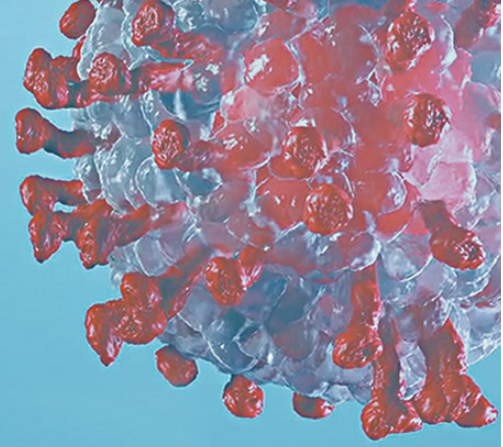




KEMENKES



P E D O M A N

# PEMERIKSAAN PCR SARS-COV-2 BAGI PETUGAS LABORATORIUM



LEMBAGA PENERBIT  
BADAN PENELITIAN DAN  
PENGEMBANGAN KESEHATAN

P E D O M A N

**PEMERIKSAAN PCR SARS-CoV-2  
BAGI PETUGAS LABORATORIUM**



# P E D O M A N

## PEMERIKSAAN PCR SARS-CoV-2 BAGI PETUGAS LABORATORIUM

### **TIM PENYUSUN**

Agustiniingsih  
Arie Ardiansyah Nugraha  
Daryanto  
Hana Apsari Pawestri  
Hartanti Dian Ikawati  
Herna Harianja  
Holy Arif Wibowo  
Ida Susanti  
Irene Lorinda Indalao  
Kambang Sariadji  
Kartika Dewi Puspa  
Kindi Adam  
Krisna Nur Andriana Pangesti  
Masagus Zainuri  
Mursinah  
Nelly Puspendari  
Ni Ketut Susilarini  
Nur Ika Hariastuti  
Ririn Ramadhany  
Subangkit  
Sugianto

### **APHL Indonesia**

Teridah Ernala Ginting

### **CDC Indonesia**

Ester

### **WHO Indonesia**

Nurhayati Hamim Kawi  
Pujiyati Herlina



PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN  
BADAN LITBANG KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI

Pedoman Pemeriksaan PCR Sars-Cov-2 Bagi Petugas Laboratorium  
@2020 oleh Agustiningsih, dkk

Hak Cipta yang dilindungi Undang-undang ada pada penulis

Hak Penerbitan ada pada Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB)

Dilarang mengutip dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin  
tertulis dari Penerbit

Pengarah :

Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Penanggung Jawab :

dr. Dyah Armi Riana, M.A.R.S.

Diterbitkan oleh Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB)

Anggota IKAPI No. 468/DKI/XI/2013

Jalan Percetakan Negara No. 23, Jakarta 10560

Telp. (021) 4261088, ext. 222, 223. Faks. (021) 4243933

Email :lpblitbangkes@gmail.com; website : [www.litbang.depkes.go.id](http://www.litbang.depkes.go.id)

Didistribusikan oleh

Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB)

Katalog Dalam Terbitan

QU 550.5.P6

Agu

Agustiningsih

p

Pedoman Pemeriksaan PCR Sars-Cov-2 Bagi Petugas Laboratorium/

Agustiningsih, dkk.

Jakarta : Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2020.

xvi, 233p. : illus.; 21 cm.

ISBN 978-602-373-166-4

1. JUDUL

I. POLYMERASE CHAIN REACTION

II. LABORATORIES

III. CLINICAL LABORATORY SERVICES

# DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
PRAKATA.....	xiv
KATA PENGANTAR.....	xv
<b>BAB I MATERI DASAR 1.....</b>	<b>1</b>
Situasi Global dan Nasional serta Kebijakan Laboratorium untuk Pengendalian Covid- 19 .....	3
Deskripsi Singkat.....	3
Tujuan Umum .....	3
Tujuan Khusus .....	3
Pokok Bahasan.....	4
Uraian Materi.....	4
Pokok Bahasan 1. Situasi Global dan Nasional Pandemi Covid- 19 .....	4
Pokok Bahasan 2. Pedoman Interim WHO terkait Laboratorium Covid- 19 .....	10
Pokok Bahasan 3. Kebijakan Pemeriksaan Laboratorium Covid- 19 di Indonesia .....	27
<b>BAB II MATERI DASAR 2 .....</b>	<b>35</b>
Pengenalan Virus SARS-Cov 2 dan Metode Deteksi PCR.....	37
Deskripsi Singkat.....	37
Tujuan Umum .....	37
Tujuan Khusus .....	37
Pokok Bahasan.....	38
Uraian Materi.....	38
Pokok Bahasan 1. Klasifikasi Coronavirus dan struktur SARS-CoV-2 .....	38

Pokok Bahasan 2. Cara Penularan, Gejala Umum, Faktor Risiko dan Terapi SARS-CoV-2 .....	42
Pokok Bahasan 3. Metode Deteksi SARS-CoV-2 .....	45
<b>BAB III: MATERI INTI 1 .....</b>	<b>51</b>
<i>Biosafety dan Biosecurity</i> Laboratorium terkait Covid- 19 .....	53
Deskripsi Singkat.....	53
Tujuan Umum .....	53
Tujuan Khusus .....	54
Pokok Bahasan.....	54
Uraian Materi.....	55
Pokok Bahasan 1. Penilaian Risiko .....	55
Pokok Bahasan 2. Praktik Laboratorium Molekuler yang Baik.....	58
Pokok Bahasan 3. <i>Biological Safety Cabinet</i> (BSC).....	63
Pokok Bahasan 4. Alat Pelindung Diri (APD) .....	78
Pokok Bahasan 5. Penanganan Tumpahan dan Kecelakaan Kerja.....	86
Pokok Bahasan 6. Pengelolaan Limbah B3.....	93
Pokok Bahasan 7. Biorepositori Spesimen Covid- 19 .....	101
<b>BAB IV MATERI INTI 2 .....</b>	<b>109</b>
Penatalaksanaan Spesimen untuk Deteksi PCR Covid- 19 .....	111
Deskripsi Singkat.....	111
Tujuan Umum .....	112
Tujuan Khusus .....	112
Pokok Bahasan.....	112
Uraian Materi.....	112
Pokok Bahasan 1. Pengambilan Spesimen.....	112
Pokok Bahasan 2. Pengemasan dan Pengiriman Spesimen.....	125
Pokok Bahasan 3. Penyimpanan Spesimen di Laboratorium .....	131
<b>BAB V MATERI INTI 3.....</b>	<b>133</b>
Prosedur Pemeriksaan rRT-PCR Covid- 19 .....	135
Deskripsi Singkat.....	135
Tujuan Umum .....	135
Tujuan Khusus .....	135

Pokok Bahasan.....	136
Uraian Materi.....	136
Pokok Bahasan 1. Prinsip Dasar RT-PCR dan Realtime RT-PCR.....	136
Pokok Bahasan 2. Ekstraksi RNA .....	153
Pokok Bahasan 3. Proses Pemeriksaan rRT- PCR Virus SARS-CoV-2.....	162
<b>BAB VI: MATERI INTI 4</b> .....	183
Pencatatan dan Pelaporan Pemeriksaan PCR Covid- 19 .....	185
Deskripsi Singkat.....	185
Tujuan Umum .....	185
Tujuan Khusus .....	185
Pokok Bahasan.....	186
Uraian Materi.....	186
Pokok Bahasan 1. Formulir Penyelidikan Epidemiologi .....	186
Pokok Bahasan 2. Pencatatan dan Pelaporan Laboratorium melalui Aplikasi <i>Allrecord-tc19</i> .....	190
Pokok Bahasan 3. Monitoring <i>Allrecord-tc19</i> .....	199
<b>BAB VII: MATERI INTI 5</b> .....	203
Kendali Mutu Pemeriksaan PCR Covid- 19 .....	205
Deskripsi Singkat.....	205
Tujuan Umum .....	205
Tujuan Khusus .....	206
Pokok Bahasan.....	206
Uraian Materi.....	206
Pokok Bahasan 1. Sistem Manajemen Mutu.....	206
Pokok Bahasan 2. Pemantapan Mutu Internal (PMI).....	214
Pokok Bahasan3. Pemantapan Mutu Eksternal (PME).....	215
DAFTAR PUSTAKA.....	223
LAMPIRAN I Surat Keterangan Akreditasi Pelatihan .....	232
LAMPIRAN II Persyaratan Laboratorium Pemeriksa Covid-19 .....	233
LAMPIRAN II Persyaratan Standar Laboratorium Bergerak (Mobile Laboratorium) Biosafety Tingkat 2 Untuk Pemeriksaan Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) .....	233

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1.	Jumlah kasus Covid- 19 yang Dilaporkan Mingguan menurut Wilayah WHO, dan Kematian Global, periode 30 Desember 2019 hingga 04 Oktober 2020.....	6
Gambar 1.2.	Peta Sebaran Covid- 19 di duni (28 September—4 Oktober 2020).....	6
Gambar 1.3.	Peta sebaran Laboratorium Pemeriksa Covid- 19 .....	9
Gambar 2.1.	Transmisi Coronavirus dari Hewan ke manusia.....	39
Gambar 2.2.	Struktur virus SARS-CoV-2.....	41
Gambar 2.3.	Phylogenetic tree clade SARS-CoV-2.....	42
Gambar 2.4.	Perkiraan Masa Infeksi dan Keberadaan Virus Maupun Antibodi pada Infeksi SARS-CoV-2 .....	46
Gambar 2.5.	Contoh Deteksi Cepat Antibodi dengan Lateral Flow Assay .....	47
Gambar 3.1.	Grafik Risiko .....	57
Gambar 3.2.	Alur Kerja di Laboratorium.....	59
Gambar 3.3.	Tiga Kabinet Sistem Tata Udara yang Umum Digunakan dalam Laboratorium .....	64
Gambar 3.4.	BSC Kelas I.....	66
Gambar 3.5.	BSC Kelas II Tipe A1.....	67
Gambar 3.6.	BSC Kelas II Tipe A2.....	68
Gambar 3.7.	BSC Kelas II Tipe B1.....	69
Gambar 3.8.	BSC Kelas II Tipe B2.....	70
Gambar 3.9.	BSC Kelas III .....	71
Gambar 3.10.	Pembagian Area Kerja di dalam BSC .....	76
Gambar 3.11.	Jas Lab/Baju Lab.....	80
Gambar 3.12.	Sarung Tangan.....	81
Gambar 3.13.	Pelindung Wajah dan Pelindung Mata .....	81
Gambar 3.14.	Alas Kaki.....	82
Gambar 3.15.	Pelindung Sepatu ( <i>cover shoes</i> ) .....	82
Gambar 3.16.	Masker Bedah dan Masker N95.....	83
Gambar 3.17.	Pelindung Kepala .....	84

Gambar 3.18. Contoh Formulir Laporan Pajanan (Formulir A) .....	91
Gambar 3.19. Contoh Formulir Laporan Pajanan (Formulir B) .....	92
Gambar 3.20. Alur Bio Spesimen .....	102
Gambar 3.21. Komponen pada Alur Penerimaan Spesimen .....	103
Gambar 3.22. Penyimpanan Sementara Paket Spesimen.....	105
Gambar 3.23. Pembongkaran Paket Spesimen .....	106
Gambar 3.24. Pelabelan Spesimen.....	106
Gambar 3.25. Peta Penyimpanan Spesimen.....	107
Gambar 4.1. Perkiraan Masa Infeksi Virus SARS-CoV-2 untuk Menentukan Jenis Spesimen yang Perlu Diambil ...	113
Gambar 4.2. Alat dan Bahan Pengambilan Spesimen.....	117
Gambar 4.3. Lokasi Pengambilan Nasofaring .....	120
Gambar 4.4. Memasukkan <i>Swab</i> ke dalam VTM .....	120
Gambar 4.5. Lokasi Pengambilan Orofaring .....	121
Gambar 4.6. Memasukkan <i>Swab</i> ke dalam VTM yang Sama dengan Swaborofaring .....	122
Gambar 4.7. Pengemasan Spesimen .....	122
Gambar 4.8. Tempat Penyimpanan Spesimen Sementara Sebelum Pengiriman .....	124
Gambar 4.9. Alat Pemantau Suhu Sesaat (A) dan Berkelanjutan (B)....	128
Gambar 4.10. Contoh Pengemasan Tiga Lapis .....	129
Gambar 5.1. Proses PCR dalam satu siklus .....	137
Gambar 5.2. Proses Amplifikasi dalam PCR .....	139
Gambar 5.3. Proses RT-PCR.....	141
Gambar 5.4. Proses RT-PCR Konvensional.....	143
Gambar 5.5. Hasil RT-PCR Konvensional.....	144
Gambar 5.6. Proses Real Time PCR .....	145
Gambar 5.7. Taqman probe/hidrolisis probe.....	147
Gambar 5.8. Sybr Green I .....	148
Gambar 5.9. Kurva amplifikasi dan Threshold cycle (CT).....	150
Gambar 5.10. Ilustrasi analisis kualitatif rRT-PCR .....	151
Gambar 5.11. Ilustrasi Analisis Kuantitatif.....	153
Gambar 5.12. Beberapa Contoh Alat Ekstraksi Cartridges Based.....	158

Gambar 5.13. Alat Ekstraksi Robotic Based.....	158
Gambar 5.14. Pembagian Area Kerja Pemeriksaan PCR Dan Alur Kerja Satu Arah .....	163
Gambar 5.15. Kecocokan Label Probe dengan Tipe Mesin Real Time PCR .....	166
Gambar 5.16. Ilustrasi Pemeriksaan Multiplex Real-time RT-PCR.....	168
Gambar 5.17. Contoh Pewarna Multiplex (RdRP = FAM, E = HEX, RP=Cy5).....	169
Gambar 5.18. Ilustrasi Pembagian Master Mix SINGLEPLEX ke dalam 96 PCR well plate.....	174
Gambar 5.19. Ilustrasi pembagian reagensia master mix MULTIPLEX ke dalam 96 PCR well plate .....	174
Gambar 5.20. Ilustrasi penambahan sampel RNA, kontrol negatif, dan kontrol positif ke dalam master mix PCR metode SINGLEPLEX.....	175
Gambar 5.21. Ilustrasi penambahan sampel RNA, kontrol negatif, dan kontrol positif ke dalam master mix PCR metode MULTIPLEX.....	175
Gambar 5.22. Pengaturan garis Threshold untuk analisa hasil RT-PCR...	177
Gambar 5.23. Interpretasi hasil rRT-PCR SINGLEPLEX .....	179
Gambar 5.24. Pembacaan nilai Ct Multiplex .....	179
Gambar 5.25. Kurva amplifikasi positif untuk ketiga gen dalam satu sampel (RdRP = FAM, E = HEX, RP=Cy5)...	180
Gambar 5.26. Contoh kurva NON-Amplifikasi (tidak sigmoid).....	182
Gambar 5.27. Contoh kurva non sigmoid .....	182
Gambar 6.1. Formulir penyelidikan epidemiologi.....	190
Gambar 7.1. Elemen penting sistem manajemen mutu.....	207
Gambar 7.2. Formulir uji validasi .....	219

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Jejaring Laboratorium Rujukan COVID-19 WHO.....	14
Tabel 1.2. Daftar Ringkasan Protokol Reagen PCR In-house COVID-19 ...	16
Tabel 1.3. Daftar Penggunaan Kedaruratan WHO (WHO emergency use listing) Diagnosis In Vitro untuk Mendeteksi Asam Nukleat SARS-CoV-2 .....	16
Tabel 1.4. Situasi di mana Ag-RDT SARS-CoV-2 sebaiknya tidak digunakan, menurut informasi yang ada saat ini .....	26
Tabel 1.5. Perbedaan Kriteria Kasus Untuk Konfirmasi Laboratorium dengan RT-PCR .....	31
Tabel 2.1. Daftar Beberapa protokol real-time RT-PCR in-house dari beberapa negara yang dimuat di WHO.....	49
Tabel 3.1. Matriks Penilaian Risiko.....	55
Tabel 3.2. Jenis kabinet dengan sistem tata udara dan fungsi perlindungannya .....	64
Tabel 3.3. Klasifikasi Biosafety Cabinet (BSC) .....	65
Tabel 4.1. Jenis Spesimen, Suhu penyimpanan dan Pengiriman Ideal.....	114
Tabel 4.2. Stabilitas virus SARS-CoV-2 pada beberapa suhu .....	125
Tabel 5.1. Permasalahan dan Penyebab Hasil Ekstraksi RNA Tidak Optimal .....	162
Tabel 5.2. Rekomendasi WHO untuk Primer dan probe set untuk Pemeriksaan SARS-CoV-2 .....	171
Tabel 5.3. Contoh Pengaturan Suhu Mesin real time RT-PCR.....	176
Tabel 5.4. Interpretasi Hasil rRT-PCR dengan Protokol CDC .....	178
Tabel 5.5. Interpretasi Hasil rRT-PCR dengan Protokol CDC .....	180
Tabel 5.6. Penyebab Kegagalan rRT-PCR dan Masalahnya.....	181

## DAFTAR SINGKATAN

AC	:	Air Conditioner
APD	:	Alat Pelindung Diri
B3	:	Bahan Berbahaya dan Beracun
BSC	:	Biological Safety Cabinet
BSL	:	Biosafety Level
CDC	:	Centers for Disease Control and Prevention
cDNA	:	complementary DNA
CFR	:	Case Fatality Rate
COVID-19	:	Coronavirus Disease 2019
CsCl	:	Caesium chloride
CT	:	Cycle threshold
CTAB	:	Cetyl trimethyl ammonium bromide
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
dNTP's	:	deoxynucleotide triphosphates
EDTA	:	Ethylenediaminetetraacetic acid
EtBr	:	Ethidium Bromide
FIND	:	Foundation for Innovative New Diagnostics
GLP	:	Good Laboratory Practice
GMPP	:	Good microbiological practice and procedure
HEPA	:	High-efficiency particulate air
IATA	:	International Air Transport Association
IgG	:	Imunoglobulin G
IgM	:	Imunoglobulin M
KKMMD	:	Kedaruratan Kesehatan Masyarakat Yang Meresahkan Dunia
KKP	:	Kantor Kesehatan Pelabuhan
KLHK	:	Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan
LAF	:	Laminar Air Flow
MERS	:	Middle East Respiratory Syndrome
MgCl <sub>2</sub>	:	Magnesium dichloride

NAAT	:	Nucleic Acid Amplification Test
NaCl	:	Natrium Klorida
NC	:	Negative Control
NSF	:	National Sanitation Foundation
NTC	:	No Template Control
PBS	:	Phosphate Buffer Saline
PC	:	Positive Control
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
PE	:	Penyelidikan Epidemiologi
PHEIC	:	Public Health Emergency of International Concern
PME	:	Pemantapan Mutu Eksternal
PMI	:	Pemantapan Mutu Internal
POB	:	Pedoman operasional baku
POC	:	Point of Care
RBD	:	Receptor Binding Domain
RDT	:	Rapid Diagnostic Test
RNA	:	Ribonucleic acid
rRT-PCR	:	Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
RT-PCR	:	Reverse Transcriptase Polymerase Chain
SARS	:	Severe Acute Respiratory Syndrome
SARS-CoV-2	:	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SDS	:	Sodium Dodesil Sulfat
SITB	:	Sistem Informasi Tuberkulosis
SPO	:	Standar Prosedur Operasional
TAE	:	Tris-acetate EDTA
TBE	:	Tris-borate-EDTA
TCM	:	Tes Cepat Molekuler
UNICEF	:	United Nations Children's Fund
UPS	:	Uninterruptible Power Supply
UV	:	Ultra violet
VTM	:	Viral Transport Medium
WHO	:	World Health Organization

## PRAKATA

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan telah ditunjuk sebagai Laboratorium Rujukan Nasional untuk pemeriksaan PCR COVID-19. Dalam rangka menyiapkan semua laboratorium dengan pengetahuan yang sama mengenai pemeriksaan PCR COVID-19, maka telah disusun Pedoman Pemeriksaan PCR Sars-Cov-2 Bagi Petugas Laboratorium

Pedoman Pemeriksaan PCR Sars-Cov-2 Bagi Petugas Laboratorium terdiri dari tujuh modul yaitu dua materi dasar (Situasi global dan nasional serta kebijakan pengendalian COVID-19 dan pengenalan virus SARS-COV-2 dan metode deteksi PCR) dan lima materi inti (*Biosafety* dan *biosecurity* laboratorium terkait COVID-19; penatalaksanaan spesimen untuk deteksi PCR COVID-19; prosedur pemeriksaan rRT-PCR COVID-19; pencatatan dan pelaporan pemeriksaan PCR COVID-19; dan kendali mutu pemeriksaan PCR COVID-19). Pedoman ini disusun sebagai acuan dalam pelatihan pemeriksaan PCR COVID-19 yang telah terakreditasi oleh Pusat Pelatihan SDM Kesehatan, Badan PPSDM Kesehatan Nomor: 521/H/A.P/X/2020.

Semoga Pedoman ini bermanfaat bagi petugas laboratorium yang melakukan pemeriksaan PCR COVID-19 dalam upaya percepatan pemeriksaan spesimen dan penanganan pasien COVID-19.

Jakarta, Oktober 2020

Penulis

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkah dan karunia-Nya sehingga Pedoman Pemeriksaan PCR Sars-Cov-2 Bagi Petugas Laboratorium dapat diselesaikan dengan baik.


Pada 30 Januari 2020, WHO mendeklarasikan Covid- 19 sebagai *Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC). Pada tanggal 11 Maret 2020, WHO meningkatkan status Covid- 19 menjadi pandemi global. Kemudian Indonesia menetapkan Covid- 19 sebagai bencana nasional pada tanggal 14 Maret 2020. Kasus Covid-19 di Indonesia terus meningkat setiap harinya. Hal tersebut berpengaruh terhadap kebutuhan pemeriksaan PCR di laboratorium untuk kepastian diagnosis Covid- 19 . Kementerian Kesehatan Republik Indonesia telah mengeluarkan beberapa surat keputusan penunjukan laboratorium pemeriksa PCR Covid- 19 untuk mempercepat pemeriksaan spesimen dan penanganan pasien Covid- 19

Salah satu upaya untuk meningkatkan kapasitas laboratorium pemeriksa PCR Covid- 19 adalah dengan pelatihan. Beberapa pelatihan yang terkait dengan pemeriksaan PCR COVID-19 telah dilakukan sejak akhir Maret 2020. Namun, materi pada setiap pelatihan tersebut belum seragam. Dalam rangka menyiapkan semua laboratorium dengan pengetahuan dan pemahaman yang sama mengenai teknis pemeriksaan *Real-Time* RT-PCR keamanan serta keselamatan hayati, diperlukan pedoman pelatihan sebagai acuan bahan ajar pada setiap pelatihan.

Pedoman pelatihan ini disusun oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kementerian Kesehatan RI, yang didukung oleh APHL Indonesia, CDC Indonesia, dan WHO Indonesia.

Saya sampaikan terima kasih dan penghargaan kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan pedoman ini. Saya berharap pedoman pelatihan ini dapat dimanfaatkan dengan baik dan menjadi acuan dalam pelatihan pemeriksaan PCR Covid- 19 .

Jakarta, November 2020  
Kepala Badan Litbangkes,



**dr. Slamet, M.H.P.**

Bab I Materi Dasar 1

---

**SITUASI GLOBAL  
DAN NASIONAL  
SERTA KEBIJAKAN  
LABORATORIUM  
UNTUK PENGENDALIAN  
COVID-19**



## **SITUASI GLOBAL DAN NASIONAL SERTA KEBIJAKAN LABORATORIUM UNTUK PENGENDALIAN COVID-19**

### **Deskripsi Singkat**

*Coronavirus Disease 2019* (Covid- 19 ) merupakan penyakit menular jenis baru yang belum diidentifikasi sebelumnya pada manusia. Penyakit ini telah melanda hampir di seluruh negara di dunia, termasuk Indonesia. Untuk pengendalian penyakit tersebut, perlu diketahui situasinya, baik secara global maupun nasional. Walaupun kondisi di beberapa negara berbeda-beda, secara global dan nasional jumlah kasus Covid- 19 masih terus meningkat. Hal tersebut berdampak juga pada kebutuhan pemeriksaan laboratorium. WHO telah mengeluarkan beberapa pedoman interim terkait dengan laboratorium Covid- 19 dan instrumen penilaian laboratorium untuk laboratorium pemeriksaan Covid- 19 .

### **Tujuan Umum**

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu memahami situasi global dan nasional serta kebijakan pemeriksaan laboratorium Covid-19.

### **Tujuan Khusus**

Setelah mengikuti materi dalam pelatihan, peserta mampu

1. menjelaskan situasi global dan nasional pandemi Covid- 19 ;
2. menjelaskan pedoman interim WHO terkait laboratorium Covid- 19 ;

3. menjelaskan reagen (*assays*) molekuler untuk diagnosis Covid- 19;
4. menjelaskan *tool* penilaian laboratorium untuk laboratorium yang melakukan pemeriksaan Covid- 19 ;
5. menjelaskan pernyataan keilmuan: saran tentang penggunaan tes imundiagnostik di fasyankes (*point- of-care*) untuk Covid- 19 .

## **Pokok Bahasan**

1. Situasi Global dan nasional pandemi Covid- 19
2. Pedoman interim dan Kebijakan WHO terkait laboratorium Covid- 19
3. Pedoman Nasional Pemeriksaan COVID-19

## **Uraian Materi**

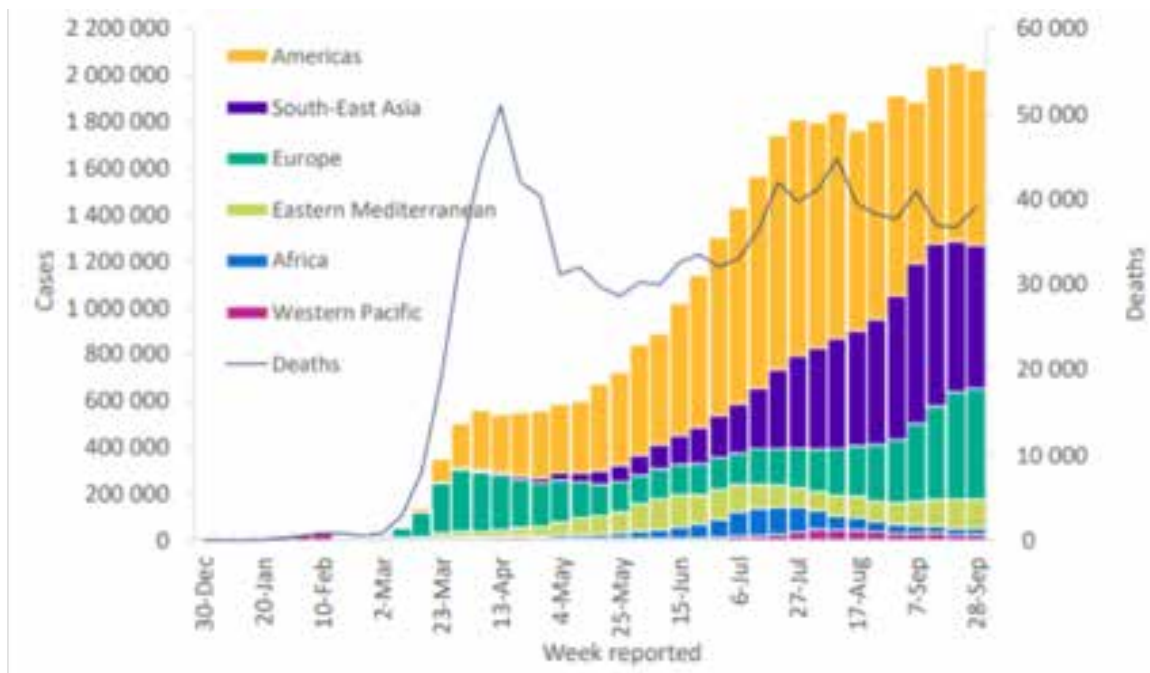
### **Pokok Bahasan 1. Situasi Global dan Nasional Pandemi Covid- 19**

*Coronavirus Disease 2019* ( Covid- 19 ) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh Coronavirus jenis baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya pada manusia. Penyakit ini diawali dengan munculnya kasus pneumonia yang tidak diketahui etiologinya di Wuhan, China pada akhir Desember 2019 (Li *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil penyelidikan epidemiologi, kasus tersebut diduga berhubungan dengan Pasar *Seafood* di Wuhan. Pada tanggal 7 Januari 2020, Pemerintah China mengumumkan bahwa penyebab kasus tersebut adalah Coronavirus jenis baru yang kemudian diberi nama SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Virus ini berasal dari famili yang sama dengan virus penyebab *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) dan *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS). Meskipun berasal dari famili yang sama, SARS-

CoV-2 lebih menular jika dibandingkan dengan SARS-CoV dan MERS-CoV (CDC China, 2020). Pada tanggal 30 Januari 2020, WHO menetapkan COVID-19 sebagai Kedaruratan Kesehatan Masyarakat yang Meresahkan Dunia (KKMMD)/ *Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC). Pada tanggal 11 Maret 2020, WHO menyatakan Covid-19 sebagai pandemi.

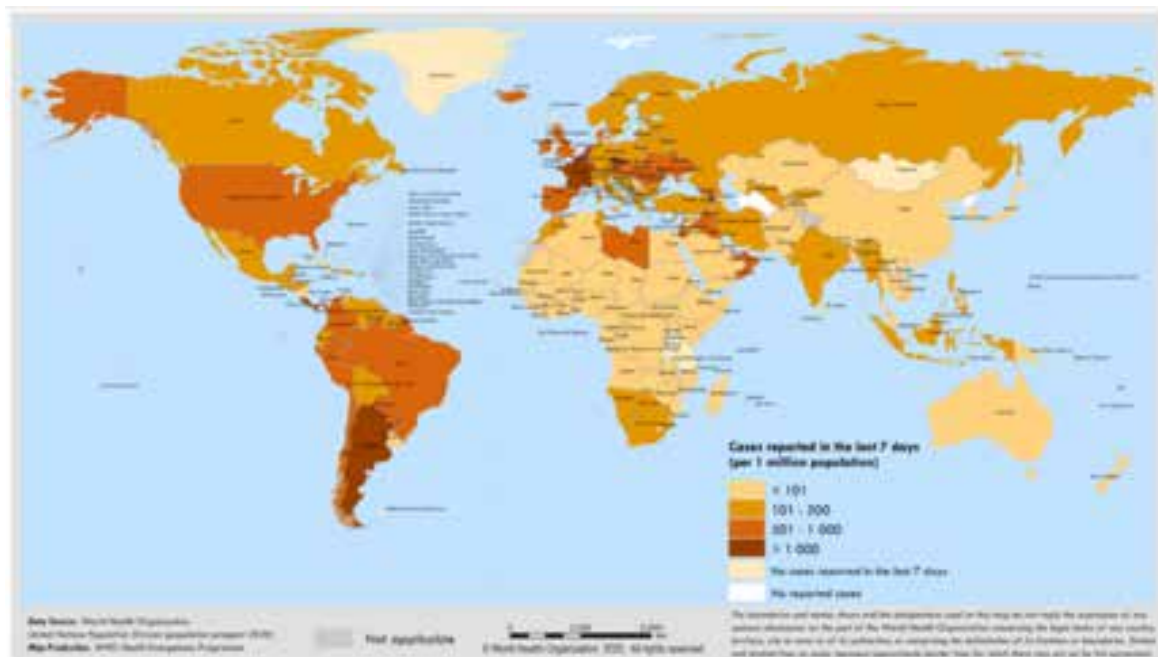
Situasi global pandemi Covid- 19 meningkat secara eksponensial. 100.000 kasus pertama membutuhkan waktu 67 hari, 100.000 kasus kedua membutuhkan waktu 11 hari, 100.000 hari ketiga membutuhkan waktu 4 hari, dan 100.000 keempat membutuhkan waktu 2 hari. Sampai dengan tanggal 8 Oktober 2020 secara global dilaporkan 36,002,827 kasus terkonfirmasi dengan 338,779 kasus baru dan 1,049,810 kematian.

Jumlah kasus baru per minggu tetap stabil di angka 2 juta selama pertengahan September hingga awal Oktober 2020 (Gambar 1.1), dengan total kumulatif lebih dari 34,8 juta kasus. Lebih dari 1 juta kematian sekarang telah dilaporkan secara global, yang sebagian besar dilaporkan di wilayah Amerika (55%), diikuti oleh Eropa (23%). Dalam seminggu terakhir, wilayah Amerika, Asia Tenggara, dan Eropa mencapai 91% kasus baru. Lima negara ( India, Amerika Serikat, Brasil, Argentina, dan Prancis) melaporkan 60% kasus global baru minggu lalu. Sementara itu, Israel mencatat insiden tertinggi (3.717 kasus baru kasus per 1 juta penduduk). Secara global, persentase kasus tertinggi telah dilaporkan di kelompok usia 25—39 tahun dengan sekitar 50% kasus pada kelompok usia 25—64 tahun. Namun, persentase kematian meningkat seiring dengan bertambahnya usia dan sekitar 75% kematian terjadi pada mereka yang berusia 65 tahun ke atas (WHO, 2020).



Gambar 1.1 Jumlah kasus Covid- 19 yang Dilaporkan Mingguan Menurut Wilayah WHO, dan Kematian Global, Periode 30 Desember 2019 hingga 04 Oktober 2020  
Sumber: WHO, 2020.

Peta sebaran Covid- 19 di dunia pada tujuh hari terakhir (28 September – 4 Oktober 2020) dapat dilihat pada Gambar 1.2.



Gambar 1.2 Peta sebaran Covid- 19 di Ddunia (28 September—4 Oktober 2020)  
Sumber: WHO, 2020.

Pada tanggal 2 Maret 2020, Indonesia melaporkan kasus pertama Covid-19 sebanyak 2 kasus. Jumlah kasus konfirmasi terus meningkat setiap harinya. Sampai dengan tanggal 17 Juli 2020, Kementerian Kesehatan melaporkan 81.668 kasus konfirmasi Covid-19 dengan 3.873 kasus meninggal (CFR 4,7%) yang tersebar di 34 provinsi. Provinsi yang paling banyak melaporkan kasus konfirmasi adalah Jawa Timur, DKI Jakarta, Sulawesi Selatan, Jawa Tengah, dan Jawa Barat. Kasus paling banyak terjadi pada rentang usia 45—54 tahun dan paling sedikit terjadi pada usia 0—5 tahun. Angka kematian tertinggi ditemukan pada pasien dengan usia 55—64 tahun (Kementerian Kesehatan, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh CDC China, kasus paling banyak terjadi pada pria (51,4%) dan terjadi pada usia 30—79 tahun dan paling sedikit terjadi pada usia <10 tahun (1%). Sebanyak 81% kasus merupakan kasus yang ringan, 14% parah, dan 5% kritis (Wu Z dan McGoogan JM, 2020). Orang dengan usia lanjut atau yang memiliki penyakit bawaan diketahui lebih berisiko untuk mengalami penyakit yang lebih parah. Usia lanjut juga diduga berhubungan dengan tingkat kematian. CDC China melaporkan bahwa CFR pada pasien dengan usia  $\geq 80$  tahun adalah 14,8%, sedangkan CFR keseluruhan hanya 2,3%. Hal yang sama juga ditemukan pada penelitian di Italia, CFR pada usia  $\geq 80$  tahun adalah 20,2%, sedangkan CFR keseluruhan adalah 7,2% (Onder G, Rezza G, Brusaferro S, 2020). Tingkat kematian juga dipengaruhi oleh adanya penyakit bawaan pada pasien. Tingkat 10,5% ditemukan pada pasien dengan penyakit kardiovaskular, 7,3% pada pasien dengan diabetes, 6,3% pada pasien dengan penyakit pernapasan kronis, 6% pada pasien dengan hipertensi, dan 5,6% pada pasien dengan kanker (Onder G, Rezza G, Brusaferro S, 2020).

Dalam rangka penanggulangan Covid- 19 , Presiden Republik Indonesia pada tanggal 13 Maret 2020 mengeluarkan Keputusan Presiden No. 7 Tahun 2020 tentang Gugus Tugas Percepatan Penanganan *Corona Virus Disease* 2019 (Covid- 19 ). Terbentuknya Gugus Tugas Nasional ini diikuti dengan pembentukan Gugus Tugas Daerah yang diharapkan dapat mempercepat penanganan Covid- 19 dengan langkah-langkah cepat, tepat, fokus, terpadu, dan sinergis antarkementerian/lembaga dan pemerintah daerah. Pada tanggal 20 Juli 2020 Pemerintah mengeluarkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2020 tentang Komite Penanganan *Corona Virus Disease* 2019 ( Covid- 19 ) dan Pemulihan Ekonomi Nasional. Komite ini mengambil alih fungsi Gugus Tugas dan secara otomatis mencabut Peraturan Presiden No. 7 Tahun 2020. Kebijakan pembentukan Komite Nasional Penanggulangan Covid- 19 disusul dengan dikeluarkannya Surat Edaran Nomor 440/2622/SJ tentang Pembentukan Satuan Tugas Percepatan Penanganan *Corona Virus Diseases* 2019 (COVID-19), Edaran oleh Menteri Dalam Negeri. (Perpres No. 7 Tahun 2020, SE Mendagri No. 440/2622/SJ).

Seiring dengan berjalannya waktu, terjadi penambahan jumlah laboratorium pemeriksa baik instansi pemerintah, universitas maupun swasta dalam rangka mendukung penanggulangan Covid- 19 hingga periode 4 Oktober 2020 sudah tercatat 377 laboratorium pemeriksa PCR COVID-19 baik yang dengan TCM maupun yang dengan RT PCR.



Gambar 1.3. Peta sebaran Laboratorium Pemeriksa COVID-19  
 Sumber: Balitbangkes, 2020

## **Pokok Bahasan 2. Pedoman Interim WHO terkait dengan Laboratorium COVID-19**

Pedoman interim merupakan pedoman sementara yang dapat berubah sesuai dengan perkembangan informasi dan pengetahuan. WHO telah mengeluarkan berbagai macam pedoman interim Covid- 19 ,. Salah satunya adalah pedoman interim terkait dengan laboratorium. Beberapa pedoman interim terkait dengan laboratorium yang telah dikeluarkan oleh WHO adalah sebagai berikut.

### **1. Pedoman interim pemeriksaan laboratorium**

Pedoman interim pemeriksaan laboratorium pada kasus suspek Covid-19 pertama kali dikeluarkan pada tanggal 17 Januari 2020. Pedoman tersebut berisi tentang pengambilan dan pengiriman spesimen, termasuk di dalamnya jenis spesimen, suhu pengiriman dan penyimpanan spesimen, dan rekomendasi untuk pengulangan pemeriksaan pada hasil negatif. Hal itu berasal dari spesimen saluran pernapasan atas; pemeriksaan spesimen pasien suspek Covid- 19 di laboratorium referral, termasuk di dalamnya jenis pemeriksaan (molecular, serologi, dan sekuensing) serta pelaporan kasus dan hasil tes. Pada tanggal 2 dan 19 Maret 2020, pedoman interim tersebut telah diperbaharui terkait dengan suhu pengiriman dan penyimpanan spesimen serta acuan penelitian untuk meningkatkan deteksi Covid- 19. Pada pedoman tersebut juga terdapat informasi terkait dengan penggunaan saline steril jika *viral transport medium* VTM tidak tersedia dan terdapat rekomendasi terkait dengan algoritma pemeriksaan yang lebih sederhana pada daerah virus Covid- 19 sudah menyebar dengan luas seperti skrining molekuler dengan rRT-PCR dengan penggunaan satu sasaran pemeriksaan gen yang dapat membedakan (*discriminatory*) dianggap cukup.

Pedoman interim ini diperbaiki lagi tanggal 11 September 2020 dengan rincian perubahan sebagai berikut. Keputusan

untuk melakukan tes harus didasarkan pada faktor klinis dan epidemiologis. Pengambilan cepat spesimen yang sesuai dengan pasien yang diduga kuat mengalami infeksi Covid- 19 dan diagnosis laboratorium yang akurat atas pasien tersebut adalah dua prioritas yang mendukung tata laksana klinis pasien dan langkah pengendalian infeksi. Karena rumitnya pengambilan sampel yang memadai, analisis laboratorium, dan interpretasi hasil, pengambilan dan diagnosis laboratorium harus dilakukan oleh operator yang terlatih dan kompeten.

Spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan (1) spesimen saluran pernapasan, (2) spesimen fekal, (3) spesimen *post mortem* dan (4) spesimen serum. Pedoman ini juga menyertakan panduan untuk alternatif ekstraksi bila tidak tersedia, penggabungan spesimen (*pooling*), dan dilengkapi dengan beberapa lampiran seperti daftar tilik untuk mengurangi kemungkinan kasus hasil positif palsu rRT-PCR dan penanganan hasil yang samar.

## **2. Pedoman interim terkait dengan strategi untuk pemeriksaan laboratorium Covid- 19**

Pada pedoman ini WHO merekomendasikan strategi prioritas pemeriksaan laboratorium berdasarkan skenario adanya empat jenis negara berdasarkan transmisi kasus Covid- 19 :

- a. negara tanpa kasus (tidak ada kasus);
- b. negara dengan satu kasus atau lebih, diimpor, atau terdeteksi secara lokal (kasus sporadis);
- c. negara-negara dengan klaster terkait dengan waktu, lokasi geografis, atau paparan umum (kasus klaster);
- d. negara yang mengalami wabah yang lebih besar atau transmisi lokal yang berkelanjutan dan merebak (transmisi komunitas).

Strategi penentuan prioritas pada pemeriksaan laboratorium berdasarkan transmisi Covid-19 di masyarakat diperlukan karena dalam satu negara dapat memiliki daerah tanpa kasus dan dengan transmisi di masyarakat. Strategi pemeriksaan yang berbeda mungkin diperlukan di dalam satu negara yang sama. Jika kapasitas diagnostik tidak mencukupi, diterapkan prioritas pemeriksaan pada

- Orang yang memiliki risiko akan menderita gejala penyakit yang parah dan populasi rentan yang akan memerlukan rawat inap dan perawatan lanjutan untuk Covid- 19.
- petugas kesehatan yang memiliki gejala simptomatik (termasuk layanan darurat dan staf nonklinis) terlepas dari mereka memiliki kontak dari kasus terkonfirmasi atau tidak (untuk melindungi petugas kesehatan dan mengurangi risiko transmisi nosokomial).
- Individu pertama yang mengalami gejala di tempat/fasilitas tertutup (*closed setting*), seperti sekolah, panti jompo, penjara, dan rumah sakit) untuk dapat mengidentifikasi wabah dengan cepat serta memastikan tindakan penahanan (*containment measures*). Semua individu lain dengan gejala Covid- 19 yang berada di tempat/fasilitas tertutup (*closed setting*) dapat dianggap sebagai kasus *probable* dan diisolasi tanpa pemeriksaan tambahan jika kapasitas pemeriksaan terbatas.

### **3. Pedoman interim *biosafety* laboratorium**

Pedoman interim *biosafety* laboratorium terkait dengan Covid-19 pertama kali dikeluarkan pada tanggal 12 Februari 2020

kemudian diperbaharui pada tanggal 19 Maret 2020. Pedoman interim tersebut berisi tentang persyaratan utama laboratorium pemeriksa PCR Covid-19 , seperti *Good Microbiological Practice and Procedure* (GMPP); pelatihan dan kompetensi personel; desain fasilitas; penerimaan dan penyimpanan spesimen; dekontaminasi dan manajemen limbah; alat pelindung diri (APD); peralatan laboratorium; rencana respons darurat/insiden; dan kesehatan kerja. Pedoman tersebut juga membahas penilaian risiko beserta t contoh formulir penilaian risiko.

Pada tanggal 13 Mei 2020 WHO mengeluarkan pedoman interim *biosafety* laboratorium yang telah diperbaharui. Pada pedoman tersebut disebutkan bahwa pada pemeriksaan PCR Covid-19 dengan *point of care* (POC) atau *near POC assays* (misalnya menggunakan alat TCM) dapat dilakukan di *bench* (tanpa *Biological Safety Cabinet / BSC*) dengan melakukan penilaian risiko terlebih dahulu dan memenuhi persyaratan di bawah ini.

- Meja pemeriksaan dialasi dengan tisu (*paper towel*) yang berukuran besar dan area kerja berventilasi baik, serta tidak ada dokumen, komputer atau barang pribadi lainnya.
- Alat pelindung diri (APD) digunakan dengan tepat yang dikenakan serupa dengan pemeriksaan manual lainnya.
- Penilaian risiko harus menyertakan informasi penggunaan perlindungan pernapasan sebagai tindakan pencegahan tambahan.
- Staf terlatih dengan baik dalam GMPP.
- Pemeriksaan tidak terburu-buru.
- Proses limbah infeksius yang tervalidasi termasuk penanganan sisa spesimen.

#### 4. Pedoman interim terkait dengan pengiriman spesimen ke laboratorium rujukan WHO yang menyediakan pemeriksaan konfirmasi untuk virus Covid-19

WHO telah menetapkan mekanisme pengiriman untuk mempercepat dan membiayai pengiriman sampel klinis dari pasien dengan dugaan Covid-19 dari negara pengumpul ke salah satu laboratorium rujukan yang menyediakan konfirmasi pemeriksaan molekuler untuk Covid-19 sebagaimana yang tercantum di Tabel 1.1.

Tabel 1.1 Jejaring Laboratorium Rujukan Covid-19 WHO

Negara	Kota	Laboratorium Rujukan
Australia	Melbourne	Victorial Infectious Diseases Reference Laboratory
Brazil	Rio des Janeiro	Respiratory Virology Laboratory, Fio Cruz
Cambodia	Phnom Penh	Pasteur Institute of Cambodia
China	Beijing	China CDC
China, Hong Kong SAR	Hong Kong	School of Public Health University of Hong Kong
France	Paris	Institut Pasteur Paris
Germany	Berlin	German coronavirus diagnostic working group, Institute of Virology, Charité and Robert Koch Institute
India	Pune	ICMR - National Institute of Virology
Italy	Rome	National Institute of Infectious Diseases (INMI), L. Spallanzani
Japan	Nagasaki	Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University
Mexico	Mexico City	Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE)
Oman	Muscat	Central Public Health Laboratory

Negara	Kota	Laboratorium Rujukan
Russian Federation	Koltsovo	The State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR
Senegal	Dakar	Institut Pasteur Dakar
Singapore	Singapore	National Public Health Laboratory
South Africa	Johannesburg	Centre for Respiratory Diseases and Meningitis, National Institute for Communicable Diseases
Switzerland	Geneva	University Hospital of Geneva
Thailand	Nonthaburi	National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health
Thailand	Bangkok	Armed Forces Research Institute of Medical Science

Tanggal terakhir diperbarui: 19 April 2020

## 5. Reagen Pemeriksaan Molekuler untuk Diagnosis Covid-19

Pemeriksaan dengan metode molekuler menjadi pilihan utama untuk diagnosis Covid-19. Banyak reagen (*assay*) *in-house* dan komersial untuk mendeteksi virus Covid-19 telah atau sedang dikembangkan serta dalam tahap validasi di laboratorium mitra. Gambaran umum tentang proses evaluasi reagen yang telah diterapkan oleh *Foundation for Innovative New Diagnostics / FIND* dan daftar reagen yang berpartisipasi untuk evaluasi tersebut dapat dilihat di situs web FIND.

Pada awal terjadinya wabah Covid-19, WHO menyediakan akses ke protokol PCR *in-house* Covid-19 dengan mengunduh dokumen protokol secara daring (*online*) di situs web WHO. Namun, WHO tidak menyiratkan dukungan atau validasi

terhadap Reagen PCR *in-house* Covid-19 yang terdaftar dalam dokumen daring (*online*) tersebut (Tabel 1.2). Hingga saat ini, protokol tersebut tidak diperbarui secara daring (*online*) dan tidak mencerminkan penyempurnaan reagen berikutnya. Selain protokol tersebut, WHO juga mengunduh daftar penggunaan darurat (*emergency use listing/EUL*) diagnosis *in vitro* untuk mendeteksi asam nukleat SARS-CoV-2 (Tabel 1.3).

Tabel 1.2 Daftar Ringkasan Protokol Reagen PCR *In-house* Covid-19

Institusi	Target Gen
China CDC, China	ORF1ab dan N
Institut Pasteur, Paris, France	Dua target pada RdRP
US CDC, USA	Tiga target pada gen N
National Institute of Infectious Diseases, Japan	Pancorona dan beberapa target lainnya, Spike protein
Charité, Germany	RdRP, E, N
HKU, Hong Kong SAR	ORF1b-nsp14, N
National Institute of Health, Thailand	N

Tabel 1.3 Daftar Penggunaan Kedaruratan WHO (WHO *emergency use listing*) Diagnosis In Vitro untuk Mendeteksi Asam Nukleat SARS-CoV-2

Update terakhir: 2 Oktober 2020

***Rapid Antigen Tests***

Date Listed	Product name	Product code(s)	Manufacturer
2 Oktober 2020	Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device (NASOPHARYNGEAL)	41FK10	Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH
22 September 2020	STANDARD Q COVID-19 Ag Test	09COV30D	SD Biosensor, Inc

### *Nucleic Acid Tests*

<b>Date Listed</b>	<b>Product name</b>	<b>Product code(s)</b>	<b>Manufacturer</b>
15 September 2020	SARS-CoV-2 Nucleic acid detection kit based on Real-Time PCR platform	PGA4102P1 (liquid) / PGA4102P2 (lyophilized form)	Tellgen Corporation
2 September 2020	Novel Coronavirus (2019-nCoV) RT-PCR Detection Kit (commercial name: Fosun 2019-nCoV qPCR)	PCSYHF	Shanghai Fosun Long March Medical Science Co., Ltd.
28 Agustus 2020	SARS-CoV-2 Virus Detection Diagnostic Kit (RT-qPCR Method)	XC25073	Ningbo Health Gene Technologies Co., Ltd.
14 Agustus 2020	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit	A48067	Thermo Fisher Scientific
14 Agustus 2020	Wantai SARS-CoV-2 RT-PCR	WS-1248	Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd
9 Juli 2020	COVID-19 Coronavirus Real Time PCR Kit	JC10223-1NW-50T	Jiangsu Bioperfectus Technologies Co.,Ltd
06 Juli 2020	Simplexa COVID-19 Direct and Simplexa COVID-19 Positive control Pack	MOL4150, MOL4160	DiaSorin
23 Juni 2020	Xpert Xpress SARS-CoV-2	XPRSARS-COV2-10	Cepheid AB
15 Juni 2020	COVID-19 Real-Time PCR Kit	HBRT-COVID-19	Chaozhaou HybriBio Biochemistry Ltd.

Date Listed	Product name	Product code(s)	Manufacturer
11 Juni 2020	Novel Coronavirus 2019-nCoV Nucleic Acid Detection Kit (Real Time PCR)	GZ-D2RM25	Shanghai GeneoDx Biotechnology Co., Ltd
8 Juni 2020	Diagnostic kit for SARS-CoV-2 Nucleic acid (Real-time PCR)	KH-G-M-574-48	Shanghai Kehua Bio-engineering Co., Ltd.
22 Mei 2020	Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Real Time Multiplex RT-PCR Kit	RR-0485-02	Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd
21 Mei 2020	FTD SARS-CoV-2 (FTD-114-32)0	11416300	Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à r.l.
19 Mei 2020	Multiple Real-Time PCR Kit for Detection of 2019-nCoV	CT8233-48T	Beijing Applied Biological Technologies Co. Ltd., (XABT)
14 Mei 2020	Detection Kit for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) RNA (PCR- Fluorescence Probing)	DA0930, DA0931 and DA0932	Da An Gene Co., Ltd. Of Sun Yat-sen University
07 Mei 2020	Real-time fluorescent RT-PCR kit for detecting 2019-nCoV	MFG030011	BGI Europe A/S
24 April 2020	PerkinElmer SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay	SY580	PerkinElmer Inc.
09 April 2020	Abbott Realtime SARS-CoV-2	09N77-090 and 09N77-080	Abbott Molecular Inc.
7 April 2020	Primerdesign Ltd COVID-19 genesig Real-Time PCR assay	Z-Path-COVID-19-CE	Primerdesign Ltd.

Date Listed	Product name	Product code(s)	Manufacturer
3 April 2020	cobas SARS-CoV-2 Qualitative assay for use on the cobas 6800/8800 Systems	09175431190 and 09175440190	Roche Molecular Systems, Inc.

## 6. Instrumen Penilaian Laboratorium untuk Laboratorium Pemeriksaan Covid-19

Instrumen penilaian laboratorium dirancang khusus untuk menilai kapasitas laboratorium yang ada, yang telah melakukan atau bertujuan untuk melakukan pemeriksaan PCR Covid-19 . Ini ditujukan untuk kapasitas utama dari *laboratorium* dan terkait juga dengan pemeriksaan virus Covid-19. . Penilaian laboratorium tersebut dapat dilakukan oleh otoritas/badan kesehatan nasional, lembaga multilateral, organisasi nonpemerintah (LSM) dan manajer laboratorium. Beberapa aspek yang dinilai pada *tool* tersebut adalah sebagai berikut:

1. organisasi dan manajemen;
2. dokumen;
3. pengambilan, penanganan, dan transportasi spesimen;
4. manajemen data dan informasi;
5. manajemen bahan habis pakai dan reagen
6. manajemen peralatan;
7. fasilitas;
8. Sumber daya masyarakat (SDM);
9. manajemen biorisiko;
10. fungsi kesehatan masyarakat;
11. kapasitas dan kemampuan pemeriksaan Covid-19 ;
12. analisis *gap*/kesenjangan.

## 7. Penggunaan Tes Imundiagnostik di Fasyankes (*point-of-care*) untuk Covid-19 (8 April 2020)

### A. Tes diagnostik cepat berbasis deteksi antigen

Salah satu jenis tes diagnostik cepat (*Rapid Diagnostic Test* - RDT) adalah dengan mendeteksi adanya protein virus (antigen) Covid-19 pada sampel dari saluran pernapasan seseorang. Antigen yang terdeteksi hanya bisa diekspresikan saat virus aktif bereplikasi. Oleh karena itu, tes ini paling baik digunakan untuk mengidentifikasi infeksi pada fase akut atau tahap awal infeksi.

Kinerja alat tes dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti waktu mulai munculnya gejala penyakit, konsentrasi virus pada spesimen, kualitas spesimen yang diambil dan cara pemrosesannya, serta formulasi reagen pada alat tes. Berdasarkan pengalaman penggunaan RDT berbasis antigen untuk penyakit-penyakit saluran pernapasan lain seperti influenza, konsentrasi virus pada sampel dari saluran pernapasan pasien sebanding dengan Covid-19. Sensitivitas jenis-jenis tes ini diperkirakan berkisar dari 34% sampai 80%.

Informasi ini menandakan bahwa tes jenis ini kemungkinan akan melewatkan setengah atau lebih jumlah pasien terinfeksi Covid-19, tergantung pada grup pasien yang diperiksa. Asumsi-asumsi ini perlu segera diteliti lebih lanjut untuk memahami tingkat keakuratan tes jenis ini. Selain itu, hasil positif palsu – yaitu hasil tes yang menunjukkan bahwa seseorang terinfeksi padahal sebenarnya tidak – kemungkinan dapat terjadi jika antibodi pada strip uji juga bereaksi terhadap antigen virus selain Covid-19, seperti tipe coronavirus manusia penyebab batuk pilek. Jika alat-alat tes deteksi antigen yang dikembangkan atau dijual menunjukkan kinerja yang memadai, alat tes tersebut dapat digunakan untuk

uji triase yang mampu dengan cepat mengidentifikasi pasien yang kemungkinan besar terinfeksi Covid-19 sehingga dapat mengurangi atau menghapuskan kebutuhan akan tes konfirmasi molekuler yang berbiaya yang besar.

Keterbatasan data tes diagnostik cepat berbasis deteksi antigen yang tersedia sampai saat ini **WHO tidak merekomendasikan penggunaan tes diagnostik cepat berbasis deteksi antigen tersebut untuk perawatan pasien, tetapi sangat mendukung dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui kinerja dan potensi kegunaan diagnostiknya.**

## **B. Tes diagnostik cepat berbasis deteksi antibodi**

Jenis tes diagnostik cepat Covid-19 lain yang umum dipakai dan diperjualbelikan adalah tes untuk mendeteksi keberadaan antibodi di dalam darah orang yang diyakini telah terinfeksi Covid-19. Antibodi akan dihasilkan setelah beberapa hari atau minggu setelah terjadinya infeksi virus. Kekuatan respons tubuh menghasilkan antibodi bergantung pada beberapa faktor, seperti usia, status nutrisi, tingkat keparahan penyakit, dan pengobatan atau infeksi tertentu, seperti HIV yang melemahkan sistem imun. Pada sebagian pasien Covid-19 yang terkonfirmasi melalui tes molekuler (seperti reaksi berantai polimerase (RT-PCR)), respons antibodi dilaporkan lemah, terlambat, atau tidak terjadi.

Penelitian mengindikasikan sebagian besar pasien baru memberikan respons antibodi pada pekan kedua setelah timbulnya gejala. Hal ini berarti diagnosis infeksi Covid-19 berbasis respons antibodi baru mungkin dilakukan pada fase pemulihan, di saat kesempatan intervensi atau interupsi klinis terhadap penularan penyakit telah terlewat. Deteksi antibodi yang menasar antibodi

Covid-19 juga menghasilkan kemungkinan bereaksi silang dengan patogen-patogen lain, seperti jenis-jenis coronavirus manusia yang lain sehingga memberikan hasil positif palsu. Selain itu, kemampuan deteksi antibodi oleh RDT untuk memprediksi seseorang imun terhadap reinfeksi virus Covid-19 masih dalam penelitian. Sampai saat ini belum ada bukti untuk mendukung hal ini.

Pelaksanaan tes untuk mendeteksi respons antibodi terhadap Covid-19 pada masyarakat sangat penting dilakukan untuk mendukung upaya penemuan vaksin, memperdalam pemahaman kita akan tingkat infeksi pada orang-orang yang tidak teridentifikasi, baik pada penemuan kasus maupun surveilans aktif, mengukur tingkat serangan pada masyarakat, dan tingkat kematian infeksi ini. Namun, untuk diagnosis klinis, kegunaan tes cepat berbasis antibodi ini terbatas karena tidak dapat mendiagnosis dengan cepat suatu infeksi akut yang dapat dijadikan dasar untuk mengambil keputusan klinis. Beberapa tenaga medis telah menggunakan tes cepat berbasis antibodi untuk membuat diagnosis presumtif penyakit Covid-19 yang baru saja terjadi jika hasil tes molekul negatif, tetapi terdapat kaitan epidemiologis yang kuat dengan infeksi Covid-19 dan sampel darah berpasangan (akut dan konvalesen) menunjukkan tingkat antibodi yang meningkat. Berdasarkan data yang ada, **WHO tidak merekomendasikan penggunaan tes diagnostik cepat berbasis deteksi antibodi untuk perawatan pasien, tetapi mendorong dilanjutkannya upaya menetapkan kegunaannya dalam surveilans penyakit dan penelitian epidemiologis.**

## 8. Kebijakan WHO sehubungan dengan uji diagnostik yang akan datang

Tes molekuler (seperti PCR) dari sampel saluran pernapasan merupakan metode identifikasi dan konfirmasi laboratorium kasus Covid-19 yang disarankan. Kualitas dan keamanan produk-produk molekuler Covid-19 sedang dievaluasi melalui WHO *Prequalification Emergency Use Listing Procedures* (Prosedur Prakualifikasi Penggunaan Kedaruratan WHO) dan melalui kolaborasi dengan *Foundation for Innovative New Diagnostics* (FIND). Dokumen-dokumen panduan WHO tentang deteksi Covid-19 sudah diterbitkan: Panduan WHO tentang tes laboratorium untuk kasus suspek Covid-19 pada manusia. Selain itu, panduan tentang rasionalisasi penggunaan alat tes saat terjadi kekurangan reagen atau kurangnya kapasitas pelaksanaan uji mengharuskan populasi atau orang-orang tertentu diprioritaskan juga tersedia.

Untuk memandu kebijakan WHO tentang penggunaan tes cepat imunodiagnostik untuk Covid-19, WHO bekerja sama dengan jaringan pakar laboratorium global terus mengkaji hasil-hasil penelitian laboratorium dan klinis yang sedang direncanakan maupun yang sudah diimplementasikan oleh laboratorium, kelompok akademik, dan lembaga swadaya masyarakat sebagai referensi. Sedang dikembangkan profil target produk yang diinginkan sebagai alat diagnostik Covid-19 untuk memandu upaya penelitian dan pengembangan. WHO akan terus bekerja dengan kelompok-kelompok penelitian, badan-badan lain, dan negara-negara anggota untuk mengembangkan dan menginterpretasikan data yang dapat mengindikasikan area-area

tertentu yang jenis-jenis tes tersebut dapat digunakan untuk tata laksana klinis pasien, meningkatkan pemahaman epidemiologis, dan/atau mendukung upaya pengendalian infeksi.

## **9. Deteksi antigen dalam diagnosis infeksi SARS-CoV-2 menggunakan imunoasai cepat, panduan interim WHO ini dikeluarkan tanggal 11 September 2020**

Dokumen ini memberikan anjuran mengenai potensi peran RDT deteksi antigen (Ag-RDT) dalam diagnosis Covid-19 dan perlunya pemilihan tes dengan teliti. Informasi mengenai Ag-RDT dalam dokumen ini memutakhirkan panduan yang diberikan dalam pernyataan keilmuan yang berjudul *WHO Advice on use of point of care immunodiagnostic test for COVID-19* yang diterbitkan pada tanggal 8 April 2020. Panduan penggunaan Ag-RDT akan dimutakhirkan secara berkala seiring tersedianya bukti baru.

Sebagian besar Ag-RDT untuk COVID-19 menggunakan metode imunodeteksi *sandwich* dengan format tes alur lateral yang mudah digunakan dan umum dipakai untuk tes HIV, malaria, dan influenza. Ag-RDT biasanya terdiri dari kaset plastik dengan rongga sampel dan penyangga dan strip matriks nitroselulosa dengan garis tes dengan antibodi terikat untuk kompleks antigen-antibodi terkonjugasi target dan garis kontrol dengan antibodi terikat untuk antibodi terkonjugasi. Setelah spesimen saluran pernapasan diambil dan dioleskan ke setrip tes, hasilnya dibaca oleh operator dalam waktu 10 sampai 30 menit dengan atau tanpa bantuan instrumen pembaca.

Secara umum, kemudahan penggunaan dan singkatnya waktu ketersediaan hasil Ag-RDT berpotensi memperluas akses pada tes dan mengurangi penundaan diagnosis dengan cara

bergeser ke tes pasien dengan gejala awal secara terdesentralisasi. Sisi sebaliknya dari kemudahan pengoperasian Ag-RDT adalah sensitivitas yang lebih rendah jika dibandingkan dengan NAAT. Sangat sedikit Ag-RDT SARS-CoV-2 yang sudah menjalani kajian regulasi ketat. Hanya empat tes yang telah menerima Emergency Use Authorization (EUA/izin penggunaan darurat) United States Food and Drug Administration (US FDA), dan hanya dua tes lain yang telah disetujui oleh Pharmaceutical and Medical Devices Agency Jepang. Hanya tiga perusahaan yang telah menyerahkan dokumen untuk prosedur Emergency Use Listing (EUL/daftar penggunaan darurat) WHO.

WHO mempersyaratkan hanya Ag-RDT SARS-CoV-2 yang memenuhi persyaratan kinerja minimum sensitivitas  $\geq 80\%$  dan spesifisitas  $\geq 97\%$  jika dibandingkan dengan asai referensi NAAT<sup>1</sup> dapat digunakan untuk mendiagnosis infeksi SARS-CoV-2 dalam situasi-situasi NAAT tidak tersedia atau waktu ketersediaan hasil tidak memberikan manfaat klinis. Untuk mengoptimalisasi kinerja, pada tes dengan Ag-RDT sebaiknya dilakukan oleh operator terlatih dengan sangat mematuhi instruksi pembuat alat tes dalam waktu 5—7 hari sejak munculnya gejala.

Ada beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan saat memilih Ag-RDT untuk skenario-skenario di bagian rekomendasi di atas. Faktor-faktor ini meliputi

1. kualitas data yang digunakan untuk memvalidasi tes;
2. kinerja yang dilaporkan;
3. kualitas pembuatan dan status regulasi;
4. kapasitas pembuatan dan bukti lanjutan kualitas;
5. distribusi dan dukungan teknis;
6. kondisi pengiriman dan penyimpanan serta masa hidup;

7. kebutuhan pengambilan spesimen;
8. isi alat tes;
9. biaya tes; serta
10. ketersediaan, kelengkapan, dan kejelasan instruksi penggunaan.

Meskipun Ag-RDT lebih mudah dilakukan jika dibandingkan dengan NAAT, penggunaan Ag-RDT masih harus mengikuti dengan ketat prosedur anjuran pemasok serta memperhatikan dokumentasi, pelaksanaan langkah-langkah yang bergantung pada waktu atau volume, kondisi penyimpanan, masa hidup, perlengkapan, dan pengelolaan persediaan. Semua operator tes harus dilatih tentang pengambilan sampel, keamanan biologis terkait, kinerja tes, interpretasi dan pelaporan hasil, serta pengelolaan limbah. Langkah-langkah pengendalian kualitas juga harus dilaksanakan.

Tabel 1.4 Situasi saat Ag-RDT SARS-CoV-2 sebaiknya tidak digunakan menurut informasi yang ada saat ini

Jangan gunakan Ag-RDT SARS-CoV-2	Penjelasan
Pada orang tanpa gejala kecuali jika orang tersebut adalah kontak dari kasus konfirmasi	Probabilitas sebelum tes (kemungkinan pasien terkena penyakit sebelum tes berdasarkan epidemiologi, kontak kasus, temuan klinis) rendah.
Pada orang tanpa gejala kecuali jika orang tersebut adalah kontak dari kasus konfirmasi	Probabilitas sebelum tes (kemungkinan pasien terkena penyakit sebelum tes berdasarkan epidemiologi, kontak kasus, temuan klinis) rendah.
Jika tidak ada kasus atau hanya ada kasus sporadis	Ag-RDT tidak direkomendasikan untuk tujuan surveilans rutin atau tatalaksana kasus dalam situasi seperti ini. Hasil tes positif kemungkinan positif palsu. Tes molekuler lebih disarankan.

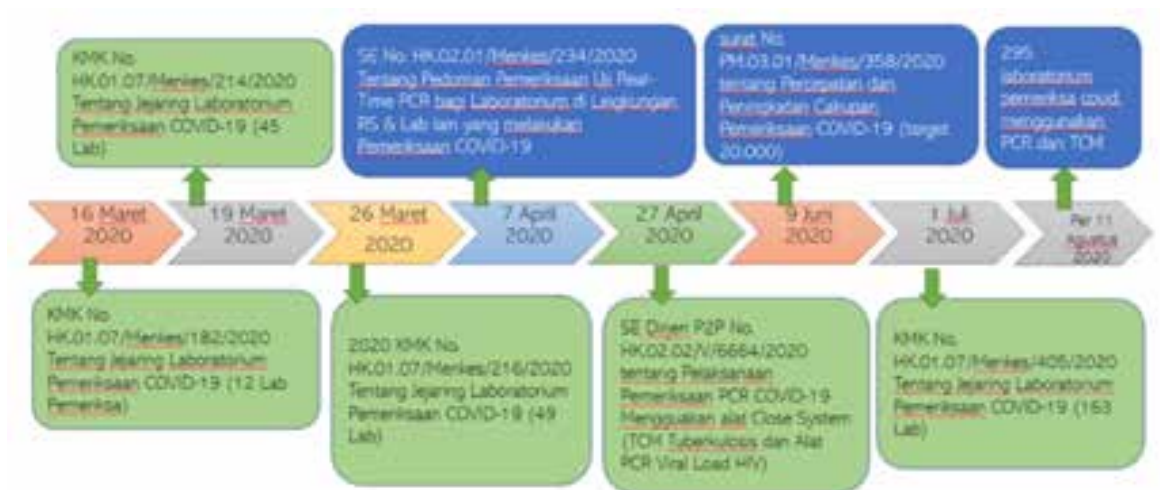
Jangan gunakan Ag-RDT SARS-CoV-2	Penjelasan
Keamanan biologis dan langkah pencegahan dan pengendalian infeksi yang sesuai tidak tersedia	Untuk melindungi tenaga kesehatan, saat pengambilan sampel saluran pernapasan untuk tes apa pun pada pasien suspek COVID-19 tenaga kesehatan diwajibkan menggunakan sarung tangan, jubah, masker, dan pelindung wajah atau kacamata goggles (19, 22, 23).
Tata laksana pasien tidak berubah berdasarkan hasil tes	Jika pasien dengan hasil tes positif dan negatif dirawat dengan cara yang sama karena NPP dan/atau NPN tidak diketahui atau rendah, tes tidak memberikan manfaat.
Untuk skrining pintu masuk negara di bandara atau perbatasan	Prevalensi Covid-19 kemungkinan akan sangat bervariasi di antara para pelaku perjalanan sehingga NPP dan NPN hasil tes tidak mungkin ditentukan. Hasil tes positif dan negatif memerlukan tes konfirmasi untuk meningkatkan NPP dan NPN agar keputusan dapat diambil.
Pada skrining sebelum donor darah	Hasil RDT positif tidak selalu berkorelasi dengan adanya virus dalam darah. Pendonor darah yang tidak menunjukkan gejala tidak memenuhi definisi kasus suspek.

### **Pokok Bahasan 3. Kebijakan Pemeriksaan Laboratorium Covid-19 di Indonesia**

Dalam menghadapi Covid-19 , beberapa kebijakan yang berhubungan dengan pemeriksaan laboratorium telah dirumuskan, baik dalam bentuk Keputusan Menteri Kesehatan maupun Surat Edaran Menteri Kesehatan, antara lain tentang Jejaring Laboratorium Pemeriksa Covid-19 , Penyusunan Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Disease* (COVID-19), dan kebijakan pada pelaku perjalanan.

Peraturan yang mendukung untuk perluasan laboratorium serta

target testing >20.000 per hari serta upaya untuk memperluas jejaring laboratorium dikeluarkan oleh Kementerian Kesehatan sejak ditetapkannya Pandemi Global COVID-19 oleh WHO, adapun peraturan yang dikeluarkan tergambar pada flowchart berikut dan KMK 182, 214, 216 tidak berlaku lagi sejak diterbitkannya KMK 405)



Pembentukan Jejaring Laboratorium Pemeriksa Covid-19 telah dituangkan dalam Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/Menkes/214/2020 tentang Jejaring Laboratorium *Coronavirus Disease – 19* (Covid-19 ), Kepmenkes Nomor HK,01.07/Menkes/216/2020 tentang Penetapan Laboratorium Pemeriksa *Corona Virus Disease-19* (Covid-19 , Surat Edaran Menteri Kesehatan No. 234 tahun 2020, serta Kepmenkes Nomor HK.01.07/Menkes/405/2020 tentang Jejaring Laboratorium Pemeriksaan *Coronavirus Disease 2019* (Covid-19). Berdasarkan peraturan tersebut, dalam rangka memperluas jejaring laboratorium dan mempercepat pelaksanaan pemeriksaan RT PCR Covid-19 , semua (1) laboratorium rumah sakit, baik milik pemerintah, BUMN, TNI/POLRI, (2) laboratorium Kklinik milik pemerintah dan swasta, (3) laboratorium virologi/bakteriologi kementerian/lembaga, dan (4) laboratorium lembaga riset perguruan tinggi dapat menjadi jejaring laboratorium pemeriksa Covid-19.

Berdasarkan regulasi tersebut, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes telah ditunjuk sebagai laboratorium yang melakukan Pematapan Mutu Eksternal (PME) Pemeriksaan Covid-19 terhadap laboratorium pemeriksa Covid-19 di Indonesia.

Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Disease* (Covid-19) disusun dalam bentuk dokumen interim dan dilakukan revisi secara berkala yang disesuaikan dengan perkembangan situasi nasional dan global. Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Disease* (Covid-19) Revisi-5 telah dituangkan dalam Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/Menkes/413/2020. Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Disease* (Covid-19) meliputi beberapa pokok bahasan, yaitu strategi dan indikator penanggulangan, surveilans epidemiologi, diagnosis laboratorium, manajemen klinis, pencegahan dan pengendalian penularan, komunikasi risiko dan pemberdayaan masyarakat, penyediaan sumber daya, dan pelayanan kesehatan esensial.

Upaya pencegahan dan pengendalian Covid-19 dilakukan dengan mensyaratkan pemeriksaan RT-PCR pada pelaku perjalanan, baik dalam maupun luar negeri. Hal itu dituangkan dalam Surat Edaran Menteri Kesehatan Nomor HK.02.01/Menkes/382/2020 tentang Protokol Pengawasan Pelaku Perjalanan Dalam Negeri Di Bandar Udara dan Pelabuhan dalam Rangka Penerapan Kehidupan Masyarakat Produktif dan Aman terhadap *Corona Virus Disease* 2019 (Covid-19) dan Surat Edaran Nomor HK.02.01/Menkes/332/2020 tentang Protokol Kesehatan Penanganan Kepulangan WNI dan Kedatangan WNA dari Luar Negeri di Pintu Masuk Negara dan di Wilayah pada Situasi Pembatasan Sosial Berskala Besar (PSBB) dalam Rangka Pencegahan Penyebaran *Corona Virus Disease* 2019 (Covid-19).

Sesuai dengan n Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (Covid-19) Revisi Ke-5 yang dikeluarkan 13 Juli 2020, pengambilan dan pemeriksaan spesimen dari pasien yang memenuhi definisi kasus suspek Covid-19 merupakan prioritas untuk manajemen klinis/pengendalian wabah. Itu harus dilakukan secara cepat. Spesimen tersebut dilakukan pemeriksaan dengan metode deteksi molekuler/NAAT (*Nucleic Acid Amplification Test*), seperti RT-PCR (termasuk tes cepat molekuler/TCM yang digunakan untuk pemeriksaan TB dan mesin PCR Program HIV AIDS dan PIMS yang digunakan untuk memeriksa Viral Load HIV).

Hasil tes pemeriksaan negatif pada spesimen tunggal, terutama jika spesimen berasal dari saluran pernapasan atas, tidak menyingkirkan kemungkinan tidak adanya infeksi. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan hasil negatif pada pasien yang terinfeksi meliputi

1. kualitas spesimen yang tidak baik, mengandung sedikit material virus;
2. spesimen yang diambil pada masa akhir infeksi atau masih sangat awal;
3. spesimen tidak dikelola dan tidak dikirim dengan transportasi yang tepat; dan
4. kendala teknis yang dapat menghambat pemeriksaan RT-PCR (seperti mutasi pada virus).

Jika hasil negatif didapatkan dari pasien dengan kecurigaan tinggi suspek terinfeksi virus Covid-19, perlu dilakukan pengambilan dan pengujian spesimen berikutnya, termasuk spesimen saluran pernapasan bagian bawah (*lower respiratory tract*). Koinfeksi dapat terjadi sehingga untuk pasien yang memenuhi kriteria suspek, harus dilakukan pemeriksaan Covid-19 meskipun patogen lain ditemukan.

Pedoman edisi 5 ini memuat jenis spesimen serta masa simpan, tata cara pengambilan spesimen, pengepakan spesimen.

Tabel 1.5 Perbedaan Kriteria Kasus untuk Konfirmasi Laboratorium dengan RT-PCR

Kriteria Kasus	Jenis Spesimen	Waktu Pengambilan	Laboratorium Pemeriksa
Suspek	Sesuai dengan Tabel 4.1 Jenis spesimen	hari ke-1 dan ke-2 dengan selang waktu >24 jam serta bila ada perburukan.	Laboratorium Pemeriksa Covid-19 (daftar terlampir)
Kontak erat (khusus untuk petugas Kesehatan)	pasien COVID-19	segera dilakukan pemeriksaan RT-PCR sejak kasus dinyatakan sebagai kasus <i>probable</i> atau konfirmasi	

Spesimen yang tiba di laboratorium pemeriksa akan segera diproses untuk dilakukan pemeriksaan metode deteksi molekuler. Laboratorium pemeriksa (pemerintah dan swasta) wajib menginformasikan hasil pengujian positif dan negatif melalui sistem pelaporan yang sudah tersedia, berkoordinasi dengan Dinas Kesehatan terkait. Tiap-tiap penerima laporan menindaklanjuti sesuai dengan peraturan yang berlaku. Setiap laboratorium pemeriksa Covid-19 yang menggunakan alat RT-PCR Program HIV AIDS dan PIMS diwajibkan untuk mengirimkan laporan pemanfaatan yang meliputi kondisi alat dan ketersediaan reagen.

*Rapid Test* tidak digunakan untuk diagnostik. Pada kondisi dengan keterbatasan kapasitas pemeriksaan RT-PCR, *rapid test* dapat digunakan untuk skrining pada populasi spesifik dan situasi khusus, seperti pada pelaku perjalanan (termasuk kedatangan pekerja migran Indonesia, terutama di wilayah Pos Lintas Batas Darat Negara (PLBDN), serta untuk penguatan pelacakan kontak seperti di lapas, panti jompo, panti rehabilitasi, asrama, pondok pesantren, dan pada

kelompok rentan.

WHO merekomendasikan penggunaan *rapid test* untuk tujuan penelitian epidemiologi atau penelitian lain. Penggunaan *rapid test* selanjutnya dapat mengikuti perkembangan teknologi terkini dan rekomendasi WHO.

Laboratorium yang akan menjadi laboratorium pemeriksa Covid-19 mengikuti langkah-langkah sebagai berikut.

1. Laboratorium berkoordinasi dengan Dinas Kesehatan Provinsi.
2. Dinas Kesehatan Provinsi mengirimkan Surat Kesiapan Laboratorium kepada Kepala Badan Litbang Kesehatan dengan tembusan Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan oleh Menteri Kesehatan.
3. Laboratorium melakukan pemeriksaan sesuai dengan protokol/pedoman pemeriksaan yang dikeluarkan WHO.
4. Laboratorium harus melaporkan pemeriksaannya setiap hari melalui sistem pelaporan yang sudah tersedia.
5. Laboratorium mengirimkan spesimen pemeriksaan untuk Pemantapan Mutu Eksternal (PME) sesuai dengan ketentuan yang dikeluarkan oleh Badan Litbangkes.

Salah satu fungsi Laboratorium Rujukan Nasional Covid-19,

yaitu melakukan fungsi pembinaan dan pemantapan mutu eksternal (PME). Dalam rangka meningkatkan mutu pemeriksaan Covid-19, laboratorium pemeriksa Covid-19 dengan metode RT-PCR mengirimkan 10 (sepuluh) spesimen klinis negatif dan 20 (dua puluh) spesimen klinis positif Covid-19 ke Laboratorium Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Spesimen klinis yang dikirimkan adalah spesimen nasofaring/orofaring dan sputum. Sementara itu, untuk laboratorium yang melakukan pemeriksaan Covid-19 dan menggunakan Tes Cepat Molekular (TCM) diharapkan mengirimkan 5 (lima) spesimen klinis positif dan 10 (sepuluh) spesimen negatif. Spesimen klinis yang dikirimkan disertai dengan formulir pemantapan mutu eksternal.

Laboratorium selalu berupaya untuk bisa meningkatkan jumlah tes yang dilakukan dalam rangka mendukung tata laksana kasus dan kontak *tracing*, sampai dengan September 2020 kemampuan tes makin meningkat dan laboratorium juga memiliki kewajiban melaporkan pemeriksaan yang dilakukan pada *new all record*.



Bab II Materi Dasar 2

---

# **PENGENALAN VIRUS SARS-COV2 DAN METODE DETEKSI PCR**



## PENGENALAN VIRUS SARS-COV2 DAN METODE DETEKSI PCR

### Deskripsi Singkat

Coronavirus merupakan penyakit zoonosis dan menjadi salah satu penyebab *common cold* pada manusia (Su *et al.*, 2016). SARS-CoV-2 merupakan *strain* baru dari Coronavirus. Sejak pertama kali dilaporkan di Wuhan, Cina pada akhir Desember 2019 (Li *et al.*, 2020), virus SARS-CoV-2 telah menyebabkan penyakit pernapasan pada manusia yang dikenal dengan *Coronavirus Disease 2019* (Covid-19). Virus ini telah menyebar ke seluruh dunia dan menjadi ancaman kesehatan masyarakat secara global (WHO, 2020). Pengenalan struktur SARS-CoV-2 penting untuk dapat memahami mode transmisi atau penularan, metode deteksi, dan cara penanganan dan pencegahannya. Modul ini akan menjelaskan secara umum struktur SARS-CoV-2, gejala, dan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi SARS-CoV-2.

### Tujuan Umum

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu memahami Pengenalan dan Metode Deteksi Covid-19.

### Tujuan Khusus

Setelah mempelajari materi, peserta mampu

1. menjelaskan klasifikasi Coronavirus dan SARS-CoV;
2. menjelaskan cara penularan, gejala pada manusia, faktor risiko infeksi SARS-CoV-2;
3. menjelaskan jenis-jenis metode deteksi SARS-CoV-2.

## **Pokok Bahasan**

1. Klasifikasi Coronavirus dan struktur SARS-CoV-2
2. Cara penularan, Gejala Umum, Faktor Risiko, dan Terapi SARS-CoV-2
3. Metode deteksi SARS-CoV-2

## **Uraian Materi**

### **Pokok Bahasan 1. Klasifikasi Coronavirus dan struktur SARS-CoV-2**

Coronavirus adalah virus anggota familia Coronaviridae yang memiliki materi genetik berupa *positive sense single-stranded* RNA dengan panjang genom 26 sampai 32 kilobasa. Virus ini merupakan salah satu virus dengan genom terpanjang. Famili Coronaviridae dibagi menjadi 4 genus, yaitu sebagai berikut.

1. Alphacoronavirus

Alphacoronavirus dapat ditemukan pada manusia dan hewan mammalia seperti kelelawar, kucing dan anjing. Alphacoronavirus yang dapat menginfeksi manusia, antara lain, adalah HCoV-229E dan HCoV-NL63.

2. Betacoronavirus

Betacoronavirus dapat ditemukan pada manusia dan hewan mammalia seperti kelelawar, sapi, unta dan rodensia. Betacoronavirus yang menginfeksi manusia, antara lain, adalah HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2.

3. Deltacoronavirus

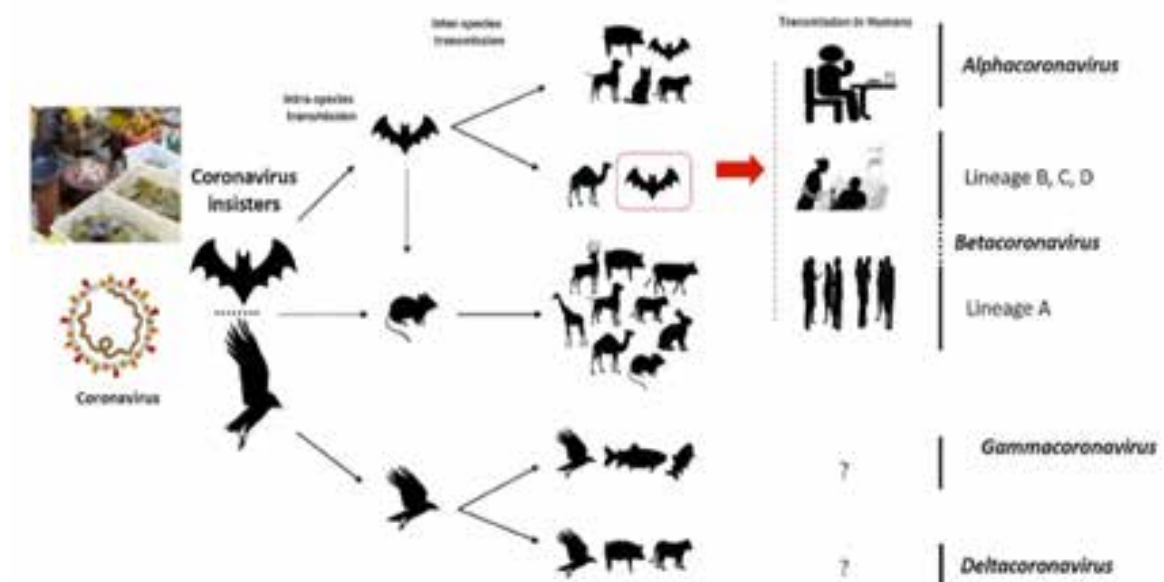
Deltacoronavirus ditemukan pada unggas dan babi, contohnya spesies Bulbul CoV-HKU11.

4. Gammacoronavirus

Gammacoronavirus ditemukan pada unggas dan babi, contohnya spesies Beluga whale CoV-SW1.

Sejumlah 25% virus penyebab *common cold* pada manusia disebabkan oleh Coronavirus, di antaranya adalah *strain* HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, dan HCoV-OC43 (Su *et al.*, 2016).

SARS-CoV-2 adalah *strain* dari betacoronavirus yang pertama kali dilaporkan menginfeksi manusia di Wuhan, Provinsi Hubei China pada akhir Desember tahun 2019. Penyebab awal penularan virus ini ke manusia belum diketahui secara pasti, tetapi diduga terjadi di pasar hewan di Wuhan (Li *et al.*, 2020). Pada tanggal 30 Januari 2020, WHO mendeklarasi Covid 19 sebagai PHEIC (*Public Health Emergency of International Concern*) dan pada tanggal 11 Maret 2020 status tersebut meningkat menjadi pandemi (WHO, 2020). Meskipun dari sekuens genetiknya diketahui bahwa SARS-CoV-2 memiliki kekerabatan yang dekat dengan betacoronavirus asal kelelawar, belum diketahui inang perantara yang pertama kali menularkan virus ini pada manusia. Beberapa penelitian menunjukkan dugaan hewan perantara penularan SARS-CoV-2 dari kelelawar ke manusia melalui hewan ular atau terenggiling (Rabi *et al.* 2020; Rehman *et al.*, 2020).

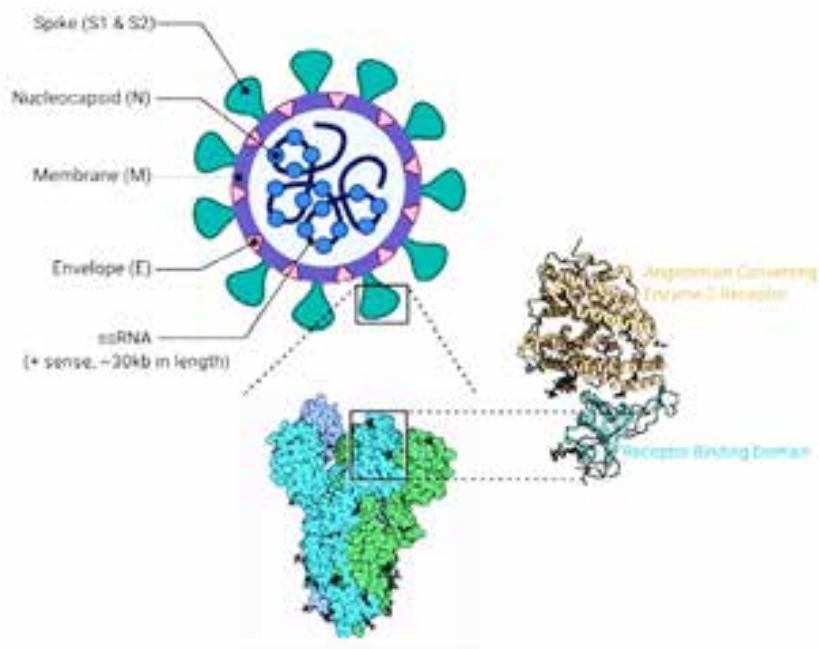


Gambar 2.1 Transmisi Coronavirus dari hewan ke manusia

Sumber: Shereen *et al.*, 2020

Ukuran genom SARS-CoV-2 berkisar dari 29.8 sampai 29.9 kilobasa yang merupakan virus dengan ukuran genom terbesar. Protein struktural SARS-CoV-2 dikode oleh gen *Spike* (S), *Envelope* (E), *Membrane* (M) dan *Nucleocapsid* (N). Gen dari SARS-CoV-2, di antaranya, adalah (Khailanyet *al.*, 2020; Cascella *et al.*, 2020):


- 1) ORF1ab: bagian terpanjang sekitar 2/3 dari total genom, di antaranya mengode polyprotein dan nsp12 (RNA-dependent RNA polymerase atau RdRp).
- 2) *Spike* (S): mengode S protein dan memiliki domain S1 dan S2. Terdapat *Receptor Binding Domain* (RBD) yang merupakan situs pelekatan virus dengan molekul reseptor inang. Salah satu reseptor yang diketahui menjadi tempat pelekatan SARS-CoV-2 ke sel inang adalah reseptor Angiotensin Converting Enzyme-2 atau ACE-2
- 3) *Envelope* (E): mengode protein E.
- 4) *Membrane* (M): mengode protein M.
- 5) Nukleocapsid (N): mengode protein N.
- 6) ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8: mengode 6 macam protein aksesoris.



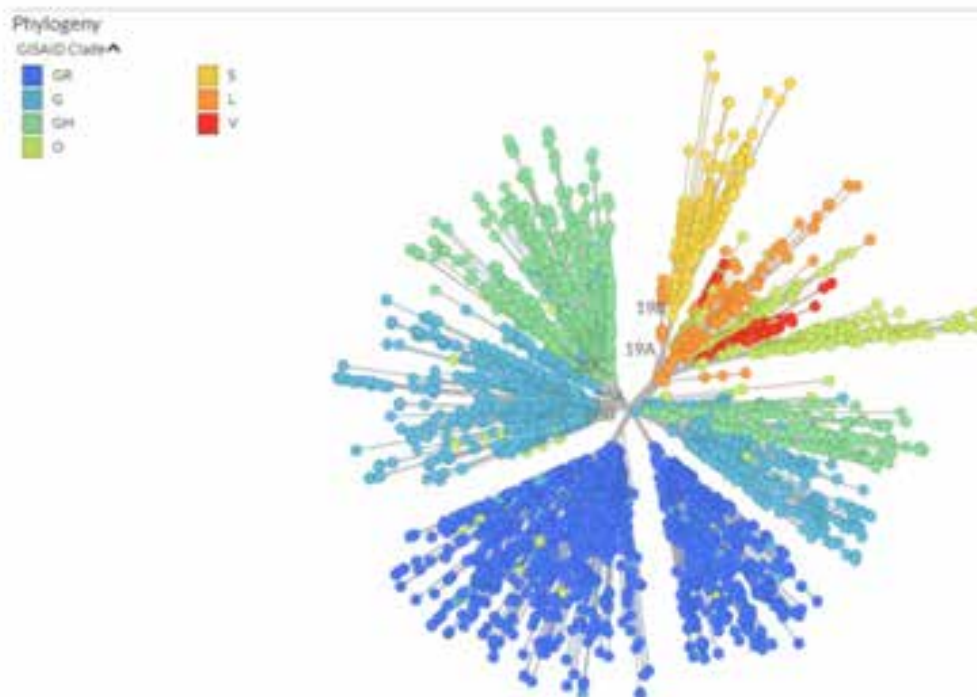
Gambar 2.2 Struktur virus SARS-CoV-2  
 Sumber: Klompas *et al.*, 2020

Akibat terjadinya perubahan susunan materi genetik virus SARSCoV yang terjadi secara natural atau mutasi, saat ini dikenal pengelompokan SARS CoV2 menjadi *clade*. Hingga September 2020 telah disusun beberapa macam pengelompokan *clade* virus SARS CoV dan berdasarkan nomenklatur yang diadopsi GISAID dari hasil penelitian Sebastian Maurer-Stroh, *clade* SARS CoV2 dapat dibagi menjadi 6, yaitu *clade* S, L, V, G, GH dan GR (GSAID, 2020). Phylogenetic tree tiap-tiap *clade* tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.3.

## Genomic epidemiology of novel coronavirus - Global subsampling

Maintained by the Nextstrain team. Enabled by data from 

Showing 4640 of 4640 genomes sampled between Dec 2019 and Sep 2020.



Gambar 2.3 *Phylogenetic tree clade SARS-CoV-2*

Sumber: Wu *et al.*, 2020

## **Pokok Bahasan 2. Cara Penularan, Gejala Umum, Faktor Risiko dan Terapi SARS-CoV-2**

### **A. Cara Penularan**

Cara penularan SARS-CoV-2, antara lain, melalui (WHO, 2020a; Klompas *et al.*, 2020) hal-hal sebagai berikut.

- 1) Kontak langsung merupakan cara penyebaran SARS-CoV-2 yang paling umum. Penularan terjadi dengan kontak langsung dalam jarak dekat (kurang dari 1 meter) melalui sekresi droplet pernapasan, misalnya air liur.
- 2) Penularan terjadi melalui udara (*airborne transmission*): Penyebaran melalui udara dapat terjadi bila melakukan prosedur yang menimbulkan aerosol, seperti intubasi

trackhea, brontoskopi dan pemberian tekanan pada dada saat resusitasi jantung paru, di ruang tindakan medis yang tertutup dengan ventilasi yang buruk.

- 3) Penularan terjadi melalui lingkungan (*fomite transmission*): Penularan terjadi secara kontak tidak langsung, yaitu bila tangan menyentuh permukaan yang terkontaminasi lalu memindahkan ke hidung/mulut/mata. Virus di lingkungan yang terkontaminasi dapat bertahan 2 jam sampai 9 hari. Lama virus bertahan di lingkungan bergantung kepada jenis permukaan materi.
- 4) Kemungkinan lain: Beberapa penelitian menemukan SARS-CoV-2 terdeteksi di feses dan urine, tetapi belum dapat dipastikan bahwa SARS-CoV-2 dapat menular melalui feses dan urine.

## **B. Gejala Umum**

Masa inkubasi SARS-CoV-2 mulai dari 2 sampai 14 hari. Sejak awal infeksi, virus sudah dapat ditularkan ke orang lain melalui droplet. Gejala Covid 19 beragam mulai asimtomatis (tanpa gejala), ringan, berat hingga menimbulkan kematian. Gejala yang umum di antaranya adalah

- 1) demam;
- 2) batuk kering;
- 3) kesulitan bernapas;
- 4) pusing;
- 5) pneumonia;
- 6) kasus yang lebih parah ditandai dengan pneumonia, kerusakan alveolar dan infiltrasi pada paru-paru.

Meskipun tanpa gejala, orang yang terinfeksi SARS-CoV-2 tetap dapat berpotensi menularkan (infeksius) bila ada transmisi *droplet* dalam jarak kontak yang cukup dekat. Disinfektan yang dapat digunakan untuk inaktivasi virus, antara lain, adalah dengan alkohol 70% atau cairan pemutih (sodium hypochlorate) selama 1 menit. Sebagai upaya pencegahan penularan SARS-CoV-2, masyarakat diimbau untuk menjaga jarak fisik, menggunakan masker, dan menerapkan protokol kesehatan, seperti mencuci tangan dengan sabun (Casella *et al.*, 2020).

### C. Faktor Risiko

Beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit Covid 19, di antaranya, adalah seperti berikut:

- 1) usia: usia lebih tua ( $\geq 65$  tahun) lebih berisiko terinfeksi dan dapat berimplikasi parah dan fatal;
- 2) kondisi komorbid: diabetes, hipetensi, dan penyakit kardiovaskular;
- 3) immunodefisiensi: sistem kekebalan tubuh yang lemah akibat berbagai faktor, misalnya kanker, HIV-AIDS, usia tua, penggunaan obat anti inflamasi jangka panjang.

Namun, diketahui tidak ada perbedaan faktor risiko antara laki-laki dan perempuan dan tidak ada perbedaan ekspresi ACE2 pada ras berbeda yang dapat memengaruhi perbedaan tingkat keparahan. Ekspresi ACE2 diketahui meningkat pada perokok sehingga dapat meningkatkan predisposisi infeksi SARS-CoV-2 (Wu *et al.*, 2020; Janice *et al.*, 2020).

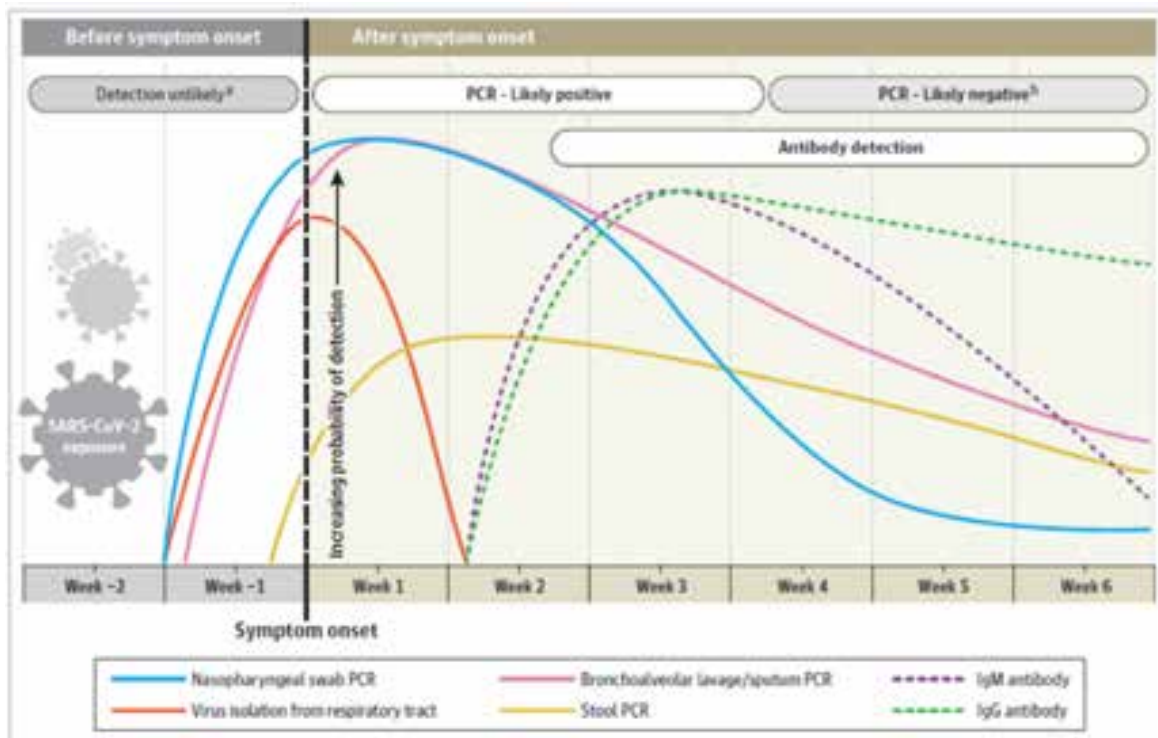
## D. Terapi

Saat ini penelitian antiviral dan vaksin SARS-CoV-2 masih terus dikembangkan. Namun, hingga saat ini belum tersedia antiviral dan vaksin yang terbukti dan disetujui untuk digunakan secara klinis. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ada beberapa antiviral yang diketahui dapat menekan infeksi SARS-CoV-2 secara *in vitro*. Vaksin untuk pengendalian SARS-CoV-2 masih dalam tahap pengembangan dan diperkirakan baru akan dipasarkan pada tahun 2021. Terapi lain yang terbukti efektif dan tengah dikembangkan sebagai anti SARS-CoV-2 adalah penggunaan serum konvalesens yang dapat menetralisasi virus.

### **Pokok Bahasan 3. Metode Deteksi SARS-CoV-2**

Berdasarkan Sethuraman, Jeremiah, dan Ryo (2020), infeksi dengan SARS-CoV-2 diawali dengan masa inkubasi saat virus bereplikasi dengan aktif dengan rata-rata masa inkubasi adalah 5 hari. Partikel virus mulai terdeteksi sejak awal infeksi dan terus akan meningkat dan mencapai puncak sekitar 7—14 hari setelah infeksi diikuti dengan timbulnya gejala klinik (onset). Lama masa inkubasi, waktu produksi RNA virus, dan antibodi dapat berbeda-beda tergantung pada individu. Antibodi spesifik terhadap SARS-CoV-2 (IgM) akan muncul beberapa hari setelah infeksi dan onset muncul, disusul dengan pembentukan antibodi IgG (Gambar 2.4). Hal tersebut menjadi dasar penentuan hari pengambilan spesimen dan metode deteksi yang akan digunakan.

Beberapa metode yang biasa digunakan untuk deteksi SARS-CoV-2 adalah pemeriksaan berbasis materi genetik virus dan antibodi individu. Tiap-tiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan, jenis sampel, dan penentuan waktu pemeriksaan yang berbeda (WHO, 2020b; WHO, 2020c).



Gambar 2.4 Perkiraan masa infeksi dan keberadaan virus dan antibodi pada infeksi SARS-CoV-2

Sumber: Sethuraman *et al.*, 2020

### A. Deteksi Cepat (*Rapid Diagnostic Test*)

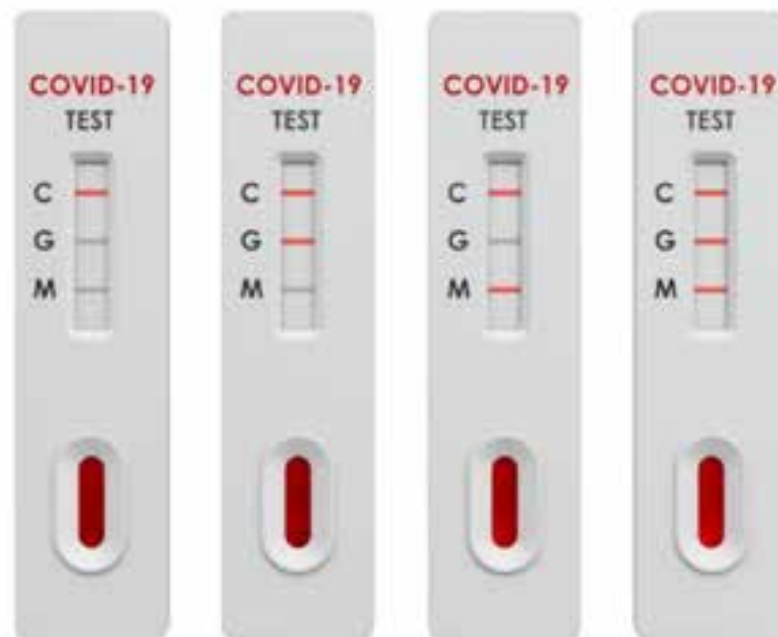
Deteksi cepat atau *Rapid Diagnostic Test* dilakukan, baik dengan mendeteksi antibodi maupun antigen. Sampel yang digunakan untuk deteksi cepat antigen adalah sampel swab hidung, tenggorokan, nasofaring, atau orofaring. Sampel yang digunakan untuk deteksi cepat antibodi adalah serum atau darah (*whole blood*). Metode ini dapat mengukur total antibodi IgG dan/atau IgM. Kelebihan penggunaan deteksi cepat, antara lain, adalah sebagai berikut:

- 1) waktu singkat 15—30 menit;
- 2) cara pengerjaan mudah dan relatif murah;
- 3) fasilitas laboratorium khusus tidak diperlukan.

Beberapa kelemahan metode ini, antara lain, adalah sebagai berikut:

- 1) Metode sensitivitas dan spesififikasi ini bervariasi tergantung pada tiap-tiap kit.
- 2) Metode ini memiliki risiko reaksi silang dengan Coronavirus lain. Metode ini memiliki risiko negatif palsu (*false-negative*) yang tinggi. Hal ini berkaitan dengan waktu pemeriksaan dan konsentrasi antibodi pada individu (Gambar 2.4).

Metode lain yang dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi adalah ELISA. Hasil deteksi cepat antibodi tidak direkomendasikan untuk digunakan dalam diagnosis pasien, tetapi dapat digunakan untuk kepentingan epidemiologi.



Gambar 2.5 Contoh Deteksi Cepat antibodi dengan *lateral flow assay*  
Sumber: Anawa Biomedical Science and Products, 2020

## B. Deteksi asam nukleat atau materi genetik

Deteksi asam nukleat atau materi genetik merupakan metode untuk mendeteksi materi genetik atau asam nukleat virus. Metode yang dipakai adalah amplifikasi atau perbanyakan materi genetik

virus (*nucleic acid amplification tests*). Beberapa kelebihan metode deteksi asam nukleat, antara lain adalah

- 1) sensitif dan spesifik (tergantung pada desain primer, probe, dan enzim yang digunakan);
- 2) waktu pengerjaan relatif cepat, sekitar 4-6 jam tergantung jumlah spesimen yang dikerjakan;
- 3) metode itu dapat mendeteksi virus sejak awal masa infeksi/inkubasi.

Beberapa kelemahan metode ini adalah

- 1) memerlukan tahapan persiapan sampel;
- 2) memerlukan fasilitas laboratorium minimal BSL-2; dan
- 3) memerlukan staf yang sudah terlatih.

Metode yang bisa digunakan dalam deteksi asam nukleat, antara lain, adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan sekuensing.

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) untuk materi genetik RNA merupakan metode amplifikasi (perbanyak) asam nukleat virus. Amplifikasi didahului dengan penempelan primer dan probe spesifik yang menempel pada bagian target pada gen kemudian proses penggandaan difasilitasi oleh enzim polymerase. Pada realtime RT-PCR atau yang biasa disebut rRT-PCR, proses deteksi produk amplifikasi dapat diamati secara langsung tanpa memerlukan tahapan *post-amplifikasi*, seperti pembacaan gel atau elektroforesis. rRT-PCR juga dapat mendeteksi beberapa target dalam proses yang bersamaan atau disebut multiplex PCR. Penjelasan lebih terperinci mengenai PCR akan dibahas pada modul selanjutnya. Beberapa contoh *in-house protocol* dari beberapa institut telah dibagikan dan direkomendasikan oleh WHO (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Daftar beberapa protokol *real-time* RT-PCR *in-house* dari beberapa negara yang dimuat di WHO  
(Sumber: WHO, 2020d)

No.	Negara	Nama Institut	Gen Target
1	China	China CDC	ORF1ab dan N
2	Jerman	Charit	RdRp, E, N
3	Hong Kong	HKU	ORF1ab-nsp14, N
4	Jepang	National Institute of Infectious Disease, Department of Virology III	Pancorona dan multiple target, Spike protein
5	Thailand	National Institute of Health	N
6	Amerika Serikat	US CDC	N1 dan N2, RdRp

Pemeriksaan Covid-19 yang dilakukan di Indonesia secara umum mengikuti pedoman WHO. Sementara itu, daftar rekomendasi reagen rRT-PCR yang tersedia di Indonesia telah disusun oleh Gugus Tugas Covid-19 RI dan dapat dilihat di situs <https://covid19.go.id/p/protokol>.

Metode amplifikasi asam nukleat lain yang juga bisa digunakan dalam deteksi SARS-CoV-2 adalah *molecular rapid test* atau tes molekuler cepat (TCM). TCM adalah uji deteksi asam nukleat yang berbasis PCR, tetapi proses ekstraksi materi genetik tidak dilakukan terpisah. TCM biasanya menggunakan *catridge* atau peralatan khusus yang mampu mengisolasi materi genetik sekaligus melakukan amplifikasi asam nukleat. Salah satu contoh TCM yang tersedia di Indonesia adalah Xpert Xpress SARS-CoV-2 dari Cepheid. Hasil TCM didapat dengan waktu yang relatif cepat, yaitu sekitar kurang dari 30 menit. Karena tidak memerlukan peralatan khusus, TCM dapat dilakukan di klinik (*point-of-care*) (WHO, 2020b).

### C. Kultur Virus

Kultur virus adalah suatu teknik untuk mengisolasi dan propagasi (memperbanyak) propagasi virus. Propagasi SARS-CoV-2 dapat dilakukan dengan media kultur sel Vero. Salah satu tujuan penggunaan teknik ini adalah sebagai tahapan awal pre-sekuensing yang bertujuan untuk menambah jumlah atau konsentrasi virus yang akan dideteksi. Jumlah replikasi virus dapat dideteksi dengan titrasi virus menggunakan titrasi *end point dilution* atau *plaque assay*. Tujuan lain i kultur virus adalah untuk memperbanyak virus dalam produksi vaksin, mempelajari patogenisitas virus, melakukan penelitian anti-virus dan stabilitas virus, serta penelitian lain yang memerlukan virus yang *viable* (CDC, 2020; Harcourt *et al.*, 2020). Kelemahan metode ini adalah sebagai berikut

- 1) Metode ini memerlukan waktu yang lama, kurang lebih 5—10 hari (mulai kultur sel sampai konfirmasi adanya replikasi virus di kultur).
- 2) Virus dalam sampel klinis harus hidup (*viable*) sehingga suhu penyimpanan menjadi faktor penting.
- 3) Metode ini harus dilakukan di fasilitas laboratorium minimum BSL-3.
- 4) Metode ini dilakukan oleh staf yang sudah terlatih.
- 5) Risiko kontaminasi tinggi.

Metode kultur virus lebih banyak digunakan dalam penelitian dan tidak digunakan untuk diagnosis.

Bab III Materi Inti 1

---

# **BIOSAFETY DAN BIOSECURITY LABORATORIUM TERKAIT COVID-19**



## BIOSAFETY DAN BIOSECURITY LABORATORIUM TERKAIT COVID-19

### Deskripsi Singkat

Pelatihan ini menjelaskan elemen kunci bagaimana menjaga keselamatan diri dan lingkungan saat bekerja di fasilitas laboratorium pemeriksaan COVID-19 dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) termasuk alur kerja, reagen, bahan habis pakai dan personil di laboratorium. Kemampuan PCR untuk menghasilkan amplicon DNA dari target sekuens dalam jumlah yang sangat banyak dalam hitungan menit, menjadikan PCR sebagai alat diagnostik yang handal. Namun di sisi lain karena kegiatan dalam prosedur pemeriksaan dapat menimbulkan pajanan virus pada petugas laboratoium, maka diperlukan praktek keselamatan dan keamanan kerja yang benar untuk melindungi petugas laboratorium, lingkungan dan agen itu sendiri dari risiko akibat pajanan bahan infeksius atau terjadinya kontaminasi yang mengakibatkan hasil positif/negatif palsu.

Pertimbangan yang baik dan hati-hati harus dibuat untuk mendesain sarana-prasarana dan prosedur operasional di Laboratorium yang melakukan pemeriksaan COVID-19 berbasis PCR. Modul Pelatihan ini berisi pengetahuan tentang prosedur bekerja dengan aman serta mengurangi kontaminasi saat bekerja menggunakan virus SARS COV-2, sehingga peserta memiliki pengetahuan keselamatan dan kewaspadaan saat bekerja di laboratorium.

### Tujuan Umum

Setelah mengikuti materi peserta mampu menerapkan *biosafety* dan

*biosecurity* laboratorium terkait Pemeriksaan PCR COVID-19.

## **Tujuan Khusus**

Setelah mengikuti materi peserta mampu:

1. Melakukan penilaian risiko.
2. Menerapkan prinsip *Good Laboratory Practice* (GLP).
3. Menggunakan *Biosafety Cabinet* (BSC) dengan benar dan aman.
4. Menggunakan Alat Pelindung Diri (APD) yang benar dan sesuai,
5. Melakukan penanganan tumpahan dan kecelakaan kerja.
6. Melakukan pengelolaan limbah.
7. Melakukan *biorepository* spesimen COVID-19.

## **Pokok Bahasan**

1. Penilaian risiko
2. Praktik laboratorium molekuler yang baik
3. *Biosafety Cabinet* (BSC)
4. Alat Pelindung Diri (APD)
5. Penanganan tumpahan dan kecelakaan kerja
6. Pengelolaan limbah
7. Biorepositori spesimen COVID-19

## Uraian Materi

### Pokok Bahasan 1. Penilaian Risiko

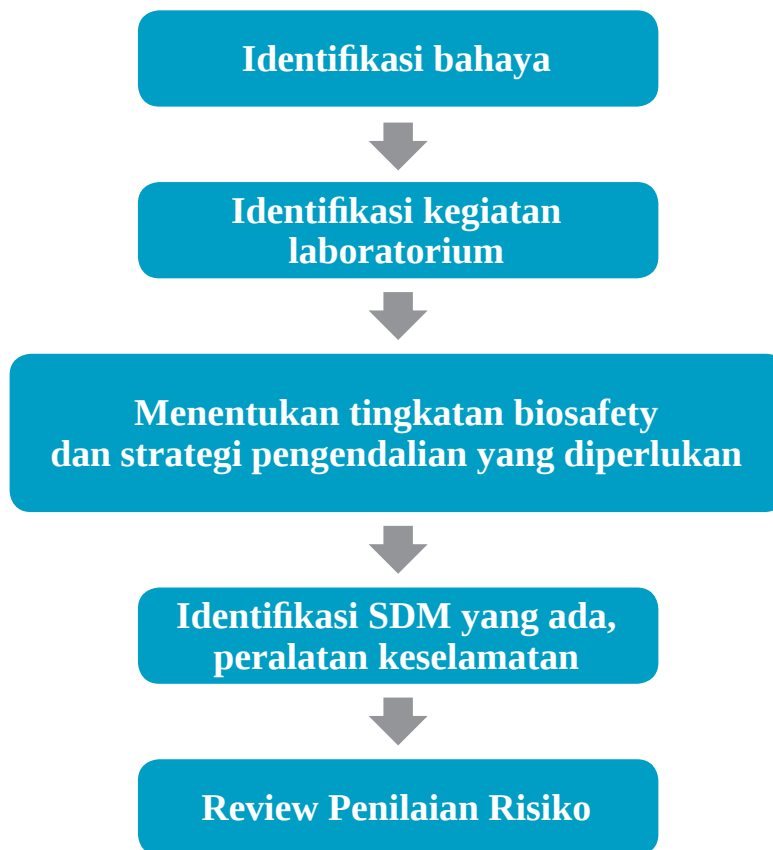
#### A. Pengertian Penilaian Risiko

Penilaian risiko merupakan suatu proses mengidentifikasi bahaya dan mengevaluasi risiko yang berhubungan dengan zat dan racun biologis, dengan mempertimbangkan kelayakan dari setiap kontrol mitigasi yang ada dan memutuskan apakah risiko itu dapat diterima. Penilaian risiko sebaiknya mengkategorikan risiko untuk mengidentifikasi yang perlu dihilangkan atau dikendalikan. Deskripsi kemungkinan kejadian dan konsekuensi, bersama dengan keberterimaan tingkat risiko sebaiknya ditentukan dan digunakan dalam penilaian. Klasifikasi tersebut dapat disusun misalnya menggunakan matriks risiko yang dapat mengidentifikasi kategori kemungkinan kejadian dan kategori konsekuensi, yang menggambarkan kategori risiko dalam zona tinggi, sedang dan rendah. Namun, pendekatan lain mungkin juga relevan dan tepat.

Tabel 3.1. Matriks Penilaian Risiko

		Kemungkinan Terpapar/terlepas		
		<i>Unlikely</i>	<i>Possible</i>	<i>Likely</i>
Konsekuensi jika terpapar/terlepas	<i>Severe</i>	Medium	Tinggi	Sangat Tinggi
	<i>Moderate</i>	Rendah	Medium	Tinggi
	<i>Negligible</i>	Sangat Rendah	Rendah	Medium

## B. Tahapan Penilaian Risiko



### A. Kapan Penilaian Risiko Dilakukan

Penilaian risiko dapat dilakukan ketika

1. sebelum mulai bekerja;
2. terjadi perpindahan atau renovasi;
3. ada pergantian staf;
4. ada agen infeksius yang baru;
5. ada peralatan, bahan, atau reagen yang baru;
6. ada kecelakaan kerja;
7. ada perubahan regulasi.

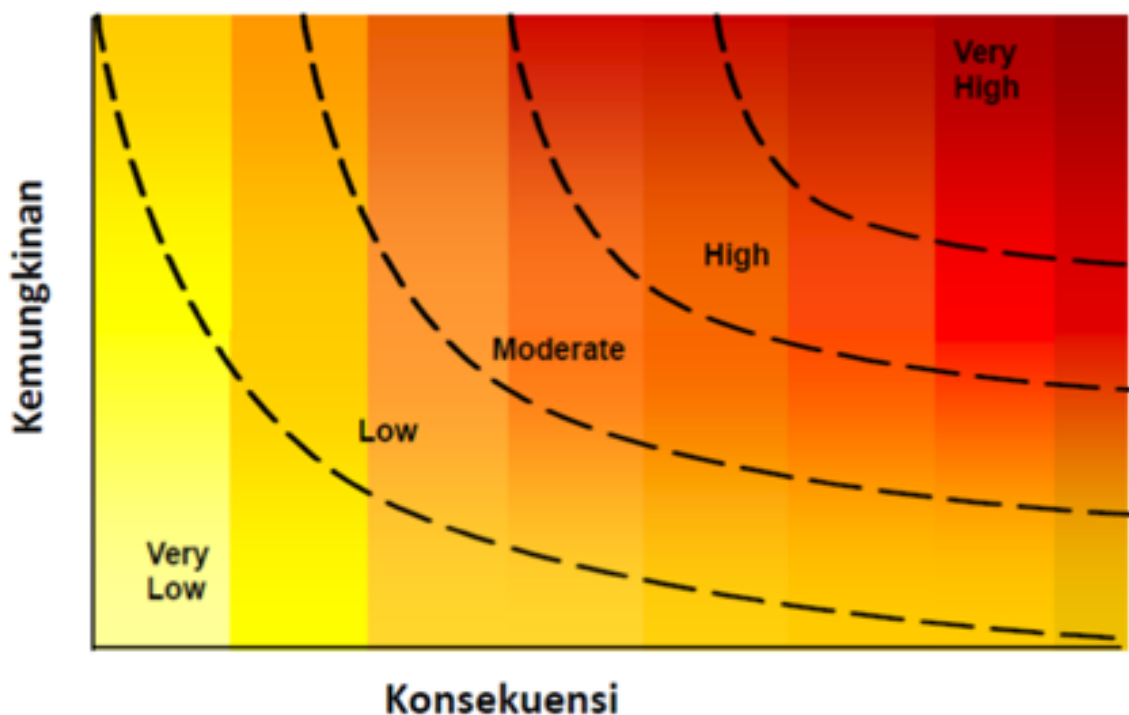
### B. Pengertian Bahaya (*Hazard*) dan Risiko

Bahaya (*hazard*) adalah sumber, keadaan, atau tindakan yang berpotensi menyebabkan kerusakan.

Risiko adalah kombinasi dari kemungkinan terjadinya bahaya dan keparahannya.

### C. Grafik Risiko

Selain matriks risiko, untuk menggambarkan kategori risiko juga dapat dilakukan dengan menggunakan grafik risiko seperti di bawah ini.



Gambar 3.1 Grafik Risiko

Sumber: Sandia National Laboratory, 2019

### D. Hasil Penilaian Risiko

Hasil penilaian risiko setiap laboratorium kemungkinan dapat berbeda karena adanya perbedaan fasilitas, peralatan yang ada, jumlah dan kompetensi SDM, kontrol mitigasi yang ada, atau kebijakan manajemen.

## **Pokok Bahasan 2. Praktik Laboratorium Molekuler yang Baik**

### **A. Kontaminasi**

Kontaminasi merupakan salah satu masalah utama di laboratorium. Tes asam nukleat (DNA/RNA) dilakukan berbasis amplifikasi berulang pada sebuah segmen pendek sekuen DNA. Setiap kali melakukan PCR akan dihasilkan miliaran kopi DNA/RNA (amplikon). Amplikon yang tidak diinginkan dapat menghasilkan hasil palsu.

#### Sumber Kontaminasi

1. Penanganan spesimen, kontrol positif atau amplikon yang tidak memadai
2. Aerosol
3. Kontaminan dari berbagai permukaan alat-alat lab
4. Reagensia dan bahan habis pakai
5. Petugas laboratorium
6. Kecelakaan kerja di laboratorium

Jika terjadi kontaminasi, harus dilakukan dekontaminasi laboratorium molekuler yang berbiaya mahal, sulit, dan memakan waktu. Hal tersebut dapat menghambat pemeriksaan di laboratorium dan menimbulkan *back log*.

#### Pencegahan Kontaminasi di dalam Laboratorium Molekuler

1. Desain dan organisasi laboratorium yang tepat
2. Praktik kerja laboratorium yang baik
3. Mengikuti SPO kerja yang baik → manajemen kualitas laboratorium yang baik

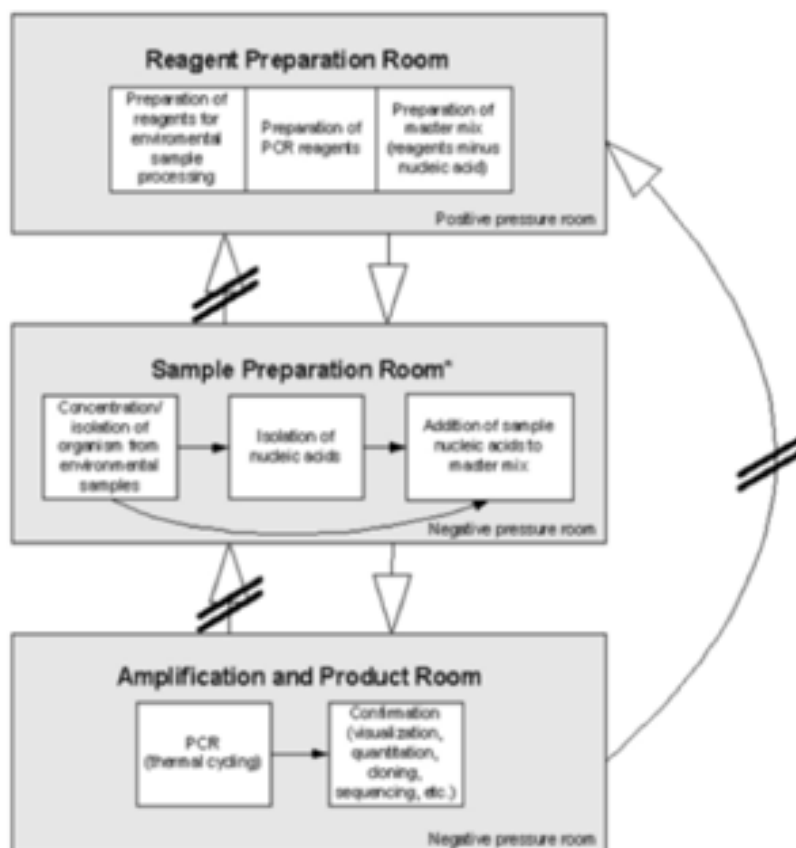
## B. Desain Laboratorium

Pada prinsipnya, area kerja laboratorium untuk pemeriksaan PCR terbagi menjadi tiga area, yaitu

1. ruang preparasi reagen (preparasi *master mix* PCR) □ area bersih (tekanan udara positif);
2. ruang ekstraksi dan penambahan sampel (tekanan udara negatif); dan
3. ruang amplifikasi/*post* amplifikasi (tekanan udara negatif).

Dipisahkan dengan

1. pembatas ruang/tembok;
2. pemisahan sisi ruang; dan
3. alur kerja searah (area bersih (*less contaminant/amplicon*) ke area kotor (*high contaminant/amplicon*)).



Gambar 3.2 Alur kerja di laboratorium

Sumber : <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-qaqc-pcr.pdf>, 2020

1. Ruang preparasi reagen (preparasi *master mix* PCR)  
Ruang preparasi reagen (preparasi *master mix* PCR) merupakan area bersih yang bebas dari berbagai agen biologis (RNA, DNA, sampel, produk PCR, kultur). Ruangan ini khusus untuk melakukan:
  - a. preparasi dan *aliquot* reagen (*aliquot* dilakukan untuk meminimalisir kontaminasi dan *freeze thaw*) dan
  - b. preparasi *reaction mix* untuk PCR.
  
2. Ruang ekstraksi dan penambahan sampel  
Pada ruangan ini dilakukan
  - a. mengekstraksi asam nukleat dari spesimen klinis di dalam BSC Kelas IIdan
  - b. memasukkan sampel, kontrol negatif pada *tube* PCR *mix* yang sudah disiapkan.Semua spesimen klinis harus langsung masuk ke ruangan ini dan tidak boleh masuk ke dalam ruangan amplifikasi/*post* amplifikasi.
  
3. Ruang amplifikasi/*post* amplifikasi  
Pada ruangan ini terdapat mesin PCR yang digunakan untuk amplifikasi DNA/RNA. Penggunaan mesin PCR tersebut harus tercatat di *log book*. Program PCR yang sudah diatur di dalam mesin tidak boleh diubah kecuali oleh orang yang berwenang. Penambahan kontrol positif dilakukan di ruangan ini. Ruangan ini dianggap sebagai ruangan yang paling terkontaminasi oleh produk PCR (amplikon).

## C. Upaya Pencegahan Kontaminasi di Laboratorium

### *Best Practice*

Upaya pencegahan kontaminasi di laboratorium adalah sebagai berikut:

1. menggunakan APD sesuai dengan standar; APD tidak boleh digunakan berpindah ruangan;
  - a. Jas lab *disposable*
  - b. Penutup kepala
  - c. Penutup sepatu
  - d. Sarung tangan *disposable*
  - e. Kaca mata pengaman
  - f. Masker (sesuai dengan penilaian risiko)
2. menggunakan sarung tangan *disposable* dan ganti sesering mungkin;
3. mengganti jas lab jika berpindah area kerja;
4. bekerja secara *uni-directional* atau petugas yang berbeda-beda tiap ruang;
5. memberi label semua reagensia dengan baik;
6. menggunakan alas lantai yang *sticky* pada tiap pintu masuk ruang lab untuk menyaring partikel pada bagian bawah alas kaki yang digunakan;
7. menggunakan mikropipet yang terkalibrasi dan tip *filter*;
8. melakukan dekontaminasi area kerja dengan menggunakan larutan 10% sodium hipoklorit dan alkohol 70% pada saat memulai dan selesai bekerja  
Catatan: bahan hipoklorit dapat menyebabkan karat pada materi logam
9. melakukan penyinaran UV setelah dekontaminasi selesai jika BSC sudah tidak digunakan;

10. sebagai tambahan larutan deaktivasi enzim seperti *uracil-N-glycosilase* dapat digunakan untuk menghilangkan ampikon yang tidak diinginkan;
11. melakukan dekontaminasi pada pipet, permukaan berbagai alat kerja, gagang pintu dan alat-alat lain setelah digunakan pada hari tersebut;
12. melakukan uji swab pada berbagai alat di lingkungan lab untuk mendeteksi kemungkinan kontaminan secara berkala.

Semua personel yang masuk atau bekerja di dalam laboratorium molekuler harus dilatih, termasuk petugas kebersihan dan petugas pemelihara/*maintenance staff*.

#### **D. Upaya untuk Meminimalisasi dan Mendeteksi Kontaminasi Sampel dalam Proses Analitik**

Pada saat menyiapkan reagen analitis dan bahan kontrol

1. gunakan *nuclease free water*;
2. kerja di laboratorium BSL-2 atau BSL-3 sesuai dengan kebutuhan;
3. simpan semua reagen dalam beberapa *aliquot* untuk meminimalisasi kontaminasi;
4. gunakan *master mix* PCR yang sudah di-*aliquot* dalam *working solution*.

Pada saat melakukan proses PCR yang harus dilakukan adalah sebagai berikut

1. menyiapkan kontrol negatif (air) setiap memasukkan 5—8 sampel untuk mendeteksi kontaminasi silang;

2. mengindikasikan adanya kontaminasi silang (biasanya terjadi karena masalah pemipetan) jika pada kontrol negatif memberikan hasil positif;
3. menambahkan *no template control* (NTC) → hanya *master mix* PCR, tanpa sampel atau kontrol positif.

Penyebab NCT positif adalah sebagai berikut:

- a. kontaminasi dari pipet dan reagen saat preparasi reagen;
- b. kontaminasi silang siang dari tube lainnya;
- c. kontaminasi yang berasal dari *template* atau amplicon pada permukaan area/alat kerja lab;
- d. adanya aerosol yang berasal dari pemipetan, tabung yang pecah atau bocor;
- e. pembersihan/dekontaminasi yang tidak sempurna;
- f. petugas lab yang tidak mengikuti alur kerja yang standar;
- g. perpindahan reagen, jas lab, pena, kertas dll. dari area kotor ke area bersih; dan
- h. penyebab lain.

### **Pokok Bahasan 3. *Biological Safety Cabinet* (BSC)**

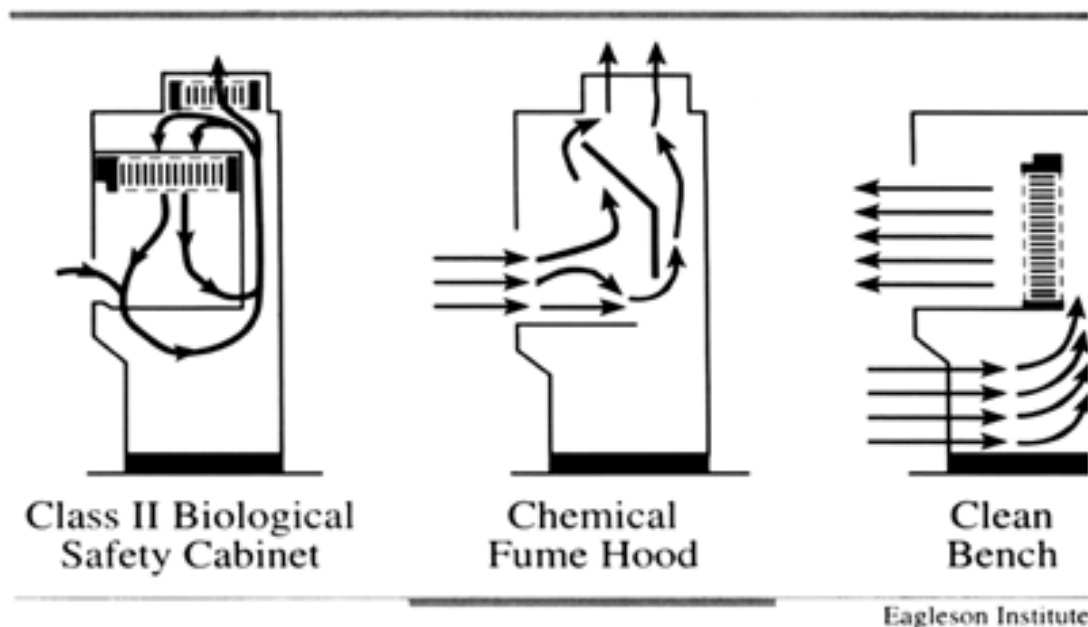
*Biological Safety Cabinet* (BSC) adalah kabinet untuk bekerja menggunakan bahan infeksius dan/atau toksin yang dapat menimbulkan aerosol. Itu berfungsi untuk melindungi petugas lab, lingkungan dan bahan biologi yang digunakan.

Prinsip kerja dari BSC adalah pengendalian risiko dengan sistem tata udara pada ruang di kabinet serta jenis-jenis kabinet yang menggunakan sistem tata udara di laboratorium dan perbedaannya.

Tabel 3.2 Jenis kabinet dengan sistem tata udara dan fungsi perlindungannya (Sumber: WHO Biosafety Manual 3rd edition, 2004)

	PERSONIL	PRODUK	LINGKUNGAN
LEMARI ASAM ( <i>FUME HOOD</i> )	√		
LAMINAR AIR FLOW (LAF)		√	
BIOLOGICAL SAFETY CABINET (BSC) KELAS I	√		√
BSC KELAS II	√	√	√
BSC KELAS III	√	√	√
ISOLATOR	√	√	√

### Airflow Diagrams



Gambar 3.3 Tiga kabinet sistem tata udara yang umum digunakan dalam laboratorium

Sumber: Eagleson Institute, 1993

## A. Klasifikasi BSC

Pemilihan BSC tergantung pada penilaian risiko. Perlakuan dan kegiatan yang akan dilakukan di laboratorium penting untuk diketahui, agar pemilihan BSC tepat dan dapat mengamankan petugas dan lingkungan, serta mengurangi kerugian.

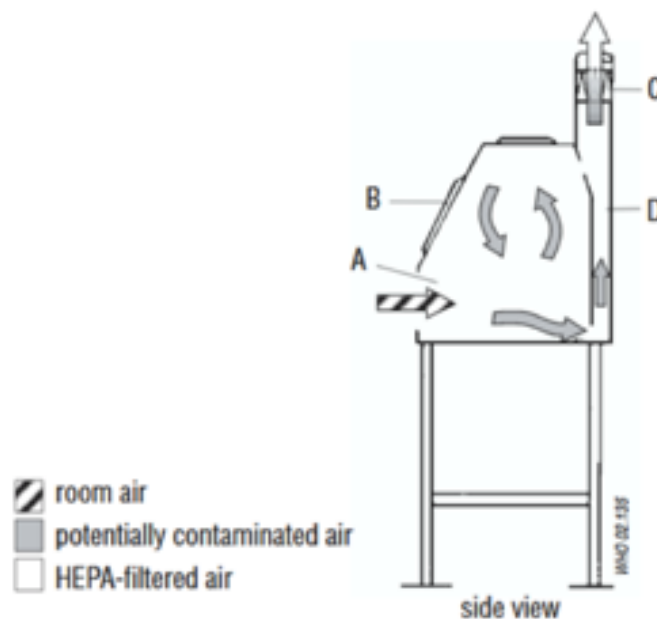
Tabel 3.3 Klasifikasi *Biosafety Cabinet* (BSC)  
(Sumber: *WHO Biosafety Manual 3rd edition*, 2004)

KLASIFIKASI	PROTEKSI	ALIRAN UDARA BUANG	KECEPATAN UDARA DEPAN KABINET	APLIKASI
KELAS I	Personil/ petugas	100 % keluar	75 fpm (0.38 m/s)	Mikroorganisme (agen) risiko Rendah – sedang
KELAS II	Personil / Petugas dan agen			
TYPE A1	Personil / petugas Dan agen	70 % Sirkulasi/ 30% keluar	75 fpm (0.381 m/s)	Mikroorganisme (agen) risiko Rendah – sedang
TYPE A2	Personil / petugas Dan agen	70 % sirkulasi/ 30% keluar	100 fpm (0.508 m/s)	Agen risiko Rendah – sedang, Bisa dengan <i>Thimble duct</i>
TYPE B1	Personil / petugas Dan agen	70 % Keluar	100 fpm (0.508 m/s)	Agen risiko sedang, Bahan kimia toxin rendah
TYPE B2	Personil / petugas Dan agen	100 % keluar	100 fpm (0.508 m/s)	Agen risiko sedang, Bahan kimia toxin rendah - sedang
KELAS III	Personil / petugas Dan agen	100 % keluar	N/A	Agen risiko tinggi, Bahan kimia toxin <i>volatile</i> tinggi

Note : NSF 49 Telah Mengklasifikasi Kelas II A3/B3 sebagai Kelas II A2 / Type A3 sudah dihapus

## 1. BSC Kelas I

BSC Kelas I menarik udara dari ruangan masuk ke BSC dari bukaan depan melewati area kerja BSC dan mengeluarkannya ke saluran pembuangan melalui *filter* HEPA. BSC Kelas I melindungi pekerja dan lingkungan, tetapi tidak melindungi area kerja terhadap kontaminasi karena udara dari luar yang ditarik masuk ke BSC langsung melewati area kerja dalam BSC tanpa *filter*.



**Schematic diagram of a Class I biological safety cabinet.**  
A, front opening; B, sash; C, exhaust HEPA filter; D, exhaust plenum.

Gambar 3.4 BSC Kelas I

Sumber: *WHO Biosafety Manual 3<sup>rd</sup> edition*, 2004

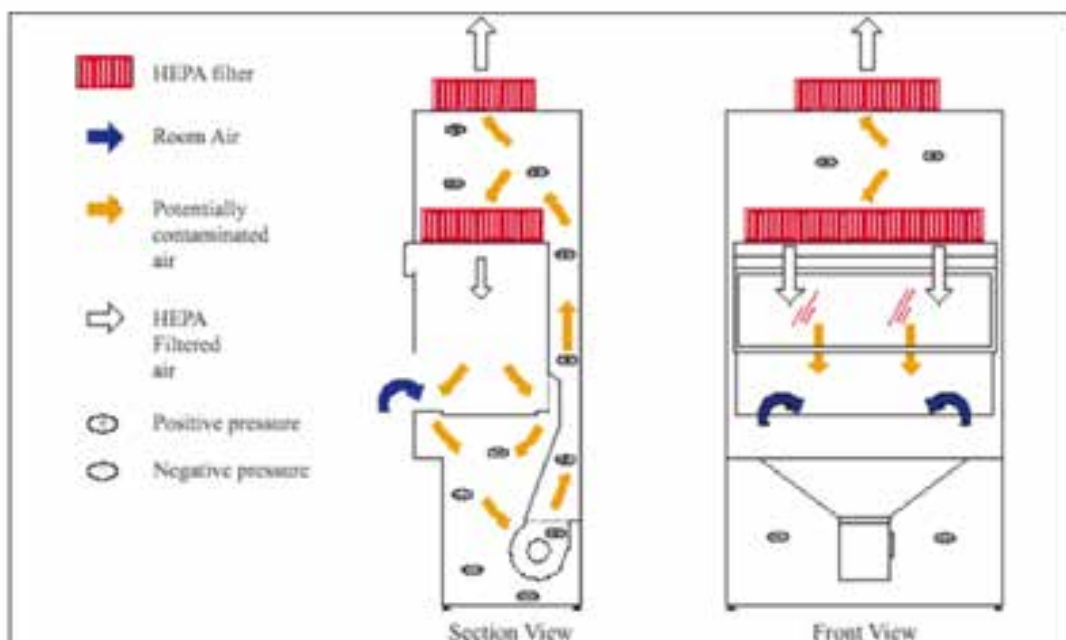
## 2. BSC Kelas II

BSC Kelas II memberikan perlindungan bagi pengguna, lingkungan dan area kerja. Udara yang ditarik dari bukaan depan BSC mengalir melalui *grill* atau kisi-kisi udara bagian depan untuk kemudian di *filter* melalui HEPA *filter* dan memberikan udara bersih di area kerja. Terdapat empat jenis

BSC Kelas II, yaitu tipe A1, A2, B1, dan B2.

a. BSC Kelas II Tipe A1

BSC Kelas II Tipe A1 digunakan untuk agen yang memiliki risiko rendah dan tidak mengandung bahan kimia beracun atau radionuklida yang mudah menguap. Percepatan udara masuk minimal 0,38-0,5 m/s pada bukaan depan. Selanjutnya, udara masuk ke area melalui kisi udara (*grill*) bagian depan dan belakang permukaan kerja. Udara ditarik masuk ke bagian bawah kabinet terdapat *blower* yang kemudian mengeluarkan udara melalui plenum. Udara disaring oleh HEPA *filter* sebelum dibuang keluar kabinet dan sebagian lagi akan masuk kembali ke area permukaan kerja kabinet. Jika dimungkinkan, udara dibuang ke luar gedung menggunakan saluran udara (*ducting*) dengan tudung kanopi “*thimble*”.

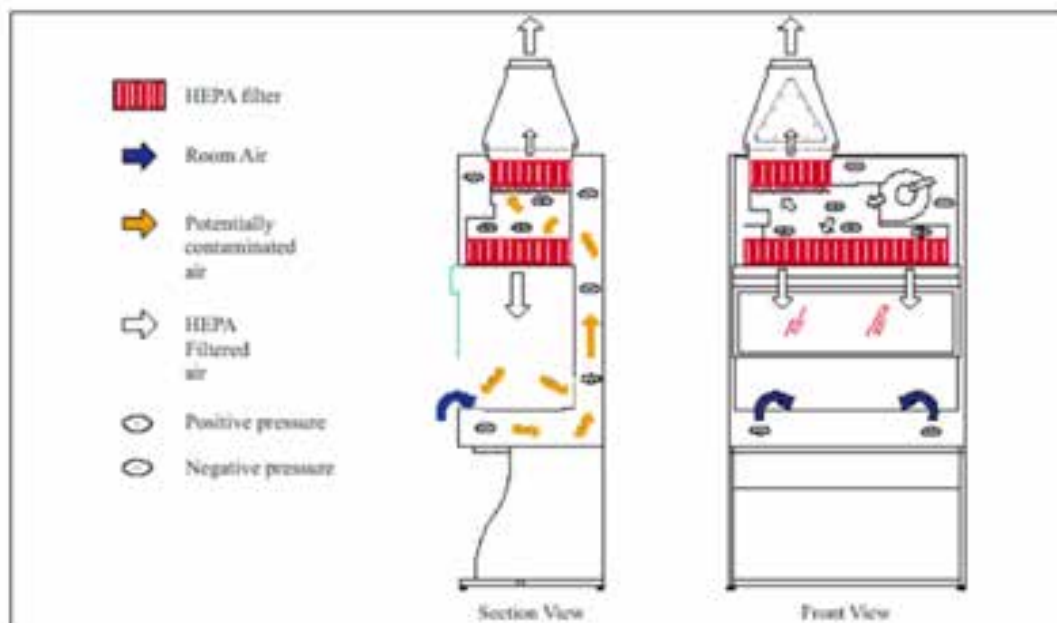


Gambar 3.5 BSC Kelas II Tipe A1

Sumber: University of Nevada Reno (<https://www.unr.edu/ehs/policies-manuals/biosafety-manual/chapter-8>), 2020

b. BSC Kelas II Tipe A2

BSC Kelas II Tipe A2 memiliki resirkulasi udara dan digunakan untuk bekerja dengan agen grup risiko 2 dan 3, toxin, dan radionuklida *volatile* tingkat rendah. Percepatan udara masuk minimal 0,5 m/s atau 100 ft/min. Udara masuk dari bukaan depan akan tertarik ke kisi udara (*grill*) bagian depan dan belakang permukaan area kerja. Selanjutnya, udara ditarik oleh *blower* di bagian atas dari *plenum* dengan tekanan negatif ke *plenum* bertekanan positif. Sebanyak 30% udara dibuang keluar dan 70% udara masuk kembali ke dalam ruangan area kerja melalui saringan HEPA *filter*. Type BSC kelas 2 type A2 ini ada yang menggunakan dan tidak menggunakan saluran pembuangan udara (*ducting*).

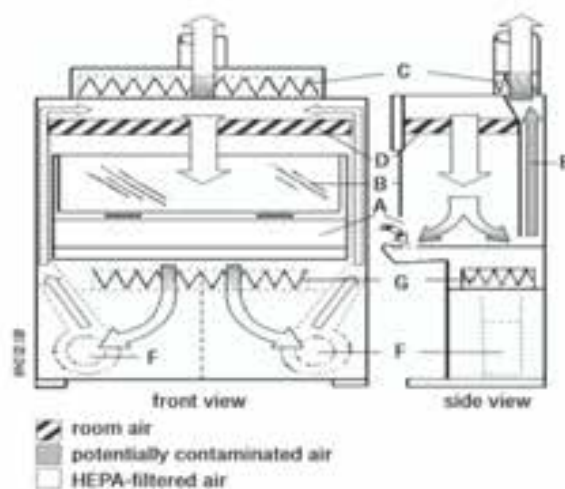


Gambar 3.6 BSC Kelas II Tipe A2

Sumber : University of Nevada Reno (<https://www.unr.edu/ehs/policies-manuals/biosafety-manual/chapter-8>), 2020

c. BSC Kelas II Tipe B1

BSC kelas II tipe B1 cocok untuk pekerjaan dengan agen grup risiko tingkat 2 atau 3, toxin, dan radionucleotide *volatile* rendah. Percepatan udara masuk minimal 0,5 m/s atau 100 ft/min. Udara masuk dari bukaan depan dan bagian kisi udara di plenum bagian atas. Udara yang masuk dari bagian *sash* tertarik ke kisi udara (*grill*) bagian depan dan belakang permukaan area kerja, sedangkan udara dari kisi udara atas langsung masuk ke plenum dan masuk ke area kerja melalui HEPA *filter*. Pada umumnya, BSC kelas 2 Tipe B menggunakan saluran udara keluar (*ducting*). Untuk type B1 pembagian udara yang keluar melalui *ducting* sebesar 70% dan resirkulasi sebesar 30%.

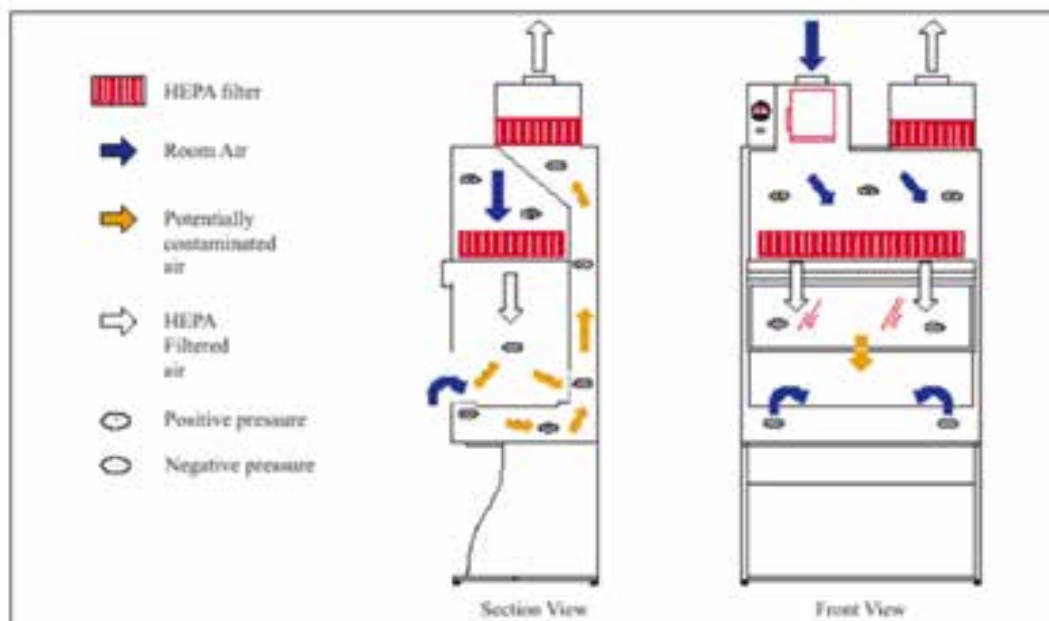


**Schematic diagram of a Class II B1 biological safety cabinet.**  
A, front opening; B, sash; C, exhaust HEPA filter; D, supply HEPA filter; E, negative-pressure exhaust plenum; F, blower; G, HEPA filter for supply air. Connection of the cabinet exhaust to the building exhaust air system is required.

Gambar 3.7 BSC Kelas II Tipe B1  
Sumber: WHO Biosafety Manual 3<sup>rd</sup> edition, 2004

d. BSC Kelas II Tipe B2

BSC kelas II tipe B2 cocok untuk pekerjaan dengan agen dengan grup risiko tingkat 2 dan 3 tergantung pada penilaian risiko, bahan kimia beracun dan radionuklida *volatile* rendah sampai sedang. Percepatan aliran udara minimal 0,5 m/s. Tidak ada resirkulasi udara, 100% udara dibuang memiliki *ducting* dan plenum dengan tekanan negative, memiliki alarm yang akan berbunyi jika aliran pengisap berhenti. *Blower* menarik udara luar dari kisi udara atas ke dalam kabinet, melalui HEPA *filter* mengalir ke permukaan area kerja. Aliran udara luar yang masuk melalui *sash* bagian depan kabinet akan ditarik masuk ke *plenum* dan langsung terbangung ke *ducting*.

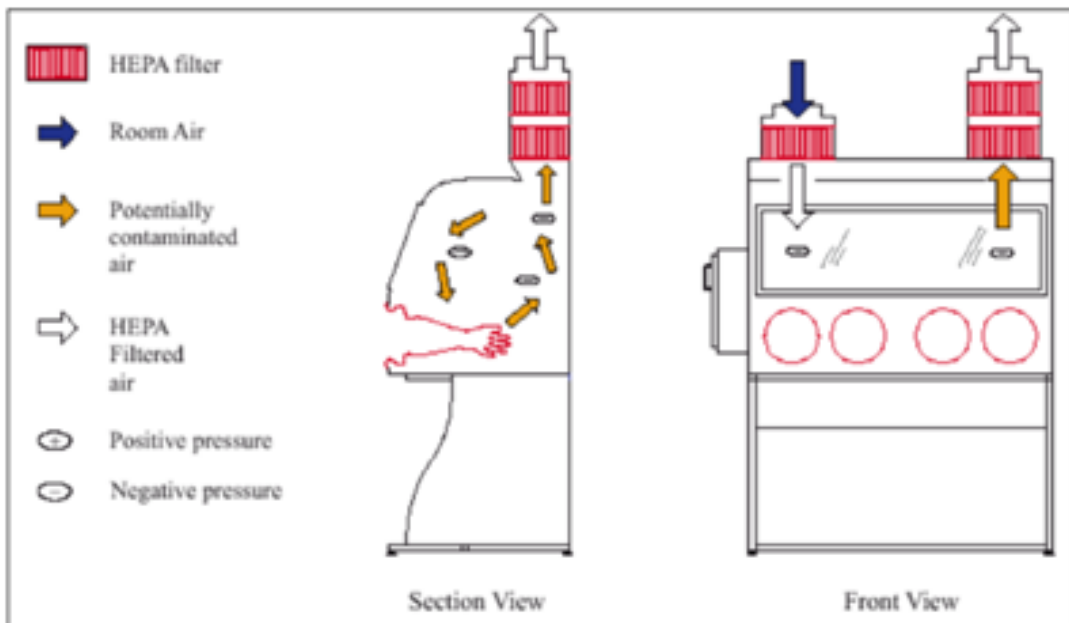


Gambar 3.8 BSC Kelas II Tipe B2

Sumber: University of Nevada Reno (<https://www.unr.edu/ehs/policies-manuals/biosafety-manual/chapter-8>), 2020

### 3. BSC Kelas III

BSC Kelas III pada umumnya hanya digunakan di laboratorium yang memerlukan tingkat *biosafety* maksimal, menyediakan tingkat perlindungan paling tinggi dan digunakan untuk kelompok risiko 3 atau 4 sesuai dengan penilaian risiko. Semua penetrasi disegel dan “kedap udara”. Pasokan udara melalui saringan HEPA dan buangan juga melewati HEPA. Udara di dalam kabinet tetap bertekanan negatif. Pada saat masuk ke dalam ruangan orang harus memakai sarung tangan khusus yang terikat dengan bagian depan kabinet untuk bekerja di area kerja. Aliran udara buangan disaring menggunakan HEPA ganda untuk memastikan tidak ada agen yang keluar.



Gambar 3.9 BSC Kelas III

Sumber: University of Nevada Reno (<https://www.unr.edu/ehs/policies-manuals/biosafety-manual/chapter-8>), 2020

## BSC untuk Pemeriksaan SARS-CoV-2

Standar minimal BSC untuk pemeriksaan PCR Covid-19 19 adalah BSC kelas II tipe A2 yang memberikan perlindungan bagi pengguna, lingkungan, dan area kerja.

Berikut beberapa hal yang harus diperhatikan terkait dengan penggunaan BSC:

- 1) Salah satu mitos tentang BSC paling sering dipercayai oleh petugas laboratorium di seluruh dunia adalah BSC karena memberikan perlindungan yang sempurna dari bahan infeksius. Namun, hal tersebut sesungguhnya tidak benar. Di bawah ini adalah hal-hal yang benar terkait dengan penggunaan BSC.
  - a. Teknik yang salah saat menggunakan BSC akan membuat petugas laboratorium tetap berisiko terpapar bahan infeksius.
  - b. BSC dapat mempertahankan tingkat sterilitas jika digunakan sesuai dengan cara praktik laboratorium yang benar oleh petugas laboratorium.
  - c. Praktik laboratorium yang benar dan *biosafety* yang diterapkan oleh petugas laboratorium harus selalu menjadi bagian yang melengkapi penggunaan BSC.
  - d. Penerapan praktik kerja yang aman selain melindungi petugas laboratorium terpapar dari bahan infeksius, juga dapat mencegah terjadinya kontaminasi silang pada sampel yang diperiksa.
- 2) BSC harus terhubung ke catu daya yang stabil. Idealnya terhubung melalui *Uninterruptible Power Supply* (UPS) dengan kapasitas yang cukup untuk memastikan bahwa BSC dapat beroperasi setidaknya selama 15 menit pada saat listrik mati. Pekerjaan harus segera dihentikan ketika listrik mati

dan 15 menit tersebut digunakan BSC untuk membersihkan kabinet.

- 3) Sebagian besar BSC dilengkapi dengan *alarm* visual dan suara. *Alarm* BSC memperingatkan petugas laboratorium bahwa BSC tidak lagi aman untuk beroperasi dan fungsi perlingkungannya mungkin tidak bekerja dengan baik. Ketika alarm terjadi, petugas laboratorium harus segera menghentikan pekerjaan dan memberi tahu *supervisor* atau manajer laboratorium.
- 4) Untuk memastikan BSC masih berfungsi dengan baik, perawatan harus dilakukan dengan rutin termasuk kalibrasi setiap tahun. Kalibrasi BSC harus dilakukan oleh petugas yang kompeten atau memiliki sertifikasi *National Sanitation Foundation* (NSF). Selain kalibrasi tahunan, kalibrasi juga perlu dilakukan setelah terjadi pemindahan tempat BSC meskipun di dalam ruangan laboratorium yang sama.
- 5) Tirai udara yang membantu memberikan perlindungan saat bekerja di BSC bersifat rapuh. Kemampuannya adalah untuk melindungi mudah rusak oleh gerakan udara tertentu seperti turbulensi. Volume udara yang besar dari *air conditioner* (AC) dan kipas angin jelas dapat merusak tirai udara tersebut. Namun, kegiatan biasa seperti membuka dan menutup pintu atau berjalan terlalu dekat ke BSC juga dapat merusak tirai udara pelindung tersebut. Oleh karena itu, BSC tidak boleh ditempatkan di dekat area lalu alang petugas laboratorium.

## **B. Penempatan BSC**

Penentuan lokasi penempatan BSC di laboratorium perlu mempertimbangkan hal-hal sebagai berikut:

- Pastikan posisi BSC jauh dari AC  
Pergerakan udara yang dihasilkan oleh AC berpotensi

merusak tirai udara bahkan dari jarak lebih dari 3 meter. Tidak disarankan memosisikan BSC berhadapan langsung dengan AC.

- Jarak BSC dari area lalu lalang petugas  
Berjalan dapat menciptakan pergerakan udara yang cukup mengganggu aliran udara di BSC. Berikan jarak 1,5 meter antara BSC dan area lalu lalang orang. Pada laboratorium dengan ruangan yang berukuran kecil perlu dilakukan pembatasan pergerakan orang di dalam laboratorium saat BSC sedang digunakan.
- Pintu dan jendela  
Membuka dan menutup pintu dapat menciptakan pergerakan udara yang dapat mengganggu tirai udara BSC, demikian juga dengan jendela yang terbuka memungkinkan aliran udara yang masuk dan keluar dari laboratorium. Oleh karena itu, untuk laboratorium yang memiliki jendela yang bisa dibuka, perlu dipastikan jendela selalu dalam kondisi tertutup.
- Lokasi peralatan lain  
Aliran udara keluar (*exhaust*) dari BSC lain atau peralatan lainnya dapat mengganggu tirai udara. Oleh karena itu, perlu dipertimbangkan dengan cermat pengaruh semua peralatan dan pengaruhnya terhadap tirai udara BSC ketika memutuskan lokasi penempatan BSC.
- Jarak dari dinding atau plafon  
Penempatan BSC yang terlalu dekat dengan dinding atau plafon dapat menciptakan tekanan balik sehingga mengganggu fungsi BSC. Berikan jarak minimum 35 cm di setiap sisi dan di atas BSC.

## C. Bekerja dengan Aman di BSC

### 1. Sebelum Bekerja di BSC

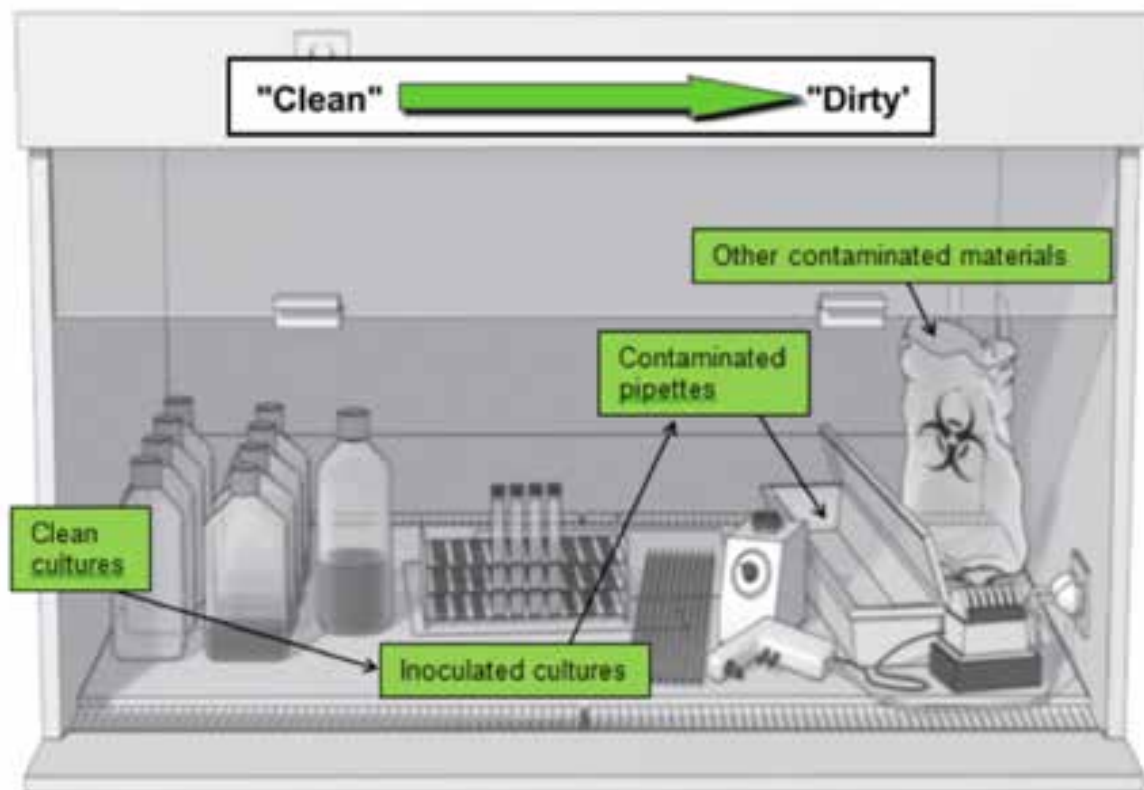
Hal-hal yang harus dilakukan sebelum bekerja di BSC adalah sebagai berikut.

- a. Lakukan penilaian risiko. Penilaian risiko dilakukan oleh *Biosafety Officer* atau penanggung jawab laboratorium dengan memperhatikan agen yang digunakan, pekerjaan yang dilakukan, dan kemungkinan risiko lainnya.
- b. Siapkan peralatan dan bahan untuk bekerja di BSC seperti
  - 1) peralatan: pipet, *biohazard tray*, dan lain-lain;l
  - 2) spesimen;
  - 3) bahan habis pakai: pipet tips, vial, dan lain-lain;
  - 4) reagen.
- c. Gunakan alat pelindung diri (APD)
  - 1) sarung tangan *double gloves*;
  - 2) baju Lab atau jas lab atau *lab gown*;
  - 3) sepatu boot atau sepatu dengan penutup;
  - 4) plindung mata dan wajah; dan
  - 5) masker.

### 2. Persiapan Alat di BSC

- a. Jika BSC dilengkapi dengan lampu UV, nyalakan lampu selama 30 menit.
- b. Matikan lampu UV dan buka jendela (*sash*) bagian depan BSC sampai lampu menyala atau sesuai dengan indikator BSC. Pastikan tidak ada barang penghalang di atas kisi udara (*grill*) bagian depan.
- c. Nyalakan *blower* dan biarkan selama 5 menit untuk menstabilkan sistem udara.

- d. Dekontaminasi BSC dengan menggunakan alkohol 70% (bahan dekontaminasi tergantung dari agen yang dikerjakan) dan di lap dengan kain bersih setelahnya.
- e. Lakukan penyesuaian kursi dengan area kerja BSC.
- f. Bersihkan menggunakan alkohol dan tisu untuk semua peralatan, bahan habis pakai dan spesimen sebelum dimasukkan ke dalam BSC.
- g. Tidak boleh meletakkan barang di atas kisi udara dan tidak boleh terlalu penuh barang di dalam kabinet.
- h. Buatlah alur kerja dalam BSC.
  - 1) Zona bersih : area reagen
  - 2) Zona kerja : pipet dan spesimen
  - 3) Zona kotor (terkontaminasi) : limbah



Gambar 3.10 Pembagian area kerja di dalam BSC

Sumber: [https://www2.lbl.gov/ehs/pub3000/CH26/CH26\\_Appx\\_E.html](https://www2.lbl.gov/ehs/pub3000/CH26/CH26_Appx_E.html), 2020

### 3. Saat Bekerja di BSC

Kegiatan saat bekerja sangat memengaruhi adanya turbulensi atau putar balik udara yang meningkatkan risiko terjadinya infeksi di laboratorium.

- Usahakan alur zona sesuai dengan urutan kerja: zona bersih, zona kerja dan zona kotor (terkontaminasi).
- Bergerak perlahan (tidak terburu-buru).
- Gerakan tangan saat bekerja dan keluar/masuk kabinet lurus tidak menyamping.
- Masuk dan keluarkan peralatan atau bahan dari kabinet dengan tangan dan lengan lurus.
- Ikuti teknik aseptik berikut:
  - o Pada saat membuka tutup botol, *tube* atau *flask* usahakan sejajar dengan aliran udara → Vertikal.
  - o Selalu menutup *tube* setelah digunakan.
  - o Penempatan bahan kerja sedapat mungkin di tengah kabinet.
  - o Kerjakan satu per satu, tutuplah *vial/tube* setelah digunakan lalu mulai lagi sampel berikutnya.
  - o Tiap *tube* yang sudah selesai dan kosong harus langsung dibuang ke kantong *biohazard* yang sudah disiapkan.

#### 4. Setelah Bekerja di BSC

Hal-hal yang harus dilakukan setelah bekerja di BSC adalah sebagai berikut.

- 1) Lakukan desinfeksi barang dan bahan kerja dengan alkohol 70%. Biarkan 10 menit lalu keringkan dengan tisu bersih.
- 2) Keluarkan semua barang dari dalam BSC.
- 3) Keluarkan limbah dan ikat kantung *Biohazard*, untuk kemudian diotoklaf.
- 4) Disinfeksi permukaan BSC dan dikeringkan dengan tisu sampai bersih.
- 5) Tutup dan matikan BSC nyalakan lampu UV selama 60 menit.
- 6) Buka APD dimulai dari yang paling kotor, yaitu *gloves* bagian luar, lalu *disposable gown*. Lakukan dari dalam keluar sehingga bagian luar tidak lagi tersentuh. Lepaskan *goggles/masker*, lalu lepaskan *gloves* dan jas lab. Terakhir, cuci tangan sebelum keluar laboratorium.

#### **Pokok Bahasan 4. Alat Pelindung Diri (APD)**

Alatpelindung diri (APD) mengacu pada seperangkat peralatan yang dapat dipakai dan/atau pakaian yang dikenakan oleh personel untuk memberikan penghalang tambahan antara individu dan bahan biologis yang sedang ditangani, yang secara efektif diharapkan dapat mengendalikan risiko dengan mengurangi kemungkinan pajanan oleh bahan biologis tersebut. Pemilihan jenis APD dan penggunaannya harus dilakukan melalui penilaian risiko.

Prinsip yang harus dipenuhi dalam pemilihan APD:

- 1) APD harus dapat melindungi pemakainya terhadap bahaya yang spesifik atau bahaya-bahaya yang dihadapi (percikan, kontak langsung, dan tidak langsung).
- 2) APD hendaknya seringan mungkin dan alat tersebut tidak menyebabkan rasa ketidaknyamanan yang berlebihan.
- 3) APD Dapat dipakai secara fleksibel (*reuseable* maupun *disposable*).
- 4) Penggunaan APD tidak menimbulkan bahaya tambahan.
- 5) APD tidak mudah rusak.
- 6) APD Memenuhi ketentuan standar yang ada.
- 7) Pemeliharaan mudah.
- 8) Penggunaan APD tidak membatasi gerak.

#### A. Jenis APD

1. Jas lab/baju lab
  - a. Baju laboratorium harus lengan panjang dengan karet elastis di bagian pergelangan tangan.
  - b. Cukup panjang hingga menutupi lutut.
  - c. Bagian depan solid, kancing atau pengikat digunakan di bagian belakang.
  - d. Baju laboratorium ini hanya digunakan di area laboratorium pada ruang tertentu
  - e. Bila telah selesai kegiatan dilaksanakan, baju dimasukkan ke dalam plastik *biohazard* untuk diotoklaf dan selanjutnya dimusnahkan (untuk baju sekali pakai) atau dilakukan pencucian (untuk baju yang *reuseable*).
  - f. Baju laboratorium tidak digantung atau ditumpuk dengan baju laboratorium lainnya.



Gambar 3.11 Jas lab/baju lab  
Sumber: *medcareproducts.com*, 2020

## 2. Sarung tangan

- a. Sarung tangan hanya dipakai sekali dengan ukuran yang sesuai dengan tiap-tiap personel. . Sebelum digunakan (dipakai), sarung tangan, harus diperiksa terdapat kebocoran atau kerusakan atau tidak.
- b. Sarung tangan harus digunakan selama melakukan pekerjaan atau tanpa sengaja kontak dengan darah, cairan tubuh. atau bahan biologis lainnya.
- c. Setelah petugas selesai bekerja, sarung tangan harus dibuang dan tidak boleh didesinfeksi untuk digunakan kembali karena paparan disinfektan dan pemakaian yang lama akan mengurangi integritas sarung tangan dan menurunkan perlindungan bagi pengguna. Pemilihan jenis sarung tangan juga melalui pertimbangan kesehatan (misalnya kondisi alergi karena lateks).



Gambar 3.12 Sarung tangan

Sumber: Internet *marketplace*, 2020

3. Pelindung muka (Pelindung mata (*goggles*) dan Pelindung wajah (*face shield*))
  - a) Pelindung wajah (*face shield*) atau perangkat pelindung lain harus dipakai saat bekerja dengan spesimen Covid-19 untuk melindungi mata dan wajah dari cipratan, benda yang terkontaminasi ataupun radiasi ultraviolet buatan.
  - b) Pelindung mata dapat digunakan kembali, tetapi harus dibersihkan secara teratur setiap kali digunakan.
  - c) Jika terjadi cipratan, harus segera didekontaminasi dengan disinfektan yang tepat.



Gambar 3.13 Pelindung wajah dan pelindung mata

Sumber: Internet *marketplace*

#### 4. Alas kaki

- Alas kaki harus dikenakan di laboratorium dan harus dirancang/dipilih agar dapat meminimalkan kecelakaan terpeleset atau terkilir dan dapat mengurangi kemungkinan cedera dari kejatuhan benda dan paparan bahan biologis.
- Alas kaki khusus (*dedicated shoes*) digunakan saat bekerja di laboratorium.
- Sebaiknya personil tidak menggunakan alas kaki yang nantinya akan dibawa ke rumah.



Gambar 3.14 Alas kaki  
Sumber: Internet *marketplace*

#### 5. Pelindung sepatu (*cover shoes*)

- a. Sepatu berfungsi untuk melindungi sepatu pengguna/tenaga kesehatan dari percikan cairan/darah.
- b. Sepatu hanya digunakan satu kali.



Gambar 3.15. Pelindung sepatu (*cover shoes*)  
Sumber: Internet *marketplace*

## 6. Pelindung pernapasan

- a) Pada umumnya bukan merupakan bagian utama dari persyaratan inti (bila pekerjaan dilakukan dalam BSC yang telah tervalidasi).
- b) Penilaian risiko harus dilakukan untuk menentukan apakah penggunaan pelindung pernapasan dan jenisnya (masker bedah, masker N95, atau PAPR), terutama ketika prosedur yang berpotensi menghasilkan *aerosol* dan *droplet* yang dilakukan di luar BSC, misalnya
  - 1) kegiatan sentrifugasi;
  - 2) penanganan spesimen yang bocor;
  - 3) Prosedur lain yang dapat menyebabkan percikan, misalnya memasukkan atau mengeluarkan tabung spesimen dari rotor sentrifus yang mempunyai tutup, proses penggerusan, proses memblender, pengocokan yang kuat dan sonikasi spesimen, serta membuka wadah bertekanan yang mengandung bahan infeksius.



Gambar 3.16 Masker bedah dan masker N95

Sumber: Internet *marketplace*, 2020

## 7. Pelindung kepala

Penutup kepala merupakan pelindung kepala dan rambut tenaga kesehatan dari percikan cairan infeksius pasien selama melakukan perawatan. Penutup kepala terbuat dari bahan tahan cairan, tidak mudah robek dan ukurannya pas di kepala tenaga kesehatan. Penutup kepala ini digunakan sekali pakai.



Gambar 3.17 Pelindung kepala  
Sumber: Internet *marketplace*, 2020

## B. APD untuk Pengambilan Spesimen

Pengambilan spesimen pernapasan (usap nasofaring dan orofaring)

1. Masker N95 atau masker yang setara
2. Jas lab bukaan belakang (*lab gown*)
3. Boots/sepatu karet dengan pelindung sepatu
4. Pelindung mata
5. *Face shield*
6. Sarung tangan karet steril sekali pakai
7. Pelindung kepala
8. Apron

## Pengambilan Spesimen Nonpernapasan

1. Masker bedah
2. Jas lab bukaan belakang (*lab gown*)
3. Pelindung mata (pada risiko percikan cairan sampel)
4. Sarung tangan karet sekali pakai
5. Pelindung kepala

### C. APD untuk Pemeriksaan Spesimen

1. Masker N95
2. Jas lab bukaan belakang (*lab gown*)
3. Sarung tangan karet steril sekali pakai
4. Pelindung mata dan/atau pelindung wajah (*face shield*)
5. Pelindung kepala
6. Pelindung sepatu

### D. APD Pembuangan Limbah Spesimen Infeksius

Jenis APD ditentukan berdasarkan penilaian risiko tiap-tiap instansi (WHO, 2004). Setiap jenis APD mempunyai spesifikasi tertentu dengan tingkat perlindungan yang berbeda-beda. Oleh karena itu, dalam menentukan jenis APD, perlu dilihat kembali spesifikasi tiap APD. Dalam konteks Covid-19, spesifikasi APD dapat dilihat dalam Pedoman Standar Alat Pelindung Diri (APD) untuk Penanganan COVID-19 di Indonesia (Gugus Tugas Percepatan Penanganan COVID-19, 2020).

Jenis APD yang biasa digunakan untuk limbah infeksius adalah sebagai berikut:

1. tutup kepala;
2. apron atau jas lab atau *coverall*;
3. *Goggle* atau *face shield*;
4. masker medis atau respirator;

5. sarung tangan *disposable* atau sarung tangan tahan panas saat bekerja dengan *autoclave* atau sarung tangan *heavy duty*;
6. *boots* atau cover sepatu *waterproof* dan tidak mudah robek.

## **Pokok Bahasan 5. Penanganan Tumpahan dan Kecelakaan Kerja**

Walaupun petugas bekerja dengan agen infeksius berisiko rendah dengan mengikuti semua prosedur penting terkait dengan keselamatan, insiden atau kecelakaan kerja tetap bisa terjadi. Rencana tanggap darurat harus dibuat untuk mengurangi kemungkinan terjadinya pajanan dari agen infeksius yang terlepas atau untuk mengurangi konsekuensi dari insiden tersebut. Tujuan rencana tanggap darurat agar bisa melengkapi pedoman operasional baku yang harus diikuti di setiap kemungkinan skenario keadaan darurat dan berlaku pada pekerjaan dan lingkungan di sekitarnya. Selain itu, personel harus mendapat pelatihan untuk prosedur tersebut dan dilakukan pelatihan berkala untuk mempertahankan kompetensinya.

Kotak P3K, termasuk pasokan kebutuhan medis, seperti botol untuk mencuci mata dan sabun antiseptik untuk mencuci luka, plester harus disediakan dan mudah dijangkau bagi personel. Pasokan ini harus dicek rutin untuk memastikan bahwa pasokan ini masih dalam masa berlaku dan disediakan dengan jumlah yang cukup.

Semua insiden harus dilaporkan kepada penanggung jawab fasilitas, petugas K3 (kesehatan dan keselamatan kerja) atau *Biosafety Officer* tepat waktu. Laporan tertulis, baik kecelakaan maupun insiden, harus direkam dan dipertahankan, sesuai dengan peraturan nasional yang berlaku. Semua insiden harus dilaporkan dan diinvestigasi tepat waktu sehingga dapat dikembangkan tindakan korektif dan langkah-langkah pencegahan di kemudian hari serta memperbaiki rencana tanggap darurat.

*Spill kit*, termasuk disinfektan, harus mudah dijangkau personel.

1. Tergantung pada ukuran, lokasi, konsentrasi, dan volume tumpahan, diperlukan protokol yang berbeda dalam menangani tumpahan. Prosedur tertulis untuk membersihkan dan dekontaminasi tumpahan harus dibuat di laboratorium dan diikuti oleh personel yang sudah dilatih.

## A. Penanganan Tumpahan

### 1. Prosedur Penanganan Tumpahan di Dalam BSC

- a. Tutup area tumpah dengan kain atau kertas penyerap, dan tuangkan disinfektan yang sesuai dari arah luar ke dalam. Peralatan dan materi apapun yang terkena cipratan harus dibersihkan (termasuk bagian interior dan dinding BSC, atau *safety buckets*).
- b. Berikan waktu agar disinfektan bekerja sekitar 30—60 menit sebelum membuang materi tersebut.
- c. Di dalam BSC tempatkan semua kontainer dan buang material ke kantong plastik yang disediakan dalam *spill kit* kemudian ikat kantong dan tempatkan di dalam kontainer yang akan diotoklaf.
- d. Ganti sarung tangan jika sudah terkontaminasi. Buang sarung tangan bersama dengan limbah infeksius tadi.
- e. Staf yang terpapar tumpahan harus dirujuk untuk pemeriksaan medis dan kejadian terperinci tentang kecelakaan tersebut harus **tercatat di log book**.

### 2. Prosedur Penanganan Tumpahan di Luar BSC

- a. Segera ungsikan, amankan lab, dan informasikan ke manajer lab.

- b. Biarkan ventilasi/sistem *exhaust* dalam lab tetap menyala, termasuk dalam BSC.
- c. Tutup tumpahan dengan kain atau kertas penyerap, dan rendam kertas/kain penyerap disinfektan yang sesuai; tuang disinfektan dari luar ke dalam.
- d. Berikan waktu untuk bekerja optimal (minimal 30—60 menit) sebelum materi infeksius tadi dibuang.
- e. **Jangan masuk kembali ke lab minimal 30 menit** (tempel tanda *JANGAN MASUK*).
- f. Sebelum petugas masuk kembali ke lab, **gunakan sarung tangan bersih, jas lab bersih, dan respirator**.
- g. Kumpulkan semua kontainer dan bersihkan material yang terkontaminasi tumpahan dan tempatkan di dalam kantong yang tersedia di *spill kit*. Kemudian ikat kantong dan tempatkan di kontainer untuk diotoklaf (gunakan kontainer yang sesuai untuk benda tajam/pecahan kaca).
- h. Ganti sarung tangan yang telah terkontaminasi. Buang bersama dengan limbah infeksius tadi.
- i. Bersihkan disinfeksi area tumpahan.
- j. Staf yang terpapar tumpahan harus dirujuk untuk pemeriksaan medis dan kejadian terperinci tentang kecelakaan tersebut harus **tercatat di log book**.

## **B. Tata Laksana Pajanan**

Tujuan tata laksana pajanan adalah untuk mengurangi waktu kontak dengan darah, cairan tubuh, atau jaringan sumber pajanan

dan untuk membersihkan dan melakukan dekontaminasi tempat pajanan. Tata laksananya adalah sebagai berikut.

1. Bila tertusuk jarum, segera bilas jari yang tertusuk dengan air mengalir dan sabun/cairan antiseptik sampai bersih.
2. Bila darah/cairan tubuh mengenai kulit yang utuh tanpa luka atau tusukan, cuci kulit dengan sabun dan air mengalir.
3. Bila darah/cairan tubuh mengenai mulut, ludahkan darah itu dan mulut berkumur-kumur dengan air beberapa kali.
4. Bila mata tepercik, cucilah mata dengan air mengalir (irigasi), dengan posisi kepala miring ke arah mata yang tepercik.
5. Bila darah memercik ke hidung, embuskan darah keluar dan bersihkan hidung dengan air.
6. Bagian tubuh yang tertusuk tidak boleh ditekan dan diisap dengan mulut.

## Tata Laksana Pajanan Bahan Infeksius di Tempat Kerja

### Langkah 1: Cuci

- a. Tindakan darurat pada bagian yang terpajan seperti tersebut di atas.
- b. Setiap pajanan dicatat dan dilaporkan kepada yang berwenang, yaitu atasan langsung dan Komite PPI atau K3. Laporan tersebut sangat penting digunakan untuk menentukan langkah berikutnya.

## Langkah 2: Telaah pajanan

### a. Pajanan

Pajanan yang memiliki risiko penularan infeksi adalah

- 1) perlukaan kulit;
- 2) pajanan pada selaput mukosa;
- 3) pajanan melalui kulit yang luka.

### b. Bahan Pajanan

Bahan yang memberikan risiko penularan infeksi adalah

- 1) darah
- 2) cairan bercampur darah yang kasat mata
- 3) cairan yang potensial terinfeksi: semen, cairan vagina, cairan serebrospinal, cairan sinovia, cairan pleura, cairan peritoneal, cairan pericardial, dan cairanamnion;
- 4) virus yang terkonsentrasi.

### c. Status Infeksi

Tentukan status infeksi sumber pajanan (bila belum diketahui).

### d. Kerentanan

Tentukan kerentanan orang yang terpajan.

<b>LAPORAN PAJANAN</b>				
<b>Petunjuk Pengisian</b> Formulir dibuat 2 (dua) rangkap				
<b>Formulir A :</b>	Diisi oleh tenaga kesehatan yang terpajan dan menyerahkan formulir pada Instalasi Gawat Darurat/Poliklinik dengan tembusan ke Panitia PIN	<b>Formulir B :</b>	Diisi petugas Instalasi Gawat Darurat/ Poliklinik, tidak diserahkan pada tenaga kesehatan yang terpajan untuk diserahkan pada etasan langsung dengan tembusan ke Panitia PIN	
<b>FORMULIR A</b>				
Tanggal laporan :	Jam :	Tanggal pajanan :	Jam :	Tempat Kejadian :
Unit Kerja terpajan :				
<b>Identitas</b>				
Name :		Alamat :		
Alasan langsung :		Alamat :		
<b>Route Pajanan :</b>				
<input type="checkbox"/> Tusukan jarum suntik		<input type="checkbox"/> Gigitan	<input type="checkbox"/> Mulut/ mulut ke mulut	
<input type="checkbox"/> Luka pada kulit		<input type="checkbox"/> Mata	<input type="checkbox"/> Lain-lain	
<b>Sumber pajanan :</b>				
<input type="checkbox"/> Darah		<input type="checkbox"/> Sputum	<input type="checkbox"/> Air Liur	<input type="checkbox"/> Feses
<input type="checkbox"/> Lain-lain (sebutkan)				
<b>Bagian tubuh yang terpajan sebut secara jelas :</b>				
<b>Jelaskan urutan kejadian :</b>				
Imunisasi Hepatitis B	<input type="checkbox"/> Sudah	<input type="checkbox"/> Belum		
Atas pelindung	<input type="checkbox"/> Dipakai	<input type="checkbox"/> Tidak dipakai		
	<input type="checkbox"/> Jenis			
Pertolongan Pertama	<input type="checkbox"/> Ada	<input type="checkbox"/> Tidak		
<b>Tempat pertolongan :</b>				
				<b>Tanggal :</b>
				<b>Tanda tangan yang terpajan :</b>

Gambar 3.18. Contoh formulir laporan pajanan (Formulir A)  
 Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

<b>LAPORAN PAJANAN</b>		
Petunjuk Pengisian Formulir dibuat 2 (dua) rangkap		
<b>Formulir A :</b> Diisi oleh tenaga kesehatan yang terpejan dan menyerahkan formulir pada Instalasi Gawat Darurat/Poliklinik dengan tembusan ke Panitia PIN	<b>Formulir B :</b> Diisi petugas Instalasi Gawat Darurat/ Poliklinik, tindakan diserahkan pada tenaga kesehatan yang terpejan untuk diserahkan pada alasan langsung dengan tembusan ke Panitia PIN	
<b>FORMULIR B</b>		
<b>Setiap Kotak Dapat Diisi</b>		
<input type="checkbox"/> Diperiksa dokter gawat darurat	<input type="checkbox"/> Dirujuk ke dokter pribadi atau perusahaan	
<input type="checkbox"/> Menolak diperiksa dokter gawat darurat	<input type="checkbox"/> Memilih mencari pertolongan dokter pribadi	
<b>Setiap Kotak Dapat Diisi</b>		
<input type="checkbox"/> Panitia Infeksi Nosokomial	<input type="checkbox"/> Poliklinik	<input type="checkbox"/> Lain-lain
<b>Pasien sumber darah / bahan infeksius</b>		
<b>Nama :</b>	<b>No Rekam Medis :</b>	
<b>Ruang Rawat :</b>		
<b>Pementauan Pajanan (jelaskan) :</b>		
<b>Tanggal Pemberitahuan Alasan Langsung Tenaga yang Terpejan :</b>		
<div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> <b>Tanggal :</b>  <b>Tanda tangan yang terpejan :</b> </div>		

Gambar 3.19 Contoh formulir laporan pajanan (Formulir B)  
 Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

## **Pokok Bahasan 6. Pengelolaan Limbah B3**

### **A. Pengertian Limbah B3 (Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2015; Presiden RI, 2014)**

- 1) Limbah adalah sisa dari suatu usaha dan/atau kegiatan.
- 2) Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) adalah zat, energi, dan/atau komponen lain yang karena sifat, konsentrasi dan/atau jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung, dapat mencemarkan dan/atau merusak lingkungan hidup, dan/atau membahayakan lingkungan hidup, kesehatan, serta kelangsungan hidup manusia dan makhluk hidup lain.
- 3) Limbah B3 adalah sisa suatu usaha dan/atau kegiatan yang mengandung B3.

### **B. Personel Penanganan Pengelolaan Limbah B3**

#### **Kompetensi Personel (WHO, 2020)**

Agar personel pengelolaan limbah menyadari bahaya yang mungkin terjadi saat bekerja dan dapat bekerja dengan aman, diperlukan hal-hal sebagai berikut:

- 1) pelatihan umum: *layout* laboratorium, kode praktik, pedoman kerja setempat, manual *safety*, penilaian risiko, peraturan terkait dengan tugas, dan prosedur respons darurat;
- 2) pelatihan spesifik pekerjaan;
- 3) pendampingan dan penilaian sebelum bekerja sendiri dilakukan bagi petugas baru;
- 4) evaluasi dan pelatihan *refresher* berkala;
- 5) pelatihan keamanan dan keselamatan kerja, termasuk kesiapsiagaan terhadap kondisi darurat;
- 6) sosialisasi informasi dan prosedur terbaru.

## **Pelindungan Personel**

Pasal 33 Peraturan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan No.56 tahun 2015 menyatakan bahwa pelindungan personel yang berhubungan langsung dengan kegiatan pengelolaan limbah harus dijamin oleh setiap institusi penghasil limbah bahan berbahaya dan beracun. Di pasal yang sama dinyatakan bahwa penjaminan perlindungan meliputi alat pelindung diri, fasilitas *hygiene* perseorangan, imunitasi, prosedur operasional standar pengolahan limbah bahan berbahaya dan beracun, pemeriksaan medis khusus rutin, dan pemberian makanan tambahan.

Hal yang tak kalah penting adalah personel harus berada dalam kondisi sehat jasmani dan rohani saat melakukan pekerjaan. Jika pada hari itu, pekerja tidak sedang dalam kondisi fit, personel wajib melaporkan kepada manajemen dan mengonsultasikan kesehatannya ke komite keselamatan dan kesehatan kerja di tempat bertugas. . Personel yang berada dalam kategori risiko tinggi terhadap suatu penyakit berdasarkan penilaian risiko tidak diperbolehkan untuk bekerja menangani limbah bahan berbahaya dan beracun.

### **C. Identifikasi dan Pemilahan Jenis Limbah B3**

Prosedur penanganan dan pengelolaan limbah dilakukan berdasarkan jenis limbah. Setiap jenis limbah memiliki karakteristik dan tingkat bahaya yang berbeda sehingga kita perlu melakukan identifikasi dan pemilahan jenis limbah. Identifikasi limbah dilakukan dengan pemberian label, kode, atau warna unik untuk setiap jenis limbah. Pemberian label, kode, atau warna lainnya sebaiknya menggunakan istilah yang sudah terstandar untuk menghindari kesalahpahaman antara pihak yang membuang,

mengelola, dan memusnahkan limbah yang dapat berakibat pada kesalahan pengelolaan limbah. Kelompok, kode warna, simbol, wadah/kemasan dan pengelolaan limbah medis telah diatur dalam Peraturan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. 56 Tahun 2015.

Contoh identifikasi dan pemilahan limbah bahan berbahaya dan beracun dapat dilakukan sebagai berikut.

- 1) Limbah infeksius padat/kering diletakkan dalam kantong plastik dengan label *BIOHAZARD*.
- 2) Limbah infeksius cair diletakkan dalam kontainer tidak mudah robek lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik dengan label *BIOHAZARD*.
- 3) Limbah kimiawi non-radioaktif diletakkan dalam wadah anti korosif.
- 4) Limbah kimiawi radioaktif diletakkan dalam wadah khusus limbah radioaktif dan diberi label.

#### **D. Pembuangan Limbah B3**

Dalam menentukan langkah-langkah pembuangan limbah B3 yang bersifat infeksius perlu dilakukan analisis risiko lebih dulu dengan memperhatikan prinsip keamanan dan keselamatan kerja terkait dengan agen infeksius tersebut. Misalnya, dalam hal pembuangan limbah terkait dengan Covid-19 petugas perlu memperhatikan dan mempertimbangkan pedoman *biosafety* Covid-19 dari pemerintah pusat dan setempat, WHO, CDC, atau lembaga lain yang kompeten. Dalam kondisi jenis agen infeksius *emerging*, pedoman dapat berubah sewaktu-waktu seiring dengan perkembangan pengetahuan mengenai agen infeksius tersebut. Oleh karena itu, disarankan agar selalu memeriksa pemutakhiran (*update*) pedoman jika status pedoman tersebut masih bersifat sementara (*interim guidance*)

Prosedur umum pembuangan limbah B3 disesuaikan dengan kategori limbah masing-masing. Berikut beberapa jenis limbah B3 yang biasa dihasilkan dalam pemeriksaan laboratorium:

1. Limbah Infeksius Padat/Kering

- a. Sebelum diautoklaf, limbah dimasukkan ke dalam kantong plastik berlabel Biohazard ditempelkan *autoclave tape*, lalu limbah dapat diautoklaf.
- b. Jika fasilitas tidak mempunyai autoklaf, limbah infeksius padat/kering dapat direndam dalam disinfektan (larutan klorin 1:10) selama 30 menit. Setelah kering, limbah dimasukkan dalam kantong plastik berlabel Biohazard.
- c. Limbah Benda Tajam  
Limbah benda tajam dapat berupa jarum suntik, bahan pecah belah, dan tip pipet. **Limbah benda tajam tetap diperlakukan sebagai limbah infeksius padat/kering** meskipun tidak terpapar dengan agen/potensi biorisiko dan diletakkan dalam kontainer khusus benda tajam atau kontainer keras (tidak mudah robek) lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik berlabel Biohazard. .

2. Limbah Infeksius Cair

- a. Limbah cair dicampur dengan disinfektan (larutan klorin 1:10) selama 30 menit dalam kontainer yang *leakproof* dan ditutup rapat.
- b. Kontainer berisi campuran limbah dan disinfektan dimasukkan ke dalam kantong plastik berlabel Biohazard , ditutup rapat, dan dibuang.

### 3. Limbah Kimiawi Nonradioaktif

#### a. Limbah yang dapat dinetralkan

- 1) Jika dapat dinetralkan, limbah dinetralkan terlebih dahulu secara perlahan dan hati-hati.
- 2) Setelah dinetralkan, limbah dapat ditempatkan pada wadah jerigen atau drum kecil atau jika fasilitas tersedia, limbah dibuang ke instalasi pembuangan air limbah (IPAL).

#### b. Limbah yang tidak dapat dinetralkan

- Jika tidak dapat dinetralkan, limbah dimasukkan ke dalam wadah yang antikorosif dan sebaiknya tidak terbuat dari kaca atau logam.

## E. Sterilisasi Limbah B3

Proses sterilisasi bertujuan menghancurkan semua mikroorganisme dan spora (WHO, 2004). Pada prinsipnya semua limbah infeksius yang keluar dari laboratorium pemeriksaan spesimen harus sudah dalam kondisi steril. Prinsip serupa juga berlaku untuk jenis limbah berbahaya dan beracun lainnya, limbah tersebut sudah tidak lagi berbahaya, baik bagi lingkungan maupun masyarakat sekitar.

Pemilihan metode sterilisasi limbah ditentukan berdasarkan analisis risiko, termasuk jenis limbah yang akan disterilisasi. Menurut Peraturan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (2015), pengolahan limbah berbahaya dan beracun dapat dilakukan secara termal dengan menggunakan autoklaf tipe alir gravitasi dan/atau tipe vakum, gelombang mikro, iradiasi frekuensi radio dan/atau insinerator. Fokus yang dibahas dalam modul ini adalah autoklaf.

### *Autoklaf*

Autoklaf menggunakan prinsip sterilisasi uap. Dengan menggunakan autoklaf, terjadi kontak langsung antara limbah dan uap pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu. Temperatur yang biasa digunakan pada sterilisasi uap adalah 121°C dan 132°, Waktu minimum kontak yang dibutuhkan adalah 30 menit untuk suhu 121°C atau 4 menit untuk 132°C (Rutala and Weber, 2015). Untuk autoklaf tipe alir gravitasi, tekanan yang digunakan pada suhu 121°C adalah 15 psi (Kementerian Lingkungan Hidup dan Kesehatan, 2015).

Beberapa hal yang selalu perlu diperhatikan saat menggunakan autoklaf:

- 1) Lakukan analisis risiko terhadap limbah yang akan diautoklaf. Periksa apakah materi limbah kompatibel dengan autoklaf atau tidak. Materi yang tidak dapat diautoklaf adalah materi mudah terbakar, reaktif, korosif, dan radioaktif. Selain itu, tidak semua materi plastik dapat diautoklaf, misalnya *polystyrene*, *polyethylene*, dan *high density polyethylene* (Environmental Health and Safety University of Iowa, 2020)
- 2) Gunakan APD sesuai penilaian risiko saat memasukkan ke autoklaf dan mengeluarkan limbah dari autoklaf.
- 3) Sebaiknya pisahkan autoklaf untuk melakukan sterilisasi peralatan dengan autoklaf untuk sterilisasi limbah
- 4) Periksa kondisi autoklaf sebelum menyalakan autoklaf terlebih dulu, misalnya apakah ada material

atau limbah yang tertinggal di dalam autoklaf; apakah persediaan air dalam autoklaf masih cukup pada batas tinggi air yang ditentukan.

- 5) Gunakan plastik pengepakan limbah yang materinya dapat diautoklaf untuk menghindari kemungkinan plastik pengepakan limbah meleleh lalu menyentuh dinding dalam autoklaf, yang akibatnya dapat merusak interior dalam autoklaf.
- 6) Limbah benda tajam yang akan disteril harus diletakkan di dalam kontainer *leakproof* dan tidak mudah robek.
- 7) Tidak mengisi wadah autoklaf hingga penuh dan tidak mengikat *biohazard bag* terlalu kencang. Selalu menyisakan ruang untuk sirkulasi uap.
- 8) Pastikan tidak ada *error* pada mesin sebelum meninggalkan mesin autoklaf setelah menekan tombol *start*,
- 9) **Ingat, tekanan di dalam autoklaf masih tinggi saat temperatur masih tinggi.** Oleh karena itu, hindari membuka autoklaf saat temperatur masih tinggi meskipun proses sterilisasi sudah selesai. Hindari menyentuh permukaan badan autoklaf saat temperatur masih tinggi.
- 10) Sebelum mengeluarkan limbah dari dalam autoklaf, pastikan *autoclave tape* berubah warna. Jika tidak ada perubahan warna, ada kemungkinan, proses sterilisasi belum berjalan dengan baik, autoklaf limbah tersebut sekali lagi.
- 11) Setelah dikeluarkan, plastik wadah limbah diikat kuat dan dipastikan tertutup rapat. Periksa apakah ada

bagian plastik wadah yang sobek, misalnya karena tersangkut saat plastik ditarik keluar. Jika ada, lapisilah plastik limbah tersebut dengan plastik *biohazard* baru dan tutup rapat.

- 12) Pemeriksaan autoklaf secara berkala diperlukan untuk memastikan kondisi (temperature, tekanan, kebersihan komponen autoklaf) dan fungsi sterilisasi autoklaf tetap baik, misalnya dengan uji bioindikator autoklaf.
- 13) Pembersihan seluruh komponen autoklaf juga perlu dilakukan berkala.

#### **F. Penyimpanan sementara, Pengangkutan, dan Pemusnahan Limbah B3**

1. Proses penyimpanan sementara, pembuangan, pengangkutan, dan pemusnahan limbah B3 harus mengikuti peraturan nasional dan pemerintah setempat.
2. Jika tidak memiliki fasilitas pemusnahan limbah sendiri, diperlukan pihak ketiga yang memiliki izin dan terregistrasi di Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK) untuk mengangkut dan memusnahkan limbah tersebut.
3. Pihak penghasil limbah, pengangkut limbah, serta pemusnahan limbah sama-sama bertanggung jawab terhadap proses pengangkutan hingga pemusnahan limbah.
4. Pengguna jasa pihak ketiga perlu melakukan evaluasi dan memastikan bahwa pihak ketiga tersebut benar-benar telah memusnahkan limbah tersebut.
5. Proses penyimpanan sementara, pengangkutan, dan pemusnahan harus tercatat dalam dokumen manifes. .

Penumpukan limbah B3 sebaiknya tidak dilakukan dalam waktu yang lama.

## **Pokok Bahasan 7. Biorepositori Spesimen COVID-19**

### **A. Pengertian Biorepositori**

Biorepositori merupakan kegiatan yang mencakup pengumpulan, pemrosesan, penyimpanan, dan pendistribusian spesimen serta produk terkait, seperti DNA, RNA, protein, dan komponen molekuler lain. Tingkat keamanan yang bervariasi disesuaikan dengan fungsi dan tujuan spesifik biorepositori. Pembatasan akses menerapkan *biosafety* dan *biosecurity* yang ketat. Manajemen biorepositori dan sumber daya yang terlibat harus terus menerapkan praktik keselamatan dan pedoman operasional baku (POB) harus diterapkan dengan disiplin. Secara umum, biorepositori terdiri atas tiga kelompok informasi yang relatif berbeda, yaitu

1. materi biologis manusia;
2. informasi yang terlampir atau terhubung; dan
3. masalah hukum, seperti persetujuan pasien untuk keamanan, perlindungan data serta pemanfaatan spesimen.

### **B. Tujuan Biorepositori**

Biorepositori bertujuan untuk mengamankan dan menyediakan spesimen berkualitas tinggi untuk memenuhi kebutuhan laboratorium. Spesimen harus dikumpulkan, ditangani, dan diproses secara seragam. Biorepositori dapat dihubungkan dengan informasi klinis dan hasil pemeriksaan laboratorium untuk memastikan integritas spesimen. Kepatuhan terhadap POB sangat penting untuk keberlangsungan dan keberhasilan biorepositori.

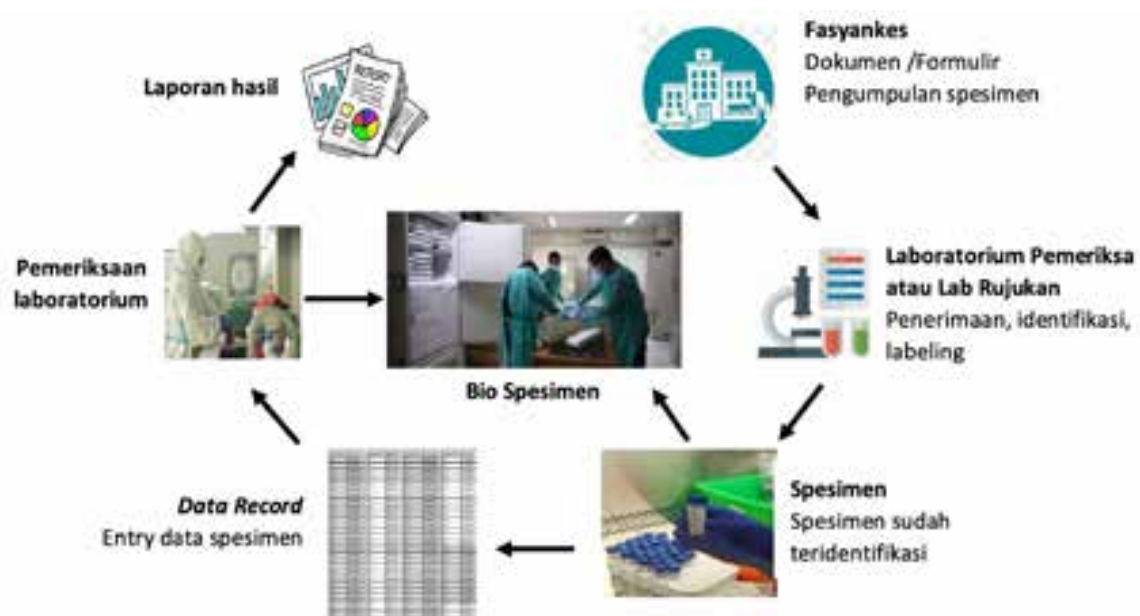
### **C. Manajemen Biorepositori**

- 1) Fasilitas biorepositori harus memiliki struktur organisasi yang terdefinisi dengan baik.
- 2) Aspek manajemen spesimen sesuai dengan peraturan yang

telah dibuat.

- 3) Sumber daya sebagai salah satu aset terbesar untuk biorepositori harus melakukan fungsi dengan baik.
- 4) Cakupan dan jenis spesimen yang akan dikumpulkan harus ditentukan untuk menetapkan kebutuhan infrastruktur.
- 5) Biorepositori harus dikelola dengan baik dalam rangka memenuhi kebutuhan komunitas ilmiah.

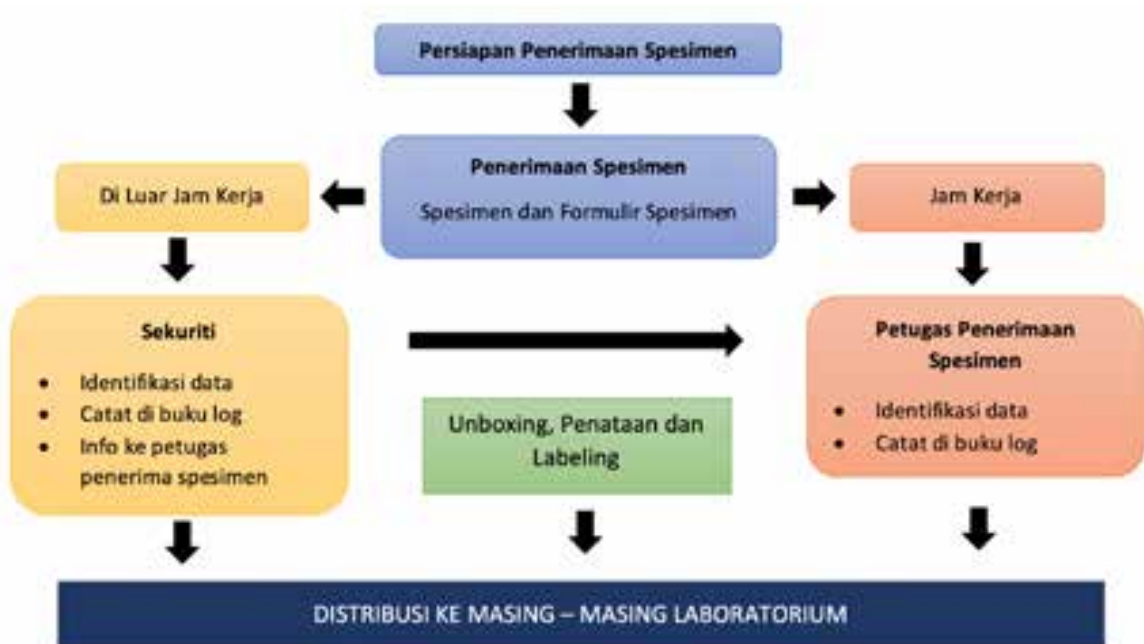
#### D. Alur Bio Spesimen



Gambar 3.20 Alur Bio Spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

## E. Penerimaan Spesimen

### 1. Alur Penerimaan Spesimen



Gambar 3.21 Komponen pada Alur Penerimaan Spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

### 2. Persiapan Penerimaan Spesimen

- a. Penerimaan spesimen dilakukan oleh petugas penerima spesimen di loket penerimaan.
- b. Petugas menggunakan APD (jas lab, sarung tangan, masker, dan sepatu tertutup).
  - 1) Jas lab digunakan selama di ruangan penerimaan spesimen.
  - 2) Sarung tangan selalu digunakan sebelum mulai menangani spesimen.
  - 3) Masker dipasang supaya terlindung dari gas berbahaya, bahan patologi, ataupun percikan zat kimia.
  - 4) Dilengkapi sepatu yang tertutup bagian

depannya.

- c. Alkohol 70% digunakan untuk dekontaminasi meja dan *bench*.

## 2. Penerimaan Spesimen

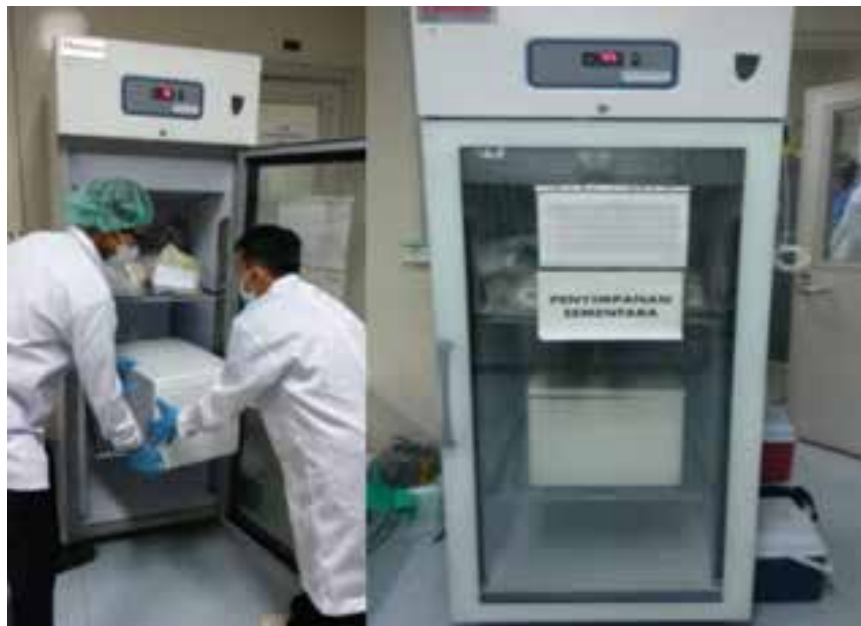
- a. Spesimen diterima di dalam *cold box* atau *styrofoam*.
- b. Spesimen yang dibawa langsung
  - 1) Petugas pembawa spesimen mengisi data penerimaan spesimen di buku log (tanggal kedatangan, asal, jenis, jenis pemeriksaan, dan lain-lain ).
  - 2) Petugas penerima memeriksa kelengkapan data di buku log.
- c. Spesimen yang dikirim oleh jasa kurir
  - 1) *Cold box* diterima petugas.
  - 2) Ada formulir di luar *cold box*: Petugas penerima mengidentifikasi dokumen untuk mengisi data di buku log.
  - 3) Tidak ada formulir di luar *cold box*: Petugas penerima menulis data yang tertera di *cold box* seperti asal spesimen, tanggal terima, dan lain-lain.
- d. Penerimaan spesimen dilakukan 24 jam. Jika spesimen diterima di luar jam kerja, sekuriti membantu menerima spesimen dan mencatat di buku log. Spesimen segera dimasukkan ke dalam penyimpanan sementara (*refrigerator* 2-8°C). Sekuriti menginformasikan ke petugas penerimaan spesimen di hari kerja keesokan harinya.

### 3. Buku Log (*Logbook*) Penerimaan Spesimen

- Buku log berisi
  - o tanggal /hari/waktu (pukul);
  - o asal spesimen;
  - o nama pengantar spesimen dan nomor kontak;
  - o jenis spesimen;
  - o jumlah spesimen; dan
  - o tanda tangan;
- Buku log diisi oleh petugas pengantar spesimen atau petugas penerima spesimen.
- Buku log harus diisi secara lengkap sesuai dengan informasi yang ada.

### F. Penyimpanan Sementara Paket Spesimen

- 1) Petugas harus menggunakan APD pada saat melakukan penyimpanan sementara paket spesimen.
- 2) Spesimen disimpan sementara pada *refrigerator* 2-8°C.



Gambar 3.22 Penyimpanan sementara paket spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

## G. Pembongkaran Paket Spesimen

- 1) Petugas harus menggunakan APD pada saat membongkar paket spesimen.
- 2) Pembongkaran paket spesimen dilakukan di ruang spesimen.



Gambar 3.23 Pembongkaran paket spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

## H. Pelabelan Spesimen dan Formulir

- 1) Petugas harus menggunakan APD pada saat melakukan pelabelan spesimen dan formulir.
- 2) Pelabelan spesimen dilakukan di dalam BSC.
- 3) Spesimen yang sudah diberi label dikirim ke laboratorium.
- 4) Formulir dikirimkan ke bagian *entry* data.



Gambar 3.24 Pelabelan spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020

## I. Penyimpanan Spesimen Pascapemeriksaan

- Petugas harus menggunakan APD pada saat melakukan penyimpanan spesimen.
- Penyimpanan spesimen dilakukan sesuai dengan dokumen komputerisasi.

kompartmen	4
rack/kompartmen	5
box/rack	25 (5x5)
tube/box	81
per DeepFreezer	24 Rack
per DeepFreezer	120 Laci
per DeepFreezer	630 Cryobox
per DeepFreezer	48630 Tube

<b>D</b>	5	10	15	20	25
	4	9	14	19	24
	3	8	13	18	23
	2	7	12	17	22
	1	6	11	16	21

<b>C</b>	5	10	15	20	25
	4	9	14	19	24
	3	8	13	18	23
	2	7	12	17	22
	1	6	11	16	21

<b>B</b>	5	10	15	20	25
	4	9	14	19	24
	3	8	13	18	23
	2	7	12	17	22
	1	6	11	16	21

<b>A</b>	5	10	15	20	25
	4	9	14	19	24
	3	8	13	18	23
	2	7	12	17	22

Peta Tube Spesimen									
Nama Box : 045-011 2019027									
Nama Spesimen : 14									
Prof :									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
A	04221087R	04221042R	04221122R	04221040R	04221140R	04221067R	04221027R	04221027R	04221086R
B	04221146R	04221092R	04221091R	04221040R	04221091R	04221099R	04221027R	04221027R	04221034R
C	04221107R	04221140R	04221095R	04221083R	04221020R	04221096R	04221103R	04221103R	04221080R
D	04221079R	04221080R	04221080R	04221020R	04221140R	04221020R	04221010R	04221050R	04221050R
E	04221109R	04221120R	04221039R	04221010R	04221080R	04221080R	04221080R	04221022R	04221080R
F	04221100R	04221062R	04221080R	04221107R	04221060R	04221070R	04221080R	04221020R	04221030R
G	04221091R	04221060R	04221070R	04221070R	04221020R	04221140R	04221040R	04221060R	04221020R
H	04221039R	04221080R	04221080R	04221070R	04221080R	04221080R	04221080R	04221070R	04221080R
I									

Gambar 3.25 Peta penyimpanan spesimen  
Sumber: Dokumentasi Badan Litbang Kesehatan, 2020



Bab IV Materi Inti 2

---

# **PENATALAKSANAAN SPESIMEN UNTUK DETEKSI PCR COVID-19**



## **PENATALAKSANAAN SPESIMEN UNTUK DETEKSI PCR COVID-19**

### **Deskripsi Singkat**

Spesimen adalah target utama dari laboratorium. Spesimen diperiksa untuk mendapatkan hasil atau simpulan suatu penyakit. Untuk Covid-19 kita harus memahami semua pedoman internasional dan nasional dengan benar agar mengerti jenis, waktu pengambilan, pelabelan, penyimpanan, pengemasan, dan pengiriman spesimen agar dapat mengonfirmasi kasus Covid-19.

Tahapan pengambilan spesimen merupakan fase -preanalitik yang akan menentukan kualitas hasil pemeriksaan laboratorium untuk mendukung epidemiologist dan klinisi dalam memastikan kasus Covid-19. Prosedur pengambilan spesimen sangat penting sehingga petugas pengambil spesimen harus sudah mengikuti pelatihan dengan baik dan memahami prosedur, waktu, alat dan bahan/media, serta tata cara pengendalian infeksi dengan baik.

Setelah berhasil diambil dengan prosedur yang tepat, spesimen harus diberi identifikasi sesuai dengan data/*form* pasien dan harus disimpan pada suhu yang tepat kemudian dikemas dengan benar pada suhu yang tepat dan dikirim ke laboratorium. Pemonitoran (*monitoring*) kualitas spesimen sangat penting untuk menjamin spesimen diterima dalam kondisi baik dan tidak rusak sehingga bisa memberikan hasil pemeriksaan yang akurat dan terpercaya.

## **Tujuan Umum**

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu melakukan tata laksana Spesimen untuk deteksi PCR Covid-19.

## **Tujuan Khusus**

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu

1. melakukan pengambilan spesimen COVID-19 untuk pemeriksaan diagnostik;
2. melakukan pengemasan dan pengiriman spesimen yang sesuai dengan Covid-19 ke laboratorium rujukan.
3. melakukan penyimpanan spesimen di laboratorium.

## **Pokok Bahasan**

1. Pengambilan Spesimen
2. Pengemasan dan Pengiriman Spesimen
3. Penyimpanan Spesimen di Laboratorium

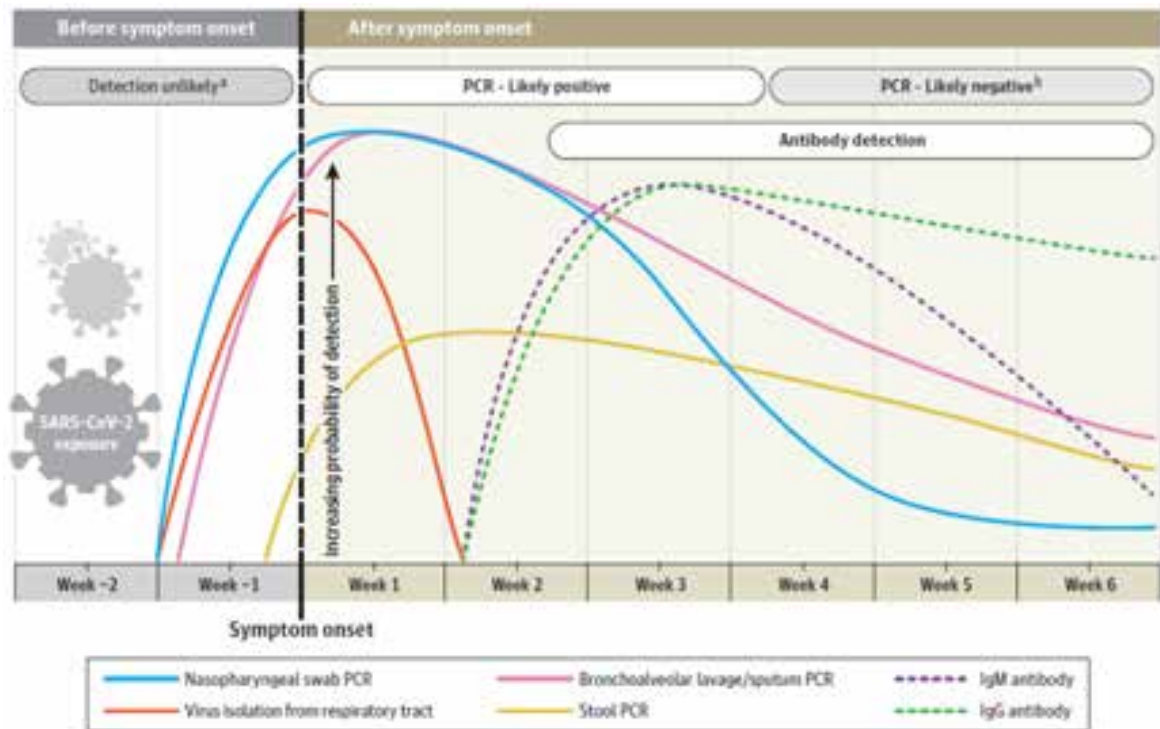
## **Uraian Materi**

### **Pokok Bahasan 1. Pengambilan Spesimen**

#### **A. Waktu Pengambilan Spesimen**

Waktu pengambilan dan gejala klinis yang menyertai pasien sangat penting untuk menentukan jenis spesimen Covid-19 yang

perlu diambil.



Gambar 4.1 Perkiraan Masa Infeksi Virus SARS-CoV-2 untuk Menentukan Jenis Spesimen yang Perlu Diambil  
Sumber: Sethuramanet *al.*, 2020

## B. Jenis Spesimen

Dari spesimen tunggal, terutama spesimen yang berasal dari saluran pernapasan atas, hasil negatif belum tentu mengindikasikan ketiadaan infeksi. Oleh karena itu, diperlukan pengulangan pengambilan dan pengujian spesimen. Spesimen saluran pernapasan bagian bawah (*lower respiratory tract*) sangat direkomendasikan pada pasien dengan gejala klinis yang parah atau progresif. Bila yang ditemukan patogen lain yang positif, tidak menutup kemungkinan adanya infeksi Covid-19 karena sejauh ini peran koinfeksi belum diketahui (WHO,2020a).

Pengambilan spesimen untuk suspek dilakukan pada hari ke-1 dan ke-2 dengan selang waktu >24 jam serta bila memburuk,

sedangkan melakukan kontak erat (khusus untuk petugas kesehatan) segera dilakukan pemeriksaan RT-PCR sejak kasus dinyatakan sebagai kasus *probable* atau konfirmasi. (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

### Jenis Spesimen

1. Spesimen saluran napas bagian atas
  - a. Usap nasofaring dan orofaring
  - b. Bilasan nasofaring atau *nasopharyngeal aspirate*
2. Spesimen saluran napas bagian bawah

Spesimen saluran napas bagian bawah diambil pada pasien dengan kondisi komplikasi yang lebih berat.

- a. Sputum
- b. *Endotracheal aspirate*
- c. *Bronchoalveolar lavage*
- d. *Tracheal aspirate*
- e. Cairan paru
- f. Biopsi paru

Tabel 4.1J enis Spesimen, Suhu penyimpanan, dan Pengiriman Ideal  
Sumber: WHO,2020

Jenis spesimen	Bahan Pengambilan	Suhu Pengiriman	Penyimpanan	Keterangan
Usap nasofaring dan orofaring	Dacron <i>swab</i> atau <i>Flocked Swab + Virus Transport Medium</i> (VTM) atau saline steril*	2-8°C	≤12 hari:2-8°C >12 hari: -70°C ( <i>dry ice</i> )	Kedua <i>swab</i> ini harus ditempatkan di tabung yang sama untuk meningkatkan <i>viral load</i>
Sputum	Kontainer steril	2-8°C	≤5 hari: 2-8°C >5 hari: -70°C ( <i>dry ice</i> )	Pastikan sputum berasal dari Saluran Pernapasan Bawah (BUKAN liur)

Bronchoalveolar Lavage	Kontainer Steril	2-8°C	≤48 jam: 2-8°C >48 jam: -70°C ( <i>dry ice</i> )	WAJIB BILA MEMUNGKINKAN
<i>Tracheal aspirate, nasopharyngeal aspirate</i> atau <i>nasal wash</i> dalam VTM	Kontainer steril	2-8°C	≤48 jam: 2-8°C >48 jam: -70°C ( <i>dry ice</i> )	WAJIB BILA MEMUNGKINKAN
Jaringan biopsi atau autopsi termasuk dari paru-paru dalam VTM atau saline	Kontainer steril + saline	2-8°C	≤24 jam: 2-8°C >24 jam: -70°C ( <i>dry ice</i> )	
Serum (2 sampel, yaitu akut dan konvalesen) untuk pemeriksaan Serologi	Serum separator tubes (Dewasa 3-5 ml <i>whole blood</i> )	2-8°C	≤5 hari: 2-8°C >5 hari: -70°C ( <i>dry ice</i> )	Pengambilan 2 sampel: Akut: minggu pertama saat sakit Konvalesesn: 2-3 minggu setelahnya

Keterangan: \*Stabilitas virus SARS-CoV2 di dalam Saline Steril atau VTM dapat bertahan selama 14 hari pada suhu 2-8°C. Sebagai pengganti, saline steril dapat digunakan PBS (*Phosphate Buffer Saline*).

### C. Pencegahan dan Pengendalian Infeksi ketika Pengambilan Spesimen

Sebelum kegiatan pengambilan spesimen dilaksanakan, personel harus memperhatikan *universal precaution* atau kewaspadaan universal untuk mencegah terjadinya penularan penyakit, baik dari pasien ke paramedis maupun lingkungan sekitar. Hal tersebut meliputi

1. selalu mencuci tangan dengan menggunakan sabun/disinfektan *sebelum* dan *sesudah* tindakan dan
2. menggunakan APD.

## **D. Alat dan Bahan serta Prosedur Pengambilan Spesimen**

### 1. Alat dan Bahan Pengambilan Spesimen

#### a. Formulir Penyelidikan Epidemiologi

Pengiriman spesimen ke laboratorium harus disertai dengan formulir penyelidikan. Epidemiologi terlampir sesuai dengan waktu pengambilan spesimen.

#### b. Spesimen Saluran Pernapasan (*Respiratory Tract*)

##### 1) *Virus Transport Media (VTM) (1-2 ml)*

Beberapa merek komersial yang sudah siap pakai dapat digunakan atau dengan mencampur beberapa bahan (Hanks BSS; antifungal dan antibiotik dengan komposisi tertentu) untuk disatukan dalam satu wadah steril. Hindari penggunaan VTM yang mengandung bahan menginaktivasi virus atau lisis buffer.

##### 2) *Flocked swab/dacron swab*

##### 3) *Tongue spatel*

##### 4) Kontainer steril untuk sputum

##### 5) Parafilm

##### 6) Plastik klip

##### 7) Marker atau label ID



Gambar 4.2 Alat dan Bahan Pengambilan Spesimen  
 Sumber: Badan Litbangkes, 2020

c. Spesimen Darah/serum

- 1) Torniquet
- 2) *Sprit disposable* atau 5 ml *system vacutainer*
- 3) *Wing needle* (jika diperlukan)
- 4) Kapas alkohol 70%
- 5) Kapas kering
- 6) Vial 1,8 ml atau tabung tutup ulit (wadah spesimen serum)
- 7) Marker atau label ID

#### d. Bahan Pengepakan/Pengiriman Spesimen

##### 1) *Ice pack* dan *Cold Box*

*Ice pack* dan *Cold Box* diperlukan bila tempat pengambilan spesimen terpisah dari laboratorium. Pastikan *ice pack* yang digunakan benar-benar beku.

##### 2) Label Alamat

##### 3) Perekat / Lakban

#### 2. Prosedur Pengambilan Spesimen

##### a. Spesimen saluran pernapasan atas

1) Siapkan *cryotube* yang berisi 1,5 ml VTM (berisi Hanks BSS + antifungal + antibiotik), dapat juga menggunakan VTM komersial yang siap pakai. Berilabel yang berisi nama pasien dan kode nomor spesimen. Label ini harus sesuai dengan identitas pasien pada formulir penyelidikan epidemiologi pasien.

2) Jika label bernomor tidak tersedia, penamaan bisa menggunakan marker permanen pada bagian putih dinding *cryotube*. Jangan gunakan VTM (Hanks) bila telah berubah warna menjadi kuning.

3) Gunakan *swab* yang terbuat dari bahan dacron/rayon/sintetik *fiber* steril dengan tangkai plastik atau jenis *Flocked Swab*. Jangan menggunakan *swab* kapas atau *swab* yang mengandung *Calcium Alginate* atau *swab* kapas dengan tangkai kayu karena mungkin mengandung substansi yang dapat menginaktivasi virus dan dapat

menghambat proses pemeriksaan secara molekuler.

a) Usap nasofaring

1. Pastikan tidak ada obstruksi (hambatan pada lubang hidung).
2. Masukkan *flocked swab* melalui lubang hidung sejajar dengan langit-langit mulut (tidak ke atas) sampai terjadi resistensi atau jarak yang setara dengan jarak dari telinga ke lubang hidung pasien yang mengindikasikan kontak dengan nasofaring.
3. Cara usap harus mencapai kedalaman yang sama dengan jarak dari lubang hidung ke lubang luar telinga gosok dan putar dengan lembut. Biarkan *swab* di tempat selama beberapa detik untuk menyerap sekresi. Tarik *swab* perlahan saat memutarnya. Spesimen usap nasofaring cukup diambil dari salah satu nostril saja.

\* Namun, jika dirasakan perlu, dapat mengambil dari kedua nostril menggunakan *swab* yang sama, tetapi tidak perlu mengumpulkan spesimen dari kedua sisi jika *swab* telah jenuh dengan cairan dari koleksi pertama. Jika ada sumbatan dari satu lubang hidung, gunakan *swab* yang sama untuk mendapatkan spesimen dari lubang hidung

lainnya.



Gambar 4.3 Lokasi Pengambilan Nasofaring  
Sumber: [CDC, 2020](#)

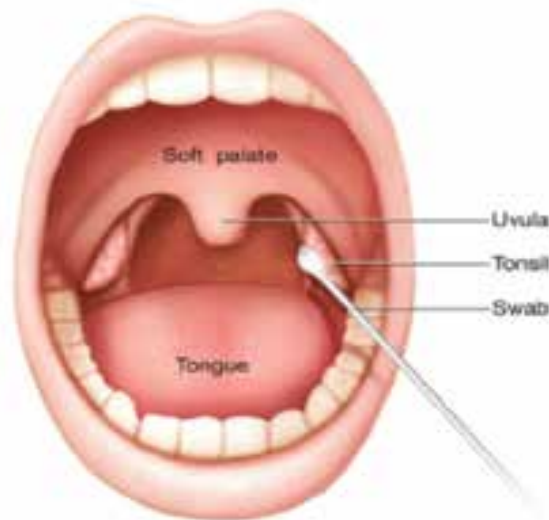
4. Kemudian masukkan *swab* ke dalam *cryotube* berisi VTM sesegera mungkin.
5. Angkat sedikit *swab* dari dasar *cryotube* lalu patahkan tangkai plastik di daerah mulut *cryotube* agar *cryotube* dapat ditutup dengan rapat.



Gambar 4 4 Memasukan *Swab* ke dalam VTM  
Sumber: [Badan Litbangkes, 2020](#)

b) Usap Orofaring

1. Gunakan *tongue spatel* jika diperlukan untuk menahan lidah ketika akan mengambil usap orofaring.
2. Masukkan swab ke faring posterior dan area tonsil. Gosokkan apusan pada kedua pilar tonsil dan orofaring posterior dan hindari menyentuh lidah, gigi, dan gusi.



Gambar 4.5 Lokasi Pengambilan orofaring

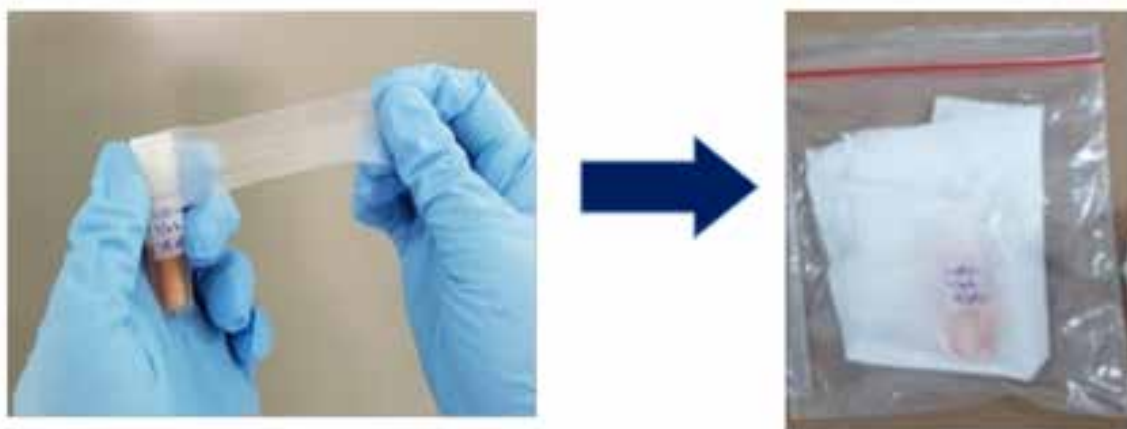
Sumber: Murrayet *al.*, 2014

3. Kemudian masukkan *swab* ke dalam *cryotube* berisi VTM yang sama dengan *swab* nasofaring sesegera mungkin.
4. Angkat sedikit *swab* dari dasar *cryotub*, lalu patahkan tangkai plastik di daerah mulut *cryotube* agar *cryotube* dapat ditutup dengan rapat.



Gambar 4.6 Memasukkan *Swab* ke dalam VTM yang Sama dengan Swaborofaring  
Sumber: Badan Litbangkes, 2020

5. Pastikan label kode spesimen sesuai dengan kode yang ada di formulir penyelidikan epidemiologi.
6. *Cyrotube* kemudian dililit parafilm dan masukkan ke dalam plastik klip/*cryobox*. Jika ada lebih dari 1 pasien, plastik klip dibedakan/terpisah untuk menghindari kontaminasi silang.



Gambar 4.7 Pengemasan Spesimen  
Sumber: Badan Litbangkes, 2020

b. Spesimen saluran pernapasan bawah

Sputum

Pasien diberi tahu perbedaan spesimen sputum dan saliva (air liur). Pasien berkumur terlebih dahulu dengan air kemudian pasien diminta mengeluarkan dahaknya dengan cara batuk yang dalam. Sputum ditampung pada wadah steril yang anti bocor. Pengambilan sampel sputum dengan cara induksi dapat menimbulkan risiko infeksi tambahan bagi petugas kesehatan.

c. Spesimen lainnya

Serum

Sepasang sampel serum (akut dan konvalesen) diperlukan untuk konfirmasi. Serum awal dikumpulkan di minggu pertama penyakit dan serum yang kedua idealnya dikumpulkan 2—3 minggu kemudian. Bila serum tunggal, pengambilan harus dilakukan setidaknya 14 hari setelah onset gejala untuk penentuan kemungkinan kasus.

Cara mendapatkan serum sebanyak 1,5—3 mL dibutuhkan 3—5 mL *whole blood*, baik untuk anak-anak maupun dewasa dan minimal 1 ml *whole blood* untuk bayi. Sampel darah kemudian disentrifus untuk mendapatkan serumnya. Jika dimungkinkan, dikumpulkan 1 mL serum.

## E. Dokumentasi Spesimen dan Data Pasien

Pencatatan pengambilan spesimen pasien direkomendasikan ada di *logbook*. Semua pasien diambil spesimennya tercatat dengan baik dan rapi, seperti data nama pasien, nomor rekam medik, tanggal pengambilan spesimen, jenis spesimen yang dapat diambil, kode penamaan identitas pasien, tanggal pengiriman spesimen ke laboratorium, dan hasil pemeriksaan.

## F. Penyimpanan sementara spesimen sebelum pengiriman spesimen

Spesimen dari suspek Covid 19 harus disimpan dan dikirim pada suhu yang sesuai (lihat Tabel 3.1). Spesimen harus tiba di laboratorium segera setelah pengambilan. Bila karena alasan tertentu pengiriman harus ditunda, spesimen harus disimpan pada suhu 2--8°C. Tempat penyimpanan spesimen harus tersendiri, terpisah dari penyimpanan reagensia. Bila menggunakan lemari es domestik, hindari menyimpan spesimen, baik di pintu, rak *chiller* maupun *freezer* untuk mencegah kerusakan spesimen.



Gambar 4.8 Tempat Penyimpanan Spesimen Sementara Sebelum Pengiriman  
Sumber: Badan Litbangkes, 2011

## Pokok Bahasan 2. Pengemasan dan Pengiriman Spesimen

### A. Prinsip Rantai dingin dalam Pengemasan dan Pengiriman Spesimen

Spesimen untuk pemeriksaan PCR SARS-CoV-2 merupakan material biologi yang sangat peka terhadap perubahan suhu. Stabilitas virus SARS-COV-2 sangat dipengaruhi oleh suhu penyimpanan dan suhu selama transportasi. Makin tinggi suhu penyimpanan dan transportasi, stabilitas virus SARS-CoV-2 makin menurun. Pada suhu 4°C virus SARS-CoV-2 bisa bertahan hingga 12 hari.

Tabel 4.2 Stabilitas Virus SARS-CoV-2 pada Beberapa Suhu  
Sumber: Chin *et al.*, 2020

Time	Virus titre (Log TCID <sub>50</sub> /mL)									
	4°C		22°C		37°C		56°C		70°C	
	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD
1 min	N.D.	N.D.	6.51	0.27	N.D.	N.D.	6.65	0.1	5.34	0.17
5 mins	N.D.	N.D.	6.7	0.15	N.D.	N.D.	4.62	0.44	U	-
10 mins	N.D.	N.D.	6.63	0.07	N.D.	N.D.	3.84	0.32	U	-
30 mins	6.51	0.27	6.52	0.28	6.57	0.17	U	-	U	-
1 hr	6.57	0.32	6.33	0.21	6.76	0.05	U	-	U	-
3 hrs	6.66	0.16	6.68	0.46	6.36	0.19	U	-	U	-
6 hrs	6.67	0.04	6.54	0.32	5.99	0.26	U	-	U	-
12 hrs	6.58	0.21	6.23	0.05	5.28	0.23	U	-	U	-
1 day	6.72	0.13	6.26	0.05	3.23	0.05	U	-	U	-
2 days	6.42	0.37	5.83	0.28	U	-	U	-	U	-
4 days	6.32	0.27	4.99	0.18	U	-	U	-	U	-
7 days	6.65	0.05	3.48	0.24	U	-	U	-	U	-
14 days	6.04	0.18	U	-	U	-	U	-	U	-

All the virus titres were titrated using Vero-E6 cells. All experimental studies were done in three independent triplicates.

Oleh karena itu dalam pengemasan dan pengiriman spesimen diperlukan manajemen rantai dingin untuk memastikan kualitas spesimen tetap terjaga sampai pada tahap pemeriksaan. Menurut definisi dari WHO, rantai dingin adalah suatu sistem yang berperan mempertahankan penyimpanan dan transportasi bahan biologi/sampel/spesimen pada kondisi dan suhu optimal yang direkomendasikan (WHO, 2020c).

Manajemen rantai dingin bertujuan untuk memastikan bahwa spesimen yang diambil di fasyankes terjaga mutunya sampai dengan dilakukan pemeriksaan di laboratorium rujukan sehingga didapatkan hasil pemeriksaan yang akurat dan terpercaya. Perubahan suhu dari batas yang direkomendasikan selama proses penyimpanan, transportasi, sampai dengan analisis dapat memengaruhi viabilitas/mutu spesimen sehingga dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat.

Menurut Rodrigue dan Notteboom (2020) dalam buku yang berjudul *The Cold Chain and its Logistics*, ada empat elemen utama rantai dingin, yaitu sebagai berikut:

1. sistem pendingin (*cooling systems*): suatu sistem atau fasilitas yang menyediakan suhu yang tepat untuk pengolahan, penyimpanan dan pengiriman produk dalam hal ini adalah material biologi;
2. sistem penyimpanan berpendingin (*cold storage*) : fasilitas penyimpanan berpendingin, baik yang digunakan sementara sebelum pengiriman produk maupun penyimpanan yang sifatnya lebih lama (*long term*) misalnya seperti biorepositori;
3. sistem transportasi berpendingin (*cold transport*) : sistem yang mampu menjaga kestabilan suhu, kelembapan optimal dan integritas produk selama proses pengiriman;
4. pemrosesan dan pengiriman (*cold processing and distribution*): tersedianya fasilitas untuk pemrosesan dan pengiriman produk .

Dalam pengemasan dan pengiriman spesimen diperlukan beberapa peralatan yang dapat memelihara dan memantau kondisi penyimpanan dan pengiriman spesimen. Peralatan ini dikategorikan menjadi tiga kelompok, yaitu *active cold chain*, *passive cold chain* dan *temperature monitoring tools*.

- a. *Active cold chain* adalah peralatan yang dapat menghasilkan suhu dingin untuk penyimpanan spesimen, misalnya *freezer* dan *refrigerator*. Beberapa hal yang harus dipertimbangkan dalam memilih *freezer* atau *refrigerator*, antara lain adalah kapasitas, jenis lemari pendingin (*auto/manual defrost*), serta adanya sistem pemantauan (*monitoring*) suhu. *Freezer* atau *refrigerator* jenis *auto-defrosting* tidak dianjurkan untuk penyimpanan spesimen karena adanya sistem pemanas yang akan bekerja secara otomatis membersihkan bunga es yang terbentuk sehingga berisiko menimbulkan kerusakan spesimen.
- b. *Passive cold chain* adalah peralatan yang dapat menjaga suhu dingin dalam waktu yang terbatas dan tidak membutuhkan sumber energi untuk pemanfaatannya, contohnya *cool box*, *ice pack*, *dry ice*. *Ice pack* yang akan digunakan untuk proses transportasi spesimen harus benar-benar dalam keadaan beku. Jumlah *ice pack* yang digunakan harus sesuai dengan spesimen yang dikirim dan ukuran *cool box* yang digunakan. *Dry ice* dapat digunakan untuk pengiriman spesimen apabila diperkirakan spesimen baru akan sampai dalam waktu lebih dari 3 hari.
- c. *Temperature monitoring tools* adalah peralatan untuk pemantauan suhu, baik selama penyimpanan maupun pengiriman spesimen, misalnya termometer dan *data logger*. Berdasarkan periode

pemantauan suhunya, dikenal dua macam alat pemantauan suhu, yaitu alat pemantauan suhu sesaat dan alat pemantauan suhu berkelanjutan. Alat pemantauan suhu sesaat hanya dapat mengukur suhu pada suatu saat tertentu, misalnya suhu saat spesimen dikirim atau saat spesimen diterima. Sementara itu, alat pemantauan suhu berkelanjutan dapat mencatat riwayat perubahan suhu selama perjalanan spesimen mulai pengiriman sampai penerimaan spesimen di tujuan (Townsend, 2013).



Gambar 4.9 Alat Pemantau Suhu Sesaat (A) dan Berkelanjutan (B)  
Sumber: Badan Litbangkes, 2010

## B. Pengemasan dan Pengiriman Spesimen

Spesimen Covid-19 merupakan “Substansi Biologis, Kategori B”, dan harus dikemas berdasarkan tata laksana UN3373 ketika akan diangkut/ditransportasikan dengan tujuan diagnostik atau investigasi. Kategori ini melindungi spesimen, petugas laboratorium, dan juga agen pengiriman spesimen. Semua spesimen harus dikemas untuk mencegah kerusakan dan tumpahan. Sistem yang digunakan adalah dengan menggunakan tiga lapis (*Three Layer Packaging*) sesuai dengan pedoman WHO dan *International Air Transport Association* (IATA)(WHO, 2020b).



Gambar 4.10 Contoh Pengemasan Tiga Lapis  
 Sumber: WHO-Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019-2020

Sistem pengemasan tiga lapis terdiri atas tiga lapisan, yaitu lapis primer, sekunder, dan tersier. Lapisan primer adalah tabung kedap air tempat menampung spesimen. Lapisan sekunder berupa plastik *ziplock/cryobox/biobottle* yang ditambahkan bahan absorben, seperti *tissue towel*. Lapisan ketiga adalah *cool box/spesimen carrier* seperti *stryfoam* atau *UN box*.

Saat pengiriman, spesimen ditempatkan di dalam *cool box* dengan kondisi suhu 2-8°C. Pengiriman spesimen, baik kasus suspek Covid-19 maupun kontak erat dilakukan oleh petugas Dinas Kesehatan dengan menyertakan formulir penyelidikan epidemiologi. Pengiriman spesimen ditujukan ke laboratorium pemeriksa yang telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Menteri Kesehatan atau pejabat yang ditunjuk.

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk pengemasan dan pengiriman spesimen adalah

- a. plastik klip/*cryobox/biobottle*;
- b. bahan absorbent: *tissue towel*;
- c. *ice packs*;
- d. *insulator*;
- e. label alamat dan label UN3373;
- f. lakban/perekat;
- g. plastik besar untuk *form*.

Secara detail, prosedur pengemasan dan pengiriman spesimen Covid-19 adalah sebagai berikut.

1. Masukkan *cryotube* yang berisi spesimen ke dalam plastik klip yang telah diberi tisu.
2. Masukkan plastik klip berisi spesimen ke dalam *cryobox/bio bottle*.
3. Susun *ice pack* beku minimal 6 buah pada bagian bawah, samping, dan atas *cryobox/biobottle* di dalam *cool box*. Bila perjalanan >24 jam, lebih baik menambah jumlah *ice pack* yang dimasukkan ke dalam *cool box*.
4. Masukkan *cryobox/bio bottle* ke dalam *cool box* dan tutup bagian atas dengan satu buah *ice pack*. Letakkan termometer di dalamnya.
5. Letakkan insulator.
6. Masukkan formulir terkait ke dalam plastik terpisah, sertakan dalam *cool box*.
7. Tutup *cool box* dan lakban.
8. Beri label alamat institusi pengirim spesimen dan laboratorium pemeriksa
9. Spesimen siap dikirim. Spesimen dalam *cool box* dengan *ice*

*pack* beku dapat bertahan maksimal sekitar 48 jam (dalam rentang waktu ini, diharapkan suhu di dalam *cool box* masih berkisar 2-- 8°C).

Pengiriman spesimen ke laboratorium pemeriksa dapat menggunakan jasa kurir *door to door*. Pada kondisi yang memerlukan pengiriman *port to port*, petugas Dinas Kesehatan dapat berkoordinasi dengan petugas KKP setempat dan laboratorium pemeriksa. Spesimen segera dikirimkan ke laboratorium pemeriksa paling lama 1x24 jam.

### **Pokok Bahasan 3. Penyimpanan Spesimen di Laboratorium**

#### **A. Sebelum pemeriksaan PCR**

Spesimen baiknya diperiksa langsung saat tiba di laboratorium. Namun, jika spesimen masih mengantre untuk bisa dikerjakan, mengacu kepada Tabel 4.1, penyimpanan spesimen usap nasofaring dan orofaring, bisa disimpan terlebih dahulu pada suhu:

1. 2-8°C, hingga 12 hari sejak tanggal pengambilan spesimen;
2. -70°C, jika sudah lebih dari 12 hari sejak tanggal pengambilan spesimen.

Hindari melakukan beku-cair pada spesimen usap nasofaring dan orofaring sebelum pemeriksaan PCR. Proses beku cair pada spesimen dapat menurunkan kualitas spesimen (WHO, 2020).

#### **B. Setelah pemeriksaan PCR**

Ketika hasil pemeriksaan PCR telah selesai dan disimpulkan secara valid, sampel sisa disimpan pada suhu -70°C. RNA hasil ekstraksi harus disimpan pada suhu -70°C untuk penyimpanan lama.



Bab V Materi Inti 3

---

# **PROSEDUR PEMERIKSAAN RRT-PCR COVID-19**



## PROSEDUR PEMERIKSAAN RRT-PCR COVID-19

### Deskripsi Singkat

*Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)* dalam hal ini pemeriksaan realtime *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (rRT-PCR)* merupakan tes yang direkomendasikan oleh WHO untuk diagnosis COVID-19 (WHO, 2020). Teknik PCR mendeteksi materi genetik virus SARS-CoV-2 sehingga metode ini sangat sensitif, spesifik, dan cepat. Sebelum memasuki tahap PCR, diperlukan tahapan persiapan spesimen, yaitu ekstraksi asam nukelat dari spesimen klinis yang berasal dari saluran pernapasan berupa *swab* nasofaring/orofaring atau sputum di dalam fasilitas laboratorium Biosafety Level 2 (BSL-2). Pada modul ini akan dijelaskan lebih terperinci terkait dengan prinsip dasar rRT-PCR, ekstraksi RNA, dan prosedur pemeriksaan virus SARS-CoV-2 dengan metode rRT-PCR.

### Tujuan Umum

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu melakukan pemeriksaan rRT-PCR untuk deteksi virus SARS-CoV-2.

### Tujuan Khusus

Setelah mempelajari materi, peserta mampu

1. menjelaskan prinsip dasar RT-PCR dan rRT-PCR;
2. melakukan ekstraksi RNA;
3. melakukan pemeriksaan Covid-19 dengan metode metode rRT-PCR.

## **Pokok Bahasan**

1. Prinsip Dasar RT-PCR dan rRT-PCR
2. Ekstraksi RNA
3. Proses Pemeriksaan rRT-PCR Virus SARS-CoV-2

## **Uraian Materi**

### **Pokok Bahasan 1. Prinsip Dasar RT-PCR dan Realtime RT-PCR**

#### **A. Prinsip dasar *Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)***

Teknik PCR merupakan teknik yang menggunakan proses sintesis enzimatis untuk mengamplifikasi atau memperbanyak DNA secara *in vitro* (Vierstraete, 1999). Materi genetik virus, yaitu RNA, didapatkan melalui proses isolasi atau ekstraksi RNA virus dari spesimen klinis. Virus SARS-CoV-2 merupakan virus RNA sehingga deteksi virus SARS-CoV-2 dapat menggunakan teknik RT-PCR (WHO, 2020). Dalam pokok bahasan ini prinsip dasar PCR akan dijelaskan terlebih dahulu.

#### **B. Prinsip PCR dan RT-PCR**

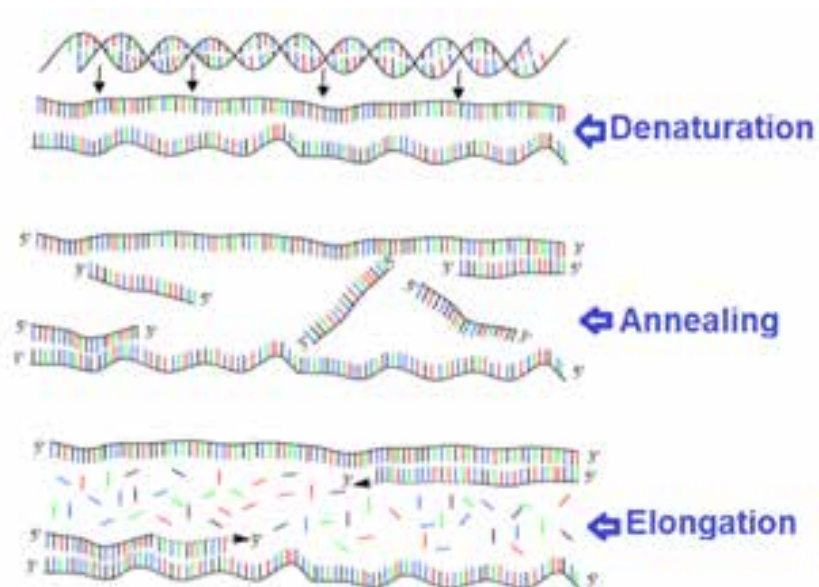
##### 1. PCR: *Polymerase Chain Reaction*

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan metode perbanyak *template* DNA atau *complementary* DNA (cDNA) dengan menggunakan enzim *Taq Polymerase* secara *in vitro* (Vierstraete, 1999). Berikut ini akan dijabarkan komponen yang diperlukan dalam metode dan proses PCR (Vierstraete, 1999).

##### a. Komponen reaksi PCR terdiri atas

- 1) *Taq Polymerase*: Enzim *DNA polymerase* I yang bersifat stabil pada rentang suhu yang beragam dan

- berfungsi untuk membentuk untai DNA komplementer pada *template* DNA;
- 2)  $MgCl_2$ : Menyediakan ion yang diperlukan untuk reaksi enzimatik;
  - 3) *dNTP's* (*deoxynucleotide triphosphates*): bahan Nukleotida untuk membentuk untai DNA baru (Adenine, Cytosine, Guanine, Thymine);
  - 4) *Buffer*: Memelihara pH optimal untuk kerja enzim;
  - 5) *Primers* : merupakan oligonukleotida pendek yang komplemen dengan target DNA *template*. Primer bersifat spesifik terhadap DNA target dan terdiri dari 2 jenis primer:
    - a) *Forward primer*: Menempel pada DNA *anti-sense*;
    - b) *Reverse primer*: Menempel pada DNA *sense*.
  - 6) *Template* yang akan diperbanyak/diamplifikasi: DNA/ cDNA.



Gambar 5.1. Proses PCR dalam satu siklus  
 Sumber: Vierstraete, 1999

b. Proses PCR

Proses amplifikasi DNA terdiri atas beberapa siklus berulang (umumnya 30—40 siklus) untuk mendapatkan DNA ampikon. sStu siklus PCR terdiri atas beberapa tahap (Gambar 5.1), yaitu

1) Tahap 1: Denaturasi

Pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal dengan proses pemanasan.

Umumnya dengan kondisi sebagai berikut:

a) Suhu : 90--95°C

b) Waktu : 60 detik

2) Tahap 2: Annealing

Penempelan primer Forward dan Reverse pada untai tunggal DNA target.

Umumnya dengan kondisi sebagai berikut:

a) Suhu : 50--60°C

b) Waktu : 30--45 detik

3) Tahap 3: Elongasi

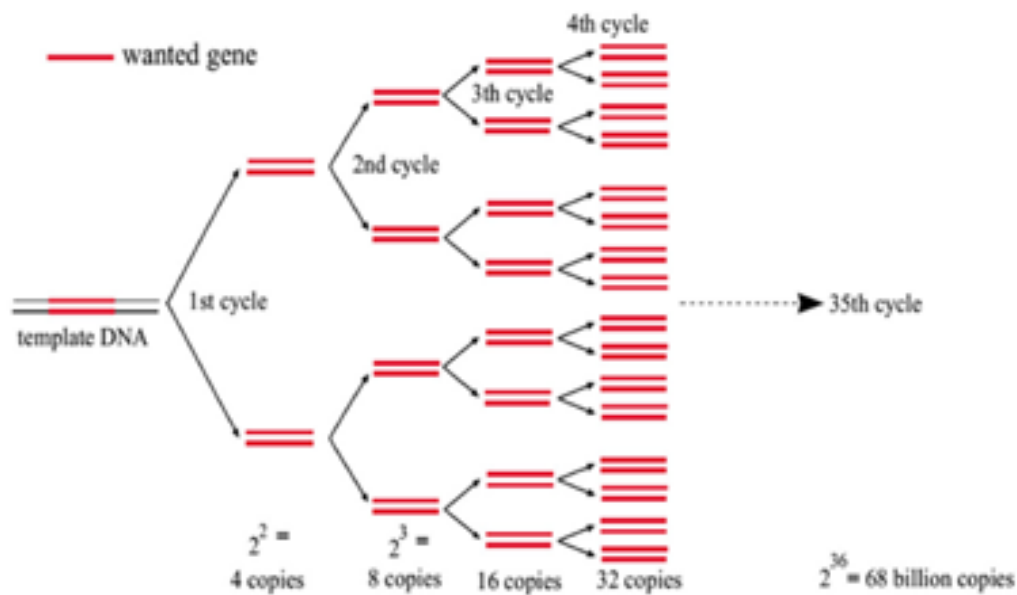
Perpanjangan untai DNA baru oleh enzim *Taq Polymerase* menggunakan *dNTP's* (Adenin, *Cytosine*, Guanine, *Thymine*), dimulai dari posisi primer yang telah menempel di urutan basa nukleotida DNA target, akan bergerak dari ujung 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA.

Umumnya dengan kondisi sebagai berikut:

a) Suhu : 72°C

b) Waktu : 1—2 menit

Dalam satu siklus PCR, urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlah awal sehingga dalam setiap  $n$  siklus PCR akan diperoleh  $2^n$  kali banyaknya DNA target. Gambar 5.2 mengilustrasikan jutaan kopi (salinan) DNA yang terbentuk dalam 35 siklus PCR (Vierstraete, 1999). Kemampuan PCR untuk menghasilkan jutaan kopi (salinan) DNA (amplicon) dalam waktu yang sangat singkat menjadikan metode tersebut sangat sensitif. Akan tetapi, kemampuan tersebut bisa mengakibatkan timbulnya kontaminasi sebagai hasil positif palsu (*false positive*).



Gambar 5.2 Proses Amplifikasi dalam PCR  
Sumber: Vierstraete, 1999

2. RT-PCR: *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*  
Proses PCR hanya dapat memperbanyak DNA target dan tidak

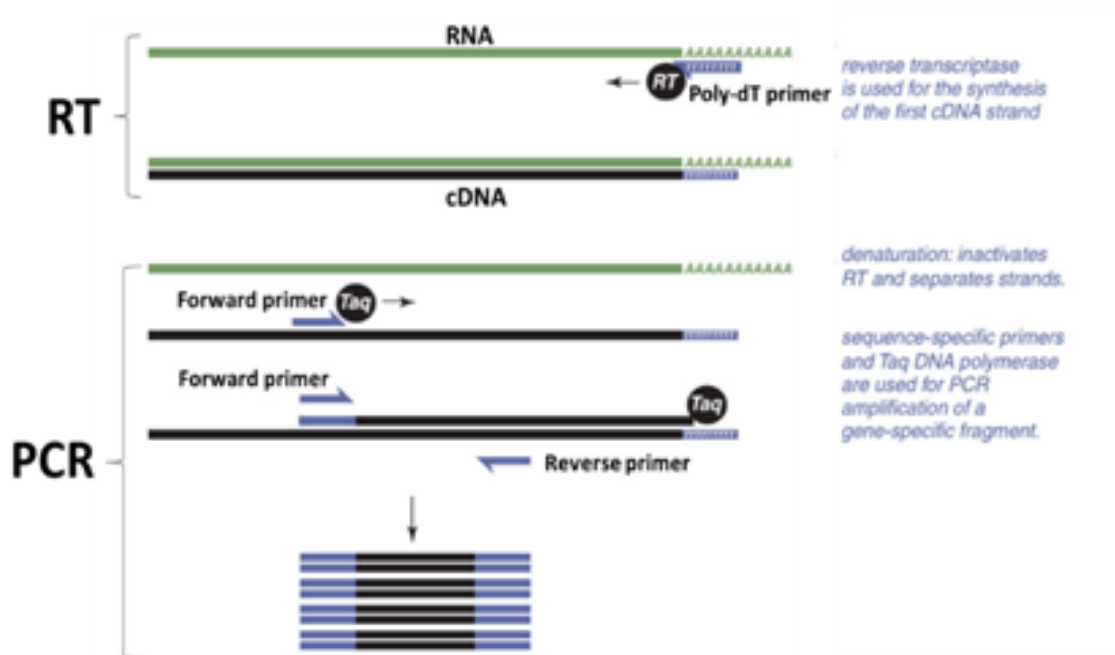
dapat mengamplifikasi RNA sehingga deteksi materi genetik berupa RNA diperlukan tahapan tambahan sebelum proses PCR. Pada proses RT-PCR, material genetik RNA diubah menjadi cDNA melalui proses *reverse transcription* (RT). Formasi hibridisasi RNA akan membentuk untai pertama cDNA untuk kemudian akan diamplifikasi pada proses PCR. Teknik RT-PCR umumnya digunakan untuk mendeteksi RNA spesifik, antara lain, adalah diagnosis penyakit, baik maupun deteksi mRNA dalam studi ekspresi gen (Dean Fraga, 2014). Teknik RT-PCR digunakan untuk mendeteksi RNA dari virus SARS-CoV-2 (WHO, 2020).

a. Komponen RT-PCR

- 1) *Reverse transcriptase*: Enzim yang akan menyintesis cDNA dari *template* RNA dengan menambahkan dNTPs;
- 2) Primer dalam proses RT dapat berupa
  - a. Oligo dT primer akan berikatan dengan RNA *poly A tail*;
  - b. Random Hexamer;
  - c. Universal primer.
- 3) *dNTPs* (Adenin, Cytosine, Guanine, Thymine);
- 4)  $MgCl_2$ ;
- 5) *Buffer* untuk memelihara pH optimal untuk kerja enzim;
- 6) *Taq Polymerase*: enzim yang berfungsi untuk membentuk untai DNA komplementer pada *template* cDNA;
- 7) *Template*: RNA.

b. Proses RT-PCR

Proses RT merupakan proses pembentukan cDNA dari template RNA dengan menggunakan enzim *reverse transcriptase*. Pada umumnya dilakukan pada suhu 50°C selama 30 menit. cDNA yang telah terbentuk akan menjadi cetakan atau *template* untuk proses PCR selanjutnya dan jumlah DNA target akan meningkat secara eksponensial (Gambar 5.3). Istilah RT-PCR akan digunakan selanjutnya dalam modul ini terkait dengan deteksi virus SARS-CoV-2 menggunakan prinsip RT-PCR.



Gambar 5.3 Proses RT-PCR  
Sumber: Fragaet *al.*, 2014

C. RT-PCR Konvensional dan Real Time RT-PCR

Hasil amplifikasi DNA target dapat dianalisis pada saat proses RT-PCR selesai (*end-point* PCR) yang dikenal sebagai RT-PCR konvensional dan pada saat reaksi RT-PCR berlangsung atau *realtime* RT-PCR (rRT-PCR).

## 1. RT-PCR konvensional atau *gel based*

### a. Definisi

Pada RT-PCR konvensional, proses RT-PCR dilakukan menggunakan alat *thermal cycler*. Untuk proses analisis hasil, diperlukan tahapan elektroforesis pada gel agarosa dan visualisasi amplifikasi DNA di bawah lampu UV. Elektroforesis merupakan proses pemisahan molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasi dalam sebuah medan listrik. Amplikon DNA hasil RT-PCR merupakan molekul bermuatan negatif sehingga ketika dialiri arus listrik akan bergerak ke arah kutub positif. Proses elektroforesis umumnya dilakukan pada tegangan 100 volt selama 30—40 menit sesuai dengan ukuran DNA target. Pita amplikon yang telah terpisah dalam proses elektroforesis akan berpendar di bawah sinar UV karena adanya senyawa *intercalating dye* yang berikatan dengan DNA untai ganda. Hasil elektroforesis dapat didokumentasikan menggunakan kamera yang telah terintegrasi dengan alat UV *transiluminator* (Voytas, 2001). Kelebihan PCR konvensional adalah biaya yang lebih murah, sedangkan kekurangannya adalah membutuhkan waktu lebih lama karena adanya tahapan elektroforesis untuk analisis hasil.

### b. Proses RT-PCR konvensional:

- 1) Persiapan spesimen: Ekstraksi RNA
- 2) RT-PCR pada *thermal cycler*
  - a) Tahap RT
  - b) Tahap PCR yang terdiri atas tahap Denaturasi, *Annealing*, *Elongasi*

- 3) Elektroforesis gel dan visualisasi di bawah sinar UV
- Komponen yang akan diperlukan dalam melakukan gel elektroforesis adalah sebagai berikut:
- Gel agarosa (1-2% - tergantung ukuran DNA target yang diamplifikasi);
  - Buffer TAE/TBE 1x;
  - DNA *ladder*;
  - Loading* buffer;
  - Intercalating dye*: ethidium bromide ataupun Gel Red;
  - Elektroforesis *chamber*;
  - Power supply*;
  - UV Transiluminator (*Gel Doc*).



Gambar 5.4 Proses RT-PCR Konvensional  
Sumber: Pawestriet *al.*, 2013

- 4) Analisis hasil RT-PCR Konvensional

RT-PCR konvensional dinyatakan valid jika tidak terdapat pita DNA amplifikasi pada kontrol negatif dan memiliki pita DNA amplifikasi sesuai dengan ukuran (pasang basa/*base pair*) target DNA pada kontrol positif. DNA Ladder atau Marker merupakan DNA yang telah diketahui ukuran panjang basa dan digunakan sebagai penanda. Hasil dinyatakan positif bila ukuran pita DNA sampel memiliki panjang basa yang sama dengan kontrol positif. Hasil dinyatakan negatif jika tidak terdapat pita DNA seperti ditunjukkan pada kontrol negatif (Gambar 5.5).

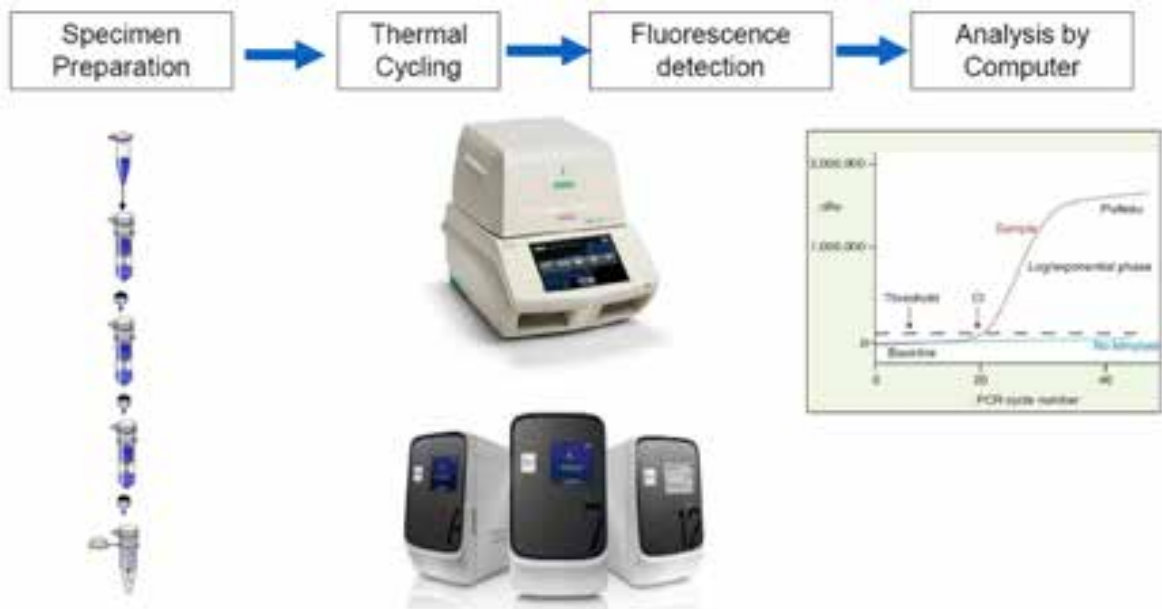


Gambar 5.5 Hasil RT-PCR Konvensional  
Nomor 1 dan 2 adalah sampel, NC adalah kontrol negatif, PC adalah kontrol positif, M adalah 100 bp Marker  
Sumber: Agustiningsih *et al.*, 2016

## 2. Real Time RT-PCR atau rRT-PCR

### a. Definisi

- b. rRT-PCR adalah teknik amplifikasi (perbanyak) DNA yang produk amplifikasi dapat dianalisis pada setiap siklusnya menggunakan *fluorogenic probe*. Pada rRT-PCR digunakan alat *thermal cycler* yang dilengkapi dengan detektor untuk membaca sinyal fluoresensi dan mengubahnya menjadi sinyal digital sehingga dapat dianalisis oleh komputer. Akibatnya, proses elektroforesis untuk interpretasi hasil tidak diperlukan. Kelebihan rRT-PCR adalah memiliki sensitivitas tinggi dan waktu pengerjaan lebih cepat sedangkan kekurangan rRT-PCR memerlukan thermal cycler yang dilengkapi kamera detektor serta bahan yang lebih mahal (Fragaet *al.*, 2014)

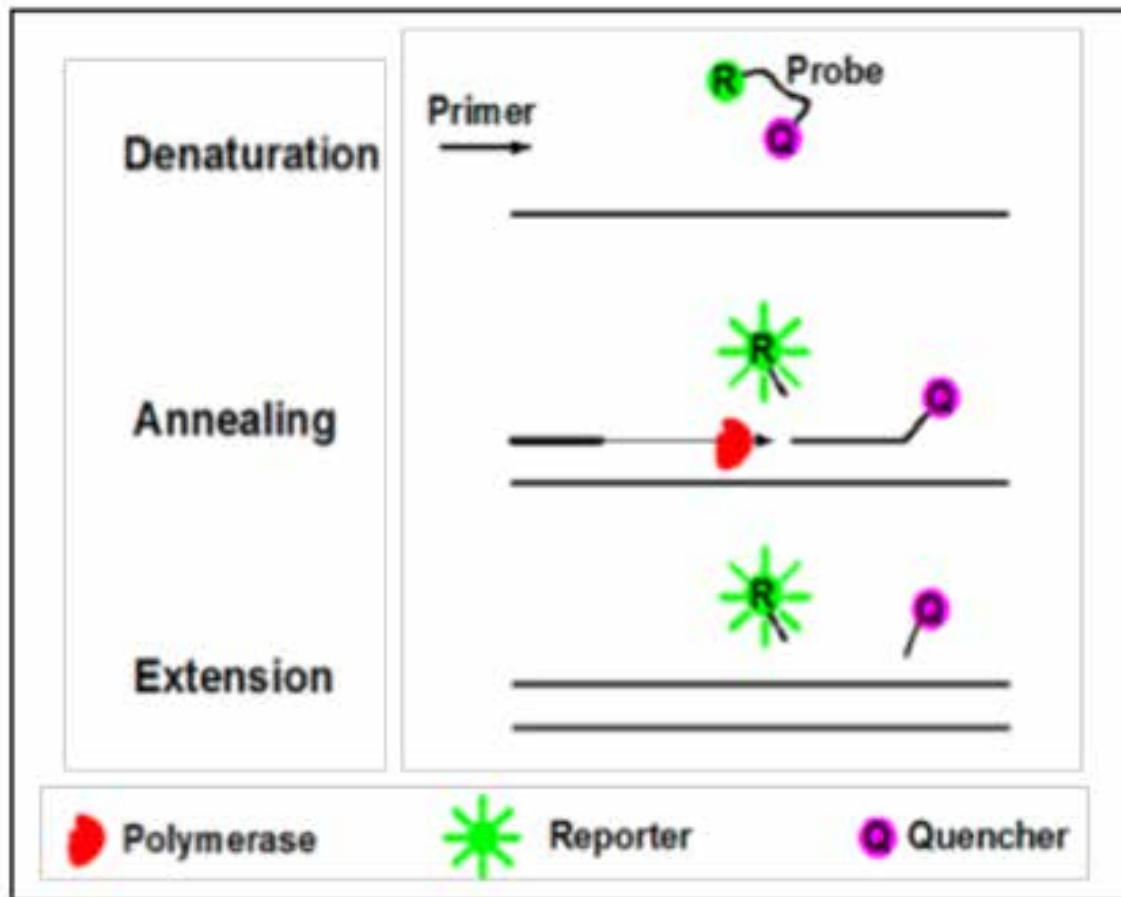


Gambar 5.6 Proses Real Time PCR  
Sumber: Pawestriet *al.*, 2013 dan 2020

Perbedaan komponen rRT-PCR dengan RT-PCR konvensional adalah adanya penambahan probe fluoregenic dalam rRT-PCR. Probe fluorogenic merupakan sekuen oligonukleotida pendek yang didesain untuk berhibridisasi dengan sekuen target. Terdapat 2 jenis probe dalam rRT-PCR yang sering digunakan, yaitu sebagai berikut.

- 1) *Strand-Specific Probe*, sebagai contoh yaitu Taqman probe/hidrolisis probe

Taqman probe dilabel oleh 2 macam dye, yaitu Reporter (R) dan Quencher (Q). Pada saat tahap *annealing*, Taqman probe akan berikatan dengan *template* DNA dan pada proses elongasi DNA untai baru, ikatan hidrogen antarbase penyusun Taqman probe akan terputus (terhidrolisis) oleh enzim *Taq Polymerase*. Hidrolisis Taqman probe menyebabkan adanya pendaran fluorogenic dari Reporter dye yang akan ditangkap oleh kamera (Gambar 5.7). Proses ini berlangsung berulang sesuai dengan jumlah siklus proses rRT-PCR (Cao *et al.*, 2020).

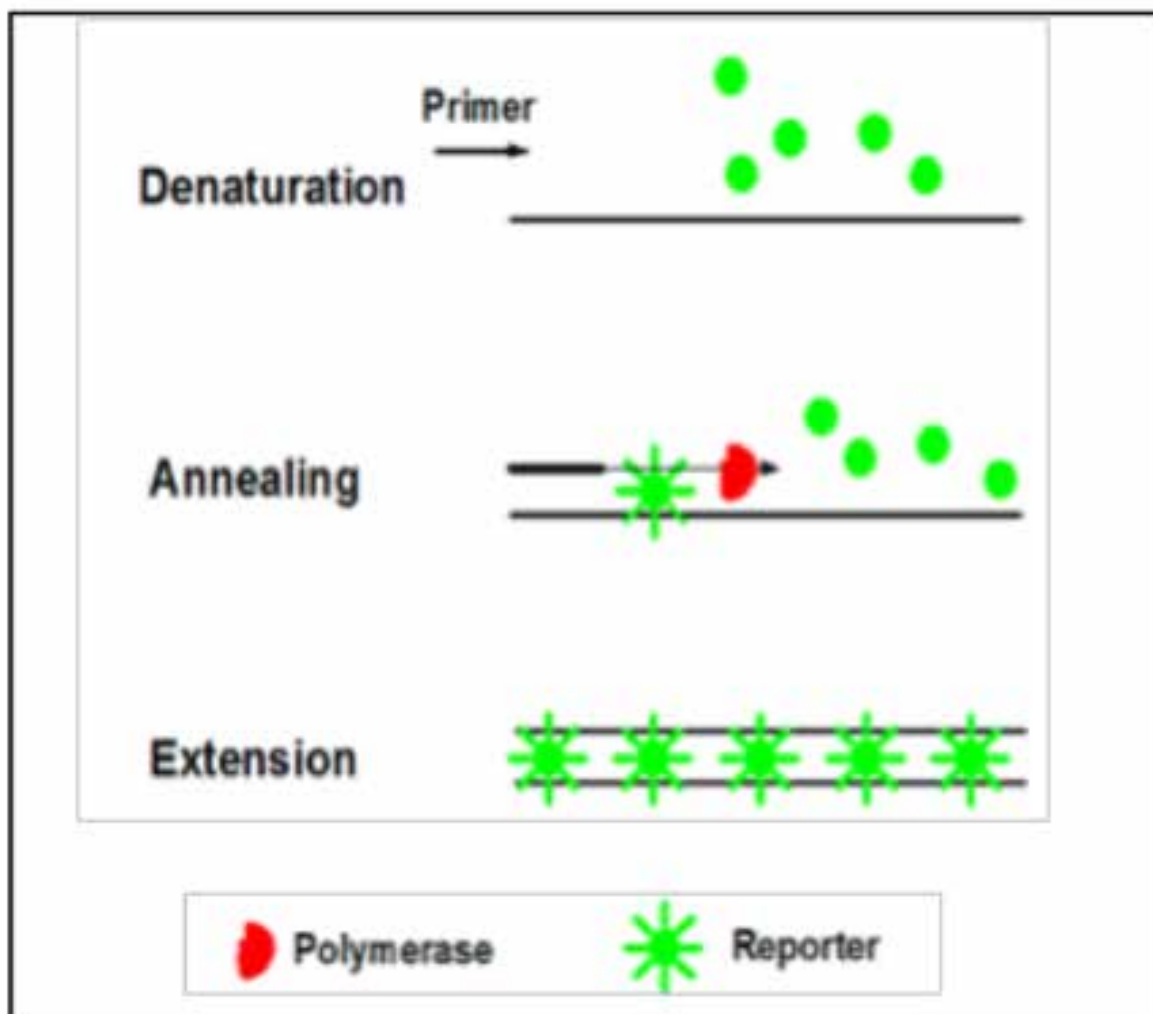


Gambar 5.7. Taqman probe/hidrolisis probe  
 Sumber: Cao *et al.*, 2020

2) *Non-Specific Probe* yaitu sebagai contoh adalah *SYBR Green I*

*SYBR Green I* merupakan *intercalating dye* yang akan berpendar jika berikatan dengan DNA untai ganda dan tidak berikatan serta berpendar pada DNA untai tunggal. Pada tahapan denaturasi, *SYBR Green*

I tidak berikatan dan berpendar, tetapi pada tahapan *annealing* dan elongasi SYBR Green I akan berikatan dengan DNA untai ganda dan berpendar. Pendaran SYBR Green I akan tertangkap oleh kamera detektor pada setiap siklus PCR (Gambar 5.8). Proses ini akan berlangsung berulang-ulang sesuai dengan jumlah siklus proses rRT-PCR (Cao *et al.*, 2020).



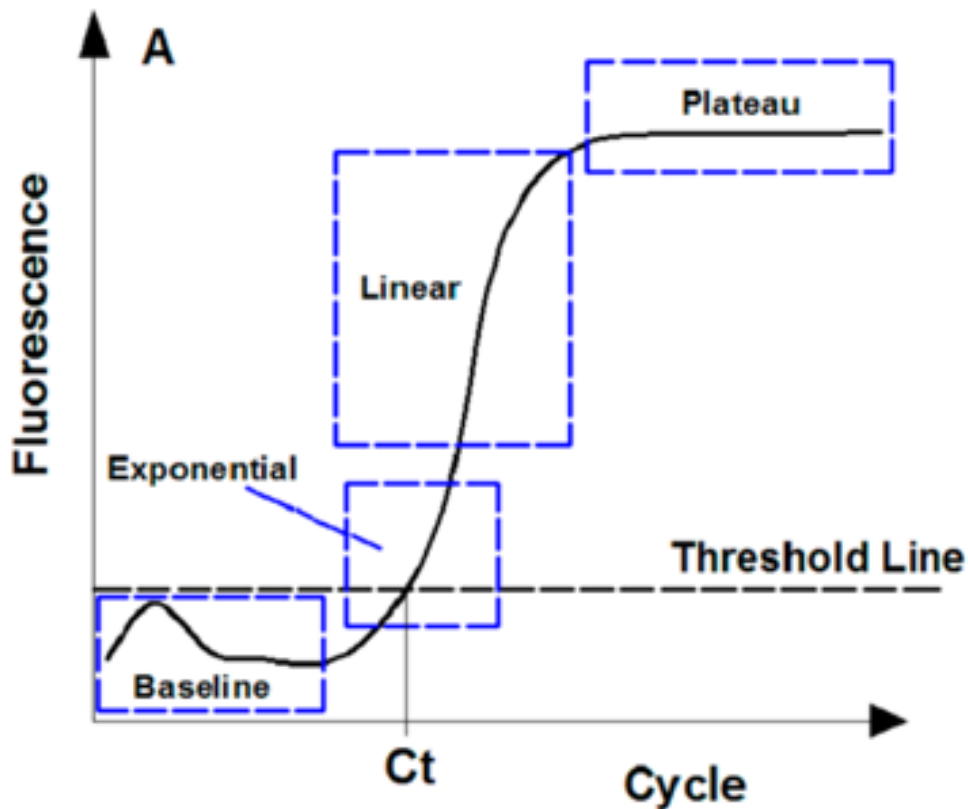
Gambar 5.8. Sybr Green I  
Sumber: Cao *et al.*, 2020

c. Proses rRT-PCR:

- 1) Persiapan spesimen: Ekstraksi RNA
- 2) RT-PCR pada *thermal cyclers*
  - a) RT
  - b) Siklus PCR yang terdiri atas tahap denaturasi, *annealing* dan *elongasi/extension*
    1. Pada tahap *elongasi* terjadi deteksi fluoresen dan proses ini berlangsung berulang-ulang sesuai dengan jumlah siklus PCR. Sinyal fluoresen vs siklus PCR akan direkam dalam bentuk kurva amplifikasi.
    2. Proses PCR dan perkembangan kurva amplifikasi dapat dilihat setiap saat. Namun, analisis hasil hanya dapat dilakukan setelah proses PCR selesai.
- 3) Analisis data dan interpretasi nilai *Cycle threshold (CT)*

Kurva amplifikasi PCR yang berbentuk *sigmoid* terdiri atas 3 fase, yaitu *eksponensial*, *linear*, dan *plateau*, seperti pada Gambar 4.11. Hasil akhir rRT-PCR berupa nilai Ct yang merupakan perpotongan antara garis *threshold* dan kurva amplifikasi. Garis *Threshold* merupakan garis yang berada di atas *baseline* sinyal *fluorescenc* sehingga sinyal *fluorescence* yang terdeteksi di atas *threshold* adalah sinyal yang digunakan dalam menentukan nilai Ct (Gambar 4.9). Pengaturan *threshold* dapat dilakukan secara manual,

yaitu diletakkan di atas *noise* atau background kurva amplifikasi (Cao *et al.*, 2020).



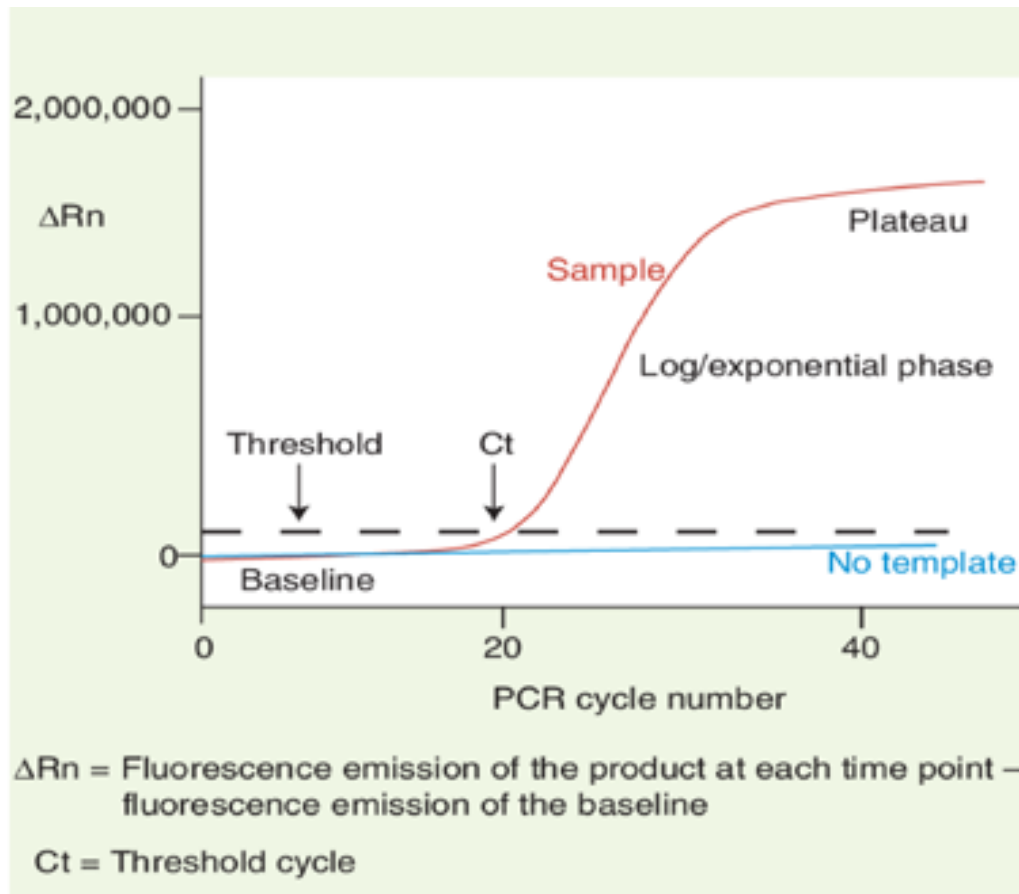
Gambar 5.9. Kurva amplifikasi dan Threshold cycle (CT)  
Sumber: Cao *et al.*, 2020

d. Interpretasi hasil

1) Analisa kualitatif

Meskipun rRT-PCR diartikan kuantitatif RT-PCR, istilah ini tidak sepenuhnya benar. Dalam berbagai kondisi, rRT-PCR masih bersifat kualitatif, yaitu dalam penentuan hasil positif atau negatif dari nilai Ct yang terdeteksi. Sampel dengan nilai Ct di bawah *cut off* menandakan target antigen dari virus target ada di dalam sampel, sedangkan sampel dengan nilai Ct di atas *cut off* atau tidak memiliki kurva amplifikasi

menandakan tidak ditemukan target antigen virus target di dalam sampel tersebut. Makin banyak DNA kopi *template* (cetakan), makin awal sinyal terdeteksi, dan makin rendah nilai Ct (*Life-Technologies*).



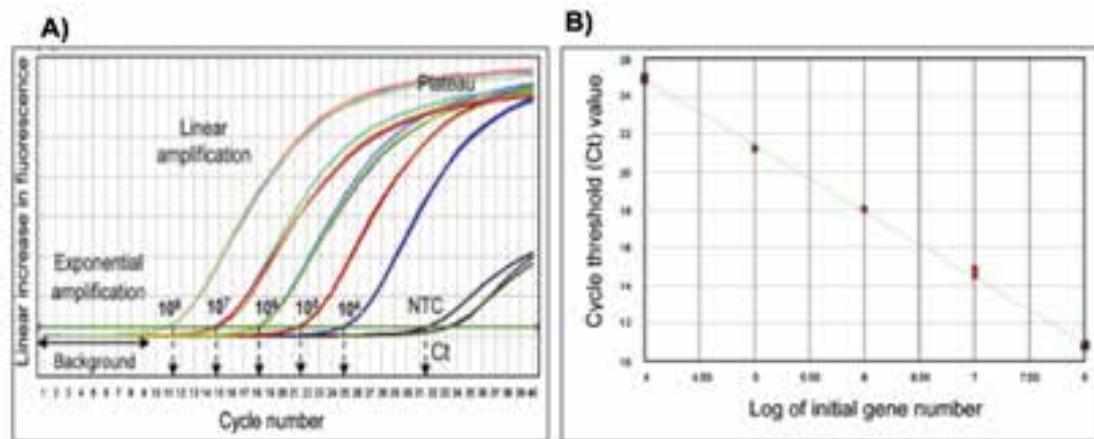
Gambar 5.10. Ilustrasi analisa kualitatif rRT-PCR

Validasi hasil rRT-PCR kualitatif:

- a) Tidak terbentuk kurva amplifikasi pada kontrol negatif.
- b) Terbentuk kurva amplifikasi pada kontrol positif dan nilai Ct dalam kisaran yang diharapkan.
- c) Kurva amplifikasi harus berbentuk sigmoid untuk hasil positif.

- d) Pemeriksaan *housekeeping* gene merupakan gen yang terdapat di dalam sel epitel manusia.
  - e) Hasil *housekeeping* positif menunjukkan bahwa proses ekstraksi asam nukleat dan pengambilan spesimen telah dilakukan dengan benar.
- 2) Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif dapat dilakukan menggunakan Real Time PCR dengan menyertakan *serial dilution* (pengenceran bertingkat) dari larutan standar yang konsentrasinya sudah diketahui dan divalidasi sehingga terbentuk kurva amplifikasi, seperti pada Gambar 5.11 A. Variasi konsentrasi larutan standar bisa berkisar dari 10 hingga >1.000.000 DNA kopi. Ketika larutan standar dan sampel dilakukan amplifikasi melalui proses PCR, pada saat analisis hasil, kurva regresi linear dari larutan standar akan terbentuk (Gambar 5.11 B) sehingga konsentrasi sampel dapat dihitung berdasarkan kurva regresi linear tersebut (*Life-Technologies*).



Gambar 5.11. Ilustrasi analisa kuantitatif  
 Sumber: Life-Technologies.com

## Pokok Bahasan 2. Ekstraksi RNA

### A. Prinsip Dasar Ekstraksi RNA

#### 1. Definisi

Ekstraksi asam nukleat berupa DNA dan RNA adalah proses awal bagi studi biomolekuler. Proses ekstraksi asam nukleat yang efektif harus memperhatikan beberapa hal sebagai berikut:

- a. keamanan pengerjaan,
- b. sensitivitas dan spesifikasi,
- c. reproduibilitas dan keamanan,
- d. kecepatan pengerjaan, dan
- e. biaya yang dikeluarkan.

#### 2. Prinsip Dasar

Secara umum, prinsip dalam ekstraksi material genetik berupa DNA dan RNA adalah dengan melakukan pemecahan sel dan memisahkan material genetik yang ada di dalam sel, baik berupa DNA maupun RNA dari komponen selular lain

berupa lemak, protein, karbohidrat, dan zat lain. Komponen lain tersebut dapat memengaruhi kemurnian dan keutuhan material genetik yang diekstraksi. Setelah didapatkan RNA yang diinginkan, basa RNA tersebut harus disimpan dalam media yang tepat untuk menjaga keutuhan dan kualitas RNA tersebut. Prinsip tersebut sebagaimana dijelaskan sesuai dengan tahapan berikut.

a. Memecah/melisiskan jaringan atau sel

Proses ini dilakukan dengan metode enzimatik, kimia, dan mekanik. Secara umum, metode ekstraksi RNA dengan kit komersil adalah menggunakan bahan kimia, seperti Tris, MgCl<sub>2</sub>, EDTA, SDS, CTAB, dan Triton X100. Beberapa kit komersial yang lain juga menambahkan enzim seperti Proteinase K (Surzyki, 2000; Khrosravina, 2007; Switzer, 1999; Bettelheim & Lansberg, 2007).

b. Pemurnian RNA dari kontaminan

Kontaminan yang akan mengotori dan merusak asam nukelat yang diekstraksi berupa protein/*enzim*, lemak, dan kontaminan lain yang berasal dari sel. Beberapa jenis bahan yang digunakan untuk memisahkan asam nukleat dari kontaminan adalah sebagai berikut (Surzyki, 2000; Khrosravina, 2007; Switzer, 1999; Bettelheim & Lansberg, 2007):

1) agen Proteolisis,

berupa bahan kimia seperti *CTAB*, *SDS*, *phenol*, *chloroform*, *Nonidet P40*, *different chaotropic*, *urea*, *guanidium isothiocyanate*, *guanidium thiocyanate*, *N-Lauroyl*, *sarcosine*

- 2) agen Presipitasi yaitu berupa *Isopopanol, etanol, methanol, NaCl, Sodium asetat*, dan
- 3) bahan *washing*, yaitu berupa alkohol.

c. Penyimpanan asam nukleat

Setelah asam nukleat dipisahkan dari agen-agen kontaminan, asam nukleat akan ditransfer ke dalam air atau larutan buffer tertentu yang dapat mengawetkannya (eluen). Eluen yang banyak digunakan dalam menyimpan asam nukleat adalah TE Buffer dan air distiled. Penggunaan eluen ini tergantung pada tujuan penggunaan asam nukleat ini.

Secara umum, tahapan ekstraksi asam nukleat adalah sebagaimana dijelaskan di atas. Namun, beberapa modifikasi dapat dilakukan berdasarkan jenis spesimen yang akan diekstraksi.

3. Tujuan

Tujuan bab ini adalah agar pembaca dapat memahami prinsip dasar dalam melakukan ekstraksi RNA. Dengan demikian, RNA yang didapatkan memiliki kualitas dan kuantitas yang baik serta bebas kontaminasi. Dengan kualitas dan kuantitas yang baik, penggunaan RNA untuk berbagai tujuan lain dapat tercapai.

4. Manfaat

Manfaat pemahaman prinsip dan teknik ekstraksi yang baik merupakan tahap awal bagi berbagai macam studi molekuler yang meliputi hal-hal berikut:

- a. riset eksperimental;

- b. penyelidikan forensik;
- c. mutagenesis;
- d. DNA rekombinan;
- e. produk vaksin;
- f. terapi gen;
- g. aplikasi diagnostik.

## B. Metode Ekstraksi RNA

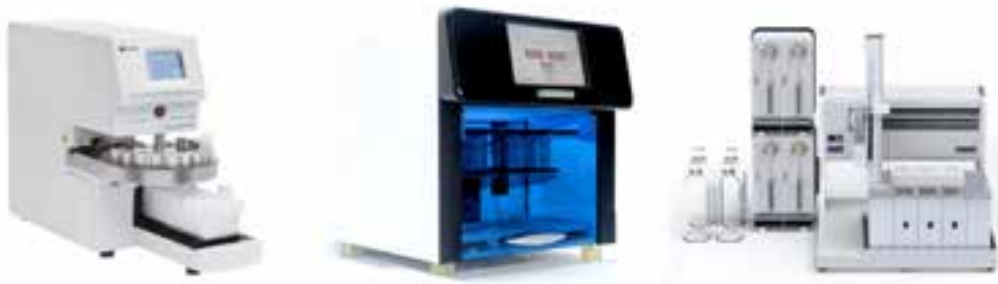
Teknik yang digunakan dalam ekstraksi RNA berdasarkan bahan ekstraksinya, terdiri atas dua macam, yaitu ekstraksi berbasis bahan kimia liquid (*solution based*, Sambrook et al, 2001; Butler, 2005) dan berbasis pemisahan ukuran (*solution Phase based*, Nigel et al, 2000; Elkins, 2013). Contoh metode ekstraksi yang banyak digunakan adalah sebagai berikut:

1. *Solution-based*. Secara umum, teknik ekstraksi berbasis liquid solution, membutuhkan waktu yang lama, tahapan kerja yang panjang dan risiko kontaminasi.
  - a. Guanidin tiosianat-fenol-kloroform
  - b. CTAB
  - c. Alkaline
  - d. EtBr – CsCl
  
2. *Solid-phase based*. Metode ini banyak digunakan pada berbagai kit komersil karena memiliki waktu yang relatif lebih cepat dan sederhana dan lebih cocok untuk ekstraksi RNA.
  - a. Silica kolom
  - b. Partikel kaca
  - c. *Diatomaceous earth*

- d. *Magnetic bead*
- e. *Anion exchange*

Berdasarkan teknologi yang digunakan, metode ekstraksi dapat dibedakan antara metode ekstraksi manual dengan menggunakan tenaga manusia dan metode ekstraksi dengan menggunakan metode otomatis dengan menggunakan robot (Bechlian et al, 2009).

1. Metode Manual
  - a. Personel laboratorium melakukan tahap per tahap proses ekstraksi dengan mengikuti manual kit.
  - b. Tenaga Laboratorium yang telah terlatih sangat diperlukan.
  - c. Jika sampel yang akan diperiksa sedikit, hal itu lebih efisien.
  
2. Metode Otomatis. Metode ini sendiri terbagi dalam dua jenis, yaitu  
*Automated Extraction (Robotic): liquid handling robots.*
  - a. *Cartridges based*
    - 1) Sampel dimasukkan ke dalam *cartridges* kemudian dicampurkan dengan buffer lisis, lalu dimasukkan ke dalam alat.
    - 2) Semua *buffer* yang dibutuhkan tersedia di *cartridges* dan mesin akan melakukan pekerjaan berdasarkan tahapan proses ekstraksi.
    - 3) Biasanya *cartridges* dan pipet tipsnya khusus diproduksi oleh perusahaan alat.
    - 4) *Load* sampel bervariasi mulai dari 8—96 atau lebih per satu kali *run*.



Gambar 5.12. Beberapa Contoh Alat Ekstraksi *Cartridges Based*  
 Sumber: Biotage.com, savyondiagnosics.com, gilson.com

b. *Robotic based*

- 1) *Open system* (semi open) merupakan sistem ekstraksi *robotic* yang menggunakan bahan habis pakai untuk ekstraksi manual yang umum digunakan di laboratorium.
- 2) *Closed system* merupakan sistem ekstraksi *robotic* yang menggunakan bahan habis pakai yang dikhususkan untuk alat ekstraksi tersebut.



Gambar 5.13. Alat Ekstraksi *Robotic Based*  
 Sumber : Badan Litbangkes, Qiagen.com, thermofisher.com

**C. Proses Ekstraksi RNA**

Proses ekstraksi RNA terdiri atas empat tahap utama yang tersusun sebagai berikut.

## 1. Tahap Persiapan

Tahap ini berfokus untuk menyiapkan kelancaran proses ekstraksi RNA, baik dalam persiapan reagensia, bahan habis pakai, maupun persiapan tempat. Tahap ini perlu diperhatikan dengan baik karena saat sedang menjalankan protokol ekstraksi harus meminimalisasi risiko kontaminasi dan keselamatan kerja. Semua reagensia dan bahan habis pakai yang digunakan harus disesuaikan dengan jumlah sampel dan tidak boleh terlalu banyak keluar masuk BSC yang digunakan.

Penyiapan tempat untuk ekstraksi bahan infeksius, seperti virus SARS-CoV-2, harus dilakukan di BSC Kelas II. Sebelum melakukan ekstraksi, harus dipastikan BSC Kelas II yang digunakan sudah dilakukan dekontaminasi dengan menggunakan UV dan alkohol setiap kali akan digunakan. Hal ini dilakukan untuk mengurangi risiko kontaminasi yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan.

## 2. Protokol ekstraksi RNA

Protokol ekstraksi RNA dilakukan sesuai dengan kit yang digunakan, jenis spesimen, dan juga teknologi ekstraksi yang dilakukan (manual atau robotik). Semua tahapan prosedur ekstraksi harus diikuti dengan baik agar hasil RNA yang didapatkan memiliki kuantitas yang cukup dan kualitas yang baik.

## 3. Uji kualitas dan kuantitas hasil ekstraksi

Hasil ekstraksi RNA perlu dilakukan pengujian kualitas dan kuantitas, baik secara rutin maupun berkala. Dengan

demikian, jika ada hasil yang meragukan, dapat dilakukan evaluasi. Uji kualitas dan kuantitas dilakukan dengan metode berikut.

- a. Uji kuantitas konsentrasi DNA/RNA menggunakan alat berbasis spektrofotometer dengan beberapa panjang gelombang.
  - Asam nukelat (DNA, RNA, nukleotida): 260 nm
  - Protein: 280 nm
  - Kontaminan lain: 230 nm
- b. Penentuan konsentrasi asam nukelat dinyatakan dalam satuan ng/μl atau μg/ml.
  - DNA: 50 μg/ml
  - RNA: 40 μg/ml
- c. Uji kualitas dinyatakan dengan kemurnian asam nukleat. Kemurnian RNA atau DNA dinyatakan dengan rasio panjang gelombang spektrofotometer pada rentang berikut:
  - DNA:  $A_{260}/A_{280} \geq 1,8$
  - RNA:  $A_{260}/A_{280} \geq 2$
  - DNA/RNA:  $A_{260}/A_{230} \geq 2$

#### 4. Penyimpanan RNA

Spesimen RNA yang sudah diekstraksi dari spesimen klinis perlu disimpan baik untuk keperluan pemeriksaan maupun keperluan lain pada masa depan. Basa RNA merupakan rantai untai tunggal asam nukleat yang tidak stabil sehingga penyimpanan yang dilakukan berbeda dengan penyimpanan DNA atau protein. Kemampuan sebuah reagensia atau liquid dalam waktu penyimpanan RNA berbeda-beda. Pembagian jenis reagen berdasarkan agen penyimpan, kit komersial dan

jangka waktu penyimpanan RNA agar stabil dalam waktu tertentu disadur dari beberapa sumber (Bushc *et al.*, 1992; Mutter *et al.*, 2004; Olivieri *et al.*, 2014; WHO, 2020) adalah sebagai berikut.

- a. Jangka panjang: *dried or lyophilized (+Stabilizing agent)*
  - 1) *Trehalose*
  - 2) *Commercially available stabilizers*
  - 3) *DNAstable (Biomatrica)*
  - 4) *QIA safe DNA (Qiagen)*
  - 5) *GenTegra DNA (integenX)*
- b. Jangka pendek/*dilution needed: in solution*
  - *Nuclease free water*
  - *TE-Buffer*
- c. Suhu penyimpanan
  - Tidak menyimpan hasil ekstraksi RNA pada suhu ruang
  - Penyimpanan pada suhu 4°C jika RNA akan langsung digunakan untuk PCR.
  - Penyimpanan pada suhu -20°C jika akan digunakan dalam waktu 24 jam.
  - Penyimpanan pada suhu -80°C jika akan disimpan dalam jangka waktu 1-- 6 bulan
  - Penyimpanan pada suhu liquid nitrogen jika akan disimpan lebih dari 6 bulan.

#### **D. Hal-hal lain yang harus diperhatikan dalam melakukan ekstraksi RNA**

1. Hazard level spesimen: pemilihan BSC sesuai dengan level biosafety dari patogen yang diperiksa.

2. Aliran udara BSC harus tetap terjaga dengan baik dan tidak ada penahan aliran udara saat bekerja.
3. Petugas menggunakan sarung tangan dengan baik dan benar.
4. ... menjaga area kerja bebas RNase selama proses ekstraksi.
5. Petugas menerapkan *Good Laboratory Practice* (GLP) agar terhindar dari kontaminasi.
6. Petugas memperhatikan keselamatan dan keamanan kerja (*Biosafety* dan *Biosecurity*).

Tabel 5.1 Permasalahan dan Penyebab hasil ekstraksi RNA tidak optimal

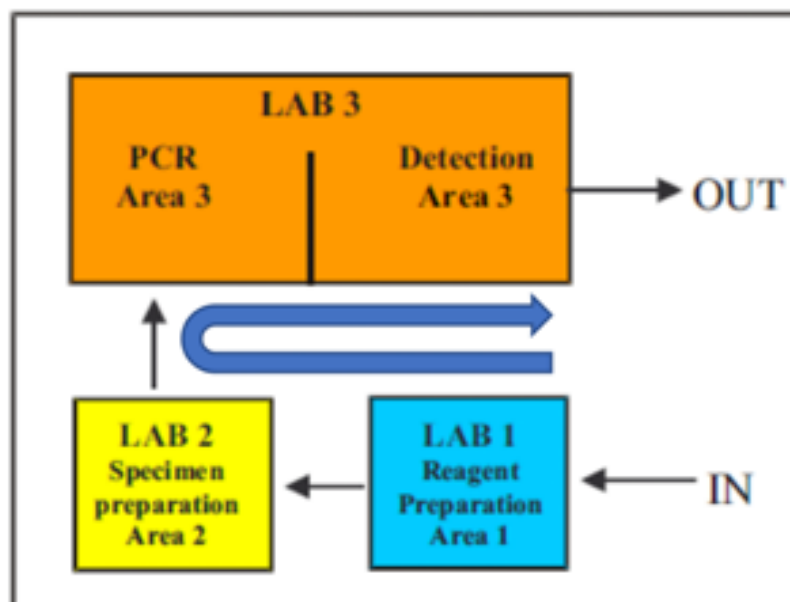
Masalah	Penyebab
RNA sedikit atau tidak ada	Lisis tidak sempurna karena sumbatan pada kolom Konsentrasi virus rendah Beku cair sampel lebih satu kali Kondisi <i>binding</i> atau elusi tidak sesuai Etanol tidak ditambahkan pada <i>wash buffer</i> Elusi terlalu banyak
RNA terdegradasi	Kontaminasi oleh RNase Kualitas sampel rendah

### **Pokok Bahasan 3. Proses Pemeriksaan rRT- PCR Virus SARS-CoV-2**

Saat ini, metode PCR digunakan sebagai metode deteksi cepat dengan menggunakan materi genetik RNA atau DNA untuk menentukan etiologi suatu agen infeksi. Akan tetapi, metode metode tersebut memiliki risiko kontaminasi dari produk hasil PCR-nya sendiri sehingga perlu dilakukan langkah-langkah untuk mengendalikan kontaminasi PCR beserta kualitas kontrolnya (Viljoen *et al.*, 2005).

## A. Alur Pemeriksaan Laboratorium

Desain laboratorium untuk pemeriksaan PCR menjadi hal yang penting untuk menjaga performa yang baik sehingga dapat meminimalisasi risiko kontaminasi. Secara umum, kegiatan di laboratorium PCR meliputi persiapan sampel, persiapan reagen reaksi PCR, proses PCR, dan analisis pasca-PCR. Ketika ditampilkan dalam mode linier ini, kegiatan ini dapat dikelompokkan ke dalam dua kelompok utama, kegiatan pra-PCR (persiapan sampel dan persiapan reagensia PCR) dan kegiatan pasca-PCR (pelaksanaan dan analisis PCR) (Gambar 4.14). Untuk menghindari kontaminasi, pekerjaan PCR wajib dilakukan secara linier/searah dimulai dari area pra-PCR ke area pasca-PCR, petugas laboratorium tidak diperbolehkan untuk kembali ke area pre-PCR setelah melakukan pekerjaan di area pasca-PCR (Viljoen *et al.*, 2005).



Gambar 5.14 Pembagian Area Kerja Pemeriksaan PCR dan Alur Kerja Satu Arah  
Sumber: Viljoen *et al.*, 2005

Berikut ini adalah penjelasan singkat mengenai tiap-tiap area berdasarkan gambar 5.14.

#### 1. Area *Pre-PCR*

Area ini merupakan area untuk persiapan sebelum proses PCR, termasuk area reagensia (*clean room*) dan area proses spesimen, serta dan penambahan RNA. Berikut poin-poin penjelasan untuk tiap-tiap ruangan:

##### a. Area Lab 1: Ruang bersih / *clean room*

- 1) Area ini Merupakan area persiapan reagensia RT-PCR *master mix*.
- 2) Area bersih ini idealnya merupakan ruangan bertekanan positif.
- 3) Alat keamanan yang diperlukan di ruangan ini adalah *Laminar Air Flow (LAF)* untuk menghindari reagensia dari kontaminan lingkungan sekitar.
- 4) Untuk menghindari kontaminasi, petugas menggunakan APD yang khusus disimpan dan dipakai di ruangan bersih/*clean room*.
- 5) Semua peralatan dan reagen yang disimpan di ruang *clean room* TIDAK diperbolehkan untuk berpindah ke ruangan lain.
- 6) Di dalam area bersih, spesimen, RNA/DNA, kontrol positif dari ruangan lain TIDAK diperbolehkan masuk.
- 7) Tempat ini merupakan area penambahan kontrol negatif untuk mendeteksi ada atau tidaknya kontaminan pada ruang bersih.

##### b. Area Lab 2: proses spesimen dan penambahan RNA

- 1) Area ini merupakan area persiapan spesimen berupa proses ekstraksi RNA.

- 2) Di area ini dilakukan penambahan spesimen RNA yang sudah diekstraksi (dilakukan di BSC kelas II yang berbeda dengan BSC kelas II yang digunakan untuk ekstraksi RNA).
- 3) Area ini idealnya adalah ruangan bertekanan negatif
- 4) Alat keamanan yang diperlukan di dalam ruangan ini berprinsip untuk melindungi pekerja dari kontaminasi spesimen, yaitu
  - BSC Kelas II,
  - *Closed rotor centrifuge* (jika ada),
  - *Vortex*,
  - *Safety station: Safety shower dan eye wash station.* dan
  - *Spill kit tools*
- 5) Untuk menghindari kontaminasi, digunakan APD yang khusus disimpan dan dipakai di ruangan ini
- 6) Semua peralatan dan reagen yang disimpan di ruangan ini TIDAK diperbolehkan untuk berpindah ke ruangan lain.

## 2. Area PCR

Area PCR merupakan area lab ke-3. Di area ini dilakukan proses rRT-PCR atau area perbanyak DNA di dalam mesin *Thermal Cycler*, serta analisis hasil rRT PCR. Penambahan kontrol positif dapat juga dilakukan di area ini (di meja lab terbuka atau di dalam BSC Kelas II). Ruangan ini idealnya bertekanan negatif supaya tidak terjadi aliran kontaminasi DNA hasil PCR (amplikon) ke ruangan lain. Semua APD dipakai dan disimpan khusus di ruangan ini.

## B. Jenis Primer/Probe

Jenis *probe* yang digunakan untuk deteksi SARS-CoV-2 adalah hidrolisis *probe*/Taqman *probe* (WHO, 2020). Label *probe* yang digunakan bergantung pada desain *probe* yang dibuat atau dari kit yang tersedia di pasaran. Pada umumnya, label *probe* yang didesain akan disesuaikan dengan detektor yang terdapat dalam mesin *Thermal cycler* yang dimiliki di tiap-tiap laboratorium. Terdapat berbagai macam label *probe* yang tersedia. Berikut label *probe* yang cocok dengan mesin *real time* PCR yang ada (Gambar 5.15).

	FAM	TET	HEX	JOE	Cy3	TAMRA	ROX	LC Red 610	Texas Red	LC 640	Cy5
Applied Biosystems® 7000/StepOne Plus™	•	○	○	•	✗	•	R	✗	✗	✗	✗
Applied Biosystems® 7500 Fast	•	✗	○	•	•	•	R	○	•	○	•
Applied Biosystems® 7900/7900HT	•	•	○	•	✗	•	R	✗	✗	✗	✗
Applied Biosystems® QuantStudio 6/7	•	•	•	•	•	•	R	○	•	○	•
Applied Biosystems® QuantStudio 12K	•	•	•	•	○	•	R	○	○	○	○
Applied Biosystems® StepOne™	•	○	○	•	✗	✗	R	✗	✗	✗	✗
Bio-Rad CFX384/CFX96	•	○	•	○	○	○	○	○	•	○	•
Bio-Rad MiniOpticon™/MiniOpticon™ II/MyIQ2™	•	○	•	○	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Bio-Rad iQ™5	•	○	•	○	○	•	○	○	•	○	•
Cepheid Smartcycler™/Smartcycler™ II	•	•	○	○	•	✗	○	○	•	○	•
Eppendorf Mastercycler®	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Qiagen Rotor-Gene® Q/Rotor-Gene® 6000	•	•	•	•	✗	✗	•	•	•	✗	•
Roche LightCycler® 480	•	○	•	○	○	○	○	•	○	•	•
Roche LightCycler® 1536	•	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Roche LightCycler® Nano	•	○	•	○	○	○	○	•	•	○	•
Agilent Mx3000P™/Mx3005P*	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

\* Dye compatibility of the Mx3000P or Mx3005P instruments depend on the filter selections made during purchase.

•	Supplier-provided or -recommended
○	Instrument-supported dyes that may require calibration
R	Instrument uses channel for the reference dye
✗	Not an instrument-supported dye

Gambar 5.15. Kecocokan label probe dengan tipe mesin *real time* PCR  
Sumber: Manit *et al.*, 2005; IDTNA 2020

### C. Prosedur Real Time RT-PCR dengan metode *Singleplex* dan *Multiplex* (Manit *et al.*, 2005)

Metode mendeteksi gen target suatu agen penyakit dengan pemeriksaan RT-PCR, saat ini diketahui ada beberapa pendekatan, yaitu sebagai berikut.

#### 1. Metode *Singleplex*

Teknik PCR secara *singleplex* digunakan untuk mendeteksi satu urutan target DNA atau RNA dalam satu reaksi PCR dengan menggunakan satu pewarna fluoresensi. Kelebihan metode tersebut adalah lebih sensitif, sedangkan kekurangannya adalah reagensia yang diperlukan lebih banyak serta waktu yang diperlukan untuk proses RT-PCR lebih lama.

#### 2. Metode *Multiplex*

Metode ini disebut multipleks karena bisa mendeteksi dua atau lebih DNA target dalam 1 reaksi PCR dengan menggunakan metode RT-PCR. *Dye* (perwarna) pada bagian *reporter* akan berpendar pada saat probe terhidrolisis dan sinyal emisi akan tertangkap oleh kamera pada alat Real time PCR. Tiap-tiap probe spesifik untuk target DNA tertentu dilabel dengan *reporter dye* yang berbeda, misalnya pewarna FAM untuk target gen RdRP, pewarna HEX untuk target gen E, serta pewarna Cy5 untuk gen RP (gambar 5.16 dan 5.17). Berikut adalah poin-poin penjelasan beberapa kekurangan dan kelebihan dari metode multiplex PCR:

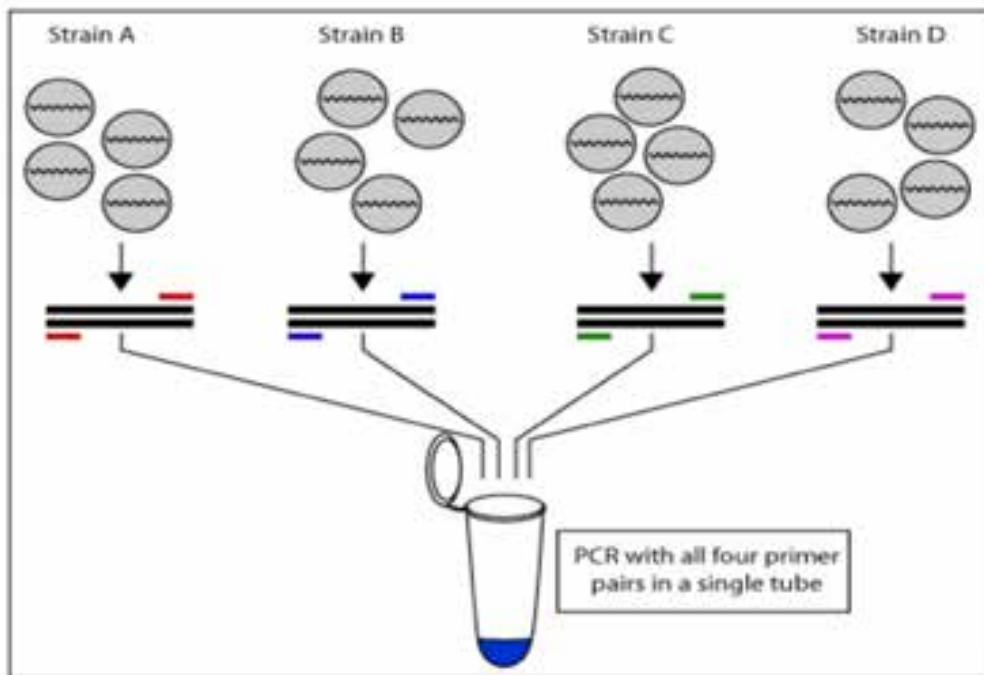
#### **Kelebihan:**

- Metode itu mendeteksi dua atau lebih DNA target dalam satu pemeriksaan.

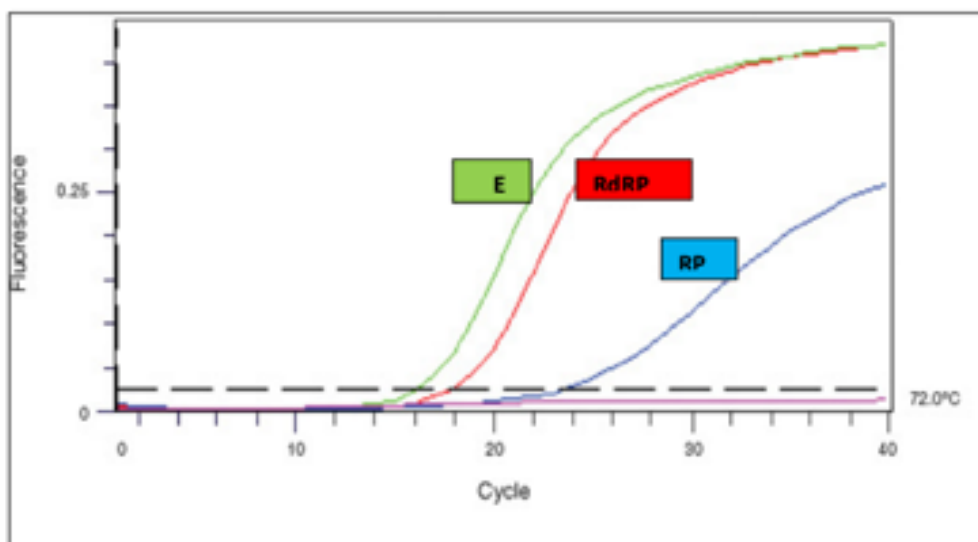
- Spesimen yang diperiksa lebih banyak jika dibandingkan dengan *singleplex (High through-put)*.
- Metode itu lebih ekonomis.
- Metode itu efisien ketika volume *template* terbatas.

**Kekurangan:**

- Perlu adanya optimasi dan validasi untuk memastikan efisiensi dari amplifikasi pada tiap-tiap target DNA.
- Kebutuhan akan Reagensia *Realtime* ... ?dengan kemampuan *high through-put*.
- Metode itu memerlukan instrumen dengan beberapa deteksi warna.



Gambar 5.16 Ilustrasi Pemeriksaan *Multiplex Real-time* RT-PCR  
 Sumber : Premier Biosoft, 2020



Gambar 5.17 Contoh Pewarna *Multiplex* (RdRP = FAM, E = HEX, RP=Cy5)

#### D. Prosedur rRT-PCR

Dalam modul ini dijelaskan langkah-langkah contoh pengerjaan deteksi virus SARS-CoV-2 menggunakan metode *singleplex* berdasarkan prosedur CDC Atlanta US. Sementara itu, contoh pengerjaan *multiplex* rRT-PCR menggunakan Kit komersial *Real-Q 2019-nCoV detection Kit (BioSewoom, Korea)*. Sebagai referensi, WHO telah mengeluarkan daftar-daftar kit komersial yang bisa digunakan untuk mendeteksi virus SARS-CoV-2 (WHO, 2020). Beberapa prosedur kit tersebut terlampir dalam modul ini. Berikut hal-hal yang perlu diperhatikan di dalam pengerjaan rRT-PCR.

1. Penyimpanan dan penanganan reagen real time RT-PCR
  - a. Reagen real time RT-PCR disimpan di dalam refrigerator dan *freezer* di area 1 (*clean room*).
  - b. Reagen real time RT-PCR harus di alikuot dalam volume kecil untuk menghindari kontaminasi.

- c. Reagen stok harus disimpan pada suhu -20°C.
- d. Reagen kerja (*working solution*) yang digunakan dengan frekuensi harian dapat disimpan pada suhu 2-8°C (tergantung ketentuan).
- e. Persiapan PCR master mix

Komponen rRT-PCR:

Enzim termostabil *taq DNA polymerase* dan *reverse transcriptase*  
 Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP)  
 Ion Mg<sup>2+</sup>  
 Buffer

contoh reagen real time RT-PCR



Primer *forward*  
 Primer *Reverse*  
 Probe

Spesifik untuk SARS-CoV-2

- 1) Semua peralatan, reagen dan APD disimpan khusus untuk ruangan *clean room* TIDAK diperbolehkan untuk berpindah ke ruangan lain.
- 2) Beberapa rekomendasi WHO untuk primer dan probe set digunakan untuk pemeriksaan SARS-CoV-2 (Tabel 5.2).

Institute	Gene Targets
China CDC, China	ORF1ab and N
Institut Pasteur, Paris, France	Two targets in RdRP
US CDC, USA	Two targets in N gene
National Institute of Infectious Diseases, Japan	Pancorona and multiple targets, spike protein
Charité, Germany	RdRP, E N
HKU, Hongkong SAR	ORF1b-nsp14, N
National Institute of Health, Thailand	N

Tabel 5.2 Rekomendasi WHO untuk Primer dan Probe Set untuk Pemeriksaan SARS-CoV-2  
 Sumber: WHO, 2020

2. Persiapan master mix rRT-PCR
  - a) Persiapan master mix dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) ruang bersih (*clean room*) area lab 1.
  - b) Persiapan mengeluarkan master mix dari refrigerator/freezer.
  - c) Memastikan semua reagensia tercampur dengan baik dengan cara vortex cepat dan spin down untuk semua bahan master mix.
  - d) Menyiapkan PCR *worksheet* untuk menghitung jumlah reaksi master mix yang dibutuhkan untuk sampel RNA, NC (*Negative Control*), dan PC (*Positive Control*).
  - e) Memperhatikan instruksi dari reagen rRT-PCR yang digunakan mengenai rekomendasi kondisi suhu saat mencampur master (suhu ruang atau dingin 4-8° C)
  - f) Karena proses pencampuran master mix menggunakan volume larutan yang sangat kecil, teknik memipet harus dikuasai dengan baik oleh petugas
  - g) Berikut adalah contoh preparasi master mix rRT-PCR berdasarkan protokol *primer* dan *probe* yang direkomendasikan oleh WHO.

### Contoh protokol *Singleplex*

Protokol US-CDC

Target gen : N1, N2 RP\*

\*gen RP adalah gen yang terdapat di dalam sel epitel manusia.

\*gen RP berfungsi sebagai kontrol kualitas proses ekstraksi.

Reagensia: *Superscript III One Step rRT-PCR with Platinum Taq*

\*Sudah divalidasi oleh Balitbangkes

### Contoh protokol *Multiplex*

Kit Real-Q 2019-nCoV detection Kit ( *BioSewoom*, Korea)

Target: RdRP, E, RP

Contoh kit *multiplex* lainnya tersebut di lampiran.

Melakukan semua pekerjaan di atas, direkomendasikan untuk dilakukan di dalam LAF yang tersertifikasi. Sebelum memulai pekerjaan, LAF terlebih dahulu dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% dan semua alat dan bahan yang akan dimasukkan ke dalam LAF dibersihkan dengan alkohol 70%.

Contoh:

Jumlah spesimen 11 + 1 reaksi NTC + 1 reaksi kontrol positif (PC) + 1 reaksi *pipetting error* = **14 reaksi**

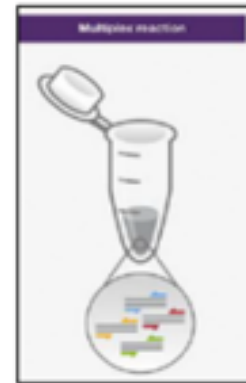
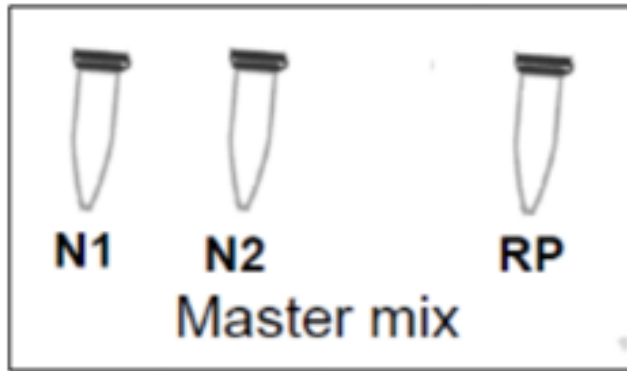
Formula:

Contoh perhitungan reaksi:

Komponen	1 rxn (µl)	N reaksi (µl) (x 14)	Komponen	1 rxn (µl)	N reaksi (µl) (x 14)
Nuclease-free water	5.5	77	Nuclease-free water	3.5	49
2x Reaction mix	12.5	175	2x Reaction mixture	12.5	175
Primer and Probe mix N1/N2/RP)*	1.5	21	Primer and Probe mix	3.0	42
Anzim mix	0.5	7	PCR enzim mix	1.0	14
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>280</b>	<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>280</b>

\*Akan ada 3 *master mix*, *master mix* N1, *master mix* N2 dan *master mix* RP.

\*Akan ada 1 *master mix* saja.



Tiap-tiap *master mix* dibagi @20  $\mu$ l ke dalam 96 PCR *well plate* atau PCR strips 8 sesuai PCR *worksheet*. Dalam satu 96 PCR *well plate*, maksimal dapat memeriksa 30 sampel karena setiap *master mix* (N1/N2/ RP) harus diisi di *well* yang berbeda.

*Master mix* dibagi @20  $\mu$ l ke dalam 96 PCR *well plate* atau PCR strips 8 sesuai PCR *worksheet*. Dalam satu 96 PCR *well plate* setidaknya bisa memeriksa 94 sampel.



Gambar 96 PCR *well plate*



Gambar PCR strips 8

Menambahkan 5  $\mu$ l *nuclease-free water* ke dalam *well* NTC, sebelum keluar dari *clean room*. *Well* NTC boleh ditutup rapat jika memungkinkan. Menutup PCR plate menggunakan *optical caps strip*, tetapi jangan terlalu rapat karena akan dibuka untuk menambahkan RNA sampel di ruang penambahan RNA. ATAU bisa juga ditutup menggunakan aluminium foil selama berpindah ruangan. Melepaskan Jas lab khusus ruang *clean room*, tetapi tetap kenakan *gloves* (karena bersih).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
B	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
C	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
D	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
E	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
F	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
G	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP
H	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP	N1	N2	RP

Gambar 5.18 Ilustrasi pembagian *master mix SINGLEPLEX* ke dalam 96 PCR *well plate*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
B	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
C	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
D	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
E	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
F	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
G	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
H	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix

Gambar 5.19 Ilustrasi pembagian reagensia *master mix MULTIPLEX* ke dalam 96 PCR *well plate*

3. Penambahan RNA dan kontrol positif ke dalam *master mix* perlu memperhatikan hal-hal berikut:
  - a. Hal itu dilakukan di area lab 2, di dalam BSC Kelas II (Tipe A2).
  - b. *Master mix* PCR disimpan di dalam kulkas suhu 2-8°C.
  - c. ... mengenakan APD khusus area 2.
  - d. Sebelum bekerja, petugas membersihkan BSC

menggunakan hipoklorit 1% dan alkohol 70%.

- e. Petugas mengambil *master mix* dari dalam kulkas dan RNA. Jika memungkinkan, simpan RNA dalam *cooler rack* (agar tetap dingin) selama proses penambahan RNA ke dalam *master mix*.
- f. ... menambahkan 5 µl RNA sampel sesuai dengan peta sampel dalam *PCR worksheet*. Penambahan RNA sampel dilakukan di dalam BSC Kelas II (Tipe A2).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC	NC	NC	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24
B	S1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17	S25	S25	S25
C	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18	S26	S26	S26
D	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19	S27	S27	S27
E	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20	S28	S28	S28
F	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21	S29	S29	S29
G	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22	S30	S30	S30
H	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23	PC	PC	PC

Gambar 5.20 Ilustrasi penambahan sampel RNA, kontrol negatif, dan kontrol positif ke dalam *master mix* PCR metode *SINGLEPLEX*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80	S88
B	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73	S81	S89
C	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74	S82	S90
D	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75	S83	S91
E	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76	S84	S92
F	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77	S85	S93
G	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78	S86	S94
H	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79	S87	PC

Gambar 5.21 Ilustrasi penambahan sampel RNA, kontrol negatif, dan kontrol positif ke dalam *master mix* PCR metode *MULTIPLEX*

- g. ... menutup PCR 96 *well plate* dengan *optical caps strips* dengan rapat. Jika Anda menggunakan *optical adhesive film*, tunggu hingga PC selesai ditambahkan. Pastikan menyegel rapat *optical caps strips/optical adhesive film* untuk menghindari penguapan larutan master mix PCR dan RNA. Penguapan selama proses PCR akan mengakibatkan reaksi PCR yang gagal.
- h. ... menambahkan kontrol positif di area 3. Beberapa opsi area penambahan *positive control (PC)*:
  - BSC yang lain (jika ada)
  - Meja lab terbuka
- i. Tambahkan 5 µl PC. Segera tutup *well PC* dengan *optical caps strips/optical adhesive film*.

#### 4. Protokol pengaturan mesin real time PCR

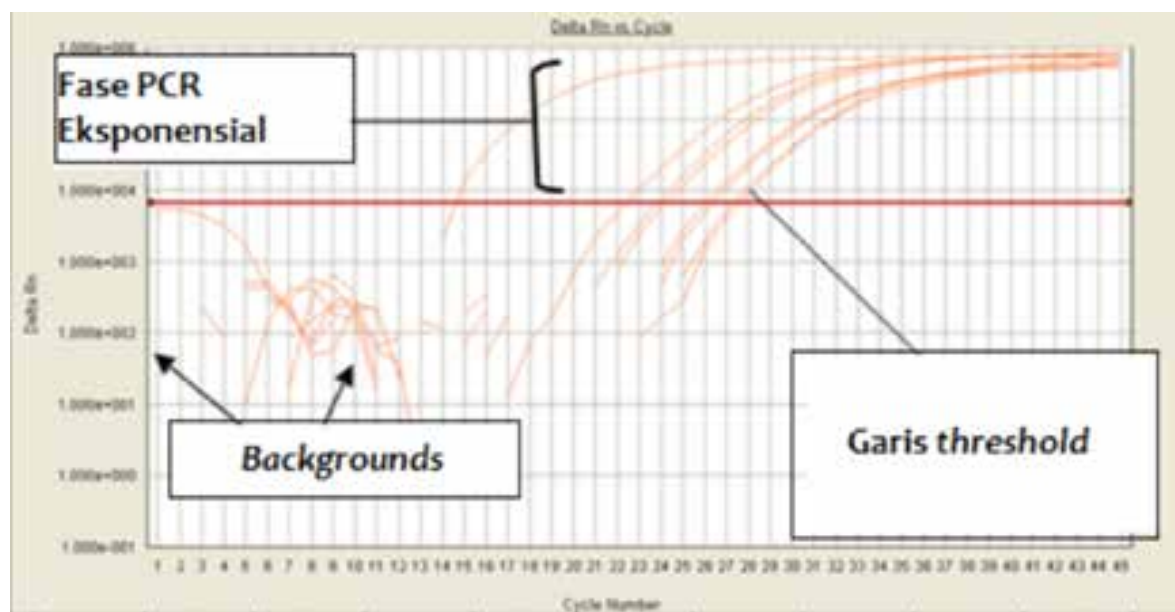
Pengaturan suhu, waktu, dan sistem deteksi dalam pemeriksaan berbeda untuk setiap protokol rRT-PCR sehingga diperlukan ketelitian pembacaan protokol kerja. Pengaturan detektor untuk koleksi data juga dipengaruhi oleh penggunaan *reporter dye* pada *probe*.

Tabel 5.3 Contoh pengaturan suhu mesin real time RT-PCR

Step	Suhu	Waktu	Siklus	Mode
1. RT	50°C	30 menit	1	-
2. Hot Start	95°C	15 menit	1	-
3. Amplifikasi	95°C	15 detik	45	Koleksi data (FAM)
	55°C	45 detik		

## 5. Interpretasi hasil real time RT-PCR

Setelah proses RT-PCR selesai, analisis data dilakukan berdasarkan petunjuk dari prosedur reagensia atau kit yang digunakan. Analisis harus dilakukan secara terpisah untuk setiap gen target menggunakan pengaturan garis *threshold* (ambang batas) secara manual. Garis *threshold* harus disesuaikan agar berada di dalam rentang fase eksponensial pada kurva fluoresensi serta di atas sinyal *background* (latar belakang).



Gambar 5.22 Pengaturan garis *Threshold* untuk analisa hasil RT-PCR  
Sumber: Badan Litbangkes

Beberapa hal yang harus diperhatikan di dalam menganalisis hasil RT-PCR:

- a. Hasil NC harus negatif dan tidak menunjukkan kurva amplifikasi. Jika NC menunjukkan kurva amplifikasi, indikasi adanya kontaminasi. Segera lakukan pengulangan

penyiapan reagensia *master mix* dengan memperhatikan ketelitian dan keamanan kontrol kualitas reagensia.

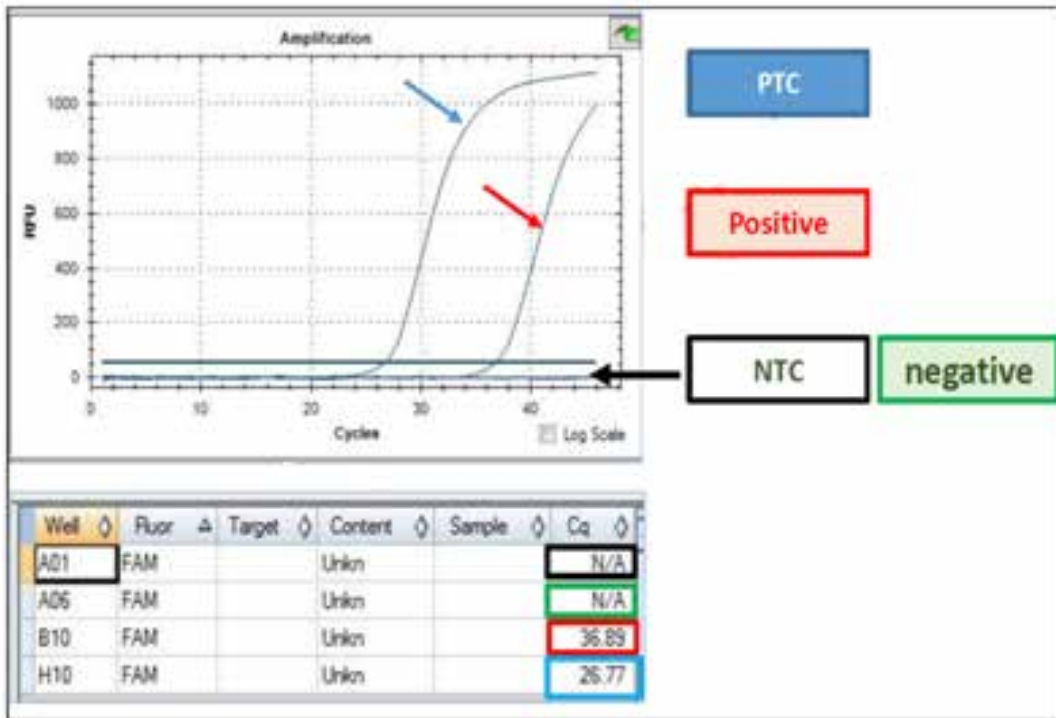
- b. Hasil PC menunjukkan kurva amplifikasi dengan rentang kisaran nilai Ct di antara 30—35 . Jika PC menunjukkan kurva amplifikasi nilai Ct >35 atau negatif segera lakukan pengulangan penyiapan reagensia *master mix* dengan memperhatikan ketelitian dan keamanan kontrol kualitas reagensia.
- c. Hasil RP menunjukkan kurva amplifikasi dengan nilai Ct <35, mengindikasikan adanya material genetik RNA dari spesimen manusia. Nilai RP menunjukkan bahwa proses asam nukleat dan pengambilan spesimen telah dilakukan dengan benar. Jika nilai RP negatif juga menunjukkan kemungkinan reagensia *mix* yang kurang baik.
- d. Sampel menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya kurva amplifikasi dengan nilai ct berdasarkan prosedur reagensia atau kit yang digunakan.
- e. Contoh interpretasi hasil rRT-PCR *singleplex* dengan protokol US CDC .:

Tabel 5.4 Interpretasi Hasil rRT-PCR dengan Protokol CDC

2019nCoV_N1	2019nCoV_N2	RP	Interpretasi Hasil
+	+	+	Positif SARS-CoV-2
+	-	+	<i>Inconclusive</i> : lakukan pemeriksaan ulang
-	+	+	Negatif SARS-CoV-2
-	-	-	Invalid

\**Cut off value* untuk nilai positif berbeda untuk setiap protokol.

\*Untuk Protokol US CDC, hasil dinyatakan positif bila Ct ≤ 40.



Gambar 5.23. Interpretasi hasil rRT-PCR *SINGLEPLEX*  
 Sumber: Badan Litbangkes

- f. Untuk analisis hasil real time RT-PCR *Multiplex*, pengaturan *threshold* dan pembacaan nilai Ct harus dilakukan untuk setiap *dye* fluoresensi sesuai dengan tiap-tiap protokol yang digunakan.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq
A04	Cy5		Unkn		28.02
A04	FAM		Unkn		27.51
A04	HEX		Unkn		26.90

Gambar 5.24. Pembacaan nilai Ct *Multiplex*  
 Sumber: Badan Litbangkes

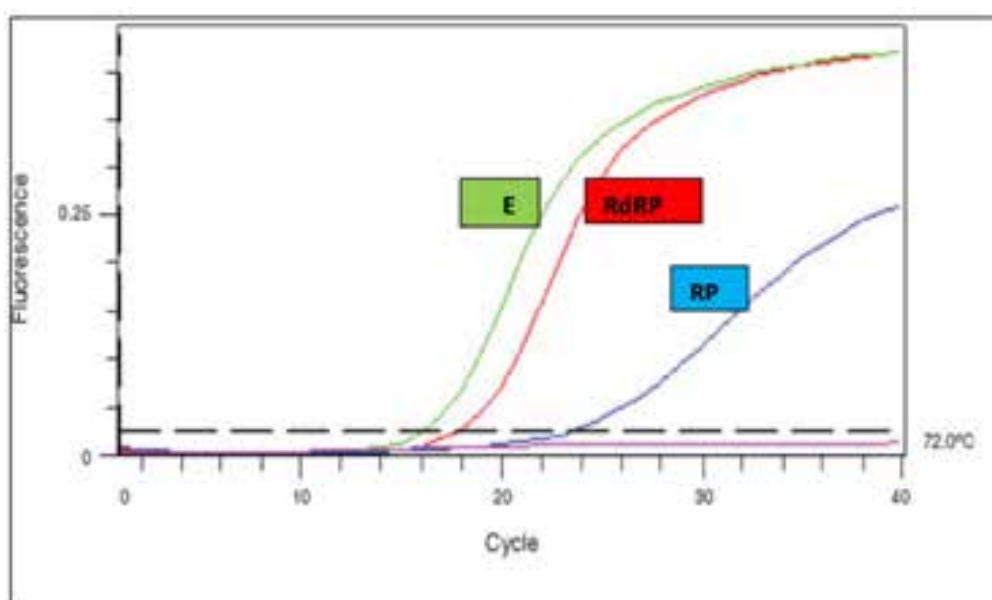
- g. Contoh interpretasi hasil real time RT-PCR dengan Real-Q 2019-nCoV detection Kit (*BioSewoom*)

Tabel 5.5 Interpretasi hasil rRT-PCR dengan protokol CDC

RdRP	E	RP	Interpretasi Hasil
+	+	+	Positif SARS-CoV-2
+	-	+	<i>Inconclusive</i> : lakukan pemeriksaan ulang
-	+	+	Negatif SARS-CoV-2
-	-	+	Negatif SARS-CoV-2
-	-	-	Invalid

\**Cut off value* untuk nilai positif berbeda untuk setiap protokol.

\*Berdasarkan Protokol Real-Q 2019-nCoV detection Kit ( BioSewoom), hasil dinyatakan positif SARS-CoV-2 bila Ct ≤ 38, RP gene Ct ≤ 35.



Gambar 5.25 Kurva amplifikasi positif untuk ketiga gen dalam satu sampel (RdRP = FAM, E = HEX, RP=Cy5)

Sumber: Badan Litbangkes

#### h. Hasil *Invalid* dan *inconclusive*

Pada pemeriksaan RT-PCR hasil tidak valid atau tidak dapat disimpulkan dapat disebabkan oleh hal-hal berikut:

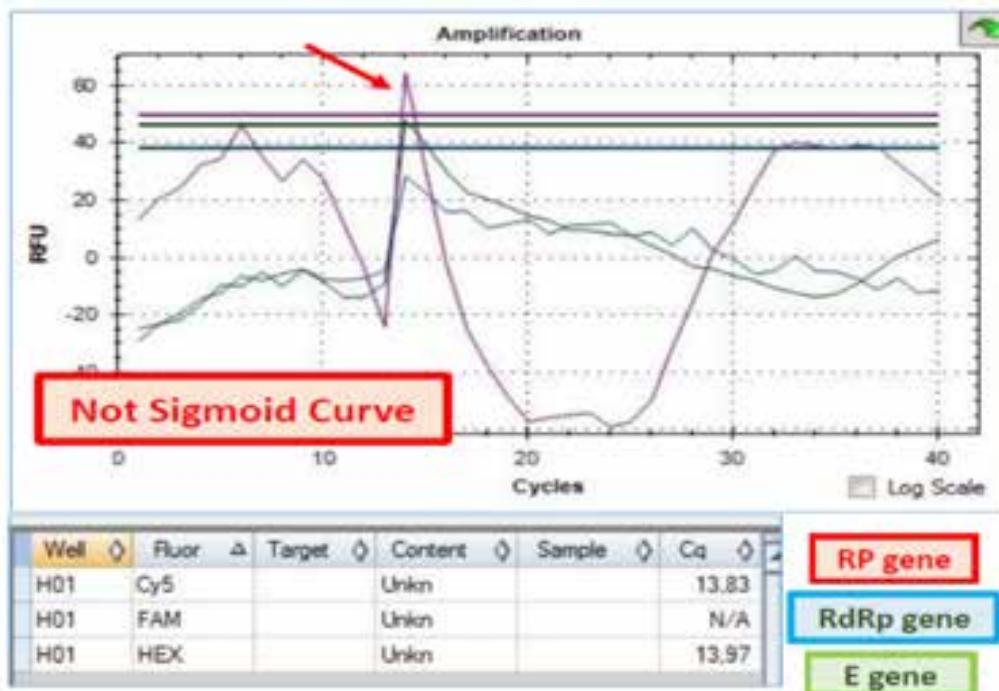
- Kurva yang terbentuk tidak berupa sigmoid walaupun nilai ct terbentuk dan memotong garis *threshold*.

Kurva amplifikasi normal harus berbentuk sigmoid yang menunjukkan adanya amplifikasi secara eksponensial. Untuk kasus ini, sebaiknya *threshold* diatur di atas kurva ini (jika memungkinkan).

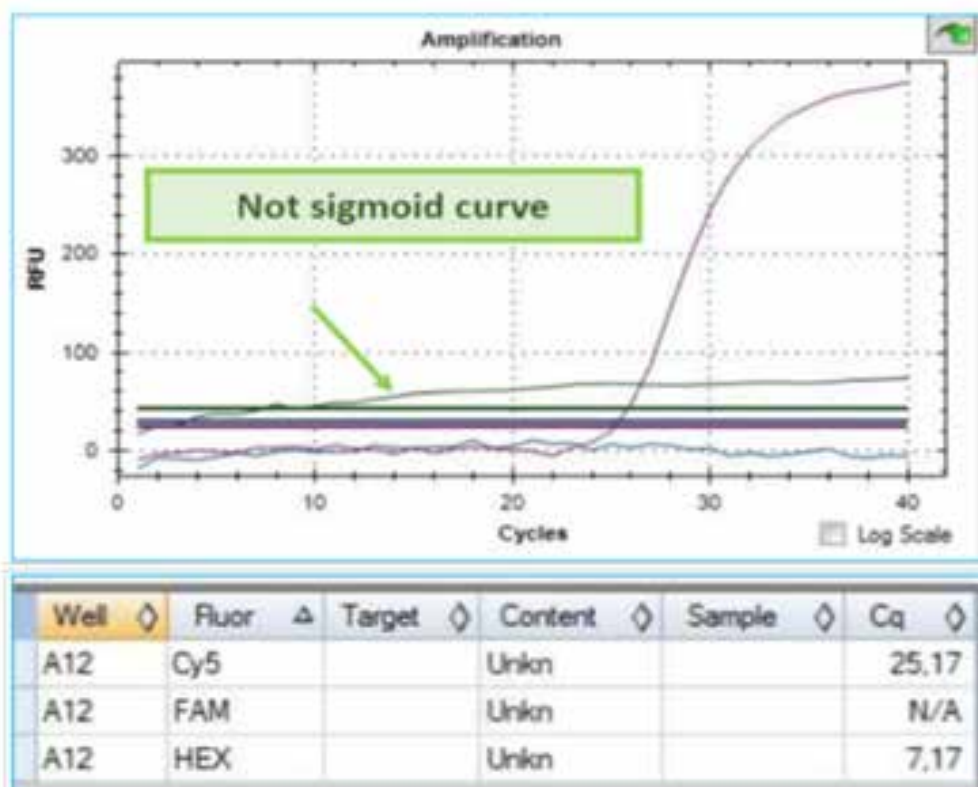
- Nilai RP negatif atau tidak ada kurva amplifikasi. Hal ini menunjukkan tidak adanya material genetik mengindikasikan pengambilan spesimen yang kurang baik. Hasil tidak valid bisa juga disebabkan oleh reagensia yang rusak, baik reagensia master mix maupun ekstraksi.
  - Nilai salah satu gen target negatif atau tidak ada kurva amplifikasi pada metode rRT-PCR *Multiplex*.
- i. Untuk lebih jelas dan ringkas, penyebab kegagalan RT-PCR dapat dilihat pada tabel dan gambar berikut ini.

Tabel 5.6 Penyebab Kegagalan rRT-PCR dan Masalahnya

Masalah	Kemungkinan penyebab
Tidak ada amplifikasi	Komposisi mastermix tidak optimal
	Suhu PCR tidak optimal
	Ada inhibitor
	Template RNA/DNA rusak
	Probe terdegradasi
Sinyal pada kontrol negatif	Kontaminasi
	Probe terdegradasi
	Primer Dimer
Sinyal terdeteksi terlalu awal	Konsentrasi template terlalu tinggi
	Probe terdegradasi
	Primer Dimer



Gambar 5.26 Contoh kurva NON-Amplifikasi (tidak sigmoid)  
 Sumber: Badan Litbangkes



Gambar 5.27 Contoh kurva non sigmoid  
 Sumber: Badan Litbangkes

Bab VI Materi Inti 4

---

# **PENCATATAN DAN PELAPORAN PEMERIKSAAN PCR COVID-19**



## **PENCATATAN DAN PELAPORAN PEMERIKSAAN PCR COVID-19**

### **Deskripsi Singkat**

Pencatatan dan pelaporan kasus terkait dengan Covid-19 harus menjadi alat komunikasi efektif antara petugas kesehatan baik di daerah maupun di pusat agar terjadi kesinambungan informasi dan upaya pengendalian kasus dapat tercapai. Oleh karena itu, sistem pencatatan dan pelaporan Covid- -19 harus dilaksanakan secara cepat, tepat, lengkap, dan valid sesuai dengan indikator kinerja surveilans kelengkapan dan ketepatan laporan. Salah satu unit yang melakukan pencatatan dan pelaporan Covid -19 adalah laboratorium pemeriksa PCR Covid -19. Laboratorium wajib melaporkan hasil pemeriksaan dalam waktu 1x24 jam ke Kementerian Kesehatan melalui aplikasi *Allrecord-tc19*.

### **Tujuan Umum**

Setelah mempelajari materi ini, peserta mampu melakukan pencatatan dan pelaporan pemeriksaan PCR Covid -19.

### **Tujuan Khusus**

Setelah mempelajari materi, peserta mampu

1. mengetahui formulir terkait penyelidikan epidemiologi;
2. melakukan pencatatan dan pelaporan menggunakan aplikasi *Allrecord-tc19*;
3. melakukan monitoring *Allrecord-tc19*.

## **Pokok Bahasan**

1. Formulir Penyelidikan Epidemiologi
2. Pencatatan dan Pelaporan Laboratorium Melalui Aplikasi *Allrecord-tc19*
3. Pemantauan (*Monitoring*) *Allrecord-tc19*

## **Uraian Materi**

### **Pokok Bahasan 1. Formulir Penyelidikan Epidemiologi**

Formulir penyelidikan epidemiologi (PE) digunakan untuk penyelidikan epidemiologi pada setiap kasus suspek, kasus *probable*, dan kasus konfirmasi Covid -19. Formulir PE terdiri atas lima bagian, yaitu

1. identitas pasien;
2. informasi klinik;
3. informasi pemeriksaan penunjang;
4. faktor riwayat perjalanan dan faktor kontak/paparan;
5. daftar kontak erat kasus.

Formulir PE diberikan kepada Dinas Kesehatan terkait.

A. IDENTITAS PASIEN			
Nama pasien	: ...	Kriteria* : <input type="checkbox"/> Suspek <input type="checkbox"/> Kasus probabel <input type="checkbox"/> Kasus konfirmasi <input type="checkbox"/> Kontak erat	
NIK	: ...		
Nama orang tua/ KK	: .....		
Tgl Lahir : ... / ... / ...	Umur : ... tahun, ... bulan	<input type="checkbox"/> Laki-laki <input type="checkbox"/> Perempuan	Pekerjaan :
Alamat (domisili)	Jalan/Blok : ... RT/RW : ... Desa/Kelurahan : ...	Kecamatan : ... Kabupaten/Kota : ... Telepon/HP : ...	
Longitude:		Latitude :	
B. INFORMASI KLINIS			
Tanggal pertama kali timbul gejala	: ...	Lemah (malaise)	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu
Demam _____ °C <input type="checkbox"/> Riwayat Demam		Nyeri otot	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu
Batuk	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu	Mual atau muntah	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu
Pilek	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu	Nyeri abdomen	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu
Sakit tenggorokan	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu	Diare	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu
Sesak napas	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu	Lainnya, sebutkan	
Sakit kepala	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu		
<b>Kondisi Penyerta :</b>			
Hamil	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk	Gangguan imunologi	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Diabetes	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk	Gagal ginjal Kronis	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Penyakit jantung	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk	Gagal Hati Kronis	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Hipertensi	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk	PPOK	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Keganasan	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk	Lainnya (sebutkan)	: ...
<b>Diagnosis</b>			
Pneumonia (Klinis atau Radiologi)	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu		
ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome)	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu		
Diagnosis Lainnya, sebutkan !	: ...		
Apakah pasien mempunyai diagnosis atau etiologi lain untuk penyakit pernafasannya? Jika Ya, sebutkan : .....	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu		

Apakah pasien dirawat di rumah sakit	: <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Bila Ya, Nama RS terakhir	: ...
Tanggal masuk RS terakhir	: ...
Ruang rawat	- dirawat di ICU : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Tindakan perawatan	- Intubasi : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
	- penggunaan EMCO **) : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk
Jika ada, nama-nama RS sebelumnya	: ...
Status pasien terakhir	: <input type="checkbox"/> selesai isolasi/Sembuh <input type="checkbox"/> Masih Sakit <input type="checkbox"/> Meninggal, tanggal : .....

### C. INFORMASI PEMERIKSAAN PENUNJANG

No.	Jenis Pemeriksaan / Spesimen	Pengambilan Spesimen I			Pengambilan Spesimen II		
		Tanggal pengambilan	Tempat Pemeriksaan	Hasil	Tanggal pengambilan	Tempat Pemeriksaan	Hasil
<b>Laboratorium konfirmasi</b>							
1.	Nasopharyngeal (NP) Swab						
2.	Oropharyngeal (NP) Swab						
3.	Sputum						
4.	Serum						
<b>Pemeriksaan Lain</b>							
1.	Darah						
2.	Serum						
3.	Lain, sebutkan						

D. FAKTOR RIWAYAT PERJALANAN				
Dalam 14 hari sebelum sakit, apakah memiliki riwayat perjalanan dari luar negeri ? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu				
Negara	Kota	Tgl Perjalanan	Tgl tiba di Indonesia	
Dalam 14 hari sebelum sakit, apakah memiliki riwayat perjalanan dari area transmisi lokal ? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu				
Provinsi	Kota	Tanggal perjalanan	Tgl tiba di tempat	
Dalam 14 hari sebelum sakit, apakah memiliki riwayat tinggal ke area transmisi lokal ? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu				
Provinsi		Kota		
Dalam 14 hari sebelum sakit, apakah memiliki kontak dengan kasus suspek/probable COVID-19 : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu				
Nama	Alamat	Hubungan	Tgl Kontak Pertama	Tgl Kontak Terakhir

D. FAKTOR KONTAK/PAPARAN (lanjutan)						
Dalam 14 hari sebelum sakit, apakah memiliki kontak erat dengan kasus konfirmasi dan probable COVID-19 : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu						
Nama	Alamat	Hubungan	Tgl Kontak Pertama	Tgl Kontak Terakhir		
Apakah pasien termasuk cluster ISPA berat (demam dan pneumonia membutuhkan perawatan Rumah Sakit) yang tidak diketahui penyebabnya? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu						
Apakah pasien memiliki hewan peliharaan? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu Jika Ya sebutkan: <input type="checkbox"/> anjing <input type="checkbox"/> kucing <input type="checkbox"/> hewan lain, sebutkan...						
Apakah pasien seorang petugas kesehatan? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk <input type="checkbox"/> Tdk Tahu						
Jika Ya, alat pelindung diri (APD) apa yang dipakai saat melakukan perawatan pada pasien suspek/probabel/konfirmasi? <input type="checkbox"/> Gown <input type="checkbox"/> Masker medis <input type="checkbox"/> Sarung tangan <input type="checkbox"/> Masker NIOSH- N95, AN EU STANDARD FFP2 <input type="checkbox"/> FFP3 <input type="checkbox"/> Kacamata pelindung (goggle) <input type="checkbox"/> Tidak memakai APD						
Apakah melakukan prosedur yang menimbulkan aerosol? : <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tdk, sebutkan ....						
<u>Lain-lain, sebutkan</u>						
E. DAFTAR KONTAK ERAT KASUS**						
Nama	Umur	Jenis Kelamin	Hub. dg Kasus	Alamat rumah	No HP/telp yang dapat dihubungi	Aktifitas kontak yang dilakukan

Gambar 6.1 Formulir penyelidikan epidemiologi  
Sumber: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020

## Pokok Bahasan 2. Pencatatan dan Pelaporan Laboratorium melalui Aplikasi *Allrecord-tc19*

Seluruh fasilitas kesehatan yang terlibat dalam melakukan pemeriksaan uji RT-PCR SARS-CoV-2 diwajibkan melaporkan hasil pemeriksaan dalam waktu 1x24 jam ke Kementerian Kesehatan melalui aplikasi *Allrecord-tc19*. Hal itu berlaku, baik fasilitas

pelayanan kesehatan yang melakukan pengambilan dan pengiriman spesimen di lingkungan wilayah puskesmas, klinik dan rumah sakit maupun fasilitas kesehatan yang merupakan laboratorium pemeriksa di lingkungan laboratorium rumah sakit atau laboratorium pemeriksa lainnya.

Laboratorium rumah sakit yang ditunjuk untuk melakukan pemeriksaan Covid-19 dengan menggunakan alat TCM Tuberkulosis melaporkan hasil pemeriksaan dan penggunaan reagensinya melalui sistem informasi Tuberkulosis (SITB) dan melengkapi register pemeriksaan laboratorium. Laboratorium pemeriksaan Covid-19 yang menggunakan alat RT-PCR melaporkan hasil pemeriksaan dan penggunaan reagensinya sesuai dengan alur pelaporan RT-PCR dan mengirimkan laporan pemanfaatan yang meliputi kondisi alat dan ketersediaan reagen.

### Proses Pencatatan *Allrecord-tc19*



Proses pencatatan data Covid-19 melalui aplikasi allrecord tc-19 dimulai dari faskes pengambil dan pengirim spesimen yang berkewajiban memasukkan data identitas pasien dan riwayat pengambilan spesimen. Setelah faskes pengambil spesimen memasukkan data, data tersebut dapat dicetak dan akan dikirimkan bersama spesimen ke laboratorium pemeriksa. Sebelum dilakukan penginputan hasil, laboratorium akan memverifikasi kecocokan data yang ada dalam *form* pengantar yang dikirim faskes pengambil spesimen dan data yang ada di aplikasi allrecord-tc19.

## A. Entry Data Pasien oleh Fasyankes

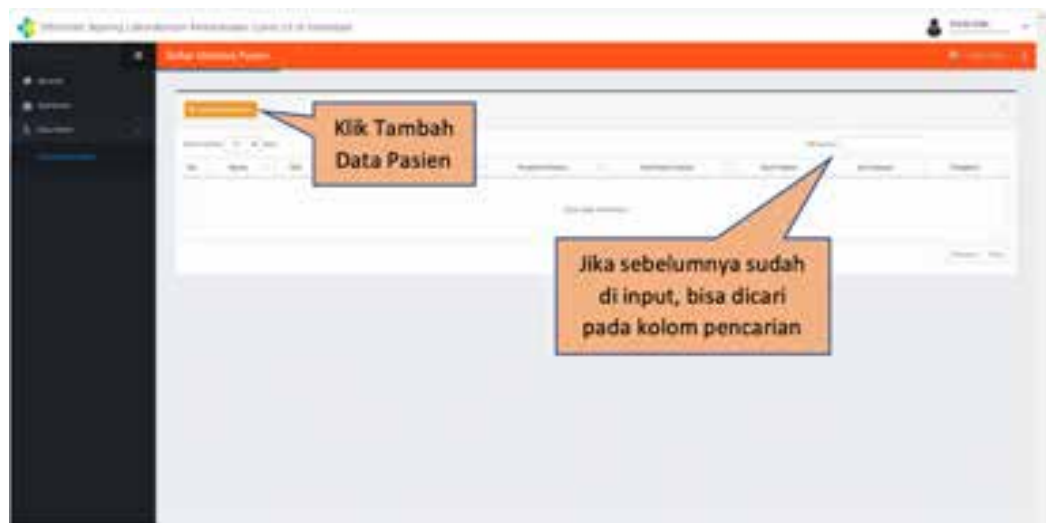
1. Masukkan *username* dan *password*.



2. Pada menu, pilih **Data Pasien**



### 3. Klik Tambah Data Pasien



### 4. Isi data pasien



- Bila data
- Bila data pasien sudah ada dalam SIRS daring (*online*), informasi data identitas pasien sebagian akan terisi otomatis. Isi informasi yang masih kosong kemudian klik simpan dan dilanjutkan dengan mengisi *Form Riwayat pengambilan Spesimen*.
- Bila data pasien tidak ada di SIRS daring (*online*), data bisa ditambah manual. Isikan seluruh data yang

dibutuhkan kemudian klik simpan dan dilanjutkan dengan mengisi *Form* Riwayat pengambilan Spesimen.

- Bila data pasien tidak ada di SIRS daring (*online*), dan saat ditambah manual difokan bahwa NIK sudah terpakai, lakukan pencarian dengan mengeklik tombol Cari Data yang ada dalam *Database* kemudian lengkapi informasi yang kosong, klik simpan dan dilanjutkan dengan mengisi *Form* Riwayat pengambilan Spesimen.
- Untuk melakukan penginputan pengambilan spesimen kedua dan seterusnya, lakukan pencarian dengan mengeklik tombol cari data dari *database* yang sudah tersimpan kemudian masukan NIK, klik tombol pilih dan dilanjutkan dengan mengisi *form* Riwayat Pengambilan spesimen
- Pencarian data pasien dari faskes RS dapat dilakukan dengan memasukkan data provinsi, NIK atau nama.
- Pada pengisian data manual jika pasien tidak memiliki NIK, NIK diisi dengan  
4 digit pertama isikan 9999  
2 digit selanjutnya kode provinsi  
2 digit selanjutnya kode kabupaten kota  
2 digit selanjutnya kode kecamatan  
1 digit selanjutnya jenis kelamin (1= laki-laki, 2= perempuan)  
5 digit berikutnya bebas(acak)  
Untuk NIK buatan yang sudah terisi di aplikasi, tidak perlu diubah kembali.  
Kode daerah dapat diunduh pada link <https://www>.

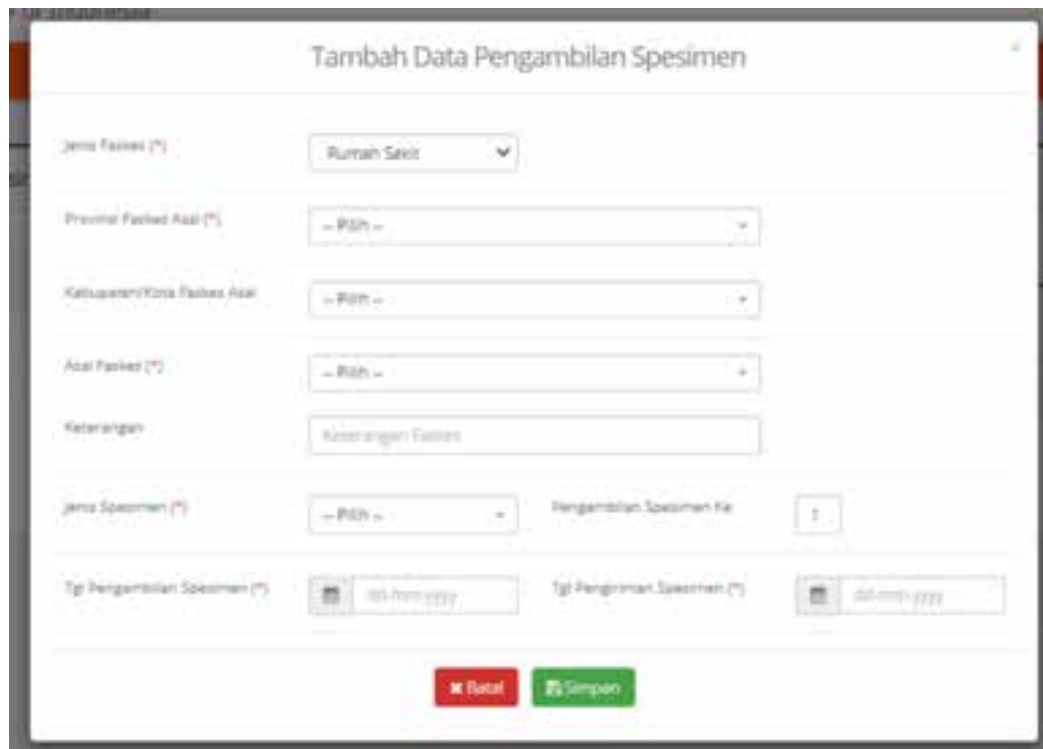
kemendagri.go.id/media/filemanager/2013/05/28/b/u/  
buku\_induk\_kode\_data\_dan\_wilayah\_2013.pdf

- Untuk pengisian tanggal gejala pada pasien tanpa gejala maka tanggal gejala diisi dengan tanggal pengambilan spesimen.

## 5. Klik Tambah Riwayat Pengambilan Spesimen.



## 6. Isi data riwayat pengambilan spesimen.

A screenshot of a web application form titled "Tambah Data Pengambilan Spesimen". The form contains several input fields and dropdown menus. The fields are: "Jenis Fasilitas (\*)" with a dropdown menu showing "Rumah Sakit"; "Provinsi Fasilitas Asal (\*)" with a dropdown menu showing "-- Pilih --"; "Kabupaten/Kota Fasilitas Asal" with a dropdown menu showing "-- Pilih --"; "Asal Fasilitas (\*)" with a dropdown menu showing "-- Pilih --"; "Keterangan" with a text input field containing "Keterangan Fasilitas"; "Jenis Spesimen (\*)" with a dropdown menu showing "-- Pilih --"; "Pengambilan Spesimen Ke" with a dropdown menu showing "1"; "Tgl Pengambilan Spesimen (\*)" with a date input field showing "dd/mm/yyyy"; and "Tgl Pengiriman Spesimen (\*)" with a date input field showing "dd/mm/yyyy". At the bottom of the form, there are two buttons: "Batal" (red) and "Simpan" (green).

Jika pada jenis faskes (nama faskes) tidak ditemukan pada RS daring (*online*), ubah jenis faskes menjadi Dinas Kesehatan kemudian ketikkan nama faskes pada kolom keterangan.

7. Klik Data Pasien. Data Pasien yang sudah diinput akan tampil pada layar. Pada sebelah kanan data pasien terdapat kolom Tindakan yang berisi “*print, edit, lihat dan hapus*”. Bila data pasien sudah benar, lakukan *print* (cetak). Hasil cetakan (*print*) data pasien disertakan bersama pada saat pengiriman spesimen ke laboratorium pemeriksa.

**Data pasien tidak bisa dihapus dan data Spesimen tidak bisa dihapus dan diedit apabila sudah diverifikasi oleh laboratorium pemeriksa.**



8. Proses *entry* data pasien dan *entry* Riwayat pengambilan spesimen selesai.

## B. Entri Data Laboratorium Pemeriksa yang Menerima Spesimen dari Fasyankes

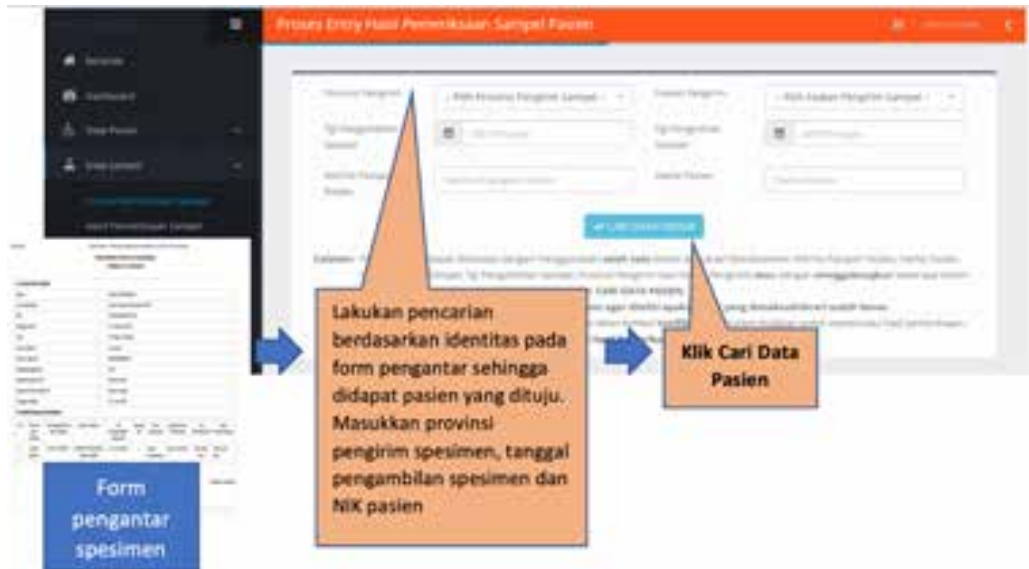
1. Masukkan *username* dan *password*.



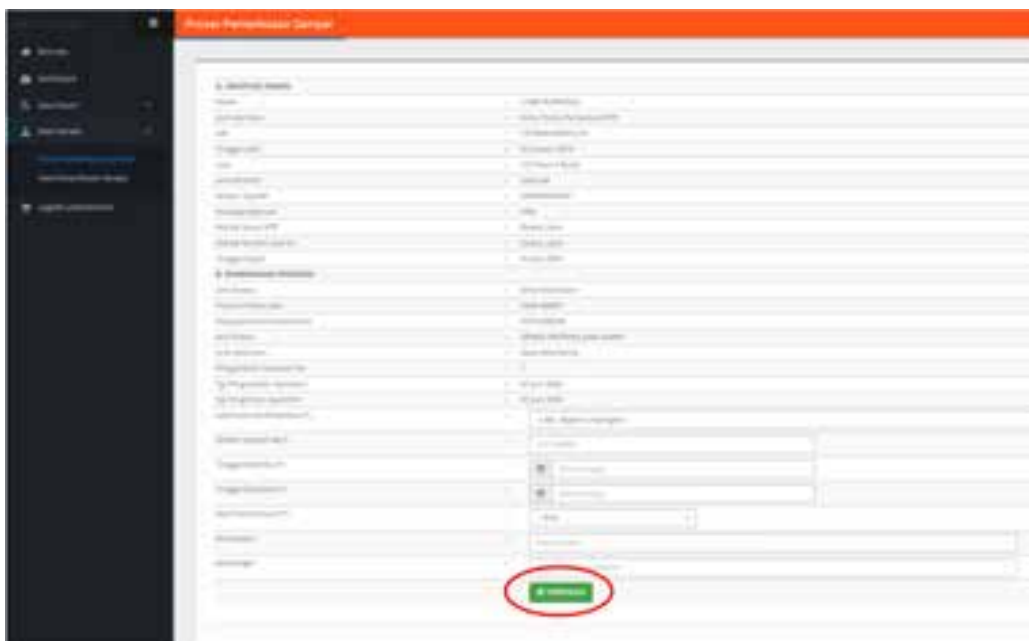
2. Pada menu, pilih **Data Sampel**



3. Klik **Proses Pemeriksaan Sampel**. Lakukan pencarian berdasarkan identitas pada *form* pengantar sehingga didapat pasien yang dituju dan klik verifikasi.



4. Lakukan pencocokan data kembali, apakah sama data yang di aplikasi dengan data pada *form* pengantar. Bila data sudah cocok, masukkan Nomor Sampel Lab, Tanggal Diterima, Tanggal Diperiksa, Hasil Pemeriksaan, Simpulan dan Keterangan. Untuk kolom yang lain, otomatis akan terisi sendiri kemudian klik verifikasi.



5. Proses entri hasil pemeriksaan selesai.

### **C. Entri Data Laboratorium jika Pasien Langsung Datang ke Laboratorium Pemeriksa**

1. Proses entri data pasien sama dengan yang dilakukan oleh fasyankes.
2. Setelah data pasien terisi, lanjutkan dengan proses “Riwayat pengambilan spesimen”.
3. Setelah selesai proses “Riwayat pengambilan spesimen” lanjutkan “verifikasi” untuk mengisi hasil pemeriksaan spesimen.
4. Proses entri selesai.

### **Pokok Bahasan 3. Monitoring Allrecord-tc19**

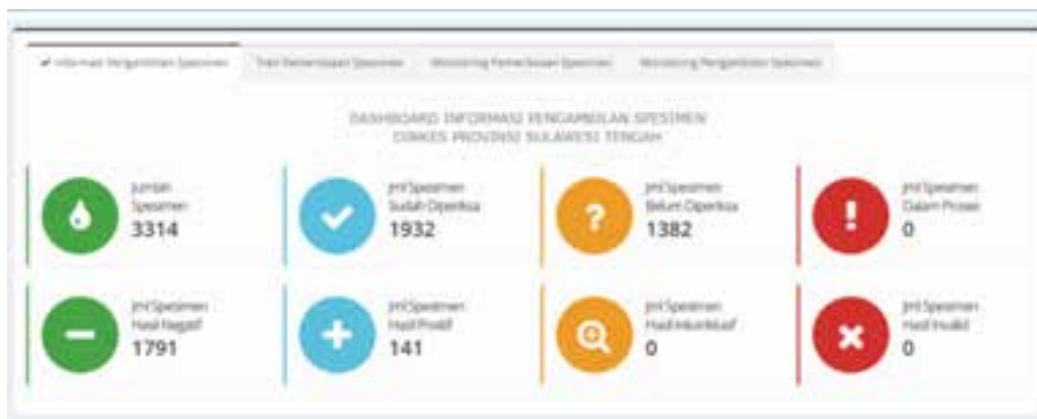
Balitbangkes sebagai laboratorium rujukan nasional untuk pemeriksaan PCR Covid-19 melakukan pemantauan (*monitoring*) terhadap pengisian hasil pemeriksaan yang dilakukan oleh laboratorium pemeriksaan PCR Covid-19. Selain untuk memastikan pengisian data tersebut, pemantauan (*monitoring*) juga dilakukan untuk melihat kapasitas laboratorium.

Pada aplikasi allrecord TC19 ini Dinas Kesehatan wilayah setempat, baik Dinas Kesehatan Kab/Kota maupun Dinas Kesehatan Provinsi telah disediakan menu untuk memonitor wilayahnya baik untuk memonitor pengambilan spesimen dan memonitor hasil pemeriksaan spesimen yang telah diinput oleh fasilitas kesehatan pengirim spesimen dan laboratorium pemeriksa spesimen.

## 1. Masukkan *Username* dan *Password*



## 2. Menu *Dashboard* Informasi Pengambilan Spesimen



### 3. Menu Dashboard Tren Pemeriksaan Spesimen



### 4. Menu Dashboard Monitoring Pemeriksaan Spesimen

No.	Nama Laboratorium Pemeriksa	Hasil Pemeriksaan					Total
		Positif	Negatif	Tidak Berkah	Tidak	Dalam Proses	
1.	Rudat-Ilirunggan	0	0	0	0	0	0
2.	DIAA Makassar	10	0	0	0	0	10
3.	PTSDP Makassar	0	0	0	0	0	0
4.	PTSDP Makassar	0	0	0	0	0	0
5.	Labs. RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
6.	Labs. RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	10	100	0	0	0	110
7.	Labs. RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
8.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
9.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
10.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
11.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
12.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
13.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
14.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
15.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
16.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
17.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
18.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
19.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
20.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
21.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
22.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
23.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
24.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
25.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
26.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
27.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
28.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
29.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
30.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
31.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
32.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
33.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
34.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
35.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
36.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
37.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
38.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
39.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
40.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
41.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
42.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
43.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
44.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
45.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
46.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
47.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
48.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
49.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
50.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
51.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
52.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
53.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
54.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
55.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
56.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
57.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
58.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
59.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
60.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
61.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
62.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
63.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
64.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
65.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
66.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
67.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
68.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
69.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
70.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
71.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
72.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
73.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
74.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
75.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
76.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
77.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
78.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
79.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
80.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
81.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
82.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
83.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
84.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
85.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
86.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
87.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
88.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
89.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
90.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
91.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
92.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
93.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
94.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
95.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
96.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
97.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
98.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
99.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
100.	RS Dr. Soetomo Gunglir Kota Makassar	0	0	0	0	0	0
Total	141	1.791	0	0	0	1.932	

### 5. Menu Detail Data Pasien

No.	No. Revisi	No. Pasien	Nama Pasien	Alamat Pasien	Tempat Kerja	Tempat Tinggal	Tempat Kerja	Tempat Tinggal	Tempat Kerja	Tempat Tinggal	Tempat Kerja	Tempat Tinggal
1.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

## 6. Menu Dashboard Monitoring Pengambilan Spesimen

No.	Nama Fasilitas Pengambil Spesimen	Jumlah Spesimen	Jumlah Spesimen Sudah Diperiksa (Kasif Laki)					Jumlah Spesimen Belum Diperiksa	
			Positif	Negatif	Infeksi	Invalid	Dalam Proses		Total
1.	RSUD Umat	100	4	43	0	0	0	47	51
2.	RSUD Monwal	250	0	101	0	0	0	101	149
3.	RSUD Madani Tebu	90	2	29	0	0	0	29	61
4.	RS Umum Daerah Tikuara Salakan	66	0	7	0	0	0	7	59
5.	RS Umum Daerah Toba Bato	47	1	20	0	0	0	20	27
6.	RS Umum Daerah Popy	205	1	100	0	0	0	100	104

Bab VII Materi Inti 5

---

# **KENDALI MUTU PEMERIKSAAN PCR COVID-19**



## KENDALI MUTU PEMERIKSAAN PCR COVID-19

### Deskripsi Singkat

Jaminan mutu merupakan kegiatan yang dilakukan oleh laboratorium untuk pencegahan dan pengawasan dalam pemeriksaan dan dilakukan secara rutin. Dengan melakukan program jaminan mutu, kesalahan yang terjadi dan penyebab timbulnya kesalahan tersebut dapat segera diketahui, sehingga dapat diupayakan tindakan perbaikan yang cepat dengan langkah yang tepat agar kesalahan tersebut tidak terulang kembali. Dengan demikian, laboratorium tersebut dapat memberikan jaminan mutu hasil pemeriksaan laboratoriumnya dan hasil pemeriksaan akurat dan dapat dipercaya sepenuhnya (WHO, 2011). Untuk kualitas pemeriksaan yang benar, jaminan dan kontrol kualitas sangat penting. Pemeriksaan yang dilakukan secara salah, lebih buruk daripada pemeriksaan yang tidak dilakukan. Pemantapan mutu pemeriksaan laboratorium dilakukan secara internal dan eksternal. Pengendalian mutu yang dilakukan secara internal disebut dengan Pemantapan Mutu Internal (PMI), dan yang dilakukan secara eksternal disebut dengan Pemantapan Mutu Eksternal (PME) (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

### Tujuan Umum

Setelah mempelajari materi, peserta mampu melakukan kendali mutu pemeriksaan PCR COVID-19.

## **Tujuan Khusus**

Setelah mempelajari materi peserta mampu

1. menjelaskan sistem manajemen mutu.
2. melakukan Pemantapan Mutu Internal (PMI).
3. melakukan Pemantapan Mutu Eksternal (PME).

## **Pokok Bahasan**

1. Sistem Manajemen Mutu
2. Pemantapan Mutu Internal (PMI)
3. Pemantapan Mutu Eksternal (PME)

## **Uraian Materi**

### **Pokok Bahasan 1. Sistem Manajemen Mutu**

Sistem manajemen mutu dapat didefinisikan sebagai “kegiatan terkoordinasi untuk mengarahkan dan mengendalikan organisasi terkait dengan kualitas”. Dalam sistem manajemen mutu, semua aspek operasi laboratorium, termasuk struktur organisasi, proses, dan prosedur perlu ditangani untuk memastikan mutu yang baik agar hasil pemeriksaan akurat dan terpercaya (WHO, 2011).



Gambar 7.1 Elemen penting sistem manajemen mutu  
Sumber: WHO, 2011

Sistem manajemen mutu laboratorium terdiri atas 12 elemen penting (WHO, 2011), yaitu sebagai berikut.

1. Organisasi

Organisasi adalah kepemimpinan atau tanggung jawab untuk menentukan dan mengatur seluruh sistem. Sistem jaminan mutu harus berawal dari organisasi. Untuk memastikan keseluruhan mutu laboratorium, organisasi harus

- a. membuat kebijakan dan standar mutu;
- b. memanfaatkan sumber daya yang cukup untuk memenuhi kebutuhan mutu;

- c. mendefinisikan peran dan tanggungjawab dengan jelas; dan
- d. menciptakan budaya berkomitmen terhadap mutu.

## 2. Staf

Staf merupakan bagian terpenting di dalam sistem jaminan mutu laboratorium karena staf berhubungan dengan semua komponen. Untuk mencapai mutu laboratorium yang baik, kita harus mempunyai orang yang tepat untuk pekerjaan yang tepat, bermotivasi, dan berkompeten tinggi. Pertimbangkan

- Perencanaan sumber tenaga  
Kemampuan apa yang Anda butuhkan? Berapa banyak orang yang Anda butuhkan? Kapan anda membutuhkan mereka?
- Penggajian  
Berapa gaji yang cocok untuk mereka? Hal ini harus dimulai dengan deksripsi pekerjaan yang jelas mencakup kewajiban, tanggung jawab, dan keterampilan yang dibutuhkan.
- Retensi  
Apa yang Anda rencanakan untuk membuat staf Anda betah ketika mereka bekerja? Bagaimana Anda akan menghadapi masalah tentang pergantian staf yang tinggi?
- Pengawas  
Pengawas sangat dibutuhkan karena mereka dapat menyosialisasikan pengharapan, menjadi anutan, memberikan umpan balik, dan memotivasi staf. Mereka memastikan staf mendapatkan dukungan, yang meliputi informasi, peralatan, dan konsultasi pemecahan masalah.

- **Pelatihan**  
Sebelum bekerja, staf harus berorientasi diri dengan kebijakan dan kegiatan teknis karena pergantian staf sering terjadi, pelatihan dibuat untuk memutakhirkan keterampilan staf. Penilaian kompetensi di awal dan sewaktu bekerja dibutuhkan untuk melihat kemampuan staf.

Memastikan pekerjaan staf yang prima termasuk pencapaian tujuan, umpan balik, penghargaan dan pengukuran peningkatan.

### 3. Perlengkapan

Laboratorium pemeriksa PCR Covid-19 harus memastikan perlengkapan yang digunakan sudah tepat dan dipakai secara optimal. Hal ini dapat dicapai dengan cara berikut:

- a. memilih perlengkapan yang tepat; kontrak pengadaan alat mencakup pemasangan dan kalibrasi; pengecekan teratur; dan pelatihan mengoperasikan perlengkapan;
- b. menyusun mekanisme pemeliharaan yang teratur dan rutin untuk memastikan pelayanan tidak terputus dan memperpanjang masa kerja perlengkapan;
- c. memastikan tenaga ahli tersedia untuk memperbaiki kerusakan;
- d. menyimpan persediaan suku cadang dari peralatan yang sering rusak;
- e. membuat prosedur pemecahan masalah;
- f. membuat buku harian (*logbook*) tentang catatan pemeliharaan dan meninjau catatan secara berkala;
- g. memastikan perlengkapan dengan tepat. Hal ini mencakup bagaimana menemukan sinyal kerusakan,

menyingkirkan bagian yang rusak dan menyelamatkan bagian yang masih dapat digunakan.

#### 4. Pengadaan dan Inventarisasi

Pengadaan biasanya ditangani melalui pengadaan terpusat dan proses inventarisasi. Staf laboratorium harus terlibat selama proses penentuan kriteria kebutuhan alat dan perlengkapan.

Pengadaan dan inventarisasi mencakup hal berikut ini:

- a. menentukan kriteria alat dan layanan yang akan diadakan
- b. menentukan sistem penerimaan, pengawasan, penyimpanan alat
- c. memelihara inventarisasi.
- d. membangun sistem yang menghubungkan alat yang diperlukan dengan pasien, kegiatan, atau pencatatan yang tepat. Hal ini penting pada kejadian saat ada pemberitahuan dari pabrik atas adanya masalah potensial pada nomor lot kit tertentu. Anda akan mengetahui nomor lot yang digunakan jika informasi tercatat.

#### 5. Proses Kontrol

Proses kontrol mengacu kepada kegiatan dan teknik untuk memastikan

- a. prosedur pemeriksaan sudah dijalankan dengan benar
- b. lingkungan yang cocok untuk hasil pemeriksaan terpercaya; dan
- c. peralatan pemeriksaan bekerja seperti yang diharapkan untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang akurat dan terpercaya.

Proses pengawasan menitikberatkan semua aspek dari kegiatan laboratorium tidak sekadar prosedur pemeriksaan.

Contohnya:

- a. Metode pemeriksaan dievaluasi dengan tepat.
- b. Lokasi pemeriksaan mempunyai *Standard Operating Procedure* (SOP) terbaru.
- c. Setiap staf mengikuti SPO yang tertulis secara tepat.
- d. Spesimen dikumpulkan, diproses, dikirim, dan dibuang dengan tepat.
- e. Kontrol mutu dilakukan dan diawasi.

## 6. Dokumen dan Pencatatan

Dokumen dan pencatatan bisa berbentuk kertas atau komputer. Tanpa memandang bentuk pencatatan, sistem harus ditentukan meliputi hal berikut ini:

- a. membuat fomulir yang standar;
- b. mengatur revisi, penyetujuan dan pengiriman dokumen;
- c. mengatur rekam medik pasien; serta
- d. memelihara penyimpanan, pengambilan kembali, dan penghancuran dokumen.

## 7. Pengaturan Informasi

Pengaturan informasi mengacu kepada kegiatan:

- a. mengatur informasi yang masuk dan keluar;
- b. menentukan pengumpulan informasi yang standar;
- c. memastikan kerahasiaan informasi pasien.

Kegiatan ini dapat menggunakan komputer. Jika komputer digunakan, staf harus dilatih menggunakan komputer.

## 8. Pengaturan Kejadian

Pengaturan kejadian berkaitan dengan masalah dan kesalahan laboratorium ketika hal ini terjadi. Anda harus mencatat semua keadaan yang terkait dengan kesalahan atau masalah yang terjadi dan membicarakan tindakan yang akan dilakukan dengan orang yang mengalami peristiwa tersebut. Informasi ini berguna untuk orang yang menjalankan pemeriksaan, dan untuk pasien atau dokter.

## 9. Penilaian

Penilaian adalah pemeriksaan dan pemantauan (*monitoring*) periodik kegiatan laboratorium terhadap standar. Penilaian melibatkan evaluasi eksternal dan internal. Hal itu merupakan evaluasi periodik terhadap diri sendiri untuk kegiatannya jika dibandingkan dengan persyaratan mutu merupakan latihan yang baik. Setiap kekurangan yang ditemukan dapat segera ditangani. Ada dua tipe penilaian atau evaluasi eksternal:

- Fasyankes pemeriksaan dapat dimonitor secara rutin dalam bentuk kunjungan supervisi.
- Penilaian eksternal bisa dilakukan oleh lembaga luar untuk tujuan akreditasi. Hal ini biasa dikerjakan oleh lembaga independen untuk penilaian yang obyektif sesuai dengan persyaratan mutu yang telah dibuat atau standar yang telah diterbitkan.

## 10. Perbaiki Proses

Perbaiki proses merujuk pada kegiatan yang didesain untuk mengidentifikasi dan mengeliminasi penyebab mutu yang kurang baik (buruk), dan untuk menurunkan hal-hal yang

tidak berguna serta meningkatkan efisiensi melalui eliminasi kegiatan yang tidak berguna.

#### 11. Layanan Pelanggan

Konsep layanan pelanggan sering diabaikan dalam praktik laboratorium. Namun, penting untuk dicatat bahwa laboratorium adalah organisasi layanan. Oleh karena itu, sangat penting bahwa klien laboratorium menerima apa yang mereka butuhkan. Laboratorium harus memahami siapa pelanggannya, dan harus menilai kebutuhan mereka dan menggunakan umpan balik pelanggan untuk melakukan perbaikan.

#### 12. Fasilitas dan Keselamatan

Banyak faktor yang harus menjadi bagian dari manajemen mutu fasilitas dan keselamatan, seperti berikut ini:

- a. keamanan: proses mencegah risiko dan bahaya yang tidak diinginkan memasuki ruang laboratorium;
- b. penahanan: upaya meminimalkan risiko dan mencegah bahaya yang dapat terjadi dilaboratorium dan membahayakan masyarakat;
- c. keselamatan: mencakup kebijakan dan prosedur untuk mencegah bahaya bagi pekerja, pengunjung, dan masyarakat;
- d. ergonomi: adaptasi fasilitas dan peralatan untuk memungkinkan kondisi kerja yang aman dan sehat di lokasi laboratorium.

## **Pokok Bahasan 2. Pemantapan Mutu Internal (PMI)**

Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh tiap-tiap laboratorium secara

terus-menerus agar tidak terjadi atau mengurangi kesalahan atau penyimpangan sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat. Pemantapan mutu internal laboratorium (PMI) dilakukan untuk mengendalikan hasil pemeriksaan laboratorium setiap hari dan untuk mengetahui penyimpangan hasil laboratorium agar segera diperbaiki. Manfaat melaksanakan kegiatan pemantapan mutu internal laboratorium, antara lain, adalah mutu presisi dan akurasi hasil laboratorium akan meningkat, kepercayaan dokter terhadap hasil laboratorium akan meningkat. Hasil laboratorium yang kurang tepat akan menyebabkan kesalahan dalam penatalaksanaan pengguna laboratorium. Manfaat lain adalah pimpinan laboratorium akan mudah melaksanakan pengawasan terhadap hasil laboratorium. Kepercayaan yang tinggi terhadap hasil laboratorium ini akan membawa pengaruh pada moral petugas laboratorium yang akan meningkatkan disiplin kerja di laboratorium tersebut (Kementerian Kesehatan, 2018).

Tahapan pemantapan mutu internal terdiri atas

1. tahap praanalitik,
2. tahap analitik, dan
3. tahap pascaanalitik.

Tujuan:

Tujuannya adalah sebagai berikut:

1. memantapkan dan menyempurnakan metode pemeriksaan dengan mempertimbangkan aspek analitik dan klinis;
2. meningkatkan kesiagaan tenaga, sehingga pengeluaran hasil yang salah tidak terjadi dan perbaikan kesalahan dapat dilakukan segera;
3. memastikan bahwa semua proses mulai persiapan pasien, pengambilan, pengiriman, penyimpanan dan pengolahan

- spesimen sampai dengan pencatatan dan pelaporan telah dilakukan dengan benar;
4. mendeteksi kesalahan dan mengetahui sumbernya; dan
  5. membantu perbaikan pelayanan melalui peningkatan mutu pemeriksaan.

### **Pokok Bahasan 3. Pemantapan Mutu Eksternal (PME)**

Pemantapan Mutu Eksternal (PME) adalah kegiatan pemantapan mutu yang diselenggarakan secara periodik oleh pihak lain di luar laboratorium yang bersangkutan untuk memantau dan menilai kinerja suatu laboratorium di bidang pemeriksaan tertentu.

Kegiatan PME Covid-19 meliputi hal berikut ini.

#### **1. Uji Validasi**

Uji Validasi dilakukan dengan mengirimkan spesimen ke Laboratorium Rujukan Nasional Covid -19 (Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Balitbangkes, Kementerian Kesehatan, 2020). Spesimen klinik yang dikirimkan adalah spesimen nasofaring/orofaring dan sputum. Laboratorium pemeriksa PCR Covid -19 dengan metode RT-PCR mengirimkan 10 (sepuluh) spesimen klinik negatif dan 20 (dua puluh) spesimen klinik positif. Sementara itu, untuk laboratorium yang melakukan pemeriksaan Covid -19 yang menggunakan Tes Cepat Molekular (TCM) diharapkan mengirimkan 5 (lima) spesimen klinik positif dan 10 (sepuluh) spesimen negatif. Spesimen klinik yang dikirimkan disertai dengan formulir pemantapan mutu eksternal. Proses pengiriman spesimen sebaiknya dikirimkan setelah mencapai 30 atau 20 spesimen. Akan tetapi, jika tidak bisa atau ada kondisi tertentu, dapat dikirim sejumlah spesimen yang ada.

## Rincian Instruksi Kerja Uji Validasi Spesimen

### a. Bahan

- Spesimen Swab Covid -19 positif dan negatif

### b. Peralatan Kerja

- 1) Alat Pelindung Diri (Jas Lab/Apron, Kacamata/Goggle, Sarung Tangan, Masker N95)
- 2) Formulir Uji Validasi
- 3) Vial/Tabung Ulir luar (terbuat dari Plastik)
- 4) Disinfektan (Alkohol 70% dan atau Hipoklorit 1%)
- 5) Wadah Pembuangan Limbah

### c. Pelaksana

- Laboratorium Jejaring Pemeriksa COVID-19

### d. Tahapan Kerja

#### 1) Persiapan

- a) Siapkan peralatan kerja yang hendak dipakai.
- b) Gunakan pakaian pelindung sepertijas lab, sarungtangan, dan masker N95.
- c) Semua proses dilakukan pada *Biosafety Cabinet* kelas II.A

#### 2) Pengisian Form PME

- a) Semua data yang diperlukan dientri ke dalam formulir Uji Validasi yang sudah dipersiapkan. Formulir dapat di unduh di link <https://bit.ly/PMECOVID19>.
- b) Data yang diperlukan adalah
  - identifikasi Reagen Ekstraksi dan Isolasi RNA
  - identifikasi *KitReal Time*

- identifikasi Alat /Mesin *Realtime* yang digunakan
  - nilai Ct value masing-masing spesimen yang akan dikirim sebagai Uji Validasi
- c) Pengisian formulir (*form*) dilakukan secara komputerisasi **BUKAN TULISAN TANGAN**.


*Form* yang telah diisi dikirim melalui pos-el (email) ke **tukapusbtdk@gmail.com** dan **puslitbangbtdk@gmail.com** serta konfirmasi ke Ketua Divisi Biorepositori Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan (Bapak . Kambang, S. M.Biomed (0812-9024-7531)

*Form* yang sudah diisi dicetak (*di-print*) untuk disampaikan bersamaan dengan surat pengantar dan spesimennya.

### 3) Penatalaksanaan Spesimen Uji Validasi

- a) Spesimen Positif yang akan dilakukan Uji Validasi harus memenuhi syarat sebagai berikut:
- Spesimen yang dikirimkan berupa *Swab* atau Sputum (Spesimen yang sudah dilakukan pemeriksaan)
  - Volume Spesimen yang dikirim minimal 500 µl
  - Sampel Negatif harus memberikan nilai Ct Value untuk IC ataupun RP
  - Proses Pengiriman Spesimen sebaiknya dikirimkan setelah mencapai 30 sampel, tetapi sekiranya tidak bisa dan kondisi tertentu dapat dikirimkan sejumlah spesimen yang ada.
  - Spesimen sebaiknya dikirimkan dalam bentuk Vial dengan Tutup Ulir luar (1,5-2,0 ml)

- b) Spesimen yang akan dikirim harus memenuhi kaidah pengiriman seperti yang sudah dijelaskan pada pedoman Pedoman Pencegahan dan Pengendalian *Coronavirus Diseas*, revisi 5 (Kementerian Kesehatan RI, 2020)
  - c) Pengiriman spesimen WAJIB disertakan *Form Uji Validasi*
  - d) Konfirmasi pengiriman dapat disampaikan ke Bpk. Kambang S. M.Biomed (0812-9024-7531)
  - e) Hasil Uji Validasi akan disampaikan jika telah memenuhi syarat jumlah yang telah ditentukan (20 Spesimen Positif dan 10 Spesimen Negatif) serta telah mengisi *Form* secara Lengkap.
- 4). Hasil Uji Validasi
- a) Hasil Uji Validasi akan disampaikan ke pihak Laboratorium pengirim, baik melalui surat Elektronik maupun Kontak WhatApps.
  - b) Laboratorium pemeriksa COVID-19 dianggap lulus uji validasi bila kesesuaian pemeriksaan spesimen positif dan spesimen negatif dengan Laboratorium Rujukan Nasional COVID-19 sebesar  $\geq 90\%$ . Apabila laboratorium pemeriksa COVID-19 memperoleh hasil PME  $< 90\%$  maka diharapkan mengirimkan kembali sampel uji validasi ke Laboratorium Rujukan Nasional COVID-19. Sedangkan bila hasil PME  $< 70\%$ , selain mengirimkan ulang sampel uji validasi, harus dilakukan supervisi ulang oleh Dinas Kesehatan Provinsi atau Laboratorium Rujukan Nasional COVID-19.



KEMENTERIAN  
KESEHATAN  
REPUBLIK  
INDONESIA

**FORMULIR UJI VALIDASI  
PEMANTAPAN MUTU EKSTERNAL COVID-19  
PUSLITBANG BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN  
BADAN LITBANG KESEHATAN**

---

**A. IDENTITAS PENGIRIM**

Rumah Sakit   
  BBTCLPP /BBLK /Laboratorium Klinik   
  Lainnya

Nama Institusi     Kab/Kota   
 Kontak Person     Provinsi   
 Email     Nomor Telp./Hp

---

**B. REAGEN & ALAT YANG DIGUNAKAN**

**KIT EKSTRAKSI / ISOLASI RNA**

Nama Kit

Lot Number

Exp Date

Mesin Realtime PCR yang digunakan :

Nilai Batas CT Positif

**KIT Realtime RT-PCR**

InHouse     Pabrik

Nama Kit

Lot Number

Exp Date

Gen yang dideteksi

1 <input style="width: 40px;" type="text"/>	3 <input style="width: 40px;" type="text"/>
2 <input style="width: 40px;" type="text"/>	4 <input style="width: 40px;" type="text"/>

---

**C. DATA SPESIMEN**

No	Nomor Lab.	Hasil	NILAI CT				
			Gen :	Gen :	Gen :	IC / RP	Pos. Control
1		Positif					
2		Positif					
3		Positif					
4		Positif					
5		Positif					
6		Positif					
7		Positif					
8		Positif					
9		Positif					
10		Positif					
11		Positif					
12		Positif					
13		Positif					
14		Positif					
15		Positif					
16		Positif					
17		Positif					
18		Positif					
19		Positif					
20		Positif					
21		Negatif					
22		Negatif					
23		Negatif					
24		Negatif					
25		Negatif					
26		Negatif					
27		Negatif					
28		Negatif					
29		Negatif					
30		Negatif					

Form dikirimkan ke [tukapusbtdk@gmail.com](mailto:tukapusbtdk@gmail.com) dan cc [puslitbangbtdk@gmail.com](mailto:puslitbangbtdk@gmail.com)

Gambar 7.2 Formulir uji validasi

## Petunjuk Pengisian Formulir Uji Validasi Pemantapan Mutu Eksternal (PME) - Covid 19

### A. IDENTITAS PENGIRIM

Tipe Fasyankes	Klik tipe fasyankes yang sesuai
Nama Institusi	Tulis nama lengkap institusi
Kontak Person	Tulis kontak person laboratorium (Nama Orang)
Email	Tulis alamat email aktif
Kab/Kota	Tulis nama kab/kota
Provinsi	Tulis nama provinsi
No. Telp/HP	Isi dengan no. telp/HP yang dapat dihubungi

### B. REAGEN DAN ALAT YANG DIGUNAKAN

#### KIT EKSTRAKSI/ISOLASI RNA

Nama Kit	Tulis nama kit yang digunakan
Lot Number	Tulis lot number yang tertera di kemasan kit ekstraksi/isolasi RNA
Exp. Date	Tulis exp. Date yang tertera di kemasan kit ekstraksi/isolasi RNA
Mesin Realtime PCR yang digunakan:	Isi dengan merek mesin Realtime PCR yang digunakan
Nilai Batas CT Positif	Tulis nilai batas CT positif yang tertera di insert kit

#### KIT Realtime RT-PCR

Jenis	Klik jenis kit Realtime RT-PCR yang digunakan. Jika Laboratorium menggunakan Kit PCR terpisah merk antara Primer/Probe dan mastermixnya, maka Pilih <b>INHOUSE</b> , Jika Laboratorium menggunakan KIT PCR (satu apket antara Enzym dan Primer/Probe, maka Pilih <b>PABRIKAN</b>
Nama Kit	Tulis nama kita PCR yang digunakan
Lot Number	Tulis lot number yang tertera di kemasan kit Realtime RT-PCR
Exp. Date	Tulis exp. Date yang tertera di kemasan kit Realtime RT-PCR
Gen yang dideteksi	Tulis gen yang dideteksi (bisa lebih dari satu)

### C. DATA SPESIMEN

Nomor Lab	Tulis nomor/kode lab sesuai dengan KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR HK.01.07/MENKES/405/2020
Nilai CT Gen	Tulis nilai CT untuk masing-masing gen
Nilai CT IC/RP	Tulis nilai CT Internal Control (IC) / Ribo Nucelase Protein (RP/RNP)
Nilai CT Pos.Control	Tulis nilai CT positive control

#### 2. Tes panel (uji profisiensi)

Tes panel merupakan salah satu kegiatan pemantapan mutu eksternal yang diselenggarakan dalam jejaring laboratorium. Tes panel diberikan kepada laboratorium pemeriksa Covid -19 oleh penyelenggara panel. Pada waktu melaksanakan kegiatan ini tidak boleh diperlakukan secara khusus Jadi, pemeriksaan harus dilaksanakan oleh petugas yang biasa melaksanakan pemeriksaan tersebut serta menggunakan peralatan/reagen/metode yang biasa digunakan sehingga hasil pemantapan mutu eksternal tersebut benar-benar dapat mencerminkan kinerja laboratorium tersebut yang sebenarnya (WHO, 2016).

#### 3. Bimbingan teknis/Supervisi

Bimbingan teknis/supervisi laboratorium dilakukan secara terencana dengan menentukan sasaran laboratorium yang akan disupervisi berdasarkan evaluasi kinerja dan menentukan jadwal supervisor. Supervisi dilakukan secara berjenjang dari unit laboratorium rujukan Covid - 19 di tingkat nasional dan laboratorium di tingkat regional sampai laboratorium pemeriksa Covid -19 di provinsi/kabupaten/kota (WHO, 2016).



## DAFTAR PUSTAKA

- Creativebiomart. Real-time Quantitative PCR. Tersedia dari: <https://www.creativebiomart.net/resource/principle-protocol-real-time-quantitative-pcr-367.htm>, diakses tanggal 21 September 2020
- Global Cold Chain Alliance. About The Cold Chain. Tersedia dari: <https://www.gcca.org/about/about-cold-chain>. Diakses tanggal 9 September 2020
- Agency PaMD. PMDA's Efforts to Combat COVID-19 2020 [Tersedia dari: <https://www.pmda.go.jp/english/about-pmda/0002.html>. Diakses tanggal 2 September 2020
- Agustiningsih, A., Trimarsanto, H., Setiawaty, V., Artika, I. M. & Muljono, D. H. Primer development to obtain complete coding sequence of HA and NA genes of influenza A/H3N2 virus. *BMC Res Notes*. 2016; 9, 423.
- Anawa Biomedical Services and Products. SARS-CoV-2 (Covid-19): Diagnosis by IgG/IgM Rapid Test. 2020. Available at <https://www.anawa.ch/read/newsletter-26/sars-cov-2-covid-19-diagnosis-by-2264.html>. Accessed 17 September 2020.
- Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(22):2081-90.
- Badan Standardisasi Nasional. *Pedoman Manajemen Biorisiko Laboratorium Terkait COVID-19*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 2020.
- Bechlian, Didier, et al."RNA extracted from blood samples with a rapid automated procedure is fit for molecular diagnosis or minimal residual disease monitoring in patients with a variety of malignant blood disorders." *Biopreservation and Biobanking* 7.2 (2009): 123-128.
- Bettelheim & Landesberg. *Laboratory experiments for general organic and biochemistry*. Cengage Learning; 2007.
- Blairon L, Mokrane S, Wilmet A, Dessilly G, Kabamba-Mukadi B, Beukinga I, et al. Large-scale, molecular and serological SARS-CoV-2 screening of healthcare workers in a 4-site public hospital in Belgium after COVID-19 outbreak. *J Infect*. 2020:S0163-4453(20)30514-4.
- Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020:ciaa638.
- Butler JM. *Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers (2nd ed.)*. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005.
- Cao, Y., YU, M., Dong, G., Chen, B. & Zhang, B. 2020. Digital PCR as an Emerging Tool for Monitoring of Microbial Biodegradation. *Molecules* 2020, 25(3), 706; <https://doi.org/10.3390/molecules25030706>

Casella M, Rajnik M, Cuomo A, et al. 2020. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19) [Updated 2020 Jul 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>. Diunduh tanggal 2 September 2020

CDC. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. 2020. Tersedia dari: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> Diakses tanggal 9 September 2020

CDC. SARS-CoV-2 Viral Culturing at CDC. 2020. Available at <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/grows-virus-cell-culture.html>. Accessed 20 September 2020.

Chin, A. W. H., Julie T S Chu, Mahen R A Perera, Kenrie P Y Hui, Hui-Ling Yen, Michael C W Chan, Malik Peiris, \*Leo L M Poon. 2020. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. [https://www.thelancet.com/pdfs/journals/lanmic/PIIS2666-5247\(20\)30003-3.pdf](https://www.thelancet.com/pdfs/journals/lanmic/PIIS2666-5247(20)30003-3.pdf) Diundu tanggal 2 September 2020

Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv*. 2020:2020.03.07.20032524.

Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020(8).

Elkins KM. "DNA Extraction". *Forensic DNA Biology*. 2013 : 39–52

Environmental Health and Safety University of Iowa. Autoclaving Guidelines. Tersedia dari: <https://ehs.research.uiowa.edu/biological/autoclaving-guidelines> Diakses tanggal 21 September 2020

Foundation for Innovative New Diagnostics. SARS- CoV-2 Diagnostic Pipeline 2020 [Tersedia dari: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>. Diakses tanggal 2 September 2020

Fraga, D., Meulia, T. & Fenster, S. Real-Time PCR. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*. Wiley Online Library; 2014. Tersedia dari: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470089941.et1003s00> Diakses tanggal 21 September 2020

GISAID. Clade and lineage nomenclature aids in genomic epidemiology studies of active hCoV-19 viruses. 2020. Available at <https://www.gisaid.org/references/statements-clarifications/clade-and-lineage-nomenclature-aids-in-genomic-epidemiology-of-active-hcov-19-viruses/>. Accessed 23 September 2020

Gugus Tugas Percepatan Penanganan COVID-19. Standar Alat Pelindung Diri (APD) untuk Penanganan COVID-19 di Indonesia Revisi 3 (11 Agustus 2020). Jakarta: Gugus Tugas Percepatan Penanganan COVID-19; 2020.

Harcourt J, Tamin A, Lu X, Kamili S, Sakthivel SK, Murray J, et al. 2020. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 from Patient with Coronavirus Disease, United States. *Emerg Infect Dis*. 26(6):1266-1273. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2606.200516>.

Infeksi Emerging. COVID-19. 2020. Tersedia dari : <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/> diakses 17 Juli 2020.

Integrated DNA Technologies. “qPCR Probes—selecting the best reporter dye and quencher” 2020. from <https://sg.idtdna.com/pages/education/decoded/article/qpcr-probes-selecting-the-best-reporter-dye-and-quencher> Diakses tanggal 21 September 2020

Janice M. Leung, Chen X. Yang, Anthony Tam, et al. ACE-2 Expression in the Small Airway Epithelia of Smokers and COPD Patients: Implications for COVID-19. *European Respiratory Journal*. 2020. DOI: 10.1183/13993003.00688-2020

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Kendali Mutu: Bahan ajar Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan Press; 2018.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi: Kesehatan dan Keselamatan Kerja*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan; 2016.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Pedoman Biorisiko Laboratorium Institusi: Institution Biorisk Laboratory Manual*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2019.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Pedoman Pencegahan Dan Pengendalian Coronavirus Disese (COVID-19) Edisi 5*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Petunjuk Teknis Penggunaan APD dalam Menghadapi Wabah Covid-19*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.

Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan RI. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor P.56/MENLHK-SETJEN/2015: Tata Cara dan persyaratan Teknis Pengelolaan Limbah Berbahaya dan Beracun dari Fasilitas Pelayanan Kesehatan. Jakarta: Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan RI; 2015.

Kementerian Kesehatan RI. Kepmenkes nomor HK,01.07/Menkes/216/2020 tentang Penetapan Laboratorium Pemeriksa Corona Virus Disease-19 (COVID-19). Jakarta : Kementerian Kesehatan RI; 2020.

Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/Menkes/413/2020. Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (COVID-19)

Keputusan Presiden No. 7 Tahun 2020 tentang Gugus Tugas Percepatan Penanganan Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). Jakarta : Sekretariat Negara; 2020.

Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. 2020. *Gene Rep*. 19:100682. doi: 10.1016/j.genrep.2020.100682. Epub ahead of print. PMID: 32300673; PMCID: PMC7161481.

Khosravinia, H. & Ramesha, K. P. Influence of EDTA and magnesium on DNA extraction from blood samples and specificity of polymerase chain reaction. *African Journal of Biotechnology*. 2007; 6 (3), pp. 184-187

Klompas M., Baker M. A., Rhee C. Airborne Transmission of SARS-CoV-2: Theoretical Considerations and Available Evidence. *JAMA*. Published online July 13, 2020. doi:10.1001/jama.2020.12458.

Lambert-Niclot S, Cuffel A, Le Pape S, Vauloup- Fellous C, Morand-Joubert L, Roque-Afonso AM, et al. Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of SARS-CoV-2 Antigen in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol*. 2020;58(8).

Lee S, Kim T, Lee E, Lee C, Kim H, Rhee H, et al. 2020. Clinical Course and Molecular Viral Shedding Among Asymptomatic and Symptomatic Patients With SARS-CoV- 2 Infection in a Community Treatment Center in the Republic of Korea. *JAMA Internal Medicine*. 2020.

Li Q., Guan X., Wu P., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus infected pneumonia. 2020. *NEJM*. 382(13):1199–1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.

Li, Q. et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia. 2020. *N. Engl. J. Med*. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>

Life-Technologies. Real-time PCR Handbook. 2014. Tersedia dari: <https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/global/Forms/PDF/real-time-pcr-handbook.pdf> Diakses tanggal 21 September 2020

Mak GC, Cheng PK, Lau SS, Wong KK, Lau CS, Lam ET, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2020;129:104500-.

Manit. A. & Shergill, Iqbal & Williamson, Magali & Gommersall, Lyndon & Arya, Neehar & Patel, Hitendra. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert review of molecular diagnostics*. 2005.5. 209-19. 10.1586/14737159.5.2.209.

Mertens P, De Vos N, Martiny D, Jassoy C, Mirazimi A, Cuypers L, et al. Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:225-.

Murray, Martha & Schulz, Lorie & Furst, Joseph & Homme, Jason & Jenkins, Sarah & Uhl, James & Patel, Ronish & Cockerill, Franklin & Myers, Jane & Pritt, Bobbi. 2014. Equal Performance of Self-Collected and Health Care Worker-Collected Pharyngeal Swabs for Group A Streptococcus Testing by PCR. *Journal of clinical microbiology*. 53. 10.1128/JCM.02500-14.

Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical evaluation of self- collected saliva by RT-qPCR, direct RT-qPCR, RT-LAMP, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol*. 2020;JCM.01438-20.

Nextstrain. Genomic epidemiology of novel coronavirus – Global subsampling. 2020. Available at <https://nextstrain.org/ncov/global>. Accessed 23 September 2020

Nigel J.K. Simpson. Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications. Florida : CRC Press; 2000

Omi K, Takeda Y, Mori M. SARS-CoV-2 qRT-PCR Ct value distribution in Japan and possible utility of rapid antigen testing kit. medRxiv. 2020:2020.06.16.20131243.

Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA*. Published online March 23, 2020. doi:10.1001/jama.2020.4683

Pawestri, H. A., Ikawati, H. D., Ardiansyah, A. & Setiawaty, V. 2013. Panduan Instruksi Kerja Identifikasi Molekuler Virus Influenza.

Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2020 tentang Komite Penanganan Corona Virus Disease 2019 (Covid-19) dan Pemulihan Ekonomi Nasional. Jakarta : [ s.n.]; 2020.

Porte L, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita JM, Araos R, et al. Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis*. 2020:S1201- 9712(20)30405-7.

Premier Biosoft. 2020. “Multiplex PCR “ from [http://www.premierbiosoft.com/tech\\_notes/multiplex-pcr.html](http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/multiplex-pcr.html)

Presiden Republik Indonesia. Peraturan Pemerintah Nomor 101/2014 tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun. Jakarta: Presiden Republik Indonesia; 2014.

Rabi F. A., al Zoubi M. S., Kasasbeh G. A., Salameh D. M., al-Nasser A. D. SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. *Pathogens*. 2020; 9(3):p. 231. doi: 10.3390/pathogens9030231.

Rehman, S.; Shafique, L.; Ihsan, A.; Liu, Q. 2020. Evolutionary Trajectory for the Emergence of Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Pathogens*. 9, 240.

Rodrigue, Jean-Paul & Theo Notteboom. The Cold Chain and its Logistics. The Geography of Transport Systems. 2020 Tersedia dari [https://transportgeography.org/?page\\_id=6585](https://transportgeography.org/?page_id=6585) Diakses tanggal 9 September 2020

Rutala AW, Weber DJ, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC).. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, updated May 2019. North Carolina: CDC; 2008.

Rutala, W. A., & Weber, D. J. 2015. Disinfection, Sterilization, and Control of Hospital Waste. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases, 3294–3309.e4. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00301-5>

Sambrook, Joseph; Russell, David W. “Commonly Used Techniques in Molecular Cloning” New York : CSHL Press; 2001.

Schoy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba- Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol*. 2020;129:104455.

Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020; 323(22):2249–2251. doi:10.1001/jama.2020.8259

Shereen M. A., Khan S., Kazmi A., Bashir N., Siddique R. COVID-19 infection: origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J. Adv. Res.* 2020; 24:91–98. doi: 10.1016/j.jare.2020.03.005.

Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A.C., Zhou, J., Gao, G.F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016. 24, 490–502.

Surat Edaran Menteri Dalam Negeri Surat Edaran Nomor 440/2622/SJ tentang Pembentukan Satuan Tugas Percepatan Penanganan Corona Virus Diseases 2019 (COVID-19) dalam Keputusan Menteri Kesehatan nomor: HK.01.07/Menkes/214/2020 tentang Jejaring Laboratorium Coronavirus Disease – 19 (COVID-19). Jakarta : Kememterian Kesehatan; 2020

Surat Edaran Menteri Kesehatan No. 234 Tahun 2020, serta Kepmenkes Nomor HK.01.07/Menkes/405/2020 tentang Jejaring Laboratorium Pemeriksaan Coronavirus Disease 2019 (Covid-19). Jakarta : Kememterian Kesehatan; 2020

Surat Edaran Menteri Kesehatan Nomor HK.02.01/Menkes/382/2020 Tentang Protokol Pengawasan Pelaku Perjalanan Dalam Negeri Di Bandar Udara Dan Pelabuhan Dalam Rangka Penerapan Kehidupan Masyarakat Produktif Dan Aman Terhadap Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). Jakarta : Kememterian Kesehatan; 2020

Surat Edaran Nomor HK.02.01/Menkes/332/2020 tentang Protokol Kesehatan Penanganan Kepulangan WNI dan Kedatangan WNA dari Luar Negeri di Pintu Masuk Negara dan di Wilayah pada Situasi Pembatasan Sosial Berskala Besar (PSBB) dalam Rangka Pencegahan Penyebaran Corona Virus Disease 2019 (Covid-19). Jakarta : Kememterian Kesehatan; 2020

Surzycki, S. Basic techniques in molecular biology. Berlin : Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2000.

Switzer. 1999. Experimental biochemistry. San Francisco : W. H. Freeman; 1999.

Townsend, M. *Cold Chain Management Guideline. 1st edition.* Geneva: MSF-OCG; 2013.

U.S. Food & Drug Administration. In Vitro Diagnostics EUAs 2020 [Tersedia dari: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas>. Diakses tanggal 2 September 2020

UNICEF. 2020. What is cold chain. <https://www.unicef.org/supply/what-cold-chain>

US Department of Health and Human Services, CDC. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Atlanta: US Department of Health and Human Services, CDC.; 2012.

Vierstraete, A. 1999. Principle of the PCR. 1999. Tersedia dari: <https://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html> Diakses 21 September 2020

Viljoen, G. J., Nel, L. H., & Crowther, J. R. 2005. Molecular Diagnostic PCR Handbook. Springer Nature Switzerland AG. <https://doi.org/10.1007/1-4020-3404-0> Diakses tanggal 21 September 2020

Voytas. Agarose gel electrophoresis. *Curr Protoc Immunol.* 2001; Chapter 10, Unit 10 4.

Weiss A, Jellingsø M, Sommer MOA. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*. 2020;58.

Weitzel T, Legarraga P, Iruretagoyena M, Pizarro G, Vollrath V, Araos R, et al. Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *bioRxiv*. 2020:2020.05.27.119255.

World Health Organization (WHO). *Laboratory Biosafety Manual 3rd Edition*, Viena: WHO, 2004.

World Health Organization (WHO). *Maintenance Manual for Laboratory Equipment*. Spain: WHO; 2008

World Health Organization (WHO). *Laboratory quality management system: handbook*. Geneva: WHO Press; 2011

World Health Organization (WHO). *Tuberculosis laboratory biosafety manual*. Itali: GPS Publishing; 2012.

World Health Organization (WHO). *Laboratory Biosafety Manual Third Edition*. Geneva: WHO; 2014.

World Health Organization (WHO). *Post-market surveillance of in-vitro diagnostics*. Geneva: WHO; 2015.

World Health Organization (WHO). *Manual for organizing a national external quality assessment programme for health laboratories and other testing sites*. Geneva: WHO Press; 2016.

World Health Organization (WHO). Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19: Scientific brief, 8 April 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Assessment tool for laboratories implementing COVID-19 virus testing. 8 April 2020. Geneva: WHO; 2020. [https://www.who.int/ihr/publications/laboratory\\_tool/en/](https://www.who.int/ihr/publications/laboratory_tool/en/).

World Health Organization (WHO). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 177. Geneva: WHO; 2020. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200715-covid-19-sitrep-177.pdf?sfvrsn=b1a193f3\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200715-covid-19-sitrep-177.pdf?sfvrsn=b1a193f3_2).

World Health Organization (WHO). Geneva: WHO; 2020. Diagnostic Testing for SARS-CoV-2. <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>

World Health Organization (WHO). Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus: Interim guidance, 31 March 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): Interim guidance, 13 May 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): Interim guidance, 19 March 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19): Interim guidance, 12 Feb 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance, 19 March 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance, 2 March 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). Laboratory testing of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance, 17 January 2020. Geneva: WHO; 2020.  
World Health Organization (WHO). Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: Interim guidance, 22 March 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19: Interim guidance, 19 April 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). 2020. WHO Timeline - COVID-19. WHO Newsletter. Available at <https://www.who.int/news-room/detail/27-04-2020-who-timeline---covid-19>. Accessed 20 September 2020.

World Health Organization (WHO). 2020. COVID-19 Target product profiles for priority diagnostics to support response to the COVID-19 pandemic v.0.1 2020 [dimutakhirkan 31 Juli 2020. Tersedia dari: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-target-product-profiles-for-priority-diagnostics-to-support-response-to-the-covid-19-pandemic-v.0.1>.

World Health Organization (WHO). 2020. Rational use of personal protective equipment (PPE) for coronavirus disease (COVID-19) 2020 [dimutakhirkan 4 April 2020. Tersedia dari: [https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-\(covid-19\)-and-considerations-during-severe-shortages](https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-(covid-19)-and-considerations-during-severe-shortages).

World Health Organization (WHO). 2020. WHO COVID-19 Case definition 2020 [dimutakhirkan 7 Agustus 2020. Tersedia dari: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance\\_Case\\_Definition-2020.1](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.1).

World Health Organization (WHO). 2020a. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus: Interim guidance, 31 March 2020.

World Health Organization (WHO). 2020a. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. WHO Scientific Brief. Available at <https://www.who.int/publications/i/item/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>. Accessed 20 September 2020.

World Health Organization (WHO). 2020b. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. WHO Scientific brief,. Accessed 18 July 2020. Available at <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>.

World Health Organization (WHO). 2020b. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease: Interim guidance, 13 Mei 2020. Geneva: WHO; 2020.

World Health Organization (WHO). 2020c. EPI Logistic. [https://www.who.int/countries/eth/areas/immunization/epi\\_logistics/en/index1.html](https://www.who.int/countries/eth/areas/immunization/epi_logistics/en/index1.html)

World Health Organization (WHO). 2020c. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). Interim guidance 15 May 2020. Available at [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)). Accessed 20 September 2020.

World Health Organization (WHO). 2020d. PCR Protocol. Available at <https://www.who.int/publications/m/item/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>. Accessed 20 September 2020.

World Health Organization (WHO). Vaccine Management Handbook Module VMH-E2 HOW TO MONITOR TEMPERATURES IN THE VACCINE SUPPLY CHAIN July 2015. Geneva: WHO; 2015

Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020; 180(7):934–943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994

Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020;323(13):1239–1242. doi:10.1001/jama.2020.2648

# LAMPIRAN

## **SURAT KETERANGAN AKREDITASI PELATIHAN**

**Nomor : 521 / H / A.P / X / 2020**

Berdasarkan keputusan Tim Akreditasi Pelatihan Pusat, menyatakan:

### **"TERAKREDITASI"**

Untuk:

Nama Pelatihan	: Pemeriksaan PCR Covid-19 Bagi Petugas Laboratorium
Jenis Pelatihan	: Teknis Profesi Kesehatan
Waktu Pelaksanaan	: 23 - 27 November 2020 (5 Hari Efektif)
Jumlah JPL	: 63 JPL
Jumlah Peserta	: 30 Orang (1 Kelas) - Maksimal 30 Orang/Kelas
Tempat Pelatihan	: Pelatihan dilakukan secara daring
Penyelenggara	: PUSLITBANG BIOMEDIS & TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN
Pengampu	: Balai Besar Pelatihan Kesehatan (BBPK) Jakarta

Dapat diselenggarakan sesuai dengan dokumen pelatihan yang terakreditasi dengan nilai angka kredit 1 (Satu).  
Surat keterangan akreditasi pelatihan ini berlaku untuk 1 kali pelaksanaan pelatihan.

Validasi di sini:



Ditetapkan di : Jakarta  
Pada tanggal : 27 Oktober 2020  
Kepala Pusat Pelatihan SDM Kesehatan

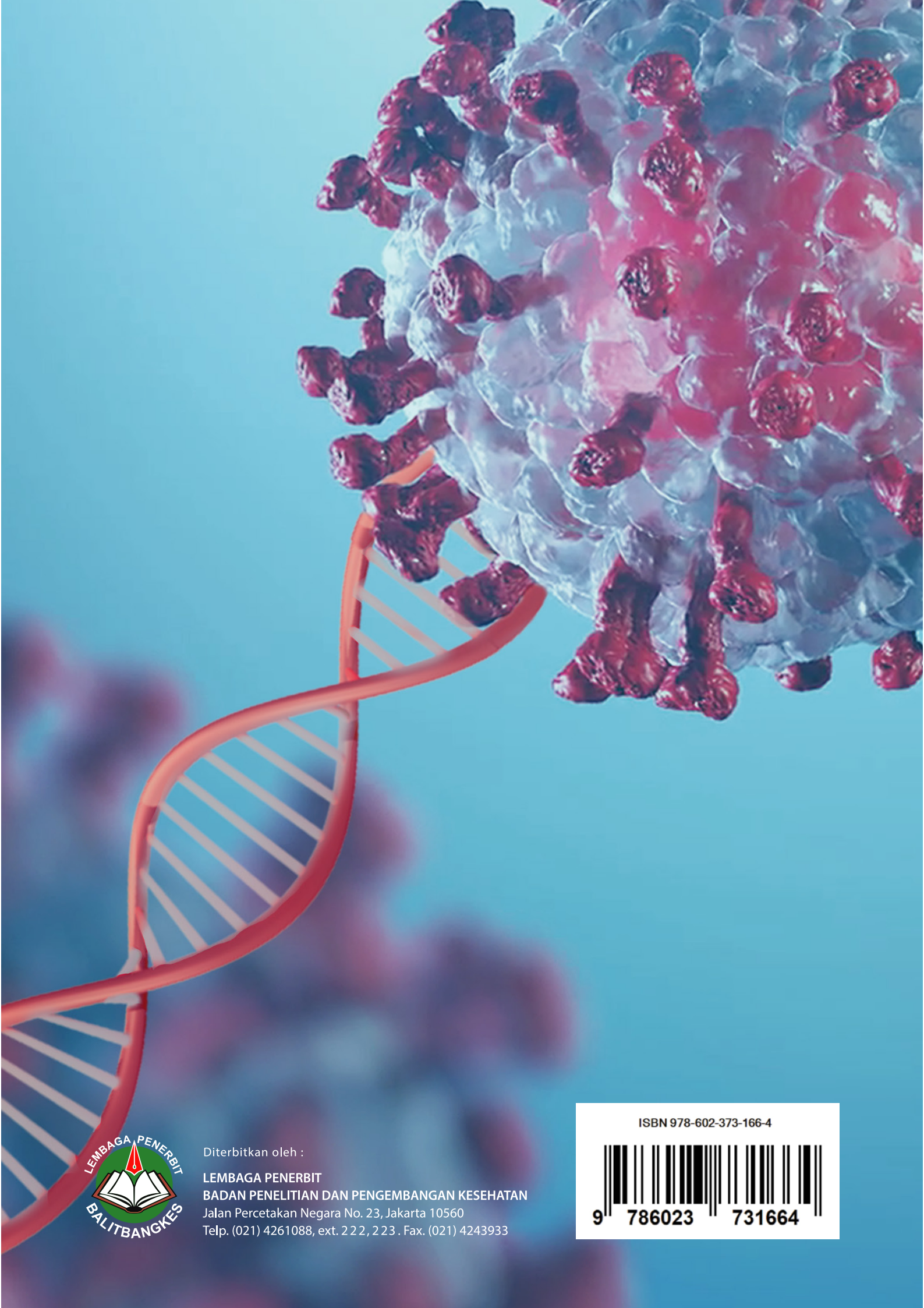
**Dra. Oos Fatimah Rosyati, M.Kes**  
NIP 196504181989032002

## **LAMPIRAN II**

Persyaratan Lab Pemeriksa COVID-19  
<http://bit.ly/syarat-lab-covid-19>

## **LAMPIRAN III**

Persyaratan Standar Lab Bergerak untuk COVID-19  
<http://bit.ly/syarat-lab-covid-19-bergerak>



Diterbitkan oleh :

**LEMBAGA PENERBIT  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
Jalan Percetakan Negara No. 23, Jakarta 10560  
Telp. (021) 4261088, ext. 222, 223 . Fax. (021) 4243933

ISBN 978-602-373-166-4

