* (PnCAP), dimana kami ingin menilai apakah uji PCR dapat digunakan untuk mendeteksi pneumokokus dalam sputum. Pemilihan sputum sebagai subjek penelitian berdasarkan pelaporan terdahulu oleh Maesro, 2016<sup>(15)</sup>, menyebutkan bahwa prevalensi hasil positif dengan PCR pada sampel sputum lebih tinggi (94%) dari sampel nasofaring (62%) pada pasien dewasa (usia rata-rata 71 tahun) spesifik pneumonia selain itu sputum merupakan spesimen yang lebih mudah diantara yang lain (nasofaring, cairan pleura) untuk dilakukan pengambilan sehingga dapat dijadikan sebagai identifikasi awal.

Hasil identifikasi dengan metode kultur hanya diperoleh 3 (5%) yang positif 53 sampel lainnya dinyatakan negative berdasarkan uji ophocin. Kemungkinan hasil kultur negative dapat dipengaruhi oleh lamanya sampel terpapar antibiotik dan jumlah bakteri yang rendah dalam sampel ( $10^3$  CFU/mL). Namun hal ini tidak berpengaruh secara signifikan terhadap identifikasi dengan metode PCR yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi bakteri kurang dari  $10^3$  CFU/mL<sup>(11)</sup>.

Dalam penelitian ini tidak hanya pneumokokus yang teridentifikasi dengan metode kultur yang akan dideteksi dengan gen *PsaA*-PCR namun terdapat beberapa spesimen sputum kultur negative pneumokokus ketika dikonfirmasi dengan uji *PsaA*-PCR lebih sensitive yaitu sebanyak 13 (25%) dari 50 sampel yang negative secara kultur (table 3). Data yang diperoleh terkait dengan penelitian ini yang juga menggunakan gen *PsaA* menunjukkan hasil yang lebih tinggi yaitu Scoot, et al (2003) mendapatkan sampel positif *PsaA* sebanyak 55% dan Sanz JC et al. (2016)<sup>(16)</sup>, sebanyak 91,7% hal ini dikarenakan spesimen yang digunakan adalah spesifik pada penderita pneumonia (PnCAP) sementara pada penelitian ini menggunakan sampel sputum yang tidak spesifik dari pasien pneumonia (PnCAP).

Dihubungkan dengan pasien CAP yang telah menerima antibiotik pada kunjungan fase akut sebelum pengambilan sampel dahak memiliki rata-rata beban genomik pneumokokus pada dahak yang lebih rendah dari pada mereka yang tidak terpapar antibiotik pada saat kunjungan atau dalam waktu 2 minggu sebelum kunjungan. Namun meskideikian dapat dibuktikan walau dengan metode kultur sensitive terhadap keberadaan antibiotik tapi dengan gen *PsaA*-PCR tetap dapat teridentifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa gen *PsaA* lebih sensitive dalam mengidentifikasi pneumokokus.

## CONCLUSION

PCR konvensional dengan menggunakan Gen *PsaA* dapat digunakan untuk skrining *Streptococcus pneumoniae* dari spesimen klinis sputum di rumah sakit sebagai identifikasi awal terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

## REFERENCES

- Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Mietzner TA, Morse SA. Summary for Policymakers. In: Intergovernmental Panel on Climate Change, editor. Climate Change 2013 - The Physical Science Basis [Internet]. Cambridge: Cambridge University Press; 2011. p. 1–30. Available from: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book\\_part](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book_part)
- Hutabarat MS, Hamid F, Djaharuddin I, Zainuddin A, Agus R, Massi MN. Detection of *LytA* Genes in *Streptococcus pneumoniae* Isolated from sputum pneumonia patients. Biomedika. 2020;
- Kementerian Kesehatan RI. Profil Penyakit Tidak Menular Tahun 2016. Journal of Chemical Information

- and Modeling. 2016.
- Bandettini R, Melioli G. Laboratory diagnosis of Streptococcus pneumoniae infections: Past and future. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2012.
- AlonsoDeVelasco E, Verheul AFM, Verhoef J, Snippe H. Streptococcus pneumoniae: Virulence factors, pathogenesis, and vaccines. *Microbiological Reviews*. 1995.
- Saukkoriipi A, Palmu AA, Jokinen J. Culture of all sputum samples irrespective of quality adds value to the diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(7):1249–54.
- Mousavi SF, Nobari S, Ghezelgeh FR, Lyriai H, Jalali P, Shahcheraghi F, et al. Serotyping of Streptococcus pneumoniae isolated from Tehran by Multiplex PCR: Are serotypes of clinical and carrier isolates identical? *Iran J Microbiol*. 2013;
- Scholz CFP, Poulsen K, Kilian M. Novel Molecular Method for Identification of Streptococcus pneumoniae Applicable to Clinical Microbiology and 16S rRNA Sequence-Based Microbiome Studies. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012 Jun;50(6):1968–73. Available from: <https://jcm.asm.org/content/50/6/1968>
- Muthmainnah M, Hatta M, Massi MN, Hamid F, Djaharuddin I, Ferial EW, et al. Deteksi gen pneumolysin (ply) Streptococcus pneumoniae pada Sampel Klinis Usia Lanjut secara Kultur dan PCR. *J Ris Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*. 2020;
- Morrison KE, Lake D, Crook J, Carlone GM, Ades E, Facklam R, et al. Confirmation of psaA in all 90 serotypes of Streptococcus pneumoniae by PCR and potential of this assay for identification and diagnosis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2000 Jan;38(1):434–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10618136>
- Scott JAG, Marston EL, Hall AJ, Marsh K. Diagnosis of pneumococcal pneumonia by psaA PCR analysis of lung aspirates from adult patients in Kenya. *J Clin Microbiol*. 2003;41(6):2554–9.
- Carvalho MGS, Steigerwalt AG, Thompson T, Jackson D, Facklam RR. Confirmation of Nontypeable Streptococcus pneumoniae-Like Organisms Isolated from Outbreaks of Epidemic Conjunctivitis as Streptococcus pneumoniae. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2003 Sep 1;41(9):4415–7. Available from: <http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.41.9.4415-4417.2003>
- Pinto TCA, Souza AR V., de Pina SECM, Costa NS, Borges Neto AA, Neves FPG, et al. Phenotypic and Molecular Characterization of Optochin-Resistant Streptococcus pneumoniae Isolates from Brazil, with Description of Five Novel Mutations in the atpC Gene. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2013 Oct 1;51(10):3242–9. Available from: <https://jcm.asm.org/content/51/10/3242>
- Vernet G, Saha S, Satzke C, Burgess DH, Alderson M, Maisonneuve J-F, et al. Laboratory-based diagnosis of pneumococcal pneumonia: state of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(3):1–13.
- Wu CCCL, Chan K, Cheng Y, Yeh Y, Chien C, Wijesuriya J, et al. Recommendations for standards of monitoring during anaesthesia and recovery (4th Edition). *Anesth Analg*. 2015;
- Maestro B, Sanz J. Choline Binding Proteins from Streptococcus pneumoniae: A Dual Role as Enzybiotics and Targets for the Design of New Antimicrobials. *Antibiotics* [Internet]. 2016 Jun 14;5(2):21. Available from: <http://www.mdpi.com/2079-6382/5/2/21>

# The Use Of Bioinformatics Techniques In Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Using Vp4 / Vp2 Gene In Detecting Human Rhinovirus A And B

Asryadin

Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM), DPC. PATELKI Kota Bima NTB; baikadhin@yahoo.co.id

## ABSTRACT

*Human rhinovirus* is a major cause of respiratory illness in children and adults and causes exacerbation of asthma up to 50% and chronic obstructive pulmonary disease. HRV consists of 3 species: HRV-A, HRV-B and HRV-C, each of which has several different serotypes. HRV contains a protein capsid consisting of four structural proteins namely VP1, VP2, VP3 and VP4 and seven nonstructural proteins. HRV consists of more than 100 different serotypes, which have been shown to correlate with VP4 / VP2 gene sequences. The HRV classification based on the VP4 / VP2 region is used to distinguish HRV serotypes. In this research, the design of sequence of primer couple and probe gan VP4 / VP2 using bioinformatics technology

The aim of the study was to designing primers and probes sequence for quantitative probes Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction using VP4 / VP2 gene Human rhinovirus serotype A and B. The research design was descriptive with type of cross sectional study. The data obtained were analyzed descriptively.

The result of research is obtained by primer forward sequence: 5'CTGCATCCAGTGGAGCTTC3'; reverse primer: 3'CCGAATACCACAAGCCTC5' 'with an amplicon length of 132 base pair, and the probe sequence: 5'GACCCAAGTAAGTTCACAGATCC3' for HRV-A. While for HRV-B are forward sequence: 5'CCTAATGTGGAGGCATGTG 3'; reverse primer: 3'CTGCATAAGCCACAACCG5' 'with an amplicon length of 132 base pair, and the probe sequence: 5'GGGTTTCAGCAGATCACGCTTG'3. The sequence of primers pair and probe pairs is eligible for qRT-PCR.

**Key Words :** *Human rhinovirus* (HRV), Primer and Probe, VP4/VP2 gene.

## INTRODUCTION

*Human rhinovirus* (HRV) merupakan penyebab paling umum dari infeksi saluran pernapasan atas yang menyebabkan beban ekonomi cukup tinggi bagi suatu negara (Allander, 2005). HRV merupakan virus yang sering dikaitkan dengan peningkatan derajat keparahan penyakit paru kronis, perkembangan asma serta bronkiolitis berat pada bayi dan anak-anak serta pneumonia fatal pada lansia. Saat ini belum ada agen antivirus spesifik yang digunakan untuk pengobatan infeksi HRV (Susanna, 2007).

HRV terdiri dari 3 spesies yaitu HRV-A, HRV-B dan HRV-C yang masing-masing memiliki beberapa serotipe yang berbeda (Daryl L. et al, 2006; Ann C.P. and Liggett, S.B, 2010). HRV mengandung protein kapsid yang terdiri dari empat protein struktural yaitu VP1, VP2, VP3 dan VP4 serta tujuh protein nonstruktural. Klasifikasi HRV berdasarkan region VP4/VP2 digunakan untuk membedakan serotipe HRV (Oberste, 1999).

Diagnosis infeksi HRV penting untuk tujuan epidemiologis, penegakan diagnosa serta pemberian terapi pengobatan yang tepat. Awalnya, HRV dideterminasi melalui kultur sel maupun tes serologi, namun pada akhir 1980an, determinasi HRV menggunakan reverse traskripsi Polymerase Chain Reaction mulai dilakukan (Hyypia, et al., 1989). Sebagian besar deteksi menargetkan sekuen gen VP4/VP2 yang merupakan protein kapsid virus Rihkanen, et al., 2004; Coiras, et al., 2004).

Primer merupakan salah satu komponen paling penting dalam *real time* RT-PCR Pada penelitian dilakukan desain sekuen pasangan primer dan probe gen VP4/VP2 menggunakan teknologi bioinformatika (Baxevanis and Ouelette, 2000). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan desain sekuen pasangan primer dan probe untuk pemeriksaan HRV serotipe A dan B berbasis kuantitatif *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* menggunakan gen VP4/VP2.

## METHODS

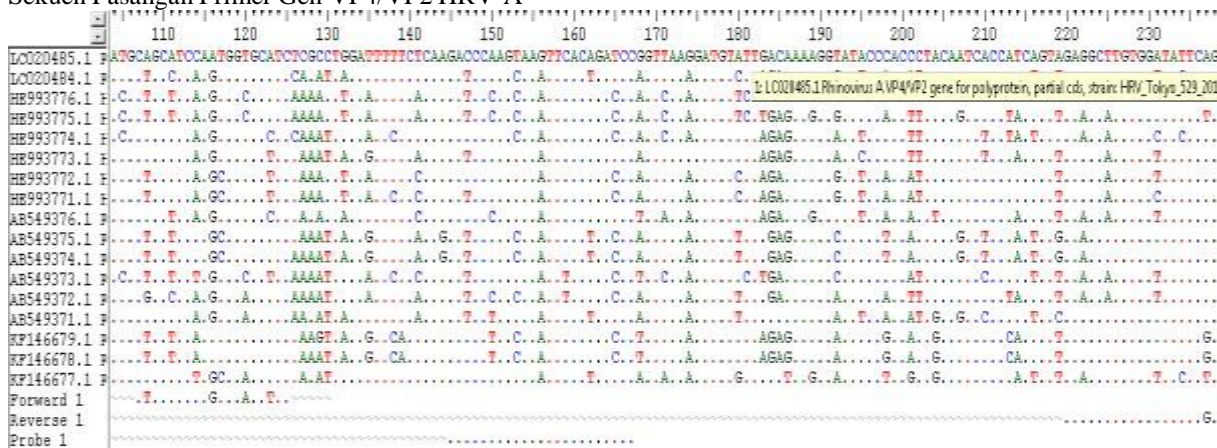
Informasi sekuen gen VP4/VP2 HRV-A dan HRV-B diunduh dari *NCBI nucleotide database GenPeptd* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Sekuen gen VP4/VP2 diambil pada serotipe maupun isolat HRV-A dan HRV-B yang disimpan dalam bentuk fasta file, dilakukan analisis penjajaran sekuen atau *multiple sequences alignment (MSA)* gen menggunakan algoritma *clustaW* software *Bioedit sequences alignment editor* versi 7.2.5.0., *conserved region* gen selanjutnya digunakan untuk menentukan kandidat pasangan primer. Selain itu juga dilakukan desain sekuen probe yang dipilih pada lokasi di antara sekuen pasangan primer.

Sekuen pasangan primer dan probe terpilih selanjutnya diuji kualitasnya yang meliputi : Penentuan *temperature melted (Tm)*, *temperature annealing (Ta)*, kandungan basa G dan C (*GC content*), *GC clamp*, *repeats* dan *runs*, serta pengujian untuk mengamati terbentuknya struktur sekunder seperti *self*, *cross* maupun *heterodimer*, juga diamati terbentuknya *hairpin loop* serta kesesuaian *Tm* pasangan primer, dilakukan analisis kesesuaian primer dengan organisme yang bersangkutan (HRV) menggunakan *Primer Blast Nucleotide Sequences* NCBI.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

Urutan gen VP4/VP2 HRV yang diunduh dari *National Center for Biotechnology Information (NCBI nucleotide database GenPeptd)* diambil dari HRV-A sebanyak 123 sekuen dan HRV-B 32 sekuen. VP4/VP2 dipilih karena merupakan gen dengan *conserved region* diantara serotipe HRV (Rotbart, 1990; Rihkanen, et al., 2004; Coiras, et al., 2004).

Sekuen Pasangan Primer Gen VP4/VP2 HRV-A



Gambar 1 MSA gen VP4/VP2 HRV-A dengan lokasi sekuen pasangan primer dan probe

Sekuen pasangan primer berada di posisi basa 107 sampai 125 (*forward*) dan di basa 220 sampai 238 (*reverse*) sedangkan probe berada di basa 145 sampai 167 (*Reference sequence HRV-A accession number LC020485.1*) dengan panjang amplicon 132 pasang basa. Urutan basa dan hasil uji kualitas pasangan primer gen VP4/VP2 HRV-A dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Pasangan Primer gen VP4/VP2 HRV-A

| Pasangan Primer                           | Panjang Primer (basa) | fragmen (bp) | Kand G C (%) | Tm (°C) | Repeat & runs | Struktur sekunder |
|---|-----------------------|--------------|--------------|---------|---------------|-------------------|
| <i>Forward</i><br>5'CTGCATCCAGTGGAGCTTC3' | 19                    | 132          | 57           | 60      | -             | -                 |
| <i>Reverse</i><br>3'CCGAATACCACAAGCCTC5'  | 18                    |              | 55           | 56      | -             |                   |

Sekuen primer memiliki panjang 19 basa (*forward*) dan 18 basa (*reverse*). Panjang primer memenuhi persyaratan yaitu antara 18-28 basa (Viljoen, et al., 2005) karena jumlah basa pada sekuen primer menentukan efisiensi proses PCR (Hung and Zhiping, 2016). Pasangan primer memiliki komponen basa G dan C (*GC content*) 57% (*forward*) dan 60% (*reverse*), dimana jumlah ini memenuhi persyaratan komponen basa sebesar lebih dari 50%. Komponen basa G dan C yang tinggi menentukan kestabilan primer karena memiliki 3 ikatan hidrogen (Viljoen, et al., 2005). Suhu leleh (*Tm*) primer sebesar 57°C (*forward*) dan 56°C (*reverse*) dengan perbedaan suhu 3°C., *Tm* primer dan perbedaan *Tm* pasangan primer memenuhi persyaratan yaitu suhu antara 52-60°C dengan perbedaan *Tm* tidak lebih dari 5°C. *Tm* sendiri merupakan suhu yang digunakan sebagai acuan untuk menentukan suhu *annealing (Ta)* (Eling, et al., 2014), apabila *Tm* lebih dari 65°C akan mengurangi efektifitas *annealing* sehingga amplifikasi DNA berjalan kurang baik.



Selain itu, perbedaan Tm lebih dari 5°C menyebabkan proses amplifikasi kurang maksimal (Eling, et al., 2014).

Pasangan primer menghasilkan ukuran amplicon sepanjang 132 pasang basa, ukuran tersebut sudah sesuai dan dapat digunakan pada amplifikasi qRT-PCR karena panjang produk PCR ideal berkisar antara 50-150 pasang basa (Thermofisher, 2016). Sekuen pasangan primer juga memenuhi persyaratan komposisi basa karena tidak terjadi *repeat* dan *runs* komponen basa. Pengulangan lebih dari 2 basa pada sekuen primer dapat menyebabkan terbentuknya struktur hairpin (Lorenz, 2012) serta tidak memiliki urutan basa yang di ulang terus menerus, karena pengulangan 3 atau lebih basa G atau C dapat menyebabkan kesalahan penempelan primer (Viljoen, et al., 2005).

Struktur sekunder yaitu hairpin loop dan dimer (*self*, *cross*, *heterodimer*) tidak terbentuk pada sekuen pasangan primer ditandai dengan energi yang diperlukan untuk memecah struktur hairpin ( $\Delta G$ ) pada ujung 3' kurang dari -3 kcal/mol. Struktur sekunder perlu dihindari karena dapat menghambat proses penempelan primer yang menyebabkan berkurangnya efisiensi PCR (Thermofisher, 2016). Hasil uji kualitas sekuen probe dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Probe gen VP4/VP2 HRV-A

| Sekuen Probe                | Panjang Primer (basa) | Kand G C (%) | Tm (°C) | Repeat & runs | Struktur sekunder |
|-----------------------------|-----------------------|--------------|---------|---------------|-------------------|
| 5'GACCCAAGTAAGTTCACAGATCC'3 | 23                    | 47           | 68      | -             | -                 |

Kualitas sekuen probe gen VP4/VP2 HRV-A memenuhi persyaratan untuk qRT-PCR. Hal ini terlihat dari panjang sekuen probe (23 basa), komponen basa G dan C (47%) serta Tm (68°C) yang juga lebih tinggi dari Tm pasangan primer. Pada Sekuen probe juga tidak terjadi pengulangan 2 basa lebih dari 4 kali dan tidak terjadi pengulangan 1 basa lebih dari 4 kali serta tidak terbentuk struktur sekunder yang dapat mempengaruhi hasil amplifikasi qRT-PCR (Dagher, et al., 2004).

Berdasarkan pengujian kemungkinan terjadinya reaksi silang (*avoid cross homology*), sekuen pasangan primer gen VP4/VP2 HRV-A menunjukkan homologi 100% dengan HRV yang dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.

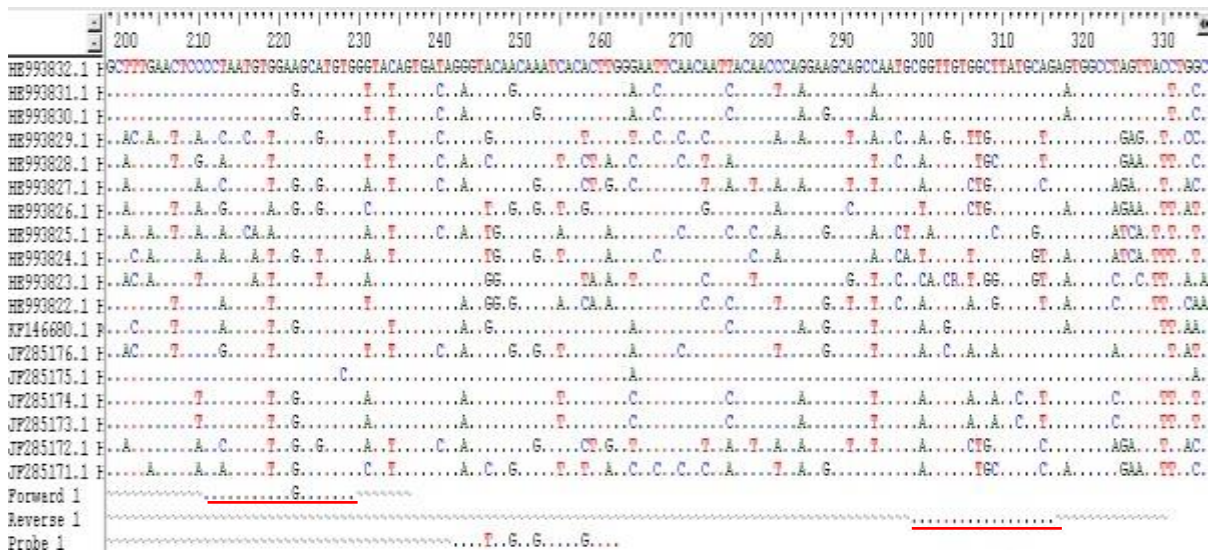
| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|
| <a href="#">Human rhinovirus A partial VP4/VP2 gene for polyprotein, P1 region, genomic RNA isolate DE8-8721</a> | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus A partial VP4/VP2 gene for polyprotein, P1 region, genomic RNA isolate DE9-2833</a> | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus sp. gene for polyprotein, partial cds, strain: HRV/OK108/153</a>                    | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus A strain HRV453_01164_sR1163_2009 polyprotein gene, partial cds</a>                 | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus A partial gene for polyprotein, VP4/VP2 region, genomic RNA isolate CF018077-10</a> | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus A strain S06-0509-U/VP4/VP2 protein gene, partial cds</a>                           | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |

Gambar 2 Hasil Pensejajaran Sekuen *Forward* Primer dengan BLAST NCBI

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|
| <a href="#">Rhinovirus A isolate CAT2409 VP4/2 protein gene, partial cds</a>                       | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A isolate CAT2375 VP4/2 protein gene, partial cds</a>                       | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A isolate CAT2336 VP4/2 protein gene, partial cds</a>                       | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A isolate CAT2300 VP4/2 protein gene, partial cds</a>                       | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A VP4/VP2 gene for polyprotein, partial cds, strain: HRV_Tokyo_528_2014</a> | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A strain HRV/Ilanbaata020127205 polyprotein gene, partial cds</a>           | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus A strain HRV/A103-MQNI06-TJ/N110 polyprotein gene, partial cds</a>          | 46.1      | 46.1        | 100%        | 0.007   | 100%  |

r  
d  
e  
n





Gambar 4. MSA gen VP4/VP2 HRV-B dengan lokasi sekuen pasangan primer dan probe

Sekuen pasangan primer berada di posisi basa 211 sampai 229 (*forward*) dan di basa 299 sampai 316 (*reverse*) sedangkan probe berada di basa 242 sampai 262 (*Reference sequence HRV-B accession number HE993832.1*) dengan panjang amplicon 106 pasang basa.

Urutan basa dan hasil uji kualitas pasangan primer gen VP4/VP2 HRV-B dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Pasangan Primer gen VP4/VP2 HRV-B

| Pasangan Primer                    | Panjang Primer (basa) | fragmen (bp) | Kand G C (%) | Tm (°C) | Repeat & runs | Struktur sekunder |
|------------------------------------|-----------------------|--------------|--------------|---------|---------------|-------------------|
| Forward<br>5'CCTAATGTGGAGGCATGTG3' | 19                    | 106          | 52           | 58      | -             | -                 |
| Reverse<br>3'CTGCATAAGCCACAACCG5'  | 18                    |              | 55           | 56      | -             |                   |

Sekuen primer memiliki panjang 19 basa (*forward*) dan 18 basa (*reverse*). Panjang primer memenuhi persyaratan yaitu antara 18-28 basa (Viljoen, et al., 2005). Pasangan primer memiliki komponen basa G dan C (*GC content*) 52% (*forward*) dan 55% (*reverse*) yang memenuhi persyaratan komponen basa sebesar lebih dari 50% (Viljoen, et al., 2005). Suhu leleh (*Tm*) primer sebesar 58°C (*forward*) dan 56°C (*reverse*) dengan perbedaan suhu 2°C yang memenuhi persyaratan (suhu antara 52-60°C) dengan perbedaan *Tm* tidak lebih dari 5°C (Eling, et al., 2014).

Pasangan primer menghasilkan ukuran amplicon sepanjang 106 pasang basa dan dapat digunakan pada amplifikasi qRT-PCR karena panjang produk PCR ideal berkisar antara 50-150 pasang basa (ThermoFisher, 2016). Selain itu jga sekuen tidak mengalami *repeat* dan *runs* komponen basa serta tidak memiliki urutan basa yang di ulang terus menerus, karena pengulangan 3 atau lebih basa G atau C dapat menyebabkan kesalahan penempelan primer (Viljoen, et al., 2005). Selain itu juga tidak terbentuk struktur sekunder yaitu hairpin loop dan dimer (self, cross, heterodimer) ditandai dengan energi yang diperlukan untuk memecah struktur hairpin ( $\Delta G$ ) pada ujung 3' kurang dari -3 kcal/mol. Hasil uji kualitas sekuen probe dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4.4 Sekuen dan Hasil Uji Kualitas Probe gen VP4/VP2 HRV-B

| Sekuen Probe               | Panjang Primer (basa) | Kand G C (%) | Tm (°C) | Repeat & runs | Struktur sekunder |
|----------------------------|-----------------------|--------------|---------|---------------|-------------------|
| 5'GGGTTTCAGCAGATCACGCTTG'3 | 21                    | 57           | 66      | -             | -                 |

Kualitas sekuen probe gen VP4/VP2 HRV-B memenuhi persyaratan untuk qRT-PCR (Gambar 4.4). Hal ini terlihat dari panjang sekuen probe (21 basa), komponen basa G dan C (57%) yang lebih tinggi dari komponen basa G dan C pasangan primer serta *Tm* (66 °C) yang juga lebih tinggi dari *Tm* pasangan primer. Tidak terjadi pengulangan 2 basa lebih dari 4 kali dan tidak terjadi pengulangan 1 basa lebih dari 4 kali serta tidak terbentuk struktur sekunder.

Berdasarkan pengujian kemungkinan terjadinya reaksi silang (*Avoid cross homology*), sekuen pasangan primer maupun probe gen VP4/VP2 HRV-B menunjukkan homologi 100% dengan HRV yang dapat dilihat pada gambar 5 dan 6.

| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|
| <a href="#">Human rhinovirus B partial VP4/VP2 gene for polyprotein, P1 region, genomic RNA isolate DE6-5156</a>  | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus B partial VP4/VP2 gene for polyprotein, P1 region, genomic RNA isolate DE10-7809</a> | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus K1208_280704 polyprotein gene, partial cds</a>                                       | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus B gene for VP4/VP2 protein, partial cds, isolate: HRVOKinawa_JPN1210</a>             | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus B gene for VP4/VP2 protein, partial cds, isolate: HRVOKinawa_JPN100709</a>           | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |
| <a href="#">Human rhinovirus sp. isolate PUMCH3826 polyprotein gene, partial cds</a>                              | 38.2      | 38.2        | 100%        | 1.2     | 100%  |

Gambar 5. Hasil Pensejajaran Sekuen *Forward* Primer dengan BLAST NCBI

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|
| <a href="#">Rhinovirus B isolate C4T3489 VP4/2 protein gene, partial cds</a> | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus B isolate C4T3221 VP4/2 protein gene, partial cds</a> | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus B isolate C4T2475 VP4/2 protein gene, partial cds</a> | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus B isolate C4T2435 VP4/2 protein gene, partial cds</a> | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus B strain 59A polyprotein gene, partial cds</a>        | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |
| <a href="#">Rhinovirus B strain 54A polyprotein gene, partial cds</a>        | 36.2      | 36.2        | 100%        | 4.7     | 100%  |

Gambar 6. Hasil Pensejajaran Sekuen *Reverse* Primer dengan BLAST NCBI

Berdasarkan hasil uji kualitas pasangan primer dan probe, sekuen pasangan primer dan probe tersebut memenuhi persyaratan dan dapat digunakan pada amplifikasi gen VP4/VP2 HRV-B menggunakan qRT-PCR.

### CONCLUSION

Diperoleh sekuen pasangan primer gen VP4/VP2 HRV-A yang memenuhi persyaratan yaitu sekuen *forward* : 5'CTGCATCCAGTGGAGCTTC3'; reverse *primer* :3'CCGAATACCACAAGCCTC5' probe : 5'GACCCAAGTAAGTTCACAGATCC3', dan sekuen pasangan primer gen VP4/VP2 HRV-B yang memenuhi persyaratan yaitu : sekuen *forward* : 5'CCTAATGTGGAGGCATGTG 3'; sekuen *reverse* primer : 'CTGCATAAGCCACAACCG5' serta probe : 5'GGGTTCAGCAGATCACGCTTG'3.

### REFERENCES

- Akoto, C., D.E. Davis and E.J. Swindle. 2016. Mast Cells are permissive for rhinovirus replication : potential implications for asma exacerbation., *Clinical and Experimental Allergy*, pp. 351-360.
- Arya, M., I.S. Shergill., M. Williamson, L. Gommersall, N. Arya and HR. Patel. 2005. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev Mol Diagn* (2), pp. 209-219.
- Baxevanis, A.D. and B.F. Ouelette. 2000. *Bioinformatics a practical guide to the analysis of genes and protein*, 3rd edition. Wiley interscience, pp. 1-449.
- Coiras, M.T., J.C. Aguilar, M.L. Garcia, I. Casas and P. Brena. 2004. Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex Reverse Transcription Nested-PCR assays. *Journal of Medical Virology* 72, pp. 484-495.
- Dagher, H., H. Donninger, P. Hutchinson, R. Ghildyal, and P. Bardin. 2004. Rhinovirus detection: comparison of real-time and conventional PCR. *J. Virol. Methods* 117, pp. 113-121.
- Eling, D.K., Sasmito, R. Kurniawan and I. Muhimmah. 2014. Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V 2014 6 Desember 2014*, pp. 93-101.
- Fenner, F. and D.O. White. 1973. *Medical virology*. Academic Press New York and London, pp. 247-248.
- Hewajuli, D.A. and Dharmayanti NLPI. 2014. Perkembangan teknologi reverse transcriptase Polymerase chain reaction dalam mendeteksi genom avian influenza. *Balai Besar penelitian Veteriner*, pp. 16-26.
- Hung, J. and Z. Weng, 2016. *Designing Polymerase Chain Reaction Primers Using Primer3Plus*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 821-826.

- Hyypia, T., P. Auvinen and M. Maaronen. 1989. Polymerase Chain Reaction for Human Picornaviruses. *J. Gen Virol.* (1989), 70, pp. 3261-3268.
- Kares, S., M. Lonnrot, P. Vuorinen, S. Oikarinen, S. Taurinen and H. Hyoty. 2004. Real-time PCR for rapid diagnosis of entero and rhinovirus infections using LightCycler. *J. Clin. Virol.* 29, pp. 99–104.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Profil Kesehatan Indonesia 2015. Pusat Data Dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2015, pp. 172-173.
- Lorenz, T.C. 2012. Polymerase Chain Reaction : Basic protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategy. *Journal of Visualized Experiments*, pp. 1-15.
- Lu X., Brian H, Ryan K.D, Caroline B.H, Jane K and Dean D.E. 2008. Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay for Comprehensive Detection of Human Rhinoviruses. *Journal Of Clinical Microbiology*, Feb. 2008, pp. 533–539.
- Mallia, P., *et al.* 2011. Experimental Rhinovirus Infection as a Human Model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 183, pp. 734–742.
- Nicholson, K.G., J. Kent and D.C. Ireland. 1993. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *Br Med J.*, pp. 982–986.
- Rihkanen, H., O. Carpen, M. Roivainen, A. Vaheri and A. Pitkaranta. 2004. Rhinovirus in adenoid tissue. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004 Jul;68(7), pp. 903-908.
- Viljoen, G.J., L.H. Nel and J.R. Crowther. 2005. *Molecular Diagnostic PCR Handbook*. Springer, pp. 1-260.
- Thermofisher, 2016. *Real-time PCR handbook*. Appliedbiosystem, pp. 2-68.

# Menentukan Control Positif (+) Pada Pemeriksaan Imunohistokimia Histofine (Polimer)

Suryanti

Laboratorium Patologi Anatomi; patologiyanti@gmail.com

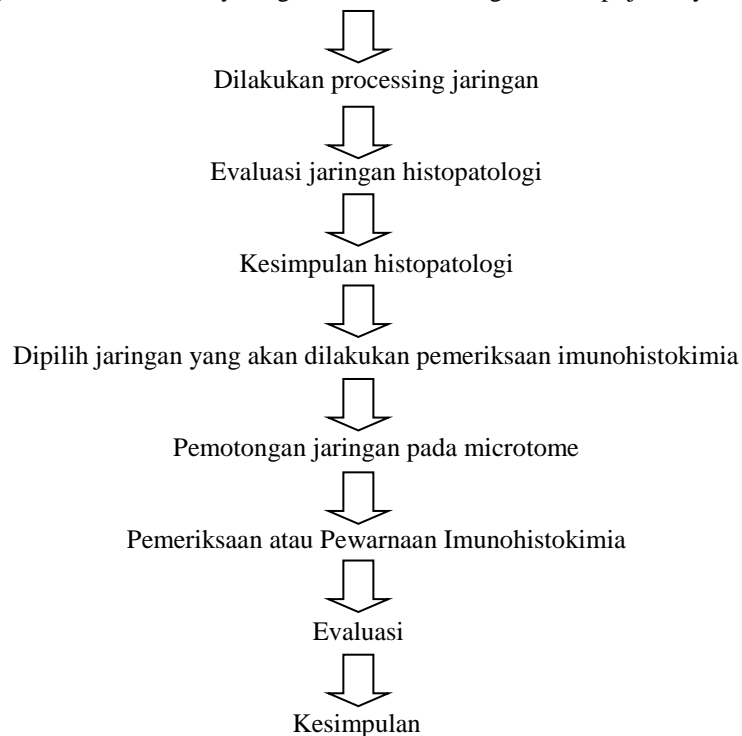
## INTRODUCTION

Pada pemeriksaan imunohistokimia kita selalu dihadapkan untuk mendapatkan control positif yang gambaran positifnya lebih dari 30% dari keseluruhan sel ganas pada jaringan tersebut, maka dari itu perlu dilakukan uji coba atau optimasi pemeriksaan imunohistokimia terhadap jaringan lain untuk menentukan control positif yang bisa di pakai pada pemeriksaan imunohistokimia.

## METHODS

### Kerangka Kerja

Jaringan dengan hasil FNAB adanya keganasan atau ada keganasan tapi jenisnya belum diketahui



### Populasi dan sampel penelitian

#### Populasi penelitian

Populasi penelitian ini adalah jaringan tumor yang dipengaruhi oleh hormon, protein, syaraf dan jaringan ikat yang ada di laboratorium Patologi Anatomi RSD Dr. Soebandi Jember terhitung mulai tahun 2019 sampai sekarang (2021)

#### Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah jaringan pasien yang sudah dipilih, disesuaikan dengan antibodi yang akan di tambahkan pada pemeriksaan imunohistokimia, sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan.

#### Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan peneliti yaitu teknik sampel purposive sampling. Purposive sampling adalah suatu teknik penetapan sampel dengan cara memilih sampel diantara populasi sesuai dengan yang dikehendaki peneliti sehingga sampel tersebut dapat mewakili karakteristik populasi yang telah dikenal sebelumnya.

## Lokasi dan Waktu Penelitian

### Lokasi Penelitian

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSD Dr. Soebandi Jember.

### Waktu penelitian

Pemeriksaan sampel dilakukan mulai tahun 2019 sampai sekarang (2021)

## Penanganan Jaringan

1. Persiapan wadah yang besarnya sesuai dengan besarnya jaringan.
2. Isi wadah dengan formalin buffer 10% dengan volume minimal 5 kali volume jaringan.
3. Masukkan sesegera mungkin jaringan segar ke dalam wadah formalin kurang dari 30 menit.
4. Beri label identitas pasien dan jenis jaringan.
5. Dilakukan processing jaringan dengan fiksasi sempurna, dehidrasi, clearing dan impregnasi.
6. Pengeblokan dengan paraffin.
7. Pemotongan dengan microtome.
8. Dilakukan pewarnaan Hematoxylin Eosin
9. Evaluasi
10. Kesimpulan
11. Dipilih blok yang sel ganasnya banyak, tidak degenerated, tidak ada nekrosis atau ada nekrosis tapi hanya sedikit.
12. Pemberian kode pemeriksaan sesuai nomor urut pemeriksaan Imunohistokimia
13. Pemotongan dengan microtome.
14. Dilakukan pemeriksaan atau pewarnaan Imunohistokimia.

## Prosedur Pemeriksaan atau Pewarnaan Imunohistokimia.

1. Deparafinasi (xylol I, xylol II, xylol III) (@ 5 menit)
2. Rehidrasi alkohol (alcohol absolute, 96%, 90%, 80%, 70%) (@ 5 menit)
3. Di cuci air mengalir 5 menit
4. Diberi pembatas dengan menggunakan Pap pen
5. Blocking dengan 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam methanol (proxy Block) 20 menit
6. Dicuci dengan air mengalir 5 menit
7. Dimasukkan dalam antigen retrieval dan di panaskan dalam declocking chamber selama 20 menit
8. Didinginkan 20 menit
9. Tambahkan antibody primer (ER, PR, HER2, dll) 1-24 jam
10. Dicuci dalam PBS 2x @ 5 menit
11. Tambahkan Polymer Histofine 30 menit
12. Dicuci dalam PBS 2x @ 5 menit
13. Tambahkan DAB 2-5 menit
14. Dicuci dengan air mengalir 5 menit
15. Hematoxylin 1 menit
16. Dicuci dengan air mengalir 5 menit
17. Litium Karbonat Solution 30 detik
18. Dicuci dengan air mengalir 5 menit
19. Dehidrasi (alcohol 70%, 80%, 90%, 96%, alcohol absolute) (@ 5 menit)
20. Clearing (xylol I, xylol II, xylol III) (@ 5 menit)
21. Tutup dengan cover glass

## Cara Kerja pada Pemeriksaan atau Pewarnaan Imunohistokimia

- Pemanasan slide setelah dipotong dengan microtome untuk lebih merekatkan jaringan ke coated slide dan mempermudah kerja xylol untuk menghilangkan paraffin.
- Xylol untuk menghilangkan paraffin
- Rehidrasi alkohol bertingkat untuk melembabkan jaringan supaya reagen mudah masuk dan bereaksi
- Antigen retrieval dengan pemanasan untuk membuka epitop yang tertutup karena cross linking akibat dari proses fiksasi jaringan
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk blocking endogen peroksida pada jaringan yang dapat menyebabkan false positif
- Antibodi primer sebagai marker yang akan berikatan dengan antigen
- Antibodi sekunder dari kit histofine nichirei merupakan polimer yang sudah berlabel enzim HRP (horse radish peroksidase)
- DAB kromogen akan memberikan warna coklat pada ikatan antigen – antibody saat berikatan dengan enzim HRP

- Hematoxillin sebagai warna untuk background
- Litium Carbonat untuk mempertegas warna hematoxillin

Endogen peroksida pada jaringan harus di block dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> karena bila tidak di block maka endogen peroksidase akan berikatan dengan enzim HRP dan DAB juga bereaksi dengan endogen peroksidase yang kemudian DAB akan memberikan warna coklat pada sel dan menjadi false positif.

#### Pengenceran reagen

- Universal Retrieval Buffer  
1 : 9 (10 ml Universal Retrieval Buffer ditambahkan 90ml aquadest) bisa dipakai 3x dengan catatan masih jernih, tidak kotor, tidak ada endapan.
- PBS Buffer  
1 pouch PBS Buffer ditambahkan 2 liter aquadest, PH antara 7,2 sampai 7,4
- Pengenceran antibodi  
1 : 50 (20 mikroliter antibodi primer +980 mikroliter diluent) atau untuk menhemat bisa 1 : 100

#### Evaluasi Hapusan

- Sediaan diamati dulu dengan lensa obyektif 10x
- Setelah mendapat lapang pandang yang bagus, pindah lensa obyektif ke 40x
- Dilakukan pengamatan pada inti sel, sitoplasma, membran sel, syaraf dan lain-lain disesuaikan dengan antibodi yang diminta klinisi.

Hasil positif (+) untuk antibodi ER, PR, Ki67 pada inti sel, inti sel akan terpulas positif (+) atau berwarna coklat.

Hasil positif (+) untuk antibodi Her-2 pada membran sel, membran sel akan terpulas positif (+) atau berwarna coklat.

Hasil positif (+) untuk antibodi S100 pada syaraf, syaraf akan terpulas positif (+) atau berwarna coklat

Hasil positif (+) untuk antibodi Vimentin, Cytokeratin, CD20, CD45 pada sitoplasma, sitoplasma akan terpulas positif (+) atau berwarna coklat.

## RESULTS

#### Penyajian Data

Tabel 4.1 Hasil optimasi Imunohistokimia pada jaringan dalam kurun waktu tahun 2019 sampai sekarang

| Diagnosa Jaringan       | Nomor HPA   | Antibodi |    |       |       |           |              |      |      |       |
|-------------------------|-------------|----------|----|-------|-------|-----------|--------------|------|------|-------|
|                         |             | ER       | PR | Her 2 | Ki6 7 | Vim entin | Cytok eratin | S100 | CD20 | CD4 5 |
| Paget's Disease         | PA19-358 I  | +        | -  | +     | +     | -         | -            | -    | -    | -     |
| R. Lymphoid Hyperplasia | PA19-212 II | -        | -  | -     | +     | -         | -            | -    | +    | +     |
| NHL Colon               | PA19-366 VI | +        | +  | -     | +     | -         | -            | -    | -    | -     |
| Invasive Ca             | PA19-376 IV | +        | +  | +     | +     | -         | -            | -    | -    | -     |
| Fibroadeno              | PA19-62 I   | -        | +  | -     | -     | -         | -            | -    | -    | -     |

|  |                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ma mamma                                 |                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| Complex Fi<br>broadenoma                 | PA19-<br>229 II  | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Complex Fi<br>broadenoma                 | PA19-<br>250 I   | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Fibroadenoma<br>mamma                    | PA19-<br>255 I   | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Invasive Ca                              | PA19-<br>412 I   | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| R. Lymphoid<br>Hyperplasia               | PA19-<br>201     | - | - | - | - | - | - | - | + | + |
| Complex<br>Fibroadenoma<br>mamma         | PA19-<br>444 II  | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Invasive<br>Lobular Ca                   | PA19-<br>481 III | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Poorly diffe<br>rentiated<br>Invasive Ca | PA19-<br>558 IV  | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Papilla mamma                            | PA19-<br>619 I   | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Fibroadenoma<br>mamma                    | PA19-<br>76 II   | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca                              | PA19-<br>637 V   | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ductal<br>Ca                    | PA19-<br>644 I   | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma<br>mamma                    | PA19-<br>84 II   | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Undifferentiatd<br>Ca                    | PA19-<br>660     | - | - | - | - | - | - | - | + | + |

|                         |              |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-------------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Invasive Ca             | PA19-778 II  | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma mamma      | PA19-1605    | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca             | PA19-808 IV  | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Metaplastic Ca          | PA19-787 II  | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca             | PA19-1068 II | + | + | - | + | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca             | PA19-1170 I  | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma mamma      | PA19-1207 I  | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Invasive Ca             | PA19-1189 II | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| R. Lymphoid Hyperplasia | PA19-1170 V  | - | - | - | - | - | - | - | + | + |
| Invasive Ca             | PA19-1205 V  | + | + | + | + | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma mamma      | PA19-1208 II | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Invasive Ca             | PA19-1253 I  | - | + | + | - | - | - | - | - | - |
| NHL                     | PA19-1274 II | - | - | - | - | - | - | - | + | + |
| Invasive Ca             | PA19-1380III | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma mamma      | PA19-1626    | - | + | - | - | - | - | - | - | - |



|  |             |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|-------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Invasive Ca                              | PA19-1369 I | + | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca                              | PA19-1453 I | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca                              | PA19-1457 I | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca                              | PA19-1474 I | - | + | + | - | - | - | - | - | - |
| High grade Ca                            | PA19-1585 V | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Poorly diffe<br>rentiated Ca             | PA19-1349IV | + | + | - | + | - | - | - | - | - |
| Poorly Diffe<br>rentiated<br>Invasive Ca | PA19-1352   | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Fibroadenoma<br>mamma                    | PA20-142    | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Rectum<br>Melanoma                       | PA20-13     | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Rektum<br>AdenoCa                        | PA20-42     | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Rectum<br>Proktitis kronis               | PA20-76     | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Schwannoma                               | PA20-153 II | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Rectum Proktits<br>kronis                | PA20-159    | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Rectum Signet<br>Ring Cell Ca            | PA20-160    | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Anus Reaksi<br>Koilositotic              | PA20-185    | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Colon                                    | PA20-       | - | - | - | - | - | - | + | - | - |

|                    |             |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ulcerative Colitis | 205 II      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| Invasive Ductal Ca | PA20-355 II | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca        | PA20-665 V  | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Colon Ganglion     | PA20-553 IV | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Neuroblastoma      | PA20-546    | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Invasive Ca        | PA20-673 IV | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Invasive Ca        | PA21-269 II | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Ductal Ca          | PA21-308 IV | - | - | + | - | - | - | - | - | - |

**3.2 Analisa data**

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |     |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|-----|
| P | R | N | I | F | C | I | P | P | U | M | H | R | R | R | S | R | A | C | I | C | N | D | Ket |
| a | L | o | n | i | o | n | o | a | n | e | i | e | e | e | c | e | n | o | n | o | e | u |     |
| g | y | n | v | b | m | v | o | p | d | t | g | c | c | c | h | c | u | l | v | l | u | c |     |
| e | m | H | a | r | p | a | r | i | i | a | h | t | t | t | w | t | s | o | a | o | r | t |     |
| t | p | o | s | o | l | s | l | f | p | g | u | u | u | a | u | R | n | s | n | o | a |   |     |
| ' | h | d | i | a | e | i | y | l | f | l | r | m | m | m | n | m | e | U | i | G | b | l |     |
| s | o | g | v | d | x | v | d | a | e | a | a | M | A | P | n | S | a | l | v | a | l | C |     |
| d | i | k | e | e | F | e | i | M | r | s | d | e | d | r | o | i | k | s | e | n | a | a |     |
| i | d | i | C | n | i | L | f | a | e | t | e | l | e | o | m | g | s | e | D | g | s | r |     |
| s | H | n | a | o | b | o | f | m | n | i | C | a | n | k | a | n | i | r | u | l | t | c |     |
| e | y | L | r | m | r | b | e | m | t | c | a | n | o | t | e | K | a | c | i | o | i |   |     |
| a | p | y | c | a | o | u | r | a | i | C | r | o | c | i |   |   |   |   |   |   |   |   |     |
| s | e | m | i | M | a | l | e |   | a | a | c | m | a | t |   | R | i | i | a | n | a | o |     |
| e | r | p | n | a | d | a | n |   | t | r | i | a | r | i |   | i | l | v | l |   |   | m |     |
|   | p | h | o | m | e | r | t |   | e | c | n | c | s |   | n | o | e | C |   |   |   | a |     |
|   | l | o | m | m | n | C | i |   | d | i | o | i | K |   | g | s | C | a |   |   |   |   |     |
|   | a | m | a | a | o | a | a |   | C | n | m |   | n | r |   | C | i | o | r |   |   |   |     |
|   | s |   |   |   | m | r | t |   | a | o |   |   | o |   | e | t | l | c |   |   |   |   |     |

|         | i | a |   |   |   | a | c | e |   | r | m | a |   | m | n |   | l | o | i | i |   |   |   |    |
|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
|         | a |   |   |   |   | M | i | d |   | c | a |   |   | a | i |   | C | i | i | n |   |   |   |    |
|         |   |   |   |   |   | a | m | o | n | i | n |   |   |   | s |   | a | c | s | o | m |   |   |    |
|         |   |   |   |   |   | m | m | v | a | o | m |   |   |   |   |   | r | c | i | n | o | m |   |    |
|         |   |   |   |   |   | a | a | a | s | i | v | e | C | a |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |
| Σ kasus | 1 | 4 | 2 | 1 | 9 | 3 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 40 |
| ER      | + | - | + | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |    |
|         | 1 |   | 1 | 8 |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 1 |   |   |   |    |
| PR      | - | - | + | + | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |    |
|         |   |   | 1 | 7 | 9 |   | 1 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 2 |   |   |   |    |
| Her2    | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | +  |
|         | 1 |   |   | 9 |   |   |   | 2 |   |   | 1 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 1  |
| Ki67    | + | + | + | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  |
|         | 1 | 1 | 1 | 6 |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |
| Vime    | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  |
|         |   |   |   |   | 1 | 3 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |
| Cyto    | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | -  |
|         |   |   |   |   |   |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 1 |    |
| S100    | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | -  |
|         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -  |
| CD20    | - | + | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  |
|         |   | 3 | 1 |   |   |   |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |
| CD45    | - | + | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  |
|         |   | 3 | 1 |   |   |   |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |

Pada penelitian ini didapatkan hasil positif (+) tidak hanya pada tumor dengan diagnosa keganasan tetapi juga pada tumor jinak yang pada perkembangannya di pengaruhi oleh hormon atau yang lainnya, jaringan yang selalu menunjukkan hasil selalu positif (+) yang bisa dipakai untuk control.

Jaringan yang bisa dipakai untuk control :

- ER : Tumor ganas dengan antibody ER (+)
- PR : Fibroadenoma mamma dan tumor ganas dengan antibody PR (+)
- Her2 : Tumor ganas dengan antibody Her2 (+)
- Ki67 : Reaktif Lymphoid Hyperplasia dan tumor ganas dengan antibody Ki67(+)
- Vimentin : Complex FAM, FAM dan tumor ganas dengan antibody Vimentin (+)
- Cytokeratin : Papilla mamma, Neuroblastoma dan tumor ganas dengan antibody Cytokeratin (+)
- S100 : Semua kasus Rectum, Anus, Colon jinak maupun ganas dan Schwannoma
- CD20 : Reaktif Lymphoid Hyperplasia dan tumor ganas dengan antibody CD20 (+)
- CD45 : Reaktif Lymphoid Hyperplasia dan tumor ganas dengan antibody CD45(+)

Tumor jinak yang bisa digunakan sebagai kontrol positif(+) untuk selanjutnya tidak perlu dilakukan optimasi, hanya dilihat diagnosa dari Histopatologinya, bila diagnosanya seperti tercantum pada tabel maka bisa langsung digunakan sebagian control positif (+).

## DISCUSSION

Dalam pemeriksaan atau pewarnaan Imunohistokimia ini banyak proses yang harus dilakukan sebelum dilakukan pewarnaan dan banyak hal yang bisa menyebabkan positif atau negatif palsu, jaringan terlebih dahulu dilakukan proses Histopatologi, pada tahap ini diharapkan tidak ada kesalahan, bila jaringan besar maka wadah jaringan haruslah lebih besar daripada volume jaringan dan diberi kain kasa pada bagian dasar jaringan, dilakukan slice tiap 1cm, direndam formalin buffer 10% sebelum 30 menit setelah jaringan keluar dari tubuh penderita. Jika jaringan kecil, jaringan direndam formalin buffer 10% dan atasnya ditutup kain kasa agar jaringannya terendam sempurna (*Protap Ruang Instalasi Bedah Sentral RSD Dr. Soebandi*), bila jaringan direndam formalin buffer 10% setelah 30 menit dari waktu pengambilan jaringan dari penderita maka ada kemungkinan jaringan akan nekrosis dan tidak bisa dilakukan pemeriksaan imunohistokimia, bila tetap dilakukan maka hasilnya akan negatif palsu.

Setelah dilakukan pembedahan jaringan dan diambil bagian-bagian yang dianggap mewakili dari keadaan jaringan tersebut, maka selanjutnya dilakukan processing jaringan dengan cara mendehidrasi jaringan, dehidrasi jaringan ini merupakan proses menarik atau mengeluarkan cairan yang ada di dalam jaringan, proses ini dilakukan dengan cara merendam jaringan pada alkohol bertingkat mulai dari alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100% masing-masing selama 30 menit, kemudian dilakukan proses clearing menggunakan xylol 2x masing-masing selama 30 menit, kemudian jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair dengan suhu 55 derajat sampai 58 derajat sesuai dengan titik leleh parafin (*IAPI, Pedoman Penanganan Bahan Pemeriksaan Untuk Histopatologi*). Pada proses ini jaringan setelah dilakukan proses dehidrasi maka jaringan akan menjadi lebih kecil dan kemudian dimasukkan ke dalam parafin yang nantinya parafin akan masuk ke dalam jaringan dan mengisi rongga-rongga yang ada di dalam jaringan, sehingga jaringan bisa mempertahankan morfologi selnya seperti saat jaringan masih ada pada tubuh penderita.

Dalam proses ini yang harus diperhatikan dengan baik adalah alkoholnya harus sering diganti agar jaringan bisa terdehidrasi sempurna, untuk penggantian xylol bisa dilihat dengan ada tidaknya gelembung air atau xillolnya berubah warna, bila ada maka xylol harus segera diganti. Untuk penggantian parafin bisa dilakukan setelah 10x pemakaian atau disesuaikan. Processing jaringan ini sangat penting untuk kelanjutan pemeriksaan karena bila jaringan tidak menggunakan alkohol bertingkat dan jaringan menjadi kering maka cat akan sulit masuk ke dalam jaringan, sehingga hasil pewarnaan HE akan menjadi merah semua sehingga sulit membedakan bagian yang normal dan bagian yang ada kelainan, selanjutnya bila dilakukan pewarnaan imunohistokimia maka cat sulit masuk dan hasilnya akan negatif palsu. Bila parafin sudah tidak layak pakai tetapi masih dipakai untuk processing maka mikroskopis pada pewarnaan HE akan terlihat bahwa jaringan tidak bisa menyerap cat dengan sempurna dan bila dilanjutkan pada pemeriksaan imunohistokimia dan bagian sel yang harusnya positif tidak bisa menyerap cat sehingga menjadi negatif palsu.

Pada dasarnya standart untuk pewarnaan jaringan adalah pewarnaan Hemotoxillin Eosin tetapi bila pada pewarnaan ini dokter Sp.PA mendiagnosa adanya keganasan tetapi sulit menentukan jenisnya atau sudah diketahui jenisnya tetapi perlu pemeriksaan Imunohistokimia untuk menentukan terapi pengobatan lanjutan, maka akan dilanjutkan pemeriksaan Imunohistokimia yang antibodinya ditentukan oleh dokter Sp.PA atau klinisi yang disesuaikan dengan kebutuhannya. Ketepatan diagnosa dari pemeriksaan Imunohistokimia perlu adanya kontrol positif(+), bila jaringan yang digunakan untuk kontrol positif hasilnya negatif atau positif lemah maka perlu dilakukan pengulangan. Jaringan yang bisa dipakai untuk kontrol harusnya jaringan yang menunjukkan positif (+) lebih dari 30% dari seluruh jumlah sel yang diamati, hampir semua tumor ganas bisa dijadikan kontrol positif (+) tetapi tidak seperti tumor jinak yang selalu positif (+) pada antibodi tertentu, pada tumor ganas walaupun diagnosanya sama tetapi belum tentu positif (+) pada antibodi yang sama

### CONCLUSION

Berdasarkan optimasi atau pemeriksaan Imunohistokimia acak pada jaringan tumor yang ada di Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi Jember menunjukkan hasil bahwa semua tumor ganas menunjukkan hasil yang positif pada antibodi tertentu tetapi tidak selalu sama, walaupun diagnosa Histopatologinya sama. Pada tumor jinak selalu menunjukkan hasil yang positif pada antibodi tertentu dan selalu positif (+) disaat dilakukan optimasi berulang. Jadi untuk kontrol positif (+), bila ada tumor jinak yang selalu menunjukkan hasil positif (+) maka tanpa optimasi lagi bila ada jaringan serupa bisa langsung dijadikan kontrol positif (+).

### REFERENCES

- IAPI, *Pedoman Penanganan bahan Pemeriksaan Untuk Histopatologi*, Jakarta 2008
- Janet S. Duerr, *Immunohistochemistry*, Department of Biological Sciences, Ohio University Athens, OH 45701 USA
- Nima Rezael, *Cancer Immunology Cancer Immunotherapy for Organ-Spesifik Tumors*
- Parvin Ganjei-Azar Mehrdad Nadji, *Color Atlas of Immunocytochemistry in Diagnostic Cytology*
- David J. Dabbs, *Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications*, 4<sup>TH</sup> Edition
- Fan Lin-Jeffrey Prichard, *Handbook Practical Immunohistochemistry*

# Pemeriksaan Ekspresi microRNA (miRNA) miR-126-3p Sebagai Biomarker Diabetes Melitus Tipe 2

Sri Martuti

Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta; srimartuti27@gmail.com

## ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic metabolic disease that causes many complications including heart disease, kidney disease, stroke, blindness. The miR-126-3p microRNA (miRNA) which regulates gene expression can be used as a biomarker of type 2 DM. The purpose of this study was to determine the expression of miR-126 miRNA in type 2 DM patients. Subjects consisted of 36 type 2 DM patients and 4 non-diabetic controls. The method used to examine the expression of miRNA-miR-126 rRTPCR. The results of this study showed that miR-126-3p miRNA expression decreased when compared to non-diabetic controls. Hyperglycemia causes albumin to be glycated. Continued glycation produces stable and heterogeneous compound products called AGEs. Hyperglycemia and AGEs increased the production of pro-inflammatory molecules IL-6, TNF, ROS and decreased miR-126-3p miRNA expression. Hyperglycemia in patients with type 2 diabetes also causes endothelial cells, smooth muscle cells, vascular dysfunction, platelets and macrophages, thereby reducing the expression. The conclusion of this study is that the expression of miR-126-3p miRNA can be used as a biomarker before suffering from type 2 diabetes mellitus.

**Key Words :** Hyperglycemia, biomarkers; miRNA-miR-126-3p; type 2 diabetes mellitus

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit metabolik kronis ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah, yang seiring waktu dapat menyebabkan kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf. DM merupakan penyakit epidemi skala global sehingga merupakan ancaman besar bagi kesehatan masyarakat. Prevalensi DM th 2019 9,3%, diperkirakan th 2030 menjadi 10,2% dan th 2045 mencapai 10,45%. Diabetes dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu diabetes tipe 1, diabetes mellitus tipe 2 dan diabetes gestasional (pada wanita hamil). Lebih dari 90% kasus DM adalah tipe 2. Pasien DM memiliki 15% risiko kematian dini dan harapan hidup berkurang 10 sampai 20 tahun. Hal ini tidak disadari oleh penderita sehingga menyebabkan komplikasi lebih lanjut<sup>1-6</sup>.

Tabel 2. Estimasi Jumlah Penderita Diabetes Mellitus di Sepuluh Besar Negara dengan Penderita Diabetes Terbanyak Tahun 2000 dan 2030

| Peringkat | 2000            |   | 2030            |   |
|-----------|-----------------|---|-----------------|---|
|           | Negara          | Jumlah Penderita Diabetes (juta penduduk) | Negara          | Jumlah Penderita Diabetes (juta penduduk) |
| 1         | India           | 31,7                                      | India           | 79,4                                      |
| 2         | Cina            | 20,8                                      | Cina            | 42,3                                      |
| 3         | Amerika Serikat | 17,7                                      | Amerika Serikat | 30,3                                      |
| 4         | Indonesia       | 8,4                                       | Indonesia       | 21,3                                      |
| 5         | Jepang          | 6,8                                       | Pakistan        | 13,0                                      |
| 6         | Pakistan        | 5,2                                       | Brazil          | 11,3                                      |
| 7         | Rusia           | 4,6                                       | Bangladesh      | 11,1                                      |
| 8         | Brazil          | 4,6                                       | Jepang          | 8,9                                       |
| 9         | Italia          | 4,3                                       | Filipina        | 7,8                                       |
| 10        | Bangladesh      | 3,2                                       | Mesir           | 6,7                                       |

Gambar 1 : Estimasi jumlah penderita DM di 10 besar negara



Gambar 2: Prevalensi DM umur > 15 tahun Provinsi di Indonesia  
 Sumber Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI Tahun 2019

Di Indonesia, diabetes merupakan penyakit yang menjadi prioritas penanganan karena dapat menyebabkan kematian, penyebab utama penyakit ginjal, kebutaan, mengurangi usia harapan hidup 5-10 tahun, dan secara ekonomi merugikan<sup>4</sup> Faktor risiko DMT2 adalah kombinasi kompleks faktor genetik, metabolik, dan lingkungan. Keadaan ini mempengaruhi fungsi sel menghasilkan jaringan kompleks dari perubahan patologis yang saling mempengaruhi dan menyebabkan berlanjutnya disfungsi insulin<sup>6</sup> Biomarker dengan spesifisitas dan sensitivitas tinggi bisa digunakan sebagai pedoman praktis untuk diagnosis, prognosis, dan manajemen klinis. Penelitian terbaru banyak menggambarkan biomarker berbasis biologi molekuler<sup>10</sup>.

Berdasarkan uraian diatas, maka dibutuhkan upaya upaya untuk mengendalikan DM, sehingga masyarakat bisa mengetahui lebih awal sebelum sakit. Harapannya, temuan ini bisa digunakan oleh klinisi sebagai biomarker, diagnosis, monitoring, dan manajemen diabetes

Penemuan microRNA (miRNA) pada tahun 1993 oleh Ambros dan Ruvkun pada larva *Caenorhabditis elegans* telah mengubah bidang biologi molekuler. MicroRNA (miRNA) adalah RNA *non-coding* yang berperan penting dalam mengatur ekspresi gen<sup>30</sup>. MiRNA sangat stabil dalam plasma bisa digunakan sebagai biomarker diagnostik untuk berbagai gangguan.<sup>31</sup> MiRNA terlibat dalam sel fungsi, sekresi insulin, resistensi insulin, otot rangka, jaringan adiposa dan yang memainkan peran penting dalam homeostasis glukosa dan patogenesis komplikasi diabetes<sup>32</sup> Ekspresi miRNA mengalami perubahan pada penderita DM tipe 2 dan komplikasinya<sup>37</sup> MiRNA miR-126 adalah salah satu cluster miRNA yang memiliki hubungan dengan diabetes melitus tipe 2. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresinya menurun sebelum manifestasi diabetes, sehingga berpotensi sebagai biomarker terhadap diabetes melitus tipe 2<sup>38</sup> Biomarker dapat memprediksi risiko penyakit dan berguna untuk mengembangkan terapi preventif / proaktif untuk orang-orang yang berisiko. Ekspresi biomolekul termasuk miRNA, protein, dan metabolit secara khusus berubah selama perkembangan DM tipe 2 dan komplikasi yang terkait dengan patologi penyakit. Karena omnipresensinya dalam cairan tubuh dan hubungannya dengan onset, progres, dan patogenesis DM tipe 2, biomolekul ini dapat menjadi biomarker potensial untuk prognosis, diagnosis, dan penatalaksanaan penyakit.<sup>37,40</sup>

#### METHODS

Metode yang digunakan adalah *Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* Real time PCR merupakan salah satu metode PCR yang kini sudah banyak diaplikasikan dalam biologi molekuler. Pada metode ini, peneliti tidak hanya dapat mendeteksi keberadaan suatu gen tertentu tetapi juga mengetahui kuantitas gen target pada sampel hingga membandingkan ekspresi gen pada sampel. Sama dengan PCR biasa atau PCR konvensional, konsep PCR pada RTPCR berdasar pada kemampuan DNA *polymerase* untuk mensintesis DNA dari template yang tersedia. Yang membedakan adalah bagaimana data hasil amplifikasi dapat dianalisis oleh peneliti. Sebagai contoh, pada PCR konvensional setelah proses termal (denaturasi, *annealing*/penempelan, dan elongasi) selesai, biasanya produk PCR akan diproses lebih lanjut menggunakan gel elektroforesis dan kemudian akan muncul *band* produk yang dapat dibandingkan dengan *band* kontrol atau standar. Pada RTPCR, peneliti dapat mengobservasi proses akumulasi produk PCR bersamaan dengan terjadinya proses amplifikasi sehingga ketika alat selesai bekerja, data hasil amplifikasi dapat langsung

dianalisis. Hal ini tentunya mempersingkat waktu eksperimen dan mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi karena meniadakan proses gel elektroforesis. Fluoresens yang terdapat pada reagent PCR juga memungkinkan keseluruhan proses amplifikasi terbaca, berbeda dengan jenis *endpoint* PCR dimana hanya hasil akhir amplifikasi saja yang dapat diketahui.

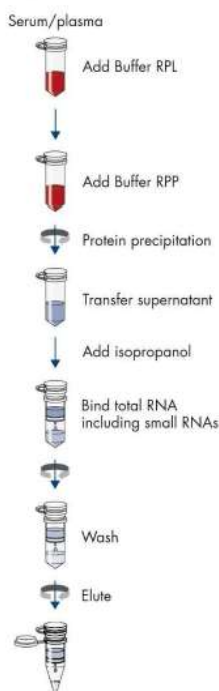
Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel yang digunakan adalah serum dari glukosa darah sewaktu (GDS) yang tidak berpengaruh terhadap miRNA miR-126-3p. Sebelum dilakukan pengujian dilakukan optimasi terlebih dahulu untuk memastikan sampel, metode, reagen dan alat dalam kondisi sesuai.

Prinsip alat PCR adalah memperbanyak DNA, dari 1 bisa menjadi jutaan. Ada 3 proses yang terjadi yaitu proses denaturasi: pemisahan untai ganda DNA menjadi tunggal dipisahkan dengan denaturasi termal, proses Anneling: penempelan primer pada target DNA dengan suhu tertentu. Primer adalah target yg akan diperbanyak. Proses Extension: pemanjangan primer dengan enzim Polimerase DNA dan dNTPs (deoxynucleotide triphosphates) pada buffer yang sesuai

Tahap awal pengujian dilakukan ekstraksi RNA dengan menggunakan miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit Cat. 217204 (Qiagen®, California 94404, USA):200µL sampel tambah 60 µL Buffer RPL vortex. Tambah 3,5 µL miRNeasy Spike-In Control, tambah 20 µL Buffer RPP, campur kuat dengan vortex 20 detik, inkubasi 3 menit suhu kamar, sentrifius 12.000 g 3 menit suhu kamar. Transfer supernatant ~ 230 µl ke tabung micro baru, transfer seluruh sampel ke kolom RNeasy UCP MinElute sentrifius 8000g 15 detik buang flow-through. Tambahkan 500µL etanol 80% ke kolom spin Rise UCP MinElute sentrifius 8000g 2 menit. Lepaskan kolom spin RNeasy UCP MinElute. Tempatkan kolom ke dalam tabung pengumpul 2 ml yang baru., buka tutup spin kolom sentrifius kecepatan tinggi 5 menit untuk mengeringkan selaput. Tempatkan kolom putar yang baru 1,5ml tambahkan 20 µL air bebas RNase langsung ke tengah membran kolom putar dan inkubasi 1 menit, sentrifius 1 menit kecepatan penuh untuk melulusi RNA, proses ini akan menghasilkan 18 µL

Prinsip ekstraksi miRNA:

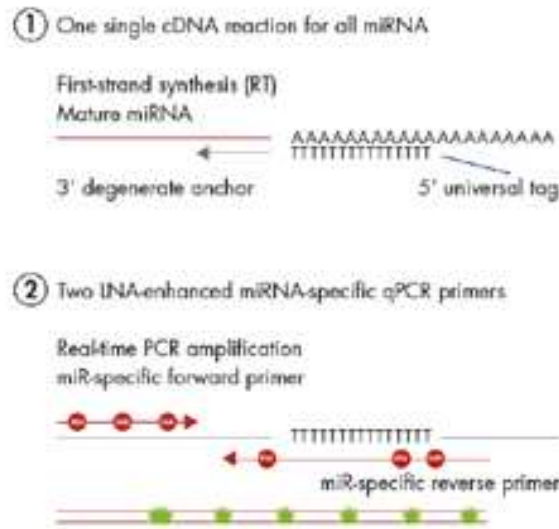
miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit



Tahap berikutnya adalah melakukan cDNA sintesis menggunakan miRCURY® LNA®PCR Cat.339345 (Qiagen, California, USA). Sampel hasil ekstraksi RNA diencerkan menjadi 5ng/ µL dengan air bebas nuclease. Menyiapkan campuran master RT dengan volume 10% lebih dari yang dibutuhkan, master mix dibagi ke tabung 0,2 ml ditambah sampel. Inkubasi 60 menit suhu 42 °C kemudian inkubasi suhu 95°C 5 menit. Sampel hasil cDNA synthesis diencerkan 1:60, campur, sentrifius cepat. Campuran mix dan cDNA masuk sumur plate 0,1 ml masing-masing 7 µL. Ekspresi dan kualitas miRNA diukur menggunakan Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA). Urutan primer PCR sebagai berikut: Targets mature miRNA: hsa-miR-126-3p 5'UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG dengan cycle sebagai berikut: aktivasi panas awal 95°C selama 2 menit, denaturasi 95°C selama 10 detik dan annealing 56°C selama 60 detik, total 40 siklus. Semua reaksi dilakukan rangkap dua. Hasil dianalisis menggunakan Sequence Detection Software, versi 1.7. Ekspresi miR-126 relatif dihitung menggunakan metode  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .



Prinsip sintesis DNA



Skema Sistem miRCURY LNA miRNA SYBR® Green

**RESULTS & DISCUSSION**

Penelitian ini menggunakan 40 subyek: 36 penderita DM tipe 2, 4 subyek non diabetes). Subyek penelitian diberi informasi tentang tujuan, prosedur dan metode yang akan digunakan dalam penelitian. Setelah setuju, subyek menandatangani formulir informed consent dan mengisi kuisioner. Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang Nomor 374 / KEPK-FKM / UNIMUS / 2020 sesuai pedoman protokol penelitian manusia. Sampel glukosa darah yang diambil adalah glukosa darah sewaktu yang tidak berpengaruh terhadap ekspresi miRNA miR-126-3p. Diagnosis DM tipe 2 yang diambil sesuai kriteria WHO, kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/dl, subyek kontrol adalah kadar glukosa darah normal.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan GDS dan ekspresi miRNA miR-126-3p

| Parameter Penelitian              | Rerata ± SB | Minimum | Maximum |
|-----------------------------------|-------------|---------|---------|
| N                                 | 36          |         |         |
| miRNA miR-126-3p (ct)             | 31.6 ± 2.0  | 28.03   | 36.97   |
| miRNA miR-126-3p (delta ct)       | 0.52 ± 0.47 | 0.02    | 2.18    |
| miRNA miR-126-3p (delta-delta ct) | 2.05 ± 1.53 | 0.14    | 7.52    |
| Glukosa darah sewaktu (mg/dL)     | 275 ± 44    | 201     | 382     |

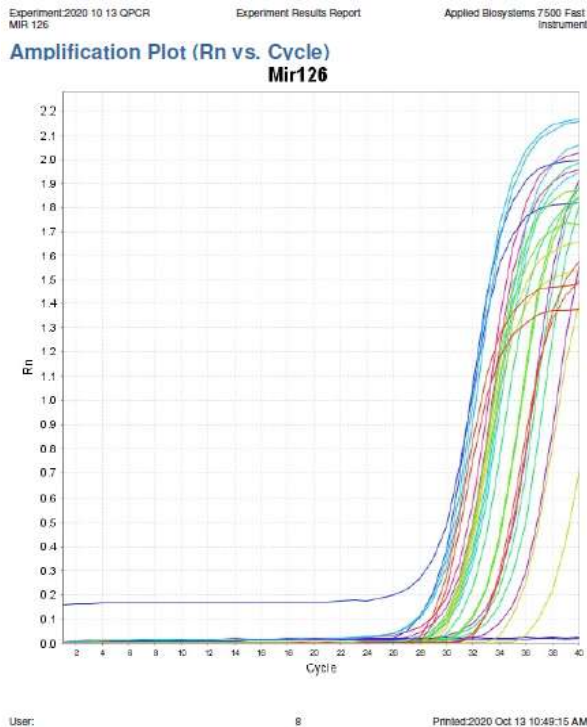
Keterangan :

SB = Simpangan Baku

Ct = Cycle Threshold

**Analisis Real-Time PCR** Hasil amplifikasi RTPCR dapat dilihat pada Tabel 1, dimana nilai Ct (cycle threshold) adalah didefinisikan sebagai jumlah siklus yang diperlukan agar sinyal fluoresen melewati ambang batas (yaitu melebihi tingkat latar belakang). Delta Ct adalah nilai Ct dari sequence of interest atau sampel kita dikurangi nilai Ct reference sequence atau house keeping gene U6. Sedangkan Delta-Delta Ct adalah nilai Ct target sampel dikurangi nilai Ct referensi sampel. Hasil akhir dari metode ini adalah ekspresi gen target dalam sampel target relatif terhadap sampel referensi, dinormalisasi ke gen referensi.

Hasil pembacaan ekspresi miRNA miR-126-3p pada alat PCR



Hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi miRNA miR-126-3p pada nilai Ct (Cycle treshold) penderita DM tipe 2 lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol subyek yang normal. Pola yang terbentuk ada kecenderungan menurun meskipun tidak signifikan. Pada penelitian ini, Kadar glukosa darah terendah 201 mg/dl memiliki nilai ekspresi Ct 31,7, kadar glukosa darah tertinggi 382 mg/dl memiliki nilai Ct 30,7. Untuk nilai rata-rata semua subyek adalah 31,7 atau lebih rendah bila dibandingkan kontrol yang memiliki nilai Ct antara 28 sampai 29. Dengan demikian hasil penelitian ini bisa dinyatakan sejalan dengan penelitian sebelumnya karena hasil semua subyek juga menurun bila dibandingkan kontrol. Peneliti sebelumnya menemukan bahwa ekspresi abnormal miRNA miR-126-3p disebabkan oleh hiperglikemia yang menyebabkan sel edotel, sel otot polos, pembuluh darah disfungsi trombosit dan makrofag.<sup>32</sup> Temuan lain menyatakan ekspresi miRNA miR-126-3p lebih rendah signifikan pada subjek DMT2 dibandingkan kontrol yang sehat ( $p < 0,05$ )<sup>34</sup>.

Ekspresi miRNA miR-126-3p berbanding terbalik dengan kadar DM<sup>38</sup>. Hiperglikemia pada DM tipe 2 menyebabkan protein albumin terglykasi. Glykasi yang berlanjut menghasilkan produk senyawa stabil dan heterogen disebut AGEs.<sup>11</sup> Hiperglikemia dan AGEs meningkatkan produksi molekul pro inflamasi IL-6, TNF, ROS dan menurunkan ekspresi miRNA miR-126-3p.<sup>39</sup> Ekspresi miRNA-miR-126-3p yang beredar menurun secara signifikan pada pasien DM tipe 2<sup>40</sup>

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, diantaranya sampel yang relatif sedikit dikarenakan masa pandemi lebih sulit mendapatkan subyek yang bersedia diambil darahnya. Perbedaan tempat pengambilan dan pengujian sampel. Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia dan pemeriksaan di Laboratorium Riset Terpadu UGM sehingga membutuhkan transport. Waktu pengambilan sampel tidak bisa bersama-sama dikarenakan masa pandemi ada syarat dan ketentuan yang berlaku, satu hari hanya diperbolehkan maksimal 10 subyek, sehingga ada selisih waktu pengambilan 1-8 hari

### CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan ekspresi miRNA miR-126-3p dapat digunakan sebagai biomarker awal penderita DM tipe 2 dengan melihat ekspresinya yang menurun.

Saran untuk peneliti selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan pemeriksaan miRNA miR-126-3p dengan jumlah subyek yang lebih besar, pada orang sehat dan beresiko terkena diabetes. Waktu pengambilan sampel, kriteria subyek dan tempat pengujian diupayakan sama.

Perlu diperhatikan juga pemilihan subyek penelitian dan kontrol, pertimbangkan dengan penelitian yang sudah pernah dilakukan sebelumnya, karena karakteristik yang berbeda kemungkinan dapat berpengaruh pada hasil.

## REFERENCES

- Radia M M Khan, Zoey J Yu C, Zhao Y. From Pre- Diabetes to Diabetes: Diagnosis, Treatments and Translational Research. *Medicina*. (Kaunas)2019 Sep;55(9):546
- Pouya S, Inga P, Paraskevi S, Belma M, Suyi K, Nigel U *et.al* Global and Regional Diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Result from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9<sup>th</sup> edition 2019. *Diabetes Res Clin Pract*.2019 Nov;157:107843
- Alexandre A, Shahriar M, Olga G. Diabetes care in figures: current pitfalls and future scenario 2018 May 22;9(2):125-131. *EPMA Journal*
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil utama Riskesdas 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (2019). Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018. ISSN 2442-7659.
- Unai Galicia Garcia, Benito-V, Shifa J, Asier LS, Haziq S, Kepa B. Unbe *et.al*. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus 2020. *Int J Mol Sci*.2020 Sep;21(17):6275
- Eugenio C, Curtis T, Carolina S-H, Lawrence J, Mandarino, Ralph A D Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus 2018 [www.endotext.org](http://www.endotext.org). *Clinical Endocrinology Book*. Last Update: Feb 27, 2018
- Jay S. Skyler J, George L Bakris, Ezio Bonifacio, Darsow T, *et.al*. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes* 2017 Feb;66(2):241-255
- Puspa W, E Prihatini, Krisnowati, Maimun ZA, AAG Sudewa dkk. Tinjauan literature Glycated Hemoglobin A1c Sebagai Prediktor Biomarker Untuk Diabetes Melitus, dan Penyakit Kardiovaskular Peradangan P-ISSN 0854-4263 [jurnal.ijcp@gmail.com](http://jurnal.ijcp@gmail.com) Vol.23, No.2, Maret 2017-e-ISSN 4277-4685
- Sayed M, Masoud DT, Mehrdad T, Mohammad YVM, Molecular biomarkers in diabetes mellitus (DM) *Med J Islam Repub Iran* 2020;34:28. Publish online 2020 Apr 1
- Anselmus Ake1, Made Ratna Saraswati1, I Gde Raka Widiana. Glycated Albumin Sebagai Penanda Kontrol Glikemik Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. 2017. Print ISSN: 2580-2925 online ISSN: 2580-2933 *Journal of Internal Medicine* Vol 1, No 1:2017
- Priscila A, Correa F, Leticia R, Joiza LC, Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes. 2017 Print version ISSN 2359-3997 online version ISSN 2359-4292 *Arch. Endocrinol Metab* Vol.61 No 3
- Masafumi K, Soji K. Clinical Impact of Glycated Albumin as Another Glycemic Control Marker. 2010. 57(9):751-62. doi: 10.1507/endocrj.k10e-138 *Epub* 2010 Aug 17
- Sara Y, M. Rabiee Evaluation of glycated albumin (GA) and GA/HbA1c ratio for diagnosis of diabetes and glycemic control: A comprehensive review 2017. *Critical Review in Clinical Laboratory Sciences*, Jun;54(4):219-232. *Epub* 2017 Apr 10.
- Irina VK, Vladimir AF, Vladimir OP. Glycated Albumin Stimulates Expression of Inflammatory Cytokines in Muscle Cells 2020 Apr; 128:154991 *j.cytoEpub* 2020
- Roohk HF, Asad R. Zaidi. Glycated albumin (GA) and inflammation: role of GA as a potential marker of inflammation, *Inflammation Research*. Oct 2017. 67(6):1-10
- Li JP, Lin L, Xue WX, Rui YZ, Zhang RY, Zhang, *et.al*. Value of Serum Glycated Albumin and High-Sensitivity C-reactive Protein Levels in the Prediction of Presence of Coronary Artery Disease in Patients With Type 2 Diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2006;5 :27 Publish online 2006 Dec 20

T.Kohzuma, Tamotsu Y, Barry IF. Basic Performance of an Enzymatic Method for Glycated Albumin and Reference Range Determination 2011. Journal of Diabetes Science and Technology Diabetes Technology Society Publish online 2011 Nov 1

Hanan E, Azza M, Inas M. Inflammatory Markers and Control of Type 2 Diabetes Mellitus. 2019. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews Vol 13, Issue 1, January-Feb 2019 Pages 800-804

Ahmed AS, Saif AG, Safia AM, Said A, Jawad AL, Masoud AM Analysis of Inflammatory Mediators In Type 2 Diabetes Patients Int J Endocrinol 2013;2013: 976810. Publish online 2013 May 20

Deepak YK, Denis X, Alben S, Prem P. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) & cardiovascular disease: An Indian perspective. Indian J Med. Res. 2015 Sep;142(3):261-268

Aušra Č, Agnė A, Daiva P, Rimvydas Š, Indrė Č. Clinical relevance of high sensitivity C-reactive protein in cardiology. 2015 Medicina Volume 52 Issue 1, 2016, Pages 1-10

Pfützner A, Thomas S, Markolf H, Thomas F. High-sensitivity C-reactive Protein as Cardiovascular Risk Marker in Patients With Diabetes Mellitus. J. Diabetes Sci Technol 2010 May;4(3):706-716 Publish online 2010 May 1

Eric J. Brandt. C-Reactive Protein and Other Inflammatory Markers in Cardiovascular Disease: Inflammatory Disorders and Atherosclerosis (2020) Therapeutic Lipidology pp 565-583 First online: 16 December 2020

Andrea D, Giuseppe B. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and its implications in cardiovascular outcomes 2021 Curr Pharm 2021;27(2):263-275

Farah J, Asher F, Faraz A Role of platelet indices, glycemic control and hs-CRP in pathogenesis of vascular complications in type-2 diabetic patients 2013 Pakistan Journal of Medical Sciences 2013 Jan-Mar;29(1):152-156

Rudolf P, Ivana K Lesná. Inflammation and Atherosclerosis. 2019. Winter 2019;64(12):1142-1146

Milan-M, Anibal F, NM Perseguini, V Minatel, et.al. Effects of Natural Aging and Gender on Pro-Inflammatory Markers. 2019. Braz. J. Med. Biol. Res. 2019;52(9): e8392

Viviana B, Andrea A, Federico A High Sensitivity C Protein as an Independent Risk Factor in People With and Without History of Cardiovascular Disease Clinics(sao Paulo) 2016 Apr; 71(4):235-242. Publish online 2016 Apr

Jacob O, Heyam H, Yara Z. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Action, and Circulation. 2018. Department of Biology, York University, Toronto, ON, Canada

Armita MG, Nasim K, Thozhukat S, Khalid AR, Tannaz J, Amirhossein S. The Role of MicroRNAs in Regulating Cytokines and Growth Factors in Coronary Artery Disease: The Ins and Outs. J. Immunol Res 2020; 2020:5193036. Publish online 2020 Jul 25

Yue D, Xue S, Peng FS. MicroRNAs and Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. BioMed RI Volume 2017. Article ID 4080364, 8 pages

Qu MJ, Pan JJ, Shi XJ, Zhang ZJ, Tang YH, Yang GY. MicroRNA-126 is a prospective target for vascular disease. 2018. Neuroimmunol Neuroinflammation 2018;5:10, Corpus ID:4937611

Yang L, Guangqiang G, Chun Y, Kun Z, Baozhong S. et.al The Role of Circulating MicroRNA-126 (miR-126): A Novel Biomarker for Screening Prediabetes and Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus. 2014. Int J Mol Sci 2014 Jun 12;15(6):10567-77

Noha AR, Norhan S, Mohamed S. Role of MicroRNA 126 in screening, diagnosis, and prognosis of diabetic patients in Egypt. 2016. IUBMB Life 2016 Jun; 68(6):452-8.

Jessica A.W, David HB. S.Zhang, D.Huang, K.Huang et.al. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids. 2010. Clinical Chemistry, Volume 56,Issue 11, 1 Nov 2010,Pages 1733-1741

Vaishya S, Rucha D, Sarwade, Seshadri V. MicroRNA, Proteins, and Metabolites as Novel Biomarkers for Prediabetes, Diabetes, and Related Complications. 2018. Front Endocrinol (Lausanne) 2018;9:180. Publish online 2018 Apr 23

Zhang T, Li L Shang Q, Lv C, Wang C, Su B. Circulating miR-126 is a potential biomarker to predict the onset of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals. 2015.Biochem Biophys Res Commun 2015 Jul 17-24;463(1-2):60-3

Li Y, Zhou Q, ZhePei C,Liu, Li M, Lu Fang,et.al. Hyperglycemia and Advanced Glycation End Products Regulate miR-126 Expression in Endothelial Progenitor Cells.2016.J Vasc Res.: 27673690 2016;53(1-2):94-104. .

Al-Kafaji G, Al-Mahroos G, Al-Muhtaresh HA, Skrypnik C, Sabry MA, et.al. Decreased expression of circulating microRNA-126 in patients with type 2 diabetic nephropathy: A potential blood-based biomarker. 2016.Exp Ther Med 2016 Aug;12(2):815-822 May 26

**PROFIL RT-PCT PADA P** *Prosiding dalam rangka Munas IX & Temu Ilmiah XXIV*  
*PATELKI Tahun 2021* **ASIEN COVID-19M DENGAN**  
**RAPID ANTIGEN HASIL POSITIF**  
**(Study Kasus Pasien Covid-19 Di Rumah Sakit X)**

---

Erri Muda Robuta,SH.,S.ST<sup>(1)</sup>, Abdi Agus Youandi,dr.MMRS<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Kepala Ruang Laboratorium Rumah Sakit Gatoel

<sup>(2)</sup>Kepala Rumah Sakit Perkebunan Jember

JL. Raden Wijaya 56 Mojokerto 61321 Jawa Timur Indonesia

Telp. (0321) 321681, Fax. 321684

Penulis. 085 655 100 490 / 081 259 230 424

Email : errilaboratrg@gmail.com

---

### ABSTRAKSI

**Latar belakang :** *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). Sesuai Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Disease* (Covid-19) penanganan Covid-19 di Indonesia menggunakan dua jenis rapid test, yakni rapid test antibodi, rapid test antigen. Gold standar pemeriksaan COVID-19 adalah RT PCR. Perlunya dilakukan penelitian menilai tingkat efektifitas rapid antigen dalam deteksi dan diagnosis kasus COVID-19. **Tujuan:** Untuk mengetahui efektifitas pemeriksaan rapid antigen covid terhadap PCR. **Metode :** penelitian deskriptif menggunakan data sekunder yaitu rekapitulasi data hasil pemeriksaan rapid test antigen pada pasien periode Desember 2020-Februari 2021 di di unit laboratorium Rumah Sakit X.. **Hasil Penelitian:** Populasi penelitian ini sebanyak 1340 sampel. Hasil swab Antigen positif dan swab RT PCT positif sebanyak 527 sampel, (39,33 %), swab Antigen negatif dan swab RT PCT negatif sebanyak 769 sampel, (57.39 %), sedangkan hasil swab Antigen negatif dan swab RT PCT positif sebanyak 45 sampel (3.36 %) dari total sampel. Tingkat efektifitas swab antigen terhadap hasil swab RT PCR sebesar 96.33%. **Kesimpulan :** Tingkat efektifitas rapid antigen dari 1340 sampel adalah sebesar 96,33 %.

**Kata Kunci :** *RT PCR, Rapid Antigen*

---

### PENDAHULUAN

*Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 merupakan coronavirus jenis baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya pada manusia. Ada setidaknya dua jenis *coronavirus* yang diketahui menyebabkan penyakit yang dapat menimbulkan gejala berat seperti *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS). Tanda dan gejala umum infeksi COVID-19 antara lain gejala gangguan pernapasan akut seperti demam, batuk dan sesak napas. Masa inkubasi rata-rata 5-6 hari dengan masa inkubasi terpanjang 14 hari. Pada kasus COVID-19 yang berat dapat

menyebabkan pneumonia, sindrom pernapasan akut, gagal ginjal, dan bahkan kematian. (Adityo, 2020) (kemenkes, 2020)

Buku Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (Covid-19) yang diterbitkan Kementerian Kesehatan (Kemeskes), penanganan Covid-19 di Tanah Air menggunakan dua jenis rapid test, yakni rapid test antibodi dan rapid test antigen. (Kemenkes,2020).

Rapid test antigen adalah test diagnostik cepat Covid-19 yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan antigen virus Covid-19 pada sampel yang berasal dari saluran pernapasan. Antigen akan terdeteksi ketika virus aktif bereplikasi. Spesimen yang diperlukan untuk pemeriksaan ini adalah swab orofaring (kerongkongan) atau swab nasofaring (tenggorokan). Itu sebabnya rapid test antigen paling baik dilakukan ketika orang baru saja terinfeksi. Test antigen juga relatif murah dan dapat digunakan di tempat-tempat perawatan. Alat yang sudah diotorisasi ini juga dapat memberikan hasil diagnosis dalam waktu sekitar 15 menit. Namun, *rapid test antigen* umumnya kurang akurat dibandingkan test virus yang mendeteksi asam nukleat dengan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) atau disebut juga test PCR. Meski begitu, *rapid test antigen* juga digunakan sebagai test skrining di mana pengujian berulang dapat dengan cepat mengidentifikasi orang yang terinfeksi SARS-CoV-2, sehingga tindakan pencegahan penularan infeksi dapat segera dilakukan. Namun, bila hasilnya didapati positif, dokter masih perlu melakukan test PCR untuk memastikan diagnosis.(Rosdiana, 2020) (Kemenkes, 2020).

Pemeriksaan Rapid Antigen Covid.

Sensitivitas antigen rapid test (test cepat antigen) untuk SARS-CoV-2 berdasarkan berbagai merk antigen yang diteliti menunjukkan variasi dengan rentang 0 - 94%, namun spesifisitasnya tinggi (>97%). (Inset Kitt Reagen Rapid Antigen Test Anhui.2020).

Sedangkan Panduan interim WHO tanggal 11 September 2020 merekomendasikan penggunaan *antigen test* (test antigen):

- a. Bila *nucleic acid amplification tests* (NAAT) akses sulit atau tidak tersedia; atau waktu ketersediaan hasil lama, dengan syarat test cepat antigen SARSCoV-2 mempunyai sensitivitas  $\geq 80\%$  dan spesifisitas  $\geq 97\%$ .
- b. Untuk mendukung investigasi pada kelompok orang yang berisiko dan terisolasi yang terkonfirmasi positif di daerah wabah(misalnya di kelompok tertutup atau semi tertutup seperti sekolah,panti wreda, kapal pesiar, Lembaga permasyarakatan, tempat kerja, asrama dan lain-lain).
- c. Untuk memantau tren insidensi penyakit di masyarakat, terutama pada pekerja esensial dan tenaga kesehatan selama wabah atau di daerah dengan transmisi komunitas meluas.
- d. Deteksi dan isolasi dini kasus positif di fasilitas layanan kesehatan, pusat/tempat test COVID-19, panti wreda, lembaga pemasyarakatan, dan sekolah; pada tenaga garis depan dan tenaga kesehatan; dan untuk pelacakan kontak pada situasi transmisi komunitas meluas.
- e. *Tracing* kontak pasien terkonfirmasi positif.  
Spesimen yang diperlukan menyesuaikan dengan insert kit yang digunakan, dapat berupa:

1. Swab nasofaring.
2. Swab orofaring.

Pemeriksaan Metode Biomolekuler (TCM dan RT PCR).

a. Pemeriksaan TCM (Test Cepat Molekuler).

TCM sebelumnya dikenal untuk mendiagnosis penyakit tuberkulosis (TB) berdasarkan pemeriksaan molekuler. Pemeriksaan pada TCM ini menggunakan dahak dengan amplifikasi asam nukleat berbasis cartridge. Test ini akan mengidentifikasi RNA pada virus corona pada mesin yang menggunakan cartridge khusus yang bisa mendeteksi virus ini. Hasil test TCM ini dapat diketahui dalam waktu kurang dari dua jam, untuk menentukan pasien positif maupun negatif.

b. Pemeriksaan RT PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction).

Teknik PCR merupakan *gold standar* pada pemeriksaan COVID-19 ini, dengan cara mendeteksi adanya gen virus COVID-19. Teknik yang digunakan pada pemeriksaan ini adalah dengan memperbanyak atau mereplikasi RNA virus secara enzimatis. Pemeriksaan PCR ini merupakan pemeriksaan spesifik untuk COVID-19. Kalau hasilnya positif, maka dapat dipastikan ada virus SARS CoV-2. Namun perlu juga temuan dan analisa klinis yang lainnya untuk mengkonfirmasi infeksi COVID-19. (Kemenkes.2020), (Yusra, 2020).

**METODE PENELITIAN.**

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Sampel penelitian ini adalah populasi total. Peneliti menggunakan metode telaah dokumen di laboratorium Rumah Sakit X. Seluruh hasil pemeriksaan rapid antigen test dan RT PCR dilakukan rekapitulasi data berupa tabel dan perhitungan prosentase efektifitas pemeriksaan rapid antigen terhadap RT PCR. Peneliti tidak mempertimbangkan jenis/ merk rapid test antigen kit yang digunakan, tidak mencantumkan identitas pasien.

**HASIL PENELITIAN.**

Penelitian mendapatkan 1340 sampel. Hasil penelitian sebagai berikut:

|                              | RT PCR (negatif) | RT PCR (positif) |
|------------------------------|------------------|------------------|
| Rapid Antigen Test (negatif) | 769              | 45               |
| Rapid Antigen Test (positif) | 0                | 527              |

1. Hasil Rapid Antigen Test positif dan hasil swab RT PCT positif sebanyak 527 sampel ini adalah 39.33 %.
2. Hasil Rapid Antigen Test negatif dan hasil swab RT PCT negatif sebanyak 769 sampel ini adalah 57.39 %.
3. Hasil Rapid Antigen Test negatif dan hasil swab RT PCT positif sebanyak 45 sampel ini adalah 3.36 %.
4. Hasil Rapid Antigen Test positif dan hasil swab RT PCT Negatif sebanyak 0 sampel ini adalah 0.0 %.



## PEMBAHASAN

Kelebihan dari rapid test antigen:

1. Mendeteksi komponen virus secara langsung Baik untuk deteksi fase akut (*early case detection.*)
2. Tidak membutuhkan masa inkubasi untuk menunjukkan hasil positif.
3. Tidak memerlukan spesifikasi laboratorium khusus untuk pengerjaan rapid test.
4. Tidak memerlukan keterampilan petugas secara khusus dalam pengerjaan rapid test (maksudnya tidak seperti dalam pengerjaan PCR yang memerlukan keahlian secara khusus dalam pelaksanaannya).

Kekurangan dari Rapid antigen covid :

1. Hanya dapat mendeteksi pada fase akut, sedangkan RT-PCR masih positif.
2. Menggunakan sampel saluran napas atas (swab naso/orofaring).
3. Ketidakterampilan petugas dalam pengambilan spesimen dapat mempengaruhi hasil.
4. Membutuhkan APD level 3 untuk pengambilan spesimen.
5. Memerlukan perhatian khusus terhadap sensitivitas yang bervariasi.
6. Uji validasi masih terbatas sehingga belum dapat menggantikan posisi RT- PCR.

Berdasarkan tabel hasil penelitian maka tingkat efektifitas dari pemeriksaan Rapid Antigen Test dengan hasil negatif dan positif yang dilanjutkan dengan pemeriksaan swab RT PCR adalah 96,33%.

Sedangkan yang terjadi ketidaksesuaian adalah 3.36 %, ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain :

1. Tidak terinfeksi COVID-19.
2. Prosedur pengambilan sampel kurang optimal.
3. Viral load rendah :
  - a. Fase awal penyakit.
  - b. Tertekan oleh imunitas host.
4. Sampel diambil pada fase akhir dari perjalanan penyakit.
5. Proses ekstraksi yang tidak sempurna.
6. Adanya penyakit penyerta/ komorbid (misalnya SLE).

Dapat disimpulkan bahwa rapid antigen test ini baru akurat mendeteksi pasien COVID-19 yang kadar virus dalam tubuhnya tinggi tapi kurang akurat mendeteksi pasien COVID-19 yang kadar virusnya rendah. Rapid antigen lebih baik dilakukan pada tahap awal infeksi ketika viral load atau jumlah virus sedang tinggi-tingginya.

Litbang Depdagri (199) menyatakan bahwa standar efektifitas, adalah:

| No | Persentase Efektivitas | Kriteria       |
|----|------------------------|----------------|
| 1  | >100 %                 | Sangat Efektif |
| 2  | 90% - 100%             | Efektif        |
| 3  | 80% - 90%              | Cukup efektif  |
| 4  | 60% - 80%              | Kurang efektif |
| 5  | <60%                   | Tidak efektif  |

Dengan rumus perhitungan;

$$\text{Efektifitas} = \frac{R}{T} \times 100$$

Keterangan:

*R* = Realisasi

*T* = Target

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil pemeriksaan rapid antigen test dan pemeriksaan RT PCR pada bulan Desember 2020 sd Februari 2021, dari 1340 sampel didapatkan tingkat efektifitas sebanyak 96,33 % dan tingkat ketidaksesuaian sebanyak 45 sampel atau 3.36 %.

Hasil yang ketidaksesuaian ini kemungkinan adanya Covid 19 yang sudah mulai bermutasi dengan di temukannya varian covid baru yaitu:

- |                   |                  |
|-------------------|------------------|
| a. Varian Alfa    | g. Varian Eta    |
| b. Varian Beta    | h. Varian Theta  |
| c. Varian Gamma   | i. Varian IOTA   |
| d. Varian Delta   | j. Varian Kappa  |
| e. Varian Epsilon | k. Varian Lambda |
| f. Varian Zeta    |                  |

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahuinya.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anhui Deepblue Medical Teknologi, Inset Kitt Rapid Antigen, 2020
- Buku Ajar TLM Virologi, PPSDM Kemenkes Tahun 2018
- Diagnosis Infeksi Akut Sars-Cov-2 Pada Individu Yang Dicurigai Covid-19 Dengan Hasil PCR Negatif, PDPI, 2021
- E-jurnal, Adityo Susilo,dkk, Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: Review of Current Literatures, Jurnal Penyakit Dalam Indonesia Vol. 7, No. 1 | Maret 2020.
- E-jurnal, Anggraini Iriani, Pemeriksaan Laboratorium Covid-19 di Layanan Kesehatan Primer,. IESA – FK Yarsi. Sabtu 16 Mei 2020.
- E-jurnal, Anita Suswanti Agustina, Perbandingan Metode Rt-Pcr Dan Test Rapid Antibodi Untuk Deteksi Covid-19, Jurnal Kesehatan Manarang Volume 6, Nomor Khusus, Oktober 2020, pp. 47 – 54
- E-jurnal, Mariana, W., Kontroversi Metode Deteksi COVID-19 di Indonesia, KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran, Vol. 2 (1) , 32-42, Desember 2020.
- E-jurnal, Yusra, Natasha Pangestu, Pemeriksaan Laboratorium pada Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Med Hosp 2020; vol 7.
- KMK No. 370/ Menkes/ SK./ III/ 2007 tentang Standar Profesi Ahli Teknologi Laboratorim Medik.

KMK No. HK. 01.07/ MENKES/ 382/ 2020 tentang Protokol Kesehatan Bagi Masyarakat di Tempat Umum Dalam Rangka Pencegahan dan Pengendalian Corona Virus Disease (covid-19).

Pedoman Pemeriksaan PCR SARS-cov-2 bagi Petugas Laboratorium, Kemenkes.2020.

Pedoman Tatalaksana Covid-19, edisi ke 5 tahun 2020

Sugiyono. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R&D. Bandung: Alfabeta. 2021

Tinjauan Pemeriksaan Laboratorium pada pasien Covid-19, Jurnal Kesehatan Vokasional, 2020

**Lampiran:**

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RT PCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RT PCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RT PCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RT PCR |
|----------------|--------------------|-------------|----------------|--------------------|-------------|----------------|--------------------|-------------|----------------|--------------------|-------------|
| 1              | Neg                | Neg         | 337            | Neg                | Neg         | 674            | Neg                | Pos         | 1011           | Pos                | Pos         |
| 2              | Neg                | Neg         | 338            | Pos                | Pos         | 675            | Neg                | Neg         | 1012           | Neg                | Neg         |
| 3              | Pos                | Pos         | 339            | Neg                | Neg         | 676            | Neg                | Neg         | 1013           | Pos                | Pos         |
| 4              | Neg                | Neg         | 340            | Pos                | Pos         | 677            | Neg                | Neg         | 1014           | Pos                | Pos         |
| 5              | Neg                | Neg         | 341            | Pos                | Pos         | 678            | Pos                | Pos         | 1015           | Pos                | Pos         |
| 6              | Neg                | Neg         | 342            | Pos                | Pos         | 679            | Neg                | Neg         | 1016           | Neg                | Neg         |
| 7              | Pos                | Pos         | 343            | Neg                | Pos         | 680            | Pos                | Pos         | 1017           | Neg                | Neg         |
| 8              | Pos                | Pos         | 344            | Neg                | Neg         | 681            | Neg                | Neg         | 1018           | Pos                | Pos         |
| 9              | Neg                | Neg         | 345            | Pos                | Pos         | 682            | Neg                | Neg         | 1019           | Neg                | Neg         |
| 10             | Pos                | Pos         | 346            | Pos                | Pos         | 683            | Pos                | Pos         | 1020           | Neg                | Neg         |
| 11             | Neg                | Neg         | 347            | Pos                | Pos         | 684            | Neg                | Neg         | 1021           | Neg                | Neg         |
| 12             | Neg                | Neg         | 348            | Neg                | Neg         | 685            | Pos                | Pos         | 1022           | Neg                | Neg         |
| 13             | Pos                | Pos         | 349            | Pos                | Pos         | 686            | Pos                | Pos         | 1023           | Neg                | Neg         |
| 14             | Pos                | Pos         | 350            | Neg                | Neg         | 687            | Neg                | Neg         | 1024           | Neg                | Neg         |
| 15             | Pos                | Pos         | 351            | Pos                | Pos         | 688            | Neg                | Neg         | 1025           | Pos                | Pos         |
| 16             | Neg                | Neg         | 352            | Pos                | Pos         | 689            | Pos                | Pos         | 1026           | Neg                | Neg         |
| 17             | Pos                | Pos         | 353            | Pos                | Pos         | 690            | Pos                | Pos         | 1027           | Neg                | Neg         |
| 18             | Pos                | Pos         | 354            | Neg                | Neg         | 691            | Neg                | Pos         | 1028           | Pos                | Pos         |
| 19             | Neg                | Pos         | 355            | Neg                | Neg         | 692            | Neg                | Neg         | 1029           | Pos                | Pos         |
| 20             | Neg                | Neg         | 356            | Neg                | Neg         | 693            | Pos                | Pos         | 1030           | Pos                | Pos         |
| 21             | Pos                | Pos         | 357            | Neg                | Neg         | 694            | Neg                | Neg         | 1031           | Pos                | Pos         |
| 22             | Pos                | Pos         | 358            | Pos                | Pos         | 695            | Neg                | Neg         | 1032           | Pos                | Pos         |
| 23             | Neg                | Neg         | 359            | Pos                | Pos         | 696            | Neg                | Pos         | 1033           | Neg                | Neg         |
| 24             | Neg                | Neg         | 360            | Neg                | Neg         | 697            | Neg                | Neg         | 1034           | Neg                | Neg         |
| 25             | Pos                | Pos         | 361            | Neg                | Neg         | 698            | Neg                | Neg         | 1035           | Neg                | Neg         |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 26             | Pos                | Pos        | 362            | Neg                | Neg        | 699            | Neg                | Pos        | 1036           | Neg                | Neg        |
| 27             | Neg                | Neg        | 363            | Pos                | Pos        | 700            | Pos                | Pos        | 1037           | Neg                | Neg        |
| 28             | Neg                | Neg        | 364            | Neg                | Neg        | 701            | Pos                | Pos        | 1038           | Neg                | Neg        |
| 29             | Pos                | Pos        | 365            | Pos                | Pos        | 702            | Pos                | Pos        | 1039           | Pos                | Pos        |
| 30             | Pos                | Pos        | 366            | Pos                | Pos        | 703            | Pos                | Pos        | 1040           | Pos                | Pos        |
| 31             | Neg                | Neg        | 367            | Pos                | Pos        | 704            | Neg                | Neg        | 1041           | Neg                | Neg        |
| 32             | Neg                | Neg        | 368            | Neg                | Neg        | 705            | Pos                | Pos        | 1042           | Pos                | Pos        |
| 33             | Neg                | Neg        | 369            | Pos                | Pos        | 706            | Neg                | Neg        | 1043           | Neg                | Neg        |
| 34             | Neg                | Neg        | 370            | Neg                | Neg        | 707            | Neg                | Neg        | 1044           | Neg                | Neg        |
| 35             | Pos                | Pos        | 371            | Neg                | Neg        | 708            | Pos                | Pos        | 1045           | Neg                | Neg        |
| 36             | Neg                | Neg        | 372            | Neg                | Pos        | 709            | Neg                | Neg        | 1046           | Neg                | Neg        |
| 37             | Pos                | Pos        | 373            | Pos                | Pos        | 710            | Pos                | Pos        | 1047           | Neg                | Neg        |
| 38             | Neg                | Pos        | 374            | Neg                | Neg        | 711            | Neg                | Neg        | 1048           | Neg                | Neg        |
| 39             | Neg                | Neg        | 375            | Neg                | Neg        | 712            | Pos                | Pos        | 1049           | Neg                | Neg        |
| 40             | Neg                | Neg        | 376            | Neg                | Neg        | 713            | Neg                | Neg        | 1050           | Neg                | Neg        |
| 41             | Neg                | Neg        | 377            | Pos                | Pos        | 714            | Pos                | Pos        | 1051           | Neg                | Neg        |
| 42             | Pos                | Pos        | 378            | Neg                | Neg        | 715            | Neg                | Neg        | 1052           | Neg                | Neg        |
| 43             | Pos                | Pos        | 379            | Neg                | Neg        | 716            | Neg                | Neg        | 1053           | Neg                | Neg        |
| 44             | Neg                | Neg        | 380            | Neg                | Neg        | 717            | Neg                | Neg        | 1054           | Neg                | Neg        |
| 45             | Neg                | Neg        | 381            | Neg                | Neg        | 718            | Neg                | Neg        | 1055           | Neg                | Neg        |
| 46             | Neg                | Neg        | 382            | Pos                | Pos        | 719            | Neg                | Neg        | 1056           | Pos                | Pos        |
| 47             | Neg                | Neg        | 383            | Pos                | Pos        | 720            | Neg                | Neg        | 1057           | Neg                | Neg        |
| 48             | Neg                | Neg        | 384            | Pos                | Pos        | 721            | Neg                | Neg        | 1058           | Neg                | Neg        |
| 49             | Neg                | Neg        | 385            | Neg                | Neg        | 722            | Neg                | Neg        | 1059           | Neg                | Neg        |
| 50             | Neg                | Neg        | 386            | Neg                | Neg        | 723            | Neg                | Neg        | 1060           | Neg                | Neg        |
| 51             | Pos                | Pos        | 387            | Pos                | Pos        | 724            | Pos                | Pos        | 1061           | Neg                | Neg        |
| 52             | Neg                | Neg        | 388            | Pos                | Pos        | 725            | Pos                | Pos        | 1062           | Neg                | Neg        |
| 53             | Pos                | Pos        | 389            | Neg                | Neg        | 726            | Neg                | Neg        | 1063           | Pos                | Pos        |
| 54             | Neg                | Neg        | 390            | Neg                | Neg        | 727            | Neg                | Neg        | 1064           | Pos                | Pos        |
| 55             | Neg                | Neg        | 391            | Pos                | Pos        | 728            | Neg                | Neg        | 1065           | Neg                | Neg        |
| 56             | Neg                | Neg        | 392            | Neg                | Neg        | 729            | Neg                | Neg        | 1066           | Neg                | Neg        |
| 57             | Pos                | Pos        | 393            | Neg                | Neg        | 730            | Pos                | Pos        | 1067           | Neg                | Neg        |
| 58             | Pos                | Pos        | 394            | Pos                | Pos        | 731            | Neg                | Neg        | 1068           | Neg                | Neg        |
| 59             | Neg                | Neg        | 395            | Pos                | Pos        | 732            | Neg                | Neg        | 1069           | Neg                | Neg        |
| 60             | Pos                | Pos        | 396            | Neg                | Neg        | 733            | Neg                | Neg        | 1070           | Pos                | Pos        |
| 61             | Neg                | Neg        | 397            | Pos                | Pos        | 734            | Neg                | Neg        | 1071           | Neg                | Neg        |
| 62             | Neg                | Neg        | 398            | Pos                | Pos        | 735            | Neg                | Neg        | 1072           | Pos                | Pos        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 63             | Neg                | Neg        | 399            | Neg                | Neg        | 736            | Neg                | Neg        | 1073           | Pos                | Pos        |
| 64             | Neg                | Neg        | 400            | Pos                | Pos        | 737            | Neg                | Pos        | 1074           | Neg                | Neg        |
| 65             | Neg                | Neg        | 401            | Neg                | Neg        | 738            | Pos                | Pos        | 1075           | Pos                | Pos        |
| 66             | Neg                | Neg        | 402            | Pos                | Pos        | 739            | Neg                | Neg        | 1076           | Pos                | Pos        |
| 67             | Neg                | Neg        | 403            | Neg                | Neg        | 740            | Pos                | Pos        | 1077           | Pos                | Pos        |
| 68             | Neg                | Neg        | 404            | Neg                | Neg        | 741            | Pos                | Pos        | 1078           | Neg                | Neg        |
| 69             | Neg                | Neg        | 405            | Neg                | Neg        | 742            | Neg                | Neg        | 1079           | Neg                | Neg        |
| 70             | Pos                | Pos        | 406            | Neg                | Neg        | 743            | Pos                | Pos        | 1080           | Pos                | Pos        |
| 71             | Neg                | Neg        | 407            | Neg                | Neg        | 744            | Neg                | Neg        | 1081           | Pos                | Pos        |
| 72             | Neg                | Neg        | 408            | Neg                | Neg        | 745            | Neg                | Neg        | 1082           | Neg                | Neg        |
| 73             | Pos                | Pos        | 409            | Neg                | Neg        | 746            | Neg                | Neg        | 1083           | Neg                | Neg        |
| 74             | Neg                | Pos        | 410            | Neg                | Neg        | 747            | Pos                | Pos        | 1084           | Pos                | Pos        |
| 75             | Neg                | Neg        | 411            | Neg                | Neg        | 748            | Pos                | Pos        | 1085           | Pos                | Pos        |
| 76             | Neg                | Neg        | 412            | Pos                | Pos        | 749            | Pos                | Pos        | 1086           | Neg                | Neg        |
| 77             | Neg                | Neg        | 413            | Neg                | Neg        | 750            | Neg                | Neg        | 1087           | Neg                | Neg        |
| 78             | Pos                | Pos        | 414            | Neg                | Neg        | 751            | Neg                | Neg        | 1088           | Pos                | Pos        |
| 79             | Neg                | Neg        | 415            | Neg                | Neg        | 752            | Neg                | Pos        | 1089           | Neg                | Neg        |
| 80             | Pos                | Pos        | 416            | Pos                | Pos        | 753            | Pos                | Pos        | 1090           | Neg                | Neg        |
| 81             | Neg                | Neg        | 417            | Pos                | Pos        | 754            | Neg                | Neg        | 1091           | Neg                | Neg        |
| 82             | Neg                | Neg        | 418            | Neg                | Neg        | 755            | Neg                | Neg        | 1092           | Pos                | Pos        |
| 83             | Neg                | Neg        | 419            | Neg                | Neg        | 756            | Neg                | Neg        | 1093           | Neg                | Neg        |
| 84             | Neg                | Neg        | 420            | Pos                | Pos        | 757            | Pos                | Pos        | 1094           | Neg                | Neg        |
| 85             | Pos                | Pos        | 421            | Neg                | Neg        | 758            | Pos                | Pos        | 1095           | Neg                | Neg        |
| 86             | Neg                | Neg        | 422            | Pos                | Pos        | 759            | Pos                | Pos        | 1096           | Neg                | Neg        |
| 87             | Neg                | Neg        | 423            | Neg                | Neg        | 760            | Pos                | Pos        | 1097           | Neg                | Neg        |
| 88             | Neg                | Neg        | 424            | Pos                | Pos        | 761            | Pos                | Pos        | 1098           | Pos                | Pos        |
| 89             | Neg                | Neg        | 425            | Neg                | Neg        | 762            | Neg                | Neg        | 1099           | Pos                | Pos        |
| 90             | Neg                | Neg        | 426            | Pos                | Pos        | 763            | Pos                | Pos        | 1100           | Pos                | Pos        |
| 91             | Neg                | Neg        | 427            | Pos                | Pos        | 764            | Neg                | Neg        | 1101           | Neg                | Neg        |
| 92             | Neg                | Neg        | 428            | Pos                | Pos        | 765            | Pos                | Pos        | 1102           | Neg                | Neg        |
| 93             | Neg                | Neg        | 429            | Neg                | Neg        | 766            | Neg                | Neg        | 1103           | Neg                | Neg        |
| 94             | Pos                | Pos        | 430            | Neg                | Neg        | 767            | Neg                | Neg        | 1104           | Neg                | Neg        |
| 95             | Neg                | Neg        | 431            | Neg                | Neg        | 768            | Neg                | Neg        | 1105           | Pos                | Pos        |
| 96             | Pos                | Pos        | 432            | Neg                | Neg        | 769            | Pos                | Pos        | 1106           | Pos                | Pos        |
| 97             | Neg                | Neg        | 433            | Pos                | Pos        | 770            | Neg                | Neg        | 1107           | Neg                | Neg        |
| 98             | Neg                | Neg        | 434            | Neg                | Neg        | 771            | Neg                | Neg        | 1108           | Pos                | Pos        |
| 99             | Neg                | Neg        | 435            | Neg                | Neg        | 772            | Neg                | Neg        | 1109           | Neg                | Neg        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 100            | Pos                | Pos        | 436            | Neg                | Neg        | 773            | Neg                | Neg        | 1110           | Neg                | Neg        |
| 101            | Neg                | Neg        | 437            | Neg                | Neg        | 774            | Neg                | Neg        | 1111           | Neg                | Neg        |
| 102            | Pos                | Pos        | 438            | Neg                | Neg        | 775            | Pos                | Pos        | 1112           | Neg                | Neg        |
| 103            | Pos                | Pos        | 439            | Neg                | Neg        | 776            | Neg                | Neg        | 1113           | Pos                | Pos        |
| 104            | Pos                | Pos        | 440            | Neg                | Neg        | 777            | Neg                | Neg        | 1114           | Neg                | Neg        |
| 105            | Neg                | Neg        | 441            | Pos                | Pos        | 778            | Neg                | Neg        | 1115           | Pos                | Pos        |
| 106            | Pos                | Pos        | 442            | Neg                | Neg        | 779            | Pos                | Pos        | 1116           | Neg                | Neg        |
| 107            | Neg                | Neg        | 443            | Pos                | Pos        | 780            | Pos                | Pos        | 1117           | Neg                | Neg        |
| 108            | Pos                | Pos        | 444            | Neg                | Neg        | 781            | Pos                | Pos        | 1118           | Neg                | Neg        |
| 109            | Pos                | Pos        | 445            | Neg                | Pos        | 782            | Neg                | Neg        | 1119           | Pos                | Pos        |
| 110            | Neg                | Neg        | 446            | Pos                | Pos        | 783            | Pos                | Pos        | 1120           | Neg                | Neg        |
| 111            | Neg                | Neg        | 447            | Neg                | Neg        | 784            | Pos                | Pos        | 1121           | Neg                | Neg        |
| 112            | Pos                | Pos        | 448            | Neg                | Neg        | 785            | Neg                | Neg        | 1122           | Pos                | Pos        |
| 113            | Neg                | Neg        | 449            | Pos                | Pos        | 786            | Neg                | Neg        | 1123           | Pos                | Pos        |
| 114            | Neg                | Neg        | 450            | Neg                | Neg        | 787            | Neg                | Neg        | 1124           | Pos                | Pos        |
| 115            | Neg                | Neg        | 451            | Neg                | Neg        | 788            | Pos                | Pos        | 1125           | Pos                | Pos        |
| 116            | Pos                | Pos        | 452            | Pos                | Pos        | 789            | Neg                | Neg        | 1126           | Pos                | Pos        |
| 117            | Neg                | Neg        | 453            | Pos                | Pos        | 790            | Neg                | Neg        | 1127           | Neg                | Neg        |
| 118            | Neg                | Neg        | 454            | Pos                | Pos        | 791            | Pos                | Pos        | 1128           | Pos                | Pos        |
| 119            | Neg                | Neg        | 455            | Neg                | Neg        | 792            | Neg                | Neg        | 1129           | Pos                | Pos        |
| 120            | Neg                | Neg        | 456            | Pos                | Pos        | 793            | Neg                | Neg        | 1130           | Pos                | Pos        |
| 121            | Pos                | Pos        | 457            | Pos                | Pos        | 794            | Neg                | Neg        | 1131           | Pos                | Pos        |
| 122            | Pos                | Pos        | 458            | Neg                | Neg        | 795            | Neg                | Neg        | 1132           | Neg                | Neg        |
| 123            | Neg                | Neg        | 459            | Neg                | Neg        | 796            | Neg                | Neg        | 1133           | Neg                | Neg        |
| 124            | Neg                | Neg        | 460            | Neg                | Neg        | 797            | Pos                | Pos        | 1134           | Neg                | Neg        |
| 125            | Neg                | Neg        | 461            | Neg                | Pos        | 798            | Pos                | Pos        | 1135           | Pos                | Pos        |
| 126            | Pos                | Pos        | 462            | Pos                | Pos        | 799            | Neg                | Neg        | 1136           | Pos                | Pos        |
| 127            | Neg                | Neg        | 463            | Neg                | Neg        | 800            | Neg                | Neg        | 1137           | Neg                | Neg        |
| 128            | Pos                | Pos        | 464            | Pos                | Pos        | 801            | Neg                | Neg        | 1138           | Pos                | Pos        |
| 129            | Neg                | Neg        | 465            | Neg                | Neg        | 802            | Neg                | Neg        | 1139           | Pos                | Pos        |
| 130            | Neg                | Neg        | 466            | Pos                | Pos        | 803            | Neg                | Neg        | 1140           | Pos                | Pos        |
| 131            | Pos                | Pos        | 467            | Neg                | Neg        | 804            | Neg                | Neg        | 1141           | Neg                | Neg        |
| 132            | Neg                | Neg        | 468            | Pos                | Pos        | 805            | Neg                | Neg        | 1142           | Neg                | Neg        |
| 133            | Pos                | Pos        | 469            | Neg                | Neg        | 806            | Pos                | Pos        | 1143           | Neg                | Neg        |
| 134            | Pos                | Pos        | 470            | Neg                | Neg        | 807            | Pos                | Pos        | 1144           | Neg                | Neg        |
| 135            | Neg                | Neg        | 471            | Neg                | Neg        | 808            | Neg                | Neg        | 1145           | Pos                | Pos        |
| 136            | Neg                | Neg        | 472            | Pos                | Pos        | 809            | Pos                | Pos        | 1146           | Neg                | Neg        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |   | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |  | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |  | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|---|----------------|--------------------|------------|--|----------------|--------------------|------------|--|----------------|--------------------|------------|
| 137            | Neg                | Neg        |   | 473            | Neg                | Neg        |  | 810            | Pos                | Pos        |  | 1147           | Neg                | Neg        |
| 138            | Pos                | Pos        |   | 474            | Pos                | Pos        |  | 811            | Pos                | Pos        |  | 1148           | Neg                | Neg        |
| 139            | Pos                | Pos        |   | 475            | Neg                | Neg        |  | 812            | Pos                | Pos        |  | 1149           | Pos                | Pos        |
| 140            | Neg                | Neg        |   | 476            | Neg                | Neg        |  | 813            | Neg                | Neg        |  | 1150           | Neg                | Neg        |
| 141            | Pos                | Pos        |   | 477            | Neg                | Neg        |  | 814            | Neg                | Neg        |  | 1151           | Neg                | Neg        |
| 142            | Neg                | Neg        |   | 478            | Neg                | Neg        |  | 815            | Neg                | Neg        |  | 1152           | Pos                | Pos        |
| 143            | Neg                | Neg        |   | 479            | Neg                | Neg        |  | 816            | Neg                | Neg        |  | 1153           | Pos                | Pos        |
| 144            | Neg                | Neg        |   | 480            | Neg                | Neg        |  | 817            | Pos                | Pos        |  | 1154           | Pos                | Pos        |
| 145            | Pos                | Pos        |   | 481            | Neg                | Neg        |  | 818            | Neg                | Neg        |  | 1155           | Neg                | Neg        |
| 146            | Pos                | Pos        |   | 482            | Neg                | Neg        |  | 819            | Pos                | Pos        |  | 1156           | Neg                | Neg        |
| 147            | Neg                | Pos        | 1 | 483            | Neg                | Neg        |  | 820            | Neg                | Neg        |  | 1157           | Pos                | Pos        |
| 148            | Neg                | Neg        |   | 484            | Neg                | Neg        |  | 821            | Neg                | Neg        |  | 1158           | Pos                | Pos        |
| 149            | Pos                | Pos        |   | 485            | Neg                | Neg        |  | 822            | Neg                | Neg        |  | 1159           | Neg                | Neg        |
| 150            | Pos                | Pos        |   | 486            | Pos                | Pos        |  | 823            | Pos                | Pos        |  | 1160           | Pos                | Pos        |
| 151            | Neg                | Neg        |   | 487            | Neg                | Neg        |  | 824            | Neg                | Neg        |  | 1161           | Neg                | Neg        |
| 152            | Neg                | Neg        |   | 488            | Pos                | Pos        |  | 825            | Neg                | Neg        |  | 1162           | Pos                | Pos        |
| 153            | Neg                | Neg        |   | 489            | Neg                | Neg        |  | 826            | Pos                | Pos        |  | 1163           | Pos                | Pos        |
| 154            | Pos                | Pos        |   | 490            | Neg                | Neg        |  | 827            | Neg                | Neg        |  | 1164           | Neg                | Neg        |
| 155            | Neg                | Neg        |   | 491            | Neg                | Neg        |  | 828            | Pos                | Pos        |  | 1165           | Neg                | Neg        |
| 156            | Neg                | Neg        |   | 492            | Neg                | Neg        |  | 829            | Pos                | Pos        |  | 1166           | Neg                | Neg        |
| 157            | Neg                | Neg        |   | 493            | Neg                | Neg        |  | 830            | Neg                | Neg        |  | 1167           | Pos                | Pos        |
| 158            | Neg                | Neg        |   | 494            | Neg                | Neg        |  | 831            | Pos                | Pos        |  | 1168           | Neg                | Neg        |
| 159            | Neg                | Neg        |   | 495            | Neg                | Neg        |  | 832            | Pos                | Pos        |  | 1169           | Neg                | Neg        |
| 160            | Neg                | Neg        |   | 496            | Pos                | Pos        |  | 833            | Pos                | Pos        |  | 1170           | Neg                | Neg        |
| 161            | Pos                | Pos        |   | 497            | Neg                | Neg        |  | 834            | Neg                | Neg        |  | 1171           | Pos                | Pos        |
| 162            | Pos                | Pos        |   | 498            | Pos                | Pos        |  | 835            | Neg                | Neg        |  | 1172           | Neg                | Neg        |
| 163            | Neg                | Neg        |   | 499            | Pos                | Pos        |  | 836            | Neg                | Neg        |  | 1173           | Neg                | Neg        |
| 164            | Neg                | Neg        |   | 500            | Neg                | Neg        |  | 837            | Neg                | Neg        |  | 1174           | Neg                | Neg        |
| 165            | Neg                | Neg        |   | 501            | Neg                | Neg        |  | 838            | Neg                | Neg        |  | 1175           | Pos                | Pos        |
| 166            | Neg                | Neg        |   | 502            | Neg                | Neg        |  | 839            | Neg                | Neg        |  | 1176           | Neg                | Neg        |
| 167            | Neg                | Neg        |   | 503            | Neg                | Neg        |  | 840            | Neg                | Neg        |  | 1177           | Pos                | Pos        |
| 168            | Neg                | Neg        |   | 504            | Pos                | Pos        |  | 841            | Neg                | Neg        |  | 1178           | Pos                | Pos        |
| 169            | Neg                | Neg        |   | 505            | Pos                | Pos        |  | 842            | Neg                | Neg        |  | 1179           | Pos                | Pos        |
| 170            | Pos                | Pos        |   | 506            | Neg                | Neg        |  | 843            | Neg                | Neg        |  | 1180           | Neg                | Neg        |
| 171            | Pos                | Pos        |   | 507            | Pos                | Pos        |  | 844            | Neg                | Neg        |  | 1181           | Neg                | Neg        |
| 172            | Neg                | Neg        |   | 508            | Neg                | Neg        |  | 845            | Neg                | Neg        |  | 1182           | Pos                | Pos        |
| 173            | Neg                | Neg        |   | 509            | Neg                | Neg        |  | 846            | Neg                | Neg        |  | 1183           | Neg                | Neg        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |   | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |   | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |   | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|---|----------------|--------------------|------------|---|----------------|--------------------|------------|---|----------------|--------------------|------------|
| 174            | Neg                | Pos        | 1 | 510            | Neg                | Neg        |   | 847            | Pos                | Pos        |   | 1184           | Pos                | Pos        |
| 175            | Neg                | Neg        |   | 511            | Pos                | Pos        |   | 848            | Neg                | Neg        |   | 1185           | Pos                | Pos        |
| 176            | Neg                | Neg        |   | 512            | Neg                | Neg        |   | 849            | Neg                | Neg        |   | 1186           | Pos                | Pos        |
| 177            | Neg                | Neg        |   | 513            | Neg                | Neg        |   | 850            | Neg                | Neg        |   | 1187           | Pos                | Pos        |
| 178            | Neg                | Neg        |   | 514            | Pos                | Pos        |   | 851            | Pos                | Pos        |   | 1188           | Pos                | Pos        |
| 179            | Pos                | Pos        |   | 515            | Neg                | Neg        |   | 852            | Neg                | Neg        |   | 1189           | Pos                | Pos        |
| 180            | Pos                | Pos        |   | 516            | Pos                | Pos        |   | 853            | Neg                | Neg        |   | 1190           | Pos                | Pos        |
| 181            | Neg                | Neg        |   | 517            | Neg                | Neg        |   | 854            | Pos                | Pos        |   | 1191           | Neg                | Pos        |
| 182            | Neg                | Neg        |   | 518            | Neg                | Neg        |   | 855            | Neg                | Neg        |   | 1192           | Pos                | Pos        |
| 183            | Neg                | Neg        |   | 519            | Neg                | Neg        |   | 856            | Neg                | Neg        |   | 1193           | Pos                | Pos        |
| 184            | Pos                | Pos        |   | 520            | Neg                | Neg        |   | 857            | Pos                | Pos        |   | 1194           | Neg                | Neg        |
| 185            | Pos                | Pos        |   | 521            | Neg                | Neg        |   | 858            | Neg                | Neg        |   | 1195           | Neg                | Neg        |
| 186            | Neg                | Neg        |   | 522            | Neg                | Neg        |   | 859            | Neg                | Neg        |   | 1196           | Neg                | Neg        |
| 187            | Neg                | Neg        |   | 523            | Neg                | Pos        | 1 | 860            | Neg                | Neg        |   | 1197           | Neg                | Neg        |
| 188            | Neg                | Neg        |   | 524            | Neg                | Neg        |   | 861            | Neg                | Neg        |   | 1198           | Pos                | Pos        |
| 189            | Pos                | Pos        |   | 525            | Pos                | Pos        |   | 862            | Neg                | Neg        |   | 1199           | Pos                | Pos        |
| 190            | Neg                | Neg        |   | 526            | Neg                | Neg        |   | 863            | Neg                | Neg        |   | 1200           | Neg                | Neg        |
| 191            | Pos                | Pos        |   | 527            | Neg                | Neg        |   | 864            | Neg                | Neg        |   | 1201           | Neg                | Neg        |
| 192            | Neg                | Neg        |   | 528            | Neg                | Neg        |   | 865            | Neg                | Neg        |   | 1202           | Neg                | Neg        |
| 193            | Pos                | Pos        |   | 529            | Pos                | Pos        |   | 866            | Neg                | Neg        |   | 1203           | Neg                | Neg        |
| 194            | Pos                | Pos        |   | 530            | Pos                | Pos        |   | 867            | Pos                | Pos        |   | 1204           | Neg                | Neg        |
| 195            | Neg                | Neg        |   | 531            | Neg                | Neg        |   | 868            | Pos                | Pos        |   | 1205           | Neg                | Neg        |
| 196            | Neg                | Neg        |   | 532            | Pos                | Pos        |   | 869            | Neg                | Neg        |   | 1206           | Neg                | Neg        |
| 197            | Pos                | Pos        |   | 533            | Pos                | Pos        |   | 870            | Neg                | Neg        |   | 1207           | Neg                | Pos        |
| 198            | Neg                | Neg        |   | 534            | Pos                | Pos        |   | 871            | Pos                | Pos        |   | 1208           | Neg                | Neg        |
| 199            | Neg                | Neg        |   | 535            | Pos                | Pos        |   | 872            | Neg                | Neg        |   | 1209           | Pos                | Pos        |
| 200            | Neg                | Neg        |   | 536            | Neg                | Neg        |   | 873            | Neg                | Neg        |   | 1210           | Neg                | Neg        |
| 201            | Neg                | Neg        |   | 537            | Neg                | Neg        |   | 874            | Pos                | Pos        |   | 1211           | Neg                | Neg        |
| 202            | Neg                | Neg        |   | 538            | Neg                | Neg        |   | 875            | Pos                | Pos        |   | 1212           | Neg                | Neg        |
| 203            | Neg                | Neg        |   | 539            | Pos                | Pos        |   | 876            | Neg                | Neg        |   | 1213           | Pos                | Pos        |
| 204            | Neg                | Neg        |   | 540            | Pos                | Pos        |   | 877            | Pos                | Pos        |   | 1214           | Pos                | Pos        |
| 205            | Neg                | Neg        |   | 541            | Pos                | Pos        |   | 878            | Neg                | Neg        |   | 1215           | Neg                | Neg        |
| 206            | Neg                | Neg        |   | 542            | Neg                | Neg        |   | 879            | Neg                | Neg        |   | 1216           | Pos                | Pos        |
| 207            | Neg                | Neg        |   | 543            | Pos                | Pos        |   | 880            | Neg                | Neg        |   | 1217           | Neg                | Neg        |
| 208            | Pos                | Pos        |   | 544            | Pos                | Pos        |   | 881            | Neg                | Neg        |   | 1218           | Neg                | Neg        |
| 209            | Pos                | Pos        |   | 545            | Neg                | Neg        |   | 882            | Neg                | Pos        | 1 | 1219           | Pos                | Pos        |
| 210            | Neg                | Neg        |   | 546            | Neg                | Neg        |   | 883            | Neg                | Neg        |   | 1220           | Pos                | Pos        |



| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 211            | Neg                | Neg        | 547            | Neg                | Neg        | 884            | Neg                | Neg        | 1221           | Pos                | Pos        |
| 212            | Neg                | Neg        | 548            | Neg                | Neg        | 885            | Pos                | Pos        | 1222           | Pos                | Pos        |
| 213            | Neg                | Neg        | 549            | Pos                | Pos        | 886            | Neg                | Neg        | 1223           | Neg                | Neg        |
| 214            | Neg                | Neg        | 550            | Neg                | Neg        | 887            | Neg                | Neg        | 1224           | Neg                | Neg        |
| 215            | Pos                | Pos        | 551            | Neg                | Neg        | 888            | Neg                | Neg        | 1225           | Pos                | Pos        |
| 216            | Neg                | Neg        | 552            | Neg                | Neg        | 889            | Neg                | Neg        | 1226           | Pos                | Pos        |
| 217            | Neg                | Neg        | 553            | Pos                | Pos        | 890            | Pos                | Pos        | 1227           | Neg                | Pos        |
| 218            | Neg                | Neg        | 554            | Neg                | Neg        | 891            | Pos                | Pos        | 1228           | Neg                | Pos        |
| 219            | Neg                | Neg        | 555            | Pos                | Pos        | 892            | Neg                | Neg        | 1229           | Pos                | Pos        |
| 220            | Neg                | Neg        | 556            | Neg                | Neg        | 893            | Pos                | Pos        | 1230           | Neg                | Neg        |
| 221            | Neg                | Neg        | 557            | Pos                | Pos        | 894            | Neg                | Neg        | 1231           | Neg                | Neg        |
| 222            | Neg                | Neg        | 558            | Neg                | Neg        | 895            | Neg                | Neg        | 1232           | Neg                | Neg        |
| 223            | Pos                | Pos        | 559            | Pos                | Pos        | 896            | Pos                | Pos        | 1233           | Neg                | Pos        |
| 224            | Neg                | Neg        | 560            | Pos                | Pos        | 897            | Neg                | Neg        | 1234           | Neg                | Neg        |
| 225            | Neg                | Neg        | 561            | Pos                | Pos        | 898            | Pos                | Pos        | 1235           | Neg                | Neg        |
| 226            | Pos                | Pos        | 562            | Pos                | Pos        | 899            | Neg                | Neg        | 1236           | Pos                | Pos        |
| 227            | Neg                | Neg        | 563            | Pos                | Pos        | 900            | Neg                | Neg        | 1237           | Pos                | Pos        |
| 228            | Pos                | Pos        | 564            | Neg                | Neg        | 901            | Pos                | Pos        | 1238           | Neg                | Neg        |
| 229            | Neg                | Neg        | 565            | Neg                | Neg        | 902            | Pos                | Pos        | 1239           | Neg                | Neg        |
| 230            | Neg                | Neg        | 566            | Neg                | Neg        | 903            | Neg                | Neg        | 1240           | Neg                | Neg        |
| 231            | Neg                | Neg        | 567            | Neg                | Neg        | 904            | Pos                | Pos        | 1241           | Neg                | Neg        |
| 232            | Neg                | Neg        | 568            | Pos                | Pos        | 905            | Neg                | Neg        | 1242           | Neg                | Neg        |
| 233            | Neg                | Neg        | 569            | Pos                | Pos        | 906            | Neg                | Neg        | 1243           | Neg                | Neg        |
| 234            | Neg                | Neg        | 570            | Pos                | Pos        | 907            | Pos                | Pos        | 1244           | Neg                | Neg        |
| 235            | Neg                | Neg        | 571            | Neg                | Neg        | 908            | Neg                | Neg        | 1245           | Pos                | Pos        |
| 236            | Neg                | Neg        | 572            | Neg                | Pos        | 909            | Pos                | Pos        | 1246           | Neg                | Pos        |
| 237            | Pos                | Pos        | 573            | Neg                | Neg        | 910            | Neg                | Neg        | 1247           | Neg                | Neg        |
| 238            | Neg                | Neg        | 574            | Neg                | Neg        | 911            | Pos                | Pos        | 1248           | Pos                | Pos        |
| 239            | Neg                | Neg        | 575            | Pos                | Pos        | 912            | Neg                | Neg        | 1249           | Neg                | Neg        |
| 240            | Neg                | Neg        | 576            | Pos                | Pos        | 913            | Neg                | Neg        | 1250           | Neg                | Neg        |
| 241            | Neg                | Neg        | 577            | Pos                | Pos        | 914            | Neg                | Neg        | 1251           | Pos                | Pos        |
| 242            | Pos                | Pos        | 578            | Neg                | Neg        | 915            | Pos                | Pos        | 1252           | Pos                | Pos        |
| 243            | Neg                | Neg        | 579            | Pos                | Pos        | 916            | Neg                | Neg        | 1253           | Neg                | Neg        |
| 244            | Pos                | Pos        | 580            | Pos                | Pos        | 917            | Pos                | Pos        | 1254           | Pos                | Pos        |
| 245            | Neg                | Neg        | 581            | Neg                | Neg        | 918            | Neg                | Neg        | 1255           | Neg                | Neg        |
| 246            | Pos                | Pos        | 582            | Neg                | Neg        | 919            | Neg                | Neg        | 1256           | Pos                | Pos        |
| 247            | Neg                | Neg        | 583            | Neg                | Neg        | 920            | Pos                | Pos        | 1257           | Neg                | Neg        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 248            | Pos                | Pos        | 584            | Pos                | Pos        | 921            | Neg                | Neg        | 1258           | Neg                | Neg        |
| 249            | Neg                | Neg        | 585            | Pos                | Pos        | 922            | Neg                | Neg        | 1259           | Neg                | Neg        |
| 250            | Neg                | Neg        | 586            | Pos                | Pos        | 923            | Neg                | Neg        | 1260           | Neg                | Neg        |
| 251            | Pos                | Pos        | 587            | Neg                | Neg        | 924            | Neg                | Neg        | 1261           | Pos                | Pos        |
| 252            | Neg                | Neg        | 588            | Pos                | Pos        | 925            | Pos                | Pos        | 1262           | Neg                | Neg        |
| 253            | Neg                | Neg        | 589            | Neg                | Neg        | 926            | Neg                | Neg        | 1263           | Neg                | Neg        |
| 254            | Pos                | Pos        | 590            | Pos                | Pos        | 927            | Pos                | Pos        | 1264           | Neg                | Neg        |
| 255            | Neg                | Neg        | 591            | Pos                | Pos        | 928            | Neg                | Neg        | 1265           | Neg                | Neg        |
| 256            | Pos                | Pos        | 592            | Neg                | Neg        | 929            | Neg                | Neg        | 1266           | Pos                | Pos        |
| 257            | Neg                | Neg        | 593            | Neg                | Neg        | 930            | Pos                | Pos        | 1267           | Pos                | Pos        |
| 258            | Neg                | Neg        | 594            | Pos                | Pos        | 931            | Neg                | Neg        | 1268           | Pos                | Pos        |
| 259            | Pos                | Pos        | 595            | Pos                | Pos        | 932            | Pos                | Pos        | 1269           | Neg                | Neg        |
| 260            | Pos                | Pos        | 596            | Neg                | Neg        | 933            | Pos                | Pos        | 1270           | Neg                | Neg        |
| 261            | Neg                | Neg        | 597            | Neg                | Neg        | 934            | Pos                | Pos        | 1271           | Neg                | Neg        |
| 262            | Pos                | Pos        | 598            | Pos                | Pos        | 935            | Pos                | Pos        | 1272           | Pos                | Pos        |
| 263            | Pos                | Pos        | 599            | Pos                | Pos        | 936            | Neg                | Neg        | 1273           | Pos                | Pos        |
| 264            | Pos                | Pos        | 600            | Pos                | Pos        | 937            | Pos                | Pos        | 1274           | Pos                | Pos        |
| 265            | Pos                | Pos        | 601            | Neg                | Neg        | 938            | Neg                | Neg        | 1275           | Neg                | Neg        |
| 266            | Neg                | Neg        | 602            | Neg                | Neg        | 939            | Pos                | Pos        | 1276           | Neg                | Neg        |
| 267            | Neg                | Neg        | 603            | Neg                | Neg        | 940            | Neg                | Neg        | 1277           | Neg                | Neg        |
| 268            | Neg                | Neg        | 604            | Neg                | Neg        | 941            | Neg                | Neg        | 1278           | Pos                | Pos        |
| 269            | Pos                | Pos        | 605            | Neg                | Neg        | 942            | Neg                | Neg        | 1279           | Neg                | Neg        |
| 270            | Pos                | Pos        | 606            | Neg                | Pos        | 943            | Neg                | Neg        | 1280           | Neg                | Neg        |
| 271            | Pos                | Pos        | 607            | Neg                | Neg        | 944            | Pos                | Pos        | 1281           | Neg                | Neg        |
| 272            | Pos                | Pos        | 608            | Pos                | Pos        | 945            | Pos                | Pos        | 1282           | Pos                | Pos        |
| 273            | Neg                | Neg        | 609            | Neg                | Neg        | 946            | Neg                | Neg        | 1283           | Neg                | Neg        |
| 274            | Neg                | Neg        | 610            | Pos                | Pos        | 947            | Neg                | Neg        | 1284           | Pos                | Pos        |
| 275            | Neg                | Neg        | 611            | Pos                | Pos        | 948            | Pos                | Pos        | 1285           | Pos                | Pos        |
| 276            | Neg                | Neg        | 612            | Neg                | Neg        | 949            | Pos                | Pos        | 1286           | Pos                | Pos        |
| 277            | Neg                | Neg        | 613            | Neg                | Neg        | 950            | Neg                | Neg        | 1287           | Neg                | Neg        |
| 278            | Neg                | Neg        | 614            | Neg                | Neg        | 951            | Pos                | Pos        | 1288           | Pos                | Pos        |
| 279            | Pos                | Pos        | 615            | Pos                | Pos        | 952            | Pos                | Pos        | 1289           | Pos                | Pos        |
| 280            | Pos                | Pos        | 616            | Neg                | Neg        | 953            | Pos                | Pos        | 1290           | Pos                | Pos        |
| 281            | Neg                | Neg        | 617            | Neg                | Neg        | 954            | Neg                | Neg        | 1291           | Pos                | Pos        |
| 282            | Pos                | Pos        | 618            | Neg                | Neg        | 955            | Pos                | Pos        | 1292           | Neg                | Neg        |
| 283            | Pos                | Pos        | 619            | Pos                | Pos        | 956            | Neg                | Neg        | 1293           | Pos                | Pos        |
| 284            | Neg                | Neg        | 620            | Pos                | Pos        | 957            | Neg                | Neg        | 1294           | Pos                | Pos        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 285            | Neg                | Neg        | 621            | Pos                | Pos        | 958            | Pos                | Pos        | 1295           | Neg                | Neg        |
| 286            | Pos                | Pos        | 622            | Neg                | Neg        | 959            | Neg                | Neg        | 1296           | Pos                | Pos        |
| 287            | Pos                | Pos        | 623            | Neg                | Neg        | 960            | Neg                | Neg        | 1297           | Pos                | Pos        |
| 288            | Neg                | Neg        | 624            | Neg                | Pos        | 961            | Pos                | Pos        | 1298           | Neg                | Neg        |
| 289            | Neg                | Neg        | 625            | Neg                | Pos        | 962            | Neg                | Neg        | 1299           | Neg                | Neg        |
| 290            | Neg                | Neg        | 626            | Neg                | Neg        | 963            | Pos                | Pos        | 1300           | Neg                | Neg        |
| 291            | Pos                | Pos        | 627            | Pos                | Pos        | 964            | Pos                | Pos        | 1301           | Neg                | Neg        |
| 292            | Neg                | Neg        | 628            | Pos                | Pos        | 965            | Neg                | Neg        | 1302           | Neg                | Neg        |
| 293            | Neg                | Neg        | 629            | Neg                | Neg        | 966            | Pos                | Pos        | 1303           | Neg                | Neg        |
| 294            | Pos                | Pos        | 630            | Pos                | Pos        | 967            | Neg                | Neg        | 1304           | Neg                | Neg        |
| 295            | Neg                | Pos        | 631            | Neg                | Neg        | 968            | Neg                | Pos        | 1305           | Neg                | Neg        |
| 296            | Neg                | Pos        | 632            | Pos                | Pos        | 969            | Neg                | Neg        | 1306           | Pos                | Pos        |
| 297            | Pos                | Pos        | 633            | Pos                | Pos        | 970            | Neg                | Neg        | 1307           | Neg                | Neg        |
| 298            | Neg                | Neg        | 634            | Pos                | Pos        | 971            | Neg                | Neg        | 1308           | Neg                | Neg        |
| 299            | Neg                | Neg        | 635            | Pos                | Pos        | 972            | Neg                | Neg        | 1309           | Neg                | Neg        |
| 300            | Pos                | Pos        | 636            | Neg                | Neg        | 973            | Neg                | Neg        | 1310           | Pos                | Pos        |
| 301            | Neg                | Neg        | 637            | Neg                | Neg        | 974            | Pos                | Pos        | 1311           | Pos                | Pos        |
| 302            | Neg                | Neg        | 638            | Neg                | Neg        | 975            | Pos                | Pos        | 1312           | Neg                | Neg        |
| 303            | Neg                | Neg        | 639            | Neg                | Neg        | 976            | Neg                | Neg        | 1313           | Neg                | Neg        |
| 304            | Pos                | Pos        | 640            | Neg                | Neg        | 977            | Pos                | Pos        | 1314           | Pos                | Pos        |
| 305            | Neg                | Neg        | 641            | Pos                | Pos        | 978            | Neg                | Neg        | 1315           | Neg                | Neg        |
| 306            | Neg                | Neg        | 642            | Neg                | Neg        | 979            | Pos                | Pos        | 1316           | Pos                | Pos        |
| 307            | Neg                | Neg        | 643            | Neg                | Neg        | 980            | Neg                | Neg        | 1317           | Pos                | Pos        |
| 308            | Pos                | Pos        | 644            | Pos                | Pos        | 981            | Neg                | Neg        | 1318           | Pos                | Pos        |
| 309            | Neg                | Neg        | 645            | Neg                | Neg        | 982            | Neg                | Neg        | 1319           | Neg                | Neg        |
| 310            | Neg                | Neg        | 646            | Neg                | Neg        | 983            | Neg                | Neg        | 1320           | Neg                | Neg        |
| 311            | Pos                | Pos        | 647            | Neg                | Neg        | 984            | Pos                | Pos        | 1321           | Neg                | Neg        |
| 312            | Neg                | Neg        | 648            | Neg                | Neg        | 985            | Pos                | Pos        | 1322           | Neg                | Neg        |
| 313            | Neg                | Neg        | 649            | Neg                | Neg        | 986            | Pos                | Pos        | 1323           | Pos                | Pos        |
| 314            | Neg                | Neg        | 650            | Pos                | Pos        | 987            | Pos                | Pos        | 1324           | Neg                | Pos        |
| 315            | Neg                | Neg        | 651            | Pos                | Pos        | 988            | Neg                | Pos        | 1325           | Neg                | Neg        |
| 316            | Pos                | Pos        | 652            | Neg                | Pos        | 989            | Neg                | Neg        | 1326           | Pos                | Pos        |
| 317            | Neg                | Neg        | 653            | Neg                | Neg        | 990            | Pos                | Pos        | 1327           | Pos                | Pos        |
| 318            | Neg                | Neg        | 654            | Pos                | Pos        | 991            | Pos                | Pos        | 1328           | Pos                | Pos        |
| 319            | Neg                | Neg        | 655            | Pos                | Pos        | 992            | Neg                | Neg        | 1329           | Neg                | Neg        |
| 320            | Neg                | Neg        | 656            | Neg                | Neg        | 993            | Neg                | Pos        | 1330           | Neg                | Neg        |
| 320            | Pos                | Pos        | 657            | Pos                | Pos        | 994            | Neg                | Pos        | 1331           | Pos                | Pos        |

| No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR | No Kode Sampel | Rapid Antigen Test | Swab RTPCR |
|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|----------------|--------------------|------------|
| 321            | Pos                | Pos        | 658            | Pos                | Pos        | 995            | Neg                | Pos        | 1332           | Neg                | Neg        |
| 322            | Pos                | Pos        | 659            | Neg                | Pos        | 996            | Neg                | Pos        | 1333           | Pos                | Pos        |
| 323            | Pos                | Pos        | 660            | Pos                | Pos        | 997            | Neg                | Pos        | 1334           | Pos                | Pos        |
| 324            | Pos                | Pos        | 661            | Neg                | Pos        | 998            | Neg                | Pos        | 1335           | Pos                | Pos        |
| 325            | Pos                | Pos        | 662            | Pos                | Pos        | 999            | Pos                | Pos        | 1336           | Pos                | Pos        |
| 326            | Pos                | Pos        | 663            | Pos                | Pos        | 1000           | Pos                | Pos        | 1337           | Pos                | Pos        |
| 327            | Pos                | Pos        | 664            | Pos                | Pos        | 1001           | Pos                | Pos        | 1338           | Neg                | Pos        |
| 328            | Pos                | Pos        | 665            | Neg                | Pos        | 1002           | Pos                | Pos        | 1339           | Pos                | Pos        |
| 329            | Pos                | Pos        | 666            | Pos                | Pos        | 1003           | Pos                | Pos        | 1340           | Pos                | Pos        |
| 330            | Pos                | Pos        | 667            | Neg                | Pos        | 1004           | Neg                | Pos        |                |                    |            |
| 331            | Pos                | Pos        | 668            | Pos                | Pos        | 1005           | Pos                | Pos        |                |                    |            |
| 332            | Pos                | Pos        | 669            | Pos                | Pos        | 1006           | Neg                | Neg        |                |                    |            |
| 333            | Pos                | Pos        | 670            | Neg                | Neg        | 1007           | Pos                | Pos        |                |                    |            |
| 334            | Pos                | Pos        | 671            | Pos                | Pos        | 1008           | Pos                | Pos        |                |                    |            |
| 335            | Pos                | Pos        | 672            | Pos                | Pos        | 1009           | Pos                | Pos        |                |                    |            |
| 336            | Pos                | Pos        | 673            | Pos                | Pos        | 1010           | Neg                | Neg        |                |                    |            |

# POLA INFEKSI JAMUR KUKU (ONIKOMIKOSIS) JARI TANGAN DAN KAKI PADA PEKERJA TEMPAT PENITIPAN HEWAN PADA MEDIA POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)

Norma Farizah Fahmi<sup>1</sup>, Dwi Aprilia Anggraini<sup>2</sup>, Yogi Khoirul Abror<sup>3</sup>  
D3 Analis Kesehatan/Stikes Ngudia Husada Madura, Bangkalan, Indonesia; rezaiei.cha@gmail.com

## ABSTRACT

Onikomikosis is an infection of the nail plate that can be caused by dermatophyte fungi (*Tinea unguium*), non dermatophytes or yeast. Onikomikosis is a nail disorder caused by both dermatophyte and non-dermatophyte fungi. Onikomikosis infection causes damage to the nails causing the nail plate to thicken, brittle and crumble easily. This study aims to determine the identification of finger and foot fungus in animal care workers. This type of research is descriptive research. Sampling was conducted in four different animal care centers, totaling 20 samples in Surabaya, and the examination site was carried out at the STIKES Ngudia Husada Madura Health Analyst Laboratory. The method of examination is carried out through direct observation methods and fungal culture methods. The identification results showed that of the 20 samples, 11 samples (55%) were positive for *Tinea unguium* (nail fungus). In the observation of the fungal culture method, 6 samples (30%) with codes P1, P4, P8, P11, P15 and P20 were infected with *Aspergillus* sp, *Penicillium* 10% with codes P5 and P14, *Rhizopus* sp 5% code P18, *Microsporum gypseum* as much as 5% code P13, and *Trichophyton mentagrophytes* 5% code P19. The results of the screening in this study showed that workers did not have good personal hygiene, especially in maintaining the cleanliness of their toenails and hands, which caused a risk factor for nail fungal infection.

**Keywords:** Nail fungus (Onikomikosis); Dermatophyta; Potato dextrose agar.

## INTRODUCTION

Penyakit kulit merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat Indonesia. Menurut data Depkes RI prevalensi penyakit kulit diseluruh Indonesia di tahun 2012 adalah 8.46% kemudian meningkat di tahun 2013 sebesar 9%. Penyakit jamur masih memiliki prevalensi yang tinggi (Dwi Candra Arianti, 2015).

Onikomikosis atau *Tinea unguium* merupakan infeksi umum yang terjadi pada lempeng kuku. Infeksi dapat disebabkan oleh kelompok jamur dermatofita, non-dermatofita atau yeast. Kejadian onikomikosis tidak menyebabkan mortalitas namun menimbulkan gejala klinis yang signifikan diantaranya mengurangi estetika, bersifat kronis dan sulit diobati. Kuku yang terinfeksi akan menjadi lebih tebal dan nampak terangkat dari dasar perlekatannya atau onycholysis. Infeksi juga menyebabkan kuku pecah-pecah, tidak rata, tidak mengkilat dan terjadi perubahan warna lempeng kuku menjadi putih, kuning, coklat hingga hitam. Kuku lama kelamaan akan menjadi hancur dan rapuh menyerupai kapur (Oueller dan Bhatia, 2015; Ameen et al., 2014).

Onikomikosis merupakan penyakit jamur pada kuku yang disebabkan oleh jamur dermatofita, *Candida*, kadang-kadang disebabkan oleh jamur lain seperti *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Scopulariopsis*, dan *Aspergillus*. Penyakit jamur yang menyerang kuku disebabkan oleh jamur dermatofita yaitu *tinea unguinum* dan yang disebabkan oleh *Candida* yaitu kandidiasis kuku (Anugrah, 2016). Onikomikosis Superfisialis Putih (OSPT) Kelainan ini jarang ditemui, terjadi bila jamur menginvasi langsung lapisan superfisialis lempeng kuku. Bentuk klinis ditandai dengan bercak-bercak putih keruh berbatas tegas, menyebabkan kuku menjadi lunak, keras, dan mudah rapuh. Jamur penyebabnya adalah *Trichophyton mentagrophytes*, non dermatofita seperti *Aspergillus*, *Acremonium* dan *Fusarium*

Berdasarkan manifestasinya dibagi menjadi *distal lateral subungual onikomikosis* (DLSO), *seperficial white onikomikosis* (SWO), *proximal subungual onikomikosis* (PSO) dan *endothrix onikomikosis*, *total dystropic onikomikosis* (TDO), *mixed pattered onikomikosis* dan *candidal onikomikosis*. Masing-masing

jenis *onikomikosis* memiliki manifestasi klinis khas dan dapat disebabkan oleh jenis jamur yang berbeda. Infeksi lebih sering terjadi pada jari kuku kaki dibandingkan kuku jari tangan (Dwi Candra Arianti, 2015).

Sebagian besar kasus *onikomikosis* (80- 90%) menurut Afshar (2014) disebabkan oleh jamur dermatofita khususnya *Trichophyton rubrum* dan *T. Mentagrophytes*. Sementara itu sebanyak 5- 17% kasus lainnya menurut Agrawal et al. (2015) dan Dubljanin et al. (2014) disebabkan oleh *yeast Candida sp.* serta non-dermatofita. Jellinek et al. (2015) melaporkan kelompok non-dermatofita yang telah dilaporkan sebagai agen penyebab *onikomikosis* diantaranya *Acremonium spp.*, *Fusarium spp.*, *Scopulariopsis spp.*, *Scytalidium spp.* dan *Aspergillus spp.*

Faktor Predisposisi Onikomikosis Faktor yang mempengaruhi predisposisi terjadinya onikomikosis adalah bertambahnya usia, kesehatan yang buruk, trauma sebelumnya, iklim yang hangat, lanjut usia, penderita diabetes dan orang dengan sirkulasi darah yang buruk pada kaki (Irianto, 2013).

Gejala yang sering kali nampak pada infeksi ini adalah kerusakan pada kuku, diantaranya kuku menjadi lebih tebal dan nampak terangkat dari dasar perlekatannya atau onycholysis, pecah-pecah, tidak rata dan tidak mengkilat lagi, serta perubahan warna lempeng kuku menjadi putih, kuning, coklat, hingga hitam. Infeksi jamur dapat meningkatkan infeksi bakteri, selulit, urticaria kronis, dan sebagai reservoir jamur yang kemudian menginfeksi bagian tubuh lainnya serta dapat ditransmisikan atau ditularkan ke individu lainnya. Kuku merupakan bagian yang sering terkena infeksi. Kuku yang terinfeksi oleh jamur biasanya mengalami kelainan, seperti perubahan kerapuhan. Kelainan ini ditemukan pada kuku perajin batu bata yang setiap kali kontak langsung dengan tanah liat dan air (Winda, 2017).

Tempat penitipan hewan ini adalah sebagai tempat penitipan sementara hewan peliharaan yang ditinggalkan pemilik karena keperluan mendesak dan membutuhkan waktu lebih dari satu hari. Biasanya hewan peliharaan ditiptikan karena di rumah pemilik tidak ada yang bisa merawat anjing atau kucing. Pada area ini hewan peliharaan di rawat oleh kennel girl/ kennel boy (pegawai yang khusus menangani berbagai kebutuhan hewan peliharaan dan menjaga kebersihan kandang). Selain itu terdapat *grooming area* berfungsi sebagai tempat untuk memberikan pelayanan berupa jasa perawatan kuku, bulu, pembasmian kutu, dan jamur pada hewan peliharaan. Grooming area juga memberikan jasa pelayanan pemijatan sederhana pada hewan peliharaan. Pemijatan ini memberikan efek untuk kelancaran peredaran darah pada hewan peliharaan. Pada tempat penitipan hewan juga terdapat fasilitas klinik dilengkapi dengan dokter hewan dan paramedik (Puspita Lydya, 2013).

Masalah kebersihan seringkali muncul pada setiap fasilitas khusus hewan. Perilaku hewan tidak mudah diatur untuk menjaga kebersihan. Oleh karena itu, tempat pelayanan kesehatan hewan harus terbebas dari berbagai hal yang berpotensi dapat memunculkan ancaman penyakit atau memperburuk kondisi kesehatan hewan. Di samping itu, pelayanan kesehatan hewan perlu berlangsung dalam suasana yang menyegarkan atau suasana yang nyaman dan dapat menenangkan. Suasana seperti itu dibutuhkan mengingat para pemilik hewan peliharaan datang ke sebuah klinik hewan, cenderung dalam kondisi perasaan sedih, cemas dan juga tegang karena memikirkan kondisi kesehatan hewan peliharaannya. Untuk itu maka suasana ruang atau tempat bagi mereka memerlukan dukungan elemen-elemen yang bersifat segar atau fresh seperti warna yang lembut, sejuk, serta suasana ruangan yang bersih (Aghis, et al, 2017).

Dari pengamatan penulis ada hal yang perlu menjadi perhatian dalam petugas tempat penitipan hewan yaitu alat pelindung diri atau APD baik berupa sarung tangan, topi, sepatu masih belum dimiliki. Pada hal ini sangat penting dalam melindungi diri dari bahan infeksius dan bahan lain yang dapat mencelakakan. Hal tersebut dikarenakan tugas dari petugas kebersihan kandang/kennel girl/kennel boy yaitu mengawasi keadaan hewan (memotong kuku, meyisir rambut, memotong kuku, membersihkan mata, telinga, serta memandikan) melaporkan gangguan kesehatan maupun perilaku hewan kepada supervisor, melakukan perawatan dasar pada hewan (memandikan dan merawat kebersihan hewan). Petugas Perawatan Kandang Bertanggung jawab untuk menjaga kebersihan sanitasi daerah tinggal hewan penampungan secara keseluruhan, memastikan ada air segar harus tersedia dan mudah diakses oleh setiap hewan setiap saat, melakukan pengamatan yang cermat terhadap binatang di kandang dan taman sepanjang hari, untuk melihat bahwa hewan aman, sehat, dan nyaman, memastikan setiap hewan harus memiliki akses ke tempat tidur bersih dan kering, mengoperasikan/mengontrol alat cuci kain dan wadah makan (Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya 2012).

Setianingsih dkk. (2015) menyatakan, masyarakat yang bekerja sebagai peternak memiliki resiko terinfeksi *Tinea unguium* yang cukup tinggi. Kondisi ini menurut Agrawal et al. (2015) disebabkan karena peternak memiliki kemungkinan kontak langsung dengan hewan ternak yang tinggi serta dipengaruhi oleh kemungkinan sanitasi yang kurang higienis dan faktor predisposisi lainnya. Hal tersebut dibuktikan oleh Setianingsih dkk. (2015) yang meneliti kejadian jamur kuku di Desa Konut dan Desa Sungai Lunuk

Kalimantan diketahui bahwa sebanyak 35% dari 40 peternak terinfeksi *Tinea unguium*. Berdasarkan latar belakang tersebut pada penelitian ini melakukan penelitian pada tempat penitipan hewan dikarenakan pekerja masih tetap aktif setiap hari melakukan tugas kebersihan kandang dan perawatan hewan serta jarang diadakannya penyuluhan terkait dengan tingkat higienitas dari zoonosis yang terjadi.

*Potato Dextrose Agar* (PDA) merupakan media yang sangat umum digunakan untuk mengembangbiakan dan menumbuhkan jamur/khamir yang mengandung karbohidrat dalam jumlah cukup, terdiri dari 20% kentang dan 2% glukosa sehingga bakteri tidak dapat tumbuh. Akan tetapi, beberapa bakteri dapat memfermentasi karbohidrat menjadi sumber energi sehingga dengan penambahan kolaramfenikol pada media PDA maka pertumbuhan bakteri akan terhambat. Media kentang yang terkandung dalam PDA mengandung fosfor, magnesium, zat besi, karbohidrat, protein, pati, dan kandungan gizi lainnya yang dibutuhkan. Selain itu, dekstrosa yang digunakan dalam media ini pun mengandung karbohidrat yang baik untuk pertumbuhan jamur (Iswanto, 2015).

## BAHAN DAN METODE

### BAHAN

Penelitian ini termasuk jenis penelitian dengan metode analisa deskriptif menggunakan pendekatan laboratorik. Penggambaran dari penelitian ini yaitu dengan melihat kontaminasi telur nematoda usus yang meliputi ada tidaknya telur nematoda usus serta apakah ada perbedaan jenis telur nematoda usus pada kuku jari tangan menggunakan 1 larutan NaCl jenuh.

### TEKNIK DAN RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian menggunakan metode deskriptif. Sampel penelitian adalah kuku jari tangan pekerja tempat penitipan hewan yang berjumlah 20 responden. Pengambilan sampel dilakukan di empat tempat penitipan hewan di Surabaya yang dilengkapi dengan fasilitas grooming area. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium D3 Analis Kesehatan STIKes Ngudia Husada Madura. Pemeriksaan onikomikosis dilakukan melalui 2 teknik yaitu pemeriksaan langsung dan kultur jamur. Pada pemeriksaan mikroskopis, kuku kaki responden didesinfeksi dengan alkohol 70%. Diambil kerokan kuku dengan menggunakan scalpel steril. Hasil kerokan kuku kaki diletakan di objek glass dan ditambahkan KOH 10-20% sebanyak 1 tetes kemudian ditutup dengan cover glass dan didiamkan selama 10 menit. Pemeriksaan secara langsung di bawah mikroskop pembesaran lensa objektif 10X dan 40X. Hasil positif bila ditemukan spora atau hifa Dermatofita atau NonDermatofita sedangkan hasil negatif bila tidak ditemukan spora atau jamur Dermatofita atau NonDermatofita. Pemeriksaan kultur jamur dilakukan dengan cara penanaman sampel pada media *Potato Dextrose Agar* (SDA). Sampel kerokan kuku ditanam secara tersebar pada media PDA dan diinkubasi pada pada suhu ruang  $\pm 28^{\circ}\text{C}$  selama 3-5 hari.

## RESULTS

Tabel 1 Hasil Metode Pengamatan Langsung Identifikasi *Tinea Unguium* (Jamur Kuku) Pada Pekerja tempat penitipan hewan

| Nomor | Kode dan tempat pengambilan sampel | Sampel Umur (Tahun) | Jenis kelamin | Karakteristik gejala kerusakan kuku yang dialami | Hasil jamur yang morfologi    |
|-------|------------------------------------|---------------------|---------------|--|-------------------------------|
| 1     | P1                                 | 28                  | Laki-laki     | Kuku berwarna kecoklatan                         | Positif <i>Aspergillus sp</i> |
| 2     | P2                                 | 30                  | Laki-laki     | Kuku berwarna putih sehat                        | Negatif                       |

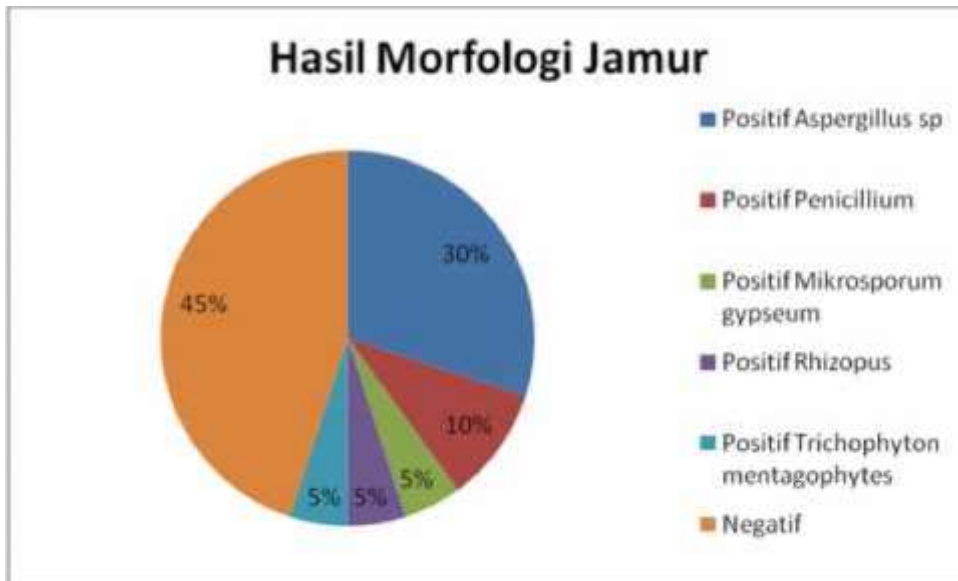
|    |     |    |           |   |  |
|----|-----|----|-----------|---|--|
| 3  | P3  | 33 | Laki-laki | Kuku berwarna putih sehat                                 | Negatif                                |
| 4  | P4  | 29 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning pucat dan terdapat kotoran           | Positif<br><i>Aspergillus sp</i>       |
| 5  | P5  | 20 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning pucat dan mengalami gejala kerusakan | Positif<br><i>Penicillium</i>          |
| 6  | P6  | 36 | Perempuan | Kuku berwarna putih sehat                                 | Negatif                                |
| 7  | P7  | 40 | Perempuan | Kuku berwarna putih sehat                                 | Negatif                                |
| 8  | P8  | 28 | Perempuan | Kuku berwarna kecoklatan                                  | Positif<br><i>Aspergillus sp</i>       |
| 9  | P9  | 25 | Laki-laki | Kuku berwarna putih sehat                                 | Negatif                                |
| 10 | P10 | 24 | Laki-laki | Kuku berwarna putih sehat                                 | Negatif                                |
| 11 | P11 | 35 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning pucat agak kecoklatan                | Positif<br><i>Aspergillus sp</i>       |
| 12 | P12 | 21 | Perempuan | Kuku berwarna putih bersih                                | Negatif                                |
| 13 | P13 | 25 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning pucat dengan gejala rusak            | Positif<br><i>Mikrosporium gypseum</i> |
| 14 | P14 | 27 | Perempuan | Kuku berwarna kuning                                      | Positif<br><i>Penicillium</i>          |



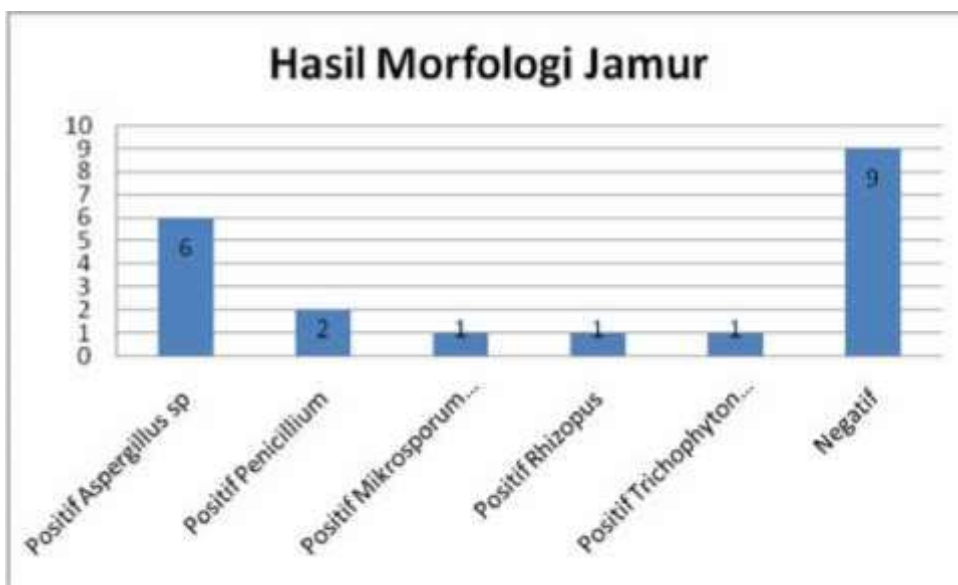
|    |     |    |           |   |   |
|----|-----|----|-----------|---|---|
| 15 | P15 | 45 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning kecoklatan                       | Positif<br><i>Aspergillus sp</i>              |
| 16 | P16 | 23 | Laki-laki | Kuku berwarna putih bersih                            | Negatif                                       |
| 17 | P17 | 31 | Laki-laki | Kuku berwarna putih bersih                            | Negatif                                       |
| 18 | P18 | 39 | Perempuan | Kuku berwarna kuning pucat dan ada beberapa kerusakan | Positif<br><i>Rhizopus</i>                    |
| 19 | P19 | 20 | Perempuan | Kuku berwarna kuning dan terdapat kotoran hitam       | Positif<br><i>Trichophyton mentagrophytes</i> |
| 20 | P20 | 20 | Laki-laki | Kuku berwarna kuning pucat                            | Positif<br><i>Aspergillus sp</i>              |

Tabel 2 Frekuensi dan Persentase Spesies Jamur *Tinea Unguim* (Jamur Kuku) Pada Pekerja tempat penitipan hewan

| Hasil Morfologi Jamur                      | Jumlah    | Prosentase  |
|--|-----------|-------------|
| Positif <i>Aspergillus sp</i>              | 6         | 30%         |
| Positif <i>Penicillium</i>                 | 2         | 10%         |
| Positif <i>Microsporum gypseum</i>         | 1         | 5%          |
| Positif <i>Rhizopus sp</i>                 | 1         | 5%          |
| Positif <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 1         | 5%          |
| Negatif                                    | 9         | 45%         |
| <b>Jumlah Total</b>                        | <b>20</b> | <b>100%</b> |



Gambar 1 Diagram Frekuensi dan Persentase Spesies Jamur *Tinea Unguim* (Jamur Kuku) Pada Pekerja tempat penitipan hewan



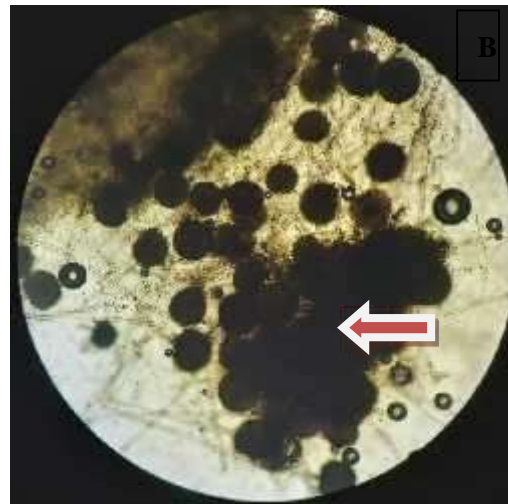
Gambar 2 Diagram Frekuensi dan Persentase Spesies Jamur *Tinea Unguim* (Jamur Kuku) Pada Pekerja tempat penitipan hewan



Keterangan:

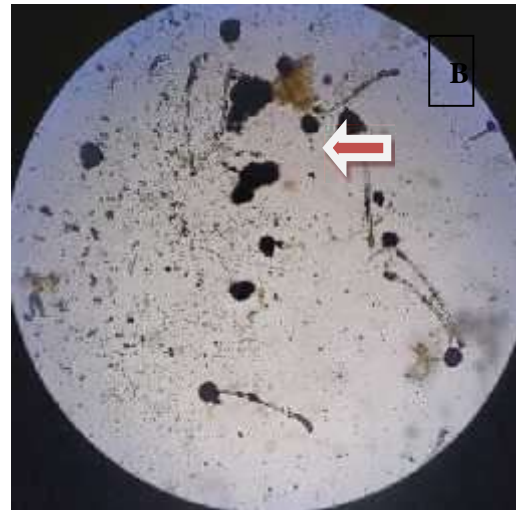
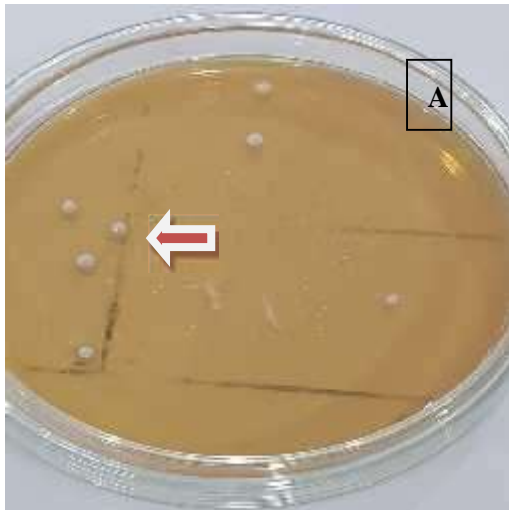
A. Gambaran makroskopik *Aspergillus sp* (tanda panah merah). Warna koloni bervariasi dari kuning kecoklatan sampai keabuabuan. Teksturnya seperti beludru bergranula. Terdapat zona pertumbuhan

B. Gambaran aspergillus dengan perbesaran 40x dan pewarnaan *lactophenol cotton blue*. Mempunyai hifa bersepta dengan konidiofor (batang) berdinding halus. Ciri khasnya berupa konidia halus yang menyebar di sepanjang sisi vesikula (bagian kepala) *Aspergillus sp*.



Keterangan: A. Gambaran makroskopik *Rhizopus* yang berbulu menyerupai wol atau kapas putih dan tumbuh memenuhi cawan petri. Tidak terdapat *radial furrow* (garis radial), *konsentris furrow* (garis tengah) dan zonasi pertumbuhan

B. Gambaran mikroskopik *Rhizopus* dengan perbesaran 40x dan pewarnaan *lactophenol cotton blue*. Ciri khasnya berupa sporangium bulat, rhizoid pada pangkal batang sporangiofor, kolumela, dan hifa asepta.



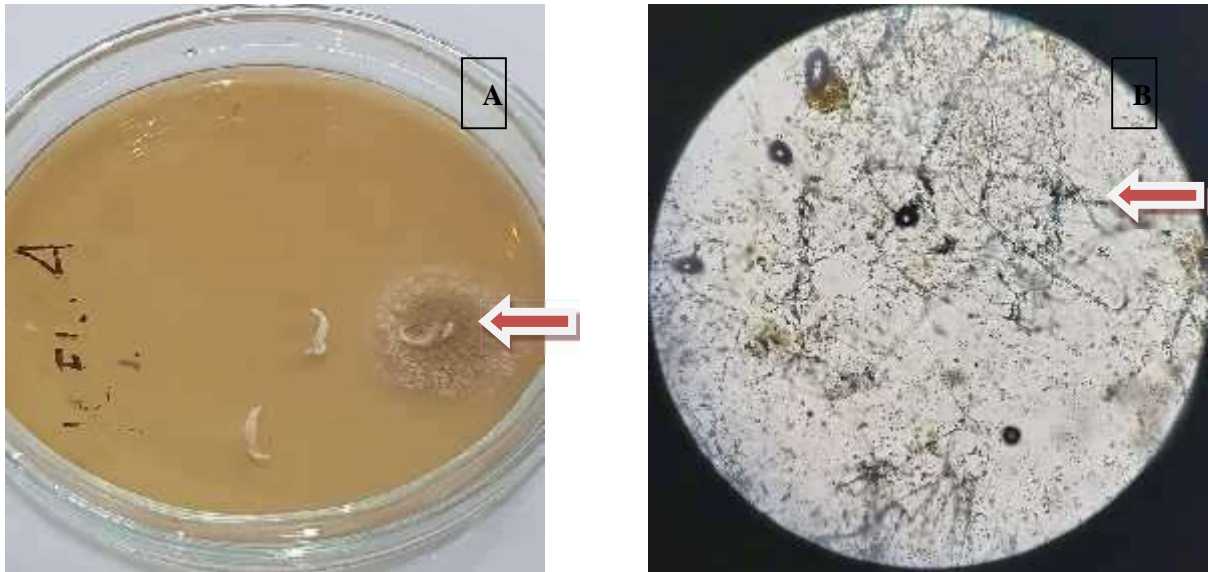
Keterangan: A. Gambaran makroskopis *Penicillium* yang bertekstur bergranula bertepung dengan variasi warna hijau dan hijau keabu-abuan permukaan cembung bertepi putih.

B. Tampilan mikroskopis *Penicillium* yang memiliki septa dengan hifa berhialin. Sebagian besar konidiofor bercabang. Pada gambar diatas konidiofor tersambung sampai hifa.



Keterangan: A. Gambaran makroskopis *Trichophyton mentagrophytes* yang bertekstur seperti tenunan lilin, berwarna putih sampai putih kekuningan yang agak terang atau berwarna violet merah. Kadang bahkan berwarna pucat kekuningan dan coklat. Koloninya seperti putih hingga krem dengan permukaan seperti tumpukan kapas pada PDA (tidak berpigmen).

B. Tampilan mikroskopis *Trichophyton mentagrophytes* yang memiliki hifa seperti tetesan lilin dan spiral, spora berbentuk bulatan kecil, miselium bersekat, makrokonidia berbentuk seperti cerutu, mikrokonidia bergerombol seperti anggur



Keterangan: A. Gambaran makroskopis *Microsporium gypseum* tumbuh dengan cepat, menyebar dengan permukaan yang mendatar dan sedikit berserbuk merah coklat hingga kehitam-hitaman terkadang dengan warna ungu. Serbuk yang berada di permukaan koloni mengandung makrokonidia

B. Tampilan mikroskopis *Microsporium gypseum* Makrokonidianya dihasilkan dalam jumlah yang besar. Dindingnya tipis dengan ketebalan 8-16 x 20  $\mu\text{m}$ , kasar dan memiliki 4-6 septa, dan berbentuk oval. Makrokonidia terdiri dari 4-6 sel. Mikrokonidia juga dapat nampak, meskipun jarang dihasilkan, terkadang pula mudah tumbuh pada subkultur setelah beberapa kali berganti media pada laboratorium (pada gambar diatas kurang terlalu bagus untuk fotonya)

## DISCUSSION

Hasil identifikasi yang dilakukan terhadap 20 sampel kerokan kuku jari tangan dan kaki pada pekerja tempat penitipan hewan di Surabaya diketahui sebanyak 8 sampel peternak babi (55%) positif *onikomikosis* (jamur kuku). Hal tersebut ditegakkan berdasarkan pemeriksaan metode kultur jamur didapatkan 11 sampel positif terdapat pertumbuhan jamur pada media PDA dan dapat diidentifikasi secara mikroskopis. Hasil identifikasi terhadap 11 sampel positif didapatkan bahwa onikomikosis pada pekerja tempat penitipan hewan disebabkan oleh jamur *Aspergillus* sp sebanyak 30% (Gambar 1), *Penicillium* 10% (Gambar 1) sebanyak 10%, *Microsporium gypseum* (Gambar 1) sebanyak 5%, *Trichophyton mentagrophytes* 5% dan *Rhizopus* sp (Gambar 1) dengan presentase sebanyak 5%. Pengamatan terhadap koloni jamur pada sampel positif dilanjutkan melalui pengamatan secara mikroskopis untuk mengetahui struktur jamur sebagai dasar identifikasi. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, sebanyak 6 preparat dengan kode sampel (P1, P4, P8, P11, P15, dan P20) memiliki karakteristik yang sama dengan genus *Aspergillus* sp. Adapun karakteristik yang teramati diantaranya memiliki hifa bersekat dan bercabang, konidiofor, sterigma dan bentuk konidia yang khas dari genus *Aspergillus*. Hasil tersebut sesuai dengan Jawetz, Melnick, dan Adelberg's, (2013) yang menyatakan bahwa *Aspergillus* sp. tumbuh cepat, menghasilkan hifa aerial yang memperlihatkan ciri khas struktur konidia, konidiafora panjang dengan vesikel di terminal, tempat fialid menghasilkan rantai-rantai basipetal konidia. Spesies ini diidentifikasi menurut perbedaan morfologi dalam struktur-struktur tersebut, termasuk ukuran, bentuk tekstur dan warna konidia. Berdasarkan persamaan karakteristik tersebut maka spesies jamur penyebab Tinea unguium pada sampel kode (P1, P4, P8, P11, P15, dan P20) teridentifikasi sebagai *Aspergillus* sp. Pada 1 preparat sampel kode S15 teridentifikasi sebagai *Rhizopus* sp. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis, pertumbuhan jamur pada sampel kode S15 sesuai dengan karakteristik yang dideskripsikan oleh Ganjar (2000). *Rhizopus* sp mempunyai koloni yang berwarna keputihan menjadi abu-abu kecoklatan hingga coklat kekuningan. *Rhizoid* dari jamur ini warna coklat, bercabang dan berlawanan arah dengan sporangiofor bisa muncul langsung dari stolon tanpa adanya *rhizoid*. Sporangiofor bisa satu atau berkelompok kadang-kadang meyerupai garpu, dinding berduri, warna coklat gelap hingga berwarna coklat kehitaman dengan diameter 50-200 $\mu\text{m}$ . Kolumela berbentuk usia biakan, serta mencapai tinggi kurang lebih 10 mm. Stolonya ber dinding halus atau agak kasar dan hampir tidak

berwarna, sporangiospora jamur ini berbentuk bulat atau tidak, biasanya berbentuk poligonal, terdapat garis pada permukannya dan mempunyai panjang sekitar 4-10  $\mu\text{m}$ . Khlamidospora berbentuk bulat, dengan diameter 10-35  $\mu\text{m}$  atau berbentuk elips dan berukuran (8-130)x(16-24)  $\mu\text{m}$ . Infeksi *Aspergillus sp.* pada kuku sebagian besar terjadi melalui kontak secara langsung pada sumber kontaminan (Amirsyam, 2008). Bongomin et al. (2017) menyatakan *Aspergillus sp.* merupakan agen onikomikosis non-dermatofita yang menyebabkan infeksi kuku. Karakteristik diagnosa *onikomikosis* oleh *Aspergillus sp.* dapat diamati melalui pengamatan langsung positif, kultur jamur positif atau deteksi molekuler. *Onikomikosis* nondermatofita selain dapat disebabkan oleh *Aspergillus sp.* juga dapat disebabkan oleh *Rhizopus sp.* (Martinez-Herrera et al., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Setianingsih (2015) pada peternak babi di Kalimantan Tengah diketahui infeksi onikomikosis tidak disebabkan oleh jamur dermatofita tetapi oleh non-dermatofita. Adapun jamur non-dermatofita yang menyebabkan infeksi selain disebabkan oleh *Aspergillus sp.*, juga disebabkan oleh *Rhizopus sp.*

*Onikomikosis* merupakan infeksi jamur yang kronis pada kuku jari kaki atau kuku jari tangan. Biasanya *onikomikosis* disertai dengan infeksi jamur yang lama pada kaki. Kuku menjadi tebal, rapuh, dan tidak mengkilat. Lempong kuku menjadi rusak dan berubah warna menjadi kehitaman, kekuningan atau suram. *Tinea unguium* adalah jamur dermatofitosis yang paling sukar dan lama disembuhkan karena kuku terinfeksi menjadi rusak dan rapuh dan bentuknya tidak normal. Di bagian bawah kuku akan menumpuk sisa jaringan kuku yang rapuh sehingga tampak seperti kotoran (Kurniati, 2008).

Jamur patogen berupa jamur primer dan oportunistik. Infeksi jamur yang terdiagnosis paling sering disebabkan oleh jamur patogen dari genus *Candida*, *Cryptococcus* dan *Aspergillus*. Penyakit yang sering ditimbulkan oleh jamur patogen di permukaan kulit berupa dermatofitosis athlete's foot (*tinea pedis*), *tinea capitis* dan infeksi kuku (*tinea unguium*). (Brown, et al, 2012). Pada sistem pernapasan, ukuran partikel jamur yang kecil dapat terhirup dan masuk mencapai alveolus paru-paru. Partikel jamur yang masuk bersama debu dan bersifat alergen juga dapat memicu timbulnya berbagai penyakit seperti asma dan aspergilosis bronkopulmonar (salah satu jenis mikosis pulmoner) (Iqbal, et al, 2016). Berbagai komponen jamur dalam ruangan seperti spora jamur dan produk metabolismenya seperti mikotoksin, dinding sel, senyawa organik volatil dan antigen sel jamur dapat menimbulkan masalah kesehatan manusia terutama pada orang dengan penyakit pernafasan, bayi, orang tua, dan pasien yang sedang menjalani terapi immunosupresif (Ayanbimpe, et al, 2010). Penyakit lain yang dapat timbul akibat infeksi jamur dapat berupa mikosis superfisial, mikosis kutan, mikosis subkutan sampai mikosis sistemik yang menginfeksi organ dalam seperti paru-paru, rektum, uretra dan organ lain secara luas yang dapat berakibat

*Microsporum sp*, *Epidermophyton sp* dan dari genus *Aspergillus sp* yang termasuk jamur opportunistic yaitu mikrofungi yang menempel pada inang. Mikrofungi yang oportunistik banyak terdapat pada daerah tropic dan dapat menjadi pathogen apabila kesehatan seseorang sedang menurun. Hasil dari kerokan pasien, didapatkan kesimpulan penyebab *Tinea pedis* karena faktor : Faktor-suhu dan kelembaban di mana banyak keringat yang paling sering terserang penyakit jamur ini, faktor Keadaan sosial serta kurangnya kebersihan, faktor umur dan jenis kelamin, faktor kontak dengan individu lain (penularan) infeksi akibat kontak dengan orang yang terinfeksi atau permukaan yang terkontaminasi, misalnya pada pemakaian handuk dan pakaian. Faktor kondisi kesehatan dimana terdapat Jamur oportunistik menyerang penderita penyakit infeksi, dengan daya tahan tubuh yang sudah tidak berfungsi normal lagi. Dalam kasus ini jamur oportunistik yang terdapat pada pasien disebabkan karena daya tahan tubuh yang menurun.

Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan bahwa sebagian besar fungi yang terisolasi dari golongan mikrofungi dermatofitya yang bersifat patogen yaitu *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, Isolat A yang belum teridentifikasi dan beberapa diduga mikrofungi yang bersifat oportunistik golongan kontaminan yaitu mikrofungi yang menempel pada inang seperti pada isolasi Genus *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*. Mikrofungi yang oportunistik banyak terdapat pada daerah tropik dan dapat menjadi pathogen apabila kesehatan seseorang sedang menurun misalnya pada *Aspergillus fumigates*, spesies ini dapat tumbuh pula pada bronki paru-paru dan tidak terganggu pertumbuhannya pada peningkatan suhu (bersifat termofilik).

Banyaknya *Aspergillus spp.* yang ditemukan pada ruangan rumah sakit dengan karakteristik terbuka dan memiliki sistem ventilasi yang baik, diduga *Aspergillus spp.* yang banyak terdapat di tanah sebagai



saprophyt, masuk ke dalam ruangan melalui kondisi meteorologi/cuaca kemarau yang menyediakan kelembaban dan suhu yang memungkinkan.

## CONCLUSION

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut : Sebanyak 55% peternak babi di Banjar Paang Kaja dan Banjar Semaga Desa Penatih Kecamatan Denpasar Timur berdasarkan pemeriksaan laboratorium positif onikomikosis. Hasil identifikasi dengan metode kultur jamur diketahui jamur penyebab onikomikosis adalah dermatofita dan non dermatofita yaitu sebanyak 6 sampel (30%) terinfeksi oleh jamur *Aspergillus sp* , *Penicillium* 10%, *Rhizopus sp* 5%, *Microsporum gypseum* sebanyak 5%, dan *Trichophyton mentagrophytes* 5%. Sebagai penyempurnaan identifikasi jamur dermatofita dan non dermatofita penyebab onikomikosis maka perlu dilakukan identifikasi lanjutan untuk mengetahui secara pasti spesies penyebab onikomikosis. Setelah selesai bekerja para pekerja sebaiknya membersihkan kuku dan langsung mengeringkannya. Bagi yang terinfeksi jamur terutama pada keadaan kuku yang sudah terangkat sampai setengah bagian kuku sebaiknya kuku di potong habis sampai batas kuku yang terangkat dan setiap hari dibersihkan dengan alkohol swab atau kapas yang dibasahi dengan alkohol. Pada keadaan kuku yang bernanah disarankan untuk melakukan pemeriksaan lebih lanjut ke Dokter. Gunakan peralatan kuku pribadi misalnya : gunting kuku, kikir kuku, sikat kuku, pendorong kutikula. Jika menggunakan milik orang lain dapat menyebabkan penularan jamur kuku.

## REFERENCES

- Afshar, P.S., KSGMRT. Khodavaisy. 2014. Onikomikosis in North-East of Iran. Iran J Microbiol. 6: 98-103.
- Aghis, et al, 2017. Perancangan Klinik Anjing dan Kucing dengan Pendekatan Programatik. Prodi S1 Desain Interior, Fakultas Industri Kreatif, Universitas Telkom.
- Agrawal, A., U. Shanker., A. Goyal., P.K. Singh., S. Bhooshan., D.N Pandey. 2015. Original Research Article Clinical and Microbiological study of Tinea unguium in a tertiary care center. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 4: 89-99.
- Amirsyam, N. M. 2008. Mikologi dan Mikrobiologi Kedokteran Beberapa Pandangan Dermatologis. Medan : USU e-Repository.
- Anugrah, R. 2016. "Diagnostik dan tatalaksana Onikomikosis". Jurnal Biomed Skin Care, vol. 43, No. 9 th 2016.
- Ayanbimpe GM, Wapwera SD, Kuchin D. Indoor air mycoflora of residential dwellings in jos metropolis. Afr Health Sci. 2010;10(2):172–6. 19.
- Bongomin, F., C.R. Batac., M.D. Richardson., D.W. Denning. 2017. A review of onikomikosis due to *Aspergillus* species. Mycopathologia. 1-9.
- Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. Sci Transl Med. 2012;4(165rv13):1–9. 7.
- Dubljanin, E., M. A. Dzamic., S. Mitrovic., V. Arsic-Arsenijevic., I. Colovic- Calovski. 2014. Onikomikosis: Clinical findings, etiological agents and evaluation of laboratory methods. Sumatra: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- Dwi Candra Arianti. 2015. Analisis Faktor Risiko Infeksi Tinea Unguium pada Peternak Babi di Kecamatan Tanah Siang, Provinsi Kalimantan Tengah. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. (2012). *Manual Prosedur Pelayanan Medis Klinik Hewan*, Malang
- Ganjar,Indrawati, Wellyzar, Sjamsuridzal dan Arianti Oetari, 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia Jakarta.
- Iqbal N, Irfan M, Zubairi ABS, Jabeen K, Awan S, Khan JA. Clinical manifestations and outcomes of pulmonary aspergillosis: experience from Pakistan. BMJ Open Respir Res. 2016;3(1):155.
- Irianto, K. 2013. Parasitologi Medik. Bandung : Penerbit Alfabeta
- Iswanto, E. D. 2015. Analisis Pertumbuhan *Trichophyton rubrum* Pada Media Tepung Beras (*Oryza setiva* Linn) Sebagai Media Alternatif Pengganti Potato Dextrose Agar. Skripsi. Politeknik Kesehatan Bandung.
- Jellinek, N.J., P. Rich., D.N. Pariser. 2015. Understanding Onikomikosis Treatment: Mechanisms of Action and Formulation. Dermatology News: 9-12.
- Khan AAH, Karuppaiyl SM. Fungal pollution of indoor environments and its management. Saudi J Biol Sci. 2012;19(4):405–26.
- Kurniati, C. R. 2008. Etiopatogenesis Dermatofitosis. Jurnal Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin, 2, 43–50. <http://journal.unair.ac.id/filer>
- Martinez-Herrera., D.L. Tejada-Garcia., R. Arenas. 2015. Onikomikosis due to opportunistic molds. An Bras Dermatol. 90(3): 334-337.

- Puspita lydy. 2013. Pusat Kegiatan bagi Penyayang serta Hewan Anjing dan Kucing di Daerah Istimewa Yogyakarta. Program Studi Arsitektur Fakultas Teknik Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Quller, J.N., N. Bhatia. 2015. The Dermatologist's Approach to Onikomikosis. *J. Fungi (Basel)*. 1(2): 173-184.
- Setianingsih, I., D.C. Arianti., A. Fadilly. 2015. Prevalensi, agen penyebab, dan analisis faktor resiko infeksi *Tinea unguium* pada peternak babi di kecamatan Tanah Siang, Provinsi Kaliman
- Winda, L. 2017. Identifikasi Jamur Dermatofita Pada Kuku Buruh Pembuat Genteng yang Mengalami Kerapuhan. Karya Tulis ilmiah. Surakarta : Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.



# Penentuan Serotipe Virus Dengue Dalam Pembuatan Kit Diagnostik Antigen Non Struktural-1 Dengue Metode Imunokromatografi Menggunakan Protein Rekombinan Ns1 Virus Dengue Isolat Lokal Indonesia

Yaumil<sup>1</sup>, Herman<sup>2</sup>, Muhammad Nur<sup>3</sup>, Askar<sup>4</sup>, Alfin Resya<sup>5</sup>, Budirman<sup>6</sup>, Dwi Sartika<sup>7</sup>, Zulfikar<sup>8</sup>, Afiq<sup>9</sup>  
Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar, Management And Science University Malaysia;  
evhyaumil@gmail.com

## ABSTRACT

Currently, there are many non-structural dengue-1 antigen diagnostic tools in circulation and have varying levels of specificity and sensitivity. Commercial kits for the detection of NS1 antigen currently available using the immunochromatographic method have not been able to detect each dengue virus serotype specifically. The NS1 kits circulating in Indonesia are imported reagents from abroad which in their manufacture use recombinant antigens originating from strains outside Indonesia, the use of imported dengue reagents in Indonesia with antigens that are not compatible with local strains can lead to a lack of sensitivity and specificity of diagnostic test equipment. The method is a laboratory experimental study, with a Cluster Sampling sampling technique and a total sample of 90 samples that meet the inclusion criteria and represent three regions in Indonesia, namely Gorontalo, Kendari, and Palu. Sample examination was carried out at the Dengue Laboratory of the Eijkman Molecular Biology Institute, Jakarta during October 2019 to December 2019. The results obtained were the most dengue virus serotypes, namely Den-3, 41 samples (45.6%), then Den-2 with 39 samples (43.3 %), then Den-4 with 6 samples (6.7%) and the least Den-1 with 4 samples (4.4%). Meanwhile, for the three regions the serotype results obtained varied, namely in the Gorontalo region the highest dengue virus serotype was Den-2 with 19 samples (63.3%) and the least number was Den-1 and Den-4 with only 1 sample (3,3%). For the Kendari area, the highest dengue virus serotype was Den-3 with 16 samples (53.3%), and the least was Den-1 with 1 sample (3.3%). As for the Palu area, the most dengue virus serotypes were Den-3 with 16 samples (53.3%) and the least number were Den-1 and Den-4, each with only 2 samples (6.7%). It can be concluded that in this study the types of dengue virus serotypes obtained varied between cities.

**Keywords:** Dengue Virus, Non-Structural-1 Antigen, Determination of Serotypes, Diagnostic Kit Manufacturing, Immunochromatography, Indonesian Local Isolates

## INTRODUCTION

Infeksi dengue saat ini merupakan salah satu masalah kesehatan utama di dunia. <sup>1</sup> Badan kesehatan dunia World Health Organization (WHO) memperkirakan sekitar 50-100 juta kasus infeksi virus dengue terjadi dengan 24.000 kematian setiap tahun. <sup>2</sup> Data dari seluruh dunia menunjukkan Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita Demam Berdarah Dengue (DBD). Terhitung sejak tahun 1968 hingga tahun 2009, WHO mencatat negara Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara. Pengendalian infeksi dengue merupakan salah satu program prioritas utama di bidang kesehatan di Indonesia, rencana strategis (renstra) Kementerian Kesehatan tahun 2015-2019 sasaran kedua adalah menurunnya angka kesakitan akibat penyakit menular dengan salah satunya yaitu angka kesakitan DBD menjadi kurang dari 49 per 100.000 penduduk, sehingga diperlukan pendekatan baru untuk memecahkan masalah tersebut. <sup>3</sup>

Penyakit ini disebabkan oleh infeksi virus dengue yang ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* yang terinfeksi virus dan tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. <sup>4</sup> Virus dengue mempunyai empat jenis serotipe yaitu Den-1, Den-2, Den-3, dan Den-4 yang merupakan virus Ribonucleic Acid (RNA). Infeksi dengue dapat menyebabkan manifestasi klinis beragam mulai dari gejala demam dengue yang relatif ringan sampai DBD yang dapat menyebabkan terjadinya syok hipovolemik berupa Sindrom Syok Dengue (SSD) akibat adanya kebocoran plasma yang dapat menyebabkan kematian, sehingga diperlukan diagnosis yang cepat, tepat, dan akurat untuk segera mengatasi penderita agar tidak jatuh pada keadaan yang lebih berat. <sup>5</sup>

Diagnosa dini diperlukan untuk penatalaksanaan penderita dan monitoring angka kematian dan angka kesakitan. <sup>6</sup> Diagnosis penyakit dengue sulit ditegakkan pada beberapa hari awal sakit karena gejala yang muncul tidak spesifik dan sulit dibedakan dengan penyakit infeksi lainnya, sehingga dapat menyebabkan keterlambatan diagnosis. Penegakan diagnosis penyakit dengue selain dengan menilai gejala klinis juga diperlukan uji laboratorium untuk memastikan diagnosis. <sup>7</sup> Diagnosis laboratorium infeksi dengue dapat ditegakkan dengan mendeteksi virus spesifik, sekuens genom, antibodi, dan antigen virus. <sup>8</sup> Saat ini dua pendekatan diagnosis DBD yang sedang dikembangkan yaitu dengan pemanfaatan antibodi anti virus dengue sebagai antigen capture atau dengan menemukan antigen virus penyebab infeksi dengue dalam serum atau plasma penderita DBD. Keduanya mempunyai kelebihan dan kekurangan yang berdampak pada waktu dan ketepatan diagnosis. <sup>9</sup>

Beberapa uji serologis DBD mempunyai sensitivitas yang rendah yang disebabkan salah satunya karena ketidakspesifikan antigen yang digunakan dalam mendeteksi antibodi. Virus dengue terdiri dari single-stranded positive sense RNA (ssRNA sense +). Di dalam genomnya terdapat sebuah single Open Reading Frame (ORF) yang mengkode 2 macam protein yaitu protein struktural dan protein non struktural. Protein struktural terdiri dari C (protein inti/capsid/core), M (protein membran, termasuk preMembran/prM) dan E (protein envelope) serta 7 macam protein non struktural yaitu NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5. Dalam merangsang pembentukan antibodi diantara protein struktural urutan imunogenitas tertinggi adalah protein E dan diikuti oleh prM dan C, sedangkan pada protein non struktural yang paling berperan adalah protein NS1. Protein NS1 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 46-50 kDa, protein ini diekspresikan oleh sel yang terinfeksi virus dengue dan memiliki peranan penting dalam diagnosis dan derajat keparahan penderita. <sup>10</sup>

Antigen NS1 dengue merupakan glikoprotein non struktural yang berlimpah diproduksi oleh virus dengue saat tahap awal infeksi dan ditemukan dalam sel-sel yang terinfeksi pada membran sel serta disekresi ke dalam ruang ekstraselular, yang berperan penting dalam replikasi dan maturasi virus. <sup>11</sup> Antigen NS1 dengue dapat dideteksi pada penderita terinfeksi virus dengue serotipe 1,2,3, dan 4 serta dapat terdeteksi pada hari 1 sampai 9 onset demam. Protein NS1 virus dengue merupakan satu-satunya protein non struktural yang terdapat dalam bentuk terlarut yang dilepaskan dan beredar dalam aliran darah. Protein tersebut berpotensi sebagai bahan dasar pengembangan alat diagnostik dan vaksin. Epitop NS1 dengue yang bersifat imunogenik berperan sebagai target antibodi untuk pengembangan vaksin maupun kit diagnostik dengue yang telah banyak dilaporkan. Studi pengembangan vaksin dan kit diagnostik protein rekombinan NS1 pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa NS1 sangat imunogenik serta dapat menimbulkan antibodi protektif dengan aktivasi komplemen untuk membunuh target sel yang terinfeksi. Protein NS1 efektif tanpa menimbulkan risiko fenomena antibody dependent enhancement (ADE) yang disebabkan oleh reaksi antibodi non netralisir terhadap protein struktural E virus dan protein NS1 dapat menginduksi kekebalan seluler dan humoral jangka panjang. <sup>10</sup>

Diagnosis dengan memanfaatkan antibodi anti virus dengue yang sudah dikembangkan sampai saat ini antara lain uji hemagglutination inhibition (HI), neutralisasi, immune fluorescent antibody test, enzyme link immunosorbent assay (ELISA), complement fixation, dot blotting dan western blotting namun uji tersebut masih memiliki keterbatasan waktu dan biaya. <sup>12</sup> Pemeriksaan laboratorium lainnya yang dapat dilakukan untuk menunjang penegakan diagnosa infeksi virus dengue yaitu kultur dan isolasi virus, Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), uji serologi (pemeriksaan IgM dan IgG anti dengue), dan pemeriksaan hematologi rutin. Isolasi virus dan Polymerase Chain Reaction (PCR) masih merupakan gold standard untuk mendeteksi virus dengue, tetapi terdapat keterbatasan untuk pemeriksaan tersebut terutama biaya, waktu, dan teknik pengerjaannya. Pemeriksaan serologi IgM dan IgG anti dengue yang secara rutin dan relatif mudah dikerjakan, namun masih mempunyai keterbatasan yaitu ketidakmampuannya mendeteksi proses infeksi lebih awal. <sup>11</sup> Saat ini, telah dikembangkan suatu pemeriksaan yaitu pengembangan diagnosis DBD dengan pendekatan deteksi terhadap antigen Non Struktural-1 yang dapat mendeteksi atau mendiagnosis infeksi virus dengue lebih awal, bahkan pada hari pertama onset demam, karena protein Non Struktural-1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut, baik saat infeksi primer maupun sekunder tanpa perlu menunggu antibodi terbentuk. <sup>10</sup> Adanya pemeriksaan antigen NS1 ini sangat penting karena dapat dilakukan terapi suportif, pemantauan pasien segera, dan dapat mengurangi risiko komplikasi maupun kematian.

Pemeriksaan Antigen Non Struktural-1 dengue telah dikembangkan antara lain dalam bentuk rapid tes dengan menggunakan metode imunokromatografi yang dapat mendeteksi infeksi akut lebih awal dibandingkan pemeriksaan antibodi dengue. Pemeriksaan cepat dan akurat melalui rapid tes ini sangat membantu tenaga medis dalam menegakkan diagnosis dengue. Rapid tes antigen Non Struktural-1 dengue merupakan suatu tes in vitro dengan teknik pengujian imunokromatografi yaitu suatu tes satu langkah untuk menentukan secara kualitatif antigen Non Struktural-1 virus dengue di dalam serum manusia untuk diagnosa dini pada infeksi dengue akut. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menguji tingkat akurasi uji diagnostik dari antigen Non Struktural-1 antara lain yang dilakukan oleh Valentino (2012) dengan hasil uji

untuk hari ke-1 sampai 3 sejak demam dimulai, sensitivitas antigen Non Struktural-1 dengue mencapai 74% dengan spesifisitas 100% sedangkan untuk hari ke-4 sampai 8 demam sensitivitasnya menurun 52,2% namun spesifisitas tetap 100%. Selanjutnya penelitian berikutnya Ahmed dkk (2014) menjelaskan pemeriksaan antigen Non Struktural-1 dengue memiliki nilai diagnostik dengan sensitivitas yang baik pada fase akut penyakit yaitu sebesar 73,53% dengan spesifisitas 100%, hasil tersebut lebih baik dibandingkan dengan nilai diagnostik hitung trombosit, leukosit dan antibodi IgM anti dengue. Hasil penelitian lainnya yang dilakukan oleh Badave dkk (2015) menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang berbanding lurus antara hasil pemeriksaan antigen Non Struktural-1 dengue positif dengan penurunan jumlah trombosit, namun ada beberapa sampel antigen Non Struktural-1 dengue positif yang tidak mengalami penurunan jumlah trombosit.<sup>13,14,15</sup>

Penelitian tentang sensitivitas dan spesifisitas terhadap kit NS1 komersial terus dilakukan baik di luar negeri maupun di Indonesia, dari data yang ada penelitian tentang sensitivitas dan spesifisitas terhadap kit NS1 komersial yang ada di luar negeri yaitu sensitivitas kit komersial metode ELISA mencapai hingga 93,4% dan spesifisitasnya mencapai 100%, sedangkan untuk kit NS1 ICT mencapai 90,4% dan spesifisitasnya 99,5%. Hal tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan di Indonesia yang menunjukkan hasil sensitivitas dan spesifisitas yang lebih rendah dari penelitian tersebut. Penelitian di Indonesia di wilayah Surabaya dengan menggunakan kit komersial metode imunokromatografi untuk mendeteksi antigen NS1 pada penderita infeksi virus dengue, memberikan hasil yang berbeda dengan penelitian yang ada di luar negeri. Sensitivitas kit NS1 ICT komersial di Indonesia yang telah diteliti oleh Puspitarini (2009) mencapai 30,3%, penelitian pula di tahun yang sama dilakukan oleh Andayani (2009) sensitivitas kit NS1 ICT komersial di Indonesia mencapai 46,3% dan pada tahun 2010 Agustina melakukan penelitian untuk melihat tingkat sensitivitas kit NS1 ICT komersial di Indonesia dan memperoleh hasil tingkat sensitivitas kit NS1 ICT komersial di Indonesia mencapai 52,2%. Perbedaan tersebut dapat disebabkan beberapa hal antara lain letak geografis dan serotype virus yang berbeda, serotype virus dengue di Indonesia didominasi oleh DEN-2 sedangkan di luar negeri didominasi oleh DEN-3.<sup>16</sup>

Demam dengue, DBD, dan SSD dapat disebabkan oleh salah satu dari empat serotipe virus dengue. Infeksi oleh salah satu jenis serotipe dapat memberikan kekebalan seumur hidup, tetapi tidak menimbulkan kekebalan terhadap serotipe yang lain. Sehingga seseorang yang mendapatkan infeksi virus dengue dari salah satu serotipe akan terjadi kekebalan terhadap virus tersebut seumur hidup, tetapi jika mendapatkan infeksi sekunder oleh serotipe virus yang berbeda akan memperparah terjadi resiko berat mengalami SSD, karena infeksi sekunder oleh virus yang heterologous (secondary heterologous infection) dapat menyebabkan antibodi yang telah ada sebelumnya pada penderita, akan mengenali serotipe virus lain yang telah menginfeksi, kemudian membentuk kompleks antigen antibodi dan berikatan dengan reseptor pada sel, antibodi yang heterolog menyebabkan virus tidak dapat dinetralisasi oleh tubuh sehingga akan bebas melakukan replikasi dalam sel dan meningkatkan multiplikasi virus, kejadian ini menimbulkan viremia yang hebat dan menyebabkan semakin banyak sel yang terinfeksi, sebagai respon pada infeksi tersebut terjadi sekresi mediator vasoaktif yang mengakibatkan terjadinya keadaan hipovolemia dan SSD yang dapat menyebabkan kematian.<sup>17</sup> Sehingga itu, perlu adanya suatu alat diagnostik yang dapat mendeteksi dan mampu membedakan infeksi dari setiap jenis serotipe virus dengue, untuk dapat mengatasi penderita agar tidak jatuh pada keadaan SSD. Kit komersial untuk deteksi antigen NS1 yang tersedia saat ini dengan menggunakan metode imunokromatografi telah banyak beredar di pasaran, namun kit komersial tersebut belum mampu membedakan infeksi dari setiap jenis serotipe virus dengue.<sup>1</sup>

Sejalan dengan latar belakang diatas, sekarang ini banyak terdapat alat diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue yang beredar dan memiliki tingkat spesifisitas dan sensitivitas yang beragam, serta kit komersial untuk deteksi antigen NS1 yang tersedia saat ini dengan menggunakan metode imunokromatografi belum dapat mendeteksi setiap serotipe virus dengue secara spesifik. Saat ini kit reagensia yang beredar di Indonesia merupakan reagensia impor dari luar negeri yang dalam pembuatannya menggunakan antigen rekombinan yang berasal dari strain luar Indonesia. Penggunaan reagensia dengue impor di Indonesia dengan antigen yang tidak sesuai dengan strain lokal dapat menyebabkan kurangnya sensitivitas dan spesifisitas alat uji diagnostik. Selain itu, reagensia komersial memiliki nilai jual yang relatif mahal. Berdasarkan hal tersebut peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian penentuan serotipe virus dengue dalam upaya pembuatan suatu alat kit diagnostik baru untuk mendeteksi adanya antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi menggunakan protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia yang dapat mendeteksi setiap jenis serotipe virus dengue dalam satu kit dan diharapkan dapat menjadi suatu alat diagnostik yang dapat mendeteksi antigen NS1 lebih sensitif, spesifik, cepat, dan akurat sehingga dapat dilakukan terapi suportif, pemantauan pasien segera, dapat mengurangi risiko komplikasi maupun kematian, dan diharapkan dapat meringankan beban ekonomi masyarakat Indonesia maupun pemerintah.

## METHODS

### Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris dengan True Experimental Design berupa Posstest-Only Control Design, dengan menentukan serotipe virus dengue untuk pembuatan kit diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi dari protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia untuk mendeteksi adanya antigen Non Struktural-1 virus dengue pada pasien demam berdarah.

### Populasi, Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

#### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah serum pasien suspek DBD yang menjalani rawat jalan dan inap di Rumah sakit dan pelayanan kesehatan lainnya di wilayah Gorontalo, Sulawesi tenggara (Kendari), dan Sulawesi tengah (Palu).

#### 2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah semua populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian.

#### 3. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah Cluster Sampling (Area Sampling) dengan pendekatan Stratified Random Sampling.

### Tempat dan Waktu Penelitian

#### 1. Tempat Penelitian

Tempat dalam penelitian ini terbagi atas perwakilan dari setiap pulau yang ada di wilayah Indonesia, dengan teknik pemilihan wilayah sampel yaitu dilakukan dengan kegiatan surveilans ke beberapa wilayah endemic yang mewakili setiap pulau di Indonesia. Selain itu, dengan melihat data dari sumber “Data dan Informasi Profil Kesehatan Di Indonesia Tahun 2018” untuk melihat sebaran kota dan provinsi yang 17 terinfeksi virus dengue Tahun 2016-2018, sehingga yang akan menjadi kandidat wilayah tempat penelitian yaitu mewakili pulau Sumatera (Sumatera Barat, Riau, Sumatera Selatan, Kepulauan Bangka Belitung, dan Bengkulu), pulau Jawa (Jawa Tengah dan DI Yogyakarta), pulau Kalimantan (Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Timur), pulau Sulawesi (Gorontalo, Kendari, dan Palu), Bali, dan Papua. Namun pada penentuan serotipe virus dengue tahapan awal berfokus pada daerah Sulawesi terlebih dahulu yaitu wilayah Gorontalo, Sulawesi Tenggara (Kendari), dan Sulawesi Tengah (Palu) yang setiap wilayah diambil sampel sebanyak 30 sampel.

Pengumpulan sampel serum pasien suspek DBD dilakukan dengan mengambil serum pasien suspek DBD yang mewakili seluruh pulau yang terpilih sebagai tempat penelitian.

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Dengue Lembaga Biologi Molekuler Eijkman Institute Jakarta.

#### 2. Waktu Penelitian

Total waktu yang diperlukan dalam penelitian yaitu selama 3 tahun, dimulai sejak bulan September Tahun 2019 sampai Agustus Tahun 2022. Untuk penentuan serotipe virus dengue dilakukan sejak bulan September Tahun 2019 sampai Desember 2019.

TABEL 1.  
JUMLAH KABUPATEN/KOTA YANG TERJANGKIT DEMAM BERDARAH DENGUE  
MENURUT PROVINSI TAHUN 2016 – 2018

| No | Provinsi                  | Jumlah Kab/Kota |      |      | Kabupaten/Kota Terjangkit |        |        |        |        |        |
|----|---------------------------|-----------------|------|------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|    |                           | 2016            | 2017 | 2018 | 2016                      |        | 2017   |        | 2018   |        |
|    |                           |                 |      |      | Jumlah                    | %      | Jumlah | %      | Jumlah | %      |
| 1  | Aceh                      | 23              | 23   | 23   | 23                        | 91,30  | 23     | 100,00 | 22     | 95,65  |
| 2  | Sumatera Utara            | 33              | 33   | 33   | 30                        | 90,91  | 30     | 90,91  | 32     | 96,97  |
| 3  | Sumatera Barat            | 19              | 19   | 19   | 19                        | 100,00 | 19     | 100,00 | 19     | 100,00 |
| 4  | Riau                      | 12              | 12   | 12   | 12                        | 100,00 | 12     | 100,00 | 12     | 100,00 |
| 5  | Jambi                     | 11              | 11   | 11   | 11                        | 100,00 | 9      | 81,82  | 11     | 100,00 |
| 6  | Sumatera Selatan          | 17              | 17   | 17   | 17                        | 100,00 | 17     | 100,00 | 17     | 100,00 |
| 7  | Bengkulu                  | 10              | 10   | 10   | 10                        | 100,00 | 10     | 100,00 | 10     | 100,00 |
| 8  | Lampung                   | 15              | 15   | 15   | 15                        | 100,00 | 15     | 100,00 | 15     | 100,00 |
| 9  | Kepulauan Bangka Belitung | 7               | 7    | 7    | 7                         | 100,00 | 7      | 100,00 | 7      | 100,00 |
| 10 | Kepulauan Riau            | 7               | 7    | 7    | 6                         | 85,71  | 5      | 71,43  | 6      | 85,71  |
| 11 | DKI Jakarta               | 6               | 6    | 6    | 6                         | 100,00 | 5      | 83,33  | 5      | 83,33  |
| 12 | Jawa Barat                | 27              | 27   | 27   | 27                        | 100,00 | 28     | 74,07  | 21     | 77,78  |
| 13 | Jawa Tengah               | 25              | 25   | 25   | 25                        | 100,00 | 25     | 100,00 | 25     | 100,00 |
| 14 | DI Yogyakarta             | 5               | 5    | 5    | 5                         | 100,00 | 5      | 100,00 | 5      | 100,00 |
| 15 | Jawa Timur                | 30              | 30   | 30   | 30                        | 100,00 | 30     | 100,00 | 27     | 90,00  |
| 16 | Banten                    | 8               | 8    | 8    | 8                         | 100,00 | 8      | 100,00 | 7      | 87,50  |
| 17 | Bali                      | 9               | 9    | 9    | 9                         | 100,00 | 9      | 100,00 | 9      | 100,00 |
| 18 | Nusa Tenggara Barat       | 10              | 10   | 10   | 10                        | 100,00 | 8      | 80,00  | 8      | 80,00  |
| 19 | Nusa Tenggara Timur       | 22              | 22   | 22   | 11                        | 50,00  | 14     | 63,64  | 13     | 59,09  |
| 20 | Kalimantan Barat          | 14              | 14   | 14   | 14                        | 100,00 | 14     | 100,00 | 14     | 100,00 |
| 21 | Kalimantan Tengah         | 14              | 14   | 14   | 14                        | 100,00 | 14     | 100,00 | 14     | 100,00 |
| 22 | Kalimantan Selatan        | 13              | 13   | 13   | 13                        | 100,00 | 12     | 92,31  | 12     | 92,31  |
| 23 | Kalimantan Timur          | 10              | 10   | 10   | 10                        | 100,00 | 10     | 100,00 | 10     | 100,00 |
| 24 | Kalimantan Utara          | 5               | 5    | 5    | 5                         | 100,00 | 4      | 80,00  | 5      | 100,00 |
| 25 | Sulawesi Utara            | 15              | 15   | 15   | 15                        | 100,00 | 13     | 86,67  | 11     | 73,33  |
| 26 | Sulawesi Tengah           | 13              | 13   | 13   | 13                        | 100,00 | 13     | 100,00 | 11     | 84,62  |
| 27 | Sulawesi Selatan          | 24              | 24   | 24   | 24                        | 100,00 | 21     | 87,50  | 23     | 95,83  |
| 28 | Sulawesi Tenggara         | 17              | 17   | 17   | 16                        | 94,12  | 11     | 64,71  | 12     | 70,59  |
| 29 | Gorontalo                 | 6               | 6    | 6    | 6                         | 100,00 | 6      | 100,00 | 6      | 100,00 |
| 30 | Sulawesi Barat            | 6               | 6    | 6    | 5                         | 83,33  | 6      | 100,00 | 5      | 83,33  |
| 31 | Maluku                    | 11              | 11   | 11   | 8                         | 72,73  | 7      | 63,64  | 6      | 54,55  |
| 32 | Maluku Utara              | 10              | 10   | 10   | 8                         | 80,00  | 2      | 20,00  | 4      | 40,00  |
| 33 | Papua Barat               | 13              | 13   | 13   | 5                         | 38,46  | 4      | 30,77  | 4      | 30,77  |
| 34 | Papua                     | 29              | 29   | 29   | 10                        | 34,48  | 8      | 27,59  | 9      | 31,03  |
|    | Indonesia                 | 514             | 514  | 514  | 463                       | 90,08  | 434    | 84,44  | 440    | 85,60  |

Sumber: Data P2D, November 01, 2019

## RESULTS

Telah dilakukan penelitian penentuan serotipe virus dengue untuk pembuatan kit diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi menggunakan protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia untuk deteksi dini demam berdarah dengue. Pengumpulan sampel serum pasien suspek DBD dilakukan dengan mengambil serum pasien suspek DBD yang mewakili seluruh pulau yang terpilih sebagai tempat penelitian yaitu pada pulau Sulawesi berfokus pada wilayah Gorontalo, Sulawesi Tenggara (Kendari), dan Sulawesi Tengah (Palu), Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Dengue Lembaga Biologi Molekuler Eijkman Institute Jakarta.

Penelitian pada tahap pertama dilakukan pada tanggal 14 Oktober 2019 sampai 20 Desember 2019 yaitu diawali dengan dilakukan diskusi antara tim peneliti dari Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar dengan pihak peneliti di Management and Science University Malaysia untuk menambah kekayaan intelektual dalam publikasi ilmiah pada penelitian ini, selanjutnya dilakukan pengumpulan sampel penelitian di wilayah yang menjadi tempat penelitian telah ditetapkan tiga wilayah yaitu mewakili pulau Sulawesi (Gorontalo, Kendari, dan Palu). Pengumpulan sampel dilakukan oleh ketua peneliti dan anggota peneliti yang berada di Indonesia dengan dilakukan pembagian tugas untuk pengambilan sampel mewakili setiap wilayah. Setelah itu, dilanjutkan dengan penentuan serotipe virus dengue yang dilakukan di Laboratorium Dengue Eijkman Institute Jakarta. Sampel dalam penelitian ini menggunakan serum dari pasien suspek DBD dengan hasil pemeriksaan antigen Non Struktural-1 virus dengue metode imunokromatografi positif dan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan memberikan persetujuan secara tertulis (informed consent).

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini ditetapkan dengan menggunakan metode Cluster Sampling dengan pendekatan Stratified Random Sampling, dengan besar sampel dalam penelitian ditentukan berdasarkan rumus perhitungan untuk uji metode Cluster dengan menggunakan rumus simple random sampling dan mengalikan hasil perhitungan dengan design effect dengan total jumlah sampel minimal yang dibutuhkan dalam penelitian 23 dari tiga wilayah yaitu mewakili pulau Sulawesi (Gorontalo, Kendari, dan Palu) sebanyak 90 sampel (setiap wilayah sebanyak 30 sampel).

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer yang mana peneliti secara langsung melakukan identifikasi pada subjek penelitian. Data yang dikumpulkan meliputi nama dan rekam medis (kode), jenis kelamin, umur, lama demam (hari), hasil pemeriksaan kit antigen Non Struktural-1 dengue menggunakan metode imunokromatografi komersial, hasil pemeriksaan dengue IgG IgM menggunakan metode imunokromatografi, nilai leukosit, eritrosit, hematokrit, hemoglobin, nilai trombosit, dan hasil pemeriksaan serotipe virus dengue menggunakan metode RT-PCR. Data hasil penelitian yang diperoleh diolah melalui program pengolahan data. Cara penyajian dilakukan dengan variabel kategori yang dideskripsikan dengan jumlah (n) dan persentase (%) yang hasilnya dinarasikan dan diperjelas melalui table uji statistik. Perhitungan analisis dilakukan dengan komputer menggunakan software IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 23 for windows. Adapun hasil penelitian yang dimaksud adalah sebagai berikut :

### 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek dalam penelitian ini yaitu terdiri dari jenis kelamin, umur dan lama demam (hari).

Tabel 2. Karakteristik Subjek Penelitian

| Karakteristik Subjek Penelitian |           | Jumlah<br>(n = 90) | Presentase<br>(100 %) |
|---------------------------------|-----------|--------------------|-----------------------|
| <b>Jenis kelamin</b>            | Laki-Laki | 55                 | 61,1                  |
|                                 | Perempuan | 35                 | 38,9                  |
| <b>Klasifikasi Umur (Tahun)</b> | <1        | 2                  | 2,2                   |
|                                 | 1 – 10    | 22                 | 24,4                  |
|                                 | 11 – 20   | 21                 | 23,3                  |
|                                 | 21 – 30   | 26                 | 28,9                  |
|                                 | 31 – 40   | 11                 | 12,2                  |
|                                 | 41 – 50   | 4                  | 4,5                   |
|                                 | 51 – 60   | 4                  | 4,5                   |
| <b>Lama Demam (Hari)</b>        | ≤ 2       | 11                 | 12,2                  |
|                                 | 3         | 27                 | 30,0                  |
|                                 | 4         | 23                 | 25,6                  |
|                                 | 5         | 22                 | 24,4                  |
|                                 | 6         | 6                  | 6,7                   |
|                                 | ≥ 7       | 1                  | 1,1                   |

Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 90 subjek pada penelitian ini, jumlah pasien laki-laki sebanyak 55 orang (61,1%) dan perempuan sebanyak 35 orang (38,9%). Untuk klasifikasi umur dalam penelitian ini pasien terbanyak adalah pasien dengan umur 21-30 tahun yaitu sebanyak 26 orang (28,9%) dan yang paling sedikit pasien dengan umur <1 tahun yaitu hanya 2 orang (2,2%). Sedangkan untuk lama demam (hari) dari 90 pasien suspek DBD pada penelitian ini, lama demam yang terbanyak yaitu demam hari ke-3 sebanyak 27 orang (30,0%) dan jumlah yang paling sedikit adalah demam hari ke-7 yaitu hanya sebanyak 1 orang (1,1%).

2. Analisis Hasil Pemeriksaan Antigen Non Struktural-1 Dengue Metode Imunokromatografi dan RT-PCR

Tabel 3. Jumlah Sampel, Pola Serotipe Virus Dengue dari Setiap Wilayah, dan Hasil Uji Kesesuaian Antara Kit NS1 Komersial Metode Imunokromatografi dan RT-PCR

| No    | Wilayah   | Jumlah | Hasil Pemeriksaan Kit Ns1 Dengue Metode Imunokromatografi | Hasil Pemeriksaan Serotipe Virus Dengue Metode RT-PCR |               |               |              |       |
|-------|-----------|--------|---|---|---------------|---------------|--------------|-------|
|       |           |        |   | Den-1   | Den-2         | Den-3         | Den-4        | Total |
| 1     | Gorontalo | 30     | Positif 30 (100%)   | 1<br>(3,3%)   | 19<br>(63,3%) | 9<br>(30,1%)  | 1<br>(3,3%)  | 30    |
| 2     | Kendari   | 30     | Positif 30 (100%)   | 1<br>(3,3%)   | 10<br>(33,3%) | 16<br>(53,3%) | 3<br>(10,1%) | 30    |
| 3     | Palu      | 30     | Positif 30 (100%)   | 2<br>(6,7%)   | 10<br>(33,3%) | 16<br>(53,3%) | 2<br>(6,7%)  | 30    |
| Total |           |        |   | 4<br>(4,4%)   | 39<br>(43,3%) | 41<br>(45,6%) | 6<br>(6,7%)  | 90    |

Tabel 2 menunjukkan bahwa dari 90 sampel serum pasien suspek DBD dari tiga wilayah yaitu Gorontalo, Kendari, dan Palu yang setiap wilayah didapatkan sampel penelitian sebanyak 30 sampel dan diperoleh hasil pemeriksaan menggunakan kit diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi yaitu hasil pemeriksaan positif sebanyak 90 sampel (100%) dalam hal ini sampel penelitian yang mewakili tiga wilayah (Gorontalo, Kendari, dan Palu) didapatkan hasil pemeriksaan keseluruhan sampel yaitu positif pada keseluruhan sampel penelitian, sedangkan pemeriksaan menggunakan metode RT-PCR diperoleh hasil pemeriksaan yang sama, dari 90 sampel penelitian diperoleh 100% sampel penelitian tersebut positif terdapat antigen Non Struktural-1 dengue dengan pola serotipe virus dengue dari setiap wilayah yaitu untuk wilayah Gorontalo dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-2 yaitu sebanyak 19 sampel (63,3%) dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu hanya sebanyak 1 sampel (3,3%). Untuk wilayah Kendari dari 30 sampel pada penelitian ini, diperoleh serotipe virus dengue terbanyak yaitu Den-3 sebanyak 16 sampel (53,3%) dan yang paling sedikit adalah Den-1 yaitu sebanyak 1 sampel (3,3%). Sedangkan untuk wilayah Palu dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-3 yaitu sebanyak 16 sampel (53,3%) dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu hanya sebanyak 2 sampel (6,7%).

## DISCUSSION

Pada umumnya diagnosis DBD sulit ditegakkan pada awal penyakit karena tanda dan gejalanya yang tidak spesifik sehingga seringkali sulit dibedakan dengan penyakit infeksi lainnya. Angka kematian dan angka kesakitan dapat diturunkan secara seksama apabila penderita dengan DBD/DSS dapat didiagnosis secara dini dan mendapatkan penatalaksanaan klinis dengan baik.<sup>18</sup> Viremia atau adanya virus dengue dalam aliran darah akan berlangsung selama 1 minggu. Penegakan diagnosis penyakit dengue selain dengan menilai gejala klinis juga diperlukan uji laboratorium untuk memastikan diagnosis (Muhamad, 2017). Diagnosis laboratorium infeksi dengue dapat ditegakkan dengan mendeteksi virus spesifik, sekuens genom, antibodi dan antigen virus.<sup>8</sup>

Pemeriksaan laboratorium yang merupakan salah satu penunjang dalam penegakan diagnosis infeksi virus dengue juga telah mengalami perkembangan yang cukup signifikan. Saat ini dua pendekatan diagnosis DBD yang sedang dikembangkan yaitu dengan pemanfaatan antibodi anti virus dengue sebagai antigen capture atau dengan menemukan antigen virus penyebab infeksi dengue dalam serum atau plasma penderita DBD. Keduanya mempunyai kelebihan dan kekurangan yang berdampak pada waktu dan ketepatan diagnosis.<sup>9</sup>

Diagnosis dengan memanfaatkan antibodi anti virus dengue yang sudah dikembangkan sampai saat ini antara lain uji hemagglutination inhibition (HI), neutralisasi, immune fluorescent antibody test, enzyme link immunosorbent assay (ELISA), complement fixation, dot blotting dan western blotting namun uji tersebut masih memiliki keterbatasan waktu dan biaya.<sup>12</sup> Pemeriksaan laboratorium lainnya yang dapat dilakukan untuk menunjang penegakan diagnosa infeksi virus dengue yaitu kultur dan isolasi virus, Reverse



Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), uji serologi (pemeriksaan IgM dan IgG anti dengue) dan pemeriksaan hematologi rutin. Isolasi virus dan PCR masih merupakan gold standard untuk mendeteksi virus dengue, tetapi terdapat keterbatasan untuk pemeriksaan tersebut terutama biaya, waktu dan teknik pengerjaannya. Pemeriksaan serologi IgM dan IgG anti dengue yang secara rutin dan relatif mudah dikerjakan, namun masih mempunyai keterbatasan yaitu ketidakkampuannya mendeteksi proses infeksi lebih awal.<sup>11</sup>

Saat ini, telah dikembangkan suatu pemeriksaan baru yaitu pengembangan diagnosis DBD dengan pendekatan deteksi terhadap antigen Non Struktural-1 yang dapat mendeteksi atau mendiagnosis infeksi virus dengue lebih awal, bahkan pada hari pertama onset demam karena protein Non Struktural-1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut, baik saat infeksi primer maupun sekunder tanpa perlu menunggu antibodi terbentuk.<sup>10</sup> Adanya pemeriksaan antigen Non Struktural-1 ini sangat penting karena dapat dilakukan terapi suportif, pemantauan pasien segera, dan dapat mengurangi risiko komplikasi maupun kematian.

Saat ini banyak terdapat alat diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue yang beredar dan memiliki tingkat spesifisitas dan sensitivitas yang beragam, serta kit komersial untuk deteksi antigen NS1 yang tersedia saat ini dengan menggunakan metode imunokromatografi belum dapat mendeteksi setiap serotipe virus dengue secara spesifik. Saat ini kit reagensia yang beredar di Indonesia merupakan reagensia impor dari luar negeri yang dalam pembuatannya menggunakan antigen rekombinan yang berasal dari strain luar Indonesia. Penggunaan reagensia dengue impor di Indonesia dengan antigen yang tidak sesuai dengan strain lokal dapat menyebabkan kurangnya sensitivitas dan spesifisitas alat uji diagnostik. Selain itu, reagensia komersial memiliki nilai jual yang relatif mahal. Berdasarkan hal tersebut peneliti melakukan penelitian penentuan serotipe virus dengue dalam upaya pembuatan suatu alat kit diagnostik baru untuk mendeteksi adanya antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi menggunakan protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia yang dapat mendeteksi setiap jenis serotipe virus dengue dalam satu kit dan diharapkan dapat menjadi suatu alat diagnostik yang dapat mendeteksi antigen NS1 lebih sensitif, spesifik, cepat, dan akurat sehingga dapat dilakukan terapi suportif, pemantauan pasien segera, dapat mengurangi risiko komplikasi maupun kematian, dan diharapkan dapat meringankan beban ekonomi masyarakat Indonesia maupun pemerintah.

Pada penelitian ini dilakukan penentuan serotipe virus dengue pada pulau Sulawesi yang saat ini berfokus pada tiga wilayah yaitu Gorontalo, Kendari, dan Palu dengan melibatkan 90 pasien suspek DBD dan dilakukan pemeriksaan antigen Non Struktural-1 dengue menggunakan metode imunokromatografi dan RT-PCR serta bersedia ikut dalam penelitian dengan memberikan persetujuan secara tertulis (informed consent), jumlah ini melebihi sampel minimal yang diperlukan dalam penelitian. Jenis kelamin merupakan salah satu karakteristik yang dapat mempengaruhi terjadinya suatu penyakit.

Jenis kelamin sangat berkaitan dengan sifat keterpaparan dan tingkat kerentanan suatu penyakit walaupun keduanya mempunyai peluang yang sama untuk terpapar suatu penyakit.<sup>19</sup>

Berdasarkan karakteristik subjek penelitian, jenis kelamin responden pada penelitian ini dari 90 responden jumlah responden laki-laki lebih banyak yaitu sebanyak 55 orang (61,1%) dan perempuan sebanyak 35 orang (38,9%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yondri tahun 2014 di Makassar dari 69 jumlah responden jenis kelamin penderita DBD terbanyak yaitu laki-laki sebanyak 39 orang (56,5%) selanjutnya perempuan sebanyak 30 (43,5 %) orang. Kemudian penelitian yang lain dilakukan oleh Megariani dkk tahun 2014 di Padang dari 50 jumlah responden didapatkan laki-laki lebih banyak dari perempuan, yaitu laki-laki sebanyak 27 (54%) orang dan perempuan sebanyak 23 (46 %) orang. Hasil yang sama diperoleh Libraty dkk tahun 2002 yang memperoleh hasil penderita anak laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan dengan rasio 2:1. Rothman dkk tahun 2007 menyebutkan bahwa rendahnya persentase perempuan penderita DBD dibandingkan laki-laki disebabkan karena sistem imun perempuan lebih baik dari laki-laki. Pada perempuan, produksi sitokin anti inflamasi lebih banyak sehingga perempuan yang terinfeksi DBD memberikan keluhan klinis yang kurang jelas dan jarang yang mengalami rawat inap. Soedarmo dkk tahun 2009 menyebutkan bahwa kromosom XX pada anak perempuan mempunyai peran dalam mengelola produksi imunoglobulin secara kuantitatif (Soedarmo, 2009). Berbeda dengan penelitian molekular yang dilakukan oleh Kalayanarooj dkk tahun 2007 di Timor Leste, pasien yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue lebih banyak 28 anak perempuan. Namun, penelitian Halstead dkk tahun 2004 membuktikan bahwa tidak terdapat perbedaan antara respon infeksi anak perempuan dan anak laki-laki.<sup>20</sup>

Hal tersebut sejalan dengan pernyataan dalam buku “Demam Berdarah pada Anak” karya Soedarmo tahun 2009 dinyatakan bahwa di Indonesia dan Filipina, tidak terdapat perbedaan antara anak perempuan dan anak laki-laki yang menderita demam berdarah. Penelitian yang lain dilakukan oleh Nur Khakimatul Faizah tahun 2016 di Jakarta dari 91 jumlah responden diperoleh jumlah pasien DBD berjenis kelamin laki-laki sebanyak 47 orang (51,6%) dan perempuan sebanyak 44 (48,4%) orang, dari hasil penelitian tersebut tampak bahwa tidak ada perbedaan jauh antara pasien DBD berjenis kelamin laki-laki maupun perempuan (Nur,

2016). Hal ini pula sesuai dengan data dari Kementerian Kesehatan RI tahun 2010 dalam “Buletin Jendela Epidemiologi, Topik Utama : Demam Berdarah Dengue” dinyatakan bahwa distribusi kasus DBD berdasarkan jenis kelamin, persentase penderita laki-laki dan perempuan hampir sama. Jumlah penderita berjenis kelamin laki-laki adalah 10.463 orang (53,78%) dan perempuan berjumlah 8.991 orang (46,23%). Hal ini menggambarkan bahwa risiko terkena DBD untuk laki-laki dan perempuan hampir sama, tidak tergantung pada jenis kelamin.

Selanjutnya, karakteristik subjek penelitian berdasarkan umur. Umur merupakan salah satu karakteristik yang dapat mempengaruhi kondisi suatu masalah kesehatan atau penyakit karena umur sangat berpengaruh terhadap tingkat keterpaparan, besarnya resiko, serta sifat resisten tertentu. Umur merupakan salah satu variabel yang cukup penting karena banyak penyakit yang ditemukan dengan berbagai frekuensi yang berhubungan dengan umur, beberapa penyakit menular misalnya menunjukkan bahwa umur muda mempunyai resiko yang lebih tinggi dari pada umur dewasa.<sup>19</sup>

Pada penelitian ini diperoleh dari 90 responden dengan usia termuda 8 bulan (<1 tahun) dan tertua 60 tahun, umur yang terbanyak adalah responden 21-30 tahun yaitu sebanyak 26 orang (28,9%), kemudian responden dengan umur 1-10 tahun sebanyak 22 orang (24,4%) dan responden dengan umur 11-20 tahun sebanyak 21 orang (23,3%), responden dengan umur 31-40 tahun sebanyak 11 orang (12,2%), responden dengan umur 41-50 tahun dan umur 51-60 tahun mempunyai nilai yang sama yaitu sebanyak 4 orang (4,5%) sedangkan responden dengan umur <1 tahun paling sedikit yaitu hanya sebanyak 2 orang (2,2%). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Rosa Dwi Wahyuni dkk tahun 2011 di Makassar menunjukkan bahwa presentase kasus DBD menurut kelompok umur tertinggi pada kelompok umur 19-49 tahun yaitu sebanyak 89 orang (43,4%) dan disusul kelompok umur 6-14 tahun sebanyak 48 orang (23,4%), sedangkan kelompok umur terendah pada kelompok 0-1 tahun yaitu sebanyak 5 orang (2,4%). Penelitian lain yang mempunyai hasil yang sama dilakukan oleh Rosmila di Kel. Tamamaung Kec. Panakukang bahwa penyakit DBD lebih banyak ditemukan pada orang dewasa dimana dari 27 orang penderita DBD terdapat 26 orang (30,2%) yang tergolong dewasa dan 1 orang (8,3%) yang tergolong balita dan anak. Namun hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yondri tahun 2014 dimana responden dengan usia termuda 4 bulan dan tertua 61 tahun, yang terbanyak umur antara 11-20 tahun yaitu sebanyak 22 orang (31,9%), kemudian responden dengan umur 2-10 tahun sebanyak 17 orang (24,6%), responden dengan umur 21-30 tahun dan umur >41 tahun mempunyai nilai yang sama yaitu sebanyak 8 orang (11,6%), sedangkan responden dengan umur ≤1 tahun dan 31-40 tahun dengan jumlah paling sedikit dan mempunyai nilai yang sama yaitu sebanyak 7 orang (10,1%).<sup>75</sup> Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Megariani dkk tahun 2014 di Padang diperoleh hasil dari 50 jumlah responden terlihat umur rata-rata responden yang terinfeksi virus dengue adalah 8,98 (SD 3,673) tahun dengan rentang umur berkisar antara 6 bulan sampai 17 tahun. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan yang didapatkan Libraty dkk tahun 2002 umur rata-rata sampel yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue adalah 9,5 tahun (rentang umur 2,9- 13,5 tahun). Kalayanarooj dkk tahun 2007 di Timor Leste, mendapatkan umur rata-rata sampel anak yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue adalah 2,5 tahun dengan kelompok umur terbanyak adalah usia 1-4 tahun.

Kementerian Kesehatan RI tahun 2010 dalam “Buletin Jendela Epidemiologi, Topik Utama : Demam Berdarah Dengue” menyatakan bahwa persentase kasus DBD perkelompok umur dari tahun 1993 - 2009 terjadi pergeseran. Dari tahun 1993 sampai tahun 1998 kelompok umur terbesar kasus DBD adalah kelompok umur <15 tahun, tahun 1999 - 2009 kelompok umur terbesar kasus DBD cenderung pada kelompok umur ≥15 tahun. Melihat data ini kemungkinan penularan tidak hanya di rumah tetapi di sekolah atau di tempat kerja. Tampak telah terjadi perubahan pola penyakit DBD, dimana dahulu DBD adalah penyakit pada anak-anak dibawah 15 tahun, saat ini telah menyerang seluruh kelompok umur, bahkan lebih banyak pada usia produktif. Hal ini dikarenakan golongan usia tersebut merupakan golongan usia dewasa muda yang cenderung produktif dan aktif serta memiliki banyak kegiatan tambahan di luar rumah sehingga lebih berisiko untuk tergigit nyamuk *Aedes aegypti*.<sup>21</sup> Selanjutnya, karakteristik subjek penelitian berdasarkan lamanya demam, dari 90 responden pasien suspek DBD pada penelitian ini, berdasarkan lamanya demam pasien saat masuk rumah sakit yang terpendek adalah demam hari ke-2 dan yang terlama adalah demam hari ke-7 dengan lama demam yang terbanyak yaitu demam hari ke-3 sebanyak 27 orang (30,0%), selanjutnya demam hari ke-4 sebanyak 23 orang (25,6%), kemudian demam hari ke-5 sebanyak 22 orang (24,4%) dan demam hari ke-2 sebanyak 11 orang (12,2%), demam hari ke-6 sebanyak 6 orang (6,7%) serta demam hari ke-7 dengan jumlah paling sedikit yaitu hanya sebanyak 1 orang (1,1%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cindy dkk tahun 2015 di Manado yaitu dari 37 jumlah pasien berdasarkan lamanya demam pasien saat masuk rumah sakit didapatkan hasil terbanyak yaitu pada hari ke-3 sebanyak 21 orang (56,8%), kemudian hari ke-4 sebanyak 9 orang (24,3%), dan hari ke-5 sebanyak 7 orang (18,9%). Hasil ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa puncak peningkatan kadar antigen Non Struktural-1 dengue meningkat dengan kadar tertinggi pada hari ketiga demam dan kadarnya akan menurun setelah hari kelima (Mitayani, 2011). Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan yang didapatkan Megariani dkk tahun 2014 di Padang dari 50 jumlah responden berdasarkan lamanya demam pasien saat masuk rumah



sakit didapatkan hasil terbanyak yaitu pada hari ke-3 sebanyak 28 orang (56%), kemudian hari ke-2 sebanyak 21 orang (42%), dan hari ke-1 sebanyak 1 orang (2%). Dalam penelitian Megariani dkk tahun 2014 persentase NS1 positif lebih besar pada hari ke-3 demam dibandingkan hari ke-2, Dussart dkk tahun 2008 meneliti 299 pasien demam dengue di Perancis, didapatkan sensitivitas NS1 pada hari demam 0-4 hari sebesar 87,6%, dan 43,5% pada demam hari ke 5- 10. Datta dkk di India tahun 2010, membandingkan NS1 pada fase akut dan konvalesen, didapatkan NS1 positif 71,42% pada fase akut, sedangkan pada fase konvalesen NS1 positif hanya 6,38%. Sensitivitas NS1 yang tinggi pada fase awal demam karena protein NS1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut, baik pada infeksi primer maupun sekunder. Kadar NS1 yang tinggi sampai hari ke-5 demam berhubungan dengan waktu terjadinya viremia karena merupakan periode replikasi virus dan belum terdapatnya antibodi terhadap virus. Kadar viremia dan kadar NS1 juga tergantung pada karakteristik intrinsik dari strain virus yang menginfeksi dan status imunitas dari penderita sendiri.<sup>20</sup>

Namun hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Yondri tahun 2014 di Makassar yaitu dari 69 jumlah pasien berdasarkan lamanya demam pasien saat masuk rumah sakit yang terpendek yaitu 1 hari dan yang terlama adalah 14 hari, didapatkan hasil terbanyak demam hari ke-5 yaitu sebanyak 20 orang (29.0%), kemudian demam hari ke-4 sebanyak 15 orang (21.7%), selanjutnya demam hari ke-3 sebanyak 14 orang (20.3%) dan demam hari ke-  $\leq 2$  sebanyak 13 orang (18.8%), demam hari ke-  $\geq 7$  yaitu sebanyak 6 orang (8.7%) serta lamanya demam pasien saat masuk rumah sakit yang jumlahnya paling sedikit yaitu demam hari ke-6 sebanyak 1 orang (1.4%).

Dalam penelitian ini dilakukan penentuan serotipe virus dengue dalam upaya pembuatan suatu kit diagnostik baru untuk mendeteksi adanya antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi menggunakan protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia. Diketahui bahwa terdapat empat jenis serotipe dengue yang dapat menginfeksi manusia yaitu dengue 1 (Den-1), dengue 2 (Den-2), dengue 3 (Den-3), dan dengue 4 (Den-4). Pengumpulan sampel penelitian dilakukan di pulau Sulawesi dengan berfokus pada tiga wilayah yaitu Gorontalo, Kendari, dan Palu, dengan jumlah sampel penelitian yaitu 90 sampel serum pasien suspek DBD, didapatkan hasil yaitu dari 90 sampel serum pasien suspek DBD dari tiga wilayah yaitu Gorontalo, Kendari, dan Palu yang setiap wilayah didapatkan sampel penelitian sebanyak 30 sampel dan diperoleh hasil pemeriksaan menggunakan kit diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue metode imunokromatografi yaitu hasil pemeriksaan positif sebanyak 90 sampel (100%) dalam hal ini sampel penelitian yang mewakili tiga wilayah (Gorontalo, Kendari, dan Palu) didapatkan hasil pemeriksaan keseluruhan sampel tersebut positif, sedangkan pemeriksaan menggunakan metode RT-PCR diperoleh hasil pemeriksaan yang sama, dari 90 sampel penelitian diperoleh 100% sampel penelitian tersebut positif terdapat antigen Non Struktural-1 dengue dengan pola serotipe virus dengue dari setiap wilayah yaitu untuk wilayah Gorontalo dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-2 yaitu sebanyak 19 sampel (63,3%), kemudian Den-3 sebanyak 9 sampel (30,1%) dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu hanya sebanyak 1 sampel (3,3%). Untuk wilayah Kendari dari 30 sampel pada penelitian ini, diperoleh serotipe virus dengue terbanyak yaitu Den-3 sebanyak 16 sampel (53,3%), kemudian Den-2 sebanyak 10 sampel (33,3%), selanjutnya Den-4 yaitu sebanyak 3 sampel (10,1%) dan yang paling sedikit adalah Den-1 yaitu sebanyak 1 sampel (3,3%). Dan untuk wilayah Palu dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-3 yaitu sebanyak 16 sampel (53,3%), kemudian Den-2 sebanyak 10 sampel (33,3%), dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu masing-masing hanya sebanyak 2 sampel (6,7%).

Sedangkan pola serotipe untuk total keseluruhan sampel penelitian yaitu sebanyak 90 sampel, diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-3 sebanyak 41 sampel (45,6%), kemudian Den-2 sebanyak 39 sampel (43,3%), selanjutnya Den-4 yaitu sebanyak 6 sampel (6,7%) dan yang paling sedikit adalah Den-1 yaitu sebanyak 4 sampel (4,4%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Basti dkk tahun 2012 di Bandung menunjukkan bahwa dari 75 penderita yang bersedia ikut serta dalam penelitian hanya 27 sampel (36%) yang terdeteksi serotipe virus dengue dengan didominasi serotipe virus dengue terbanyak yaitu Den-3 sebanyak 13 sampel, diikuti Den-2 sebanyak 8 sampel, kemudian Den-4 sebanyak 4 sampel, dan yang paling rendah yaitu Den-1 hanya sebanyak 2 sampel. Namun hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Aryati tahun 2008 di Surabaya menunjukkan bahwa hasil penentuan serotipe virus dengue yang dominan di Indonesia adalah Den-1, disusul Den-3, kemudian Den-4, dan yang paling sedikit proporsinya adalah Den-2.

Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu hanya melakukan penentuan serotipe pada pulau Sulawesi dan hanya terdiri dari tiga wilayah saja yaitu Gorontalo, Kendari, dan Palu hal ini dianggap tidak dapat mewakili seluruh pulau yang ada di Indonesia. Perlu adanya perluasan wilayah penelitian untuk penentuan serotipe virus dengue yang dapat mewakili seluruh pulau di Indonesia, agar dalam penentuan serotipe virus dengue dapat mewakili seluruh isolat dari beberapa daerah di Indonesia yang dapat digunakan sebagai bahan sekuensing gen NS1 dalam pembuatan kit diagnostik antigen Non Struktural-1 dengue metode

imunokromatografi menggunakan protein rekombinan NS1 virus dengue isolat lokal Indonesia untuk deteksi dini demam berdarah dengue.

### CONCLUSION

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini jenis serotipe virus dengue yang diperoleh bervariasi antar kota, dari keseluruhan total sampel penelitian yaitu sebanyak 90 sampel, diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-3 sebanyak 41 sampel (45,6%), kemudian Den-2 sebanyak 39 sampel (43,3%), selanjutnya Den-4 yaitu sebanyak 6 sampel (6,7%) dan yang paling sedikit adalah Den-1 yaitu sebanyak 4 sampel (4,4%). Sedangkan untuk ketiga wilayah (Gorontalo, Kendari, dan Palu) hasil serotipe yang diperoleh bervariasi yaitu didapatkan pada wilayah Gorontalo dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-2 yaitu sebanyak 19 sampel (63,3%), kemudian Den-3 sebanyak 9 sampel (30,1%) dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu hanya sebanyak 1 sampel (3,3%). Untuk wilayah Kendari dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak yaitu Den-3 sebanyak 16 sampel (53,3%), kemudian Den-2 sebanyak 10 sampel (33,3%), selanjutnya Den-4 yaitu sebanyak 3 sampel (10,1%) dan yang paling sedikit adalah Den-1 yaitu sebanyak 1 sampel (3,3%). Sedangkan untuk wilayah Palu dari 30 sampel penelitian diperoleh serotipe virus dengue terbanyak adalah Den-3 yaitu sebanyak 16 sampel (53,3%), kemudian Den-2 sebanyak 10 sampel (33,3%), dan jumlah yang paling sedikit adalah Den-1 dan Den-4 yaitu masing-masing hanya sebanyak 2 sampel (6,7%).

### REFERENCES

- WHO, 2011. Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever (Revised and expanded edition). India. available from : <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204894/1/B4751.pdf> Diakses 31 Juli 2019).
- Soedarto, 2012. Demam Berdarah Dengue (Dengue Haemorrhagic Fever). Sagung Seto: Jakarta.
- Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI, 2010. Buletin Jendela Epidemiologi (Topik Utama Demam Berdarah Dengue, Vol.2 Agustus (2010). ISSN-2087- 1546. Kementerian Kesehatan RI: Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI, 2011. Petunjuk Teknis Penggunaan Rapid Diagnostic Test (RDT) Untuk Penunjang Diagnosis Dini DBD. Subdirektorat Pengendalian Arbovirolosis-Dit PPBB-Ditjen PP dan PL. available from : [http://agus34drajat.files.wordpress.com/2010/10/petunjuk\\_teknis\\_rdt\\_dbdengue.pdf](http://agus34drajat.files.wordpress.com/2010/10/petunjuk_teknis_rdt_dbdengue.pdf) Diakses 31 Juli 2019).
- Young PR, Hilditch PA, Bletchy C, Halloran W, 2000. An antigen capture enzyme linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1053-1057.
- Ramirez A, Moros Z, Comach G, Zambrano S, Bravo L, Pinto B, Vielma J.S, 2009. Evaluation of dengue detection test with acute sera from patients infected with dengue in Venezuela. *Diagnostic and Infectious Disease*, 65 (3): 247–253.
- Muhamad Jyuldi Prayoga, 2017. Hubungan Hasil Pemeriksaan Antigen Non Struktural-1 (NS1) Terhadap Gejala, Tanda Klinis dan Jumlah Trombosit pada Pasien Suspek Infeksi Dengue. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Pei-Yun Shu PY, Jyh-Hsiung Huang, 2004. Current Advances in Dengue Diagnosis. *Clinical and Vaccine Immunology*. American Society for Microbiology. 11(4): 642-650. doi: 10.1128/JCM.40.5.1840-1844.2002.
- Harly Novriani, Basundari Sri Utama, 2009. Deteksi Non Struktural Protein 1: Pendekatan Baru Diagnosis Dini DBD, *Majalah Kedokteran Indonesia*, Vol: 59, Nomor 9, September 2009, Hal: 432-433.
- Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, Flamand M, 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(2):376- 381. doi: 10.1128/JCM.40.2.376-381.
- Ni Luh Sinta Purnama Dewi, I.A Putri Wirawati, 2011. Peranan Pemeriksaan Serologi pada Infeksi Virus Dengue. *Bagian/SMF Ilmu Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar*. Hal: 1-13.
- Yondri N.T, 2014. Korelasi Antara Kadar Interleukin 18 dengan Ekspresi Molekul Adhesi (Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (sVCAM-1) dan Soluble Intercellular Adhesion Molecule 1 (sICAM-1)) pada Demam Berdarah Dengue (Tesis). Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Valentino Bima, 2012. Hubungan Antara Hasil Pemeriksaan Darah Lengkap dengan Derajat Klinik Infeksi Dengue pada Pasien Dewasa Di RSUP Dr. Kariadi Semarang. Program Pendidikan Sarjana

- Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ahmed NH & Shobha B, 2014. Comparison of NS1 antigen detection ELISA, real time RT-PCR and virus isolation for rapid diagnosis of dengue infection in acute phase. *J Vector Borne Dis.*
- Badave GK, Swaroop PA, Rao PN, 2015. Importance of NS1 antigen detection and its association with platelet count for early diagnosis of dengue virus infection. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 4(3):779-784.
- Aryati, 2008. The Role of Dengue NS1 Antigen as Diagnostic Tool. In: National Emerging and Re-Emerging Infectious Disease Update. Convention Hall Husada Utama Specialist Hospital: Surabaya.
- Soegijanto S, 2006. Patogenesis dan Perubahan Patofisiologi pada Infeksi Virus Dengue. Airlangga University Press : Surabaya.
- Megariani, Rinang Mariko, Amrin Alkamar, Andani Eka Putra, 2014. Uji Diagnostik Pemeriksaan Antigen Nonstruktural 1 untuk Deteksi Dini Infeksi Virus Dengue pada Anak. *Sari Pediatri*, Vol. 16, No. 2, Agustus 2014. Hal : 122.
- Rosa Dwi Wahyuni dan M.Sabir, 2011. Karakteristik Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar Periode Januari – Desember 2010.No.XIV Edisi Oktober 2011. Available from : (<http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php//NSP/article/download/2803/1897> diakses 29 Juli 2018).
- Megariani, Rinang Mariko, Amrin Alkamar, Andani Eka Putra, 2014. Uji Diagnostik Pemeriksaan Antigen Nonstruktural 1 untuk Deteksi Dini Infeksi Virus Dengue pada Anak. *Sari Pediatri*, Vol. 16, No. 2, Agustus 2014. Hal : 122.
- Kemenkes RI, 2012. Profil Data Kesehatan Indonesia Tahun 2011. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.

## **Pengaruh Aktivitas Fisik Dan Imt Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Hipertensi Pada Wanita Dewasa**

**Mely Purnadianti<sup>1</sup>, Rizal Aditya Hermawan<sup>2</sup>, Adilia Dias Hayuningrum<sup>3</sup>**

DPC Patelki Kota Kediri, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia;  
omansukarna@gmail.com

DPC Patelki Kota Kediri, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia;  
rizal.hermawan@iik.ac.id

DPC Patelki Kota Kediri, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia; adilia.dh@gmail.com

### **ABSTRACT**

Physical activity is defined as body movement caused by skeletal muscles and requires energy, encompasses all activities at home, work place, or any other place. Physical activity can affect body metabolism. Lack of physical activity reduce body metabolism that cause by imbalance intake and outtake energy, also affect body mass index. If it persist without any improvement, can affect blood glucose level, insulin mechanism and its receptors. Disrupted insulin mechanism and its receptors can cause hyperglikemi. Uncontrolled high blood glucose can trigger AGEs, substance from excess glucose and protein in the blood vessels. AGEs can damage the wall of blood vessels and attract saturated fats than form plaque that can obstruct bloodstream, as a result, blood pressure increase and hypertension occur. This study was conducted to describe the effect of physical activity and BMI of increasing blood glucose and its correlation with hypertension in adult women. This study has been used Cross Sectional Study Design and Descriptive Research Method with quantitative approach. The result based on statistic test, there was effect of physical activity and BMI of increasing blood glucose with p-value 0.001 but there is no correlation between blood glucose and hypertension with p-value 0.336.

**Keyword** : Physical Activity, BMI, Blood Glucose, Hypertension

### **INTRODUCTION**

Penyakit tidak menular sudah menyebabkan kematian sebanyak 15 Juta kasus dan semua itu terjadi pada orang dengan usia antara 30 – 69 tahun (WHO, 2020). Menurut Litbangkes tahun 2014, kasus penyakit tidak menular di Indonesia yang menyebabkan kematian dari tahun 1995 hingga tahun 2014 terus mengalami peningkatan. Awalnya terdapat 41% kasus lalu menjadi 71% kasus. Beberapa penyakit tidak menular yang menjadi penyebab utama kematian disegala umur yaitu diabetes dengan komplikasi dan hipertensi dengan komplikasi (Kemenkes RI, 2016). Salah satu faktor resiko penyakit tidak menular antara lain kurang aktivitas fisik. (Kemenkes RI, 2016). Glukosa darah dan tekanan darah berhubungan erat dengan aktivitas fisik dimana aktifitas fisik yang kurang juga dapat memicu ketidakseimbangan energi yang berakibat pada obesitas dan dapat digambarkan pada tingginya indeks massa tubuh (IMT) (Kemenkes RI, 2018).

### **METHODS**

penelitian ini menggunakan desain penelitian non – eksperimental cross sectional atau potong lintang karena desain penelitain cross sectional mempelajari korelasi/hubungan antara faktor – faktor resiko peningkatan kadar gula darah dan hipertensi dan efek dari objek aktivitas fisik dan IMT dengan suatu pendekatan berupa observasi ataupun dengan pengumpulan data pada suatu saat tertentu (point time approach). Sampel pada penelitian ini menggunakan subjek wanita dewasa sebanyak 40 subjek . Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampling secara tidak acak (Non probability sampling) dengan cara purposive sampling.

### **RESULTS & DISCUSSION**

|               | Normal |     | Prediabetes |     | Diabetes |     | Sig   |
|---------------|--------|-----|-------------|-----|----------|-----|-------|
|               | N      | %   | N           | %   | N        | %   |       |
| <b>Tinggi</b> | 11     | 25% | 1           | 2%  | 0        | 0%  | 0.006 |
| <b>Sedang</b> | 13     | 30% | 3           | 7%  | 3        | 7%  |       |
| <b>Rendah</b> | 3      | 7%  | 5           | 11% | 6        | 14% |       |

**Tabel 1. Uji Hipotesis Pengaruh Aktivitas Fisik Terhadap Peningkatan Glukosa Darah**

Tabel 1. memuat hasil uji hipotesis pengaruh aktivitas fisik terhadap peningkatan glukosa darah. Hasil yang didapatkan dari uji hipotesis pengaruh aktivitas fisik terhadap peningkatan glukosa darah menggunakan uji Kolmogorov – Smirnov yaitu didapatkan p-value 0.006 yang menunjukkan bahwa H0 ditolak karena p-value < 0.05 sehingga terdapat pengaruh hubungan antara aktivitas fisik dengan peningkatan glukosa darah.

Saat aktivitas fisik berlangsung, terjadi kontraksi otot dan penggunaan glukosa dalam otot sebagai energi. Saat glukosa dalam otot berkurang, otot akan mengambil glukosa dari darah sehingga kadar glukosa darah menurun dan terjadi perbaikan kadar glukosa darah

Hasil penelitian tersebut sejalan dengan hasil penelitian Anani et al (2012) yang menunjukkan bahwa aktivitas fisik berhubungan dengan kadar glukosa darah dengan nilai p-value 0.012.

| Persentase | R Square | Sig   |
|------------|----------|-------|
| <b>30%</b> | 0.295    | 0.001 |

**Tabel 2. Uji Hipotesis Pengaruh Aktivitas Fisik Dan IMT Terhadap Peningkatan Glukosa Darah**

Tabel 2. memuat hasil uji hipotesis pengaruh aktivitas fisik dan indeks massa tubuh terhadap peningkatan glukosa darah. Hasil yang diperoleh dari uji hipotesis regresi linier berganda yaitu p value 0.001, F hitung 8.569, F tabel 4.07, dan R square 0.295 (30%). Hasil p value < 0.05 sehingga terdapat pengaruh hubungan antara aktivitas fisik dan IMT dengan peningkatan glukosa darah. Hasil tersebut selaras dengan perbandingan F tabel dengan F hitung dimana F tabel < F hitung. Dari hasil R square, dapat diartikan bahwa variabel aktivitas fisik dan variabel indeks massa tubuh berpengaruh secara bersama – sama terhadap variabel glukosa darah sebesar 30%.

Saat otot bekerja dalam melakukan aktivitas fisik, aliran darah ke otot menjadi meningkat melalui cara pembukaan kapiler (pembuluh darah kecil). Hal tersebut akan menurunkan tekanan pada otot, kemudian meningkatkan kebutuhan glukosa dalam jaringan otot itu sendiri sehingga otot akan mengambil glukosa dalam darah dan terjadi pengurangan kadar glukosa darah.

|                   | Pra Hipertensi |     | Hipertensi I |    | Hipertensi II |    | Hipertensi Sistolik Terisolasi |    | Sig   |
|-------------------|----------------|-----|--------------|----|---------------|----|--------------------------------|----|-------|
|                   | N              | %   | N            | %  | N             | %  | N                              | %  |       |
| <b>Pre Diabet</b> | 1              | 2%  | 3            | 7% | 0             | 0% | 0                              | 0% | 0.336 |
| <b>Diabet</b>     | 5              | 11% | 3            | 7% | 0             | 0% | 0                              | 0% |       |

**Tabel 3. Uji Hipotesis Hubungan Kadar Glukosa Darah Yang Tinggi Dengan Hipertensi**

Tabel V.10 memuat hasil uji hipotesis hubungan glukosa darah yang tinggi dengan hipertensi. Hasil yang didapatkan dari uji Kolmogorov – Smirnov yaitu nilai p-value adalah 0.336 yang menunjukkan bahwa p-value > 0.05 yang berarti H0 diterima sehingga tidak terdapat pengaruh hubungan antara kadar glukosa darah yang tinggi dengan hipertensi.

Hiperglikemia yang berkepanjangan dapat memicu berbagai penyakit seperti tekanan darah tinggi, serangan jantung, angina atau penyakit jantung koroner (PJK). Sehingga lamanya waktu terjadinya hiperglikemia dapat menjadi faktor yang berpengaruh pada tekanan darah. Selain itu, terdapat faktor lain seperti usia yang berpengaruh pada tekanan darah. Sedangkan pada penelitian ini tidak meninjau secara lanjut terkait lamanya waktu menderita hiperglikemia dan juga usia.

#### CONCLUSION

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu diperoleh gambaran aktivitas fisik dan IMT berpengaruh terhadap peningkatan glukosa darah tetapi glukosa darah yang tinggi tidak memiliki hubungan dengan hipertensi.

#### REFERENCES

- Anani, S., Udiyono, A., & Ginanjar, P. 2012. Hubungan Antara Perilaku Pengendalian Diabetes dan Kadar Gula Darah Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus (Studi Kasus di RSUD Arjawinangun Kabupaten Cirebon). *Jurnal Kesehatan Masyarakat*
- Kemkes RI. 2016. Latar Belakang Penyakit Tidak Menular. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/profil-p2ptm/latar-belakang>. Diakses 13/10/2020 13:20
- Kemkes RI. 2018. Aktivitas Fisik Ringan. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/aktivitas-fisik-ringan>. Diakses 23.10.2020 13:25
- Kemkes RI. 2018. Akibat Dari Kurang Aktivitas Fisik. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/apa-saja-akibat-dari-kurang-melakukan-aktivitas-fisik>. Diakses 13/10/2020 13:34
- Kemkes RI. 2018. Indeks Massa Tubuh. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/bagaimana-cara-menghitung-imt-indeks-massa-tubuh>. Diakses 18/10/2020 11:22
- Kemkes RI. 2018. Klasifikasi Hipertensi. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic/klasifikasi-hipertensi>. Diakses 18/10/2020 10:05
- Kemkes RI. 2018. Klasifikasi Indeks Massa Tubuh. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/klasifikasi-obesitas-setelah-pengukuran-imt>. Diakses 12/10/2020 10:20
- Kemkes RI. 2018. Mengenal Jenis Aktivitas Fisik. Dalam <https://promkes.kemkes.go.id/content/?p=880>. Diakses 21/10/2020 11:42
- Kemkes RI. 2019. Definisi Aktivitas Fisik dan Kategorinya. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/apa-definisi-aktivitas-fisik>. Diakses 22/10/2020 11:30
- Kemkes RI. 2019. Hari Hipertensi. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/kegiatan-p2ptm/dki-jakarta/hari-hipertensi-dunia-2019-know-your-number-kendalikan-tekanan-darahmu-dengan-cerdik>. Diakses 20/02/2021 21.15
- Kemkes RI. 2020. Siapa Yang Beresiko Mengidap Diabetes Tipe 2 dan Prediabetes. Dalam <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/penyakit-diabetes-melitus/siapa-yang-berisiko-mengidap-diabetes-tipe-2-dan-prediabetes>. Diakses 12/10/2020 12:33
- WHO. 2010. *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. Geneva: WHO

WHO. 2020. Noncommunicable Diseases. Dalam [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/noncommunicablediseases#:~:text=The%20main%20types%20of%20NCDs,disease%20and%20asthma\)%20and%20diabetes](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/noncommunicablediseases#:~:text=The%20main%20types%20of%20NCDs,disease%20and%20asthma)%20and%20diabetes). Diakses 16/11/2020. 19:53

# Karakteristik Kurva Aktivitas Agregasi Trombosit Menggunakan Agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) pada Penderita Neuropati Diabetik Perifer

Citra Amaniah Anhar

STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Jl. By Pass Krian KM 33, Sidoarjo, Indonesia;  
citrania.anhar@gmail.com

## ABSTRACT

**Introduction:** *Peripheral Diabetic Neuropathy (PDN)* is the most common complication of *Diabetes Mellitus*. PDN occurs due to endoneural vascular dysfunction—influenced by the increased of platelet aggregation. Platelet aggregation was measured by contact between Platelet Rich Plasma (PRP) with an agonist, for example Adenosine Diphosphate (ADP). **The aim** of this study was to analyze the characteristics of the platelet aggregation activity curve using Adenosine Diphosphate agonists with concentrations of 10, 5, 2, 1  $\mu\text{M}$  in patients with PDN. **Methods:** This study was conducted from October 2019 to December 2020 using consecutive sampling methods. The samples were patients at the age around 40-65 years old and has been confirmed to have PDN by a neurologist. Data from 85 patients we observed the value of the amplitude, slope of the mean (x), standard deviation (SD), coefficient variation (CV), and the interpretation of the results of each ADP agonist concentration of 1, 2, 5, and 10  $\mu\text{M}$ . **Results:** The maximal amplitude percentage of ADP 10, 5, 2 and 1  $\mu\text{M}$  concentration was 127%, 114%, 112%, 109% respectively. Slope values of ADP 10, 5, 2 and 1  $\mu\text{M}$  concentration was 147, 126, 117, 112 respectively. **Conclusion:** The curve of platelet aggregation activity using ADP agonists with concentrations of 1, 2, 5, and 10  $\mu\text{M}$  in PDN patients obtained 4 curves with no aggregation, hypoaggregation, normoaggregation, and hyperaggregation

**Keyword :** PDN, Platelet Aggregation Activity, ADP agonist

## INTRODUCTION

Diabetes Mellitus merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat kelainan pada sekresi insulin serta menjadi salah satu penyebab kematian di dunia<sup>(1)</sup>. Sebanyak 43% kematian disebabkan karena tingginya kadar glukosa darah terjadi pada usia dibawah 70 tahun. Peningkatan kejadian diabetes melitus yang terjadi di Indonesia, menurut data konsensus Perkeni tahun 2015 dalam Riskesdas 2018, jumlah penderita diabetes di Indonesia mencapai 9,1 juta orang dengan adanya peningkatan proporsi pada penduduk umur  $\geq 15$  tahun dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 10,9% pada tahun 2018<sup>(2)</sup>. Mayoritas penderita diabetes melitus tidak menyadari dengan adanya gejala yang diderita hingga penderita tersebut mengalami komplikasi. Diabetes dan komplikasinya dengan cepat menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas yang paling signifikan di dunia<sup>(3,4)</sup>.

Salah satu komplikasi dari DM yang paling sering terjadi dan dapat memperburuk kualitas hidup adalah neuropati diabetik perifer. Neuropati diabetik perifer merupakan kerusakan saraf yang bersifat fokal atau difus akibat keadaan kadar glukosa darah yang sangat berlebihan<sup>(5)</sup>. *The International Neuropathy Guidelines* mendefinisikan neuropati perifer pada penderita DM adalah sebagai adanya gejala atau tanda – tanda dari disfungsi saraf perifer pada pasien DM setelah eksklusi atau sebab lain<sup>(6)</sup>. Pada penderita neuropati diabetik perifer ditemukan adanya disfungsi vaskuler endoneural yang dipengaruhi oleh aktivitas trombosit dengan adanya peningkatan agregasi trombosit<sup>(7)</sup>.

Agregasi trombosit adalah perlekatan antar sesama trombosit. Agregasi trombosit dapat terjadi melalui jalur sekresi ADP dan pembentukan Tromboksan A<sub>2</sub>. Permulaan agregasi trombosit diawali dengan reseptor trombosit, *glycoprotein* (GP) IIb/IIIa sebagai interaksi utama pembentukan *platelet-rich thrombus* (PRT)<sup>(8)</sup>. Pada penderita diabetes melitus (DM) terjadi penurunan waktu hidup trombosit dan peningkatan pergantian trombosit. Ketika pergantian trombosit meningkat, terjadi peningkatan ukuran trombosit yang lebih besar dan reaktif pada proses hemostasis yang memproduksi tromboksan A<sub>2</sub><sup>(9)</sup>. Peningkatan dari produksi tromboksan merupakan pemicu terjadinya agregasi trombosit. Agregasi trombosit diukur melalui kontak antara *Platelet Rich Plasma* (PRP) dengan suatu zat penginduksi agregasi atau yang dikenal sebagai agonis<sup>(10)</sup>. Bahan-bahan penginduksi agregasi (agonis) yang paling sering digunakan adalah *Adenosine Diphosphate* (ADP), kolagen, epinefrin, ristocetin, thrombin, dan asam arakidonat<sup>(8)</sup>. Namun banyak penelitian menggunakan



agonis ADP dengan berbagai konsentrasi karena agonis ADP merupakan agonis yang dapat menghasilkan agregasi primer (gelombang pertama) dan agregasi sekunder (gelombang kedua) secara langsung dan menyebabkan agregasi trombosit menjadi lebih stabil melalui interaksi langsung dengan reseptor spesifik (P2Y1 dan P2Y12). Kadar agonis ADP yang sering dipakai adalah pada konsentrasi 1 – 10  $\mu\text{M}$  dengan uji ketelitian (%CV) yang telah diteliti adalah pada 1, 2, 5, dan 10  $\mu\text{M}$  adalah sebesar 9,8%; 4,8%; 13,2%; dan 12,1%<sup>(11)</sup>.

Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti tertarik untuk menganalisa karakteristik kurva aktivitas agregasi trombosit menggunakan agonis *Adenosine Diphosphate* dengan konsentrasi 1, 2, 5, 10  $\mu\text{M}$  pada penderita neuropati diabetik perifer.

## METHODS

Penelitian ini merupakan penelitian dengan rancangan *cross sectional*. Subjek adalah penderita Neuropati Diabetik Perifer (NDP) di Surabaya yang dipilih menurut kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

Kriteria inklusi yaitu :

1. Laki – laki dan wanita yang memiliki usia 40 – 65 tahun
2. Penderita yang telah dikonfirmasi mengalami Neuropati Diabetik Perifer oleh dokter spesialis neurologi
3. Penderita dalam keadaan baik, kooperatif, dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed – consent* ikut serta dalam penelitian)

Kriteria eksklusi :

1. Penderita yang mengalami penyakit ginjal kronis, hati kronis, HIV/AIDS, dan kanker.
2. Wanita yang telah mengalami menopause
3. Sedang terapi heparin serta mengkonsumsi obat-obatan seperti aspirin, anti retroviral, anti platelet, kemoterapi, allupurinol, dan esterogen).

Penentuan besar sampel menggunakan rumus Lemeshow sehingga didapatkan 85 orang yang dipakai dalam penelitian ini dan diambil secara *purposive sampling* (semua subjek yang datang dan memenuhi kriteria inklusi akan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi) di poli syaraf dari beberapa rumah sakit yang ada di Surabaya. Variabel dalam penelitian ini ada dua yaitu ada variabel bebasnya berupa aktivitas agregasi trombosit dengan agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) dan variabel terikatnya berupa konsentrasi agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP).

Alat yang digunakan penelitian ini adalah 1 set agregometer *Chrono-Log* model 490, mikropipet, tabung vakum dengan antikoagulan sitrat, *stopwatch*, tisu, *disposable tipe*, *stir bar*, kuvet, dan sentrifuge. Bahan yang digunakan adalah larutan NaCl 0,9% steril, 2,5 mg ADP *lyophilized* dari *Chrono-Log Corporation*. Sampel pemeriksaannya menggunakan bahan berupa PRP (*Platelet Rich Plasma*) dan PPP (*Platelet Poor Plasma*).

Pemeriksaan aktivitas agregasi trombosit dilakukan di Laboratorium Kedungdoro yang dilaksanakan mulai bulan Oktober 2019 sampai Desember 2020, dalam proses pemeriksaannya menggunakan metode turbidimetrik dengan prinsip pemeriksaannya adalah didasarkan pada perubahan transmisi cahaya. Sebelum penambahan *platelet agonist* (agregator), transmisi cahaya melalui *Platelet Rich Plasma* (PRP) rendah karena trombosit masih tersuspensi homogen dalam *Platelet Rich Plasma* (PRP). Setelah penambahan *agonist*, maka trombosit akan mengalami agregasi kemudian agregat trombosit tersebut mengendap, sehingga plasmamenjadi jernih akibatnya transmisi cahaya dapat meningkat. Peningkatan transmisi cahaya diukur dengan alat agregometer *Chrono-Log* model 490.

Analisa data menggunakan uji ketelitian *within run* dilakukan dengan memeriksa agregasi trombosit dengan agonis ADP dengan konsentrasi 1, 2, 5, dan 10 mM. Hal yang diamati pada aktivitas agregasi trombosit adalah nilai *amplitude*, *slope* yang dihitung nilai rerata ( $\bar{x}$ ), *standar deviation* (SD), dan *coefficient variation* (CV), dan interpretasi hasil dari masing – masing konsentrasi.

## RESULTS & DISCUSSION

### Karakteristik Penderita Neuropati Diabetik Perifer (NDP)

Karakteristik responden berdasarkan kelompok umur dibagi menjadi 2 kelompok umur yaitu umur <53 tahun dan >53 tahun. Karakteristik responden berdasarkan usia sebagian besar adalah berumur >53 tahun sebanyak 56 orang (66%). Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin sebagian besar adalah berjenis kelamin perempuan sebanyak 62 orang (73%). Karakteristik responden berdasarkan jenis pekerjaan sebagian besar adalah ibu rumah tangga sebanyak 27 orang (32%). Karakteristik responden berdasarkan tingkat pendidikan sebagian besar adalah tamatan SMA sebanyak 47 orang (55%). Karakteristik responden berdasarkan daerah domisili subjek penderita sebagian besar adalah berasal dari surabaya pusat sebanyak 37 orang (44%). Karakteristik responden berdasarkan riwayat hipertensi sebagian besar adalah memiliki hipertensi sebanyak 54 orang (63%). Karakteristik responden berdasarkan lama menderita diabetes melitus tipe 2 sebagian besar adalah > 5 tahun sebanyak 68 orang (80%) (**Tabel 1**)

**Tabel 1.** Karakteristik Penderita Neuropati Diabetik Perifer (NDP)

| Karakteristik                 | Total |    |
|-------------------------------|-------|----|
|                               | N     | %  |
| <b>Usia</b>                   |       |    |
| ≤ 53 tahun                    | 29    | 34 |
| > 53 tahun                    | 56    | 66 |
| <b>Jenis Kelamin</b>          |       |    |
| Laki-laki                     | 23    | 27 |
| Perempuan                     | 62    | 73 |
| <b>Jenis Pekerjaan</b>        |       |    |
| Pegawai Swasta                | 13    | 15 |
| Wiraswasta                    | 25    | 29 |
| Pensiunan                     | 11    | 13 |
| Ibu Rumah Tangga              | 27    | 32 |
| Tidak Bekerja                 | 9     | 11 |
| <b>Tingkat Pendidikan</b>     |       |    |
| SD                            | 0     | 0  |
| SMP                           | 17    | 20 |
| SMA                           | 47    | 55 |
| Perguruan Tinggi              | 21    | 25 |
| <b>Daerah Domisili Subjek</b> |       |    |
| Surabaya Pusat                | 37    | 44 |
| Surabaya Timur                | 19    | 22 |
| Surabaya Utara                | 16    | 19 |
| Surabaya Barat                | 8     | 9  |
| Surabaya Selatan              | 5     | 6  |
| <b>Riwayat Hipertensi</b>     |       |    |
| Normal                        | 31    | 37 |
| Hipertensi                    | 54    | 63 |
| <b>Lama Menderita</b>         |       |    |
| ≤ 5 tahun                     | 17    | 20 |
| > 5 tahun                     | 68    | 80 |

### Aktivitas Agregasi Trombosit dengan Agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) pada Penderita Neuropati Diabetik Perifer (NDP)

Aktivitas agregasi trombosit dengan agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) diketahui dengan dilakukan Tes Agregasi Trombosit (TAT). Pada grafik hasil TAT dapat dianalisa bahwa untuk melihat aktivitas agregasi trombositnya melalui tiga hal yaitu *amplitude*, *slope*, dan interpretasi hasil. Dalam penelitian ini digunakan 4 macam konsentrasi agonis ADP, yaitu 10 uM, 5 uM, 2 uM, dan 1 uM. *Amplitude* merupakan simpangan terjauh dari titik keseimbangan dalam grafik yang terbentuk oleh aktivitas agregasi trombosit penderita NDP dan dilaporkannya dalam bentuk persentase. Pada konsentrasi agonis tertinggi yaitu 10 uM memiliki persentase *amplitude* tertinggi yaitu 127 % dengan mean ± SD nya sebesar 81,376% ± 27,019%. Selain itu, aktivitas agregasi trombosit pada penderita NDP dengan menggunakan konsentrasi agonis terendah yaitu 1 uM masih ditemukan persentase *amplitude* sebesar 109% dengan mean ± SD nya sebesar 22,376% ± 29,712% . Selain *amplitude*, juga ada nilai *slope* yang ditemukan pada grafik tes agregasi trombosit. *Slope* adalah kemiringan grafik yang dihasilkan oleh perbandingan antara sumbu x (waktu) dan sumbu y (%*amplitude*) pada sebuah grafik hasil Tes Agregasi Trombosit. Pada konsentrasi agonis tertinggi yaitu 10 uM memiliki nilai *slope* tertinggi yaitu 147 dengan mean ± SD nya sebesar 97,624 ± 25,264. Selain itu, aktivitas agregasi trombosit pada penderita NDP dengan menggunakan konsentrasi agonis terendah yaitu 1 uM masih ditemukan nilai *slope* sebesar 112 dengan mean ± SD nya sebesar 30,424 ± 24,803 (**Tabel 2**).

Pada konsentrasi agonis 10 uM, didapatkan 3 hasil interpretasi yaitu hiperagregasi (60%), normoagregasi (30,6%), dan hipoagregasi (9,4%). Pada konsentrasi agonis 5 uM, didapatkan 4 hasil yaitu hiperagregasi (41,2%), normoagregasi (41,2%), hipoagregasi (15,3%), dan tidak ada agregasi (2,3%). Pada konsentrasi agonis 2 uM, didapatkan 4 hasil yaitu hiperagregasi (28,2%), normoagregasi (41,2%), hipoagregasi (22,4%), dan tidak ada agregasi (8,2%). Pada konsentrasi agonis 1 uM, didapatkan 4 hasil yaitu

hiperagregasi (5,9%), normoagregasi (30,6%), hipoagregasi (21,2%), dan tidak ada agregasi (42,3%) (Tabel 3).

Persentase *amplitude* yang muncul pada grafik tes agregasi trombosit merupakan penentu terkuat dalam menginterpretasikan hasilnya. Ditemukan empat interpretasi hasil berdasarkan persentase *amplitude* nya, jika *amplitude* mengalami kenaikan terus maka hal itu diinterpretasikan hasilnya sebagai hiperagregasi (Gambar 1a.), jika *amplitude* mengalami kenaikan di awal kemudian grafiknya mendatar secara konstan maka hal itu diinterpretasikan hasilnya sebagai normoagregasi (Gambar 1b.), jika *amplitude* mengalami kenaikan di awal kemudian grafiknya menurun secara drastis maka hal itu diinterpretasikan hasilnya sebagai hipoagregasi (Gambar 1c.), jika *amplitude* mengalami tidak mengalami kenaikan sama sekali dari awal reaksi maka hal itu diinterpretasikan hasilnya sebagai tidak ada agregasi (Gambar 1d.).

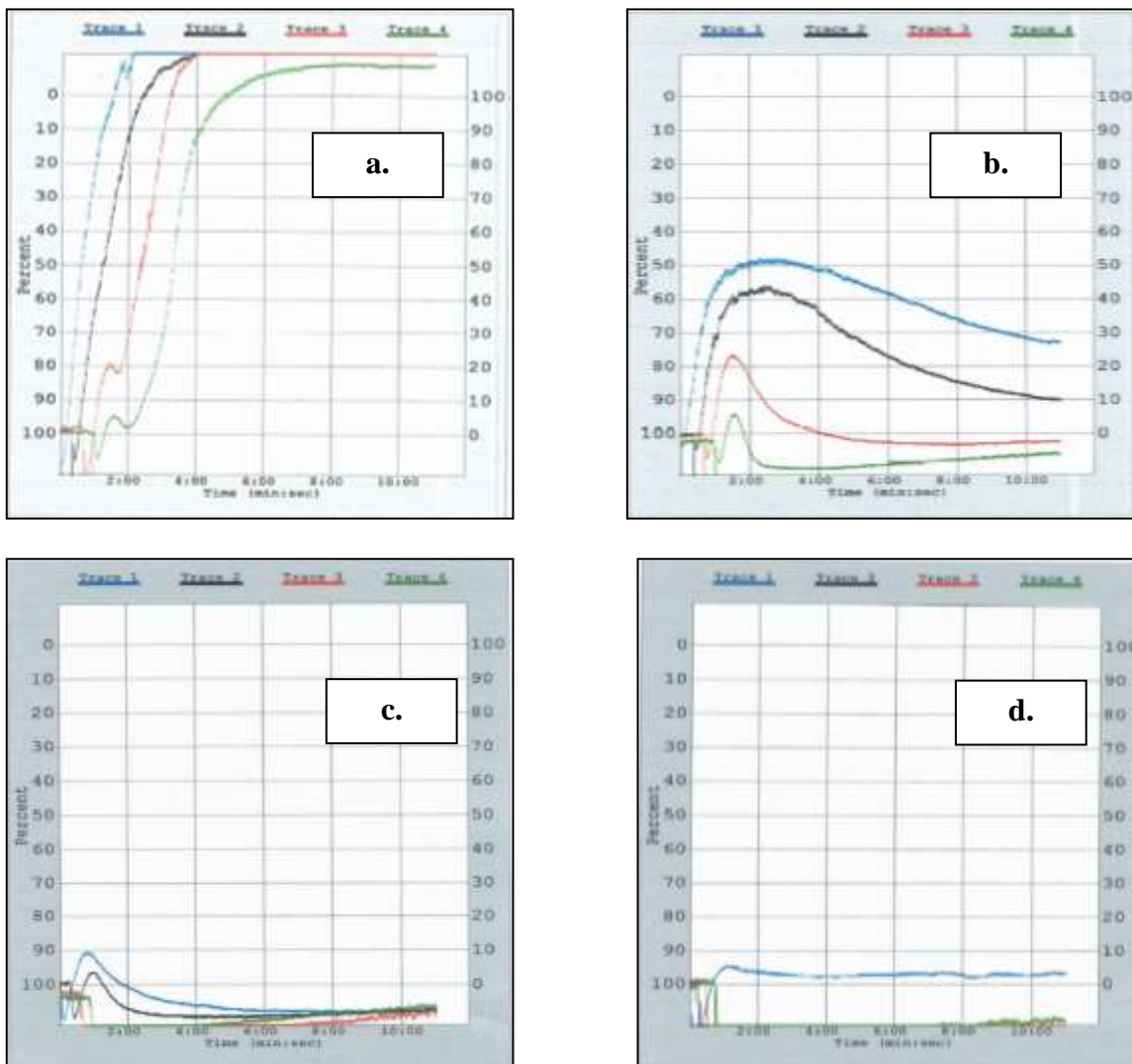
**Tabel 2.** Aktivitas Agregasi Trombosit dengan Agonis ADP pada Penderita NDP

| Variabel             | Mean ± SD       | Median<br>(min – max ) |
|----------------------|-----------------|------------------------|
| <i>Amplitude (%)</i> |                 |                        |
| Agonis ADP 10 uM     | 81,376 ± 27,019 | 90<br>(6 – 127)        |
| Agonis ADP 5 uM      | 65,447 ± 29,684 | 69<br>(0 – 114)        |
| Agonis ADP 2 uM      | 48,718 ± 33,287 | 52<br>(0 – 112)        |
| Agonis ADP 1 uM      | 22,376 ± 29,712 | 2<br>(0 – 109)         |
| <i>Slope</i>         |                 |                        |
| Agonis ADP 10 uM     | 97,624 ± 25,264 | 99<br>(22 – 147)       |
| Agonis ADP 5 uM      | 80,165 ± 25,096 | 85<br>(0 – 126)        |
| Agonis ADP 2 uM      | 63,635 ± 28,246 | 68<br>(0 – 117)        |
| Agonis ADP 1 uM      | 32,247 ± 30,645 | 17<br>(0 – 112)        |

**Tabel 3.** Interpretasi Derajat Aktivitas Agregasi Trombosit dengan Agonis ADP pada Penderita NDP

| Variabel                | Total |      |
|-------------------------|-------|------|
|                         | N     | %    |
| <b>Agonis ADP 10 uM</b> |       |      |
| Tidak Ada Agregasi      | 0     | 0    |
| Hipoagregasi            | 8     | 9,4  |
| Normoagregasi           | 26    | 30,6 |
| Hiperagregasi           | 51    | 60   |
| <b>Agonis ADP 5 uM</b>  |       |      |
| Tidak Ada Agregasi      | 2     | 2,3  |
| Hipoagregasi            | 13    | 15,3 |
| Normoagregasi           | 35    | 41,2 |
| Hiperagregasi           | 35    | 41,2 |
| <b>Agonis ADP 2 uM</b>  |       |      |
| Tidak Ada Agregasi      | 7     | 8,2  |
| Hipoagregasi            | 19    | 22,4 |
| Normoagregasi           | 35    | 41,2 |
| Hiperagregasi           | 24    | 28,2 |
| <b>Agonis ADP 1 uM</b>  |       |      |
| Tidak Ada Agregasi      | 36    | 42,3 |
| Hipoagregasi            | 18    | 21,2 |
| Normoagregasi           | 26    | 30,6 |
| Hiperagregasi           | 5     | 5,9  |

**Gambar 1.** Aktivitas Agregasi Trombosit dengan Agonis ADP pada Penderita NDP



**Keterangan Gambar:**

- a. Hiperagregasi
- b. Normoagregasi
- c. Hipoagregasi
- d. Tidak ada agregasi

Aktivitas agregasi trombosit merupakan aktivitas reaksi trombosit berupa perlekatan sesama trombosit yang akan membentuk sumbat mekanik selama respon terhadap cedera vaskular<sup>(12)</sup>. Subjek penelitian ini merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan peningkatan agregasi trombosit, sebanyak 60% yang mengalami hiperagregasi. Peningkatan aktivitas agregasi trombosit ini diakibatkan gangguan ikatan trombosit dengan fibrinogen dan faktor von Willebrand. Selain itu juga disebabkan adanya pelepasan zat perangsang aktivitas trombosit (agonis trombosit). Aktivasi trombosit yang diinduksi agonis mengubah kompleks integrin dalam keadaan afinitas tinggi melalui serangkaian peristiwa pensinyalan yang disebut pensinyalan dalam-luar yang berpuncak pada peningkatan afinitas tinggi pada GPIIb / IIIa<sup>(14)</sup>.

Komplikasi diabetes melitus sering dikaitkan dengan peningkatan resiko penyakit vaskular atau yang dikenal dengan neuropati diabetik perifer. Hal tersebut ditunjukkan melalui peningkatan reaktivitas dan aktivasi dasar trombosit, sehingga meningkatkan kejadian seperti trombotik karena ruptur plak aterosklerotik. Pecahnya plak aterosklerotik memperlihatkan material subendotel, memicu aktivasi platelet yang memulai kaskade koagulasi dan pembentukan trombus. Trombosit pada pasien dengan DM tipe 2 menunjukkan jalur pensinyalan yang tidak teratur dengan hiperaktivasi trombosit dan oleh hiperglikemia kronis dan akut melalui peningkatan kadar protein kinase C<sup>(15)</sup>. Peningkatan interaksi yang diinduksi hiperglikemi akan membuat membran permukaan dari platelet pada pasien dengan DM menurunkan fluiditas

membran dan meningkatkan sensitivitas platelet terhadap agonis<sup>(16)</sup>. Reseptor agonis permukaan platelet (P2Y12) dan target dari agen antiplatelet thienopyridine juga telah terbukti meningkat pada platelet pada pasien dengan DM karena perubahan dinamika fluiditas membran, sehingga membuat pasien DM tersebut berkomplikasi menjadi Neuropati Diabetik Perifer<sup>(17)</sup>.

Pemeriksaan laboratorium tentang aktivitas trombosit lebih dikenal dengan Tes Agregasi Trombosit (TAT) yang diukur melalui reaksi antara *Platelet Rich Plasma* (PRP) dengan suatu zat penginduksi agregasi (agonis)<sup>(10)</sup>. Pada penelitian ini, menggunakan agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) dengan berbagai variabel. Hal ini bertujuan agar dapat menghasilkan agregasi primer (gelombang pertama) dan agregasi sekunder (gelombang kedua) secara langsung dan menyebabkan agregasi trombosit menjadi lebih stabil karena berinteraksi langsung dengan reseptor spesifiknya yaitu P2Y1 dan P2Y12<sup>(11)</sup>.

Pemeriksaan TAT pada penelitian ini menggunakan metode turbidimetrik yang didasarkan pada perubahan transmisi cahaya dengan alatnya berupa Agregator Chrono-Log model 490 dengan prinsipnya adalah agregasi dikuantifikasi dengan menentukan perubahan PRP yang keruh menjadi jernih akibat dari pembentukan suspensi yang merata pada trombosit membentuk agregat berupa gumpalan besar yang kurang memendarkan cahaya sehingga mempermudah transmisi sinar melalui tabung untuk dibaca dengan alat agregator. Pembentukan agregat tersebut akan semakin nampak peningkatan transmisi cahaya setelah penambahan agonis<sup>(10)</sup>.

Hasil pemeriksaan TAT disajikan dalam bentuk kurva yang menggambarkan perubahan transmisi cahaya (*amplitude*) dan kemiringan kurva (*slope*) yang dihitungkan dengan membagi jarak dari *baseline* ke agregasi maksimal dengan jarak dari *baseline* ke agregasi 100%. Untuk penginterpretasian derajat aktivitas agregasi trombosit dapat dilakukan dengan menganalisis bentuk kurva agregasi trombosit yaitu dengan menghitung presentase transmisi cahaya maksimal dan kenaikan kemiringan kurva. Kemudian hasilnya diinterpretasikan menjadi 4 jenis yaitu tidak ada agregasi, hipoagregasi, normoagregasi, dan hiperagregasi<sup>(18)</sup>.

Pola pembentukan agregasi trombosit dikenal respon primer terhadap penambahan agonis eksogen seperti ADP yang disebut dengan gelombang agregasi primer. Kemudian akan banyak trombosit yang terlibat terutama pelepasan mediator – mediator adenine nukleotida yang terdapat dalam granula padat trombosit, yang disebut sebagai respon sekunder dan membentuk gelombang agregasi sekunder yang bersifat *irreversible*<sup>(19)</sup>. Kemudian dari penggunaan ADP sebagai agonis yang dapat membentuk gelombang primer dan sekunder akan dapat berujung terbentuk pola kurva yang dapat diinterpretasikan seperti berikut yaitu apabila kadar ADP yang digunakan rendah akan timbul agregasi kemudian diikuti dengan deagregasi. Bila kadar ADP nya ditingkatkan, maka akan menghasilkan agregasi bersifat ireversibel dengan bentuk kurva yang bifasik. Hal ini terjadi karena proses agregasi primer yang disebabkan oleh ADP eksogen kemudian diikuti oleh agregasi sekunder yang disebabkan oleh pelepasan ADP endogen dari trombosit. Sedangkan pada agonis ADP dengan kadar yang lebih tinggi lagi akan diperoleh kurva yang monofasik, karena gelombang primer dan sekunder menjadi satu<sup>(7)</sup>.

Pada subjek penderita neuropati diabetik perifer ini, ditemukan empat jenis aktivitas agregasi trombosit berdasarkan dari hasil TAT dengan menggunakan agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) 10 uM, 5 uM, 2 uM, dan 1 uM.. Yang pertama adalah tidak ada agregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 0% dan nilai *sloponya* 0 – 10. Hal ini terjadi karena ketika pemberian agonis ADP tidak timbul agregasi atau langsung terjadi deagregasi, sehingga tidak ada transmisi cahaya yang diterima dan nilai *slope* hanya berdasarkan dari waktu yang diperlukan selama pengerjaan sampel yaitu 10. Yang kedua adalah hipoagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 2 – 28 % dan nilai *sloponya* 12 – 54. Hal ini terjadi karena ketika pemberian agonis ADP terbentuk agregasi primer selama 1-2 menit yang kemudian diikuti dengan deagregasi. Yang ketiga adalah normoagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 32 – 75 % dan nilai *sloponya* 55 – 94. Hal ini terjadi karena ketika pemberian agonis ADP terbentuk agregasi primer sedikit lebih lama dari hipoagregasi yaitu selama 2-4 menit yang kemudian diikuti dengan deagregasi. Yang keempat adalah hiperagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 81 – 127 % dan nilai *sloponya* 101 – 147. Hal ini terjadi karena ketika pemberian agonis ADP terbentuk agregasi primer yang lanjut dilanjut oleh pembentukan agregasi sekunder sehingga terbentuk kurva monofasik karena gelombang primer dan sekunder menjadi satu.

Pada penggunaan ADP kadar rendah (1 – 3 uM) dapat menghasilkan kurva monofasik maupun bifasik. Timbulnya kurva bifasik dapat terjadi pada kadar yang rendah karena adanya ikatan fibrinogen yang biasanya bersifat *reversible*, adanya disagregasi trombosit, dan penggunaan obat seperti aspirin dan anti inflamasi yang akan menghambat respon agregasi pada agonis ADP kadar rendah melalui hambatan jalur sikooksigenase dan pelepasan isi granula<sup>(20)</sup>. Seseorang yang mengkonsumsi obat aspirin atau inflamasi, pada ADP kadar rendah hasilnya akan nampak tidak ada agregasi, maka dari itu diperlukan penggunaan agonis ADP dengan kadar yang lebih tinggi (10 uM), yang nantinya akan dapat memunculkan gelombang primer dan sekunder atau membentuk kurva bifasik. Sebaliknya, bagi seseorang yang mengalami komplikasi DM Tipe 2 pada subjek penelitian ini, dengan menggunakan agonis terendah akan muncul kurva monofasik.

Munculnya kurva monofasik pada kasus komplikasi DM Tipe 2 menunjukkan bahwa aktivitas agregasi trombositnya mengalami peningkatan (hiperagregasi) sebenarnya pada kurvanya masih dianggap sebagai respon bifasik karena terjadi pelepasan ADP endogen tetapi tidak tampak pada kurva, sehingga akan nampak kurvanya berupa kurva monofasik<sup>(20)</sup>.

Hal ini sesuai dengan (**Tabel 2**), pada agonis terendah (1 uM) ditemukan sebanyak 42,3% hasil kurva pada subjek tidak ada agregasi, tapi saat konsentrasi ADP dinaikkan sedikit menjadi 2 uM, maka kurva yang menunjukkan tidak ada agregasi memiliki presentase 8,2%. Hal ini sesuai dengan penelitian<sup>(11)</sup>, agonis ADP kadar 1 uM memiliki nilai CV 9,8% dan pada kadar 2 uM 4,8%. Pada agonis kecil (ADP 2 uM), telah menggambarkan keadaan pada subjek penelitian ini yaitu ditemukan aktivitas hiperagregasi dengan presentase 28,2%. Kemudian dibuktikan dengan penggunaan ADP yang lebih tinggi (10 uM) untuk membuktikan bahwa ikatan fibrinogen nya bersifat *irreversible* dan trombosit sudah tidak terjadi disagregasi lagi, maka hasilnya ditemukan 60% mengalami hiperagregasi.

## CONCLUSION

Kurva aktivitas agregasi trombosit menggunakan agonis *Adenosine Diphosphate* (ADP) dengan konsentrasi 1, 2, 5, dan 10 uM pada penderita Neuropati Diabetik Perifer (NDP) didapatkan 4 buah bentuk kurva yaitu tidak ada agregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 0% dan nilai *slopenya* 0 – 10 ; hipoagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 2 – 28 % dan nilai *slopenya* 12 – 54 ; normoagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 32 – 75 % dan nilai *slopenya* 55 – 94 ; dan hiperagregasi dengan presentase transmisi cahayanya (*amplitude*) 81 – 127 % dan nilai *slopenya* 101 – 147.

## REFERENCES

- American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes—2016 : Summary of Revisions. *Diabetes Care*. 2016;39(Supplement 1):S4–5.
- Riskedas. Hasil utama riskedas 2018. Jakarta Kemenkes RI. 2018;
- Forbes JM, Soldatos G, Thomas MC. Below the Radar: Advanced Glycation End Products that Detour “around the side”: Is HbA1c not an accurate enough predictor of long term progression and glycaemic control in diabetes? *Clin Biochem Rev Assoc Clin Biochem*. 2005;26(4):123.
- Jang C, Lim JH, Park CW, Cho Y-J. Regulator of calcineurin 1 isoform 4 (RCAN1. 4) Is overexpressed in the glomeruli of diabetic mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2011;15(5):299–305.
- Kuate-Tegueu C, Temfack E, Ngankou S, Doumbe J, Djientcheu VP, Kengne AP. Prevalence and determinants of diabetic polyneuropathy in a sub-Saharan African referral hospital. *J Neurol Sci*. 2015;355(1–2):108–12.
- Craig AB, Strauss MB, Daniller A, Miller SS. Foot sensation testing in the patient with diabetes: introduction of the quick & easy assessment tool. *Wounds a Compend Clin Res Pract*. 2014;26(8):221–31.
- Güven FMK, Yilmaz A, Aydin H, Korkmaz I. Platelet aggregation responses in type 2 diabetic patients. *Health (Irvine Calif)*. 2010;2(07):708.
- Hoffband A, Moss P, Pettit J. Trombosit, pembekuan darah, dan hemostasis. Dalam: kapita selekta hematologi. 6th ed. EGC, editor. Jakarta: EGC; 2013. 293–298 p.
- Dođru T, Taşçı İ, Naharcı Mİ, Sönmez A, Erdem G, Kiliç S. Mean platelet volume levels in metabolic syndrome. *AJCI*. 2007;1:99–105.
- Ferri FF. Ferri’s Best Test E-Book: A Practical Guide to Laboratory Medicine and Diagnostic Imaging E-Book. Elsevier Health Sciences; 2017.
- Wirawan R. Nilai Rujukan Pemeriksaan Agregasi Trombosit dengan Adenosin Difosfat pada Orang Indonesia Dewasa Normal di Jakarta. *Maj Kedokt Indones*. 2007;57(7):1–8.
- Setiabudy RD. Hemostasis dan Trombosis. Edisi Keen. Setiabudy RD, editor. Jakarta: FK UI; 2018. 319 p.
- Durachim A, Astuti D. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik : Hemostasis. 1st ed. Susilo A, editor. Jakarta: Kemenkes RI; 2018. 190–192 p.
- Koltai K, Kesmarky G, Feher G, Tibold A, Toth K. Platelet aggregometry testing: Molecular mechanisms, techniques and clinical implications. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8):1–21.
- Assert R, Scherk G, Bumbure A, Pirags V, Schatz H, Pfeiffer AFH. Regulation of protein kinase C by short term hyperglycaemia in human platelets in vivo and in vitro. *Diabetologia*. 2001;44(2):188–95.
- Wautier J-L, Schmidt AM. Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res*. 2004;95(3):233–8.
- Ferreira IA, Mocking AIM, Feijge MAH, Gorter G, van Haefen TW, Heemskerk JWM, et al. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(2):417–22.
- Chronolog Corporation. Instruction Manual for the Chrono-Log Platelet Aggregometer [Internet]. 2016.

Available from: <http://www.chronolog.com/Resources/PdfAndPreview/4904-4IMRev6Doc.pdf>  
Michelson AD, Furman MI. Markers of Platelet Activation and Granule Secretion. In: Platelet Function. Springer; 2005. p. 301–14.  
Jarvis GE. Platelet Aggregation. In: Platelets and Megakaryocytes. Springer; 2004. p. 65–76.

# Gambaran Klinis Nilai Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) dan Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) Pada Konsumen Peminum Kopi

Ikke Nanda Amalia<sup>1</sup>, Andreas Putro Ragil Santoso<sup>2</sup>, Nindi Putri Haryanto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya; ikkenandamalia@gmail.com

<sup>2</sup>Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

## ABSTRACT

Coffee is one of the most popular drinks around the world. The increase of the coffee consumption is in line with various health problems that arise. Some of the content in coffee can be an inhibitor where inhibiting the absorption of iron in the body. The purpose of research is to prove the value of erythrocyte index due to coffee consumption. The type of research is cross-sectional descriptive. The results were analyzed and showed that the normal clinical value of MCV while the value of MCH and MCHC increased level. Keywords: Haemoglobin, MCV, MCH, MCHC, Coffee

## INTRODUCTION

Salah satu komoditi terbesar urutan kedua dunia yang banyak diperdagangkan karena potensi dan pasarnya yang sangat besar untuk dikembangkan saat ini ialah kopi (Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2018) dan menjadi salah satu minuman terpopuler dan digemari seluruh dunia (Ilham, et al., 2019). Sebagai salah satu negara berkembang, Indonesia tak hanya menjadi produsen dan supplier utama kopi dunia, namun sekaligus menjadi konsumen paling penting dari komoditas kopi dan menempati urutan ketujuh di dunia (Fariadi & Saputra, 2019). Berdasarkan data yang dihimpun dari Asosiasi Eksportir dan Industri Kopi Indonesia (AEKI), angka konsumsi kopi telah meningkat dari tahun ke tahun, hingga mencapai puncaknya di tahun 2015 pertahunnya dari 1.09 kg/kapita menjadi 1.15 kg/kapita di tahun 2016 (Warni, et al., 2020). Meningkatnya angka kebutuhan konsumsi kopi tersebut ternyata sejalan dengan berbagai macam masalah kesehatan yang timbul karena kandungan zat kimiawi yang terdapat di dalam kopi (Assegaf, et al., 2021).

Kopi mengandung berbagai macam komponen kimiawi yang dapat menguntungkan maupun merugikan kesehatan tubuh. Pada dosis rendah, konsumsi kafein dalam kopi dapat memberikan sumber energi untuk meningkatkan aktivitas (Maulidia & Jatmiko, 2021). Namun, kandungan kafein pada kopi juga memberikan efek samping, yakni palpitasi, insomnia, nyeri kepala, tremor, gelisah, mual muntah (Fadlilah, 2018). Tak hanya itu, kandungan tanin dan oksalat dalam kopi dikenal sebagai zat inhibitor yang mampu menghambat penyerapan zat besi, sehingga penyediaan zat besi untuk eritropoiesis berkurang, yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap berkurangnya pembentukan hemoglobin dalam darah, dan secara tidak langsung akan memengaruhi kadar hematokrit dan eritrosit dalam darah (Maulidia & Jatmiko, 2021).

Untuk mencerminkan keadaan eritrosit dalam darah pada konsumen peminum kopi, maka indikator pemeriksaan yang dapat digunakan untuk menentukan ukuran eritrosit dan konsentrasi hemoglobin dalam eritrosit melalui penentuan nilai indeks eritrosit. Pemeriksaan ini digunakan untuk menentukan ukuran eritrosit dan konsentrasi hemoglobin dalam eritrosit. Pemeriksaan indeks eritrosit ini meliputi Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH) dan Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC) (Nugraha, 2017). Nilai MCV bisa menurun apabila ukuran eritrosit lebih kecil dari biasanya (mikrositik) seperti pada anemia defisiensi zat besi (Novilla, et al., 2020).

Meskipun kopi seringkali dikaitkan dengan sejumlah faktor risiko dari berbagai penyakit, namun beberapa hasil studi epidemiologi mengenai efek konsumsi kopi terhadap kesehatan tubuh masih belum konsisten (Setiawan, et al., 2019). Salah satunya ialah melalui penelitian mengenai pengaruh kopi terhadap parameter darah pada tikus putih galur wistar diabetik yang diinduksi aloksan oleh Maulidia dan Jatmiko (2021) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok pada kadar hemoglobin dan ulkus tidak terlihat pada organ lambung sehingga kadar hemoglobin tidak mengalami penurunan yang signifikan.

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian mengenai gambaran nilai MCV, MCH dan MCHC pada konsumen peminum kopi perlu untuk dianalisis, untuk membuktikan adanya gambaran nyata mengenai kandungan kopi yang dapat menghambat proses absorpsi zat besi hingga menyebabkan berkurangnya pembentukan hemoglobin yang secara tidak langsung memengaruhi hasil nilai dari indeks eritrosit.



## METHODS

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif cross-sectional untuk melihat gambaran nilai indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) pada konsumen peminum kopi. Sampel penelitian yakni konsumen peminum kopi di daerah Pulosari Surabaya. Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pemeriksaan laboratorium indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) yang dianalisis melalui hasil pemeriksaan darah lengkap (DL) menggunakan alat Hematology Analyzer Sysmex XP 100 di Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya.

## RESULTS

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, berikut merupakan karakteristik sampel yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata Karakteristik Sampel Penelitian Konsumen Peminum Kopi

| Parameter Pemeriksaan | Batas Bawah | Batas Atas | Mean    | Standar Deviasi |
|-----------------------|-------------|------------|---------|-----------------|
| MCV                   | 60,9 fL     | 92 fL      | 85 fL   | 5,9             |
| MCH                   | 19,8 pg     | 33,9 pg    | 30,7 pg | 2,7             |
| MCHC                  | 32,4 %      | 38,3%      | 36,1 %  | 1,3             |

Berikut merupakan presentase data hasil pemeriksaan indeks eritrosit pada konsumen peminum kopi yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Presentase Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit Konsumen Peminum Kopi

| Parameter Pemeriksaan | Normal (%) | Penurunan Kadar (%) | Peningkatan Kadar (%) |
|-----------------------|------------|---------------------|-----------------------|
| MCV                   | 82%        | 12%                 | 6%                    |
| MCH                   | 36%        | 9%                  | 55%                   |
| MCHC                  | 48%        | 0%                  | 52%                   |

## DISCUSSION

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh hasil karakteristik sampel pada pengukuran parameter indeks eritrosit yang menunjukkan bahwa nilai rerata MCV, MCH, MCHC didapatkan hasil normal yakni 85 fl, 30,7 pg dan 36,1%. Pada data hasil pemeriksaan indeks eritrosit, MCV memiliki presentase normal sebesar 82% dan MCH, MCHC mengalami peningkatan kadar sebesar 55% dan 52%. Dari hasil tersebut, gambaran klinis indeks eritrosit pada konsumen peminum kopi tidak menunjukkan adanya perubahan yang signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maulidia & Jatmiko (2012) mengenai pengaruh kopi terhadap parameter darah, salah satunya adalah Hemoglobin, yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar hemoglobin antar kelompok. Perubahan kadar hemoglobin baik itu berupa kenaikan atau penurunan, akan memengaruhi kadar hematokrit dan eritrosit. Berdasarkan teori tersebut, apabila kadar hemoglobin tidak berubah secara signifikan, maka kadar hematokrit dan eritrosit juga tidak mengalami perubahan yang bermakna.

Penelitian serupa juga yang dilakukan oleh Fadlilah (2013) mengenai beberapa faktor yang berhubungan dengan kadar hemoglobin pada mahasiswa keperawatan angkatan 2013, yang menunjukkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara konsumsi kafein dengan kadar hemoglobin.

Indeks eritrosit merupakan batasan ukuran dan isi hemoglobin eritrosit. Indeks eritrosit terdiri atas volume atau ukuran eritrosit (MCV), berat eritrosit (MCH), dan konsentrasi eritrosit (MCHC) (Novilla, et al., 2020). Gambaran mengenai ketiga indeks eritrosit ini juga dapat mengindikasikan berbagai keadaan. Nilai MCV dapat menurun apabila ukuran eritrosit lebih kecil dari biasanya (mikrositik) seperti pada anemia karena kekurangan zat besi. Bila nilai indeks eritrosit MCH menurun maka bisa ditemukan dalam keadaan defisiensi besi, thalassemia dan beberapa kasus anemia pada penyakit kronik. Sedangkan nilai MCH menurun, juga dapat menjadi indikator sensitif untuk mendiagnosis defisiensi zat besi (Laloan, et al., 2018). Faktor utama penyebab terjadinya anemia adalah asupan zat besi yang berkurang dalam sel darah merah hemoglobin, hal ini bisa berpengaruh karena gaya hidup seperti minum kopi (Amalia & Tjiptaningrum, 2016).

Minum kopi setelah makan bisa membuat tubuh kehilangan zat besi (Fe) yang berakibat pada anemia. Kandungan zat kimiawi pada kopi seperti tanin dan fitat pada susu ternyata dapat mengikat zat besi sehingga sulit untuk diserap (Assegaf, et al., 2021). Menurut teori, selain tanin dan fitat, kandungan kopi seperti oksalat dapat menurunkan kadar hemoglobin. Hal ini disebabkan oleh adanya zat inhibitor yang dihasilkan oleh senyawa tersebut. Selain itu, ada polifenol yang apabila teroksidasi bersama dengan tanin juga dapat mengakibatkan penyerapan zat besi berkurang (Maulidia & Jatmiko, 2021). Apabila penyerapan zat besi berkurang, maka dapat menurunkan kadar hemoglobin sehingga berpengaruh pada hasil hematokrit dan juga

eritrosit. Namun, penurunan kadar hemoglobin ini tak hanya berasal dari kebiasaan mengonsumsi kopi, tetapi bisa disebabkan oleh faktor lain seperti jenis kelamin, demografis, pola makan, ras, variasi biologis, dan berbagai macam status penyakit yang diderita (Fadlilah, 2018).

### CONCLUSION

Konsumsi kopi menunjukkan gambaran klinis normal pada nilai MCV dan kenaikan kadar pada MCH dan MCHC, sementara itu konsumsi kopi belum menunjukkan gambaran penurunan kadar yang signifikan pada MCV, MCH dan MCHC.

### REFERENCES

- Amalia, A. & Tjiptaningrum, A., 2016. Diagnosis dan Tatalaksana Anemia Defisiensi Besi. *Majority*, 5(5), pp. 166-169.
- Assegaf, H. H., Tseng, S. & Mamlukah, 2021. Korelasi Antara Konsumsi Kopi Dengan Tekanan dan Gula Darah, IMT, HB, Lama Tidur dan Screen Time Barista di Kabupaten Majalengka Tahun 2021. *Journal of Public Health Innovation*, 1(2), pp. 160-170.
- Fadlilah, S., 2018. Faktor-Faktor Yang Berhubungan dengan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Mahasiswa Keperawatan Angkatan 2013 Universitas Respati Yogyakarta. *IJMS*, 5(2), pp. 168-175.
- Fariadi, H. & Saputra, B., 2019. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Konsumsi Kopi Bubuk 1001 Di Kota Bengkulu. *Agritepa*, 6(1), pp. 64-73.
- Ilham, M. I., Haniarti & Usman, 2019. Hubungan Pola Konsumsi Kopi Terhadap Kejadian Gastritis Pada Mahasiswa Muhammadiyah Parepare. *Jurnal Ilmiah Manusia dan Kesehatan*, 2(3), pp. 433-446.
- Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2018. *Specialty Kopi Indonesia*, Jakarta: Warta Ekspor. ,
- Laloan, R. J., Marunduh, S. R. & Sapulete, I. M., 2018. Hubungan Merokok dengan Nilai Indeks Eritrosit (MCV, MCH, MCHC) Pada Mahasiswa Perokok. *Jurnal Medik dan Rehabilitasi*, 1(2), pp. 1-6.
- Maulidia, A. & Jatmiko, S. W., 2021. Pengaruh Kopi Terhadap Parameter Darah Pada Tikus Putih Galur Wistar Diabetik Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 17(1), pp. 35-43.
- Novilla, A., Herawati, I. & Ifan, N., 2020. Skrining Anemia Melalui Pemeriksaan Indeks Eritrosit Dan Sediaan Apus Darah Tepi Pada Remaja Di Madrasah Aliyah Tanjungjaya Kabupaten Bandung Barat. Cimahi, Stikes Jenderal A. Yani Cimahi.
- Nugraha, G., 2017. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Setiawan, I. W. A., Merta, I. W. & Sudarmanto, I. G., 2019. Gambaran Indeks Eritrosit Dalam Penentuan Jenis Anemia Pada Penderita Gagal Ginjal Kronik di RSUD Sanjiwani Gianyar. *Meditory*, 7(2), pp. 130-137.
- Warni, H., Sari, N. N. & Agata, A., 2020. Perilaku Konsumsi Kopi dengan Resiko Terjadinya Hipertensi. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 1(1), pp. 1-6

# Prevalensi Pemeriksaan HBsAg Pada Pendoror Darah Di Unit Transfusi Darah Pmi Kabupaten Boyolali Dengan Darah Yang Sehat Masyarakat Dunia Akan Terjaga

Puji Astuti<sup>1</sup>, Kurnia Dian Pratiwi<sup>2</sup>

## ABSTRACT

Pelayanan transfusi darah merupakan upaya pelayanan kesehatan yang memanfaatkan darah manusia sebagai bahan dasar dengan tujuan kemanusiaan dan tidak untuk tujuan komersial. Unit Transfusi Darah (UTD) adalah fasilitas pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan donor darah, penyediaan darah, dan pendistribusian darah (PMK 91 Standart Pelayanan Transfusi Darah, 2015). Transfusi darah merupakan salah satu jalur penularan Virus Hepatitis B secara horizontal yang sering terjadi. Infeksi Virus Hepatitis B merupakan penyebab utama hepatitis akut, hepatitis kronis, sirosis dan kanker hati di dunia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui prevalensi hasil pemeriksaan HBsAg pada pendonor darah di Unit Transfusi darah PMI Boyolali. Penelitian ini dilakukan pada tri wulan pertama bulan Januari-Maret 2021. Uji diagnostik dilakukan dengan menggunakan Distribusi Frekuensi. Jumlah sampel 3.722 pendonor . didapatkan hasil HBsAg reaktif pada kelompok umur 24 tahun - 44 tahun sebanyak 2007 (53,9%) pendonor, diikuti usia 45-59 tahun sebanyak 963 (25,8%) pendonor. Jika dikelompokkan berdasar jenis kelamin sebagian besar HBsAg reaktif ditemukan pada jenis kelami laki-laki sebanyak 21 pendonor (87,5 %) dan untuk Perempuan sebanyak 3 pendonor (12,5%).

**Kata kunci :** HBsAg, Donor, Darah

## INTRODUCTION

Pelayanan transfusi darah merupakan upaya pelayanan kesehatan yang memanfaatkan darah manusia sebagai bahan dasar dengan tujuan kemanusiaan dan tidak untuk tujuan komersial. Darah dilarang diperjualbelikan dengan dalih apapun. Pelayanan transfusi darah sebagai salah satu upaya kesehatan dalam rangka penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan sangat membutuhkan ketersediaan darah atau komponen darah yang cukup, aman, mudah diakses dan terjangkau oleh masyarakat. Pemerintah bertanggung jawab atas pelaksanaan pelayanan transfusi darah yang aman, bermanfaat, mudah diakses, dan sesuai dengan kebutuhan masyarakat. Unit Transfusi Darah (UTD) adalah fasilitas pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan donor darah, penyediaan darah, dan pendistribusian darah (PMK 91 Standart Pelayanan Transfusi Darah, 2015). Transfusi darah merupakan tindakan medis berisiko. Salah satu risiko transfusi adalah penularan infeksi menular lewat transfusi darah (IMLTD). Di Indonesia, sesuai dengan peraturan yang ada wajib melakukan uji saring IMLTD pada semua kantong darah yang dikumpulkan terhadap HIV, virus hepatitis B, virus hepatitis C dan sifilis. Dalam upaya menjaga keamanan darah donor dari infeksi virus hepatitis B (VHB), setiap kantong darah donor diuji saring terhadap *hepatitis B Surface Antigen* (HBsAg) sejak tahun 1985. Bila hasil uji saring HBsAg negatif maka darah tersebut aman untuk ditransfusikan.

Virus Hepatitis B (VHB) dapat menyebabkan peradangan hati akut atau menahun yang pada sebagian kasus dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati. Penyakit hepatitis katanya merupakan penyakit menular melalui kontak langsung dengan cairan tubuh penderita dari ibu penderita kepada bayi yang dilahirkan, melalui sperma, cairan vagina dan luka terbuka (Herawati, 2016). Berdasarkan uraian tersebut, kami tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Prevalensi Hasil Pemeriksaan HBsAg Pada Pendoror Darah di Unit Transfusi Darah PMI Kabupaten Boyolali Dengan Darah yang Sehat Kehidupan Dunia akan Terjaga”

## METHODS

### Jenis Penelitian dan desain penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan gambaran hasil pemeriksaan HBsAg pada pendonor di Unit Donor Darah PMI Kabupaten Boyolali.

### Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Unit Transfusi Darah PMI Boyolali pada bulan Januari - Maret 2021

## Populasi dan sampling penelitian

### Populasi

Populasi Penelitian ini adalah semua pendonor darah di Unit Tranfusi Darah PMI Boyolali

### Sampling

Sampel dalam penelitian sampel pendonor darah yang dilakukan pemeriksaan HBsAg di Unit Transfusi darah PMI Boyolali pada bulan Januari –Maret 2021

## Prosedur kerja

### Prosedur Pemeriksaan Pendonor

Pendonor dalam keadaan sehat dan sebelum pendonor diambil darahnya, pendonor melakukan beberapa pemeriksaan seperti pemeriksaan HB, dan tensi setelah diperiksa dan hasilnya ok, baru dilakukan pengambilan darah.

### Prosedur Pengambilan Darah Vena Pendonor

Siapkan alat dan bahan yang digunakan untuk pengambilan darah vena pendonor, persiapan diri pendonor sebelum pengambilan darah vena dan minta pendonor untuk meluruskan dan mengepalkan tangannya, pasang tourniquet kira-kira 10 cm diatas lipatan siku tangan pendonor, pilih bagian vena median cubiti ataupun chepalica, bersihkan permukaan kulit pendonor pada bagian yang akan diambil darahnya dengan betadine, kapas alkohol 70% dan terakhir alkohol swab biarkan agak kering, tusuk bagian vena dengan posisi lubang jarum menghadap keatas, jika jarum telah masuk kedalam vena maka akan terlihat darah mengalir melalui slang dan masuk ke kantong darah. Setelah kantong darah terisi penuh untuk pengambilan sampel pada slang darah kita potong dan masukkan sampel darah pada tabung clot activator. Setelah selesai ambil kapas letakkan keatas tangan pendonor dan kemudian tarik bagian jarum keluar dan tekan kapas beberapa saat, lalu plester. Ucapkan terima kasih pada pendonor yang telah melakukan donor darah .

### Prosedur Preparasi Sampel

Sampel darah diambil dari bagian aftap, dicocokkan no sampel, dan barcode pada sampel dengan lembaran pengiriman dalam keadaan sampel sudah diendapkan selama 1 jam. Kemudian masukkan sampel darah ke dalam tabung setrifuge, sentrifuge darah selama 10 menit dengan kecepatan 400 rpm,

### Prosedur Pemeriksaan HbsAg dengan Metode Rapid Test HbsAg

Siapkan lembar ceklis pemeriksaan dan lembar kerja pemeriksaan, letakan sampel pada rak sampel dan posisi yang sesuai dengan yang tertulis pada lembar kerja, jalankan pemeriksaan sampel sesuai instruksi kerja. Disiapkan alat dan bahan, ambil bungkus Rapid Test pada suhu ruangan sebelum bungkus tersebut dibuka. Dikeluarkan Rapid Test lalu teteskan darah dan jalankan stopwatch, dibiarkan sampai 15 menit kemudian dibaca hasilnya, sampai muncul garis pada area test (Arya Winata, 2017)

## RESULTS

Telah dilakukan hasil penelitian deskriptif dengan judul Prevalensi Hasil Pemeriksaan HBsAg Pada Pendonor Darah PMI Boyolali pada bulan Januari – Maret 2021. Dari hasil Penelitian yang dilakukan di laboratorium Uji Saring IMLTD Unit Donor Darah PMI Kabupaten Boyolali. Dimana data yang diambil adalah data Hasil HBsAg pada pendonor darah. Dimana kateristik sampel berupa jenis kelamin, umur, HBsAg pada pendonor darah maka didapatkan hasil seperti terlihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4.1** Distribusi Subjek penelitian berdasarkan Umur, jenis kelamin, Hasil Pemeriksaan HBsAg Pada Pendonor di Unit Donor Darah PMI Kabupaten Boyolali Januar – Maret Tahun 2021

| Variabel      | HbsAg   |      |             |       |
|---------------|---------|------|-------------|-------|
|               | Reaktif |      | Non Reaktif |       |
|               | F       | %    | F           | %     |
| UMUR          |         |      |             |       |
| <18           | 1       | 0.02 | 100         | 2,68  |
| 18-24         | 3       | 0,08 | 568         | 15,18 |
| 24-44         | 13      | 0,35 | 2007        | 53,9  |
| 45-59         | 5       | 0.13 | 963         | 25,8  |
| 60            | 2       | 0,05 | 60          | 1,61  |
| Jenis Kelamin |         |      |             |       |

|             |    |      |      |       |
|-------------|----|------|------|-------|
| Laki – Laki | 21 | 0,56 | 2463 | 66,17 |
| Perempuan   | 3  | 0,08 | 1235 | 33,18 |
| Total       | 24 | 1,27 | 3698 | 99,25 |

Dari tabel 4.1 didapatkan hasil HBsAg reaktif pada kelompok umur 24 tahun - 44 tahun sebanyak 2007 (53.9%) pendonor, diikuti usia 45-59 tahun sebanyak 963 (25,8%) pendonor. Jika dikelompokkan berdasar jenis kelamin sebagian besar HBsAg reaktif ditemukan pada jenis kelamin laki-laki sebanyak 21 pendonor (87,5 %) dan untuk Perempuan sebanyak 3 pendonor (12,5%).

### DISCUSSION

Pemeriksaan HBsAg pada penelitian ini dilakukan pada 3.722 sampel yang di ambil dari pendonor darah di Unit Transfusi Darah PMI Boyolali didapatkan hasil reaktif HbsAg 24 Orang dengan prosentase 87,5 % laki – laki dan untuk Perempuan sebanyak 3 pendonor (12,5) dengan usia 24-44 tahun hal tersebut disebabkan oleh pada umur 24-44 tahun merupakan masa produktif sehingga rentan untuk menularkan virus hepatitis B. Prosentase perempuan lebih rendah dari laki – laki karena perempuan sudah banyak melakukan vaksin antara lain pada saat pra nikah dan pada saat hamil . Oleh karena itu prevalensi perempuan lebih rendah dibanding dengan laki – laki. HBsAg positif pada pendonor lebih banyak biasanya laki laki lebih aktif dibanding perempuan.

Uji saring darah dilakukan untuk mengetahui kondisi darah benar benar bebas dari virum yang menular lewat darah. Oleh sebab itu uji skrining calon pendonor sangat penting agar darah yang diberikan koresipien bebas dari virus hepatitis B . Dengan tertolongnya pasien dan darah yang aman kehidupan dunia akan terjaga, penyebaran virus Hepatitis B melalui transfuse darah akan terhindar.

### CONCLUSION

Hasil penelitian Prevalensi Hasil Pemeriksaan HBsAg Pada Pendonor Darah di Unit Transfusi Darah PMI Boyolali terhadap 3722 pendonor dapat disimpulkan :

1. Orang yang mendonorkan darah adalah orang yang sehat, untuk mendapatkan darah yang aman perlu dilakukan skrining terhadap penyakit yang bisa menular lewat transfusi darah salah satunya HbsAg
2. Pemeriksaan Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) dengan metode *immunochromatografi*, dari jumlah sampel 3722 didapatkan 3698 sampel garis merah pada area Kontrol dan 24 sampel terdapat garis merah pada area Kontrol dan area Test.

Dari sampel 3.722 Pendonor dengan Hepatitis B surface Antigen (HBsAg) didapatkan prevalensi tertinggi pada rentang umur 24-44 tahun sebanyak 2007 (53.9%). Pendonor reaktif HbsAg dengan metode *immunochromatografi* pada bulan Januari – Maret 2021 antara pria dan wanita dengan prosentase dikelompokkan berdasar jenis kelamin sebagian besar HBsAg reaktif ditemukan pada jenis kelamin laki-laki sebanyak 21 pendonor (87,5 %) dan untuk Perempuan sebanyak 3 pendonor (12,5%).

### REFERENCES

- Ashal T. Frekuensi virus hepatitis C positif pada darah donor di UTDC PMI Padang (skripsi). Padang: Universitas Andalas, 2000.
- Hartati NS. Frekuensi HBsAg positif pada uji saring darah Di PMI cabang Padang Januari 2001 sampai Desember 2001 (skripsi). Padang: Universitas Andalas; 2002.
- Widjaja S. Virus hepatitis B, C, dan G. Jakarta: Grasindo; 1999.
- Herlinda N. Frekuensi HBsAg positif dalam uji saring darah donor Di UTDC Padang periode tahun 2001 (skripsi). Padang: Universitas Andalas; 2002.
- Price SA, Wilson LM. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi ke-6. Jakarta: EGC; 2006.
- Azra LG. Frekuensi HBsAg Positif Pada Uji Saring Darah Di Palang Merah Indonesia Cabang Padang Periode 1 Januari 2005- 31 Desember 2005 (skripsi). Padang: Universitas Andalas; 2006.
- Amtarina. (2006). Faktor Resiko Hepatitis B Pada Tenaga Kesehatan Kota Pekanbaru. Bagian Biologi Kedokteran Universitas Riau.
- PMK 91 Standart Pelayanan Transfusi Darah, 2015.
- Wijayanti, Budi Ika. (2016). Efektivitas HBsAg–Rapid Screening Test Untuk Deteksi Dini Hepatitis B. Surakarta.
- Sulaiman, Ali. (2007). Ilmu Penyakit Hati. Jakarta: Jayabadi.
- Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta: 450-454.
- Kresno, S. B. (1984). Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Jakarta: EGC, 338-341

# Korelasi C-Reaktif Protein Dan Differential Count Pada Diagnosis Penegakan COVID-19

Sri Puspa Wahdiyanti

## ABSTRACT

Covid – 19 is an infectious disease caused by *severe acute respiratory syndrome corona virus- 2 (SARS COV-2)*. In severe cases of covid – 19 it can cause *pneumonia*, acute respiratory syndrome, kidney failure and even death. To support the doctor's diagnosis, screening tests are needed in laboratory that is anti *SARS COV-2 is an antibody that shows reactive results it is started that the body has caught the virus and supported by other filter checks are C-reaktif protein dan differential count check*, this begins when clinical symptoms appear. C-reaktif protein check in response to inflammation. Because covid – 19 is an infectious disease caused by a virus. And a differential count check is also carried out to support the possibility of a covid – 19 SARS infection by looking at the results of the leukocyte type.

This scientific paper aims to purpose the discription of the results of C-reaktif protein and differential in covid – 19 patients, as expected from 100 patients. At the balaraja hospital there are 79 % positive C-reaktif protein and 14 % there was an increase in the neutrofil segment in covid – 19 patients. The conclusion obtained from this study is that there is an increase in the results of and there is relationship between C-reaktif protein and differential count in covid – 19 patients. According to the purpose of this research clinically meaningful examination to evaluate covid – 19 patients.

**Keywords** : covid – 19 , C-reaktif protein, differential count

## INTRODUCTION

Kesehatan menurut WHO (1947) adalah suatu keadaan yang sempurna baik secara fisik, mental dan sosial, serta tidak hanya bebas dari penyakit. Sehat menurut undang- undang pasal 23 tahun 1992 tentang kesehatan, menyatakan bahwa kesehatan adalah keadaan sejahtera dari badan, jiwa dan sosial, yang mungkin hidup produktif secara sosial dan ekonomi.

Pada tanggal 31 desember 2019, WHO China Country Office melaporkan kasus pneumonia yang tidak di ketahui etiologinya di kota wuhan, provinsi Hubei, Cina. Pada tanggal 7 januari 2020, china mengidentifikasi kasus tersebut sebagai jenis baru *coronavirus*. Dan pada tanggal 30 januari 2020 WHO menetapkan kejadian tersebut sebagai kedaruratan kesehatan masyarakat yang meresahkan dunia. Kemudian pada tanggal 11 maret 2020, WHO sudah menetapkan *Corona Virus Disease 2019 (Covid-19)* sebagai pandemi. ( kemenkes,2020).

Peningkatan kasus berlangsung cukup cepat dan menyebar ke berbagai negara dalam waktu singkat. Sampai dengan tanggal 9 juli 2020, WHO melaporkan 11.84.226 kasus konfirmasi dengan 545.481 kematian di seluruh dunia ( *Case Fatality Rate atau CFR 4,6%*). Sedangkan di Indonesia melaporkan kasus pertama pada tanggal 2 maret 2020. Kasus meningkat dan menyebar dengan cepat di seluruh wilayah Indonesia. Sampai dengan tanggal 9 juli 2020 Kementrian kesehatan melaporkan 70.736 kasus konfirmasi *covid-19* dengan 3.417 kasus meninggal (*CFR 4,8%*) ( Kemenkes,2020).

Menurut Kemenkes, Juli 2019 *Covid-19* adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome corona virus- 2 (SARS COV-2)*. Tanda dan gejala gangguan pernapasan akut seperti demam, batuk dan sesak napas. Masa inkubasi rata-rata 5-6 hari dengan masa inkubasi terpanjang 14 hari. Pada kasus *Covid-19* yang berat dapat menyebabkan *pneumonia*, sindrom pernapasan akut, gagal ginjal dan bahkan kematian.

Dengan adanya masalah kesehatan yang dialami oleh seluruh dunia bahkan Indonesia ini memerlukan pelayanan kesehatan. Menurut Menkes 2006 pelayanan kesehatan meliputi peningkatan pencegahan, pengobatan dan pemulihan. Dan salah satu pelayanan kesehatan adalah rumah sakit. Menurut undang-undang nomor 44 tahun 2009, rumah sakit yaitu institusi pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan kesehatan perorangan secara paripurna yang menyediakan pelayanan rawat inap, rawat jalan dan gawat darurat.

RSUD Balaraja merupakan rumah sakit pemerintah di Kabupaten Tangerang. Laboratorium di RSUD Balaraja adalah salah satu fasilitas pelayanan kesehatan sebagai penunjang diagnosa dokter. Menurut Permenkes RI No.411/Menkes/III/2010, laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan specimen klinik untuk mendapatkan informasi tentang kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit dan memulihkan kesehatan.

Pasien di RSUD Balaraja pertama kali akan mendapatkan tindakan kesehatan di ruang gawat darurat yaitu di Unit Gawat Darurat (UGD). Sejak terjadi masalah keadaan kesehatan di Indonesia ini setiap pasien yang menderita demam dan mengalami gangguan pernapasan dinyatakan sebagai terduga penderita *Covid-19*. Dokter di UGD akan melakukan pemeriksaan laboratorium yaitu pemeriksaan *C- reaktif protein* , darah lengkap dan *screening* anti *SARS COV-2*. Pemeriksaan tersebut wajib dilakukan sebelum menentukan pasien akan dirawat inap isolasi atau tidak.

Pemeriksaan *CRP* dilakukan karena *Covid-19* merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus. Dan pemeriksaan darah lengkap ini dilakukan untuk melihat nilai leukosit dan nilai *differential count* pasien tersebut. Pemeriksaan *CRP* dan *differential count* ini dapat di mulai dilakukan pada saat timbul gejala klinis, *CRP* biasanya akan terjadi peningkatan. Pada *differential count* dapat di lihat bila hasil hitung *limfosit* rendah dengan hitung segmen *neutrofil* normal atau meningkat sehingga ratio *neutrofil/limfosit* ( *Neutrofil Limfosit Ratio atau NLR* ) menjadi tinggi , maka hasil tersebut mendukung kemungkinan adanya infeksi *SARS COV-2*. Bila pemeriksaan ini dilakukan secara berkala pemeriksaan penyanging ini baik juga untuk pemantauan perkembangan penyakit. Adapun pemeriksaan penyanging anti *SARS COV-2* merupakan *antibodi* yang dengan menunjukkan hasil reaktif di nyatakan bahwa tubuh sudah kemasukkan virus. Di mana *antibodi Immunoglobulin M (IgM)* dan *Imunoglobulin G (IgG)* ini di bentuk oleh tubuh sebagai reaksi *imun humoral* terhadap masuknya virus dan bersifat spesifik, yang berarti *antibodi (IgM dan IgG)* di bentuk terhadap virus *SARS COV-2* dan tidak oleh virus lain ( Kemenkes,2020).

Inilah yang melatarbelakangi peneliti ingin melakukan penelitian mengenai “KORELASI C-REAKTIF PROTEIN DAN DIFFERENTIAL COUNT PADA DIAGNOSIS PENEGAKAN COVID-19”.

## METHODS

### Definisi Operasional Variabel

1. C-Reaktif Protein (CRP) adalah pemeriksaan dengan menggunakan CRP Latex test yang suspensi dari partikel Polystyrene yang direaksikan dengan anti-human C-Reaktif Protein (kit insert CRP AIM)
2. Differential count adalah suatu kelompok sel darah putih yang lebih rinci untuk menentukan berbagai jenis lekosit dari sel darah putih yang terdiri dari basofil, eosinofil, netrofil, monosit dan limfosit
3. Pasien penderita covid -19 adalah pasien yang masuk ruang unit gawat darurat dan telah didiagnosa dokter termasuk pasien covid-19 dan dilakukan tindakan rawat inap

### Tempat dan Waktu Penelitian.

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Balaraja Kabupaten Tangerang. Dengan cara melakukan pengambilan data di laboratorium Rumah Sakit Umum Balaraja bulan april sampai dengan bulan desember 2020.

### Populasi dan Sampel.

1. Populasi adalah seluruh data pemeriksaan c-reaktif protein yang melakukan pemeriksaan differential count yang hasil rapid antibodi positif dan telah didiagnosa dokter termasuk dalam kategori penderita covid-19
2. Sampelnya adalah data pemeriksaan c-reaktif protein dan differential count dari bulan april sampai bulan desember 2020

### Prosedur Kerja

#### 1) Pemeriksaan CRP

Adapun prosedur kerjanya adalah :

- a. Menggunakan alat pelindung diri
- b. Membiarkan sampel dan reagen mencapai suhu ruang sebelum di gunakan
- c. Meneteskan 1 tetes (50µl) serum tanpa pengenceran ke dalam lingkaran pada glass slide
- d. Meneteskan kontrol positif dan kontrol negatif pada lingkaran yang lain
- e. Mencampur reagen latex test sebelum digunakan. Kemudian teteskan masing masing 1 tetes (50µl) latex test ke lingkaran yang berisi serum, sampel kontrol positif dan kontrol negatif

- f. Mengaduk campuran tersebut dengan menggunakan batang pengaduk, kemudian menyebarkan cairan dalam masing-masing lingkaran dengan menggunakan ujung pipet pengaduk yang datar.
  - g. Membaca hasil test setelah 3 menit.
- 2) Pemeriksaan differential count
- Sebelum melakukan pemeriksaan differential count menggunakan alat pelindung diri
- a. Prosedur kerja secara manual
    1. Membuat sediaan apus
      - a) Memilih kaca objek yang bertepi rata untuk digunakan sebagai kaca penghapus
      - b) Meletakkan satu tetes kecil darah di letakkan pada  $\pm 2-3$  mm dari ujung kaca
      - c) Meletakkan objek kaca penghapus dengan sudut 30-45 derajat terhadap kaca objek di depan tetes darah
      - d) Menarik kaca penghapus ke belakang sehingga tetes darah menyebar pada sudut tersebut
      - e) Mendorong kaca penghapus dengan gerak cepat sehingga terbentuk apusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek.
      - f) Membiarkan apusan darah mengering di udara.
      - g) Memberi identitas pasien ditulis pada bagian tebal apusan dengan pensil kaca.
    2. Mewarnai sediaan
      1. Pewarnaan Giemsa
        - a) Meletakkan sediaan apus pada dua batang gelas
        - b) Fiksasi sediaan apus dengan metanol absolut 2-3 menit
        - c) Menggenangi sediaan apus dengan zat warna giemsa yang baru diencerkan
        - d) Membiarkan selama 10 menit
        - e) Membilas dengan air ledeng mula-mula dengan aliran lambat kemudian dengan lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna
      2. Pewarnaan Wright
        - a) Menggenangi sediaan apus yang sudah diwarnai dengan zat warna giemsa dengan zat warna wright yang baru diencerkan
        - b) Membiarkan selama 10 menit
        - c) Membilas dengan air ledeng mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan untuk menghilangkan semua kelebihan zat warna
        - d) Meletakkan sediaan apus dalam rak dalam posisi tegak dan membiarkan mengering.
  - c. Prosedur kerja secara semi automatic
    - a) Menggunakan alat pelindung diri
    - b) Menekan tombol on/off
    - c) Melakukan maintenance harian
    - d) Melakukan quality control pada alat hematologi semi automatic
    - e) Mempersiapkan sampel pada tabung EDTA yang telah di homogenkan
    - f) Memilih CBC pada layar dan scan ID/barcode lalu klik "OK"
    - g) Menghomogenkan sampel
    - h) Memastikan sampel bebas dari lisis dan bekuan
    - i) Memasukkan sampel darah pada adaptor dan menekan tombol penghisap
    - j) Setelah mendengar suara "bip bip" melepaskan sampel dari adaptor
    - k) Hasil akan terlihat pada layar alat automatic secara otomatis.
- 3) Pemeriksaan Rapid test Antibodi Covid-19
- a) Menggunakan alat pelindung diri
  - b) Menggunakan sampel darah berupa whole blood atau serum
  - c) Mengeluarkan kaset test dari pembungkus
  - d) Memberikan label identitas
  - e) Meletakkan kaset test pada meja datar
  - f) Meneteskan 1 tetes sampel (10  $\mu$ l) pada lubang sampel kaset test
  - g) Kemudian, teteskan 2 tetes buffer ke dalam lubang sampel pada kaset test
  - h) Membaca hasil setelah 15 menit



## RESULTS

Penelitian ini telah dilaksanakan di laboratorium patologi klinik RSUD Balaraja kab Tangerang dengan melakukan pengambilan data dari bulan April 2020 sampai dengan Desember 2020. Subjek penelitian ini adalah semua pasien yang telah didiagnosa oleh dokter unit gawat darurat sebagai pasien Covid-19 dengan jumlah data sebanyak 100 pasien hasil rapid Antibodi Reaktif. Dan penelitian dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4. 1  
Hasil CRP pada pasien covid-19

| No | Hasil Rapid Antibodi | Hasil CRP |         | Persentase CRP |         |
|----|----------------------|-----------|---------|----------------|---------|
|    |                      | Positif   | Negatif | Positif        | Negatif |
| 1  | Reaktif              | 79        | 21      | 79%            | 21%     |

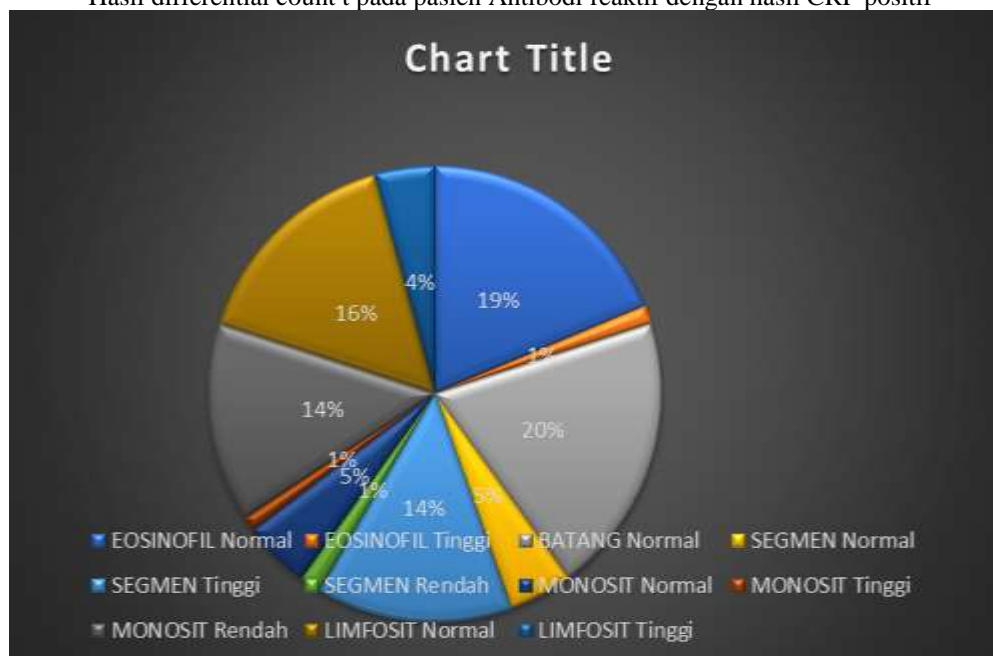
Berdasarkan tabel 1, hasil rapid Antibodi Reaktif terdapat 79 pasien yang hasil CRP nya positif ( 79%) dan dengan hasil CRP yang negatif sebanyak 21 pasien (21%).

Tabel 4. 2  
Hasil differential count pada pasien Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif

| BASOFIL | EOSINOFIL |        | BATANG | NEUTROFIL SEGMENT |        |        | MONOSIT |        |        | LIMFOSIT |        |
|---------|-----------|--------|--------|-------------------|--------|--------|---------|--------|--------|----------|--------|
|         | Normal    | Tinggi |        | Normal            | Tinggi | Rendah | Normal  | Tinggi | Rendah | Normal   | Tinggi |
| 0       | 74        | 5      | 79     | 18                | 55     | 6      | 19      | 4      | 56     | 62       | 17     |

Berdasarkan tabel 2, pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count pada 79 pasien dengan hasil basofil dengan 0 dan menunjukkan hasil normal, eosinofil dengan hasil yang normal pada 74 pasien dan hasil yang tinggi menunjukkan 5 pasien, batang menunjukkan hasil normal yaitu 79 pasien, neutrofil segmen dengan hasil yang normal 18 pasien dan hasil yang tinggi 55 pasien serta hasil rendah yaitu 6 pasien, monosit dengan hasil normal 19 pasien dan hasil tinggi yaitu 4 pasien serta hasil rendah yaitu sebanyak 56 pasien sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 62 pasien dan hasil yang tinggi sebanyak 17 pasien.

Grafik 4. 1  
Hasil differential count t pada pasien Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif



Berdasarkan grafik 1, pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count pada 79 pasien, eosinofil dengan hasil yang normal sebanyak 19% dan hasil yang tinggi sebanyak 1%, batang dengan hasil normal sebesar 20%, neutrofil segmen dengan hasil yang normal sebesar 5% dan hasil yang tinggi sebesar 14% serta hasil rendah sebesar 1%, monosit dengan hasil normal 5% dan hasil tinggi sebesar 1% serta hasil rendah yaitu sebanyak 14% sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 16% dan hasil yang tinggi sebanyak 4%.

Tabel 4. 3

Hasil perhitungan statistik dari hasil rapid Antibodi SARS COV -2 ,crp dan differential count

|           |                     | Basofil        | Eosionofil | Netrofil Segmen | Limfosit | Monosit |
|-----------|---------------------|----------------|------------|-----------------|----------|---------|
| Titer CRP | Pearson Correlation | . <sup>a</sup> | -.278**    | .384**          | -.385**  | -.093   |
|           | Sig. (2-tailed)     | .              | .000       | .000            | .000     | .188    |
|           | N                   | 200            | 200        | 200             | 200      | 200     |

Pada tabel 4 diatas dapat di lihat eosinofil nilai r sebesar 0,278,netrofil segmen nilai r sebesar 0,384, limfosit nilai r sebesar 0,385 dan pada monosit nilai r sebesar 0,093 yang menunjukkan adanya hubungan crp dengan eosinofil,netrofil segmen, limfosit dan monosit dan ditunjukkan dengan tanda bintang. Dan nilai sig. (2\_tailed) sebesar eosinofil 0.000, netrofil segmen sebesar 0.000 serta limfosit sebesar 0.000 kurang dari  $\alpha$  yang digunakan yaitu 0.05, maka hipotesa Ha di terima. Maka dapat di simpulkan bahwa terdapat hubungan positif dan signifikan antara crp dengan eosinofil, netrofil segmen dan limfosit.

### DISCUSSION

Jika dilihat dari persentase CRP yang hasil positif dan negatif pada pasien yang tes rapid antibodi reaktif, maka terdapat perbedaan yang besar sekali antara persentase CRP yang hasilnya positif dan negatif, yaitu pada CRP yang hasilnya positif sebesar 79% dan CRP yang hasilnya negatif sebesar 21%. Persentase CRP yang positif pada pasien yang hasil tes antibodi reaktif kemungkinannya adalah pertanda adanya penyakit atau infeksi didalam tubuh karena tubuh sudah terinfeksi oleh virus. Dan jika pasien tidak mengalami gejala atau bergejala ringan sehingga peradangannya juga ringan maka CRP nya bisa negatif walaupun hasil tes rapid antibodi reaktif pada pasien covid-19. Jadi kadar CRP rendah atau negatif tidak selalu berarti tidak ada peradangan.

Pasien yang hasil rapid Antibodi reaktif dengan hasil CRP positif dilihat hasil differential count yaitu eosinofil dengan hasil yang normal sebanyak 19% dan hasil yang tinggi sebanyak 1%, batang dengan hasil normal sebesar 20% , neutrofil segmen dengan hasil yang normal sebesar 5% dan hasil yang tinggi sebesar 14% serta hasil rendah sebesar 1%, monosit dengan hasil normal 5% dan hasil tinggi sebesar 1% serta hasil rendah yaitu sebanyak 14% sedangkan hasil limfosit yang normal sebanyak 16% dan hasil yang tinggi sebanyak 4 % .

Dari hasil diffcount tersebut terjadi peningkatan segmen neutrofil segmen sebesar 14% kemungkinan karena ada penyusupan benda atau sel asing yang ke dalam jaringan , ketika segmen neutrofil sudah berhasil melacak infeksi dan peradangan dalam tubuh, muncul lah bahan kimia khusus yang memberi tahu segmen neutrofil untuk segera keluar dari sumsum tulang dan pindah ke bagian tubuh yang membutuhkannya sehingga sel – sel neutrofil berada dalam jumlah besar. Segmen neutrofil mempunyai kemampuan untuk melakukan fagositosis yaitu menelan atau memakan benda asing. Limfosit masih dalam tahap normal kemungkinan karena ada benda asing masuk sehingga limfosit tetap bsnyak membuat produksi antibodi meningkat sesuai dengan fungsinya limfosit. Dan monosit mengalami penurunan yang signifikan pada tubuh pasien COVID-19 kemungkinan karena kalah dengan benda asing yang masuk ke dalam tubuh pasien itu.

### CONCLUSION

1. Hasil CRP positif sebesar 79% menunjukkan adanya peradangan dan tubuh di masuki oleh virus.
2. Terjadi peningkatan neutrofil segmen sebesar 14 % menunjukkan ada penyusupan benda atau sel asing yang ke dalam jaringan
3. Terdapat hubungan antara CRP dan differential count dengan pasien Covid -19
4. Apabila seseorang mengalami tanda atau gejala dari peradangan atau infeksi maka diperlukan tes penyangring pemeriksaan CRP dan differential count.

### REFERENCES

- Andi eko, Medikal Bedah dengan Kardiovaskuler, Jakarta, 2017.  
 Handoko,Statistik Untuk Penelitian Kesehatan dengan Aplikasi Program dan SPSS, Yogyakarta, 2009.  
 Kemenkes, Penyakit Menular yang di sebabkan oleh Severe akut Respiratory Syndrom Corona Virus – 2 (SARS-Cov-2), Jakarta ,Juli 2020.  
 Lary Waterbury, Hematologi Edisi 3, EGC, Jakarta, 2001  
 Marzuki Suryaatmadja, Pemeriksaan Laboratorium pada Penyakit Covid – 19.(abclab.co.id, 4 Juni 2020).  
 Rukman Kiswari, Hematologi dan Transfusi Darah, Jakarta, 2014.  
 Sugiyono,Statistik untuk Penelitian , Bandung, 2009.  
 Sadikin M, Biokimia Darah, Jakarta, 2002.

Samik Wahab et al, Sistem Imun, imunisasi dan penyakit Imun , Jakarta, 2002.  
Susilo et al, Penyakit Dalam, indonesia, 2020.  
Sumadi Suryabrata, Metodologi Penelitian, Yogyakarta, 2009.

# Deteksi Dini TB CO Infeksi HIV AIDS Melalui Pemeriksaan Screening Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) atau LED ( Laju Endap Darah) Sebagai Monitoring Pengobatan

**Baiq Linarosiana**

Dinas Kesehatan Lombok Barat Puskesmas Gunungsari Propinsi Nusa Tenggara Barat;  
baiqlina25@gmail.com

## ABSTRACT

*BAIQ LINAROSIANA S Si. Early Detection of TB CO HIV/AIDS Infection Through Screening Examination of Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) or ESR (Edgency Rate) as Treatment Monitoring*

*Pulmonary tuberculosis is an infectious disease caused by Mycobacterium tuberculosis and most often attacks lung tissue. Pulmonary tuberculosis can cause dangerous complications and even death. According to the 2018 RISKESDAS (Basic Health Research) data for pulmonary TB cases in the province of West Nusa Tenggara, it was 0.4% while the data obtained from the NTB Health Service regarding the number of TB cases in 2016 reached 5,828 people. Meanwhile, in 2017 the total number of TB patients was 6,644 people, when compared to 2016, TB cases in 2017 increased by 14.04%. The emergence of the HIV/AIDS pandemic in the world adds to the problem of pulmonary TB. Coinfection with HIV/AIDS will significantly increase the risk of pulmonary TB. One of the supporting examinations for the diagnosis of HIV/AIDS pulmonary TB infection is the erythrocyte sedimentation rate (ESR). This study was conducted with a cross-sectional noobservational research design. with a sample of 55 respondents. The data collected in the form of data on the results of the Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) or ESR examination in TB CO patients HIV AIDS infection.*

*If the results of the ESR examination on a TB patient > 60 mm/hour do not need to be tested for HIV, but if the results of the ESR examination are < 60 mm/hour, the patient is suspected of having HIV, MDR or other infectious diseases (DM). LED examination can also see the success of pulmonary TB treatment*

**Keywords: LED, stop pulmonary TB, HIV/AIDS**

## INTRODUCTION

Tuberkulosis paru adalah suatu penyakitmenular yang disebabkan Mycobacteriumtuberculosis. Secara epidemiologis WHO melaporkan 10–20 juta penderita di dunia mempunyai kemampuan menularkan penyakit tuberkulosis (TB)<sup>1</sup>.

Menurut WHO Tuberkulosis merupakan penyakit yang menjadi perhatian global, dengan berbagai upaya pengendalian yang dilakukan, insiden dan kematian akibat Tuberkulosis telah menurun, namun Tuberkulosis diperkirakan masih menyerang 9,6 juta orang dan menyebabkan 1,2 juta kematian pada tahun 2014. India, Indonesia dan Cina merupakan negara dengan penderita Tuberkulosis terbanyak yaitu berturut-turut 23%, 10%, dan 10% dari seluruh penderita di dunia<sup>2</sup>.

Menurut data RISKESDAS (Riset KesehatanDasar) 2018 untuk kasus TBC paru paru di provinsi Nusa Tenggara Barat adalah sebesar 0,4 % sedangkan data yang diperoleh dari dinas Kesehatan NTB tentang jumlah kasus TBC pada tahun 2016 mencapai 5.828 orang. Sedangkan untuk tahun 2017 jumlah seluruh pasien TB adalah 6.644 orang, apabila dibandingkan dengan tahun 2016, maka kasus TB pada tahun 2017 mengalami peningkatan sebesar 14,04%<sup>2</sup>.

Penyebab utama meningkatnya masalah TB paru antara lain adalah: kemiskinan pada berbagai kelompok masyarakat, seperti pada negara sedang berkembang, kegagalan program TB paru, perubahan demografik karena meningkatnya penduduk dunia, dampak pandemi HIV/AIDS. Munculnya pandemi HIV/AIDS di dunia menambah permasalahan TB paru. Koinfeksi dengan HIV/AIDS akan meningkatkan risiko kejadian TB paru secara signifikan Beberapa peneliti berpendapat bahwa terdapat hubungan antara HIV/AIDS dengan infeksi TB paru. Beberapa penelitian tersebut antara lainpenelitianpenelitian yang dilakukan oleh Damanik (2007), menemukan rata-rata lama waktu penderita HIV/AIDS terinfeksi kuman

Mycobacterium tuberculosis terjadi pada bulan kelima setelah pasien terdiagnosis HIV/AIDS. Sarkar K. (2004), menemukan pasien TB dengan infeksi HIV/AIDS mempunyai nilai cut off point LED lebih rendah  $\leq 60$  mm/jam dibandingkan pada pasien TB tanpa terinfeksi HIV/AIDS dengan nilai LED  $> 60$  mm/jam<sup>1</sup>.

Salah satu pemeriksaan penunjang diagnosis infeksi TB paru adalah pemeriksaan Laju Endap Darah (LED)<sup>1</sup>. Menurut Kemenkes 2011 pemeriksaan laju endap darah (LED) adalah ukuran kecepatan endap eritrosit, menggambarkan komposisi plasma serta perbandingan eritrosit dan plasma. Pemeriksaan LED diperlukan pada pasien TB untuk melihat tanda-tanda peradangan selama terjadinya infeksi. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi LED adalah faktor eritrosit, faktor plasma, dan faktor teknik. Nilai normal pada laki-laki adalah 0-10 mm/jam dan pada perempuan adalah 0-20 mm/jam. Nilai LED yang meningkat biasa terjadi pada kondisi infeksi akut dan sistemik, seperti pada penyakit TB paru<sup>3</sup>.

Dasar pemikiran penggunaan LED dalam diagnosis TB paru adalah pemeriksaan ini masih banyak digunakan di laboratorium klinik di Indonesia, merupakan pemeriksaan yang sederhana, cepat, dan murah. Pemeriksaan LED pada diagnosis paru menunjukkan bahwa pada infeksi TB paru terjadi proses inflamasi, dimana dalam proses inflamasi tersebut, terdapat peningkatan kadar fibrinogen dan globulin plasma yang berkaitan dengan reaksi fase akut sehingga menyebabkan nilai LED meningkat. Nilai LED dapat juga meningkat pada berbagai keadaan infeksi atau inflamasi lain, sehingga LED tidak spesifik untuk TB. Namun demikian LED bermanfaat untuk pemantauan keberhasilan terapi bila sebelum terapi nilainya tinggi.

### METHODS

Penelitian ini merupakan penelitian observasional cross sectional. Data yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan uji statistik uji Paired T-Test, Kriteria sampel adalah darah vena menggunakan antikoagulan EDTA dari penderita infeksi TB paru serta larutan pengencer menggunakan NaCl 0,9% dengan perbandingan 4 bagian darah dan 1 bagian NaCl 0,9%. Tes dilakukan kurang dari 2 jam setelah pengambilan sampel. Setiap sampel diperiksa LED dengan metode Westergren dan dibaca nilai LED nya. Jumlah sampel yaitu 55 orang penderita infeksi TB yang memeriksakan diri maupun yang sedang berobat di Puskesmas Gunungsari.

### RESULTS

#### Hasil Pemeriksaan Led Pada Pasen Tb Paru

| NO | KODE | L  | P  | TB Paru |   | Bulan |   | HIV | CATIN | MDR | HASIL LED |
|----|------|----|----|---------|---|-------|---|-----|-------|-----|-----------|
|    |      |    |    |         | 2 | 5     | 6 |     |       |     |           |
| 1  | W    |    | 28 | V       |   |       |   |     |       |     | 75        |
| 2  | HS   |    | 86 |         | V |       |   |     |       |     | 35        |
| 3  | B    | 40 |    | V       |   |       |   |     |       |     | 87        |
| 4  | E    | 34 |    | V       |   |       |   |     |       |     | 78        |
| 5  | Z    |    | 35 | V       |   |       |   |     |       |     | 75        |
| 6  | Abh  | 27 |    | v       |   |       |   |     |       |     | 65        |
| 7  | T    | 31 |    |         |   | V     |   |     |       |     | 30        |
| 8  | SH   |    | 24 | V       |   |       |   |     |       |     | 68        |
| 9  | AH   | 27 |    | V       |   |       |   |     |       |     | 85        |
| 10 | H    | 28 |    | V       |   |       |   |     |       |     | 80        |
| 11 | R    |    | 54 | V       |   |       |   |     |       |     | 57        |
| 12 | HSN  |    | 45 | V       |   |       |   |     |       |     | 91        |
| 13 | SM   | 29 |    | V       |   |       |   |     |       |     | 105       |
| 14 | Jm   | 31 |    | v       |   |       |   |     |       |     | 89        |
| 15 | H.NH |    | 52 |         |   | V     |   |     |       |     | 62        |
| 16 | D    | 70 |    |         |   |       |   |     |       | V   | 42        |
| 17 | SK   |    | 26 |         |   |       | V |     |       |     | 45        |
| 18 | Rmn  |    | 54 |         | v |       |   |     |       |     | 45        |
| 19 | IW   |    | 32 | V       |   |       |   |     |       |     | 60        |
| 20 | Abh  | 27 |    |         |   | v     |   |     |       |     | 52        |

|    |      |    |    |          |   |   |   |   |  |     |
|----|------|----|----|----------|---|---|---|---|--|-----|
| 21 | D    |    | 24 | V        |   |   |   |   |  | 105 |
| 22 | Mns  | 15 |    | v        |   |   |   |   |  | 100 |
| 23 | Md   | 58 |    |          |   | v |   |   |  | 53  |
| 24 | H.Hd | 29 |    | v        |   |   | v |   |  | 53  |
| 25 | BFI  | 36 |    |          |   |   |   | V |  | 38  |
| 26 | NI   |    | 27 | V        |   |   |   |   |  | 98  |
| 27 | BHd  | 27 |    |          |   |   |   | v |  | 16  |
| 28 | HHd  |    | 50 | v        |   |   |   |   |  | 81  |
| 29 | FI   | 22 |    |          | V |   |   |   |  | 43  |
| 30 | Hdh  |    | 45 |          | v |   |   |   |  | 47  |
| 31 | T    | 31 |    |          |   |   | V |   |  | 6   |
| 32 | DP   |    | 7  |          |   | V |   |   |  | 58  |
| 33 | Prp  |    | 42 | v        |   |   |   |   |  | 43  |
| 34 | Msk  |    | 28 | kelenjar |   |   |   |   |  | 37  |
| 35 | Kmh  |    | 72 | v        |   |   |   |   |  | 68  |
| 36 | Prp  |    | 42 |          | V |   |   |   |  | 55  |
| 37 | BS   | 36 |    | V        |   |   |   |   |  | 74  |
| 38 | Prp  |    | 42 |          |   | V |   |   |  | 35  |
| 39 | M    | 45 |    | V        |   |   |   |   |  | 82  |
| 40 | Prp  |    | 42 |          |   |   | V |   |  | 28  |
| 41 | W    |    | 28 | V        |   |   |   |   |  | 75  |
| 42 | IDS  | 78 |    | V        |   |   |   |   |  | 92  |
| 43 | MHS  | 45 |    | V        |   |   |   |   |  | 98  |
| 44 | MSH  | 22 |    |          | V |   |   |   |  | 99  |
| 45 | HGz  | 66 |    |          | v |   |   |   |  | 43  |
| 46 | RDH  |    | 45 | V        |   |   |   |   |  | 66  |
| 47 | DP   |    | 7  |          |   |   | V |   |  | 13  |
| 48 | IDH  |    | 36 | V        |   |   |   |   |  | 83  |
| 49 | ISM  | 40 |    | V        |   |   |   |   |  | 93  |
| 50 | BS   | 36 |    |          | V |   |   |   |  | 51  |
| 51 | Mhs  | 45 |    |          | v |   |   |   |  | 59  |
| 52 | Zn   | 56 |    |          | v |   |   |   |  | 52  |
| 53 | Ids  | 78 |    |          | v |   |   |   |  | 105 |
| 54 | Mhs  | 45 |    |          |   | v |   |   |  | 36  |
| 55 | Mls  | 38 |    | v        |   |   |   |   |  | 75  |

### DISCUSSION

Jumlah pasien TB paru yang diperiksa Laju Endap Darah 55 orang dimana jumlah penderita TB paru yang melakukan pemeriksaan ulang (follow up) sebanyak 22 orang.

Jumlah penderita TB paru yang nilai hasil LED > 60 mm/jam sebanyak 30 orang Hasil pemeriksaan LED < 60 mm/jam sebanyak 25 orang.

Hasil pemeriksaan LED <60 mm/jam 4 orang dimana 2 orang HIV Positif (hasil LED 38mm/jam,16mm/jam) dan 2 orang pasien MDR (hasil LED 43mm/jam,42mm/jam).

Jumlah pasien TB paru follow up sampai akhir pengobatan 3 orang, dimana pasien Tb Paru yang tuntas pengobatannya hasil LED normal.

Jumlah pasien TB paru yang hasil LED yg pertama lebih tinggi dari hasil pemeriksaan LED yang kedua 2 orang ,Pasien TB paru tersebut ternyata ada penyakit penyerta yaitu Diabetes Militus

## CONCLUSION

Bila hasil pemeriksaan Laju Endap Darah pada pasien TB paru > 60 mm/jam tidak perlu dilakukan pemeriksaan HIV, tetapi apabila hasil pemeriksaan Laju Endap Darah < 60 mm/jam pasien diperiksa tes HIV (dicurigai HIV, MDR atau ada penyakit infeksi lain)

## REFERENCES

- Pertama JAM, Jam DAN, Penderita K, Tb I, Dengan P, Positif BTA. ANALISIS NILAI LAJU ENDAP DARAH YANG DIBACA PADA JAM PERTAMA DAN JAM KEDUA PENDERITA INFEKSI TB PARU DENGAN BTA POSITIF (+) Siti Zaetun. 2009:923-933.
- Artikel I. Gambaran Tingkat Pengetahuan dan Kepatuhan Pada Pasien Tuberkulosis di Rumah Sakit Umum Provinsi NTB Periode Juli-. 2020;1(1).
- Ii BAB, Pustaka T. <http://repository.unimus.ac.id>. 2014:6-26.
- Tuberculosis P, Kenedyanti E, Sulistyorini L, Surabaya A, Timur J. ANALISIS MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DAN KONDISI FISIK. 2017;(January):152-162. doi:10.20473/jbe.v5i2.2017.152-162
- Related F, Tuberculosis W. Jurnal Kesehatan Masyarakat. 2015;10(2):122-128.
- Keilmuan B, Medikal K, Kuala PUS. MANAJEMEN PASIEN TUBERCULOSIS PARU Management of Lung TB for Patient ini adalah untuk menggambarkan tentang etiologi , manifestasi klinis , diagnosis serta manajemen pasien dengan TB paru . 1882:27-31.
- Studi P, Analis D, Abdi S, Palembang N. ANALISIS LAJU ENDAP DARAH PADA PASIEN TUBERCULOSIS PARU. 2019;4:44-52.
- Tb P, Di P, Dradjat R, Serang P. 3 , 1\* 2,3. 2021;3:426-431.