

MODUL PRAKTIKUM IMUNOSEROLOGI

Bagi Mahasiswa Prodi Teknologi
Laboratorium Medik

Disusun oleh :

I Gede Andika Sukarya, S.ST., M. Im

Dhika Juliana Sukmana, S.Si., M.Sc

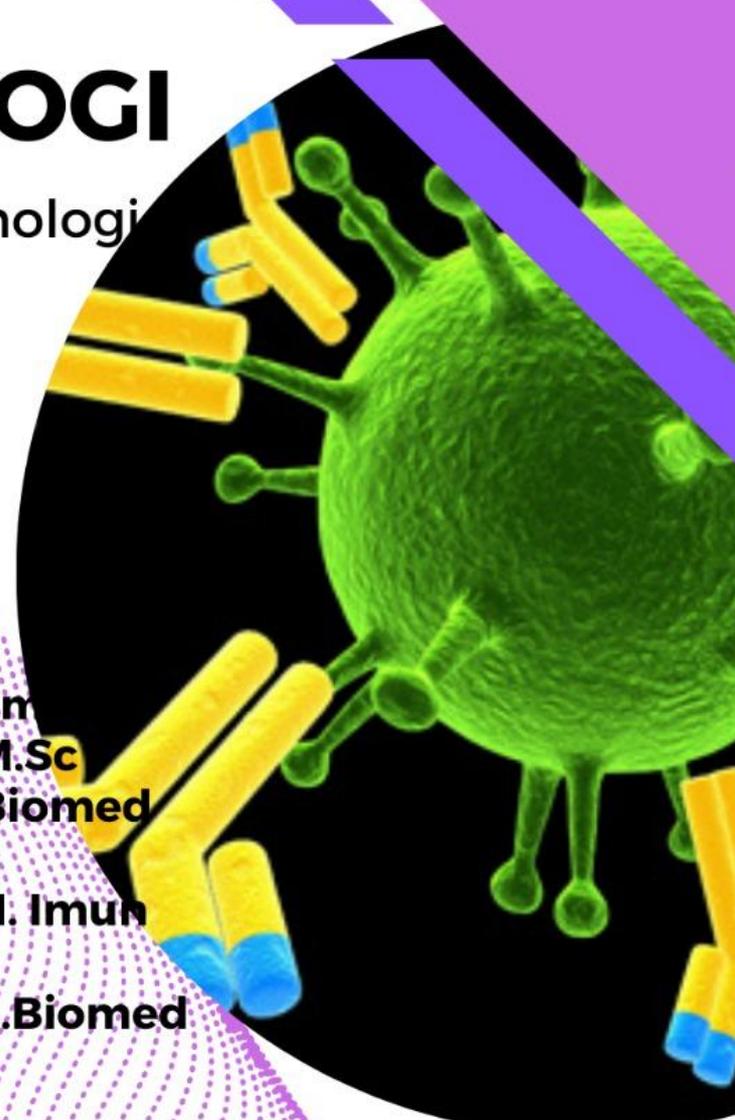
Rahmi Novita Yusuf, S.SiT., M. Biomed

Nurminha, S.Pd., M.Sc

Yusuf Eko Nugroho, S.Tr.A.K., M. Imun

Nurdin, S.Si., M. Kes

Retno Martini Widyasih, S.Si, M.Biomed



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)
2024**

**MODUL PRAKTIKUM
IMUNOSEROLOGI**

**BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK**

I Gede Andika Sukarya, S.ST., M. Imun
Dhika Juliana Sukmana, S.SI., M.Sc
Rahmi Novita Yusuf, S.SiT., M. Biomed
Nurminha, S.Pd., M.Sc
Yusuf Eko Nugroho, S.Tr.A.K., M. Imun
Nurdin, S.Si., M. Kes
Retno Martini Widyasih, S.Si, M.Biomed
Drs. Chairlan, M.Biomed (Reviewer)



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA
(AIPTLMI)**

Judul Buku:

MODUL PRAKTIKUM IMUNOSEROLOGI

Penulis:

I Gede Andika Sukarya, S.ST., M. Imun

Dhika Juliana Sukmana, S.SI., M.Sc

Rahmi Novita Yusuf, S.SiT., M. Biomed

Nurminha, S.Pd., M.Sc

Yusuf Eko Nugroho, S.Tr.A.K., M. Imun

Nurdin, S.Si., M. Kes

Retno Martini Widyasih, S.Si, M.Biomed

Drs. Chairlan, M.Biomed (Reviewer)



SAMBUTAN

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga Modul Praktikum Imunoserologi dapat diselesaikan. Imunoserologi adalah salah satu cabang ilmu yang mempelajari Sistem kekebalan tubuh dan segala komponen serta fungsinya. Modul ini dirancang untuk memberikan pemahaman dasar tentang prinsip pemeriksaan serta memperkenalkan Anda pada teknik-teknik laboratorium yang digunakan dalam analisis imunoserologi.

Dalam praktikum Imunoserologi, Anda akan mempelajari Konsep dasar pemeriksaan imunoserologi, Kendali mutu pemeriksaan imunoserologi, pemeriksaam imunoserologi metode aglutinasi, Metode Imunokromatografi Test (ICT). Hal ini akan membantu memahami cara kerja laboratorium dalam mendiagnosis berbagai kondisi Imunoserologi. Kami berharap modul praktikum Imunoserologi dasar ini dapat memberikan landasan yang kuat dalam pemahaman tentang Imunoserologi dan memberikan wawasan praktis dalam melakukan analisis Imunoserologi dasar.

Saya selaku ketua AIPTLMI ijinilah mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada para dosen TLM seluruh Indonesia yang berkontribusi dalam memberikan masukan, tim kelompok kerja, dan pihak-pihak yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah berjuang dengan segala daya dan upaya, berkorban waktu, tenaga dan pikiran hingga tersusunnya modul ini.

Semoga Modul Praktikum Imunoserologi ini bisa berguna untuk membantu dalam proses penyelenggaraan pendidikan Teknologi Laboratorium Medis yang bermutu. Masukan dan saran tentu sangat diperlukan sebagai evaluasi dan perbaikan untuk penyesuaian sesuai kebutuhan di masa yang akan datang.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Jakarta, Agustus 2024
Ketua Umum AIPTLMI

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



DAFTAR ISI

Sambutan	i
Daftar Isi	iii
MODUL 1 KONSEP DASAR PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI	1
1.... PRESIPITASI DAN AGLUTINASI	1
2....PENGIKATAN ANTIGEN – ANTIBODI	2
3....REAKSI AGLUTINASI	7
4....RAPID IMUNOASAY	17
5....MANUAL PROSEDUR (STANDAR OPRASIONAL PEMERIKSAAN)..	20
6....PERSIAPAN SPESIMEN DARAH	21
7....PIPET UKUR	23
8....MIKROPIPET	28
9....PENGENCERAN	30
MODUL 2 KENDALI MUTU PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI.....	35
MODUL 3 PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI METODE AGLUTINASI	55
1...PRAKTIKUM 1, 2 & 3	55
2...PRAKTIKUM 4 & 5	63
3...PRAKTIKUM 6 & 7	70
4...PRAKTIKUM 8 & 9	78
5...PRAKTIKUM 10, 11, 12, & 13	85
MODUL 4 PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI METODE TES	
IMUNOKROMATOGRAFI (ICT)	95
1...PRAKTIKUM 1 & 2	95
2...PRAKTIKUM 3 & 4	102
3...PRAKTIKUM 5 & 6	110
4...PRAKTIKUM 7 & 8	121
5...PRAKTIKUM 9	127
6...PRAKTIKUM 10	132

7...PRAKTIKUM 11 & 12	138
8...PRAKTIKUM 13	148
9...PRAKTIKUM 14	153
GLOSARIUM	159
BIODATA PENULIS	161

MODUL

1

KONSEP DASAR PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI

I Gede Andika Sukarya, S.ST., M. Imun

Dhika Juliana Sukmana, S.SI., M.Sc

TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar pemeriksaan metode Presipitasi
2. Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar pemeriksaan metode Aglutinasi
3. Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar pemeriksaan metode Rapid *Immunoassay*
4. Mahasiswa mampu memahami cara persiapan spesimen pemeriksaan imunoserologi
5. Mahasiswa mampu memahami cara pengenceran sampel
6. Mahasiswa mampu memahami cara pipetan

1 PRESIPITASI DAN AGLUTINASI

Interaksi antigen-antibodi *in vitro* berperan penting dalam diagnosis berbagai penyakit. *Immunoassay* untuk mendeteksi antigen atau antibodi telah berkembang dari metode manual yang sederhana hingga metode instrumentasi otomatis yang kompleks. *Immunoassay* yang pertamakali di diperkenalkan adalah metode presipitasi atau aglutinasi.

Presipitasi merupakan interaksi antara antigen terlarut dengan antibody terlarut untuk menghasilkan kompleks tidak larut yang terlihat. **Aglutinasi** merupakan interaksi antara antigen partikulat, seperti sel, berkumpul untuk membentuk kompleks yang lebih besar ketika terdapat antibodi spesifik.

Presipitasi pertama kali dicatat pada tahun 1897 oleh Kraus, yang menemukan bahwa filtrat kultur bakteri enterik akan mengendap ketika dicampur dengan antibodi

spesifik. Agar reaksi tersebut dapat terjadi, baik antigen maupun antibodi harus mempunyai banyak tempat pengikatan satu sama lain, dan konsentrasi relatif masing-masing harus sama. Karakteristik pengikatan antibodi, yang disebut *afinitas* dan *aviditas*, juga memainkan peran utama dalam menghasilkan reaksi pengendapan.

Ikatan yang terjadi tergantung pada spesifisitas antibodi terhadap antigen tertentu. Satu molekul antibodi pada awalnya mungkin menarik banyak molekul. Tes Prepitasi dan aglutinasi dianggap sebagai pengujian tanpa label karena label penanda tidak diperlukan untuk mendeteksi reaksi.

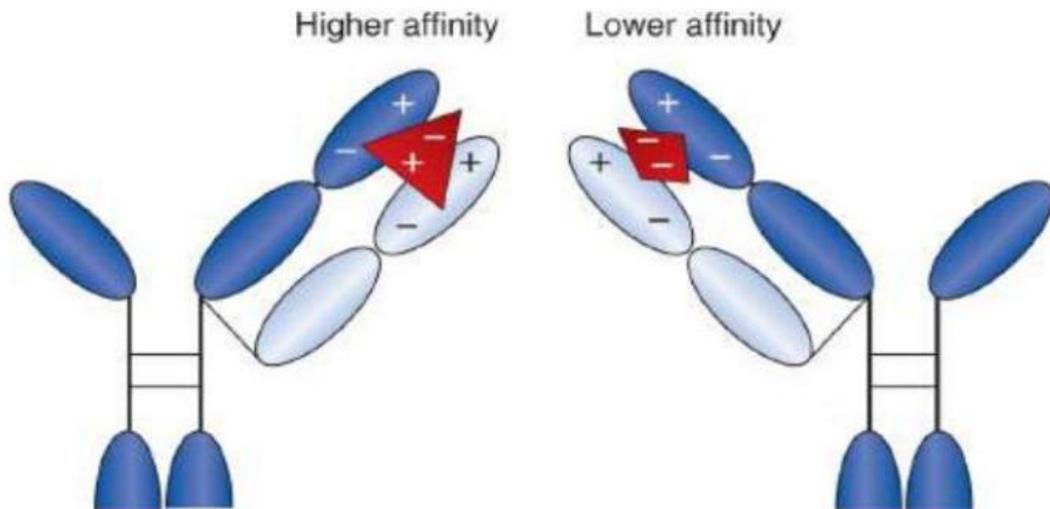
2 PENGIKATAN ANTIGEN - ANTIBODI

Penyatuan antibodi dengan epitop spesifik pada antigen bergantung pada dua karakteristik antibodi yang dikenal sebagai *afinitas* dan *aviditas*. Karakteristik ini penting karena berkaitan dengan sensitivitas dan spesifisitas pengujian di laboratorium klinis.

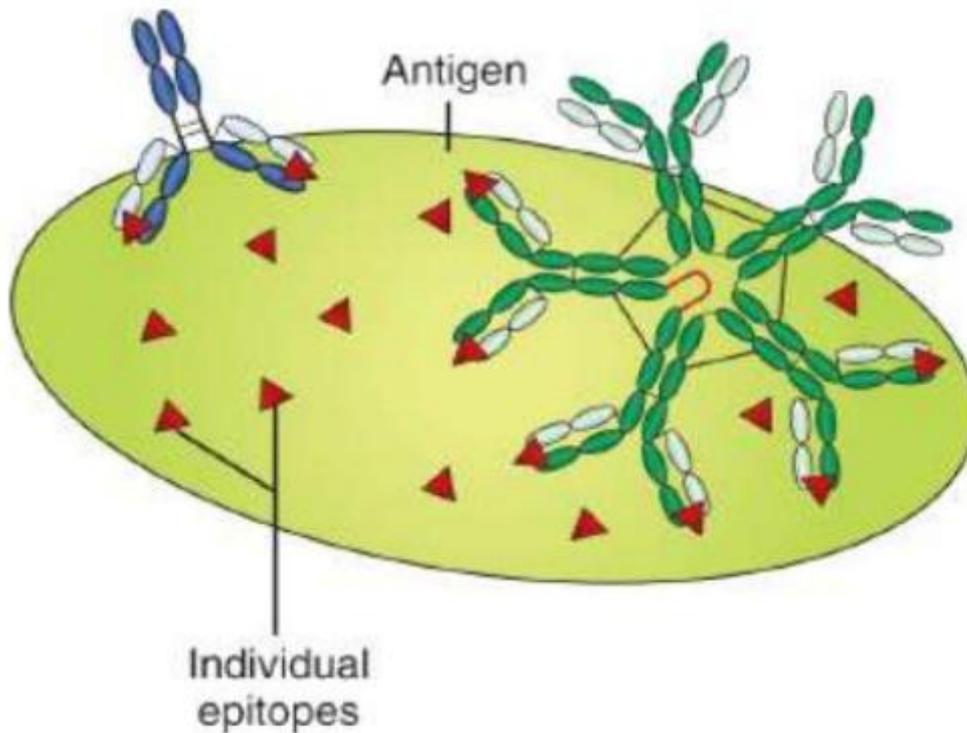
AFINITAS

Afinitas adalah gaya tarik-menarik awal yang terjadi antara satu untai / Pragma *Fab* pada molekul antibodi dan satu epitop atau determinan pada antigen yang bersangkutan. Ketika epitop dan tempat pengikatan saling berdekatan, keduanya disatukan oleh ikatan lemah yang terjadi pada jarak pendek sekitar 1×10^{-7} mm.

Ikatan yang terjadi tergantung pada spesifisitas antibodi terhadap antigen tertentu. Satu molekul antibodi pada awalnya mungkin menarik banyak molekul antigen yang berbeda, namun bentuk epitop dan cara epitop tersebut cocok dengan tempat pengikatan pada molekul antibodi yang menentukan apakah ikatan tersebut akan stabil. Antibodi juga mampu bereaksi dengan antigen yang menyerupai antigen asli yang menginduksi produksi antibodi, sebuah fenomena yang dikenal sebagai **Cross-Reactivity** (Reaksi Silang). Semakin mirip antigen yang bereaksi silang dengan antigen aslinya semakin kuat ikatan antara antigen dan tempat pengikatan. Namun, jika epitop dan tempat pengikatannya memiliki kecocokan yang sempurna, seperti halnya antigen asli, afinitasnya akan maksimal (**Gbr. 1-1**). Ketika afinitasnya lebih tinggi, reaksi pengujian menjadi lebih sensitif karena lebih banyak kompleks antigen-antibodi yang akan terbentuk dan lebih mudah divisualisasikan.



GAMBAR 1-1 Afinitas ditentukan oleh kecocokan tiga dimensi dan tarikan molekuler antara satu determinan antigenik dan satu tempat pengikatan antibodi. Penentu antigenik di sebelah kiri memiliki distribusi kecocokan dan muatan yang lebih baik daripada epitop di sebelah kanan dan karenanya akan memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap antibodi. Sumber : (Molinaro *et al.*, 2016)



GAMBAR 1-2 Aviditas adalah jumlah kekuatan yang mengikat antigen multivalen ke antibody multivalen. Dibandingkan antara imunoglobulin G (IgG) dan IgM, IgM mempunyai situs pengikatan antigen paling potensial sehingga aviditasnya lebih tinggi.

Perhatikan bahwa subunit monomer di IgM dapat berayun ke atas atau ke bawah untuk mengikat antigen dengan lebih efektif. Sumber : (Molinaro *et al.*, 2016)

Aviditas

Aviditas mewakili keseluruhan kekuatan pengikatan antigen-antibodi dan merupakan jumlah dari afinitas semua situs penggabungan antibodi-antigen individu. **Aviditas** mengacu pada kekuatan antibodi multivalen mengikat antigen multivalen dan merupakan ukuran stabilitas keseluruhan kompleks antigen antibodi. Dapat dikatakan, aviditas adalah gaya yang menyatukan molekul-molekul setelah terjadi pengikatan. Aviditas yang tinggi sebenarnya dapat mengimbangi afinitas yang rendah. Kelas antibodi yang berbeda berbeda dalam aviditasnya. Semakin banyak ikatan yang terbentuk antara antigen dan antibodi maka semakin tinggi pula aviditasnya. Immunoglobulin M (IgM), misalnya, memiliki aviditas lebih tinggi dibandingkan IgG karena IgM berpotensi mengikat 10 buah antigen yang sama (**Gambar 1-2**). Afinitas dan aviditas berkontribusi pada stabilitas kompleks antigen-antibodi, yang penting untuk mendeteksi keberadaan sesuatu yang tidak diketahui, apakah itu antigen atau antibodi.

HUKUM MASS ACTION

Semua pengikatan antigen-antibodi bersifat reversibel dan diatur oleh **hukum mass action**. Hukum ini menyatakan bahwa reaktan bebas berada dalam kesetimbangan dengan reaktan terikat. Konstanta kesetimbangan K menyatakan perbedaan laju reaksi maju dan reaksi balik menurut persamaan berikut:

$$K = [AgAb]/[Ab][Ag]$$

dimana [AgAb] = konsentrasi kompleks antigen-antibodi (mol/L), [Ab] = konsentrasi antibodi bebas (mol/L), dan [Ag] = konsentrasi antigen bebas (mol/L).

Nilai K tergantung pada kekuatan ikatan antara antibodi dan antigen. Ketika kekuatan pengikatan, atau aviditas, meningkat, kecenderungan kompleks antigen-antibodi untuk berdisosiasi menurun, sehingga meningkatkan nilai K. Ketika nilai K lebih tinggi, jumlah kompleks antigen antibodi lebih besar, dan jumlah kompleks antigen-antibodi lebih besar, reaksi pengujian lebih terlihat atau mudah dideteksi. Kondisi ideal dilaboratorium klinis adalah memiliki antibodi dengan afinitas tinggi, atau

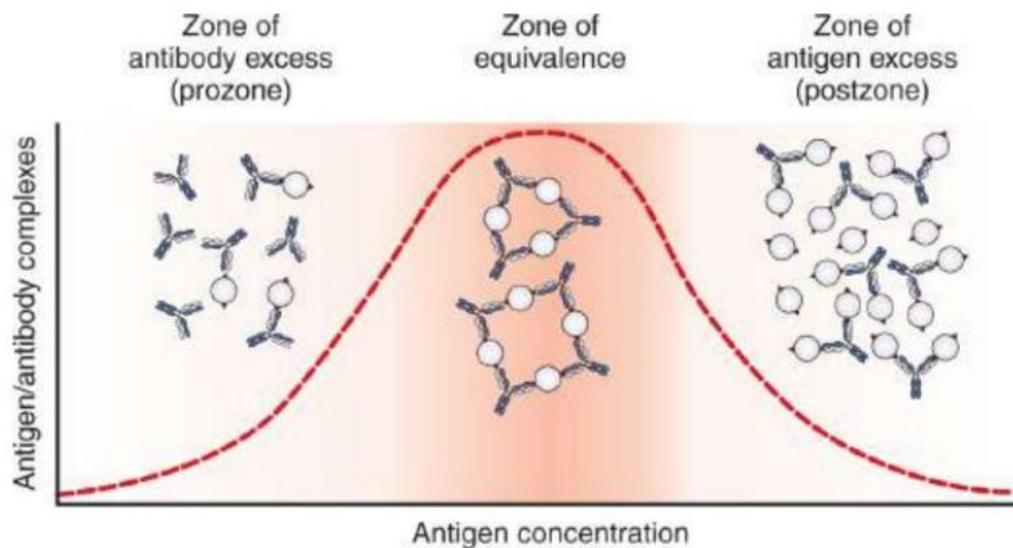
daya tarik awal, dan aviditas tinggi, atau kekuatan pengikatan. Semakin tinggi nilai afinitas dan aviditas, semakin banyak kompleks antigen-antibodi yang terbentuk, dan semakin sensitif tes tersebut.

Kurva Presipitasi

Selain afinitas dan aviditas antibodi yang terlibat presipitasi (pengendapan), pengendapan bergantung pada proporsi relatif antigen dan antibodi yang ada. Presipitasi optimal terjadi bila jumlah relatif tempat pengikatan antigen dan antibodi setara, dan tidak ada yang berlebih dibandingkan yang lain. Hubungan ini ditemukan pada tahun 1932 oleh Heidelberger dan Kendall, yang membuat serangkaian tabung yang berisi antibodi dalam jumlah konstan dan antigen terkait dalam jumlah yang meningkat. Seperti yang Anda lihat pada **(Gambar 1–3)**, ketika konsentrasi antigen diplot pada sumbu x dari grafik dan jumlah kompleks antigen-antibodi diplot pada sumbu y, maka akan dihasilkan kurva berbentuk lonceng. Kurva tersebut dapat dibagi menjadi tiga zona: zona kelebihan antibodi, zona kelebihan antigen, dan zona ekuivalen.

Tiga Zona Reaksi Presipitasi

Pada *zona kelebihan antibodi*, konsentrasi molekul antibodi lebih besar dibandingkan konsentrasi molekul antigen. Hal ini menghasilkan pembentukan kompleks imun kecil, dengan sedikit atau tanpa pengendapan. Begitu pula pada *zona kelebihan antigen*, konsentrasi antigen molekul lebih besar dari konsentrasi molekul antibodi. Sekali lagi, hasil pengendapan sedikit atau tidak ada sama sekali, dan reaksinya kurang optimal.



GAMBAR 1-3 Kurva presipitin. Kurva presipitin menunjukkan bagaimana jumlah presipitasi bervariasi seiring dengan peningkatan konsentrasi antigen ketika jumlah antibodi dijaga konstan. Curah hujan optimal terjadi pada zona ekuivalen. Antibodi yang berlebihan akan menghasilkan *prozon*, sedangkan antigen yang berlebihan akan menghasilkan *postzone*.

Pada **zona ekuivalen** yang terlihat di tengah kurva, jumlah situs multivalent antigen dan antibodi kira-kira sama. Di zona ini, pengendapan merupakan hasil reaksi acak dan reversibel yang mana masing-masing antibodi berikatan dengan lebih dari satu antigen, dan sebaliknya, membentuk jaringan atau **kisi yang stabil**. Konsep pembentukan kisi yang dirumuskan oleh Dr. Philippa Marrack didasarkan pada asumsi bahwa setiap molekul antibodi harus memiliki setidaknya dua situs pengikatan dan antigen harus multivalent dimana saat antigen dan antibodi bergabung, terbentuk kisi multimolekul yang ukurannya bertambah hingga mengendap dari larutan.

Seperti yang diilustrasikan pada Gambar 1–3, ketika jumlah antigen terlarut yang sama ditambahkan ke dalam pengenceran antibodi yang meningkat, jumlah presipitasi meningkat hingga zona ekuivalen tercapai. Ketika jumlah antigen menjadi lebih besar dari jumlah tempat pengikatan antibodi yang ada, presipitasi mulai menurun karena lebih sedikit jaringan kisi yang terbentuk. molekul lebih besar dari konsentrasi molekul antibodi. Sekali lagi, hasil pengendapan sedikit atau tidak ada sama sekali, dan reaksinya kurang optimal. Dengan demikian, Prepitasi optimal terjadi pada zona ekuivalen. Penting untuk dicatat bahwa hubungan antara jumlah antigen dan antibodi

serta pembentukan kompleks imun juga berlaku untuk reaksi imunologi selain presipitasi dan merupakan dasar untuk semua pengujian serologis.

Prozona dan Postzona

Seperti terlihat pada kurva presipitin, Presipitasi menurun di kedua sisi zona ekivalensi karena kelebihan antigen atau antibodi. Ketika kelebihan antibodi dalam jumlah besar, terjadi **prozona**, di mana antigen bergabung hanya dengan satu atau dua molekul antibodi, dan tidak ada ikatan silang yang terbentuk. Di prozon, biasanya hanya satu tempat pada molekul antibodi yang digunakan, banyak molekul antibodi bebas yang tertinggal dalam larutan, dan pengendapan tidak terdeteksi. Di sisi lain kurva, di mana terdapat kelebihan antigen yang besar, terjadi **postzona** di mana agregat kecil dikelilingi oleh kelebihan antigen. Dalam hal ini, setiap situs antibodi yang tersedia terikat pada satu antigen, dan tidak ada ikatan silang yang terbentuk. Sekali lagi, tidak ada jaringan kisi yang terbentuk, dan tidak terjadi pengendapan (lihat Gambar 1–3).

Fenomena prozona dan postzona harus diperhatikan dalam laboratorium klinis karena reaksi negatif terjadi pada keduanya. Reaksi negatif palsu dapat terjadi pada prozon karena konsentrasi antibodi yang tinggi pada sampel yang tidak diketahui, misalnya serum pasien. Jika diduga reaksinya negatif palsu, mengencerkan antibodi sampai tercapai kesetaraan dan melakukan tes lagi dapat memberikan hasil positif. Di zona pasca, kelebihan antigen dapat mengaburkan keberadaan sejumlah kecil antibodi. Jika antigen yang ingin dideteksi ada pada sampel pasien, sampel dapat diencerkan hingga mencapai kesetaraan dengan reagen antibodi. Jika antigen merupakan reagen dalam tes, tes dapat diulangi dengan sampel lain dari pasien yang dikumpulkan sekitar seminggu kemudian akan memungkinkan produksi antibodi lebih oleh pasien. Jika tes ulang menunjukkan hasil negatif, kecil kemungkinan pasien memiliki antibodi tersebut.

3 REAKSI AGLUTINASI

Reaksi presipitasi melibatkan antigen terlarut, sedangkan aglutinasi adalah pembentukan agregasi partikel yang terlihat akibat kombinasi gabungan ikatan dengan antibodi spesifik. Antibodi yang menghasilkan reaksi seperti ini sering disebut **aglutinin**. Karena reaksi ini terjadi pada permukaan partikel, maka antigen harus terekspos dan

mampu berikatan dengan antibodi. Jenis partikel yang berpartisipasi dalam reaksi tersebut termasuk eritrosit, sel bakteri, dan pembawa inert seperti partikel lateks. Setiap partikel harus memiliki beberapa epitop determinan antigenik, yang berikatan silang dengan epitop pada partikel lain melalui pembentukan jembatan antibodi.

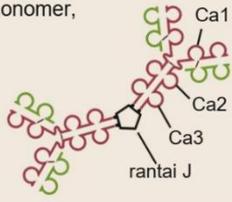
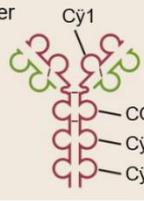
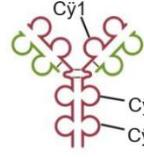
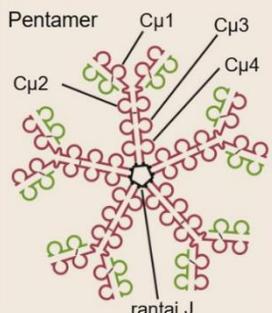
Pada tahun 1896, Gruber dan Durham menerbitkan laporan pertama tentang kemampuan antibodi untuk menggumpalkan sel, berdasarkan pengamatan adanya aglutinasi bakteri oleh serum. Temuan ini memunculkan penggunaan serologi sebagai alat dalam diagnosis penyakit dan juga mengarah pada penemuan golongan darah ABO. Widal dan Sicard mengembangkan salah satu tes diagnostik paling awal pada tahun 1896 untuk mendeteksi antibodi yang terjadi pada demam tifoid, brucellosis, dan tularemia. Reaksi aglutinasi mempunyai beragam aplikasi dalam mendeteksi antigen dan antibodi selama bertahun-tahun.

Pengujian semacam itu mudah dilakukan, dan titik akhir dapat dibaca dengan mudah secara visual. Aglutinasi, mirip dengan presipitasi, adalah proses dua langkah yang menghasilkan pembentukan jaringan kisi yang stabil. Langkah pertama, yang disebut **sensitisasi**, melibatkan kombinasi antigen-antibodi melalui determinan antigenik tunggal pada partikel. Sensitisasi terjadi dengan cepat dan reversibel.

Aglutinasi, mirip dengan presipitasi, adalah proses dua langkah yang menghasilkan pembentukan jaringan kisi yang stabil. Langkah pertama, yang disebut **sensitisasi**, melibatkan kombinasi antigen-antibodi melalui determinan antigenik tunggal pada partikel. Sensitisasi terjadi dengan cepat dan reversibel. Langkah kedua, **pembentukan kisi**, melibatkan pengembangan ikatan silang yang membentuk agregat terlihat. Pembentukan kisi mewakili stabilisasi kompleks antigen-antibodi dengan pengikatan beberapa determinan antigenik (**Gambar 1-4**).

Sensitisasi dipengaruhi oleh sifat antigen pada partikel yang mengaglutinasi. Jika epitop jarang atau tertutup oleh molekul permukaan lainnya, kecil kemungkinannya untuk berinteraksi dengan antibodi. Selain itu, sel darah merah (sel darah merah) dan sel bakteri memiliki muatan permukaan yang sedikit negatif; karena muatan sejenis cenderung tolak menolak satu sama lain, terkadang sulit untuk menyatukan sel-sel tersebut ke dalam formasi kisi.

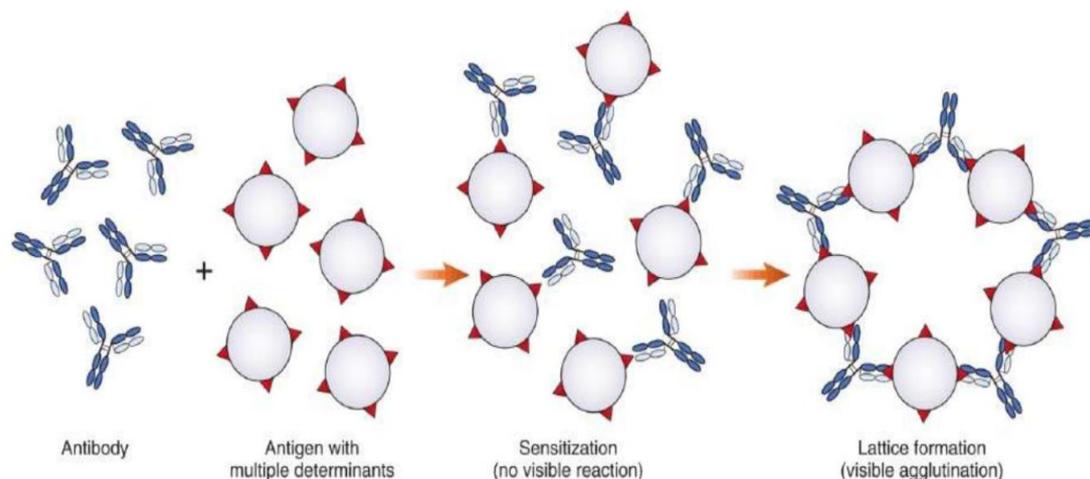
Jenis imunoglobulin juga penting; karena IgM berbentuk pentamer, maka IgM 700 kali lebih efisien dalam aglutinasi dibandingkan IgG, yang mempunyai valensi 2.

Isotipe dari antibodi	Subtipe (rantai H)	Konsentrasi serum (mg/ml)	Umur dalam Serum (hari)	Bentuk yang disekresikan	Fungsi
IgA	IgA1,2 ($\alpha 1$ dan $\alpha 2$)	3.5	6	Terutama dimer juga monomer, 	Imunitas mukosa
IgD	None (δ)	Trace	3	Monomer	Sel B naif reseptor antigen
IgE	None (ϵ)	0,05	2	Monomer 	Pertahanan melawan parasit cacing, hipersensitivitas langsung
IgG	IgG1-4 ($\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4$)	13.5	23	Monomer 	Oponisasi, aktivasi komplemen, sitotoksitas yang dimediasi sel yang bergantung pada antibodi, imunitas neonatal, penghambatan umpan balik dari B cell
IgM	None (μ)	1.5	5	Pentamer 	Reseptor antigen sel B naif (monomer bentuk), aktivasi komplemen

(Lihat Gambar 1–4 untuk perbandingan IgG versus IgM.) Antibodi dari IgG sering kali tidak dapat menjembatani jarak antar partikel karena ukurannya yang kecil dan fleksibilitas yang terbatas pada daerah engselnya mungkin menghalangi pengikatan multivalen. Antibodi IgM, sebaliknya, merupakan aglutinin yang kuat karena ukurannya yang lebih besar.

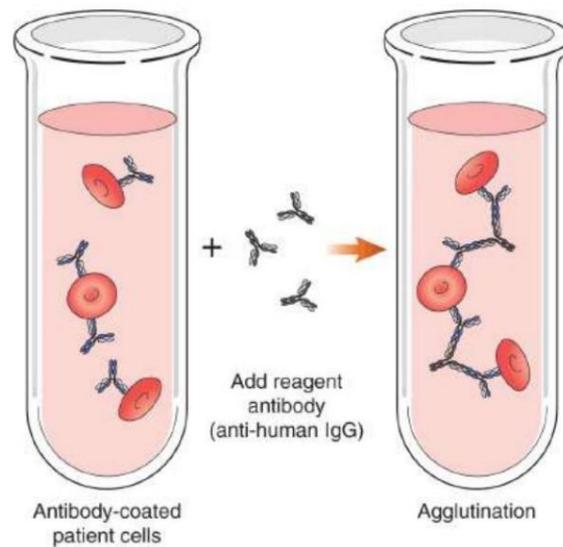
Gambar 1–4 Imunoglobulin. Sumber : (Chiu and Christopoulos, 2012)

Untuk mencapai reaksi yang terlihat dengan IgG seringkali memerlukan penggunaan teknik peningkatan yang bervariasi kondisi fisikokimia, seperti kekuatan ionik larutan, pH, dan suhu. Antibodi yang termasuk dalam kelas IgG mengaglutinasi paling baik pada suhu 30°C hingga 37°C dan disebut sebagai **antibodi yang bereaksi hangat**, sedangkan antibodi IgM bereaksi dingin, bekerja paling baik pada suhu antara 4°C dan 27°C. Karena antibodi alami terhadap golongan darah ABO termasuk dalam kelas IgM, reaksi ini paling baik dilakukan pada suhu kamar. Antibodi terhadap golongan darah manusia lain biasanya termasuk dalam kelas IgG; reaksi yang melibatkan ini harus dijalankan pada 37°C. Reaksi-reaksi terakhir ini adalah hal yang paling penting untuk dipertimbangkan dalam memilih darah yang cocok untuk transfusi karena reaksi reaksi inilah yang sebenarnya akan terjadi di dalam tubuh.



GAMBAR 1-5 Fase aglutinasi. Sensitisasi: Epitop tunggal pada antigen berikatan dengan antibodi. Pembentukan kisi: Beberapa molekul antigen dan antibodi berikatan bersama untuk membentuk kisi yang stabil. Sumber : (Molinaro *et al.*, 2016)

Selain pertimbangan suhu, deteksi antibodi IgG seringkali memerlukan penggunaan antibodi kedua, imunoglobulin anti-manusia, untuk memvisualisasikan suatu reaksi. Imunoglobulin anti-manusia juga dikenal sebagai **reagen Coombs** dan sering digunakan dalam pengujian bank darah. Reagen Coombs menempel pada bagian Fc IgG dan membantu menjembatani kesenjangan antar sel darah merah sehingga dapat terjadi reaksi aglutinasi yang terlihat. **Gambar 1–6** menunjukkan cara kerja reagen Coombs.



GAMBAR 1-6 Reagen Coombs. Reagen Coombs adalah imunoglobulin *anti-human* yang digunakan untuk meningkatkan reaksi aglutinasi dengan menempelkan bagian Fc dari IgG yang ditemukan pada sel darah merah yang dilapisi antibodi. Reagen Coombs membantu menjembatani kesenjangan antar sel darah merah sehingga akan terjadi reaksi aglutinasi yang terlihat. Sumber : (Manual *et al.*, 2014)



GAMBAR 1-7 Aglutinasi RBC. Tabung di sebelah kiri adalah tes positif untuk aglutinasi sel darah merah, sedangkan tabung di sebelah kanan adalah tes negatif yang menunjukkan bahwa sel darah merah tetap berada dalam suspensi halus. Sumber : (Molinaro *et al.*, 2016)

Jenis Reaksi Aglutinasi

Uji aglutinasi mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan rumit, dan dapat dilakukan sesuai kebutuhan di laboratorium tanpa harus mengumpulkan spesimen secara batch. Banyak kit tersedia untuk pengujian standar, sehingga persiapan reagen sangat minim. Reaksi aglutinasi dapat digunakan untuk mengidentifikasi baik antigen atau antibodi. Biasanya, sebagian besar uji aglutinasi bersifat kualitatif, hanya menunjukkan ada atau tidaknya antigen atau antibodi, namun pengenceran dapat dilakukan untuk memperoleh hasil semikuantitatif. Ada banyak variasi yang dapat dikategorikan menurut jenis partikel yang digunakan dalam reaksi dan apakah antigen atau antibodi melekat padanya.

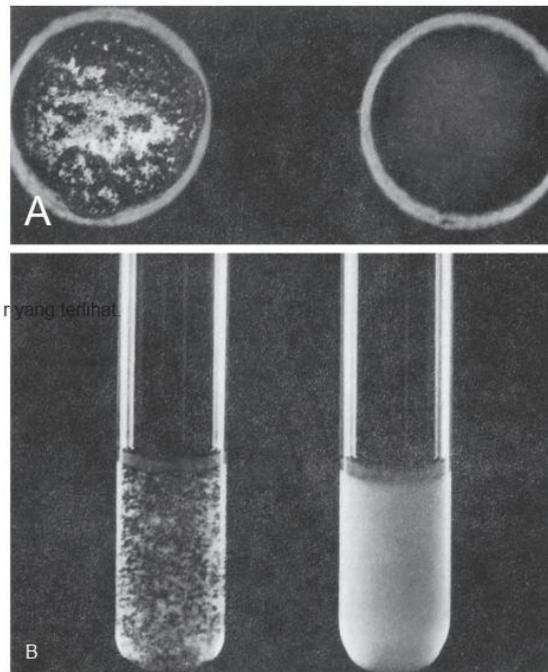
Aglutinasi Langsung/Aglutinasi direk

Aglutinasi langsung terjadi ketika antigen ditemukan secara alami pada suatu partikel. Salah satu jenis pengujian aglutinasi langsung yang paling awal dikembangkan melibatkan penggunaan antigen bakteri yang diketahui untuk menguji keberadaan antibodi bakteri pada pasien. Biasanya, serum pasien diencerkan ke dalam serangkaian tabung atau lubang pada kaca objek dan direaksikan dengan antigen bakteri spesifik untuk penyakit yang dicurigai. Deteksi antibodi terutama digunakan dalam diagnosis penyakit yang agen bakterinya sangat sulit untuk dibiakkan. Salah satu contohnya adalah tes Widal, tes skrining cepat untuk antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi*, yang telah digunakan untuk membantu mendeteksi demam tifoid. Temuan yang signifikan adalah peningkatan empat kali lipat titer antibodi seiring berjalannya waktu ketika pengenceran sampel serum diuji dengan salah satu antigen ini. Meskipun tes yang lebih spesifik kini tersedia, tes Widal masih dianggap berguna dalam mendiagnosis demam tifoid di negara-negara berkembang dan masih digunakan di banyak wilayah di seluruh dunia.

Tes aglutinasi mudah dilakukan dan, dalam beberapa kasus, merupakan tes paling sensitif yang tersedia saat ini. Penting untuk dicatat bahwa hasil kualitas tergantung pada pelatihan yang tepat dari orang yang melakukan pengujian dan kepatuhan terhadap peraturan kontrol kualitas yang ketat (misalnya kontrol positif dan

negatif). Tes tipe aglutinasi memiliki berbagai aplikasi dalam diagnosis klinis gangguan sistem imun tubuh baik tidak menular dan penyakit menular

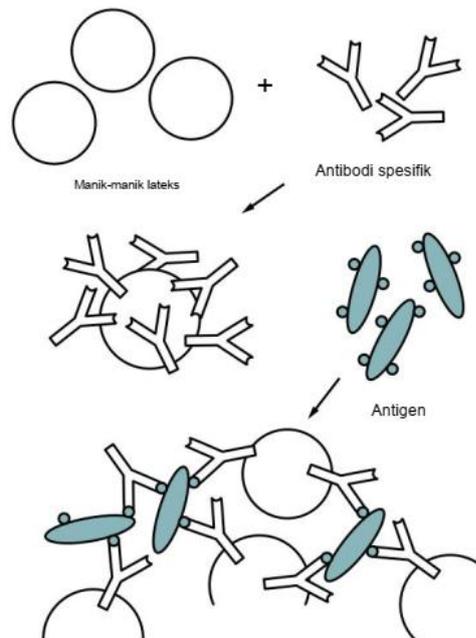
Dalam prosedur aglutinasi lateks (Gambar 1-8), molekul molekul antibodi dapat diikat ke permukaan partikel lateks. Banyak molekul antibodi dapat diikat ke setiap partikel lateks, meningkatkan jumlah potensial tempat pengikatan antigen yang terbuka. Jika antigen hadir dalam spesimen uji seperti protein C-reaktif, antigen akan berikatan dengan epitop gabungan antibodi yang terpapar pada permukaan partikel lateks, membentuk agregat ikatan silang yang terlihat dari partikel lateks dan antigen. Pada beberapa prosedur (misalnya tes kehamilan, tes antibody rubella), partikel lateks dapat dilapisi dengan antigen. Pada antibodi serum, partikel-partikel ini menggumpal menjadi gumpalan besar yang terlihat.



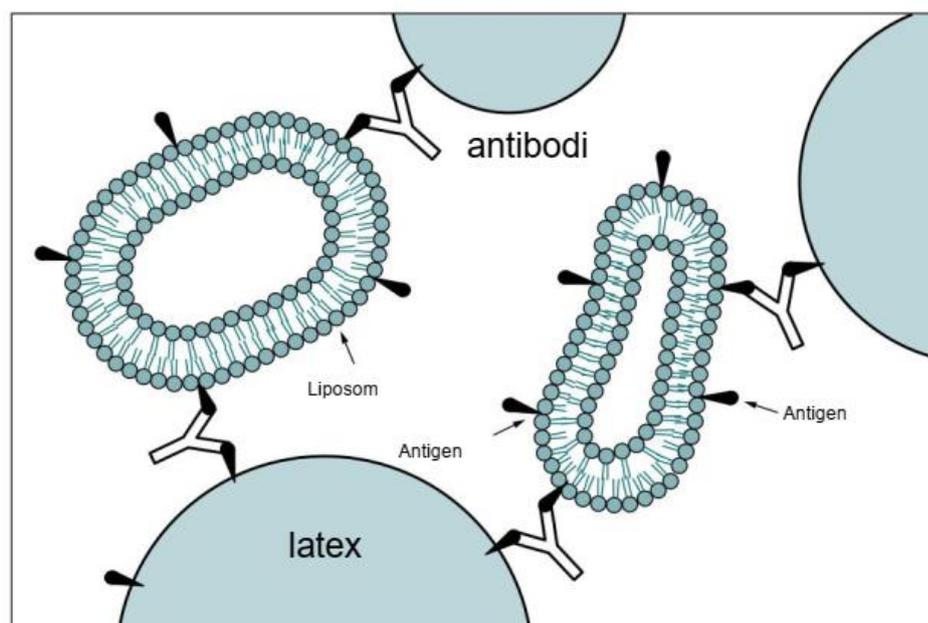
Gambar 1-8. Pola aglutinasi. **A**, Geser aglutinasi bakteri dengan antiserum yang diketahui atau bakteri yang diketahui. Kiri, Reaksi positif; kanan, reaksi negatif. **B**, aglutinasi tabung. Kiri, Reaksi positif; kanan, reaksi negatif. (Dari Barrett JT: Textbook of immunology, ed 5, St Louis, 1988, Mosby)

Prosedur berdasarkan aglutinasi lateks harus dilakukan dalam kondisi standar. Jumlah pengikatan antigen-antibodi dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti pH, osmolaritas, dan konsentrasi ionic larutan. Berbagai kondisi dapat menghasilkan reaksi positif palsu atau negatif palsu dalam pengujian aglutinasi.

Uji **koaglutinasi** dan **peningkatan liposom** merupakan variasi dari aglutinasi lateks (Gbr. 1-8). Koaglutinasi menggunakan antibodi yang terikat pada partikel untuk meningkatkan visibilitas aglutinasi. Ini adalah metode yang sangat spesifik tetapi mungkin tidak sepeka aglutinasi lateks untuk mendeteksi sejumlah kecil antigen.



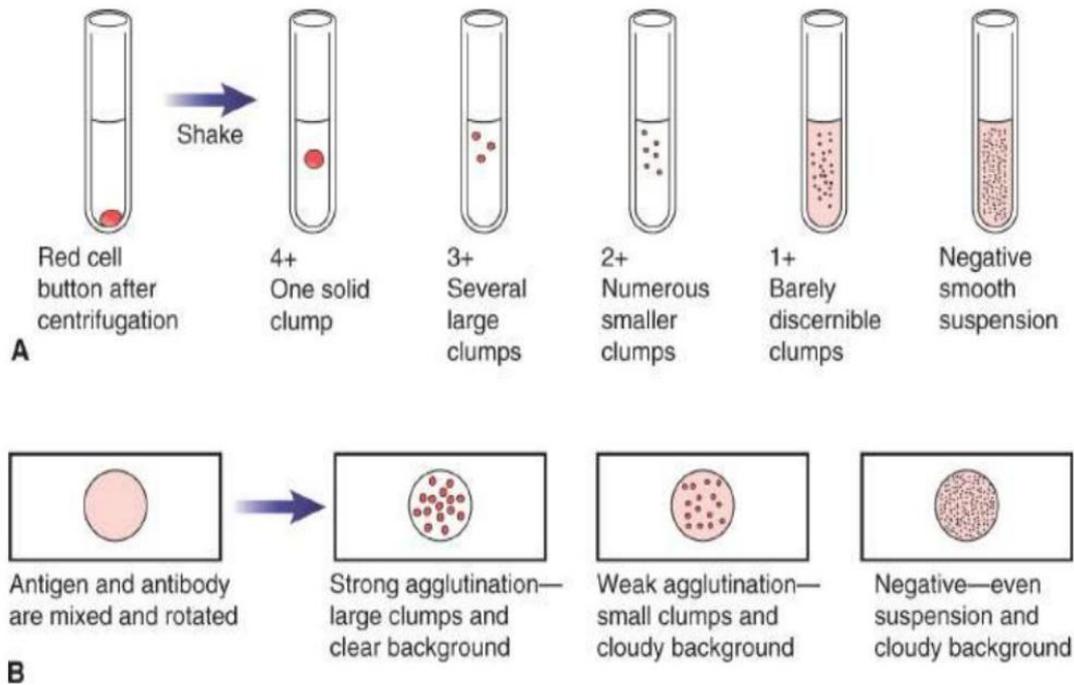
Gambar 1-9. Penjajaran molekul antibodi yang terikat pada permukaan partikel lateks dan reaksi aglutinasi lateks. (Diadaptasi dari Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS: Bailey and Scott's diagnostic microbiology, ed 12, St Louis, 2007, Mosby.)



Gambar 1-10 Diagram reaksi aglutinasi lateks dengan peningkatan liposom. (Diadaptasi dari tes slide Neo-Planotest Ducoclox, Organon Teknika, Durham, NC.)

Jika reaksi aglutinasi melibatkan sel darah merah, maka disebut **hemaglutinasi**. Contoh terbaik dari hal ini terjadi pada pengetikan golongan darah ABO pada sel darah merah manusia, salah satu immunoassay yang paling sering digunakan di dunia. Sel darah merah pasien yang dicampur dengan antisera tipe IgM dapat digunakan untuk menentukan ada tidaknya antigen A dan B; reaksi ini biasanya dilakukan pada suhu kamar, tanpa memerlukan teknik peningkatan apa pun. Sel darah merah kelompok A akan beraglutinasi dengan antibodi anti-A, dan sel darah merah kelompok B akan beraglutinasi dengan antibodi anti-B. Jenis reaksi aglutinasi ini sederhana untuk dilakukan, relatif sensitif, dan mudah dibaca (**Gambar 1-10**).

Contoh lain dari uji hemaglutinasi langsung adalah beberapa versi uji Monospot dan pengujian aglutinin dingin. Tes Monospot digunakan untuk mendeteksi karakteristik antibodi heterofil dari mononukleosis dapat untuk mengaglutinasi sel darah merah kuda atau sapi. Aglutinin dingin, yang diproduksi oleh pasien dengan kelainan autoimun, keganasan, atau infeksi tertentu, pada antibodi yang mengaglutinasi sel darah merah tipe O manusia ketika diinkubasi pada suhu dingin. Titer yang memberikan hasil semikuantitatif dapat dilakukan dalam tabung reaksi atau pelat mikrotiter dengan melakukan pengenceran antibodi secara serial. Kebalikan dari pengenceran terakhir yang masih menunjukkan reaksi nyata adalah titer, yang menunjukkan kekuatan antibodi. Interpretasi pengujian dilakukan berdasarkan pola sedimentasi sel. Jika pengujian dilakukan pada pelat mikrotiter, endapan halus berwarna merah tua di dasar sumur mikrotiter menunjukkan bahwa hasilnya negatif. Hasil positif akan memiliki sel-sel yang tersebar di dasar sumur karena pembentukan kisi antigen-antibodi, yang mungkin halus atau memiliki pola bergerigi dengan tepi tidak beraturan. Tabung reaksi juga dapat disentrifugasi dan kemudian dikocok untuk melihat apakah sel dapat disuspensikan kembali secara merata. Jika disuspensikan kembali tanpa terlihat adanya penggumpalan, maka hasilnya negatif. Reaksi positif dapat dinilai untuk menunjukkan kekuatan reaksinya (**Gambar 1-11**).



GAMBAR 1-11 Pemeringkatan reaksi aglutinasi: (A) Metode tabung. Jika tabung disentrifugasi dan diguncang untuk mensuspensikan kembali tombol, reaksi dapat dinilai dari negative hingga 4+, tergantung pada ukuran gumpalan yang diamati. (B) Metode slide cepat. Sumber : (Molinaro *et al.*, 2016)

Aglutinasif/Pasif/Aglutinasif Tidak Langsung/Aglutinasif Indirek

Aglutinasif pasif atau tidak langsung menggunakan partikel yang dilapisi dengan antigen yang biasanya tidak ditemukan pada permukaannya. Berbagai partikel, termasuk eritrosit, lateks, dan gelatin, digunakan sebagai karier untuk aglutinasif pasif.

Penggunaan partikel sintesis memberikan keunggulan konsistensi dan keseragaman. Reaksi mudah dibaca secara visual dan memberikan hasil yang cepat. Banyak antigen, terutama polisakarida, teradsorpsi ke sel darah merah secara spontan, sehingga relatif mudah untuk dimanipulasi. Ukuran partikel bervariasi dari 7 mm untuk sel darah merah hingga 0,8 mm untuk partikel lateks halus. Pada tahun 1955, Singer dan Plotz secara kebetulan menemukan bahwa IgG secara alami teradsorpsi pada permukaan partikel lateks polistiren. Partikel lateks tidak mahal, relatif stabil, dan tidak mengalami

reaktivitas silang dengan antibody lain. Sejumlah besar molekul antibodi dapat terikat pada permukaan partikel lateks, sehingga jumlah situs pengikatan antigen banyak.

Karena banyak dari alat ini dirancang untuk mendeteksi antibodi IgM, terdapat risiko aglutinasi nonspesifik yang disebabkan oleh adanya antibodi IgM lain, dan reaksi harus dikontrol dan diinterpretasikan secara hati-hati.

Contoh :

- Pemeriksaan TPHA , antigen berasal dari *Treponema pallidum* yang dipakai melapisi eritrosit domba.
- Uji faktor rheumatoid menggunakan lateks.

Tes komersial biasanya dilakukan pada kartu slide plastik sekali pakai atau slide kaca. Kit berisi kontrol positif dan negatif; jika kontrol tidak memberikan hasil yang diharapkan, tes tersebut tidak valid. Tes semacam ini biasanya digunakan sebagai alat skrining, yang diikuti dengan tes yang lebih ekstensif jika hasilnya positif.

Aglutinasi pasif terbalik (reversed passive hemagglutination assay = RPHA)

Aglutinasi pasif terbalik (reversed passive hemagglutination assay = RPHA) Teknik ini digunakan untuk mendeteksi antigen yang larut dalam serum atau cairan tubuh lain. Antibodi spesifik dilekatkan pada permukaan carrier baik eritrosit atau partikel lain. Antigen yang terdapat dalam serum diabsorpsi dalam larutan absorben.

Uji hambatan aglutinasi

Uji hambatan aglutinasi Teknik ini digunakan untuk deteksi ag yang larut, pengujian ini dinyatakan positif bila tidak terjadi aglutinasi.

4 Rapid Imunoasay

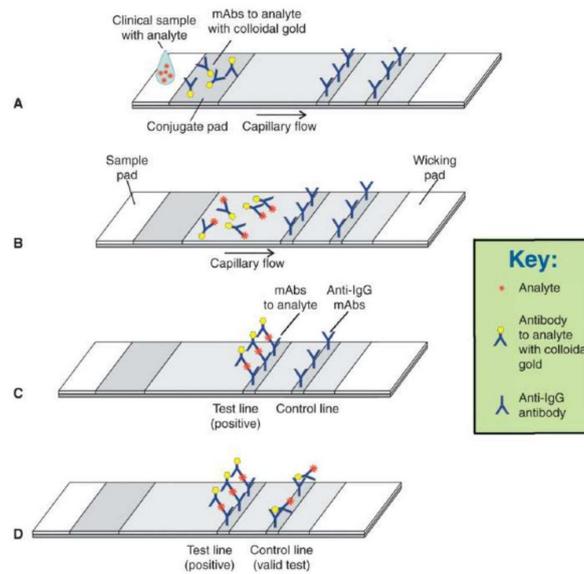
Immunoassay cepat adalah tes berbasis reaksi antigen-antibodi melalui membran yang mudah dilakukan dan memberikan hasil yang dapat direproduksi. Meskipun dirancang terutama untuk pengujian di tempat perawatan, banyak di

antaranya yang digunakan di laboratorium klinis karena membran dan luas permukaannya yang besar meningkatkan imunofiltrasi sampel untuk memberikan kecepatan dan tingkat sensitivitas yang tinggi. Metode ini merupakan immunoassay dua langkah di mana antigen atau antibodi dalam sampel pasien terlebih dahulu diserap ke dalam membran yang mengandung antibodi atau antigen yang sesuai. Setelah Langkah pencucian, reagen pendeteksi ditambahkan. Reaksi tersebut kemudian dibaca dengan mencari keberadaan produk reaksi berwarna.

Metode **imunokromatografi** yang lebih baru menggabungkan semua langkah yang disebutkan sebelumnya menjadi satu langkah. Analit diaplikasikan pada salah satu ujung strip dan bermigrasi ke ujung distal, di mana terdapat bantalan penyerap untuk mempertahankan laju aliran kapiler yang konstan. Zona pelabelan dan deteksi diatur di antara kedua ujungnya. Sampel ditambahkan ke titik aplikasi; titik aplikasi juga mengandung antigen atau antibody berlabel yang terkonjugasi dengan partikel lateks berwarna atau emas koloid. Sampel Menyusun kembali konjugat, di mana keduanya membentuk kompleks yang bermigrasi melintasi membran.

Antigen atau antibodi yang diimobilisasi dalam zona deteksi menangkap kompleks imun dan membentuk garis berwarna untuk hasil tes positif ketika immunoassay menggunakan format nonkompetitif (**Gbr. 1-12**). Jenis perangkat uji ini telah digunakan untuk mendeteksi beragam analit yang diinginkan.

Contoh prototipe penggunaan rapid immunoassay meliputi deteksi hormon human chorionic gonadotropin (hCG) sebagai indikator kehamilan (**Gambar 1-13**).



GAMBAR 1-12 Uji imunokromatografi (nonkompetitif). (A) Sampel pasien ditambahkan ke kaset yang berisi antibody berlabel emas koloid. (B) Sampel bergabung dengan antibody dan digerakkan oleh aliran kapiler. (C) Antibodi monoklonal terhadap analit menangkap antigen pasien yang melekat pada antibody berlabel emas. (D) Garis kontrol memiliki antibody yang menangkap antibody koloidal berlabel emas. (*Fakultas Kedokteran Universitas Nevada.*)



GAMBAR 1-13 Immunoassay cepat untuk human chorionic gonadotropin (hCG). Kontrol negatif (kiri) mempunyai garis di wilayah kontrol saja. Kontrol positif (kanan) memiliki garis di wilayah kontrol (C) dan wilayah pengujian (T). Garis kontrol harus ada agar hasilnya valid, apa pun hasilnya. (*Foto milik Dr. Paul Johnson.*)

Desain imunokromatografi yang diilustrasikan pada Gambar 1-13 didasarkan pada desain capture atau nonkompetitif. Beberapa sistem pengujian baru, yang masih menggunakan materi serupa, didasarkan pada format kompetitif. Hasil ini harus diinterpretasikan dengan hati-hati karena garis yang diamati menunjukkan hasil negatif, dan tidak adanya garis merupakan hasil positif. Tes skrining cepat untuk mendeteksi penyalahgunaan narkoba merupakan salah satu contoh format ini. Metode imunokromatografi satu **langkah yang kompetitif** mengandung antibodi pendeteksi yang teradsorpsi pada partikel emas koloid, yang kemudian dikeringkan ke seluruh permukaan membran. Konjugat obat (obat yang terikat pada albumin serum sapi) dibuat untuk setiap obat yang dideteksi, yang semuanya diimobilisasi ke posisi garis uji yang unik pada membran. Ketika sampel (urin) ditambahkan, sampel tersebut menyebar ke seluruh permukaan membran putih.

Saat melewati setiap jalur pengujian, sampel urin bebas obat melarutkan kompleks antibodi-partikel emas di setiap jalur, sehingga menghasilkan pengamatan garis berwarna ungu-merah. Obat apa pun yang ada dalam sampel akan menghambat reaksi tersebut, sehingga tidak ada garis yang terlihat pada latar belakang membran putih. Karena metode ini didasarkan pada desain kompetitif, hal ini dapat menimbulkan. Konjugat obat (obat yang terikat pada albumin serum sapi) dibuat untuk setiap obat yang dideteksi, yang semuanya diimobilisasi ke posisi garis uji yang unik pada membran. Ketika sampel (urin) ditambahkan, sampel tersebut menyebar ke seluruh permukaan membran putih. Saat melewati setiap jalur pengujian, sampel urin bebas obat melarutkan kompleks antibodi-partikel emas di setiap jalur, sehingga menghasilkan pengamatan garis berwarna ungu-merah. Obat apa pun yang ada dalam sampel akan menghambat reaksi tersebut, sehingga tidak ada garis yang terlihat pada latar belakang membran putih. Karena metode ini didasarkan pada desain kompetitif, hal ini dapat menimbulkan.

5 Manual Prosedur (Standar Operasional Pemeriksaan)

Manual prosedur harus merupakan dokumen lengkap tentang teknik terkini dan kebijakan yang disetujui yang tersedia di area bangku langsung pegawai laboratorium dan di Alat atau Instrumen Kerja. SOP sangat penting bahwa semua personel meninjau

manual kerja ini secara berkala. Manual harus sesuai dengan format *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. untuk SOP (Tabel 1-1) format prosedur umumnya mengikuti pedoman ini.

Tabel 1-1	Isian Standar Oprasioanal Prosedur
	<ul style="list-style-type: none"> • Nama prosedur • Nama metode pengujian • Prinsip dan tujuan tes • Pengumpulan dan penyimpanan spesimen • Kontrol kualitas • Reagen, perlengkapan, dan peralatan • Protokol prosedural • Nilai yang diharapkan atau normal (referensi). • Catatan prosedural: <ul style="list-style-type: none"> Sumber kesalahan Keterbatasan Aplikasi klinis

Teknik alternatif dapat disertakan dengan setiap prosedur jika lebih dari satu teknik dapat diterima. SOP baru harus bertanggal dan diparaf saat memasukkan dan menghapus SOP harus disimpan selama 5 tahun, dengan tanggal pencabutan dan alasannya penghapusan SOP. Mungkin secara hukum diperlukan untuk mengidentifikasi prosedur yang diikuti karena alasan tertentu.

Prosedur yang digunakan dalam imunoserologi menerapkan banyak teknik umum untuk disiplin ilmu lain, seperti kimia. Di dalam bidang imunoserologi, teknik yang berbeda digunakan untuk mendeteksi interaksi antigen dengan antibodi. Metode ini cocok untuk deteksi dan kuantisasi antibodi terhadap agen infeksi, serta antigen mikroba dan antigen nonmikroba.

6 PERSIAPAN SPESIMEN DARAH

Setelah darah diperoleh dari pasien, di dalam tabung vakum tanpa antikoagulan (tabung tutup merah) atau menggunakan tabung separate gel (tutup kuning), darah harus dibiarkan menggumpal dan serum harus segera dipisahkan dari bekuan untuk pengujian. Pembekuan dan retraksi bekuan harus dilakukan pada suhu kamar atau di lemari es, tergantung pada protokol untuk prosedur tertentu. Retraksi bekuan lengkap biasanya

memakan waktu sekitar 15 menit hingga 1 jam. Setelah retraksi bekuan, gumpalan harus dilonggarkan dari sisi tabung reaksi dengan tongkat aplikator dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan sedang. Setelah sentrifugasi, serum dapat dipindahkan ke tabung berlabel dengan pipet Pasteur dan bola karet. Kalau serumnya terkontaminasi dengan eritrosit, itu harus disentrifuse kembali. Tabung yang mengandung serum harus disegel.

Panas yang berlebihan dan kontaminasi bakteri dihindari. Panas membekukan protein dan pertumbuhan bakteri mengubah molekul protein. Jika pemeriksaan tidak dapat dilakukan segera, serum harus didinginkan. Pada suhu 2-8°C serum hanya stabil selama 72 jam. Dalam kebanyakan kasus, jika pengujian tidak dapat dilakukan dalam 72 jam, harus ada spesimen serum dibekukan pada suhu -20°C. SOP harus diikuti saat spesimen darah ditangani. Untuk beberapa pengujian, komplemen serum terlebih dahulu harus dinonaktifkan. Jika komplemen protein tidak dinonaktifkan, itu akan mempercepat lisis sel darah merah dan jenis sel lain dan dapat memberikan hasil yang tidak valid. Komplemen juga diketahui mengganggu tes tertentu untuk sifilis.

Jenis Spesimen Yang Diuji

Sebagian besar tes imunologi dilakukan menggunakan serum, meskipun cairan tubuh juga dapat diuji. Lipemia, hemolisis, atau kontaminasi bakteri lainnya dapat membuat spesimen tidak dapat diterima. Serum ikterik atau keruh dapat memberikan hasil yang tidak valid untuk beberapa tes tetapi mungkin mengganggu pemeriksaan lain. Spesimen darah harus pada saat puasa atau pagi hari sebelum makan untuk menghindari adanya chyle, emulsi lemak gumpalan yang sering muncul dalam serum setelah makan. Kontaminasi dengan alkali atau asam harus dihindari karena zat ini memiliki efek denaturasi pada serum protein dan membuat spesimen tidak berguna untuk pengujian serologi.

Spesimen lain termasuk urin untuk tes dan tes kehamilan untuk infeksi saluran kemih. Spesimen urin harus dikumpulkan setelah pembersihan genitalia eksterna secara menyeluruh untuk mencegah kontaminasi uji mikrobiologis. Urine untuk uji hCG (tes kehamilan) harus dikumpulkan pada interval waktu yang sesuai setelah pembuahan untuk memungkinkan konsentrasi hormon hCG untuk naik ke tingkat terdeteksi secara signifikan.

Spesimen apa pun harus dikumpulkan ke dalam wadah yang sesuai untuk mencegah perubahan *in vitro* yang dapat mempengaruhi hasil pengujian. Penanganan yang tepat dan penyimpanan spesimen sampai pengujian selesai penting. Tes imunologi juga dilakukan pada *cerebrospinal fluid* (CSF), cairan tubuh lainnya, dan Swab berbagai eksudat dan cairan tubuh. Protokol yang ditetapkan untuk setiap spesifik pengujian harus diikuti dalam hal persyaratan pengumpulan spesimen dan kondisi untuk pengujian itu sendiri.

Inaktifasi Komplemen

Beberapa prosedur pemeriksaan memerlukan penggunaan serum yang komplemen tidak aktif. Inaktivasi adalah proses yang menghancurkan aktivitas komplemen. Komplemen diketahui mengganggu reaksi-reaksi tertentu tes sifilis dan komponen komplemen (misalnya, C1q). Bisa menggumpalkan partikel lateks dan menyebabkan reaksi positif palsu tes aglutinasi pasif lateks. Komplemen juga bisa menyebabkan indikator lisis sel dalam tes hemaglutinasi.

Komplemen dalam cairan tubuh dapat dinonaktifkan dengan pemanasan 56°C selama 30 menit. Ketika lebih dari 4 jam telah berlalu sejak inaktivasi, spesimen dapat diaktifkan kembali dengan memanaskannya sampai 56°C selama 10 menit.

7 Pipet ukur

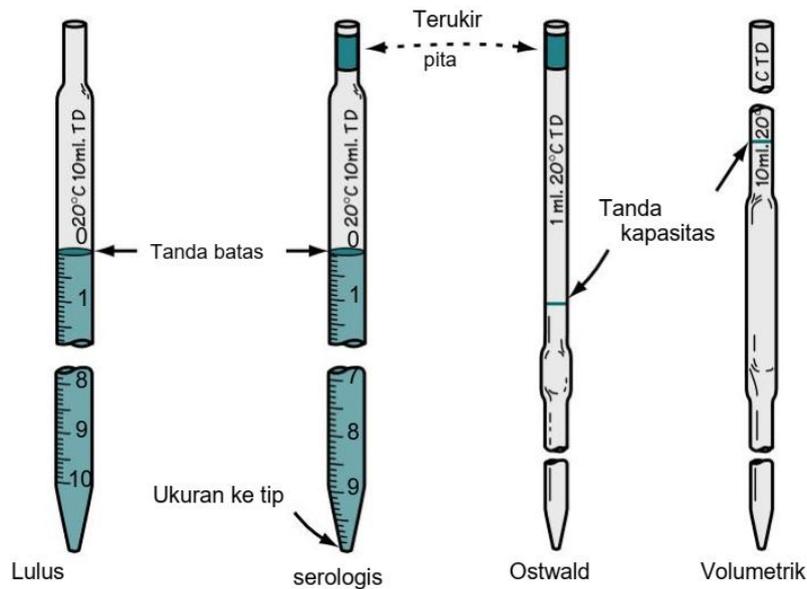
Pipet

Pipet digunakan di laboratorium imunologi-serologi untuk transfer kuantitatif reagen dan persiapan pengenceran serial spesimen seperti serum (Gambar 1-14). Meskipun mikropipet semiotomatis telah menggantikan pipet kaca di laboratorium, metode tradisional mungkin masih ada dibutuhkan sewaktu-waktu.

Pipet Ukur

Alat untuk memindahkan dan mengambil sejumlah cairan tertentu dengan memberikan jumlah cairan yang terkandung antara tanda kalibrasi pada tabung silinder, atau pipet. Pipet seperti itu disebut pipet ukur, atau pipet ukur. Ini memiliki beberapa tanda kalibrasi. Pipet ukur digunakan saat akurasi tinggi tidak diperlukan, meskipun

pipet tidak boleh digunakan dengan dengan kepresisian yang kurang dari pipet volumetrik. Pipet ukur digunakan terutama untuk mengukur reagen tetapi tidak dikalibrasi dengan toleransi yang cukup untuk mengukur standar atau larutan kontrol, spesimen yang tidak diketahui, atau filtrat.



Gambar 1-14 jenis pipet ukur dan volume (Manual *et al.*, 2014)

Pipet ukur adalah pipa kaca lurus dengan ujung meruncing dan tanda tera sampai ujung runcing pada batang. Bergantung pada ukuran yang digunakan, pipet ukur dapat digunakan untuk mengukur bagian mililiter. pipet ini dengan berbagai ukuran, atau kapasitas, termasuk 0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 5.0, 10, dan 25 mL Jika 4 mL aquadest akan diukur dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, pipet ukur 5 mL akan menjadi pilihan terbaik, karena pipet ukur memerlukan tadan kalibrasi di antara keduanya tanda. Pipet volumetrik, yang hanya memiliki satu tanda kalibrasi. Ini membuat pengukuran dengan pipet ukur menjadi kurang akurat. Karena presisi yang relatif buruk, pipet ukur digunakan ketika kecepatan lebih penting daripada presisi (misalnya pengukuran reagen) dan umumnya tidak dianggap akurat cukup untuk mengukur sampel dan larutan standar.

Pipet Serologi

Pipet lain yang digunakan di laboratorium, pipet serologis, terlihat mirip dengan pipet ukur. Namun, lubang, atau pembukaan ujung, lebih besar pada pipet serologi dari pada yang pipet lainnya. Pemipetan dilakukan secara akurasi atau presisi.

Pipet serologi dibekali tanda cincin tanda batas pemipetan huruf TD (pengenal) pada pipet dan, untuk membedakan secara cepat, setiap ukuran pipet memiliki kode warna yang dicetak pada pita yang menunjukkan volume. Pipet serologi biasanya dibiarkan kosong oleh gaya gravitasi. Tergantung pada kalibrasi, tetes yang tersisa perlu dikeluarkan untuk memberikan volume penuh.

Setiap pipet serologis ditandai dengan angka pengenal (mis., 10 mL dalam 1/10). Yang pertama dari angka-angka ini mewakili total kapasitas pipet. Angka kedua mewakili yang terkecil gradasi di mana pipet dibagi. Sebagai contoh volume total pipet adalah 10 mL. Marka kemudian dibagi menjadi bagian 1-mL dan setiap mililiter dibagi lagi menjadi sepersepuluh. Ukuran pipet serologis yang paling sering digunakan adalah 10 mL dalam 1/10, 5 mL dalam 1/10, 2 mL dalam 1/10, 2 mL dalam 1/100, 1 mL dalam 1/10, dan 1 mL dalam 1/100. Untuk akurasi terbaik, pipet terkecil yang akan menampung volume yang diinginkan harus digunakan.

Yang Perlu Diperhatikan Dalam Penggunaan

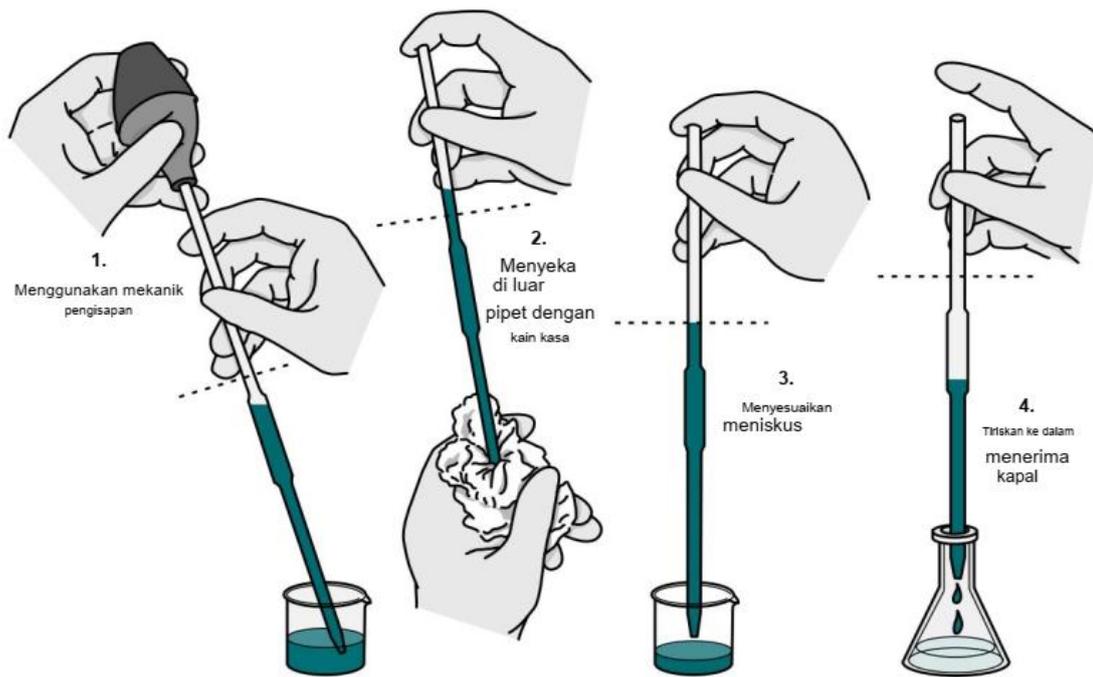
Sebelum digunakan, pipet kaca harus diperiksa apakah pecah atau tidak ujung terkelupas atau kontaminasi. Bola karet pengaman harus digunakan menyedot cairan ke dalam pipet dan mengeluarkan.

1. Aspirasi cairan sekitar 1 inci (2,5 cm) di atas bagian atas (nol) garis pipet.
2. Angkat pipet secara vertikal untuk menghindari masuknya udara / gelembung dan bersihkan permukaan luar dengan bersih kain kasa atau kotak tisu.
3. Bekerja setinggi mata, perlahan-lahan turunkan cairan sehingga meniskus nol.
4. Aspirasi isi pipet ke dalam wadah yang sesuai tabung atau bejana reaksi.
5. Kenakan sarung tangan selama prosedur pemipetan sesuai dengan Kewaspadaan Standar.

TEKNIK PIPETTING

Pipet Manual

Dengan latihan, penting untuk mengembangkan teknik yang baik dalam menangani pipet (Gbr. 1-15). Langkah umum yang sama berlaku untuk pemipetan dengan semua pipet manual, dengan beberapa pengecualian.

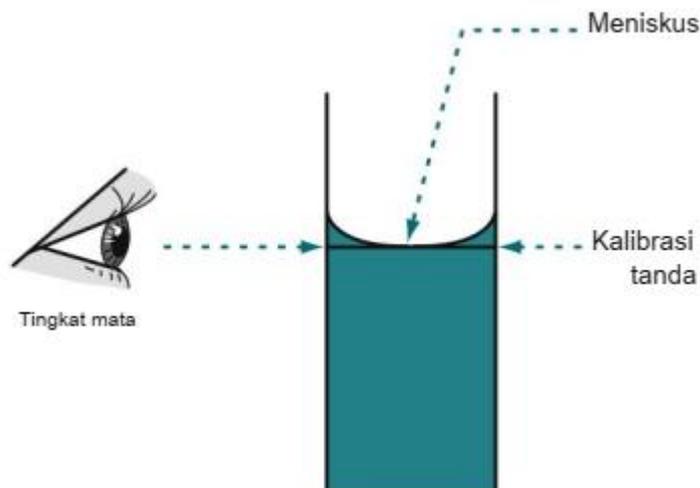


Gambar 1-15. Teknik dalam pemipetan (Manual *et al.*, 2014)

Kesalahan laboratorium sering terjadi akibat teknik pemipetan yang tidak tepat. Potensi bahaya terbesar adalah saat menggunakan mulut untuk menghisap pipet dilakukan sebagai pengganti hisapan mekanis. Pemipetan mulut tidak boleh dilakukan di laboratorium klinis.

Tabel 1-2	Pemipetan Dengan Pipet ukur
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Periksa pipet untuk memastikan ukuran yang benar, hati-hati juga untuk memeriksa pengiriman yang rusak atau ujung hisap 2. Mengenakan sarung tangan pelindung, pegang pipet dengan lembut di antara ibu jari dan tiga jari terakhir, biarkan jari telunjuk bebas. pipet dengan jari telunjuk. cairan yang akan dipipet. 3. Tempatkan ujung pipet jauh di bawah permukaan 4. Dengan menggunakan penyedot mekanis atau bohlam aspirator, tarik cairan dengan hati-hati ke dalam pipet hingga ketinggian cairan jauh di atas tanda kalibrasi. 5. Tutup lubang hisap di bagian atas dengan cepat 6. Lap bagian luar pipet hingga kering dengan selembar tisu Kim Wipe untuk menghilangkan kelebihan cairan.

7. Pegang pipet dalam posisi vertikal dengan ujung pengiriman menghadap ke dalam bejana asli. Dengan hati-hati biarkan cairan di dalam pipet mengalir secara gravitasi sampai bagian bawah meniskus tepat pada tanda kalibrasi. Untuk melakukan ini, jangan lepaskan jari telunjuk sepenuhnya dari ujung lubang hisap pipet; alih-alih, dengan memutar jari sedikit di atas bukaan, biarkan drainase perlahan terjadi.
8. Sambil memegang pipet dalam posisi vertikal, sentuhkan ujung pipet ke dinding bagian dalam bejana penerima. Lepaskan jari telunjuk dari bagian atas pipet untuk memungkinkan drainase bebas. Ingatlah untuk menjaga pipet dalam posisi vertikal untuk drainase yang benar. Dalam pipet TD (untuk mengirim), sejumlah kecil cairan akan tertinggal di ujung pengiriman.
9. Untuk memastikan pengurusan selengkap mungkin, sentuhkan ujung pipet penyalur ke area lain di dinding bagian dalam bejana penerima.



Gambar 1.16 Pembacaan Miniskus (Manual *et al.*, 2014)

Setelah pipet diisi di atas garis atas Tanda volume, dikeluarkan dari pipet, dan dipegang dalam posisi vertikal, meniskus harus disesuaikan. Meniskus adalah kelengkungan di permukaan atas cairan (Gbr. 1-16). Pipet seharusnya disejajarkan dengan mata sehingga tanda kalibrasi dapat dilihat. Semua pembacaan harus sejajar dengan mata sehingga miniskus dapat terlihat. ujung pipet tidak bersentuhan pada dinding bagian dalam pada saat mengepaskan (menepatkan) sesuai tanda kapasitas,

bukan cairan, dan meniskus cairan dalam pipet dikurangi, atau disesuaikan, hingga tanda kalibrasi.

Sebelum cairan yang diukur pada pipet dibiarkan mengalir ke dalam bejana penerima, setiap cairan yang menempel di luar pipet harus dibersihkan dengan kain kasa bersih atau tisu. Jika ini tidak dilakukan, tetesan apa pun yang ada di luar pipet mungkin mengalir ke bejana penerima bersama dengan volume terukur. Ini akan membuat volume lebih dari volume yang diinginkan. Ini menyebabkan kesalahan dalam pengukuran.

Pipet Otomatis

Pipet otomatis memungkinkan pengukuran yang cepat dan berulang pengiriman larutan dengan volume yang sama. Jenis pengambilan sampel mengukur zat yang dimaksud. Jenis pengenceran sampel mengukur zat dan kemudian menambahkan pengencer yang diinginkan. Pengambilan sampel pipet otomatis dioperasikan secara mekanis dan menggunakan pendorong yang dioperasikan dengan piston. Ini dapat disesuaikan sehingga berbagai jumlah reagen atau sampel dapat dikirim dengan perangkat yang sama. Tip sekali pakai dan yang dapat ditukar tersedia untuk pipet ini. Pipet otomatis dan mikropipet harus dikalibrasi sebelum digunakan.

8

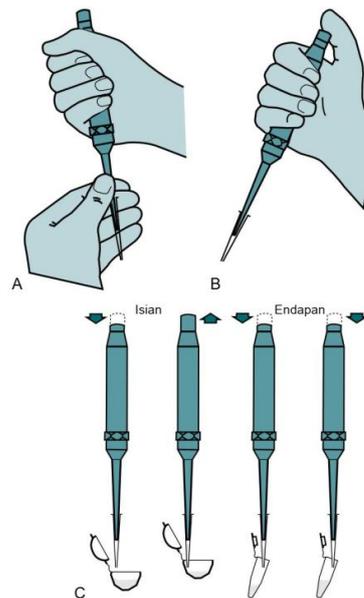
MIKROPIPET

Mikropipet

Perangkat mikropipet otomatis memungkinkan pengukuran berulang yang cepat dan pengiriman volume reagen yang telah ditentukan sebelumnya atau spesimen. Jenis mikropipet yang paling umum digunakan di banyak laboratorium yang otomatis atau semi otomatis, disebut mikropipet. Mikropipet adalah perangkat yang dioperasikan dengan piston memungkinkan pengiriman spesimen yang berulang, akurat, dan dapat direproduksi, reagen, dan cairan lain yang membutuhkan pengukuran dengan jumlah micromililiter. Banyak mikropipet yang terus menerus disesuaikan bahwa volume variabel cairan dapat disalurkan dengan mikropipet yang sama. Volume yang diinginkan

dipilih dengan menyesuaikan pengaturan. Berbagai jenis atau model tersedia, yang memungkinkan volume kisaran yang di butuhkan, misalnya, dari 0,5 hingga 5000 μL . Kalibrasi mikropipet ini harus diperiksa secara berkala.

Piston, biasanya berbentuk pendorong dan digerakkan dengan jempol ditekan ke posisi berhenti pada perangkat pemipetan. Ujungnya adalah ditempatkan dalam cairan yang akan diukur, dan kemudian pendorongnya perlahan dibiarkan naik kembali ke posisi semula (Gbr. 1-17).



Gambar 1-17 Langkah-langkah dalam menggunakan mikropipet otomatis tipe piston. **A**, Memasang ukuran ujung yang tepat untuk kisaran volume pipet, dan ujung puntir saat didorong ke atas pipet untuk memberikan segel yang kedap udara dan terus menerus. **B**, Pegang pipet sebelum digunakan. **C**, Ikuti petunjuk untuk mengisi dan mengosongkan ujung pipet. (Manual *et al.*, 2014)

Mikropipet akan mengisi tip dengan volume cairan yang diinginkan. Tip biasanya ditarik sepanjang dinding bagian dalam bejana dari mana volume yang diukur diambil, sehingga ada yang menempel cairan dikeluarkan dari ujung ujung. Ujung pipet ini biasanya tidak dibersihkan, seperti yang dilakukan dengan pipet manual, karena permukaan plastik dianggap tidak dapat dibasahi. Ujung perangkat pipet kemudian ditempatkan di dinding bagian dalam cup (wadah serum) penerima dan pendorong tertekan. Petunjuk Penggunaan alat sesuai pabrikan untuk perangkat yang digunakan diikuti, volume pengiriman sampel dinilai sangat tinggi.

Ujung pipet biasanya terbuat dari plastik sekali pakai tidak perlu dibersihkan. Berbagai jenis tip tersedia. Beberapa perangkat mikropipet mengeluarkan ujung secara otomatis setelah digunakan. Ini juga akan memungkinkan pengguna untuk memasukkan tip baru dan menghapusnya ujung yang digunakan tanpa menyentuhnya, meminimalkan paparan biohazard menular.

Masalah yang dihadapi dengan pemipetan otomatis bergantung sebagian besar pada sifat larutan yang akan dipipet. Beberapa reagen menyebabkan lebih banyak gelembung daripada yang lain dan beberapa lebih banyak kental. Gelembung dan larutan kental dapat menyebabkan masalah pengukuran dan pengiriman sampel.

Mikropipettor berisi atau mengantarkan 1 hingga 500 μL larutan, penting untuk mengikuti instruksi masing-masing pabrikan untuk perangkat yang digunakan; masing-masing mungkin sedikit berbeda. Secara umum, langkah-langkah berikut berlaku untuk penggunaan mikropipet:

1. Pasang ujung yang sesuai ke pipettor dan atur volume larutan yang diinginkan.
2. Tekan piston ke posisi berhenti di pipettor.
3. Masukkan ujung pipet ke dalam larutan dan biarkan piston naik kembali secara perlahan ke posisi semula (ini mengisi ujung pipettor dengan volume larutan yang diinginkan).
4. Beberapa ujung dilap dengan kain kasa kering pada langkah ini dan beberapa tidak. Ikuti petunjuk produsen alat.
5. Tempatkan ujungnya di dinding bejana penerima dan tepat. tekan piston, pertama ke posisi berhenti di mana cairan dibiarkan mengalir dan kemudian ke posisi berhenti kedua di mana cairan keluar sepenuhnya.
6. Buang tip di wadah pembuangan limbah.
7. Beberapa pipettor secara otomatis mengeluarkan tip bekas, meminimalkan paparan biohazard

Seringkali diperlukan untuk membuat pengenceran spesimen yang dianalisis atau membuat larutan yang lebih lemah dari larutan yang lebih kuat berbagai prosedur laboratorium. Klinisi harus bisa bekerja dengan berbagai masalah pengenceran dan faktor pengenceran. Laboran perlu menentukan konsentrasi antibodi di setiap larutan, jumlah sebenarnya bahan di setiap larutan, dan volume total masing-masing larutan. Semua pengenceran adalah bentuk rasio.

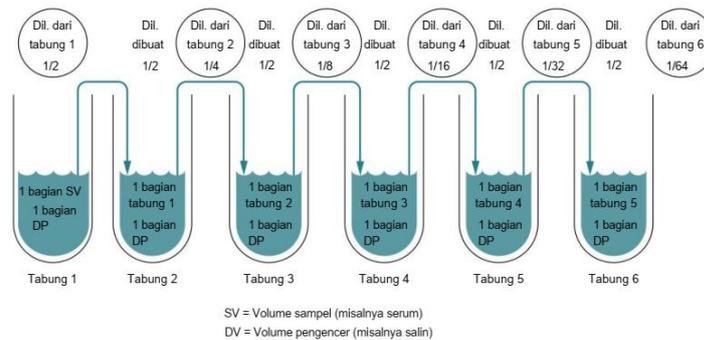
Mengencerkan Spesimen

Dalam sebagian besar penentuan laboratorium, sampel kecil diambil analisis dan hasil akhir dinyatakan sebagai konsentrasi per beberapa volume standar. Dalam prosedur tertentu, 0,5 mL darah diencerkan hingga total 10 mL dengan berbagai reagen dan 1 mL pengenceran ini kemudian dianalisis untuk tertentu konstituen kimia. Hasil akhir harus dinyatakan dalam istilah konsentrasi zat tersebut per 100 mL darah.

Faktor Pengenceran

Faktor pengenceran digunakan untuk mengoreksi karena telah menggunakan pengenceran sampel dalam penentuan dari sampel murni. Hasil pengenceran menggunakan pengenceran harus dikalikan dengan kebalikan dari pengenceran yang dibuat. Misalnya, faktor pengenceran dimana semua jawaban penentuan dikalikan untuk menghasilkan konsentrasi per 100 mL sampel (darah) dapat dihitung sebagai berikut contoh berikut.

Contoh Pembuatan Seri Pengenceran										
	Tabung									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Saline (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Serumpasian atau pengenceran sebelumnya (mL)	1	1 dari 1:2	1 dari 1:4	1 dari 1:8	1 dari 1:16	1 dari 1:32	1 dari 1:64	1 dari 1:128	1 dari 1:256	1 dari 1:512
Pengenceran akhir	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024



Gambar 1-18 Skema pengenceran serial dua kali lipat. (Dari Turgeon ML: Ilmu laboratorium klinis Linné & Ringsrud: teknik dasar dan rutin, ed 6, St Louis, 2012, Mosby, hal. 166.)

DAFTAR PUSTAKA

- Aloisi RM: Principles of immunology and immunodiagnostics, Philadelphia, 1988, Lea & Febiger.
- Baines W, Noble P: Sensitivity limits of latex agglutination tests, *Am Clin Lab* 12:14–18, 1993.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: Bailey and Scott's diagnostic microbiology, ed 12, St Louis, 2007, Mosby
- Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC: Clinical chemistry: theory, analysis, correlation, ed 5, St Louis, 2010, Mosby.
- Lehman CA: Saunders manual of clinical laboratory science, Philadelphia, 1988, WB Saunders.
- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G: Textbook of diagnostic microbiology, ed 4, St Louis, 2011, Mosby.
- McPherson RA, Pincus MR: Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods, ed 22, Philadelphia, 2012, Saunders.
- Turgeon ML: Fundamentals of immunohematology, ed 2, Baltimore, 1998, Williams & Wilkins.
- Chiu, N. H. L. and Christopoulos, T. K. (2012) *Advances in Immunoassay Technology, Advances in Immunoassay Technology*. doi: 10.5772/1967.
- Manual, P. et al. (2014) *Basic Serologic Laboratory Techniques Procedures in IMMUNOLOGY & SEROLOGY IN LABORATORY MEDICINE*.
- Molinaro, R. et al. (2016) *Clinical core laboratory testing, Clinical Core Laboratory Testing*. doi: 10.1007/978-1-4899-7794-6.

Pengenalan program **quality assurance (QA)** rutin dan **quality control (QC)** di laboratorium klinis merupakan kemajuan besar dalam meningkatkan akurasi dan keandalan pengujian. Proses ini memastikan dokter yang memesan tes bahwa metode pengujian telah dilakukan dengan cara terbaik untuk memberikan informasi yang paling berguna dalam mendiagnosis atau menangani pasien. Indikator QA dan QC adalah alat untuk memastikan bahwa hasil laboratorium yang dilaporkan sesuai dengan yang diharapkan. kualitas terbaik.

CLINICAL LABORATORY REGULATORY AND ACCREDITING ORGANIZATIONS

Kongress Amerika Serikat mengesahkan amandemen *Clinical Laboratory Improvement Amendments* pada tahun 1988 (CLIA'88) sebagai tanggapan terhadap kekhawatiran tentang kesalahan pengujian laboratorium. Aturan CLIA terakhir, Persyaratan Laboratorium yang Berkaitan dengan Sistem Mutu dan Kualifikasi Personil Tertentu, diterbitkan dalam *Federal Register* pada bulan Januari 2003. Pemberlakuan CLIA menetapkan ambang batas minimum untuk semua aspek pengujian laboratorium klinis

Voluntary standards telah ditetapkan oleh The Joint Commission (TJC), Commission on Office Laboratory Accreditation (COLA), dan College of American Pathologists (CAP). berisi daftar komprehensif kebijakan yang disetujui, praktik yang dapat diterima, dan tindakan pencegahan, termasuk Kewaspadaan Standar Darah dan Cairan Tubuh. Peraturan khusus yang sesuai dengan persyaratan negara bagian dan umum saat ini, seperti peraturan Administrasi Keselamatan dan Kesehatan Kerja (OSHA), harus Perkembangan terbaru dalam akreditasi sukarela yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas adalah diperkenalkannya ISO 15189. Organisasi Internasional untuk Standardisasi (ISO) adalah pengembang dan penerbit standar internasional non-pemerintah terbesar di dunia. Standar dan sertifikasi ISO banyak digunakan oleh industri, namun ISO 15189 kini telah dirumuskan untuk laboratorium klinis. ISO 15189 telah mendapatkan pengakuan di luar negeri sebagai akreditasi wajib, seperti di Australia, Ontario, dan banyak negara Eropa.

Di Amerika Serikat, akreditasi ISO 15189 tetap bersifat opsional. Persyaratan mutu dan kompetensi dalam ISO 15189 bersifat unik karena mempertimbangkan persyaratan khusus lingkungan medis dan pentingnya laboratorium medis bagi perawatan pasien. CAP 15189 adalah akreditasi sukarela yang tidak diatur terhadap standar ISO 15189:2007 yang diterbitkan oleh ISO. CAP 15189 tidak menggantikan Program Akreditasi Laboratorium CAP yang berbasis CLIA, namun melengkapi akreditasi CAP dan sistem mutu lainnya dengan mengoptimalkan proses untuk meningkatkan pelayanan pasien, memperkuat penerapan standar mutu, mengurangi kesalahan dan risiko, serta mengendalikan biaya.

FAKTOR NON ANALYTICAL TERKAIT UNTUK MENGUJI AKURASI

Personil Berkualitas

Kompetensi personil merupakan faktor penting penentu mutu hasil laboratorium. Hanya personel yang tersertifikasi dengan baik yang dapat melakukan **pengujian tanpa pengecualian** (tingkat pengujian laboratorium).

Kebijakan Laboratorium yang Ditetapkan

Kebijakan laboratorium harus dimasukkan dalam manual referensi laboratorium yang tersedia bagi semua personel rumah sakit. Setiap laboratorium harus memiliki manual keselamatan terkini. Manual ini berisi daftar komprehensif kebijakan yang disetujui, praktik yang dapat diterima, dan tindakan pencegahan, termasuk Kewaspadaan Standar Darah dan Cairan Tubuh. Peraturan khusus yang sesuai dengan persyaratan negara bagian dan umum saat ini, seperti peraturan Administrasi Keselamatan dan Kesehatan Kerja (OSHA), harus disertakan dalam manual.

Manual Prosedur Laboratorium

Manual prosedur laboratorium yang lengkap untuk semua prosedur analitis yang dilakukan di laboratorium harus disediakan. Manual ini harus ditinjau secara berkala, dalam beberapa kasus setiap tahun, oleh staf pengawas dan diperbarui sesuai kebutuhan. Institut Standar Klinis dan Laboratorium (CLSI) merekomendasikan agar manual ini mengikuti pola tertentu dalam mengatur prosedur (Tabel 2-1).

Permintaan Tes Pemeriksaan Laboratorium

Tes laboratorium harus mencakup hal-hal berikut: (1) data identifikasi pasien; (2) waktu dan tanggal pengambilan spesimen; (3) sumber spesimen; dan (4) analisis

yang akan dilakukan. Informasi pada wadah specimen yang disertakan harus sama persis dengan identifikasi pasien pada permintaan tes.

Identifikasi Pasien, Pengadaan Spesimen, dan Pelabelan

Pasien harus diidentifikasi secara cermat. Untuk pasien rawat jalan, identifikasi dapat divalidasi dengan dua bentuk identifikasi. Dengan menggunakan informasi pemrosesan spesimen yang sudah ada, spesimen klinis harus diberi label atau identifikasi dengan benar setelah diperoleh dari pasien. Aturan penting adalah bahwa hasil analisis hanya akan sebaik spesimennya. Spesimen harus diangkut secara efisien ke laboratorium

Untuk menghilangkan sumber kesalahan pretesting yang paling sering terjadi, pasien harus teridentifikasi positif ketika spesimen darah diperoleh. Spesimen ini harus dikumpulkan dan diberi label dengan benar. Secara umum, **spesimen yang mengalami hemolisis** tidak boleh digunakan untuk pengujian serologi

Tabel 2-1. Adaptasi dari buku Clinical and Laboratory Standards Institute: Clinical laboratory technical procedure manual: approved guideline, ed 4, Wayne, Pa, 2002, CLSI Document GP2-A4

Tabel 2-1	Protokol Prosedural Tertulis
	<ul style="list-style-type: none">• Nama prosedur• Nama metode pengujian• Prinsip dan tujuan pengujian• Pengumpulan dan penyimpanan specimen• Pengendalian mutu• Reagen, persediaan, dan peralatan• Protokol procedural• Nilai (referensi) yang diharapkan atau normal• Catatan prosedur:<ul style="list-style-type: none">• Sumber kesalahan• Keterbatasan• Aplikasi klinis

Pemeliharaan alat Laboratorium

Mikroskop, sentrifuge, dan peralatan lainnya perlu dibersihkan dan diperiksa keakuratannya. Jadwal pemeliharaan preventif harus diikuti untuk semua peralatan otomatis. Kegagalan memantau peralatan secara teratur dapat menghasilkan hasil pengujian yang tidak akurat dan menyebabkan perbaikan yang mahal.

Metode Pengujian yang Sesuai

Setiap laboratorium harus memiliki penilaian rutin untuk semua prosedur, yang dilakukan setiap hari, mingguan, atau bulanan, untuk mendeteksi masalah. Jika ditemukan masalah seperti ini, maka masalah tersebut harus diperbaiki sesegera mungkin.

Bagian lain dari program pengendalian mutu berkaitan dengan cara prosedur baru divalidasi sebelum dimasukkan ke dalam metode yang secara rutin digunakan oleh laboratorium. Setiap laboratorium harus menentukan kemampuan reproduksi (atau **batas kepercayaan**) untuk setiap prosedur yang digunakan dan menetapkan batas variasi yang dapat diterima untuk pesimen kontrol.

Hasil Tidak Akurat

Ketidakkuratan dalam pengujian dapat bersifat sistematis atau sporadis. Kesalahan **sistematis** dapat dihilangkan dengan program yang memantau peralatan, reagen, dan persediaan lainnya. Kesalahan yang sporadis atau terisolasi dalam teknik dapat menghasilkan hasil positif palsu dan negative palsu, tergantung pada teknik yang digunakan untuk pengujian (Tabel 2-2).

Tabel 2-2 Kemungkinan Penyebab Kesalahan Teknis

Kesalahan Positif Palsu

- Sentrifugasi berlebihan
- Peralatan gelas kotor
- Serum pasien hemolisis
- Penyebaran campuran sel serum yang disentrifugasi tidak memadai
- Inkubasi diperpanjang

Kesalahan Negatif Palsu

- Serum hilang
- Menghilangkan reagen dari campuran uji
- Undersentrifugasi campuran sel serum
- Pengocokan yang kuat dari campuran sel serum yang disentrifugasi

Kesalahan Positif Palsu atau Negatif Palsu

- Pelabelan tabung reaksi salah
- Penambahan reagen yang salah ke dalam tabung reaksi
- Salah membaca atau menafsirkan hasil
- Pencatatan hasil yang tidak akurat
- Reagen yang kadaluarsa atau tidak disimpan dengan benar

Metode Pengujian yang Tepat Setiap laboratorium harus memiliki penilaian rutin untuk semua prosedur, yang dilakukan setiap hari, mingguan, atau bulanan, untuk mendeteksi masalah. Jika ditemukan masalah seperti ini, maka masalah tersebut harus diperbaiki sesegera mungkin. Peraturan CLIA mengamanatkan bahwa setiap masalah atau situasi yang mungkin mempengaruhi hasil tes dicatat dan dilaporkan. Insiden ini dapat melibatkan spesimen yang dikumpulkan, diberi label, atau diangkut ke laboratorium secara tidak tepat atau masalah terkait waktu penyelesaian pengujian yang hasil terlalu lama. Harus ada upaya yang wajar untuk memperbaiki masalah atau situasi dan semua langkah dalam proses ini harus didokumentasikan.

KESALAHAN TERKAIT TAHAP PENGUJIAN

Institute for Quality Laboratory Medicine telah mengembangkan langkah-langkah untuk mengevaluasi kualitas di laboratorium berdasarkan fase pengujian pra analitis, analitis, dan post analitik. Pengendalian mutu memantau keakuratan dan reproduktifitas hasil melalui penggunaan spesimen kontrol. Kegunaan diagnostik suatu pengujian dan prosedurnya dinilai dengan menggunakan evaluasi statistik, seperti deskripsi keakuratan dan keandalan pengujian dan metodologinya. Kesalahan yang

terjadi selama tahap analisis pengujian di laboratorium klinis kini relatif jarang terjadi. Saat ini, sebagian besar kesalahan laboratorium terkait dengan fase pengujian pra-analisis dan pasca-analisis. Untuk menjamin hasil laboratorium dengan kualitas terbaik dan untuk mematuhi peraturan CLIA, berbagai faktor praanalisis perlu dipertimbangkan (Tabel 2-3 dan 2-4).

Tabel 2-3	Kesalahan Praanalitik
	Permintaan tes salah Spesimen diperoleh dari pasien yang salah Spesimen diperoleh pada waktu yang salah Spesimen dikumpulkan pada tabung atau wadah yang salah Spesimen darah dikumpulkan dalam urutan yang salah Pelabelan spesimen salah Pemrosesan spesimen yang tidak tepat

Tabel 2-4	Kesalahan Pasca Analitik
	Mencatat hasil dengan tidak akurat Melaporkan hasil secara lisan untuk pasien yang salah

Pengendalian Mutu

Kegiatan pengendalian mutu meliputi pemantauan kinerja instrument laboratorium, reagen, produk pengujian lainnya, dan peralatan. Catatan tertulis kegiatan QC untuk setiap proses tugas atau fungsi harus mencakup rincian penyimpangan dari hasil yang biasa, masalah, atau kegagalan dalam fungsi atau prosedur analitis dan setiap tindakan perbaikan yang diambil dalam menanggapi masalah ini. Semua larutan dan peralatan yang digunakan dalam pengujian harus diperiksa secara teliti sebelum benar-benar digunakan untuk menguji sampel pasien.

Pengertian Pengendali Mutu

Pengendalian mutu terdiri dari prosedur yang digunakan untuk mendeteksi kesalahan yang diakibatkan oleh kegagalan sistem pengujian, kondisi lingkungan yang

merugikan, dan perbedaan antar ahli teknologi, serta pemantauan keakuratan dan ketepatan kinerja pengujian dari waktu ke waktu. Badan akreditasi memerlukan pemantauan dan dokumentasi catatan penilaian kualitas. Dokumentasi QC mencakup catatan pemeliharaan preventif, grafik suhu, dan grafik QC untuk pengujian tertentu.

Pengendalian mutu memantau keakuratan dan reproduktifitas hasil melalui penggunaan spesimen kontrol. Kegunaan diagnostik suatu pengujian dan prosedurnya dinilai dengan menggunakan evaluasi statistik, seperti deskripsi keakuratan dan keandalan pengujian dan **metodologinya**.

Istilah *akurasi* dan *presisi* sering digunakan untuk menggambarkan kualitas. **Akurasi** menggambarkan seberapa dekat suatu hasil tes dengan kebenaran nilai. **Presisi** menggambarkan seberapa dekat hasil pengujian satu sama lain ketika analisis berulang terhadap spesimen yang sama dilakukan. Ketelitian yang tinggi dapat dicapai jika semua personel laboratorium yang melakukan prosedur yang sama tiba di tempat pengujian jawaban yang sama, tetapi tidak akurat jika jawabannya tidak mewakili nilai sebenarnya yang diuji. Akurasi dapat ditingkatkan dengan hal-hal berikut :

- Penggunaan prosedur standar yang tepat.
- Perbandingan metode metode baru dengan metode-metode baru yang valid secara statistic metode referensi yang ditetapkan
- Penggunaan sampel dengan nilai yang diketahui (kontrol)
- Partisipasi dalam program pengujian profisiensi

Ketepatan suatu tes, kemampuan reproduksinya, dapat dinyatakan sebagai **standar deviasi (SD)** atau turunan **koefisien variasi (CV)**. Suatu prosedur mungkin sangat akurat, namun sangat sulit dilakukan sehingga personel laboratorium tidak dapat mencapai nilai yang cukup mendekati makna klinis.

Presisi dapat dipastikan dengan memasukkan standar, sampel referensi, dan/atau larutan kontrol dengan tepat, valid secara statistik, mengulangi penentuan sampel tunggal, atau menduplikasi penentuan sampel yang tidak diketahui dalam jumlah yang cukup.

Presisi sehari-hari dan antar-pengoperasian diukur dengan memasukkan sampel buta dan spesimen kontrol.

Koefisien variasi

CV dapat digunakan untuk membandingkan standar deviasi dua sampel. Simpangan baku tidak dapat dibandingkan secara langsung tanpa mempertimbangkan meannya. CV dapat digunakan untuk membandingkan pekerjaan suatu hari dengan pekerjaan pada hari yang sama atau untuk membandingkan hasil pengujian dari satu laboratorium dengan jenis hasil pengujian yang sama dari laboratorium lain. Koefisien variasi (%) sama dengan simpangan baku dibagi mean, sebagai berikut:

$$CV(\%) = \frac{SD}{Mean} \times 100$$

Sensitivitas dan Spesifisitas

Hasil laboratorium harus memberikan informasi yang berguna secara medis, termasuk sensitivitas dan spesifisitas tes yang diperintahkan dan dilaporkan. Sensitivitas dan spesifisitas merupakan karakteristik yang diinginkan untuk suatu tes, namun dalam situasi klinis yang berbeda, umumnya lebih disukai yang satu daripada yang lain. Penggunaan reagensia dengan merek tertentu akan memperangaruhi Sensitivitas dan spesifisitas suatu laboraratorium.

Untuk menilai sensitivitas dan spesifisitas suatu tes memerlukan empat faktor: tes positif, tes negatif, ada penyakit (positif), dan tidak ada penyakit (negatif). Positif sejati adalah subjek yang hasil tesnya positif dan juga mengidap penyakit yang dimaksud. Negatif sejati mewakili mereka yang memiliki hasil tes negatif tetapi tidak mengidap penyakit tersebut. Positif palsu adalah mereka yang hasil tesnya positif tetapi tidak mengidap penyakit. Negatif palsu adalah mereka yang hasil tesnya negatif namun mengidap penyakit.

Sensitivitas

Sensitivitas tes didefinisikan sebagai proporsi subjek dengan penyakit atau kondisi tertentu yang memiliki hasil tes positif (yaitu, tes memprediksi dengan tepat hasil positif) :

$$\text{Sensitivity (\%)} = \frac{\text{True positives}}{\text{True positives} + \text{False negatives}} \times 100$$

Secara praktis, sensitivitas mewakili seberapa banyak suatu zat diukur; semakin sensitif suatu tes, semakin kecil jumlah zat uji yang diukur.

Specificity

Kekhususan tes didefinisikan sebagai proporsi subjek tanpa penyakit atau kondisi tertentu yang memiliki hasil tes negatif (yaitu, pengujian dengan benar mengecualikan hasil negatif) :

$$\text{Specificity (\%)} = \frac{\text{True negatives}}{\text{False positives} + \text{True negatives}} \times 100$$

Secara praktis, kekhususan mewakili apa yang diukur. Tes yang sangat spesifik hanya mengukur substansi uji yang dimaksud; itu tidak mengukur zat yang mengganggu atau serupa.

Predictive Values

Untuk menilai **Predictive Values (PV)** suatu pemeriksaan, harus diketahui sensitivitas, spesifisitas, dan prevalensi penyakit pada populasi yang diteliti. Prevalensi suatu penyakit adalah proporsi penduduk yang mengidap penyakit tersebut. Angka kejadiannya adalah jumlah subjek yang ditemukan mengidap penyakit dalam jangka waktu tertentu, misalnya 1 tahun, dalam populasi 100.000 orang.

Nilai prediksi positif untuk suatu tes menunjukkan jumlah pasien dengan hasil tes abnormal yang mengidap penyakit tersebut dibandingkan dengan seluruh pasien dengan hasil tes abnormal:

$$\text{Positive PV} = \frac{\text{Number of patients with disease and with abnormal test results}}{\text{Total number of patients with abnormal test results}}$$

$$\text{Positive PV} = \frac{\text{True positives}}{\text{True positives} + \text{False positives}}$$

Nilai prediksi negatif untuk suatu tes menunjukkan jumlah pasien dengan hasil tes normal namun tidak menderita penyakit tersebut dibandingkan dengan seluruh pasien dengan hasil tes normal (negatif):

$$\text{Negative PV} = \frac{\text{True negatives}}{\text{True negatives} + \text{False negatives}}$$

Kontrol Kualitas Pemeriksaan

Proficiency Testing

Proficiency Testing (PT) dimasukkan ke dalam persyaratan CLIA. Selain penggunaan program QC internal, setiap laboratorium harus berpartisipasi dalam program PT eksternal sebagai sarana verifikasi keakuratan laboratorium. Secara berkala, laboratorium menguji spesimen yang disediakan oleh lembaga pemerintah, masyarakat profesional, atau perusahaan komersial.

Sampel yang identik dikirim ke sekelompok laboratorium yang berpartisipasi dalam program PT. Setiap laboratorium menganalisis spesimen, melaporkan hasilnya kepada lembaga, dan dievaluasi serta dinilai berdasarkan hasil tersebut dibandingkan dengan hasil dari laboratorium lain. Dengan cara ini, kendali mutu antar laboratorium dipantau.

Control Specimens

QC (*Quality Control*) untuk laboratorium menggunakan **spesimen kontrol**, yaitu spesimen dengan nilai yang diketahui dan komposisinya mirip dengan darah pasien. Spesimen kontrol harus dilakukan melalui seluruh prosedur pengujian dan diperlakukan dengan cara yang persis sama seperti spesimen yang tidak diketahui. contoh; itu harus dipengaruhi oleh semua variabel yang mempengaruhi spesimen yang tidak diketahui. Spesimen kontrol digunakan karena penentuan berulang-ulang pada bagian (atau **alikuot**) yang sama atau berbeda dari sampel yang sama tidak akan memberikan nilai yang sama. Banyak faktor yang dapat menghasilkan variasi dalam analisis laboratorium. Dengan sistem kendali yang dirancang dengan baik, dimungkinkan untuk memantau variabel pengujian.

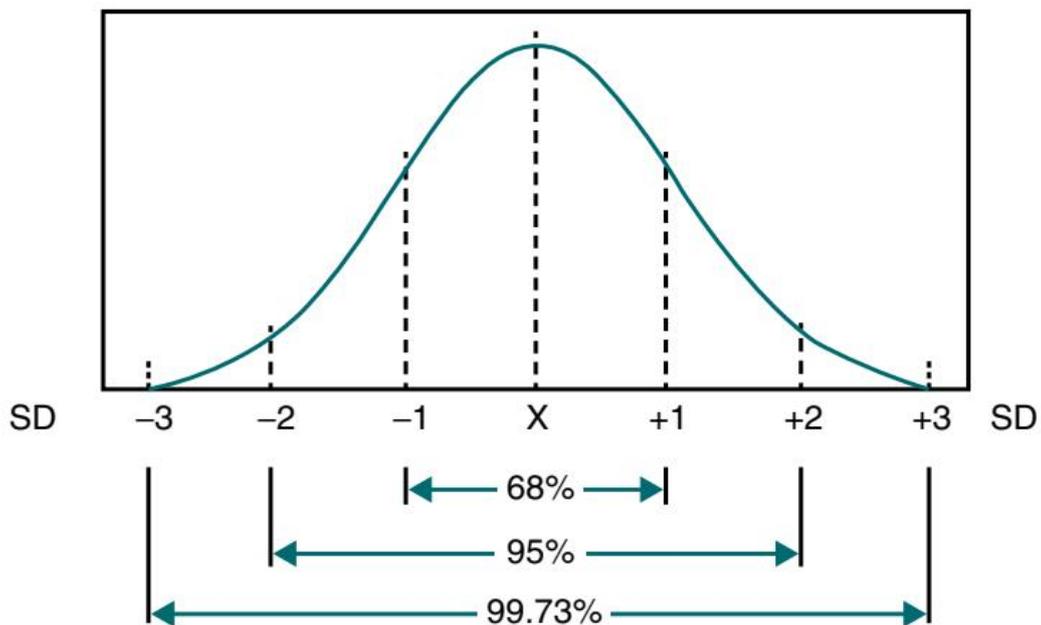
Jika nilai kendali dalam suatu penentuan berada di luar kisaran yang dapat diterima (di luar kendali), satu atau lebih faktor berikut mungkin menjadi penyebabnya:

1. Kerusakan reagen atau standar
2. Kerusakan instrumen atau peralatan

3. Peralatan gelas kotor
4. Kurangnya perhatian terhadap waktu atau suhu inkubasi
5. Penggunaan metode yang tidak sesuai dengan kebutuhan dan fasilitas laboratorium
6. Penggunaan teknik yang buruk oleh teknolog yang melakukan pengujian
7. Statistik: persentase tertentu dari seluruh penentuan akan secara statistik di luar kendali.

REFERENSI RANGE STATISTIK

Dalam uji imunologi analitik dan serologi yang menggunakan metode seperti enzim immunoassay, statistik rentang referensi kuantitatif dapat digunakan. Secara statistik, **rentang referensi** untuk pengukuran tertentu biasanya berhubungan dengan kurva normal berbentuk lonceng (Gbr. 2-1). **Kurva Gaussian** ini telah terbukti benar untuk hampir semua jenis pengukuran biologis, kimia, dan fisik. Serangkaian individu yang valid secara statistik yang dianggap mewakili kelompok sehat normal diukur dan nilai rata-ratanya dihitung. Rata-rata matematis ini didefinisikan sebagai mean (\bar{X} , disebut X-bar). Distribusi semua nilai di sekitar rata-rata untuk kelompok tertentu yang diukur dijelaskan secara statistik dengan SD rata-rata matematis dihitung dengan membagi jumlah seluruh nilai individu dengan banyaknya nilai.



Gambar 2-1 Normal, bell-shaped Gaussian curve. *SD*, Standard deviation. (From Turgeon ML: Linné and Ringsrud's clinical laboratory science: the basics and routine techniques, ed 6, St Louis, 2012, Mosby.)

Median Nilai tengah dalam kumpulan data; jika semua variabel diurutkan berdasarkan besarnya, median adalah variabel yang berada di tengah-tengah antara variabel tertinggi dan terendah

Nilai **Mode** yang paling sering muncul dalam kumpulan data Penggunaan mean, median, dan modus dijelaskan pada contoh berikut:

Serangkaian hasil yang dilaporkan untuk pengujian laboratorium pada tujuh spesimen berbeda = 7, 2, 3, 6, 5, 4, dan 2

Rata-rata matematis dihitung dengan membagi jumlah seluruh nilai individu dengan banyaknya nilai. Rata-rata adalah rata-rata matematis dan dihitung dengan menjumlahkan nilai (29) dan membaginya dengan banyaknya nilai (7) dalam daftar. Rataratanya adalah 4,1 (dibulatkan menjadi 4)

Median sama dengan nilai tengah. Untuk mencari median, daftar angka harus diurutkan terlebih dahulu berdasarkan besarnya: 2, 2, 3, 4, 5, 6, 7. Ada tujuh nilai dalam daftar tersebut, dan mediannya adalah nilai tengah, 4.

Modus adalah nilai yang paling sering muncul, atau 2 dalam contoh ini.

Deviasi standar adalah akar kuadrat dari varian nilai dalam satu pengamatan atau serangkaian hasil tes. Dalam populasi normal, 68% nilai akan dikelompokkan di atas dan di bawah rata-rata dan didefinisikan secara statistik sebagai nilai yang termasuk dalam nilai tersebut. deviasi standar pertama (± 1 SD; lihat Gambar 8-1). Standar deviasi kedua (± 2 SD) mewakili 95% nilai yang berada di atas dan di bawah rata-rata, dan 99,7% termasuk dalam standar deviasi ketiga (± 3 SD). (Sekali lagi, variasi muncul sama besar di atas dan di bawah rata-rata nilai [atau rata-rata] untuk pengukuran apa pun.) Jadi, dalam menentukan nilai referensi untuk pengukuran tertentu, serangkaian orang yang valid secara statistik dipilih dan diasumsikan mewakili populasi yang sehat. Orang-orang ini kemudian diuji dan hasilnya dirata-rata.

Rentang rujukan adalah rentang nilai yang mencakup 95% hasil tes untuk populasi rujukan yang sehat. Istilah ini menggantikan **nilai normal**, atau rentang normal. Batasan (atau rentang) normal didefinisikan dalam bentuk deviasi standar dari nilai rata-rata. Jadi, nilai normal atau referensi dinyatakan sebagai rentang nilai dalam satuan SD

HASIL PENGUJIAN

Sebelum dokter dapat menentukan apakah seorang pasien mengidap suatu penyakit, mereka harus mengetahui apa yang dapat diterima untuk mewakili populasi pasien yang serupa (misalnya, usia yang sama, jenis kelamin yang sama, etnis yang sama), serta metode analisis yang digunakan untuk suatu pengujian. Selain itu, seseorang mungkin menunjukkan variasi harian, sirkadian, dan fisiologis. **Median** Nilai tengah dalam kumpulan data; jika semua variabel diurutkan berdasarkan besarnya, median adalah variabel yang berada di tengah-tengah antara variabel tertinggi dan terendah. Secara statistik di luar kendali, meskipun nilai yang diterima secara umum telah dipublikasikan, nilai referensi akan bervariasi, terutama antar laboratorium dan antar laboratorium lokasi geografis. Setiap laboratorium harus memberikan dokter informasi mengenai kisaran nilai referensi untuk itu laboratorium tertentu.

VALIDASI PROSEDUR BARU

Program QC (*Quality Control*) juga menentukan bagaimana prosedur baru divalidasi sebelum dimasukkan sebagai salah satu metode secara rutin digunakan oleh laboratorium. Setiap laboratorium harus menentukan digunakan oleh laboratorium. Setiap laboratorium harus menentukan digunakan oleh laboratorium. Setiap laboratorium harus menentukan nilai rata-rata dan standar deviasi serta penyusunannya peta kendali untuk setiap prosedur.

Pengujian Paralel pada Alat Uji

Persyaratan untuk pengujian paralel alat uji berbeda-beda tergantung pada lembaga akreditasi Anda. Misalnya, CAP (*College of American Pathologists*) dan *Clinical Laboratory Improvement Acts* (CLIAS) persyaratan yang sedikit berbeda. Ada juga perbedaan dalam persyaratan, tergantung keadaan. Apakah Anda mengganti produsen dan alat uji, atau hanya mengganti lot saja nomor untuk kit yang sama?

CAP menegaskan bahwa pengujian yang tidak menggunakan CLIA tidak diakui dan laboratorium harus memperlakukan semua pengujian dengan cara yang sama yang terbaik adalah memeriksa daftar periksa imunologi di www.cap.org Untuk revisi terbaru untuk pertanyaan terkait kit.

Inspeksi CLIA berfokus pada hal-hal berikut:

Jika tes tersebut memiliki kompleksitas sedang atau tinggi dan perubahannya adalah pada produsen kit baru, test kit baru perubahannya adalah pada produsen kit baru, test kit baru dilakukan dengan kontrol, sampel lain yang diketahui, atau perbandingan dengan peralatan lama. Jika laboratorium menerima yang baru banyak pengiriman alat tes yang sama, hanya kontrol yang perlu dilakukan, atau apa pun yang diminta oleh pabrikan.

Jika tes tersebut merupakan tes yang dikesampingkan, laboratorium hanya perlu melakukannya ikuti petunjuk pabriknya jika pengujian baru dilakukan mulai digunakan atau jika ada banyak perubahan pada tes saat ini. aturan ini juga berlaku jika uji yang dikesampingkan dilakukan di laboratorium dengan kompleksitas sedang atau tinggi. Jika suatu pengujian dikesampingkan di mana pun, itu dilakukan di bawah Persyaratan CLIA.

Validasi Penulisan Prosedur Baru

Setiap karyawan harus mengembangkan daftar periksa prosedur berikut format prosedural CLSI. Sisipan paket pabrikan atau buku sebaiknya digunakan sebagai sumber informasi. Setelah menyelesaikan protokol prosedural CLSI, sesama karyawan harus menyelesaikannya menilai tulisannya.

Tabel 2-5. Validasi Penulisan Prosedur Baru. Adapted from Paul JR, Bunnell WW: The presence of heterophil antibodies in infectious mononucleosis, *Am J Med Sci* 183:90–104, 1932; and Sumaya CV: Infectious mononucleosis and other EBV infections: diagnostic factors, *Lab Manage* 24:37–45, 1986

Format	Detail Prosedur	Evaluasi Penulisan	Dapat diterima: Ya/Tidak (tambahkan komentar sesuai kebutuhan)
Judul	Tes Skrining Paul-Bunnell untuk	Apakah judulnya jelas dan spesifik?	

	Penyakit Menular Mononukleosis		
Tujuan atau prinsip pengujian	<p>Tes Paul-Bunnell adalah tes hemaglutinasi dirancang untuk mendeteksi antibodi heterofil dalam serum pasien ketika dicampur dengan eritrosit domba yang mengandung antigen. Pengenceran serum pasien yang diinaktivasi dicampur dengan eritrosit domba, diinkubasi, disentrifugasi, dan diperiksa secara makroskopis untuk mengetahui aglutinasinya. Reaksi positif pada awalnya dikaitkan dengan manifestasi penyakit menular Judul mononukleosis.</p>	Apakah prinsip atau tujuan pengujian dinyatakan dengan jelas?	
Pengumpulan dan Persiapan Spesimen			
Spesimen pendahuluan	<p>Tidak diperlukan persiapan khusus dari pasien sebelum pengambilan spesimen. Pasien harus diidentifikasi secara positif ketika spesimen diambil. Spesimen harus diberi label di samping tempat tidur dan mencantumkan nama lengkap pasien, tanggal pengambilan spesimen, nomor identifikasi rumah</p>	<p>Apakah persyaratan pengumpulan spesimen dinyatakan dengan jelas? Apakah ada yang special persyaratan pemrosesan spesimen dinyatakan?</p>	

	<p>sakit pasien, dan inisial ahli phlebotomist.</p> <p>Darah harus diambil dengan teknik aseptik.</p> <p>Spesimen yang diperlukan minimal 2 mL darah beku (tabung evakuasi dengan bagian atas berwarna merah).</p> <p>Sentrifugasi tabung darah dan keluarkan sebagian serum bening.</p> <p>Adanya hemolisis membuat spesimen tidak cocok untuk pengujian.</p> <p>Nonaktifkan serum pada suhu 56°C selama 30 menit sebelum pengujian</p>		
Reagen, persediaan, dan peralatan	<p>Suspensi 2% sel domba yang dicuci dalam larutan garam normal (dibuat dengan memipet 0,2 mL eritrosit yang dikemas ke dalam 9,8 mL larutan garam)</p> <p>0,9% natrium klorida (garam fisiologis normal) tabung reaksi 12 × 75 mm</p> <p>Catatan: Sel tidak boleh berumur lebih dari 1 minggu.</p> <p>Pipet serologi bertingkat</p> <p>Mesin sentrifugal</p> <p>Inkubator 37°C (opsional)</p>	Apakah semua reagen, persediaan, dan peralatan yang diperlukan sudah tercantum?	
Kontrol kualitas			

serum kontrol positif; serum kontrol negative	Kontrol positif yang diketahui harus dijalankan secara bersamaan.	Apakah QCnya persyaratan dinyatakan?	
Langkah-langkah procedural	<ol style="list-style-type: none"> 1. Beri label pada dua set tabung reaksi. Setiap set harus terdiri dari 10 tabung. 2. Pipet 0,5 mL saline ke dalam tabung 1 dan 0,25 mL saline ke masing-masing sembilan tabung yang tersisa. 3. Ke dalam tabung set pertama, tambahkan 0,1 mL serum pasien yang tidak aktif ke dalam tabung pertama; campur dan pindahkan 0,25 mL pengenceran ke tabung kedua; campur dan pindahkan 0,25 mL pengenceran ke tabung ketiga. Ulangi proses ini ke tabung 10. Buang 0,25 mL dari tabung terakhir, tabung 10. 4. Ke dalam tabung set kedua, tambahkan 0,1 mL serum kontrol dan lanjutkan mengencerkannya seperti pada langkah 3. 5. Tambahkan 0,1 	Apakah langkah-langkah dalam prosedur ini dapat dimengerti? Bisakah prosedurnya dilakukan seperti yang dijelaskan?	

	<p>mL sel domba 2% ke setiap tabung.</p> <p>6. Kocok perlahan tabung hingga tercampur.</p> <p>7. Inkubasi tabung pada suhu 37°C selama 1 jam atau semalaman pada suhu kamar.</p> <p>8. Sentrifugasi tabung selama 1 menit dengan kecepatan 1500 rpm.</p> <p>9. Kocok perlahan setiap tabung dan periksa secara makroskopis untuk mengetahui adanya aglutinasi.</p> <p>10. Catat hasilnya.</p>		
Hasil Pelaporan			
Reaksi positif	Titer >1:56 dianggap sebagai tes dugaan positif.		
Reaksi negative	Antigen pada eritrosit domba berhubungan dengan mononukleosis menular, penyakit serum, dan antigen Forssman		
Hasil Pelaporan—lanjutan			
Catatan prosedur		Apakah kriteria untuk hasil yang dapat diterima didefinisikan dengan jelas?	
Sumber kesalahan	Reaksi positif palsu telah diamati pada		

	<p>kondisi seperti infeksi hepatitis dan penyakit Hodgkin. Serum yang tidak diinaktivasi dengan benar akan menghasilkan hemolisis.</p>		
Keterbatasan	<p>Tes ini hanya menunjukkan ada tidaknya antibodi heterofil. Mendemonstrasikan aglutinasi dengan menggunakan domba eritrosit tidak membedakan antara antibodi yang terkait dengan mononukleosis menular, penyakit serum, atau antigen Forssman. Uji antibodi heterofil kurang sensitif sebagai kriteria diagnostik untuk mononukleosis menular. Eritrosit domba kurang sensitif dibandingkan eritrosit dari spesies lain seperti kuda. Seorang pasien mungkin memerlukan waktu selama 3 bulan untuk mengembangkan titer heterofil yang terdeteksi.</p>		
Aplikasi klinis	<p>Tes Paul-Bunnell adalah tes skrining yang berguna untuk adanya antibodi heterofil karena</p>		

	<p>sederhana dan murah. Meskipun kekhususan uji heterofil dinilai baik, hasil negatif ditunjukkan pada individu yang tidak menghasilkan antibodi heterofil mononukleosis menular.</p> <p>Namun, jika hasil negatif ditampilkan, serologi virus Epstein-Barr (EBV) dapat diindikasikan.</p>		
<p>Pertanyaan umum: Apakah semua bidang yang diperlukan dalam format CLSI telah ditangani?</p>			
<p>Komentar umum tambahan:</p> <p>Peninjau pengawas:</p>		<p>Tanggal :</p> <p>Tanggal :</p>	

DAFTAR PUSTAKA

- Astion ML, Shojanian KG, Hamill TR, et al: Classifying laboratory incident reports to identify problems that jeopardize safety, *Am J Clin Pathol* 120:18–26, 2003.
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DB, editors: *Tietz fundamentals of clinical chemistry*, ed 6, St Louis, 2008, Saunders.
- Campbell JB, Campbell JM: *Laboratory mathematics: medical and biological applications*, ed 5, St Louis, 1997, Mosby.
- Centers for Disease Control and Prevention: *Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA): equivalent quality control procedures*, Brochure no. 4, 2004.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2) Centers for Medicare & Medicaid Services (CMS)HHS: *Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2) Centers for Medicare & Medicaid Services (CMS)HHS: Medicare, Medicaid, and CLIA Programs. Laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications: final rule*, *Fed Regist* 68:3639–3714, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute: *Training and competence assessment: approved guideline*, ed 2, Wayne, 2004, Pa. CLSI Document GP21–A2.
- Clinical and Laboratory Standards Institute: *Clinical laboratory technical procedure manual: approved guideline*, ed 4, Wayne, 2002, Pa. CLSI Document GP2–A4.
- Committee on Quality of Health Care in America; Institute of Medicine; Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS, editors: *To err is human: building a safer health system*, Washington, DC, 2000, National Academy Press.
- Lasky FD: *Technology variations: strategies for assuring quality results*, 2005, <http://labmed.ascpjournals.org/content/36/10/617.full.pdf+html>.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Continuous quality improvement: essential management approaches and their use in proficiency testing: approved guideline*, ed 2, Wayne, 2004, Pa. NCCLS Document GP22–A2.
- Turgeon ML: *Linné and Ringsrud's clinical laboratory science: the basics and routine techniques*, ed 6, St Louis, 2012, Mosby.

Yost J, Mattingly P: CLIA and equivalent quality control: options for the future, 2005, <http://labmed.ascpjournals.org/content/36/10/614.full.pdf>.

MODUL 3	PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI METODE
	AGLUTINASI
	Yusuf Eko Nugroho, S.Tr.A.K., M. Imun
	Rahmi Novita Yusuf, S.SiT., M. Biomed
	PRAKTIKUM 1, 2 & 3

PEMERIKSAAN RAPID SLIDE WIDAL KUALITATIF DAN SEMIKUANTITATIF

Pendahuluan :

Demam tifoid adalah suatu penyakit sistemik yang disebabkan oleh kuman *Salmonella typhi*. Di Indonesia demam tifoid merupakan penyakit endemik dengan angka kejadian masih tinggi serta merupakan masalah kesehatan masyarakat yang berkaitan dengan kesehatan lingkungan dan sanitasi buruk. Penyakit ini dapat dialami oleh anak dan dewasa.

Gejala klinis pada anak umumnya cukup ringan dibandingkan dengan orang dewasa namun dapat terjadi komplikasi dan kematian. Gambaran klinis pada anak – anak sering kali tidak khas bahkan hanya demam sehingga terjadi kesulitan untuk menegakkan diagnosa demam tifoid. Pada minggu pertama sakit amat sukar untuk membedakan demam tifoid dengan demam lainnya. Oleh karena itu untuk menegakkan diagnosis jenis demam tifoid perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium yang dipakai adalah pemeriksaan darah tepi, serologi dan bakteriologi.

Antigen yang terdapat pada *Salmonella typhi* adalah antigen O (somatic), antigen H (flagellar) dan antigen Vi. Uji serologi standard dan rutin untuk diagnosis demam tifoid adalah uji Widal pemeriksaan ini bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya antibody terhadap antigen O dan antigen H. uji ini sebenarnya tidak begitu spesifik. Selain itu, uji ini juga mempunyai sensitif rendah karena kultur positif yang bermakna pada pasien tidak diikuti dengan terditeksinya antibodi. Kelemahan uji widal yang lain adalah antibody tidak terdeteksi pada awal menyakit, sifat antibody sering bervariasi dan sering tidak ada kaitannya dengan gambaran klinis penyakit dan dalam jumlah yang cukup besar (>15%) tidak terjadi kenaikan titer O bermakna.

Selain *Salmonella typhi*, maka pemeriksaan Widal juga mendeteksi antibody O dan H *Salmonella Paratyphi* A, B dan C. Infeksi *Salmonella paratyphi* A, B dan C mempunyai gejala klinik yang mirip dengan infeksi *Salmonella typhi*.

Tujuan Pemeriksaan :

Mendeteksi adanya antibodi terhadap *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* A, B dan C didalam serum penderita

Prinsip Pemeriksaan :

Aglutinası direk yaitu antibodi yang didalam serum pasien akan bereaksi dengan antigen bakteri yang terdapat didalam reagen yang telah diwarnai sehingga terlihat pada saat aglutinasi.

A. KUALITATIF

Bahan Pemeriksaan :

Serum / Plasma

Reagen :

1. *Salmonella typhi* O
2. *Salmonella typhi* H
3. *Salmonella* H paratyphi A
4. *Salmonella* O paratyphi A
5. *Salmonella* H paratyphi B
6. *Salmonella* O paratyphi B
7. *Salmonella* H paratyphi C
8. *Salmonella* O paratyphi C

Alat :

1. Slide glass berwarna dasar putih
2. Mikropipet
3. Tip kuning
4. Batang pengaduk

5. Rotator
6. Tissue

Cara Kerja :

1. Letakkan slide pada bidang horizontal dan rata
2. Botol reagen berisi antigen di goyang perlahan agar homogen
3. Ambil 1 tetes antigen, teteskan di atas slide
4. Ambil serum sebanyak 80 uL dan teteskan disamping antigen yang telah ditetaskan di slide
5. Campur serum dan antigen perlahan – lahan dengan batang pengaduk
6. Goyangkan slide di rotator selama kurang lebih 1 menit
7. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Interpretasi Hasil :

1. Positif : terjadi aglutinasi
Untuk mengetahui titer antibody maka dilakukan pemeriksaan semikuantitatif
2. Negatif: tidak ada aglutinasi

Interpretasi Hasil :

Untuk mendiagnosis demam tifoid diperlukan nilai cut off tertentu. Nilai ini dipengaruhi oleh derajat endemisitas masing-masing daerah. Selain nilai tunggal, bisa juga digunakan kenaikan titer 4 kali pada sampel ulangan. Sampel pertama diambil pada hari pertama perawatan dan sampel ulang diambil 5-7 hari kemudian.

B. Uji Semi Kuantitatif

Cara Kerja :

1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Dipipet masing-masing serum 80 ul, 40 ul, 20 ul, 10 ul dan 5 ul dan diletakkan pada “slide test”.
3. Ditambahkan masing-masing 1 tetes suspensi antigen (misalnya H antigen dari typhi. S) yang sebelumnya telah dikocok terlebih dahulu disamping tetesan serum, kemudian diaduk dengan memakai batang pengaduk (tusuk gigi/lidi) selama beberapa detik.

4. Goyangkan “slide” selama 1 menit dan perhatikan adanya reaksi aglutinasi dalam 1 menit.
5. Perhatikan adanya reaksi aglutinasi yang terjadi.
6. Serum 80 ul, 40 ul, 20 ul, 10 ul, dan 5 ul setelah penambahan 1 tetes antigen sesuai dengan pengenceran sebanyak 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 dan 1/320 kali.
7. Titer antibodi dilaporkan sesuai dengan pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan aglutinasi.

dilakukan pengenceran seperti table berikut :

Volume serum	Pengenceran
80 μ l	1: 20
40 μ l	1: 40
20 μ l	1: 80
10 μ l	1: 160
5 μ l	1: 320
2.5 μ l	1: 640

Interpretasi hasil :

- a. Titer O yang tinggi : ($1 \geq 160$) kenaikan titer yang tinggi menunjukkan infeksi akut
- b. Titer H yang tinggi : ($1 \geq 160$) menunjukkan pernah di vaksinasi/pernah terjadi infeksi. pemeriksaan dilakukan lagi dalam jangka waktu 5-7 hari
- c. Untuk titer 1/80: Normal
- d. Untuk titer 1/160: pernah mengalami typhoid : pemeriksaan dilakukan lagi dalam jangka waktu 5-7 hari

C. UJI SEMIKUANTITATIF METODE TABUNG

Bahan Pemeriksaan :

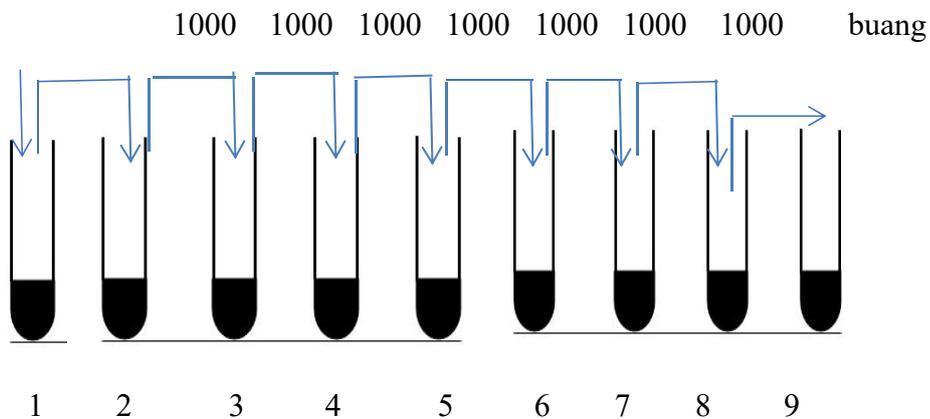
Serum / Plasma

Alat :

1. Tabung reaksi Panjang 100 mm dengan diameter 13 mm
2. Rak tabung
3. Mikropipet
4. Tip kuning

Cara Kerja :

1. Siapkan 9 tabung reaksi panjang 100 mm dengan diameter 13 mm dalam rak tabung
 2. Masukkan kedalam masing-masing tabung reaksi NaCl 0,9% sebanyak 1900 ul
 3. Kedalam tabung 1, masukkan 100 ul serum penderita Secara serial, lakukan pengenceran dengan mengambil 1000 ul dari tabung 1 kemudian dipindahkan ke tabung 2 dan seterusnya sampai tabung ke 9 kemudian dibuang sebanyak 1900 ul
- Serum : 100ul



NaCl

0,9 % 1900 1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000 ul

 1:10 1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 1:1280

4. Kedalam masing-masing tabung masukkan 1 tetes antigen yang sesuai berdasarkan hasil pemeriksaan kualitatif yang positif. Misalnya, hasil kualitatif positif dengan antigen *Salmonella typhi* O

5. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C
6. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi pada masing-masing tabung

Pembacaan Hasil :

1. Positif : terlihat aglutinasi di dalam masing-masing tabung
2. Negatif : tidak terlihat aglutinasi di dalam masing-masing tabung

Interpretasi Hasil :

Untuk mendiagnosa demam tifoid diperlukan nilai cutoff tertentu. Nilai ini dipengaruhi oleh derajat endemisitas masing-masing daerah. Nilai cutoff tunggal untuk mediagnosis demam tifoid saat ini adalah titer O 1/160 dan titer H 1/160. Selain ini tunggal, bias juga digunakan kenaikan titer 4 kali pada sampel ulangan. Sampel pertama diambil pada hari pertama perawatan dan sampel ulangan diambil 5-7 hari kemudian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, AK, Andrew H, dan Pillai S. (2012). Immunity To Mikrobek. In Cellular And Molecular Immunology. 7th Edition, Philadelphia; WB Elsevier Company. AIM. 2018.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, dan J. Parker. (2009). Biology of Microorganisms. New York: Prentice Hall International.
- Manual Kit Instruction Febrile Antigen (Widal)
- Tumbelaka, A.R.,Retnosari.S., 2001. Imunodiagnosis Demam tifoid. Dalam : *Pendekatan Immunologis Berbagai Penyakit Alergi & Immunologis*. Naskah Lengkap Pendidikan Berkelanjutan Ilmu Kesehatan Anak XLIV. FKUI. Jakarta. 65-72
- Chart, H.,2002, Salmonella. In: Medical Microbiology.Sixteenth edition. Churchill Livingstone. Toronto

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

PEMERIKSAAN ASTO (ANTI STREPTOLISIN-O) KUALITATIF DAN SEMIKUANTITATIF

Pendahuluan :

Pemeriksaan ASTO (Anti-Streptolysin O) merupakan salah satu tes serologi yang digunakan untuk mendiagnosis infeksi streptokokus. Tes ini mendeteksi kadar antibodi Streptolysin O (ASTO) dalam serum pasien. ASO adalah enzim yang diproduksi oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*, penyebab utama infeksi streptokokus seperti faringitis streptokokus, demam rematik, dan glomerulonefritis akut pasca streptokokus.

Ketika seseorang terinfeksi *Streptococcus pyogenes*, sistem kekebalan tubuhnya akan memproduksi antibodi untuk melawan bakteri. Antibodi ini, termasuk antibodi ASO, akan meningkat dalam darah selama beberapa minggu setelah infeksi. Kadar antibodi ASO kemudian akan menurun secara bertahap, tetapi tetap dapat dideteksi dalam darah selama beberapa bulan hingga satu tahun.

Pemeriksaan ASTO Imunoserologi menggunakan prinsip aglutinasi lateks untuk mendeteksi antibodi ASO dalam serum pasien. Antibodi ASO akan beraglutinasi (menggumpal) dengan partikel lateks yang dilapisi antigen streptolysin O. Tingkat aglutinasi diukur dan dibandingkan dengan standar untuk menentukan titer antibodi ASO.

Manfaat Pemeriksaan ASTO

1. Menunjang diagnosis infeksi streptokokus, terutama pada pasien dengan gejala yang tidak khas atau yang tidak merespons antibiotik.
2. Memantau respons terhadap pengobatan infeksi streptokokus.
3. Menujang deteksi komplikasi infeksi streptokokus, seperti demam rematik dan glomerulonefritis akut pasca streptokokus

Keterbatasan Pemeriksaan ASTO

1. Kadar antibodi ASO dapat meningkat pada berbagai kondisi, termasuk infeksi streptokokus non-invasif dan infeksi bakteri lainnya yang terkait erat dengan streptokokus.
2. Interpretasi hasil pemeriksaan ASTO harus dilakukan dengan mempertimbangkan faktor klinis pasien.
3. Pemeriksaan ASTO sebaiknya dilakukan bersama dengan pemeriksaan serologi lainnya untuk menegakkan diagnosis infeksi streptokokus.

Tujuan Pemeriksaan :

Mendeteksi antibodi terhadap Streptococcus β hemolyticus yang dikenal dengan nama Anti Streptolisin O (ASTO).

Prinsip Pemeriksaan :

Aglutinasi indirek yaitu terjadi aglutinasi antara serum penderita yang mengandung Anti Streptolisin O dengan partikel latex yang telah dilapisi dengan Antigen Streptolisin O apabila kadar ASTO >200 IU/ml.

A. Uji Kualitatif

Bahan Pemeriksaan :

Serum dan Plasma

Reagen Latex

1. Latex yang telah dilekatkan dengan Streptolisin O
2. Kontrol positif
3. Kontrol negative
4. Alkohol 70%

Alat :

1. Lempeng Kaca / slide
2. Mikropipet 50 ul
3. Tip kuning
4. Batang pengaduk
5. Rotator
6. Tissue

Cara Kerja :

1. Letakkan slide berlatar hitam pada bidang horizontal dan rata
2. Botol reagen berisi antigen digoyang perlahan agar homogen
3. Ambil 50 uL latex reagen masukkan kedalam slide
4. Ambil serum sebanyak 50 uL dan teteskan disamping latex yang telah ada di slide
5. Campur serum dan antigen perlahan – lahan dengan batang pengaduk
6. Goyangkan slide di rotator selama kurang lebih 1 – 2 menit.
7. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Interpretasi Hasil :



Positif : terlihat aglutinasi

Negatif : tidak ada aglutinasi

Batas deteksi metode aglutinasi adalah 200 IU/mL sehingga hasil positif menunjukkan bahwa kadar ASTO ≥ 200 IU/mL.

Pelaporan hasil adalah : Positif ≥ 200 IU/mL. Untuk Mengetahui kadar pastinya maka perlu dilakukan pemeriksaan secara semikuantitatif.

B. Uji Semi Kuantitatif

Bahan Pemeriksaan :

Serum

Reagen :

1. Latex yang telah dilekati dengan streptolisin O
2. Kontrol positif
3. Kontrol negative
4. Na Glycine Buffer

Alat :

1. Lempeng kaca / slide
2. Mikropipet 50 ul
3. Tip Kuning

4. Batang pengaduk
5. Rotator

Prosedur :

1. Dengan menggunakan pipet semi-otomatis, tambahkan 50µl Na Glycine Buffer dengan ke lingkaran 2, 3, 4 dan 5 . Jangan menyebarkan saline.
2. Tambahkan 50 µl sampel pasien untuk lingkaran 1 dan 2.
3. Campur Na Glycine Buffer dan sampel dalam lingkaran 2 dengan membuat campuran naik turun dengan berhati-hati untuk menghindari pembentukan gelembung.
4. Pindahkan 50µl dari lingkaran 2 ke Na Glycine Buffer yang ada di lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial dengan cara yang sama sampai lingkaran terakhir. Selanjutnya pada lingkaran terakhir buang sebanyak 50µl.
6. Homogenkan reagen lateks dengan hati-hati.
7. Tambahkan satu tetes (50 uL) reagen lateks untuk setiap lingkaran di sebelah pengenceran sampel yang diperiksa
8. Campur dengan menggunakan dropstirer/pengaduk. i. Putar kartu pada 100 rpm selama 2 menit. j. Hasil diamati dengan melihat pengenceran terakhir yang masih memperlihatkan aglutinasi dan hasilnya dikalikan dengan sensitivitasnya.

Tabel pengenceran:

Pengenceran	ASO IU / mL
Tanpa Pengenceran	200
1 : 2	400
1 : 4	800
1 : 8	1600

Sensitivitas : 200 IU / mL

Prosedur II

Pengenceran	Sampel (μ l)	Pengencer (μ l)	Reagen Lateks (μ l)	ASO IU/mL (titer)
Tanpa Pengenceran	50		50	200
1+1	50	50	50	400
1+2	50	100	50	600
1+3	50	150	50	800
1+4	50	200	50	1000
1+5	50	250	50	1200
1+6	50	300	50	1400
1+7	50	350	50	1600

Sensitivitas : 200 IU / mL

Interpretasi Hasil :

1. Positif : terlihat aglutinasi
2. Negatif : tidak ada aglutinasi

Interpretasi hasil adalah pengenceran tertinggi yang masih memberikan hasil positif (aglutinasi) dikalikan dengan batas deteksi sebagai factor perkalian yaitu 200 IU/ml.

Pembacaan hasil : Tabung 1 : Positif (aglutinasi)

Tabung 2 : Positif (aglutinasi)

Tabung 3 : Positif aglutinasi)

Maka hasil pemeriksaan adalah positif titer $4 \times 200 \text{ IU/ml} > 800 \text{ IU/ml}$

DAFTAR PUSTAKA

Anonim¹. 2007. ASO Latex Test Manual. Randox. United Kingdom.

Tjandra, H., Budiari, S., & Effendi, M. (2015). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam.
Jakarta: Badan Penerbit Universitas Indonesia.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

PEMERIKSAAN C-REACTIVE PROTEIN METODE KUALITATIF DAN SEMI KUANTITATIF

Pendahuluan

CRP merupakan protein fase akut yang dibentuk di hati. Parameter ini digunakan sebagai penanda dari adanya inflamasi, infeksi atau kerusakan jaringan. Umumnya peningkatan CRP dipakai sebagai indikator pada infeksi bakteri. Hal ini karena CRP meningkat hanya beberapa jam setelah infeksi sehingga pengobatan dapat segera diberikan. Peningkatan CRP ini lebih dini dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan Laju Endap Darah atau jumlah lekosit. Tetapi sensitifitas yang baik ini tidak diikuti dengan spesifitas yang baik karena CRP akan meningkat pada banyak kelainan seperti Arthritis Rheumatoid infark miokard dan tumor ganas. Bila rangsangan segera diatasi maka CRP akan segera menurun sehingga parameter ini dapat dipakai untuk memantau keberhasilan terapi.

C- Reactive Protein (CRP) dihasilkan oleh hati, terutama saat terjadi infeksi atau inflamasi (selama peradangan akut) di dalam tubuh. Protein ini tidak bersifat spesifik, maka akan meningkat secara signifikan jika terjadi kerusakan jaringan, infeksi bakteri dan virus, inflamasi, dan malignant neoplasia. Pemeriksaan CRP juga telah dikembangkan menjadi *high-sensitivity* CRP dapat digunakan untuk memprediksi terjadinya penyakit jantung pada masa depan. Pada pasien penderita penyakit autoimunitas, CRP juga dapat dihasilkan tubuh dalam jumlah besar, contohnya pada penderita rheumatoid arthritis, lupus, atau vasculitis.

Selama inflamasi, sel imun, terutama sel bawaan, menghasilkan beberapa sitokin seperti IL-6, IL-1, dan TNF- α , yang selanjutnya mengaktifkan sel hati untuk memproduksi protein fase akut termasuk protein C-reaktif (CRPs). Oleh karena itu, CRP tidak berhubungan langsung dengan penyakit tertentu. Di laboratorium klinis, CRP digunakan sebagai penanda peradangan. Namun, beberapa penyakit kronis telah dikaitkan dengan peningkatan kadar CRP, seperti kanker.

Pengukuran kadar CRP, sering digunakan untuk memantau keadaan pasien setelah operasi. Pada umumnya, konsentrasi CRP akan mulai meningkat pada 4-6 jam

setelah operasi dan mencapai kadar tertinggi pada 48-72 jam setelah operasi. Kadar CRP akan kembali normal setelah 7 hari pasca-operasi. Pada saat terjadi infeksi bakteri atau inflamasi, leukosit akan teraktivasi kemudian melepaskan sitokin ke aliran darah. Sitokin akan merangsang sel-sel hati (hepatosit) untuk memproduksi CRP. Pada tahun 2003, Center for Disease Control and Prevention (CDC) dan the American Heart Association (AHA) merekomendasikan penggunaan hsCRP untuk memprediksi resiko penyakit kardiovaskuler terutama untuk pasien penderita sindrom koroner akut dan penyakit koroner stabil. Nilai acuan untuk penilaian resiko penyakit kardiovaskuler tersebut adalah:

- a. < 1 mg/L : risiko rendah
- b. 1-3 mg/L : risiko menengah
- c. >3 mg/L : risiko tinggi
- d. >10 mg/L mengindikasikan adanya inflamasi atau infeksi aktif

Pada pemeriksaan ini serum harus dijaga stabilitasnya maka diperlukan pengetahuan cara menyimpan serum dalam jangka waktu dan cara penyimpanan yang tepat: Serum lebih dari 24 jam disimpan pada suhu 2 – 8°C, Lebih dari 4 minggu disimpan pada suhu -20°C

Serum haematic, lipaemic, atau terkontaminasi tidak dapat digunakan . Pemeriksaan CRP dilakukan dengan menguji suspensi partikel lateks yang dilapisi antibodi anti-CRP manusia melawan serum yang tidak diketahui. Kehadiran aglutinasi mengindikasikan adanya peningkatan kadar CRP ke tingkat klinis yang signifikan. Reagen lateks CRP sudah distandarasi untuk mendeteksi CRP serum diatas atau setara dengan 6 mg/ml yang dianggap konsentrasi terendah signifikansi klinis. Hasil dinyatakan positif jika terbentuk aglutinasi selama 2 menit. Adanya aglutinasi mengindikasikan tingkat CRP dalam sampel lebih dari atau sama dengan 6 mg/L dalam specimen. Sedangkan tidak adanya aglutinasi mengindikasikan tingkat CRP kurang dari 6 mg/L. Sensitivitas analitik tes CRP ini adalah 6 mg/L.

Konsentrasi CRP yang tinggi dalam sampel dapat memberikan hasil negatif (*prozone effect*). Sampel perlu diuji ulang menggunakan tetesan sampel sekitar 20 µl. Haemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/L, dan lipemia (10 g/L tidak akan mengganggu pemeriksaan. *Rheumatoid factor* yang lebih besar dari 100 IU /ml dapat mengganggu pemeriksaan. Hasil pemeriksaan ini harus didukung dengan kondisi klinis.

Tujuan Pemeriksaan :

Mendeteksi peningkatan C-Reaktif protein secara kualitatif didalam serum pasien.

Prinsip Pemeriksaan :

Reverse Passive Agglutination yaitu terjadi aglutinasi antara serum penderita yang mengandung CRP dengan partikel latex yang telah dilapisi dengan anti human CRP antibodi. Hasil positif apabila kadar CRP dalam serum ≥ 6 mg/L.

A. UJI KUALITITIF**Bahan Pemeriksaan :**

Serum.

Plasma tidak dapat dipakai untuk pemeriksaan CRP karena mengandung fibrinogen yang akan menyebabkan aglutinasi non spesifik dari partikel latex.

Reagen :

1. Latex yang telah dilekati dengan anti CRP
2. Kontrol Positif
3. Kontrol Negatif

Alat :

1. Lempeng Kaca / slide berlatar hitam
2. Mikropipet 50 ul
3. Tip kuning
4. Batang pengaduk
5. Rotator
6. Tissue

Cara Kerja :

1. Letakkan slide berlatar hitam pada bidang horizontal dan rata
2. Bolol reagen berisi antigen digoyang perlahan agar homogen
3. Ambil 50 uL latex, masukkan kedalam slide
4. Ambil serum sebanyak 50 uL dan teteskan disamping latex yang telah diletakkan di slide
5. Campur serum dan antigen perlahan – lahan dengan batang pengaduk

6. Goyangkan slide di rotator selama kurang lebih 1-2 menit
7. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Interpretasi Hasil :

1. Positif : terlihat aglutinasi
Batas deteksi metode aglutinasi adalah 6 mg/L sehingga hasil positif menunjukkan bahwa kadar CRP ≥ 6 IU/mL.
Pelaporan hasil adalah : Positif ≥ 6 mg/L .Untuk Mengetahui kadar pastinya maka perlu dilakukan pemeriksaan secara semikuantitatif.
2. Negatif: tidak ada aglutinasi

B. UJI SEMIKUANTITATIF

Bahan Pemeriksaan :

Serum

Plasma tidak dapat dipakai untuk pemeriksaan CRP karena mengandung fibrinogen yang akan menyebabkan aglutinasi non spesifik dari partikel latex.

Reagen :

1. Latex yang telah dilekati dengan anti CRP
2. Kontrol positif
3. Kontrol negative
4. Na Glycine buffer

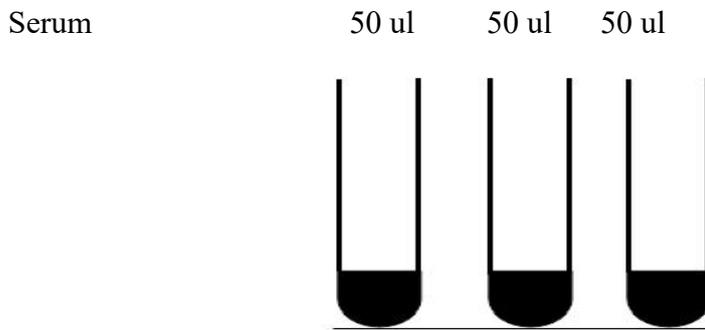
Alat :

1. Lempeng kaca / slide berlatar hitam
2. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi
3. Mikropipet 50 ul
4. Tip kuning
5. Batang pengaduk
6. Rotator

Cara Kerja :

1. Siapkan 3 tabung reaksi dan rak tabung
2. Masukkan pada tabung 1,2, dan 3 berturut-turut NaCl 0,9% dengan volume 50 ul, 100 ul, 150 ul

3. Kemudian masukkan 0,5 cc serum ke dalam tabung 1,2, dan 3



Glycien buffer saline	50 ul	100 ul	150 ul
Pengenceran	1:1	1:2	1:3
	(1/2)	(1/3)	(1/4)

4. Kocok perlahan sampai homogen
5. Letakkan slide pada bidang horizontal dan rata
6. Botol reagen bersi latex di goyang perlahan agar latex homogen
7. Ambil 50 ul latex, masukkan ke dalam lingkaran slide untuk masing-masing tabung reaksi
8. Ambil serum yang telah diencerkan dari tabung reaksi 1,2, dan 3 sebanyak 50 ul dan teteskan disamping latex yang telah diletakkan di slide
9. Campur sampel dengan latex perlahan-lahan dengan batang pengaduk
10. Goyang slide di rotator perlahan-lahan selama kurang lebih 5 menit
11. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Interpretasi Hasil :

1. Positif : terlihat aglutinasi
2. Negatif : tidak ada aglutinasi

Interpretasi hasil adalah pengenceran tertinggi yang masih memberikan hasil positif (aglutinasi) dikalikan dengan batas deteksi sebagai factor perkalian yaitu 200 IU/ml.

Catatan: Tabung 1 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 2 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 3 : Positif (ada aglutinasi)

Maka hasil pemeriksaan adalah positif titer $4 \times 6 \text{ mg/L} = 24 \text{ mg/L}$

Pelaporan Hasil :

Dilaporkan berdasarkan pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan aglutinasi

Catatan: CRP positif 24 mg/L

DAFTAR PUSTAKA

Protokol Pemeriksaan Laboratorium Klinik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Tjandra, H., Budiari, S., & Effendi, M. (2015). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Badan Penerbit Universitas Indonesia.

Rifai, N., & Ridwan, M. (2016). Laboratorium Klinik: Prinsip dan Aplikasi. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia

Anonim¹. 2007. CRP Latex Test Manual. Randox. United Kingdom.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

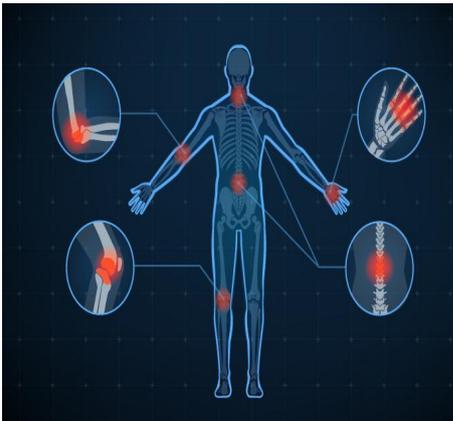
Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

PEMERIKSAAN RHEUMATOID FACTOR (RF) METODE KUALITATIF DAN SEMIKUANTITATIF

Pendahuluan



Kata arthritis berasal dari bahasa Yunani, “arthon” yang berarti sendi, dan “itis” yang berarti peradangan. Secara harfiah, arthritis berarti radang pada sendi. Rheumatoid factor (RF) adalah antibodi terhadap IgG yang abnormal. Rheumatoid factor terutama dipakai untuk mendiagnosis dan memantau Rheumatoid arthritis (RA).

Radang sendi atau arthritis rheumatoid (bahasa Inggris: Rheumatoid Arthritis, RA) merupakan penyakit autoimun (penyakit yang terjadi pada saat tubuh diserang oleh sistem kekebalan tubuhnya sendiri) yang mengakibatkan peradangan dalam waktu lama pada sendi. Kebanyakan penyakit ini ditemukan pada kemampuan imunitas kelompok lansia menurun.

Penyakit ini ditandai dengan radang pada membrane synovial dan struktur-struktur sendi serta atrofi otot dan penipisan tulang. Umumnya menyerang pada sendi bagian jari, pergelangan tangan, bahu, lutut, dan kaki. Pada penderita stadium lanjut akan membuat si penderita tidak dapat melakukan aktivitas sehari-hari dan kualitas hidupnya menurun. Gejala lain yang ditimbulkan bisa berupa demam, nafsu makan menurun, berat badan menurun, lemah dan kurang darah. Namun kadang kalanya penderita tidak merasakan gejalanya.

Reagen lateks RF adalah suspensi dari partikel polistiren dan IgG manusia. Ketika reagen lateks dicampurkan dengan serum yang mengandung rheumatoid faktor maka akan terjadi aglutinasi yang dapat terlihat jelas. Aglutinasi hanya dapat terjadi jika dalam serum terdapat RF dengan konsentrasi lebih dari 10 IU/ml. Hasil dinyatakan

positif jika terbentuk aglutinasi selama 2 menit, jika tidak terbentuk maka hasil dinyatakan negatif. Pada pemeriksaan ini serum yang digunakan merupakan hasil sentrifugasi gumpalan darah yang baru dan bersih.

Faktor risiko Rheumatoid Arthritis yang berhubungan dengan peningkatan kasus RA dibedakan menjadi dua yaitu faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi dan faktor risiko yang dapat dimodifikasi:

- a. Tidak dapat dimodifikasi
 1. Factor genetic (riwayat keluarga)
 2. Usia (> 40 tahun)
 3. Jenis Kelamin (kebanyakan perempuan dari pada laki-laki)
- b. Dapat dimodifikasi
 1. Gaya Hidup
 2. Factor hormonal
 3. Bentuk tubuh

Penyakit Arthritis Rheumatoid merupakan penyakit imunologis dengan karakteristik

1. Adanya rematoid faktor yang ditemukan di serum maupun dicairan sendi
2. Infiltrasi limfosit dan aktivitas makrofag di cairan sendi
3. Produksi TNF (Tumor Necrosis Factor) dan proinflamatori sitokin lainnya di cairan sendi.

Rematoid Faktor (RF) merupakan antibody terhadap bagian Fc IgG. Penanda ini ditemuakn pada 80% penderita rematoid arthritis.

Tujuan Pemeriksaan :

Mendeteksi faktor rheumatoid pada serum penderita.

Prinsip Pemeriksaan :

Indirek aglutinasi yaitu terjadi aglutinasi antara serum penderita yang mengandung Rematoid Faktor (antihuman IgG) dengan partikel latex yang telah dilapisi dengan human IgG.

METODE UJI KUALITATIF

Bahan Pemeriksaan :

Serum atau Plasma

Reagen :

1. Latex polystyrene yang telah dilekati dengan human IgG
2. Kontrol Positif
3. Kontrol Negatif

Alat :

1. Lempeng Kaca / slide berlatar hitam
2. Mikropipet 50 ul
3. Tip kuning
4. Batang pengaduk
5. Rotator
6. Tissue

Cara Kerja :

1. Letakkan slide berlatar hitam ada bidang horizontal dan rata
2. Bolol reagen berisi antigen digoyang perlahan agar homogen
3. Ambil 50 uL latex, masukkan kedalam slide
4. Ambil serum sebanyak 50 uL dan teteskan disamping latex yang telah diletakkan di slide
5. Campur serum dan antigen perlahan – lahan dengan batang pengaduk
6. Goyangkan slide di rotator selama kurang lebih 1-2 menit
7. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Interpretasi Hasil :

1. Positif : ada aglutinasi
2. Negatif: tidak ada aglutinasi

Batas deteksi metode aglutinasi adalah 12 IU/mL sehingga hasil positif menunjukkan bahwa kadar RF \geq 12 IU/mL.

Pelaporan hasil adalah : Positif \geq 12 IU/mL. Untuk Mengetahui kadar pastinya maka perlu dilakukan pemeriksaan secara semikuantitatif.

A. METODE UJI SEMIKUANTITATIF**Bahan Pemeriksaan :**

Serum atau plasma

Reagen :

1. Latex polystyrene yang telah dilekati dengan human IgG
2. Kontrol Positif
3. Kontrol Negatif
4. Glycine buffer saline

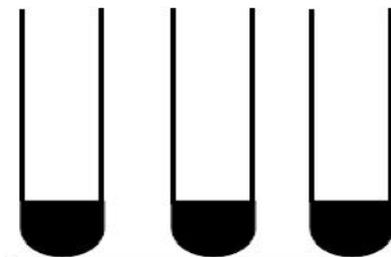
Alat :

1. Lempeng Kaca / slide berlatar hitam
2. Tabung reaksi dan rak tabung
3. Mikropipet 50 ul
4. Tip kuning
5. Batang pengaduk
6. Rotator

Cara Kerja :

1. Siapkan 3 tabung reaksi dan rak tabung
2. Masukkan pada tabung 1,2, dan 3 berturut-turut Glycine buffer saline dengan volume 50 ul, 100 ul, dan 150 ul
3. Kemudian masukkan 50 ul serum ke dalam tabung 1,2, dan 3

Serum 50 ul 50 ul 50 ul



Glycien buffer saline	50 ul	100 ul	150 ul
Pengenceran	1:1	1:2	1:3
	(1/2)	(1/3)	(1/4)

4. Kocok perlahan sampai homogen
5. Letakkan slide berlatar hitam ada bidang horizontal dan rata
6. Botol reagen bersi latex di goyang perlahan agar latex homogeny
7. Ambil 50 ul latex, masukkan ke dalam slide untuk masing-masing tabung reaksi

8. Ambil serum yang telah diencerkan dari tabung reaksi 1,2, dan 3 sebanyak 50 ul dan teteskan disamping latex yang telah diletakkan di slide
9. Campur sampel dengan latex perlahan-lahan dengan batang pengaduk
10. Goyang slide di rotator perlahan-lahan selama kurang lebih 5 menit
11. Baca hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi

Tabel pengenceran :

Pengenceran	Rf (IU/L dalam spesimen yang tidak diencerkan)
1+1 (1:2)	16
1+3 (1:4)	32
1+7 (1:8)	64
1+15 (1:16)	128
1+31 (1:32)	256

Interpretasi Hasil :

1. Positif : terlihat aglutinasi
2. Negatif : tidak ada aglutinasi

Interpretasi hasil adalah pengenceran tertinggi yang masih memberikan hasil positif (aglutinasi).

Catatan: Tabung 1 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 2 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 3 : Positif (ada aglutinasi)

Maka hasil pemeriksaan adalah positif titer $4 \times 12 \text{ IU/ml} = 48 \text{ IU/ml}$

Pelaporan Hasil :

Dilaporkan berdasarkan pengenceran tertinggi

Catatan: RF positif 48 IU/ml

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim¹. 2007. Manual Humatex RF. Human
- Sack, K.E., Fye, K.H.2003. Rheumatoid arthritis. In: Medical Immunologi. Tenth ed. McGraw. 401-407
- Protokol Pemeriksaan Laboratorium Klinik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Tjandra, H., Budiari, S., & Effendi, M. (2015). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Badan Penerbit Universitas Indonesia.
- Barwich, A. J., & Imboden, J. B. (2012). Immunology of Rheumatoid Arthritis. Springer Science & Business Media.
- Longo, D. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. (2020). Harrison's Principles of Internal Medicine, 20th Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

**PEMERIKSAAN RPR (RAPID PLASMA REAGEN)
METODE KUALITATIF DAN SEMIKUANTITATIF**

Pendahuluan

Treponema pallidum merupakan mikroorganisme penyebab syphilis yang dapat menghasilkan sedikitnya 2 jenis antibodi pada manusia yang terinfeksi yaitu antibodi non treponemal dan antibodi treponemal. Antibodi non treponemal adalah reagen yang bisa dideteksi dengan pemeriksaan VDRL atau Rapid Plasma Reagin (RPR). Sedangkan antibodi treponemal dapat dideteksi dengan pemeriksaan *Treponema Pallidum Hemagglutination* (TPHA) dan *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption* (FTA-Abs).

Reagin merupakan antibodi yang terbentuk sebagai reaksi terhadap bahan-bahan yang dilepaskan karena kerusakan sel.

Tujuan Pemeriksaan :

Mendeteksi dan menentukan titer regain yaitu salah satu jenis antibodi yang terdapat dalam serum atau plasma penderita syphilis. Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan skrining penyakit syphilis.

Prinsip Kerja :

Antigen yang digunakan dalam kit ini adalah modifikasi dari antigen VDRL yang mengandung mikro-partikel karbon untuk memperjelas pengamatan. Antigen VDRL disebut juga kardiolipin yaitu antigen yang berasal dari ekstrak jantung sapi. Antigen ini tidak berwarna dan merupakan larutan dalam alcohol dengan komposisi 0,03% kardiolipin, 0,9% kolesterol dan 0,21% leucitin murni.

Prinsip pemeriksaan adalah regain yang terdapat dalam spesimen penderita syphilis menyebabkan terjadinya flokulasi dari partikel karbon dalam suspensi RPR regain. Terjadinya agglutinasi ini terlihat secara kasat mata sebagai gumpalan – gumpalan berwarna hitam yang mengambang ke permukaan cairan. Spesimen yang tidak mengandung regain akan menghasilkan cairan berwarna abu – abu muda pada reaksi ini.

Reagensia :

1. Suspensi RPR Carbon Antigen : Suspensi kardiolipin yang mengandung mikro-partikel karbon.
2. RPR serum control positif
3. RPR serum control negatif

Peralatan :

1. Lempeng Kaca / slide
2. Mikropipet 50 ul
3. Tip kuning
4. Batang pengaduk
5. Rotator
6. Tissue

Bahan Pemeriksaan :

Serum / Plasma dan cairan otak (LCS)

Prosedur Kerja Kualitatif:

Seluruh reagen yang akan digunakan dibiarkan mencapai suhu ruang terlebih dahulu kira – kira 15 menit. Seluruh alat – alat yang digunakan harus dalam keadaan bersih dan bebas residu seperti detergen dan lemak.

1. Bersihkan slide atau kartu pemeriksaan dengan tissue yang dibasahi dengan alkohol, tunggu sampai kering.
2. Teteskan 50 uL sampel yang akan diuji pada lingkaran kartu reaksi / slide yang tersedia. Gunakan pipet yang berbeda untuk meneteskan sampel yang berbeda.
3. Teteskan juga masing – masing 1 tetes serum control positif dan serum control negatif pada lingkaran lain di kartu reaksi yang akan digunakan.
4. Sebarkan sampel memenuhi masing – masing lingkaran dengan menggunakan batang pengaduk yang telah disediakan. Gunakan pengaduk yang berbeda – beda untuk setiap sampel untuk menghindari terjadinya kontaminasi.
5. Kocok cairan suspensi antigen RPR sebelum digunakan. Pasang jarum yang tersedia pada botol penetes suspensi antigen. Kemudian pindahkan cairan suspensi antigen dari botolnya kedalam botol penetes.

6. Teteskan 1 tetes suspensi antigen dari botol penetes itu ke masing – masing lingkaran yang berisi sampel.
7. Letakkan kartu reaksi pada rotator atau shaker pada kecepatan 100 rpm selama 8 menit.
8. Baca hasil tes segera dibawah cahaya terang / dibawah mikroskop.

Interprestasi Hasil Uji Kualitatif

1. Hasil Negatif (non-reaktif)

Tidak terjadinya flokulasi partikel-partikel karbon dalam suspensi antigen. Cairan dalam lingkaran tes terlihat berwarna abu-abu muda.

2. Hasil Positif (reaktif)

Terjadinya flokulasi partikel-partikel karbon dalam suspensi antigen, yang terlihat sebagai gumpalan-gumpalan berwarna hitam besar maupun kecil pada bagian tengah atau tepi pada lingkaran tes. Hasil reaksi positif / reaktif harus dikonfirmasi dengan menguji kembali sampel secara semi kuantitatif.

Keterbatasan Uji RPR

1. Penyakit akibat infeksi *Treponema non-venereel*, misalnya frambusia yang disebabkan *T. pertenue* dan patek yang disebabkan *T. carateum* secara serologi tidak dapat dibedakan dari syphilis dengan menggunakan uji ini.
2. Hasil negative palsu mungkin terjadi pada 20% - 30% penderita syphilis laten. Hal ini disebabkan karena pada penderita syphilis laten, titer antibodi non-treponemal seringkali rendah. Jadi jika secara klinis ada dugaan kuat syphilis laten, hendaknya dilakukan uji treponemal seperti TPHA, TPI, ataupun FTA-Abs.
3. Hasil reaktif palsu dapat dijumpai pada penderita penyakit akut atau kronik, misalnya lepra lepramatososa, malaria, mononukleosus infeksiosa dan lupus eritmatosus sistemik (SLE). Pada kasus – kasus yang meragukan, sebaiknya diagnosis definitive didasarkan atas hasil uji berulang kali.
4. Hasil positif palsu ini dapat juga terjadi pada orang hamil, pada penderita penyakit autoimmune, para pemakai narkotik dan para memakai obat – obat anti hipertensi.

5. Uji serologi pada syphilis congenital seringkali sulit ditafsirkan. Antibody IgG yang terdapat dalam darah ibu hamil penderita syphilis, baik non-treponemal maupun treponemal, dapat menembus plasenta, sehingga uji serologi pada neonatus dapat berhasil reaktif. Pada umumnya antibody yang berasal dari ibu dapat menghilang dalam waktu 6 sampai 12 bulan.

PROSEDUR UJI SEMIKUANTITATIF

Reagensia :

1. Suspensi RPR Carbon Antigen : Suspensi kardiolipin yang mengandung mikro-partikel karbon.
2. RPR serum control positif
3. RPR serum control negatif
4. NaCl 0,9% steril

Peralatan :

1. Rotator/Shaker (100rpm)
2. Mikropipet 50 ul
3. Kartu/slide tempat reaksi
4. Tip kuning
5. Botol penates suspense antigen dan jarum penetesnya
6. Pipet pengaduk
7. Tabung reaksi dan rak tabung

Bahan Pemeriksaan :

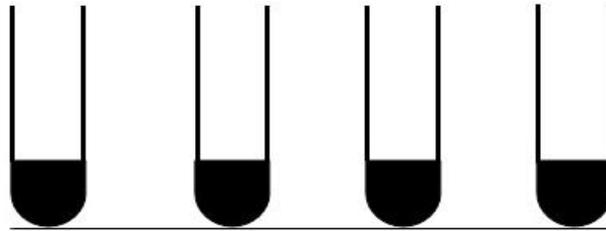
Serum / Plasma dan cairan otak (LCS)

Prosedur Kerja :

Seluruh reagen yang akan digunakan sebaiknya dibiarkan mencapai suhu ruang terlebih dahulu kira – kira 15 menit. Seluruh alat – alat yang digunakan harus dalam keadaan bersih dan bebas residu seperti detergen dan lemak.

1. Siapkan 4 tabung reaksi dengan rak tabung
2. Masukkan NaCl 0,9% steril pada masing-masing tabung sebanyak 50 ul
3. Kemudian masukkan 50 ul serum kedalam tabung 1

Serum	50 ul	50 ul	50 ul	buang
-------	-------	-------	-------	-------



NaCl 0,9% steril	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
------------------	-------	-------	-------	-------

Pengenceran	1:2	1:4	1:8	1:16
-------------	-----	-----	-----	------

4. Dari tabung 1 diambil 50 ul dipindahkan ke tabung 2, kocok perlahan-lahan dengan menggunakan pipe, kemudian ambil 50 ul dari tabung ke 2 pindahkan ke tabung 3, kocok perlahan-lahan dengan menggunakan pipet, ambil 50 ul pindahkan ke tabung
5. Setelah dikocok perlahan diambil 50 ul kemudian dibuang
6. Dari masing-masing tabung diambil 50 ul sampel yang telah diencerkan. Teteskan 50 ul sampel tersebut diuji pada lingkaran di kartu reaksi / slide yang tersedia. Gunakan pipet yang berbeda untuk meneteskan specimen yang berbeda
7. Teteskan juga masing-masing 1 tetes serum control positif dan serum control negative ada lingkaran lain di kartu yang akan digunakan
8. Sebarkan sampel memenuhi masing-masing lingkaran dengan menggunakan sisi datar dari pipet pengaduk yang disediakan. Gunakan pengaduk yang berbeda untuk setiap sampel untuk menghindari terjadinya kontaminasi
9. Kocok cairan suspensi antigen RPR sebelum digunakan. Pasang jarum yang tersedia pada botol penetes suspense antigen. Kemudian pindahkan cairan suspense antigen dari botolnya ke dalam botol penetesnya
10. Teteskan 1 tetes suspense antigen dari botol penates itu ke masing-masing lingkaran yang berisi sampel
11. Letakkan kartu reaksi pada rotator atau shaker pada kecepatan 100 rpm selama 8 menit

12. Baca hasil tes segera di bawah cahaya terang/ dibawah mikroskop

Interprestasi Hasil Uji Kuantitatif

1. Hasil Negatif (non-reaktif)

Ditunjukkan dengan tidak terjadinya flokulasi partikel-partikel karbon dalam suspensi antigen. Cairan dalam lingkaran tes terlihat berwarna abu-abu muda.

2. Hasil Positif (reaktif)

Memperlihatkan terjadinya flokulasi partikel-partikel karbon dalam suspensi antigen, yang terlihat sebagai gumpalan-gumpalan berwarna hitam besar maupun kecil pada bagian tengah atau tepi pada lingkaran tes. Uji serologi lainnya untuk konfirmasi seperti uji TPHA, TPI ataupun FTA-Abs juga dianjurkan untuk dilakukan.

Hasil adalah pengenceran tertinggi yang masih memberikan hasil positif (aglutinasi)

Catatan: Tabung 1 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 2 : Positif (ada aglutinasi)

Tabung 3 : Positif (ada aglutinasi)

Maka hasil pemeriksaan adalah positif 1:8 (1/8)

Pelaporan Hasil :

Dilaporkan berdasarkan pengenceran tertinggi

Catatan: DRL positif 1/8

PEMERIKSAAN TPHA (Treponema pallidum hemagglutination assay)

Pemeriksaan TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay) adalah salah satu tes serologi yang digunakan untuk mendiagnosis penyakit sifilis. Prinsip dasar pemeriksaan ini adalah deteksi antibodi terhadap bakteri Treponema pallidum dalam darah pasien.

Alat :

Microplate

Mikropipet 190 µl, 10 µl, 25 µl, dan 75 µl

Yellow tip

Reagen :

Plasmatec TPHA Test

Kit mengandung: R1: sel, tes: R2; sel control; R3: diluent; R4: control positif ; R5 : control negatif

Bahan :

Serum

Cara kerja :**UJI KUALITATIF**

1. Alat dan bahan disiapkan
2. Setiap komponen kit dan sampel dikondisikan pada suhu kamar.
3. Semua reagen dihomogenkan perlahan
4. Diluents ditambahkan sebanyak 190 μ l dan sampel ditambahkan sebanyak 10 μ l pada sumur 1 lalu dihomogenkan
5. Campuran pada sumur 1 dipipet sebanyak 25 μ l dan dipindahkan pada sumur 2 dan 3
6. Sel control sebanyak 75 μ l ditambahkan pada sumur 2 lalu dihomogenkan
7. Sel test sebanyak 75 μ l ditambahkan pada sumur 3 lalu dihomogenkan
8. Microplate diinkubasi pada suhu ruang selama 45 – 60 menit.
9. Aglutinasi yang terjadi diamati
10. Sampel yang menunjukkan hasil aglutinasi positif dilanjutkan ke uji semi kuantitatif.

Note : control positif dan negatif selalu disertakan dalam setiap uji tanpa perlu diencerkan.

UJI SEMI KUANTITATIF

1. Alat dan bahan disiapkan
2. Setiap komponen kit dan sampel dikondisikan pada suhu kamar
3. Semua reagen dihomogenkan perlahan
4. Sumur microplate disiapkan dan diberi label no. 1 sampai 8
5. Pengenceran sampel dibuat pada sumur yang berbeda dengan sumur microplate dengan mencampur 190 μ l diluents dan 10 μ l sampel

6. Sumu microplate no. 1 dikosongkan
7. Sumur microplate no. 2 – 8 ditambahkan 25µl diluent
8. Pada sumur microplate no. 1 dan 2 ditambahkan 25 µl sampel yang telah diencerkan.
9. Campuran pada sumur no.2 dipipet 25 µl dan ditambahkan pada sumur 3, lalu dihomogenkan. Begitu seterusnya sampai sumur 8
10. Campuran pada sumur no 8 dipipet 25 µl dan dibuang
11. sel control sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur mikrotitrasi no. 1 lalu dihomogenkan
12. sel tes sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur mikrotitrasi no. 2-8 lalu dihomogenkan
13. sel tes diinkubasi pada suhu ruang selama 45 – 60 menit
14. Aglutinasi yang terjadi dibaca, dan ditentukan titernya

Interprestasi Hasil

Hemaglutinasi positif ditandai dengan adanya bulatan berwarna merah dipermukaan sumur, hasil negatif terlihat seperti titik berwarna merah di tengah dasar sumur.

Tingkatan aglutinasi:

- +4 : bulatan merah merata pada seluruh permukaan sumur
- +3 : bulatan merah terdapat di sebagian besar permukaan sumur
- +2 : bulatan merah yang terbentuk tidak besar dan tampak seperti cincin
- +1 : bulatan merah kecil dan tampak cincin terang
- +/- : tampak cincin dengan warna bulatan merah yang samar
- : Tampak titik berwarna merah didasar sumur



DAFTAR PUSTAKA

- Cheesbrough, M. District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 2, Cambridge University Press, South Africa, second edition, 2006.
- Anonim¹, 2006. Manual AIM RPR Test. Akurat Intan Madya. Jakarta.
- Mandel, G. L., Bennett, J. E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier Health Sciences.
- Fitzpatrick, R. P. (2016). Dermatology in Clinical Practice. McGraw-Hill Education.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

MODUL**4****PEMERIKSAAN IMUNOSEROLOGI METODE TES
IMUNOKROMATOGRAFI (ICT)**

Nurminha, S.Pd., M.Sc

Nurdin, S.Si., M. Kes

PRAKTIKUM**1 & 2****TES KEHAMILAN****HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG)**

Human Chorionic Gonadotropin (hCG) adalah hormon glikoprotein yang diproduksi oleh plasenta yang sedang berkembang segera setelah pembuahan. Tes kehamilan mengandung antibodi yang secara khusus bereaksi dengan hormon ini. Pada kehamilan normal, hCG dapat dideteksi dalam urin dan serum sejumlah 20 mIU/mL sejak 2 sampai 3 hari sebelum periode menstruasi pertama yang terlewat dan memuncak pada kisaran 100.000-200.000 mIU / mL sekitar 10-12 minggu setelah kehamilan. Munculnya hCG dalam urin dan serum segera setelah pembuahan, dan peningkatan konsentrasinya yang cepat selama pertumbuhan awal kehamilan, menjadikannya penanda yang sangat baik untuk deteksi dini kehamilan.

hCG One Step Pregnancy Test Strip (Urine) adalah tes cepat kualitatif mendeteksi adanya hCG dalam spesimen urine pada sensitivitas 25mIU / mL. Tes memanfaatkan kombinasi antibodi monoklonal ganda untuk selektif mendeteksi kadar hCG dalam urin. Pada tingkat sensitivitas mengklaim, hCG One Step Pregnancy Test Strip (Urine) menunjukkan tidak ada gangguan reaktivitas silang dari hormon glikoprotein struktural terkait hFSH, hLH dan hTSH pada tingkat fisiologis tinggi.

TES KEHAMILAN

A. TES ONE STRIP KEHAMILAN

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Pemeriksaan kehamilan metode imunokromatografi merupakan reaksi antara urin wanita yang mengandung α dan β hCG (monoklonal hCG lengkap) dengan anti α dan anti β hCG pada tes line (T) dan kontrol line (C). Apabila stik tes dimasukkan dalam urine atau urine di teteskan pada *cassete test*, maka urin akan meresap secara kapiler, sehingga terjadi ikatan antara urin yang mengandung α dan anti β hCG pada tes line (T) dan kontrol line (C) akibatnya akan timbul garis warna merah pada tes line (T) dan kontrol line (C), garis warna merah ini menunjukkan hasil yang positif. Dan apabila garis warna merah tidak tampak pada tes line (T) atau hanya terdapat pada kontrol line (C) menunjukkan hasil tes yang negatif, karena tidak terjadi reaksi monoklonal hCG lengkap antar anti α dan anti β hCG

ALAT:

1. Strip uji
2. Wadah spesimen

BAHAN:

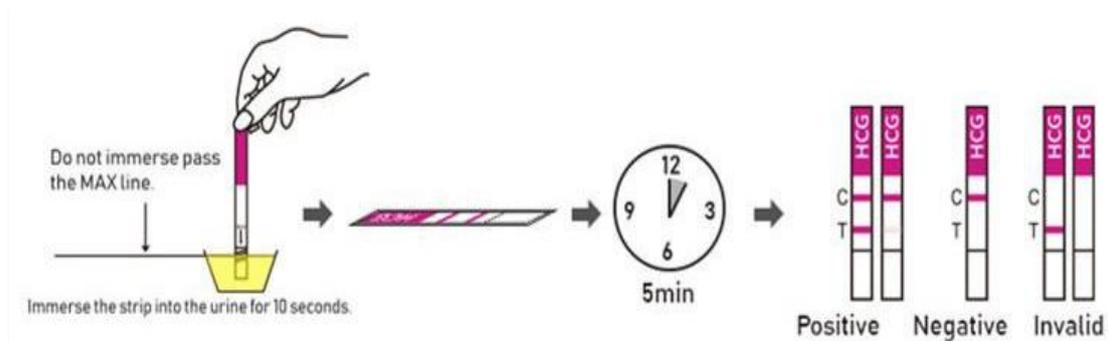
1. Urine

CARA KERJA:

Sebelum tes, spesimen urin dan atau dikontrol diadaptasikan pada suhu kamar (15-30°C).

1. Lepaskan strip uji dari kantong yang tertutup dan dikerjakan sesegera mungkin. Hasil terbaik akan didapat jika uji tersebut dilakukan dalam satu jam.

2. Dengan panah menunjuk ke arah spesimen urin, benamkan strip test vertikal dalam spesimen urin setidaknya selama 10 detik. Jangan melewati garis maksimum (MAX) pada strip tes saat membenamkan strip.
3. Tempatkan test strip pada permukaan yang datar tidak menyerap, memulai menghitung waktu dan menunggu untuk garis berwarna (s) muncul. Hasilnya harus dibaca dalam 5 menit. Jangan menginterpretasikan hasil setelah 5 menit.



SKEMA KERJA:

1. Rendam strip test secara vertical dalam specimen urin hingga garis maksimum (MAX) selama 10 detik.
2. Tempatkan test strip pada permukaan yang datar tidak menyerap.
3. Hasilnya harus dibaca dalam 5 menit.
4. Jangan menginterpretasikan hasil setelah 5 menit.

INTERPRETASI HASIL:

Baca hasil kurang dari 5 menit.

Negatif : Garis merah muda hanya muncul pada wilayah kontrol C, mengindikasikan hasil negative.

Positif : Garis merah muda muncul pada wilayah kontrol C dan tes T.

Invalid : Garis merah muda tidak muncul pada wilayah kontrol

B. TES hCG ONE STRIP /TEST KEHAMILAN

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Penambahan urin ke peralatan test akan berjalan disepanjang absorban. Penanda antibodi yang menafsirkan warna melekat ke hCG pada daerah tes dan menghasilkan pita berwarna merah ketika konsentrasi hCG sama dengan atau lebih dari 20 IU/ml. Jika tidak adanya hormon hCG, maka tidak akan terbentuk pita di daerah test. Reaksi berlanjut disepanjang absorban melewati daerah test dan kontrol. Konjugasi yang berikatan ke reagen pada daerah kontrol menghasilkan pita berwarna merah, yang menunjukkan bahwa reagen dan peralatan masih berfungsi secara baik.

ALAT:

1. Uji kaset
2. Pipet
3. Pengering
4. Timer
5. Wadah spesimen

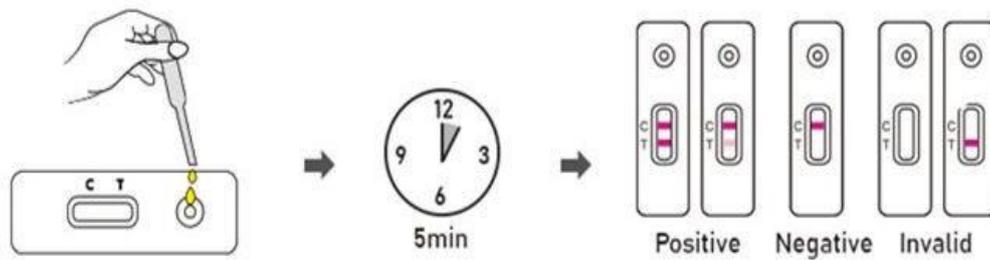
BAHAN:

1. Urine

CARA KERJA:

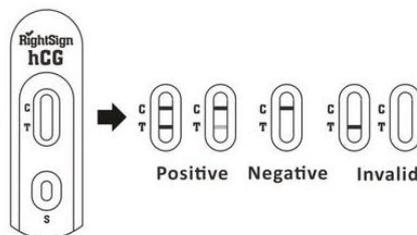
1. Keluarkan Perangkat Pengujian dari kantong foil dengan merobek takiknya dan letakkan di permukaan yang rata.
2. Pegang Penetes Sampel secara vertikal, tambahkan 2-3 tetes spesimen urin ke sampel bertanda S.
3. Baca hasil dalam 5 menit. Jangan membaca hasil setelah lebih dari 5 menit.

SKEMA KERJA



1. Tambahkan 2-3 tetes urine pada lubang bertanda “s”.
2. Baca Hasil dalam 5 Menit.
3. Jangan membaca hasil setelah lebih dari 5 menit.

INTERPRETASI HASIL:



Negatif : Garis merah muda hanya muncul pada wilayah kontrol C, mengindikasikan hasil negatif.

Positif : Garis merah muda muncul pada wilayah kontrol C dan tes T.

Invalid : Garis merah muda tidak muncul pada wilayah kontrol /

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichman AH. Pober JS. 1991. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia WB Saunders Co.
- Bratawijaya,KG. 1996. Imunologi Dasar. FKUI
- Hare,R. 1993. Mikrobiologi dan Imunologi. Yayasan Essentia Medica. Jakarta
- Kresno, SB. 2000. Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi ketiga. FKUI. Jakarta
- Nurminha, Misbahul H, Lendawati. 2020. Modul Praktikum Imunologi Serologi 1. Jurusan Analis Kesehatan Program Studi Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan TanjungKarang.
- RoittIM. 1988. Essential Immunology (6th ed). Oxford BSP.
- Subowo. 1993. Imunologi Klinik. Angkasa. Bandung
- Turgeon, Mary Louise. 2009. Immunology and serology in laboratory medicine. Elsevier. China.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

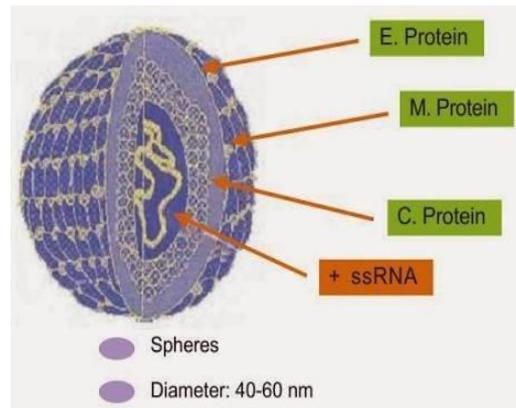
DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)

DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)

Demam dengue (DD) dan demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit virus dengue yang tersebar luas di seluruh dunia terutama di daerah tropis. Penderitanya terutama adalah anak-anak berusia dibawah 15 tahun dan orang dewasa yang terserang virus dengue, sumber utama penularannya adalah manusia dan primata, Vektornya adalah nyamuk *Aedes aegypti*. Sedangkan virus penyebab demam dengue adalah virus dengue genus flavivirus yang termasuk arbo-virus (arthropod borne virus) grup B (Soedarto 2010).

Masa inkubasi dengue pada manusia berlangsung sekitar 6-7 hari. Gejala awal demam dengue berlangsung 1-5 hari tidak spesifik, berupa demam tinggi mendadak, sakit kepala bagian frontal, nyeri retroorbital, malaise dan ruam kulit (maculopapular rash). Demam yang terjadi mendadak dalam waktu 2-7 hari turun menjadi suhu normal.

Virus dengue merupakan bagian dari family flaviviradae. Keempat virus dengue (disebut DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4 tidak dapat dibedakan dengan metode serologi. Virus dengue menunjukkan banyak karakteristik yang sama dengan flavivirus lainnya, mempunyai genom RNA rantai tunggal yang dikelilingi nukleokapsid ikosahedral dan terbungkus oleh selaput lipid. Virionnya mempunyai diameter kira-kira 50nm. Genom flavivirus mempunyai panjang kira-kira 11 kb (kilobases), dan urutan genom lengkap untuk mengisolasi keempat serotipe, mengkode nukleokapsid, atau protein inti (C), protein yang berkaitan dengan membran (M), dan protein pembungkus (E), dan tujuh gen protein nonstruktural (NS), domain-domain bertanggung jawab untuk netralisasi, fusi, dan interaksi dengan reseptor virus berhubungan dengan protein pembungkus. Urutan dari pengkodean protein adalah 5'-C-prM(M)-ENS1-NS2A-NS2B-NS4A-NS4B-NS5-3'.



Struktur Virus Dengue

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh empat serotype virus dengue dan ditandai dengan empat gejala klinis utama yaitu demam yang tinggi, manifestasi pendarahan, hematologi dan tanda-tanda kegagalan sirkulasi sampai timbulnya renjatan (Dengue Shock Syndrome / DDS) sebagai akibat dari kebocoran plasma yang dapat menyebabkan kematian.

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue yang tergolong Arthropod Borne Virus, genus Flavivirus, dan famili Flaviviridae. DBD ditularkan melalui gigitan nyamuk dari genus Aedes, terutama Aedes aegypti atau Aedes albopictus. Penyakit DBD dapat muncul sepanjang tahun dan dapat menyerang seluruh kelompok umur. Penyakit ini berkaitan dengan kondisi lingkungan dan perilaku masyarakat.

Gambaran Klinis Penyakit DBD ditandai oleh empat manifestasi klinis yaitu demam tinggi, manifestasi pendarahan, hematologi dan kegagalan sirkulasi (Sucipto, 2011).

Diagnosis serologis saat ini dilakukan dengan mendeteksi antigen NS1 dan IgG/IgM menggunakan metode imunokromatografi assay.

PEMERIKSAAN DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)

A. TES ANTIGEN NS1 (PROTEIN NON STRUKTURAL 1)

METODE:

Imunokromatografi Assay

PRINSIP:

Ketika serum / plasma / wholeblood pasien yang mengandung Ag Dengue NS1 diteteskan pada lubang sampel, Ag dengue NS1 bereaksi dengan konjugat anti-Ab dengue monoklonal - koloid emas, yang membentuk kompleks antibodi dan antigen yang akan bergerak di sepanjang membran secara kromatografi menuju daerah T yang dilapisi oleh antibodi spesifik terhadap virus dengue membentuk kompleks antibodi – Antigen– antibody yang akan menghasilkan garis pada strip.

ALAT:

1. Kaset uji, pengering
2. Lancet
3. Alat pengumpul darah
4. Pengatur waktu

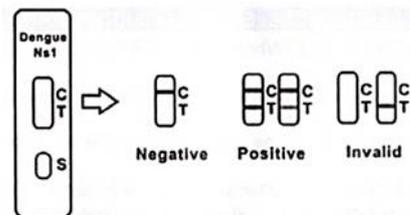
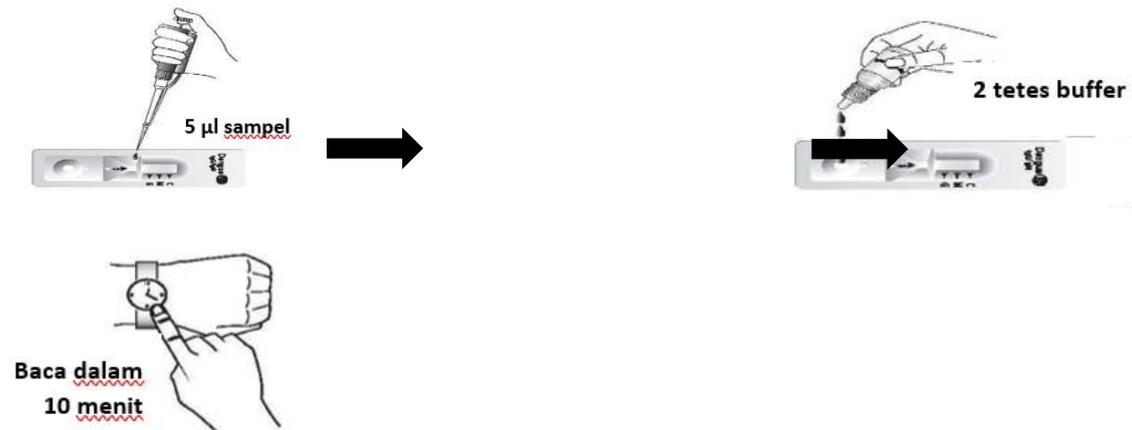
BAHAN:

1. Buffer sampel (3ml) per botol untuk 25 tes.
2. Sampel (serum/plasma/wholeblood)

CARA KERJA:

1. Pindahkan alat uji dari dalam kemasan bersegel dengan merobek di bagian celah kemasan dan tempatkan alat uji pada permukaan yang datar.
2. Tambahkan 50 μ l sampel menggunakan pipet pada bagian atas (dekat dengan jendela tes) atau sumuran sampel pada alat uji.
3. Secepatnya tambahkan 2 tetes (90 μ l) buffer assay dalam sumuran sampel pada alat uji.
4. Baca hasil 10 menit. Tidak boleh membaca hasil >30 menit.

SKEMA KERJA:



INTERPRETASI HASIL:

Baca hasil dalam 10 menit. Baca hasil yang terlihat menurut interpretasi hasil:

Negatif : Garis merah muda hanya muncul pada wilayah kontrol C, mengindikasikan hasil negative untuk infeksi DBD.

Positif : Garis merah muda muncul pada wilayah kontrol C dan T.

Invalid : Garis merah muda tidak muncul pada wilayah kontrol / C.

B. TES IgG/IgM DENGUE

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Standard Diagnostics Biotest Dengue IgG/IgM Rapid Test dirancang untuk secara mendeteksi dan membedakan antibodi IgG dan IgM virus dengue dalam serum atau plasma manusia. Kedua monoclonal anti-human IgG dan IgM pada membrane dan koloid emas virus dengue protein amplop akan bereaksi dengan IgG dan IgM antibody dengue dari serum atau plasma manusia. SD Biotest Dengue IgG/IgM Rapid Test memiliki tiga baris hasil yang telah dilapisi, "G" (baris test dengue IgG), "M" (baris test dengue IgM), "C" (baris control) pada permukaan perangkat.

ALAT:

1. Kaset Uji IgG/IgM anti dengue
2. Lancet
3. Stop watch

BAHAN:

1. Sampel serum atau plasma
2. Buffer sampel (3 ml) per botol untuk 25 tes.

CARA KERJA:

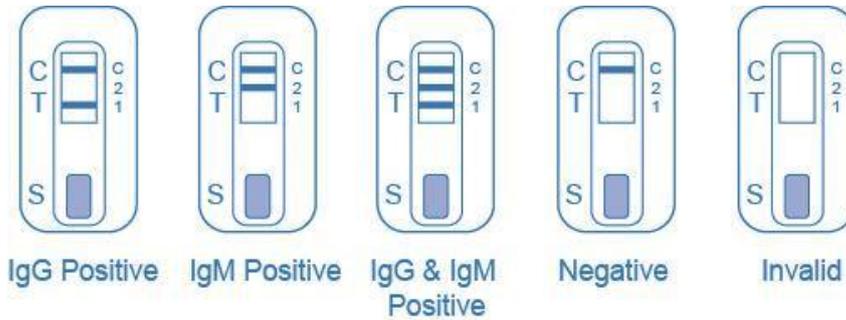
1. Tambahkan 5 μ l sampel menggunakan pipet pada bagian atas (dekat dengan jendela tes) atau sumuran sampel pada alat uji
2. Pindahkan alat uji dari dalam kemasan bersegel dengan merobek di bagian celah kemasan dan tempatkan alat uji pada permukaan yang datar.
3. Secepatnya tambahkan 4 drop (90 μ l) buffer assay dalam sumuran sampel pada alat uji.
4. Baca hasil 10-20 menit. Tidak boleh membaca hasil lebih dari 20 menit.

SKEMA KERJA:



Baca hasil dalam 10 menit. Baca hasil yang terlihat menurut interpretasi hasil:

INTERPRETASI HASIL:



Negatif : Garis merah muda terlihat pada wilayah kontrol C saja, mengindikasikan hasil negative untuk infeksi DBD.

Positif : Garis merah muda terlihat pada wilayah kontrol C, dan T1 dan/atau wilayah T2

Invalid : Jika tidak terlihat garis merah muda pada wilayah control.

DAFTAR PUSTAKA

<https://sukabumikab.go.id/portal/berita-opd/925/edukasi-sosialisasi-dan-pemeriksaan-hiv-aids-pada-trans-gender-.html>

<https://www.google.com/search?q=gambar+pemeriksaan+hiv+rapid+test&oq=&aqs=chrome.5.69i59i450l8.10064481j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

<https://www.google.com/search?q=tentang+hiv&oq=&aqs=chrome.6.69i59i450l8.9934384j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

<https://www.scribd.com/document/387636575/Prinsip-Pemeriksaan-Dengue-NSI-Rapid>

Nurminha, Misbahul H, Lendawati. 2020. Modul Praktikum Imunologi Serologi 2. Jurusan Analis Kesehatan Program Studi Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan TanjungKarang.

Soegijanto, S. 2006, Demam Berdarah Dengue, edisi ke-2, Airlangga University Press, Surabaya

Star Dignostic Plus 2019. Manual Instruction Dengue IgG/IgM antibodi

WHO, 2009. Dengue guidelins for diagnosis, treatment, prevention and control, new edition, WHO, Genewa, Switzerland

Widoyono, 2011. Penyakit Tropis. Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasan. EGC. Jakarta

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

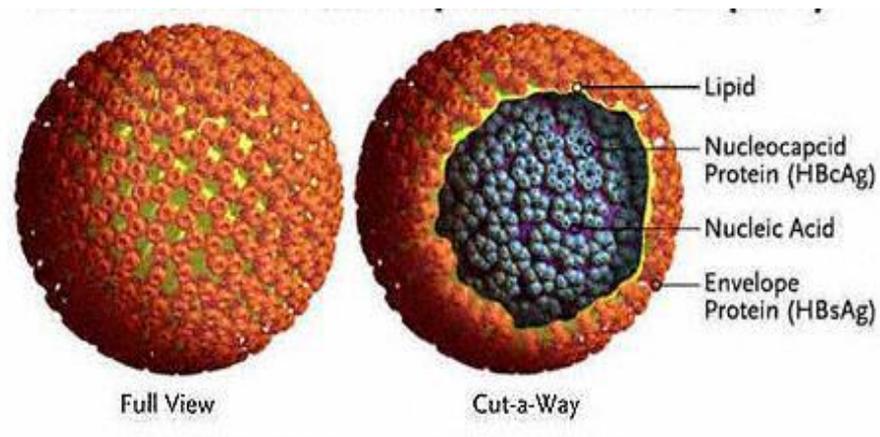
Topik:

Paraf Pembimbing

HEPATITIS B VIRUS (HBV)

HEPATITIS B VIRUS (HBV)

Hepatitis B merupakan suatu penyakit hati yang disebabkan oleh virus hepatitis B, yaitu salah satu virus termasuk anggota family hepa dna virus yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati bahkan kanker hati. Hepatitis akut jika perjalanan penyakit kurang dari 6 bulan, sedangkan hepatitis B kronis bila penyakit menetap, tidak menyembuh secara klinis atau laboratorium atau pada gambaran patologi anatomi selama 6 bulan.



Gambar Struktur Virus Hepatitis B

Sumber: Maharani Ganjar, 2018

Virus Hepatitis B (VHB) adalah virus (*Deoxyribo Nucleic Acid*) DNA terkecil berasal dari genus Orthohepadnavirus famili Hepadnaviridae berdiameter 40-42 nm. Masa inkubasi berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata inkubasi 60-90 hari. Bagian luar dari virus ini adalah *protein envelope lipoprotein*, sedangkan bagian dalam berupa *nukleokapsid atau core*. Genom virus hepatitis B merupakan molekul DNA sirkular untai-ganda parsial dengan 3200 nukleotida . Genom berbentuk sirkuler dan memiliki empat *Open Reading Frame* (ORF) yang saling tumpang tindih secara parsial protein envelope yang dikenal sebagai selubung HbsAg seperti *large HBs* (LHBs), *medium HBs* (MHBs), dan *small HBs* (SHBs) disebut gen S, yang merupakan target utama

respon imun host, dengan lokasi utama pada asam amino 100-160. HBsAg dapat mengandung satu dari sejumlah sub tipe antigen spesifik, disebut d atau y, w atau r. Sub tipe HbsAg ini menyediakan penanda epidemiologik tambahan. Gen C yang mengkode protein inti (HBcAg) dan HBeAg, gen P yang mengkode enzim polimerase yang digunakan untuk replikasi virus, dan terakhir gen X yang mengkode protein X (HBx), yang memodulasi sinyal sel host secara langsung dan tidak langsung mempengaruhi ekspresi gen virus ataupun host, dan belakangan ini diketahui berkaitan dengan terjadinya kanker hati (Maharani, Ganjar, 2018).

Infeksi VHB merupakan penyebab utama hepatitis akut, hepatitis kronis, sirosis dan kanker hati di dunia. Infeksi ini endemis di daerah Timur Jauh, sebagian besar kepulauan Pasifik, banyak Negara di Afrika, sebagian Timur Tengah dan di lembah Amazon. *Center of Disease Control and Prevention* (CDC) memperkirakan bahwa sejumlah 200.000 hingga 300.000 orang (terutama dewasa muda) terinfeksi oleh virus VHB setiap tahunnya. Hanya 25% dari mereka yang mengalami icterus, 10.000 kasus memerlukan perawatan di rumah sakit, dan sekitar 1-2% meninggal (Maharani, Ganjar, 2018).

a. Cara penularan

Penularan virus hepatitis B (VHB) adalah melalui parental dan menembus membran mukosa, termasuk melalui hubungan seksual. Penanda HBsAg telah diidentifikasi pada hampir setiap cairan tubuh dari orang dewasa yang terinfeksi yaitu saliva, air mata, cairan seminal, cairan serebrospinal, asites dan air susu ibu.

Kelompok beresiko tinggi terhadap deteksi dini hepatitis B diantaranya adalah pengguna Napza suntik (narkotika, psikotropika dan zat adiktif lain), pasien klinis Infeksi Menular Seksual (IMS), orang dengan infeksi HIV, orang dengan riwayat keluarga terinfeksi hepatitis B dan pasien gagal ginjal yang melakukan hemodialisis.

b. Gejala klinik

Manifestasi klinis infeksi VHB pada pasien hepatitis akut cenderung ringan. Hepatitis B sulit dikenali karena gejala-gejalanya tidak langsung terasa dan bahkan ada yang sama sekali tidak muncul. Karena itulah banyak yang tidak menyadari bahwa dirinya telah terinfeksi.

Virus ini biasanya berkembang selama 1-5 bulan sejak terjadi pajanan oleh virus sampai kemunculan gejala pertama. Kondisi asimtomatis ini terbukti dari tingginya

angka pengidap tanpa adanya riwayat hepatitis akut. Beberapa gejala umum hepatitis B antara lain kehilangan nafsu makan, mual muntah, nyeri di perut bagian bawah dan sakit kuning (dilihat dari kulit dan bagian putih mata yang menguning). Perjalanan hepatitis B kronik dibagi menjadi tiga fase penting yaitu:

1) Fase Imunotoleransi

Pada fase ini virus hepatitis B berada dalam fase replikatif dengan titer HBsAg yang sangat tinggi.

2) Fase Imunoaktif (*clearance*)

Sekitar 30% individu persisten dengan VHB akibat terjadinya replikasi virus yang berkepanjangan, terjadi proses nekroinflamasi yang tampak dari kenaikan konsentrasi ALT. Fase *clearance* menandakan pasien sudah mulai kehilangan toleransi imun terhadap VHB.

3) Fase Residual

Pada fase ini ditandai dengan titer HBsAg yang rendah, HBsAg yang menjadi negative dan anti-HBe yang menjadi positif, serta konsentrasi ALT normal.

PEMERIKSAAN HEPATITIS B (HBV)

A. TES HBsAg

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Membran nitroselulosa di lapisi dengan *mouse monoclonal* anti HBsAg yang terkumpul pada daerah garis uji dan *mouse monoclonal* anti-chicken IgG pada daerah garis kontrol. Selama pengujian, spesimen dibiarkan bereaksi dengan konjugat berwarna (*mouse monoclonal anti HBsAg conjugated gold colloid*) yang telah di lapisi pada strip tes. Campuran (*mouse monoclonal anti- HBsAg + HBsAg* di dalam spesimen) kemudian bergerak ke atas pada membran kromatografi dengan cara kapilaritas. Untuk hasil positif, akan muncul garis berwarna ungu yang merupakan ikatan kompleks antara *mouse monoclonal anti-HBsAg konjugat* yang terkumpul dengan konjugat berwarna sehingga membentuk garis hasil uji pada jendela hasil. Tidak ada nya garis berwarna ungu di wilayah uji menunjukkan hasil yang negatif. Terlepas dari adanya HBsAg, chicken IgG terkonjugasi *gold colloid* yang telah di lapisi pada strip tes kemudian akan bergerak melintasi membran ke *mouse monoclonal anti-chicken IgG*, maka garis berwarna ungu akan terbentuk pada daerah kontrol. Kehadiran garis berwarna ungu di daerah kontrol berfungsi sebagai 1) verifikasi bahwa volume spesimen cukup. 2) terjadinya aliran yang tepat, dan 3) kontrol untuk reagen.

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes sampel

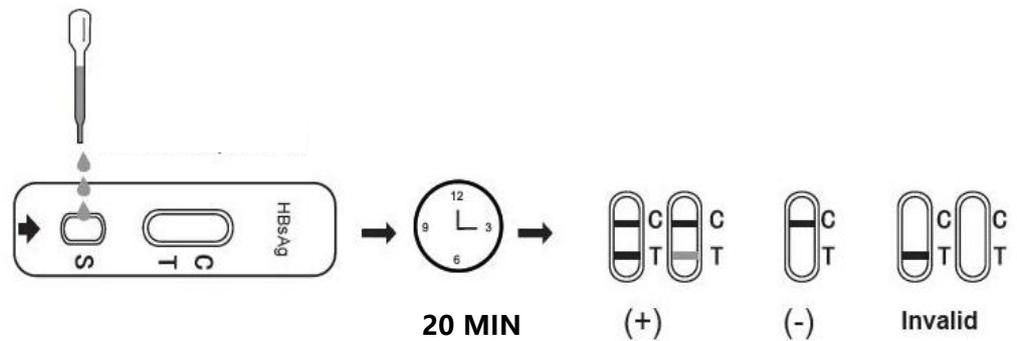
BAHAN:

1. Serum

CARA KERJA:

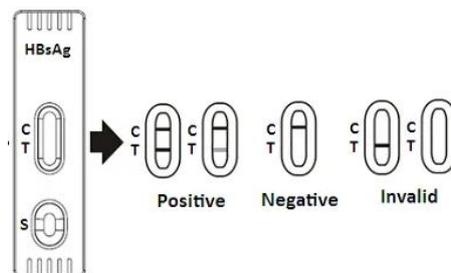
1. Letakkan tes kit dan spesimen pada suhu antara 15-30°C sebelum pengujian.
2. Keluarkan tes kit dari kantung foil dan letakkan pada permukaan yang datar dan kering. Beri label tes kit dengan pengenalan pasien.
3. Gunakan mikropipet dan tambahkan 100 uL spesimen (serum, plasma, atau darah utuh) ke dalam sumur sampel "S"
4. Pada saat tes mulai bekerja, akan muncul tampilan berupa garis berwarna ungu yang bergerak menuju jendela hasil yang berada di bagian tengah tes kit.
5. Baca/interpretasikan hasil dalam waktu 20 menit. Catatan : jangan baca hasil setelah 20 menit karena akan mendapatkan hasil yang salah.

SKEMA KERJA:



1. Tambahkan 100 uL spesimen ke dalam sumur sampel "S"
2. Baca/interpretasikan hasil dalam waktu 20 menit.
3. Jangan baca hasil setelah 20 menit

INTERPRETASI HASIL:



- Negatif:

Pita berwarna merah muda hanya muncul di daerah kontrol (C), menunjukkan hasil negatif untuk infeksi HbsAg

- **Positif:**

Garis kontrol merah muda jelas (C) dan garis tes terdeteksi (T) muncul, menunjukkan hasil positif untuk infeksi HBsAg.

- **Invalid:**

Tidak ada pita yang terlihat di wilayah kontrol. Ulangi dengan perangkat uji baru.

B. TES HBsAb

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Tes antibodi HBV adalah tes imunokromatografi yang mendeteksi keberadaan antibodi HBV dalam sampel darah. Antigen HBV terkonjugasi dengan emas koloid dan melekat secara imobilisasi pada bantalan konjugasi dan bermigrasi pada zona uji (T) membran nitroselulosa. Ketika sampel serum/plasma ditambahkan, Kompleks antigen antibodi konyugat sewaktu sampai zona T jika membentuk garis berwarna yang terlihat (Pita uji) yang menunjukkan hasil positif. Jika antibodi HBV tidak ada dalam sampel, tidak ada garis berwarna yang akan muncul di Zona Tes (T). Pada zona kontrol (C) akan terbentuk garis berwarna

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes sampel

BAHAN:

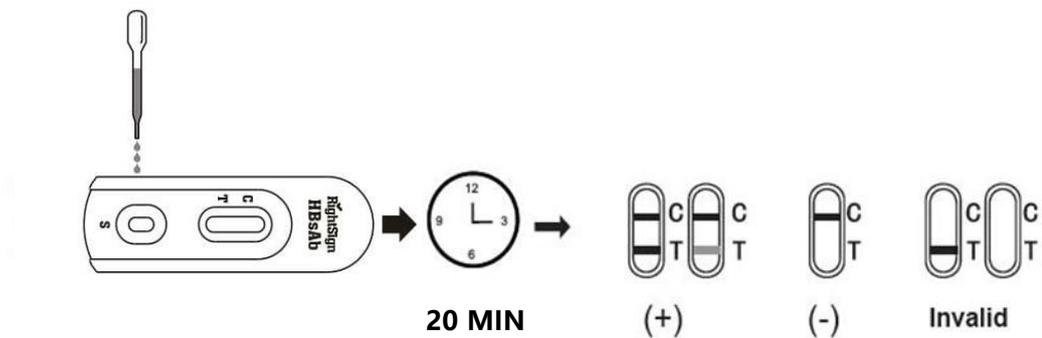
Serum

CARA KERJA:

1. Letakkan tes kit dan spesimen pada suhu ruang sebelum pengujian.

2. Keluarkan tes kit dari kantung foil dan letakkan pada permukaan yang datar dan kering. Beri label tes kit dengan identitas pasien.
3. Gunakan mikropipet dan tambahkan 100 uL spesimen (serum, plasma, atau darah utuh) ke dalam sumur sampel "S". Pada saat tes mulai bekerja, akan muncul tampilan berupa garis berwarna yang bergerak menuju jendela hasil yang berada di bagian tengah tes kit.
4. Baca/interpretasikan hasil dalam waktu 20 menit. Catatan : jangan baca hasil setelah 20 menit karena akan mendapatkan hasil yang salah.

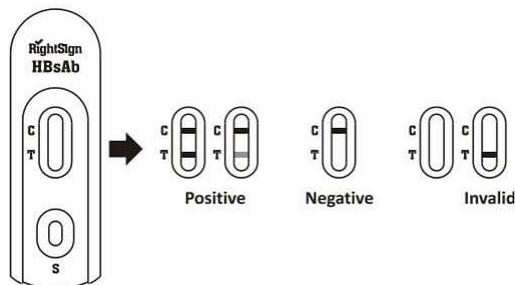
SKEMA KERJA:



1. Tambahkan 100 uL spesimen ke dalam sumur sampel "S"
2. Baca/interpretasikan hasil dalam waktu 20 menit.
3. Jangan baca hasil setelah 20 menit

INTERPRETASI

HASIL:



- Negatif

Pita berwarna hanya muncul di daerah kontrol (C), menunjukkan hasil negatif untuk infeksi HBsAb

- **Positif**

Garis kontrol berwarna jelas (C) dan garis tes terdeteksi (T) muncul, menunjukkan hasil positif untuk infeksi HBsAb.

- **Invalid**

Tidak ada pita warna yang terlihat di wilayah kontrol. ulangi dengan perangkat uji baru.

C. TES HBeAg

METODE:

Immunokromatografi

PRINSIP:

Membran dilapisi dengan antibodi anti-HBeAg pada daerah garis uji strip. Selama pengujian, spesimen serum atau plasma jika mengandung HBeAg bereaksi dengan partikel yang dilapisi dengan antibodi anti- HbeAg koloidal emas. Campuran bermigrasi pada membran dengan aksi kapiler untuk bereaksi dengan antibodi anti-HBeAg pada membran dan menghasilkan garis berwarna. Adanya garis berwarna di wilayah uji menunjukkan hasil positif, sedangkan tidak ada menunjukkan hasil negatif. Pada garis kontrol harus selalu muncul warna yang menunjukkan bahwa hasil tervalidasi.

ALAT:

1. Perangkat Uji
2. Pipet tetes sekali pakai
3. Timer

BAHAN:

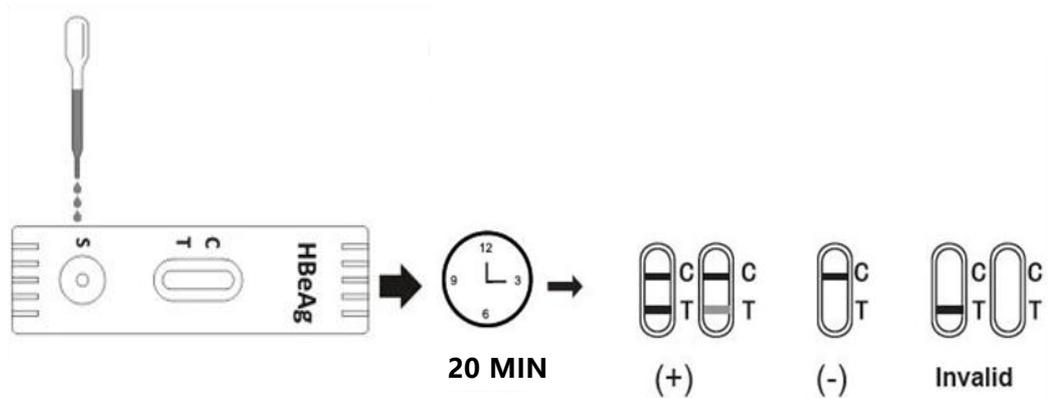
1. Sampel (serum/plasma)

CARA KERJA:

1. Siapkan alat dan bahan. Diamkan pada suhu ruang (15-30°C) sebelum digunakan.
2. Keluarkan perangkat uji dari wadah pembungkus dan segera digunakan. Hasil terbaik diperoleh jika pengujian dilakukan tidak lebih dalam waktu 1 jam.

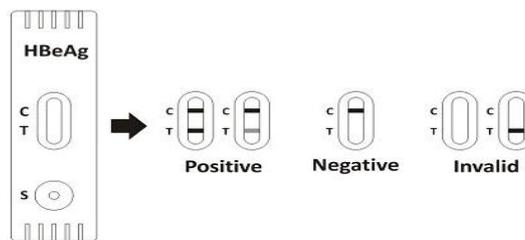
3. Pipet 3 tetes serum/plasma ($\pm 75 \mu\text{l}$) ke sumur sampel. Aktifkan timer. Hindari adanya gelembung udara pada sumur sampel.
4. Baca hasil dalam 15 menit. Jangan lebih dari 20 menit.

SKEMA KERJA:



1. Tambahkan 100 uL spesimen ke dalam sumur sampel “S”
2. Baca/interpretasikan hasil dalam waktu 20 menit.
3. Jangan baca hasil setelah 20 menit

INTERPRETASI HASIL:



- **Negatif**
Pita berwarna hanya muncul di daerah kontrol (C), menunjukkan hasil negatif untuk infeksi HBeAb
- **Positif**
Garis control jelas (C) dan garis tes terdeteksi (T) muncul, menunjukkan hasil positif untuk infeksi HBeAb.
- **Invalid**
Tidak ada pita yang terlihat di wilayah kontrol. ulangi dengan perangkat uji baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Alavian, 2009. Hepatitis C in Hemodialysis Patients 2009; dalam Widhani dkk. 2015. Serokonversi Hepatitis C pada Pasien Hemodialisis di RS CiptoMangun Kusumo. Jakarta: Jurnal Penyakit Dalam Indonesia.
- Andri; Budiman; H.Ali; Imelda; Anggilia 2010. Pendekatan Terkini Hepatitis B dan C dalam Praktik Klinis Sehari-hari, Penerbit Sagung Seto.
- Badan Penelitian dan Kesehatan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2018.
- Badan Penelitian dan Kesehatan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2007.
- Biocare, 2022. Manual Kit Instruction HbeAg Rapid Test Device.
- Irfan; Wawomeo; Kambuno 2019. Infeksi Virus Hepatitis B pada Pasien Hemodialisis di RSUD Prof. DR. W.Z. Johannes Kupang, NTT; Jurnal Kesehatan Primer.
- Kemenkes RI (2014). Pusat Data dan Informasi Situasi dan Analisis Hepatitis
- Maharani; Ganjar 2018. Imunohematologi dan Bank Darah, Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan 2018.
- Nurminha, Misbahul H, Lendawati. 2020. Modul Praktikum Imunologi Serologi 2. Jurusan Analisis Kesehatan Program Studi Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan Tanjung Karang.
- Star Diagnostic Plus, 2018. Manual Kit Instruction Human Immunodeficiency Virus 1/2 (HIV/1/2) antibody Tes
- Sylvia A. Price, Wilson 2006, Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Penerbit Buku Kedokteran, EGC
- WHO (2013). Emerging Diseases Regional Strategi for the Prevention and Control of Viral Hepatitis

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

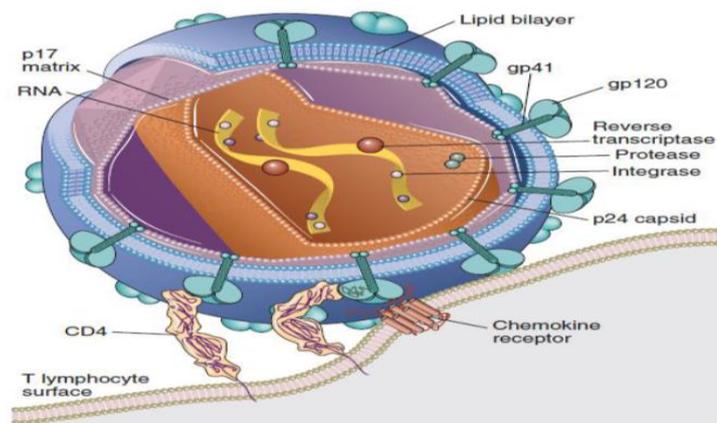
Paraf Pembimbing

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

HIV menginfeksi berbagai sel sistem imun antara lain : sel T helper (CD4+), makrofag dan sel dendritik. Infeksi HIV menyebabkan penurunan kekebalan tubuh yang berhubungan dengan infeksi oportunistik dan tumor ganas disebut *Acquired Immunodeficiency Virus Syndrome (AIDS)*. Virus HIV dibagi menjadi 2 tipe yaitu : HIV-1 dan HIV-2. HIV-1 lebih cepat menyebabkan AIDS dan bersifat akut, sedangkan HIV-2 menyebabkan AIDS lebih lambat dan bersifat kronik. Menurut data WHO 2010, angka kejadian HIV dari 119 negara secara global mencapai 35.000.000 orang terinfeksi HIV (sekitar 33.200.000 – 37.200.000 orang) dan 15.000.000 orang meninggal.

Secara morfologi HIV-2 sama dengan HIV-1 tetapi kurang patogenik. Kedua tipe tersebut dapat dibedakan melalui ada atau tidaknya antibodi yang spesifik pada HIV-2. Meskipun reaktivitas (*cross reactivity*) terjadi antara protein inti kedua virus, tetapi protein pembungkus (*envelope*) mereka berbeda.



Gambar Struktur Virus HIV

Sumber: Maharani Ganjar, 2018

a. Cara penularan

Cara penularan HIV saat ini semakin jelas, infeksi ditularkan dari satu individu ke individu lain melalui tiga jalur utama yaitu:

- 1) Kontak seksual merupakan cara penularan baik pada kelompok heteroseksual maupun homoseksual.

- 2) Penularan dari ibu ke anak, terjadi selama kehamilan melalui saluran plasenta dan setelah melahirkan.
- 3) Penularan pasien oleh darah penderita HIV atau produk darah tranfusi dari donor pemakai obat/ narkoba melalui jarum suntik dan tranfusi darah yang terinfeksi HIV.

b. Gejala klinis

AIDS merupakan kumpulan gejala atau penyakit yang disebabkan oleh menurunnya kekebalan tubuh akibat infeksi oleh virus HIV. AIDS merupakan stadium ketika sistem imun penderita jelek dan penderita menjadi rentan terhadap infeksi oportunistik. Pada individu yang terinfeksi HIV dengan jumlah CD4 <200 U/l juga merupakan definisi AIDS meskipun tanpa adanya gejala yang terlihat.

Infeksi oportunistik merupakan infeksi yang tidak terkontrol dari penyebab infeksi yang ada dan tidak dapat dikendalikan. Infeksi-infeksi umum ini mencakup:

- 1) Pneumonia yang disebabkan oleh *Pneumocystis carinii*.
- 2) Tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacterium avium / intracellularis*.
- 3) Kriptosporidiosis kronis
- 4) Toksoplasmosis
- 5) Infeksi-infeksi virus lain, seperti *Cytomegalovirus*

Adanya infeksi oportunistik hanya dapat ditentukan setelah penelitian klinis dan hasil laboratorium.

c. Metode pemeriksaan

Secara umum diagnosis HIV dibagi menjadi dua prinsip pendeteksian, yaitu deteksi antibodi dan deteksi virus. Langkah pertama untuk mendiagnosis HIV/AIDS adalah anamnesis secara keseluruhan kemudian ditemukan adanya faktor resiko dan temuan klinis pada pemeriksaan fisik.

PEMERIKSAAN HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV)

A. TES RAPID HIV

METODE:

Immunkromatografi Assay

PRINSIP:

Tes anti HIV 1/2 adalah tes imunokromatografi yang, mendeteksi keberadaan antibodi HIV 1/2 dalam sampel darah. Antigen HIV 1/2 spesifik, GP41 dan GP 36 adalah 1) terkonjugasi dengan emas koloid yang melekat pada bantalan konjugasi dan 2) diimobilisasi pada zona uji (T) pada membran nitroselulosa. Ketika sampel serum / plasma ditambahkan, koloidal emas dan antibodi HIV 1/2, jika ada dalam sampel, akan berinteraksi dengan antigen koloidal emas. Kompleks antibodi-antigen terkonjugasi koloidal-emas akan bermigrasi ke arah jendela uji sampai zona uji (T) di mana mereka akan ditangkap oleh antigen yang dilekatkan di zona T, membentuk garis berwarna yang terlihat (Pita uji) yang menunjukkan hasil positif. Jika antibodi HIV 1/2 tidak ada dalam sampel, tidak ada garis yang akan muncul di Zona Tes (T).

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes sampel

BAHAN:

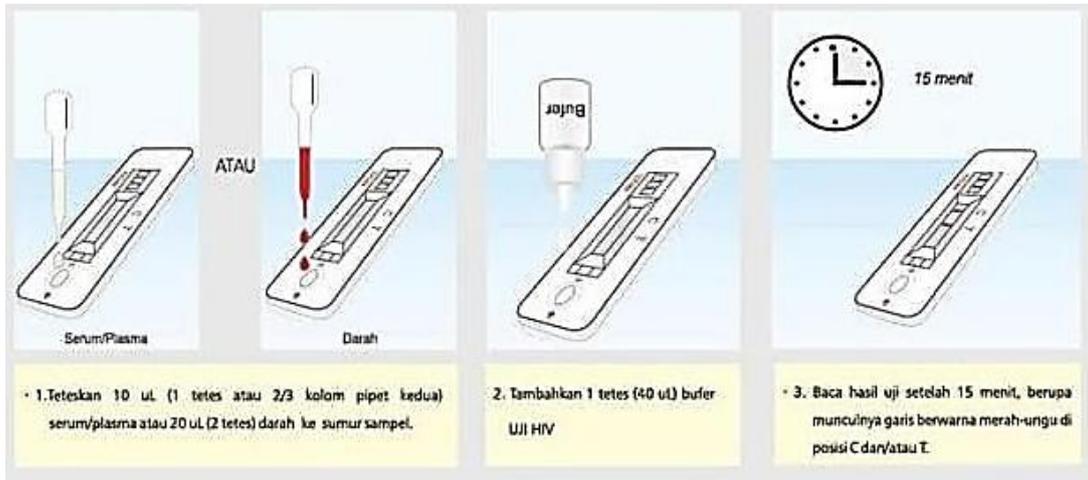
1. Buffer serum
2. Serum / Plasma / Whole Blood

CARA KERJA:

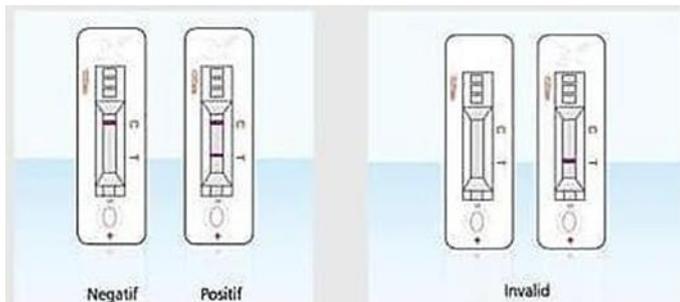
1. Lepaskan perangkat pengujian dari kantong yang disegel dengan merobek takiknya dan letakkan perangkat pengujian pada permukaan yang rata.
2. Untuk sampel darah utuh dan sampel serum / plasma:
Pegang penetes sampel secara vertikal. Tambahkan satu tetes (kira-kira 35 µl) dari spesimen tanpa gelembung udara ke dalam contoh sumur yang ditandai dengan panah pada alat uji. Tunggu selama 20-30 detik.
3. Lalu tambahkan 2 tetes (sekitar 100µl) buffer pengujian ke sumur sampel yang sama dari perangkat pengujian.
4. Baca hasilnya dalam 10-30 menit. Baca hasil seperti yang ditunjukkan di bawah interpretasi hasil. CATATAN: Spesimen dengan konsentrasi antibodi HIV yang tinggi dapat menghasilkan hasil positif dalam waktu 1 menit. Konfirmasikan

negatif dalam 10-20 menit (untuk sampel darah utuh, konfirmasi negatif dalam 20-30menit)

SKEMA KERJA:



INTERPRETASI HASIL



- **Negatif**
Pita berwarna merah muda hanya muncul di daerah kontrol (C), menunjukkan hasil negatif untuk infeksi HIV
- **Positif**
Garis kontrol merah muda jelas (C) dan garis tes terdeteksi (T) muncul, menunjukkan hasil positif untuk infeksi HIV (tipe 1 dan / atau tipe 2).
- **Invalid**
Tidak ada pita yang terlihat di wilayah kontrol. Ulangi dengan perangkat uji baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian dan Kesehatan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI.
RisetKesehatan Dasar (Riskesdas).2018.
- Maharani; Ganjar 2018.Imunohematologi dan Bank Darah, Bahan Ajar
TeknologiLaboratorium Medik, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia
Kesehatan2018.
- Nurminha, Misbahul H, Lendawati. 2020. Modul Praktikum Immunologi Serologi 2.
Jurusan Analis Kesehatan Program Studi Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan
TanjungKarang.
- Sylvia A. Price, Wilson 2006, Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit,
Penerbit Buku Kedokteran, E

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

HEPATITIS A VIRUS (HAV)

HEPATITIS A VIRUS (HAV)

Hepatitis A Virus (HAV) adalah penyakit infeksi atau peradangan pada organ hati yang disebabkan oleh virus hepatitis A (HAV). Hepatitis A merupakan penyakit endemis di Negara berkembang. Hepatitis A tergolong infeksi yang ringan, bersifat akut dan dapat sembuh dalam waktu kurang dari 6 bulan dan tidak menyebabkan infeksi kronik. Penularan penyakit ini melalui fecal oral, sumber penularan terjadi karena pencemaran air minum, makanan yang tidak dimasak, makanan yang tercemar, sanitasi buruk dan personal hygiene rendah.

Gejala bersifat akut, tidak khas, demam, lemas, sakit kepala, mual dan muntah, terjadi ikterus bahkan dapat menyebabkan pembengkakan hati. Penderita hepatitis A akan sembuh dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh penderita dengan mengkonsumsi makanan bergizi dan menjaga keseimbangan nutrisi. Pencegahannya melalui kebersihan lingkungan, terutama terhadap makanan dan minuman dan melakukan Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS). Diagnosa laboratorium ditegakkan dengan pemeriksaan IgM antibody dalam serum penderita.

PEMERIKSAAN HEPATITIS A VIRUS (HAV)

A. TES HAV IgM

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

IgM anti HAV yang ada dalam serum penderita akan bereaksi dengan antigen recombinan HAV koloidal-emas yang terdapat di dalam membrane nitroselulosa pada cassette, membentuk kompleks antigen- koloidal emas- antibody yang akan bergerak sepanjang membrane secara kromatografi. Apabila terdapat antibody/ IgM anti HAV akan terbentuk garis berwarna pada wilayah T (Tes) dan line C (control). jika tidak terdapat IgM anti HAV maka tidak terbentuk garis warna pada wilayah T (Tes) dan garis warna hanya pada wilayah C (Control).

ALAT:

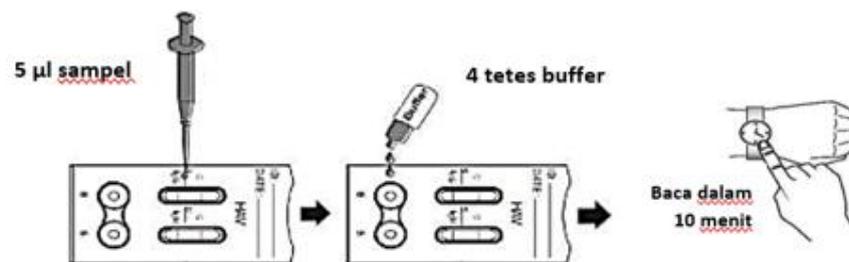
1. Kaset Uji
2. Penetes sampel

BAHAN:

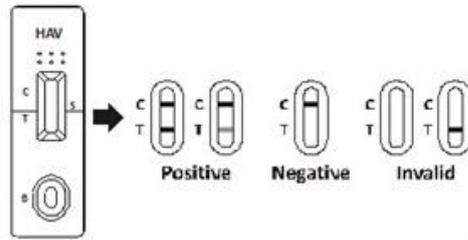
1. Buffer sampel
2. Serum/plasma/whole blood

CARA KERJA:

1. Disiapkan alat tes dan diletakkan perangkat pengujian pada permukaan yang rata.
2. Sampel yang digunakan whole blood, serum atau plasma
3. Pipet dipegang secara vertical, serum/ darah dipipet 5 μ l lalu diteteskan pada sumuran sampel.
4. Kemudian ditambahkan 4 tetes (4 drops) diluen buffer pada sumur sampel.
5. Hasil dibaca dalam 20 menit. Tidak boleh dibaca lebih dari 20 menit karena dapat menyebabkan positif palsu.

SKEMA KERJA:

INTERPRETASI HASIL



- **Negatif**
Pita berwarna hanya muncul di daerah kontrol (C), menunjukkan hasil negatif
- **Positif**
Garis kontrol merah muda jelas (C) dan garis tes terdeteksi (T) muncul, menunjukkan hasil positif
- **Invalid**
Tidak ada pita yang terlihat di wilayah kontrol. Ulangi dengan perangkat uji baru.

DAFTAR PUSTAKA

- WHO (2013). Emerging Diseases Regional Strategi for Prevention and Control of Viral Hepatitis
- Kemenkes RI (2014). Pusat Data dan Informasi Situasi dan Analisis Hepatitis
- Nurminha, Misbahul H, Lendawati. 2020. Modul Praktikum Imunologi Serologi 2. Jurusan Analis Kesehatan Program Studi Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan TanjungKarang.
- Standar Diagnostic.INC 2018.Manual Kit Instruction One Step IgG dan IgM antibodies Hepatitis A Virus ARapid Tes

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

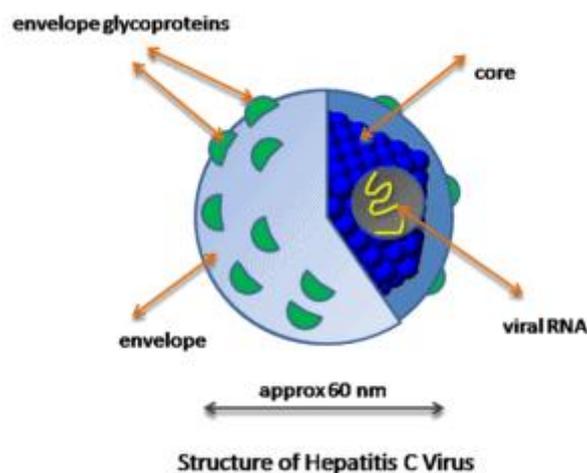
Topik:

Paraf Pembimbing

HEPATITIS C VIRUS (HCV)

HEPATITIS C VIRUS (HCV)

Hepatitis C adalah infeksi virus yang mempengaruhi hati. Hepatitis C menyebar melalui kontak dengan darah yang terinfeksi. Hal ini dapat terjadi melalui penggunaan jarum suntik secara bergantian, atau melalui prosedur medis yang tidak aman seperti transfusi darah dengan produk darah yang tidak disaring. Virus hepatitis C (HCV), yang sebelumnya disebut sebagai hepatitis non-A dan non-B (NANBH), menular secara parenteral, dan mengakibatkan penyakit kronis pada 50% pasien. HCV juga dapat ditularkan melalui penyalahgunaan obat-obatan intravena terlarang dan kontak seksual.



Virus hepatitis C adalah virus RNA berantai tunggal yang memiliki kemiripan structural dengan keluarga flavivirus. Sekuens asam nukleat dari klon cDNA HCV menjadi dasar pembangunan peptide rekombinan yang mewakili protein-protein virus hepatitis C. Skrining antibodi anti-virus hepatitis C dalam darah menggunakan protein sintesis atau rekombinan telah membantu dalam identifikasi antibodi anti-HCV pada pendonor darah yang tampak sehat. Tanpa skrining tersebut, virus HCV dapat ditransmisikan ke resipien donor darah.

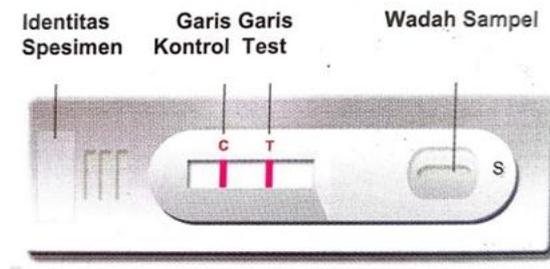
PEMERIKSAAN HEPATITIS C VIRUS (HCV)

A. TES HCV

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:



Ketika volume adekuat spesimen bahan uji dimasukkan ke dalam wadah sampel pada kaset alat uji, spesimen tersebut akan bermigrasi mengikuti gerakan kapiler sepanjang kaset. Antibodi terhadap HCV, jika berada di dalam spesimen, akan terikat dengan konjugat Ag HCV. Kompleks imun yang terbentuk tersebut kemudian ditangkap di strip membrane oleh antigen fusi HCV tidak terkonjugasi yang dilapisi pada garis T, membentuk garis berwarna, menunjukkan Ab HCV positif atau hasil reaktif. Tidak terbentuknya garis T menunjukkan hasil negatif. Adanya control internal (garis C), yang pasti menunjukkan garis berwarna merah anggur dari kompleks imun antibodi kontrol, terlepas dari perubahan warna pada garis T. Jika garis C tidak berubah warna, hasil alat uji dianggap tidak valid, dan spesimen harus diuji ulang dengan alat uji yang baru.

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes sampel
3. Timer

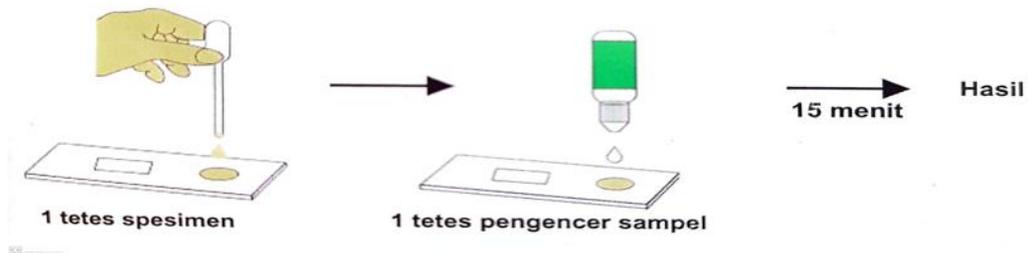
BAHAN:

1. Buffer sampel
2. Serum/plasma/whole blood

CARA KERJA:

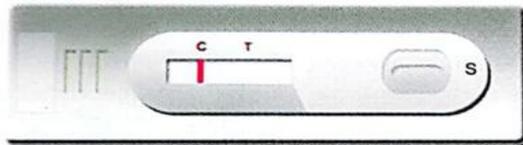
1. Disiapkan spesimen dan komponen alat uji pada suhu ruang (jika sebelumnya didinginkan) dan diletakkan perangkat pengujian pada permukaan yang rata.
2. Sampel yang digunakan whole blood/serum/plasma
3. Pipet spesimen menggunakan penetes sampel yang dipegang secara vertical, dan teteskan sebanyak 1 tetes (sekitar 30-45 μ l) lalu ditetaskan pada sumuran sampel dan pastikan tidak ada gelembung udara.
4. Kemudian ditambahkan 1 tetes (sekitar 30-45 μ l) diluen buffer pada sumur sampel dengan memegang botol pengencer secara vertikal.
5. Atur timer
6. Hasil dibaca dalam 15 menit. Hasil positif dapat terlihat dalam 1 menit pertama.
Jangan membaca hasil setelah 20 menit. Untuk menghindari kekeliruan, buanglah perangkat alat uji setelah menafsirkan hasilnya.

SKEMA KERJA:

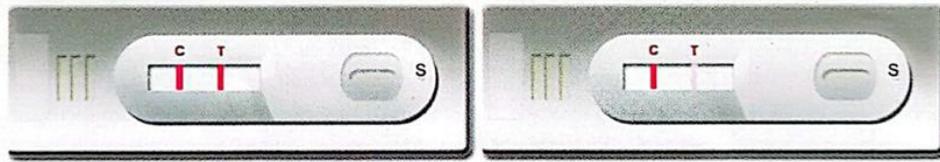


INTERPRETASI HASIL

1. **HASIL NEGATIF:** Jika hanya garis C yang terlihat, alat uji menunjukkan bahwa tidak ada antibody HCV yang terdeteksi dalam spesimen. Hasilnya negative atau non-reaktif.

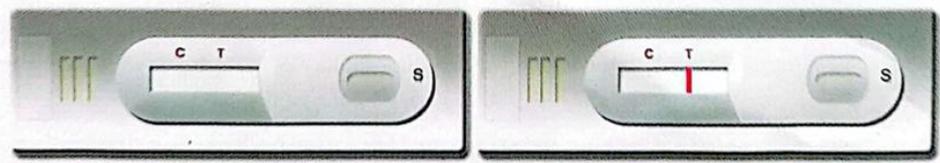


2. **HASIL POSITIF:** Jika kedua garis C dan T terlihat, alat uji menunjukkan terdeteksi antibody HCV dalam spesimen. Hasilnya positif atau reaktif.



Sampel dengan hasil reaktif harus dikonfirmasi dengan metode pengujian alternative dan temuan klinis yang sesuai sebelum penentuan positif dibuat.

INVALID: Jika garis C tidak terlihat, pengujian dinyatakan tidak valid terlepas dari perubahan warna pada garis T seperti yang ditunjukkan di bawah ini. Ulangi pengujian dengan perangkat baru.



DAFTAR PUSTAKA

- ANSWER HCV Ab Plus Rapid Test-Kaset (Serum/Plasma). CTK Biotech, Inc. San Diego, CA 92121, USA.
- Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, Kuo G. (1989). Deteksi Antibodi terhadap Virus Hepatitis C di prospectivity diikuti penerima transfuse dengan akut dan kronis non-A, hepatitis nonB. *N Engl J Med.* 321: 1494-1500.
- CDC (2023). Virus Hepatitis (Hepatitis C)
- EstabenJI, Esteben R, ViladomiuL, dkk. (1989). Antibodi Virus Hepatitis C di antara Kelompok risiko di Spanyol. *Lancet.* 2: 294-7.
- Esteben JI, Gonzales A, Hernandez JM, dkk. (1990). Evaluasi Antibodi Terhadap Virus Hepatitis C dalam Studi Hepatitis Transfusi Terkait. *N Engl J Med.* 323:1107-1112.
- Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. (1991). Biologi Molekuler dari Virus Hepatitis C. Implikasi untuk diagnosis, Pengembangan, dan Pengendalian Penyakit Viral. *Hepatologi.* 14:381-8.
- Kuo, G, Choo QL, Alter, Hj, dkk.(1989). Assay untuk Antibodi terhadap virus etiologic utama dari non-A, hepatitis non-B manusia. *Ilmu.* 244:362-4.
- Miyumura T, Saito saya, Katayama T, dkk.(1990). Deteksi Antibodi terhadap antigen diungkapkan Oleh Molekuler Kloning Virus Hepatitis C cDNA: aplikasi untuk Diagnosis dan Skrining Darah untuk Post Transfusion Hepatitis. *Proc Natl Acad SciAmerika Serikat.* 87: 983-7.
- WHO (2023). Hepatitis C .

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

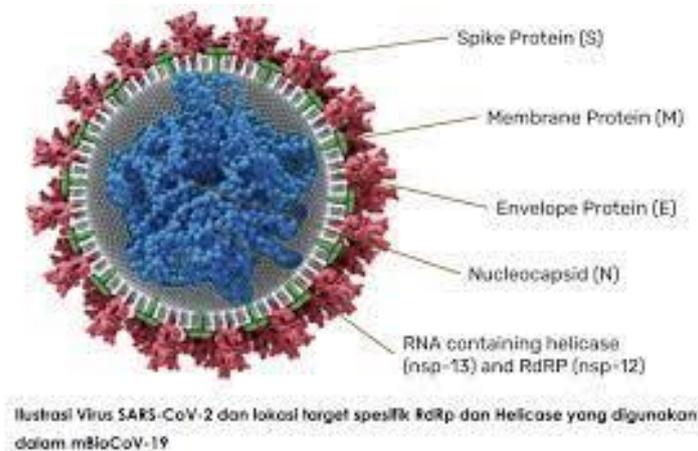
Topik:

Paraf Pembimbing

CORONAVIRUS (SARS-CoV-2)

CORONAVIRUS (SARS-CoV-2)

Coronavirus (SARS-CoV-2) dapat mengakibatkan infeksi pernapasan akut yaitu COVID-19, pasien yang terinfeksi novel coronavirus merupakan sumber utama penularan. Orang yang terinfeksi tanpa gejala juga dapat menjadi sumber penularan. SARS-CoV-2 secara konsisten bermutasi selama pandemi, sehingga menghasilkan varian yang berbeda dari virus SARS-CoV-2 asli.



Sepanjang pandemi COVID-19, banyak varian SARS-CoV-2 yang ditemukan di Amerika Serikat dan secara global. Para ilmuwan menggunakan berbagai sistem klasifikasi untuk mendeskripsikan dan mengkomunikasikan persamaan dan perbedaan antara virus SARS-CoV-2. Berdasarkan penyelidikan epidemiologi saat ini, masa inkubasi adalah 1 sampai 14 hari, kebanyakan 3 sampai 7 hari. Manifestasi utama termasuk demam, kelelahan dan batuk kering. Hidung tersumbat, pilek, sakit tenggorokan, mialgia dan diare ditemukan dalam beberapa kasus.

A. TES Antigen COVID-19

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Antibodi monoklonal protein nukleokapsid SARS-COV-2 yang dikonjugasikan dengan partikel koloidal emas digunakan sebagai detektor dan dilekatkan pada bantalan konjugasi. Selama pengujian, antigen SARS-CoV-2 dalam spesimen bereaksi dengan antibodi SARS-CoV-2 yang terkonjugasi dengan mikropartikel koloidal emas dengan membuat antigen-antibodi berlabel kompleks. Kompleks ini bermigrasi pada membran melalui aksi kapiler sampai garis uji, di mana ia akan ditangkap oleh antibodi monoklonal protein nukleokapsid SARS-CoV-2 yang telah dilapisi sebelumnya. Garis uji berwarna (T) akan terlihat di jendela hasil jika antigen SARS-CoV-2 ada dalam spesimen. Tidak adanya garis T menunjukkan hasil negatif. Garis kontrol (C) digunakan untuk kontrol prosedural, dan harus selalu muncul jika prosedur pengujian dilakukan dengan benar.

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes Sampel
3. Tabung Reaksi
4. Usap Steril Disposable Media Transport Virus (MTV)
5. Timer

BAHAN:

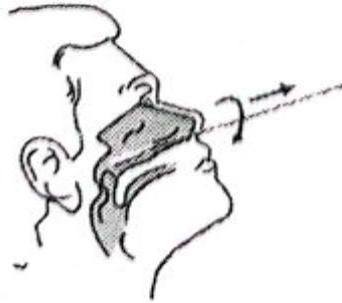
1. Reagen Ekstraksi (ampul yang mengandung 0,3 ml reagen ekstraksi)
2. Spesimen usap langsung atau usap di Media Transport Virus (VTM) tanpa agen denaturasi.

CARA PENGAMBILAN SPESIMEN USAP NASOFARING

1. Buka kapas dari kemasan
2. Miringkan kepala pasien ke belakang sekitar 70 derajat
3. Masukkan usap melalui lubang hidung sejajar dengan langit-langit (tidak ke atas) sampai ditemukan resistensi atau jarak yang setara dengan jarak dari telinga ke lubang hidung pasien, yang mengindikasikan kontak dengan nasofaring. (Kain

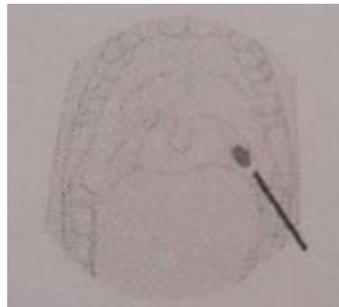
penyeka harus mencapai kedalaman yang sama dengan jarak dari lubang hidung ke bukaan luar telinga.) Gosok perlahan dan gulung kapas. Biarkan kapas di tempatnya selama beberapa detik untuk menyerap sekresi.

4. Lepaskan kapas secara perlahan sambil memutarkannya.



Spesimen dapat diambil dari kedua sisi dengan menggunakan usap yang sama, tetapi tidak perlu mengumpulkan spesimen dari kedua sisi jika ujung usap sudah jenuh dengan cairan dari koleksi pertama. Jika septum yang menyimpang atau penyumbatan menimbulkan kesulitan dalam mengambil spesimen dari satu lubang hidung, gunakan kapas yang sama untuk mengambil spesimen dari lubang hidung lainnya.

CARA PENGAMBILAN SPESIMEN USAP OROFARING



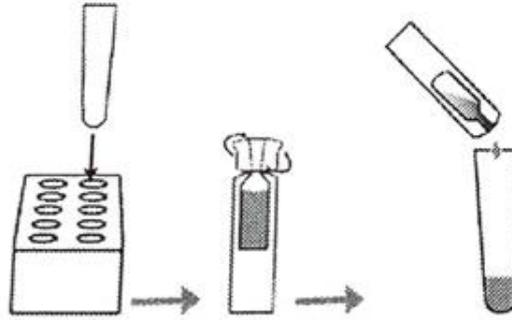
Masukkan usap ke area faring posterior dan tonsil. Gosokkan kapas pada kedua pilar tonsil dan orofaring posterior dan hindari menyentuh lidah, gigi, dan gusi.

PROSEDUR PENGETESAN:

Catatan: Biarkan kaset uji, reagen dan spesimen menyeimbangkan suhu kamar (15-30 °C atau 59-86 °F) sebelum pengujian.

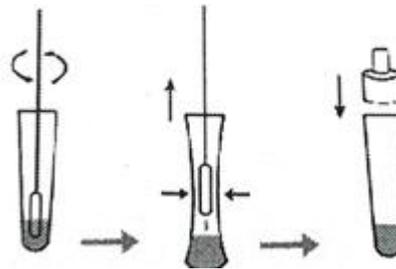
1. Letakkan tabung ekstraksi di stasiun kerja.
2. Buka tutup reagen ekstraksi Media Transport Virus (MTV). Tambahkan semua reagen ekstraksi ke dalam tabung ekstraksi.

3. Pengambilan sampel mengacu pada bagian 'Pengumpulan Spesimen'.



PROSEDUR UJI USAP/SWAB LANGSUNG:

1. Masukkan spesimen usap ke dalam tabung ekstraksi yang berisi reagen ekstraksi Media Transport Virus (MTV). Gulung kapas setidaknya 5 kali sambil menekan kepala ke bagian bawah dan samping tabung ekstraksi. Biarkan usap di dalam tabung ekstraksi selama satu menit.
2. Lepaskan usap sambil menekan sisi tabung untuk mengeluarkan cairan dari kapas. Solusi yang diekstraksi akan digunakan sebagai sampel uji.
3. Tutupi tabung ekstraksi dengan ujung pipet dengan erat.



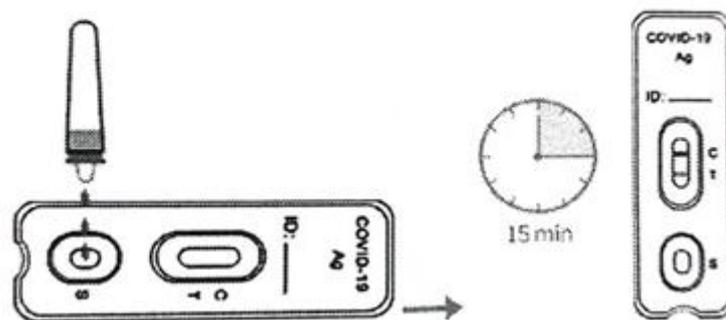
4. Lepaskan kaset uji dari kantong yang disegel
5. Balik tabung ekstraksi spesimen, pegang tabung tegak, pindahkan 3 tetes (kira-kira 100 μ L) secara perlahan ke sumur spesimen (S) dari kaset uji, kemudian mulai pengatur waktu.
6. Tunggu hingga garis berwarna muncul. Interpretasikan hasil tes dalam 15 menit. Jangan membaca hasil setelah 20 menit.

PROSEDUR UJI USAP/SWAB DI MEDIA TRANSPORT VIRUS (MTV):

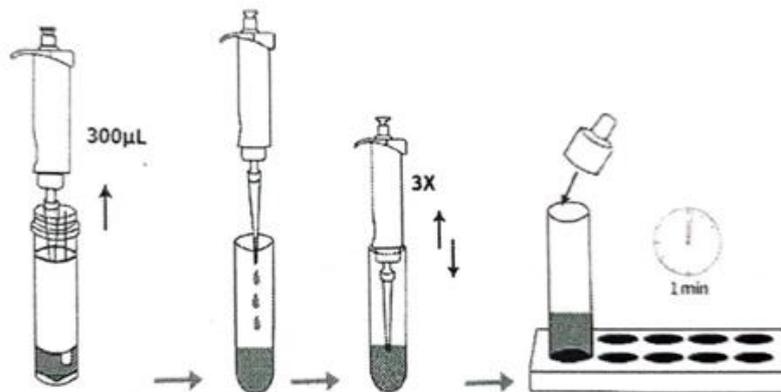
1. Masukkan spesimen usap ke dalam tabung transpor yang berisi maksimal 3 mL MTV tanpa agen denaturasi.
2. Campur spesimen yang disimpan dalam MTV dengan vortexing.

3. Pindahkan 300 μ L larutan MTV yang berisi spesimen ke dalam tabung ekstraksi yang berisi reagen ekstraksi dengan mikropipet terkalibrasi Campuran homogen dengan pipet ke atas dan ke bawah.
4. Tutupi tabung ekstraksi dengan ujung pipet dengan erat, dan biarkan larutan yang diekstraksi berdiri selama satu menit.
5. Ikuti Langkah 4-6 dari **Prosedur Uji Usap Langsung** di atas.

SKEMA KERJA:

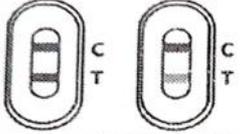
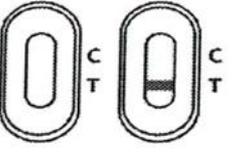


UJI USAP/SWAB LANGSUNG



UJI USAP/SWAB DI VIRAL TRANSPORT MEDIA (VTM)

INTERPRETASI HASIL

Positive		Dua garis muncul. Satu garis berwarna muncul di wilayah kontrol (C), dan garis berwarna lainnya muncul di wilayah pengujian (T), terlepas dari intensitas garis pengujian
Negative		Satu garis berwarna muncul di wilayah kontrol (C), dan tidak ada garis yang muncul di wilayah pengujian (T).
Invalid		Garis kontrol gagal muncul. Volume spesimen yang tidak mencukupi atau teknik prosedural yang salah adalah alasan yang paling mungkin untuk kegagalan jalur kontrol. Tinjau prosedur dan ulangi pengujian dengan menggunakan kaset pengujian baru. Jika masalah terus berlanjut, segera hentikan penggunaan lot dan hubungi distributor setempat Anda

B. TES COVID-19 IgG/IgM

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Antibodi IgM anti-manusia tikus, antibodi IgG anti-manusia tikus dan antibodi IgG anti-ayam kambing dilapisi dengan membran selulosa nitrat. Antigen coronavirus novel rekombinan dan antibodi IgG ayam yang diberi label emas koloid adalah sebagai pelacak. Tambahkan sampel ke sumur pemuatan sampel strip uji; dan sampel mengalir melalui film penyaring darah (penyaring sel darah merah). Jika sampel mengandung antibodi IgM coronavirus baru, ia dapat bergabung dengan antigen coronavirus berlabel emas koloid untuk membentuk kompleks, yang ditangkap oleh antibodi IgM anti-manusia tikus yang dilapisi dengan pita berwarna (garis M). Jika sampel mengandung antibodi IgG coronavirus dapat bergabung dengan antigen coronavirus berlabel koloid emas untuk membentuk kompleks. yang ditangkap oleh antibodi IgG anti-manusia tikus yang dilapisi dengan pita berwarna (garis G). Antibodi IgG ayam berlabel emas koloid terikat pada antibodi IgG anti-ayam kambing yang dilapisi dengan pita berwarna (garis C), yang bertindak sebagai garis kontrol.

ALAT:

1. Kaset uji
2. Timer

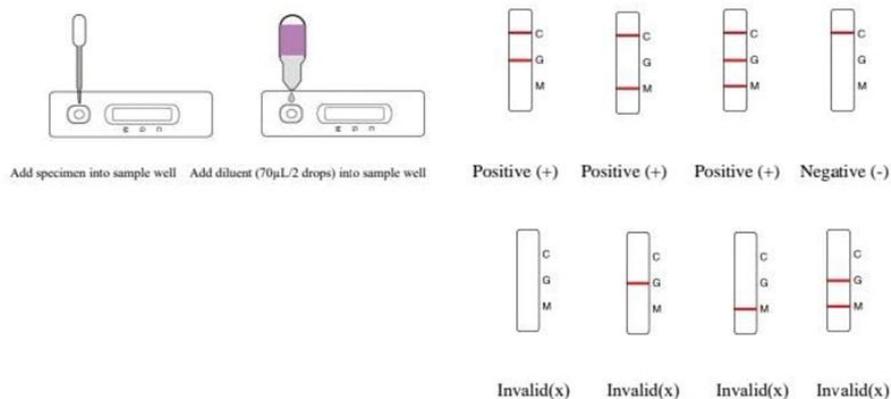
BAHAN:

1. Diluen
2. Serum/plasma/whole blood

CARA KERJA:

1. Lepaskan test kit, spesimen ke suhu kamar. Sobek kantong foil, keluarkan test strip/kaset dan tempatkan test kit pada permukaan yang bersih dan rata.
2. Tambahkan 20 μ L darah utuh atau 10 μ L serum (atau plasma) ke dalam sampel dengan menggunakan pipet yang dikalibrasi. Kemudian tambahkan 70 μ L (2 tetes) Pengencer Sampel. Untuk spesimen masing-masing individu, gunakan ujung dan Kaset yang terpisah.
3. Baca hasil tes antara 15 dan 20 menit. Jangan membaca hasil setelah 20 menit.

SKEMA KERJA:



INTERPRETASI HASIL

1. **IgG POSITIF:** Muncul dua garis. Satu garis berwarna harus berada di wilayah garis kontrol (C), dan garis berwarna muncul di wilayah garis uji IgG. Hasilnya positif untuk IgG spesifik virus SARS-COV-2 dan mungkin mengindikasikan infeksi sekunder SARS-COV-2.
2. **IgM POSITIF:** Muncul dua garis. Satu garis berwarna harus berada di wilayah garis kontrol (C), dan garis berwarna muncul di wilayah garis uji IgM. Hasilnya

positif untuk antibodi IgM spesifik virus SARS-COV-2 dan merupakan indikasi infeksi primer SARS-COV-2.

3. **IgG dan IgM POSITIF** : Muncul tiga garis. Satu garis berwarna harus berada di wilayah garis kontrol (C), dan dua garis berwarna akan muncul di wilayah garis uji IgG dan wilayah garis uji IgM. Warna intensitas garis tidak harus cocok. Hasilnya positif untuk antibodi IgG & IgM dan merupakan indikasi infeksi sekunder SARS-COV-2. **CATATAN:** Intensitas warna pada wilayah garis uji IgG dan/atau IgM akan bervariasi tergantung pada konsentrasi antibodi SARS-COV-2 dalam spesimen. Oleh karena itu, bayangan warna apa pun di wilayah garis uji IgG dan/atau IgM harus dianggap positif.
4. **NEGATIF:** Satu garis berwarna harus berada di wilayah garis kontrol (C). Tidak ada garis yang muncul di IgG dan IgM wilayah garis uji.
5. **INVALID:** Garis kontrol tidak muncul. Volume buffer yang tidak mencukupi atau teknik prosedural yang salah adalah alasan yang paling mungkin untuk kegagalan jalur kontrol. Tinjau prosedur dan ulangi prosedur dengan kaset uji baru. Jika masalah berlanjut, segera hentikan penggunaan test kit
6. Waktu penentuan hasil: Hasil harus dinilai dalam waktu 15-20 menit setelah sampel ditambahkan ke sumur pemuatan sampel, dan hasil yang ditampilkan setelah 20 menit tidak valid.

DAFTAR PUSTAKA

COVID-19 Antigen Rapid Test Kit. Hangzhou Clongene Biotech Co., Ltd. No.1 Yichuang Road, Yuhang Sub-district, Yuhang District, 311121 Hangzhou, China.

COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit (Colloid Gold). Tianjin International Joint Academy of Biotechnology & Medicine 9th floor No.220. Dongting Road TEEDA 300457 Tianjin China

CDC (2023). Classification and Deffinitions Sars-Cov-2.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

SYPHILIS

SYPHILIS

Treponema Pallidum (TP) adalah agen penyebab penyakit kelamin Sifilis. TP adalah bakteri *spirochetes* dengan amplop luar dan membran sitoplasma. Relatif sedikit yang diketahui tentang organisme dibandingkan dengan patogen bakteri lainnya. Menurut Pusat Pengendalian Penyakit (CDC), jumlah kasus infeksi Sifilis telah meningkat tajam sejak tahun 1985. Beberapa faktor utama yang berkontribusi terhadap kenaikan ini termasuk epidemi kokain dan tingginya kasus prostitusi di kalangan pengguna narkoba. Satu penelitian melaporkan korelasi epidemiologis yang substansial antara penularan dan penularan virus HIV dan Sifilis.

Beberapa tahap klinis dan periode laten yang lama, infeksi asimtomatik adalah ciri khas Sifilis. Sifilis primer didefinisikan dengan adanya chancre di tempat inokulasi. Respon antibodi terhadap bakteri TP dapat dideteksi dalam waktu 4-7 hari setelah chancre muncul. Infeksi tetap terdeteksi sampai pasien mendapatkan pengobatan yang adekuat. Penyakit ini dimulai sebagai luka yang tidak nyeri, biasanya pada alat kelamin, rektum atau mulut. Kondisi ini dapat menyebar dari orang ke orang melalui kontak kulit atau selaput lendir dari luka ini. Setelah infeksi awal, bakteri sifilis dapat tetap tidak aktif di dalam tubuh selama beberapa dekade sebelum menjadi aktif kembali. Jika didiagnosis dengan cepat, penyakit ini dapat disembuhkan dengan pemberian antibiotik.

PEMERIKSAAN SYPHILIS

A. TES SYPHILIS IgG/IgM

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Antigen Sifilis rekombinan diimobilisasi di daerah garis uji uji. Setelah spesimen ditambahkan ke sumur spesimen perangkat, akan bereaksi dengan antigen sifilis berlabel koloidal emas dalam pengujian. Campuran ini bermigrasi secara kapilaritas sepanjang pengujian dan berinteraksi dengan antigen Sifilis yang diimobilisasi. Format tes antigen ganda dapat mendeteksi IgG dan IgM dalam spesimen. Jika spesimen mengandung antibodi TP, garis berwarna akan muncul di daerah garis uji, yang menunjukkan hasil positif.

.Jika spesimen tidak mengandung antibodi TP, garis berwarna tidak akan muncul di wilayah ini, yang menunjukkan hasil negatif. Untuk berfungsi sebagai kontrol prosedural, garis berwarna akan selalu muncul di wilayah garis kontrol, yang menunjukkan bahwa volume spesimen yang tepat telah ditambahkan dan wicking membran telah terjadi.

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes Sampel
3. Timer

BAHAN:

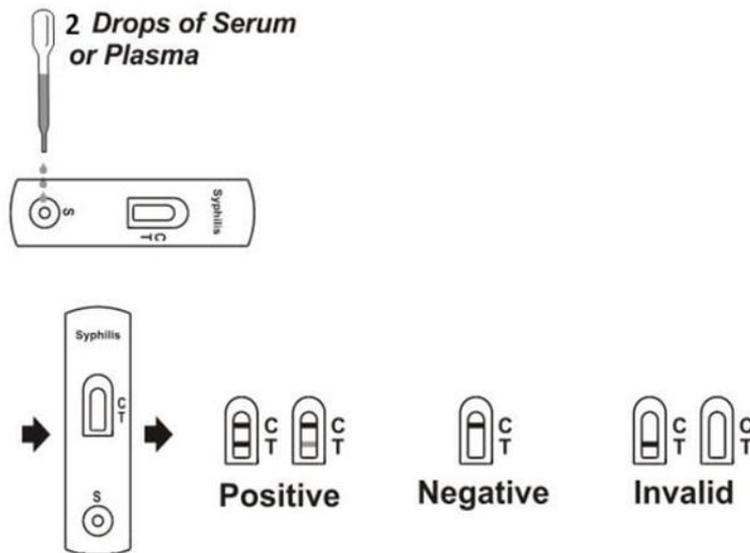
1. Serum/Plasma

CARA KERJA:

1. Disiapkan spesimen dan komponen alat uji pada suhu ruang (jika sebelumnya didinginkan) dan diletakkan perangkat pengujian pada permukaan yang rata.
2. Spesimen yang digunakan adalah serum/plasma
3. Pegang penetes secara vertikal dan pindahkan 2 tetes serum atau plasma (sekitra 75 μ L) ke wadah spesimen (S) dan mulai pewaktu,

4. Tunggu hingga garis berwarna muncul. Baca hasil pada 10 menit. Jangan menafsirkan hasilnya setelah 30 menit.

SKEMA KERJA



INTERPRETASI HASIL

1. **HASIL POSITIF:** Jika kedua garis C dan T terlihat,
CATATAN: Intensitas warna di daerah garis uji (T) akan bervariasi tergantung pada konsentrasi antibodi TP yang ada dalam spesimen. Oleh karena itu, bayangan warna apa pun di wilayah garis uji (T) harus dianggap positif.
2. **HASIL NEGATIF:** Jika hanya garis C yang terlihat, Tidak ada garis yang muncul di wilayah garis uji (T).
3. **INVALID:** Garis kontrol gagal muncul. Volume spesimen yang tidak mencukupi atau teknik prosedural yang salah adalah alasan yang paling mungkin untuk kegagalan jalur kontrol. Tinjau prosedur dan ulangi tes dengan tes baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Aral R. Marx. Crack, sex and STD (1991). Sexually Transmitted Diseases; 18:92-101
- Center for Disease Control (1988). Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep, 37: 601
- Claire M. Fraser (1998). Complete genome sequence of Treponema Pallidum, the Syphilis spirochete, Science: 281 July: 375-381
- J.N. Wasserheit (1992). Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases; 19:61-77
- Johnson Phillip C (1994). Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic; 12 Jan: 9-17
- Kemenkes RI (2023). Sifilis. RSUP dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten
- Syphilis Rapid Test Device (Serum/Plasma). Atlas Medical. William James House, Cowley Road, Cambridge, CB4 4WX, UK.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

TOXOPLASMOSIS

TOXOPLASMOSIS

Toxoplasmosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit *Toxoplasma gondii* yang menyerang hewan dan manusia. Pada manusia infeksi ini biasanya didapat dengan menelan daging yang tidak dimasak dengan matang atau dari kotoran kucing yang terinfeksi. Sekitar 25-50% dari populasi orang dewasa terkena Toxoplasmosis tanpa gejala. Toxoplasmosis yang didapat biasanya asimtomatik dan jinak. Namun pada wanita hamil, infeksi menjadi sangat penting karena parasit dapat memasuki sirkulasi janin melalui plasenta dan menyebabkan Toxoplasmosis kongenital. Konsekuensi Toxoplasmosis kongenital berkisar dari aborsi spontan dan prematuritas hingga gejala umum dan neurologis. Beberapa bayi dengan Toxoplasmosis kongenital juga dapat tetap asimtomatik saat lahir dan mengembangkan penyakit ini selama masa kanak-kanak atau remaja. Toxoplasmosis kongenital adalah penyakit yang serius tetapi dapat dicegah dan diobati. Deteksi serologis antibodi IgM & IgG spesifik *T. gondii* adalah metode utama untuk diagnosis Toxoplasmosis dan membantu dalam menentukan risiko Toxoplasmosis kongenital selama kehamilan. Penggunaan antigen rekombinan dalam sistem pengujian telah meningkatkan serodiagnosis Toxoplasmosis.

PEMERIKSAAN TOXOPLASMOSIS

A. TES TOXOPLASMOSIS IgG/IgM

METODE:

Immunokromatografi Assay

PRINSIP:

Toxocheck didasarkan pada prinsip imunokromatografi antibodi/antisera dengan masing-masing antigen pada imuno-format kromatografi bersama dengan penggunaan partikel koloidal emas sebagai agen mengungkapkan aglutinasi. Serum mengandung toxo-IgM manusia dan serum toxo-IgG manusia diimobilisasi pada membran nitroselulosa sebagai dua masing-masing pita uji (IgM dan IgG) di wilayah 'M' dan wilayah 'G'.

Saat sampel uji mengalir melalui rakitan membran di dalam perangkat uji, kompleks konjugat emas koloid antigen *T. gondii* rekombinan dengan antibodi spesifik (IgM dan/atau IgG) ke *T. gondii*, jika ada dalam sampel. Kompleks ini bergerak lebih jauh pada membran ke daerah uji di mana toxo-IgM spesifik manusia dan/atau toxo-IgG spesifik untuk IgG manusia yang dilapisi pada membran yang mengarah ke pembentukan pita berwarna yang menegaskan hasil tes positif. Tidak adanya pita berwarna ini di daerah uji menunjukkan hasil tes negatif untuk antibodi IgM & IgG terhadap *T. gondii*. Pita kontrol bawaan di area kontrol bertanda 'C' muncul saat tes telah dilakukan dengan benar, terlepas dari ada atau tidaknya antibodi *T. gondii* dalam spesimen. Ini berfungsi untuk memvalidasi kinerja pengujian setiap perangkat.

ALAT:

1. Kaset Uji
2. Penetes Sampel (dapat digunakan mikropipet)
3. Timer

BAHAN:

1. Buffer
2. Serum/Plasma

CARA KERJA:

1. Disiapkan spesimen dan komponen alat uji pada suhu ruang (jika sebelumnya didinginkan) dan diletakkan perangkat pengujian pada permukaan yang rata.
2. Periksa warna kantong pengering. Seharusnya berwarna biru. Jika pengering berubah menjadi tidak berwarna atau merah muda, gunakan perangkat lain. Begitu dibuka, perangkat harus segera digunakan.
3. Beri label sebagai identitas spesimen
4. Kencangkan tutup botol penyangga searah jarum jam untuk menembus nosel botol penetes.
5. Dengan menggunakan mikropipet presisi, tambahkan dengan hati-hati 5 μ l spesimen serum atau plasma ke dalam port spesimen (S).
6. Tambahkan dua tetes sample running buffer ke port spesimen yang sama (S) dan segera nyalakan stopwatch.
7. Baca hasil akhir pada akhir 15 menit.

INTERPRETASI HASIL

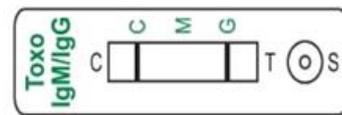
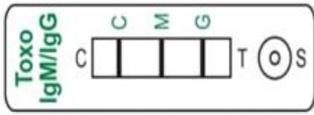
1. **HASIL NEGATIF:** Jika hanya garis C yang terlihat, alat uji menunjukkan bahwa tidak ada antibody spesifik terhadap *T.gondii* atau jumlahnya antibody berada di bawah batas deteksi tes.



2. **HASIL POSITIF:** selain band kontrol di area kontrol bertanda 'C', muncul dua pita berwarna merah muda-ungu di wilayah uji 'M' dan wilayah 'G', menunjukkan adanya **antibodi IgM dan IgG** spesifik *T. gondii*.

Selain pita kontrol di area kontrol bertanda 'C', tampilan warna pink-pita berwarna ungu pada daerah uji 'M', menunjukkan adanya spesifik *T. gondii* **antibodi IgM**.

Selain pita kontrol di daerah kontrol bertanda 'C', munculnya pita berwarna merah muda-ungu di daerah uji 'G', menunjukkan adanya **antibodi IgG** spesifik *T. gondii*.



DAFTAR PUSTAKA

- Bessiers MH et.al. (2019). Diagnosis of Congenital toxoplasmosis: prenatal and neonatal evolution of methods used in Toulouse University Hospital and incidence of congenital toxoplasmosis. Mem Inst Oswaldo Cruz, Vol. 104 (2): 389-392.
- Ian J. Begeman et al. (2017). Point-of-care testing for *Toxoplasma gondii* IgG/IgM using *Toxoplasma* ICT IgG-IgM test with sera from the United States and implications for Developing Countries. PLOS Neglected Tropical Disease
- Montoya JG (2002). Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and Toxoplasmosis; 185 (1)
- Montoya JG, Rosso F. (2005). Diagnosis and Management of Toxoplasmosis. Clin Perinatol, 32(3): 705.
- Rapid Test For Detection of IgM & IgG antibodies to *T.gondii* in human serum/plasma. Toxocheck. Zephyr Biomdecals A Division of Tulip Diagnostic (P) Ltd. Gitanjali, Tulip Block, Dr. Angtonio Do Rego Bagh, Alto Santacruz Bambolim Complex P.O., Goa – 403 202, INDIA.
- Rodrigues et.al. (2009). Congenital toxoplasmosis: evolution of serologic methods for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgM and IgA antibodies. Mem Inst Oswaldo Cruz, Vol. 104 (3): 434-440.
- Villard et al. (2016). Serologic diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Diagnostic Microbiology and Infection Disease.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Hari:

Tanggal:

Dosen:

Topik:

Paraf Pembimbing

GLOSARIUM

Akut	: kondisi penyakit yang sifatnya mendadak atau baru saja terjadi.
Antibodi	: bagian dari sistem kekebalan yang bekerja untuk melindungi tubuh dari bahaya virus, bakteri, kuman zat-zat yang dapat menyebabkan penyakit infeksi.
Antigen	: zat yang dapat merangsang sistem kekebalan tubuh untuk menghasilkan antibodi.
Asimtomatis	: suatu kondisi penyakit yang sudah positif diderita, tetapi tidak memberikan gejala klinis apapun terhadap orang tersebut.
Dengue	: penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus Dengue yang disebarkan melalui gigitan nyamuk.
Fekal-oral	: menggambarkan rute penularan penyakit ketika patogen dalam partikel tinja seseorang berpindah ke mulut orang lain
Glikoprotein	: suatu protein yang mengandung rantai oligosakarida yang mengikat glikan dengan ikatan kovalen pada rantai polipeptida bagian samping
hFSH	: hormon yang berfungsi untuk memacu pertumbuhan dan kematangan folikel atau sel telur dalam ovarium dan juga berpengaruh pada peningkatan hormon estrogen pada wanita.
hLH	: hormon yang berperan dalam fase ovulasi pada siklus menstruasi.
Hormon	: zat kimia yang diproduksi oleh sistem endokrin dalam tubuh dan berfungsi untuk membantu mengendalikan hampir semua fungsi tubuh.
hTSH	: hormon yang berfungsi untuk menstimulasi kelenjar tiroid.
Inokulasi	: kegiatan pemindahan mikroorganisme baik berupa bakteri maupun jamur dari tempat atau sumber asalnya ke medium baru yang telah dibuat dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi dan aseptis.
Kronis	: kronis menunjukkan kondisi atau sifat penyakit yang telah lama terjadi.
Oportunistik	: infeksi akibat virus, bakteri, jamur, atau parasit yang terjadi pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah.

- RNA : ribonucleic acid atau asam ribonukleat yang berperan dalam informasi genetik dan peranan struktural.
- Serotipe : variasi yang berbeda dalam satu spesies bakteri atau virus atau di antara sel-sel kekebalan tubuh pada individu yang berbeda.
- Serum : bagian cair darah yang tidak mengandung sel-sel darah dan faktor-faktor pembekuan darah.
- Urin : cairan sisa yang diekskresikan oleh ginjal yang kemudian akan dikeluarkan dari dalam tubuh melalui proses urinasi.
- Virus : mikroorganisme patogen yang hanya dapat bereplikasi di dalam sel karena tidak memiliki perlengkapan seluler untuk bereproduksi sendiri.

BIODATA PENULIS



I Gede Andika Sukarya, S.ST., M.Imun lahir di Candikusuma, 23 Juni 1987. Jenjang pendidikan penulis meliputi DIII Analis Kesehatan, DIV Analis Kesehatan, dan Magister Imunologi di Universitas Airlangga Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Kalimantan Timur

Email : igedeandika@poltekkes-kaltim.ac.id



Dhika Juliana Sukmana, S.Si, M.Sc lahir di Mataram, 8 Juli 1995. Merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Menempuh pendidikan diploma tiga jurusan Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Mataram, sarjana biologi di Universitas Nasional Jakarta Selatan dan Magister ilmu kedokteran tropis di Universitas Gadjah Mada. Sejak tahun 2019 akhir, penulis aktif melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi di salah satu PT swasta yang berlokasi di Mataram. Saat ini, penulis merupakan pengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

Email : dhika.juliana.dj@gmail.com



Rahmi Novita Yusuf, S.SiT,M.Biomed lahir di Durian Tinggi 18 November 1988, Jejang Pendidikan DIV Kebidanan, S2 Biomedik di Pascasarjana Universitas Andalas Padang.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Universitas Syedza saintika.

Email:razajoramahera@gmail.com



Nurminha, S.Pd. M.Sc lahir di Wana Lampung Timur, 24 November 1969. Jenjang pendidikan penulis meliputi Akademi Analis Kesehatan Bandung, S1 Pendidikan Kimia Universitas Lampung dan S2 Ilmu Kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

Email : nurminha@poltekkes-tjk.ac.id



Yusuf Eko Nugroho, S.Tr.A.K., M.Imun lahir di Rembang, Jawa Tengah, 4 Mei 1993. Jenjang pendidikan penulis meliputi D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Semarang dan S2 Imunologi Universitas Airlangga Surabaya. Saat ini Penulis merupakan pengajar di Program Studi D4 TLM Universitas Al-Irsyad Cilacap.

Email : yusufekonugroho47@gmail.com



Nurdin, S.Si, M.Kes lahir di Ujungpandang, 22 Juni 1978. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 TLK, dan S2 Biomedik Konsentrasi Kimia Klinik di Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar Sulawesi Selatan.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes RI Makassar.

Email : nurdinanalisis@gmail.com



Retno Martini Widhyasih, S.Si, M.Biomed lahir di Malang, 3 Januari 1970. Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan AAK Mh Thamrin Jakarta, S1 Biologi UIA Jakarta, Magister Ilmu Biomedik di Universitas Indonesia tahun 2012.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Prodi D3 dan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik, Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

Email : retnomartiniw@gmail.com