

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Dasar Teori

1. Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD)

a. Definisi IMLTD

IMLTD adalah risiko infeksi penyakit yang dapat ditularkan melalui proses transfusi darah dari donor kepada penerima darah. Uji saring IMLTD dilakukan untuk mendeteksi infeksi utama seperti HIV, Hepatitis B, Hepatitis C, dan Sifilis, dengan tujuan memastikan bahwa transfusi dilakukan dengan cara yang seaman mungkin untuk menghindari penularan infeksi tersebut kepada pasien (Kemenkes RI, 2015).

b. Parameter IMLTD

1) HIV

a) Definisi HIV

HIV adalah singkatan dari *Human Immunodeficiency Virus*. HIV adalah jenis virus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia sehingga tubuh rentan terhadap penyakit. Infeksi HIV menjadi penyebab utama munculnya *Acquired Deficiency Syndrome* (AIDS) (Setiarto *et al.*, 2021).

b) Etiologi HIV

HIV tergolong dalam famili *lentivirus* Ciri khas dari jenis retrovirus yaitu dikelilingi membran lipid, mempunyai kemampuan variasi genetik yang tinggi, mempunyai cara unik untuk replikasi serta dapat menginfeksi seluruh vertebrata. Virus HIV digolongkan menjadi 2 tipe yaitu HIV-1 dan HIV-2. Retrovirus memiliki genom yang dapat mengkode *reverse transcriptase* yang mengubah DNA menjadi RNA (Setiarto *et al.*, 2021)

c) Patofisiologi HIV

HIV memasuki tubuh manusia melalui cara vertikal, horizontal, dan transeksual yang dapat langsung mencapai sirkulasi sistemik lewat luka atau mukosa yang tidak utuh. Setelah paparan, HIV dapat terdeteksi dalam darah dalam 4-11 hari dan bergabung dengan DNA sel inang, menyebabkan infeksi seumur hidup. Masa infeksi awal berupa sindrom retroviral akut dengan gejala tidak khas, diikuti fase asimtomatik yang dapat berlangsung bertahun-tahun dengan replikasi virus tinggi terutama di kelenjar getah bening serta penurunan jumlah limfosit CD4. Seiring waktu, penurunan CD4

menyebabkan melemahnya sistem imun, memungkinkan timbul infeksi oportunistik dan komplikasi berat hingga tahap AIDS. Pada tahap AIDS, jumlah CD4 turun di bawah 200 sel/ μ L, meningkatkan risiko infeksi sekunder dan keganasan (Setiarto *et al.*, 2021).

2) Hepatitis B

a) Definisi Hepatitis B

Hepatitis adalah peradangan atau infeksi pada sel-sel hati. Hepatitis B adalah infeksi yang disebabkan oleh virus Hepatitis B. Virus hepatitis B termasuk famili *Hepadnavirus* yang menyebabkan peradangan akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati (Setyoboedi *et al.*, 2025).

b) Etiologi Hepatitis B

Virus Hepatitis B (VHB) adalah virus DNA yang hanya menginfeksi manusia serta sangat menular dibanding HCV atau HIV. Prototipe dari famili *Hepadnavirus*. VHB sangat menular dan ditemui dalam berbagai bentuk partikel virus seperti partikel *Dane* yang menular. Virus ini memiliki struktur kompleks yang terdiri dari lapisan lipid

dengan antigen permukaan (HBsAg) serta nukleokapsid yang berisi antigen inti (HBcAg) dan genom DNA viral (Setyoboedi *et al.*, 2025).

c) Patofisiologi Hepatitis B

Infeksi VHB ditularkan melalui kontak dengan cairan tubuh yang terinfeksi, seperti darah, semen, dan sekresi vagina. Masa inkubasi virus biasanya 30 hingga 120 hari. Patogenesis VHB diperantarai oleh kekebalan tubuh, Virus VHB sendiri jarang menyebabkan cedera sitotoksik langsung pada hepatosit. Protein HBsAg dan protein nukleokapsid lainnya yang terdapat pada membran sel hepatosit yang terinfeksi memicu lisis sel melalui mekanisme yang diinduksi oleh sel T sitotoksik. Sebagian besar DNA VHB dibersihkan dari sistem hati sebelum infiltrasi sel T maksimal, yang menunjukkan bahwa respons kekebalan kemungkinan lebih kuat pada tahap awal infeksi (Setyoboedi *et al.*, 2025).

3) Hepatitis C

a) Definisi Hepatitis C

Hepatitis C adalah peradangan hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis C (HCV). HCV adalah virus RNA atau asam ribonukleat *strain* positif

berbentuk bulat, berselubung, dengan diameter sekitar 55 nm. Termasuk anggota famili *Flaviiridae*, genom *Hepacivirus* (Setyoboedi *et al.*, 2023).

b) Etiologi Hepatitis C

Virus ini mengkode poliprotein yang kemudian diproses menjadi setidaknya 10 protein. Protein-protein ini meliputi 3 protein "struktural", protein nukleokapsid, inti (C), dan 2 protein selubung (E1 dan E2), 2 protein yang esensial untuk produksi virion (p7 dan NS2), dan 5 protein nonstruktural yang merupakan bagian esensial dari kompleks replikasi virus (NS3, NS4A, NS4B, NS5A, dan NS5B) (Basit & Koirala, 2023).

c) Patofisiologi Hepatitis C

Masa inkubasi hepatitis C rata-rata adalah 50 hari (15-160 hari). Virus hepatitis C (HCV) mengkodekan poliprotein yang diproses menjadi setidaknya 10 protein yang membentuk kompleks replikasi virus. Protein nonstruktural ini mengatur replikasi RNA virus di dalam hepatosit melalui aktivitas enzim seperti *RNA-dependent RNA polymerase* (NS5B) dan protease serin (NS3/4A). HCV menginfeksi hepatosit dengan proses

endositosis melalui interaksi protein selubung dengan reseptor sel inang, lalu RNA virus dilepas untuk diterjemahkan menjadi poliprotein, yang kemudian dibelah menjadi protein fungsional. Infeksi HCV memicu replikasi virus yang menimbulkan kerusakan hati terutama melalui respons imun inang, stres oksidatif, dan peradangan kronis, berpotensi menyebabkan fibrosis, sirosis, dan kanker hati (Setyoboedi *et al.*, 2023).

4) Sifilis

a) Definisi Sifilis

Sifilis adalah infeksi bakteri sistemik yang disebabkan oleh spirochete *Treponema pallidum*. Sifilis adalah penyakit menular seksual (PMS), dan manusia adalah satu-satunya inangnya. Bakteri *Treponema* rentan terhadap paparan panas, dingin, dan oksigen, sehingga tidak dapat bertahan lama di luar tubuh manusia (Tudor *et al.*, 2024).

b) Etiologi Sifilis

Genus *Treponema* adalah bakteri berbentuk spiral dengan membran fosfolipid luar yang kaya yang termasuk dalam ordo *spirochetal*. Memiliki laju metabolisme yang lambat, rata-rata 30 jam untuk

berkembang biak. *Treponema pallidum* adalah satu-satunya agen *treponema* yang menyebabkan penyakit kelamin. Subspesies *Treponema* lainnya bertanggung jawab atas berbagai penyakit non-kelamin dengan kontak nonseksual (Tudor *et al.*, 2024).

c) **Patofisiologi Sifilis**

Treponema pallidum menembus membran mukosa atau kulit yang rusak, masuk ke kelenjar getah bening, lalu aliran darah, menyebar ke seluruh tubuh, dan dapat menyebabkan infeksi sistemik dalam beberapa jam. Lesi primer muncul sebagai ulkus sekitar satu minggu setelah infeksi dan bisa sembuh sendiri. Tubuh merespons dengan pembentukan limfosit, sel plasma, dan makrofag, menyebabkan papul dan vaskulitis yang mengganggu aliran darah dan menimbulkan ulkus. *Treponema pallidum* juga dapat menembus endothel mikrovaskular dan makrovaskular melalui protein adhesin pallilysin, memungkinkan penyebaran ke retina, plasenta, dan otak. Uji serologi biasanya negatif saat ulkus pertama muncul, menjadi Reaktif setelah 1-4 minggu, dan pada fase sekunder dapat muncul erupsi kulit, sementara fase laten tidak

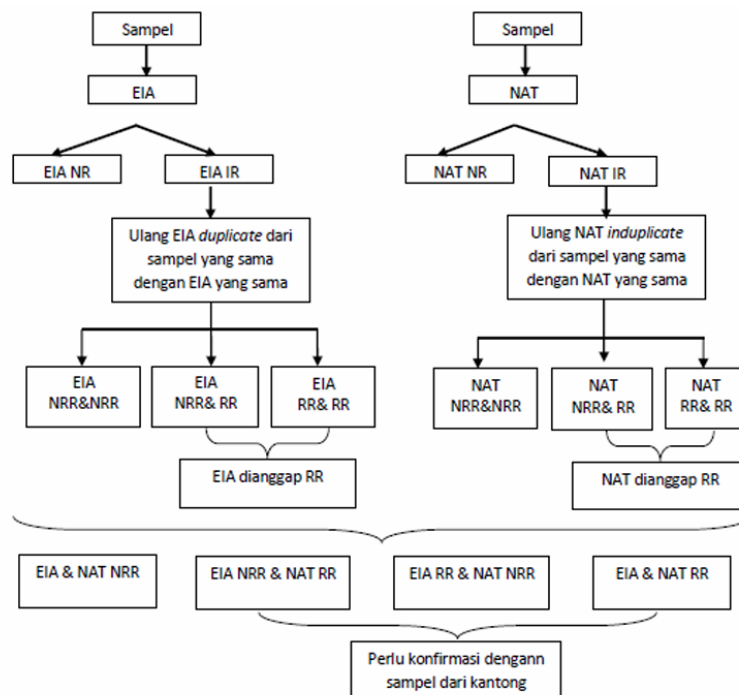
menunjukkan gejala tetapi tetap Reaktif secara serologi. Fase laten dapat berlangsung bertahun-tahun atau seumur hidup dengan infeksi aktif yang tidak tampak klinis (Alawiyah *et al.*, 2023).

2. Uji Saring Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD)

a. Definisi Uji Saring IMLTD

Uji saring IMLTD merupakan tahapan dari upaya pengamanan darah yang harus dilakukan setiap pelayanan darah untuk mencegah penularan penyakit bagi penerima darah (Akram & Basri, 2025). Setiap kantong darah yang akan ditransfusikan harus dilakukan uji saring IMTD dan dikeluarkan bila hasil pemeriksaan Reaktif (Kemenkes RI, 2015).

b. Algoritma Uji Saring IMLTD



Gambar 2. 1 Algoritma uji saring IMLTD (Kemenkes RI, 2015)

Keterangan:

- 1) Uji saring IMLTD dilakukan pada setiap sampel.
- 2) Jika hasil pemeriksaan pertama Non-Reaktif, darah boleh dikeluarkan.
- 3) Jika hasil pemeriksaan pertama Reaktif, dilakukan pemeriksaan ulang dengan sampel yang sama.
- 4) Jika terdapat hasil Reaktif pada pemeriksaan kedua, darah dianggap Reaktif.
- 5) Jika terdapat hasil berbeda (misal satu Reaktif, satu Non-Reaktif), perlu dilakukan konfirmasi ulang dengan sampel dari kantong darah.

c. Metode Uji Saring IMLTD

1) ECLIA

a) Prinsip Kerja ECLIA

ECLIA (*Electrochemiluminescence Immunoassay*) adalah pemeriksaan IMLTD untuk mendeteksi keberadaan antibodi dan antigen sesuai reagen yang digunakan. ECLIA menghasilkan cahaya melalui reaksi kimia yang distimulasi oleh molekul bermuatan listrik. Berbeda dengan ELISA, ECLIA menggunakan kompleks rutenium sebagai label dan *tripropylamine* (TPA) sebagai penyumbang elektron pada rutenium. Reaksi *chemiluminescence* untuk

mendeteksi kompleks imun diinisiasi dengan memberikan arus listrik ke larutan sampel, dan cahaya yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 620 nm (Naully & Khairinisa, 2018).

b) Keunggulan dan Kelemahan ECLIA

ECLIA menggunakan teknologi tinggi sehingga memberi keuntungan dibandingkan metode lainnya. ECLIA memiliki tingkat sensitivitas tinggi sehingga dapat mendeteksi sampel dengan konsentrasi rendah. Selain itu, ECLIA dapat mendeteksi analit yang konsentrasinya bervariasi setiap tahapan. ECLIA tidak membutuhkan waktu inkubasi yang lama dan tidak perlu *stop solution*. Kelemahannya adalah biaya pengerjaan dan biaya reagen yang cukup mahal (Naully & Khairinisa, 2018).

c) Tahapan ECLIA

Tahapan ECLIA dimulai dengan pembentukan kompleks antigen dan antibodi, di mana sampel diinkubasi bersama dua jenis antibodi berbeda epitop, yaitu antibodi berlabel biotin dan antibodi berlabel kompleks *ruthenium*. Tahapan ini dilakukan di *microtube*, diperlukan inkubasi selama sembilan

menit untuk memastikan epitop dikenai oleh kedua antibodi. Selanjutnya, mikro partikel yang dilapisi *streptavidin* ditambahkan dan diinkubasi selama sembilan menit agar biotin dan *streptavidin* dapat berinteraksi dengan kuat. Kompleks imun yang terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam *measuring flowcell* yang memiliki medan magnet, di mana kompleks tersebut ditangkap secara magnetis sementara zat tak terikat dicuci dan dibuang. Pada tahap pengukuran sinyal, *tripropylamine* (TPA) ditambahkan untuk mentransfer elektron ke *ruthenium*, menyebabkan perubahan bilangan oksidasi dan pelepasan elektron berupa *photon*, menghasilkan *chemiluminescence* yang diukur pada panjang gelombang 620 nm. Intensitas cahaya yang dihasilkan berbanding lurus dengan kadar analit dalam sampel dan hasilnya dibaca melalui kurva kalibrasi yang dihasilkan oleh instrumen khusus (Naully & Khairinisa, 2018).

d) **Prosedur Operasional ECLIA**

Berikut adalah prosedur operasional ECLIA menggunakan *Cobas e 601*:

- (1) Pastikan UPS bekerja dengan baik dan kran air

RO telah terbuka.

- (2) Lakukan *maintenance* membersihkan *probe* sampel, *probe reagent*, *sipper probe* 1 & 2 dan permukaan instrumen.
- (3) Nyalakan instrumen (tombol *power* di samping kiri alat).
- (4) Nyalakan *computer control* unit.
- (5) Isi Operator ID dan *Password*.
- (6) Instrumen akan melakukan *inisialisasi* dan *maintenance* rutin secara otomatis, tunggu sampai *Standby*.
- (7) *Check konsumabel alat e 601 : Procell M 1 & 2, Cleancell M 1 & 2, PreClean M 1 & 2, ProbeWash M 1 & 2, Magazine (tip & cup)*, cek limbah tip & cup.
- (8) Keluarkan reagen dari kulkas dan biarkan di suhu kamar selama 20 menit.
- (9) Buka tutup reagen dan cek ada tidak gelembung udara (jika ada gelembung udara maka hilangkan dengan menggunakan tip biru).
- (10) Tutup reagen *pack* tanpa menekan rapat (*open soft lid*), masukkan ke dalam reagen *disk*, tutup reagen *disk* dan alat akan secara otomatis

melakukan *Reagen Registration*.

- (11) Lihat status kalibrasi di menu saat menambahkan reagen baru.
- (12) Lakukan kalibrasi reagen jika muncul keterangan "*Changeover*".
- (13) Letakan kalibrator pada rak warna hitam dengan posisi *barcode* terlihat, lalu *start*.
- (14) Buka menu di *Workplace* untuk melihat apakah kalibrator terbaca dan dikerjakan oleh alat. Status P (proses kalibrasi), status S (kalibrasi sukses) dan status F (kalibrasi gagal).
- (15) *Print out* hasil kalibrasi untuk dokumentasi.
- (16) Lakukan kontrol untuk semua parameter yang ada sampel harian.
- (17) Letakan kontrol pada rak warna putih dengan posisi *barcode* terlihat, lalu *start*.
- (18) Buka menu di *Workplace* untuk data *review*, melihat apakah kontrol terbaca oleh alat. Status P (kontrol di proses).
- (19) Buka menu *QC* pilih *run status* untuk melihat apakah kontrol dalam *range chart* -3 s.d +3 SD.
- (20) Setelah kontrol parameter selesai, dapat melakukan pemeriksaan

- (21) Letakan sampel darah pada rak sampel rutin yang berwarna abu-abu, jika sampel STAT diletakan pada rak warna merah dengan posisi *barcode* terlihat. Input manual jika *barcode* tidak terbaca oleh alat.
- (22) *Start* untuk melakukan pemeriksaan.
- (23) Buka menu di *Workplace* untuk melihat apakah semua sampel terbaca dan dikerjakan oleh instrumen.
- (24) Setelah selesai, pastikan status instrumen kembali ke *Standby*.. Lakukan *maintenance* akhir.
- (25) Keluarkan semua reagen dan simpan kembali pada *refrigerator*.
- (26) Matikan instrumen dengan pilih tombol *Shutdown*, tunggu sampai monitor alat berwarna gelap.
- (27) Tekan tombol *power* di sisi kiri alat.

2) NAT

a) Prinsip Kerja NAT

NAT (*Nucleic Acid Amplification Test*) adalah uji diagnostik virus yang mendeteksi materi genetik virus (RNA dan DNA). Prinsip kerjanya adalah

memperbanyak (amplifikasi) materi genetik virus jika ada dalam sampel seseorang sehingga jumlahnya cukup untuk dideteksi. Amplifikasi ini memungkinkan deteksi jumlah RNA virus yang sangat kecil sehingga tes ini sangat sensitif dan dapat mendeteksi virus pada tahap awal infeksi. Metode amplifikasi berupa RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) (CDC, 2020). Amplifikasi isothermal merupakan salah satu metode amplifikasi yang memungkinkan amplifikasi asam nukleat secara cepat pada suhu konstan. Berbeda seperti PCR konvensional yang memerlukan siklus suhu. metode amplifikasi isothermal meliputi *Nicking endonuclease amplification reaction* (NEAR), *Transcription mediated amplification* (TMA), *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), *Helicase-dependent amplification* (HAD), *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats* (CRISPR), *Strand displacement amplification* (SDA) (CDC, 2020; Yang *et al.*, 2024).

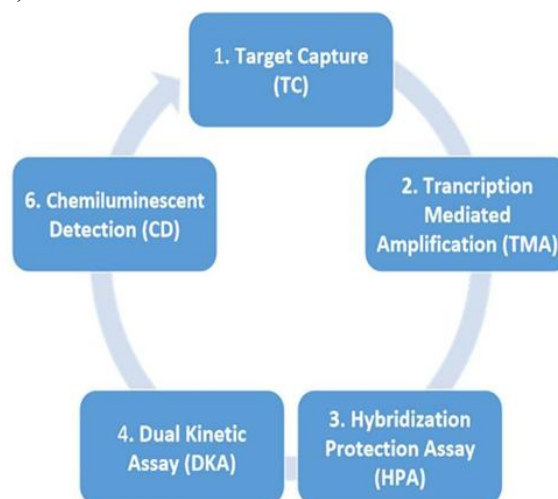
b) Keunggulan dan Kelemahan NAT

Penggunaan uji saring dengan metode ini meningkatkan keamanan darah karena DNA atau

RNA virus dapat dideteksi jauh lebih awal, sebelum antigen ataupun antibodi muncul dalam sampel darah yang terinfeksi. Memiliki sensitivitas dan spesifisitas paling tinggi, meskipun risiko nol transmisi tidak dapat dijamin (Supadmi & Purnamaningsih, 2019). Kelemahan penggunaan metode NAT (*Nucleic Acid Amplification Test*) meliputi beban kerja yang lebih besar dan biaya yang relatif tinggi untuk kit tes dan perangkat pengukuran (Wolf *et al.*, 2022).

c) Tahapan NAT

Urutan proses deteksi dengan NAT terdiri dari serangkaian prosedur (Supadmi & Purnamaningsih, 2019):



Gambar 2. 2 Alur pemeriksaan NAT (Supadmi & Purnamaningsih, 2019)

(1) *Target Capture* (TC)

Pada tahap *Target Capture* (TC), sampel

dipanaskan pada suhu tertentu (62°C) untuk melisiskan sel virus sehingga selubung sel pecah dan DNA atau RNA virus keluar. DNA/RNA ini selanjutnya ditangkap oleh probe yang dibawa mikro partikel magnetik agar tidak hilang saat pencucian, yang berfungsi menghilangkan material yang tidak spesifik dan meminimalisir inhibitor.

(2) *Transcription Mediated Amplification (TMA)*

Pada tahap *Transcription Mediated Amplification* (TMA), primer amplifikasi, enzim *Reverse Transcriptase* (RT), dan RNA Polimerase direaksikan dalam satu tabung reaksi untuk menghasilkan amplifikasi asam nukleat. Enzim *Reverse Transcriptase* berfungsi mencetak cetakan DNA komplementer (cDNA) dari RNA virus, kemudian RNA Polimerase memulai transkripsi untuk menyintesis RNA, sehingga menghasilkan berjuta-juta salinan RNA (amplikon). Metode TMA ini membuat prosedur deteksi DNA menjadi lebih sederhana dan hasilnya dapat diperoleh dengan cepat.

(3) *Hybridization Protection Assay (HPA)*

Pada tahap *Hybridization Protection Assay (HPA)*, amplikon hasil amplifikasi dilabel dengan probe yang mengandung *Acrydium Ester (AE)*, zat kemiluminesen yang dapat memancarkan cahaya. Reagen hidrolisa digunakan untuk membedakan amplikon yang berlabel dan yang tidak. AE pada amplikon yang terhibridisasi terlindung dalam struktur heliks ganda DNA sehingga emisi cahaya bertahan lebih lama.

(4) *Dual Kinetic Assay (DKA)*

Pada *Dual Kinetic Assay (DKA)*, pengukuran *Relative Light Unit (RLU)* dilakukan untuk membandingkan sinyal antara kontrol internal dan sampel. Teknologi DNA memungkinkan deteksi simultan kedua RNA yang memberikan emisi cahaya, di mana RNA virus menghasilkan sinyal cahaya yang lebih tahan lama.

(5) *Chemiluminescent Detection (CD)*

Pada tahap *Chemiluminescent Detection (CD)*, pengukuran RLU dilaksanakan

berdasarkan label probe spesifik, dengan sinyal Flasher memberikan emisi cahaya cepat untuk kontrol internal dan sinyal Glower memberikan emisi cahaya lambat dari probe virus.

(6) Interpretasi Hasil

Interpretasi hasil NAT menggunakan nilai RLU, di mana hasil positif mengindikasikan keberadaan amplikon terhibridisasi dan mengandung asam nukleat atau DNA virus dalam sampel, sehingga darah tersebut tidak layak untuk transfusi. Sebaliknya, jika amplikon terhibridisasi tidak ditemukan, sampel dianggap bebas asam nukleat sehingga darah dapat digunakan untuk transfusi.

d) Prosedur Operasional NAT

Berikut adalah prosedur operasional NAT menggunakan *Grifols Procleix Panther System*:

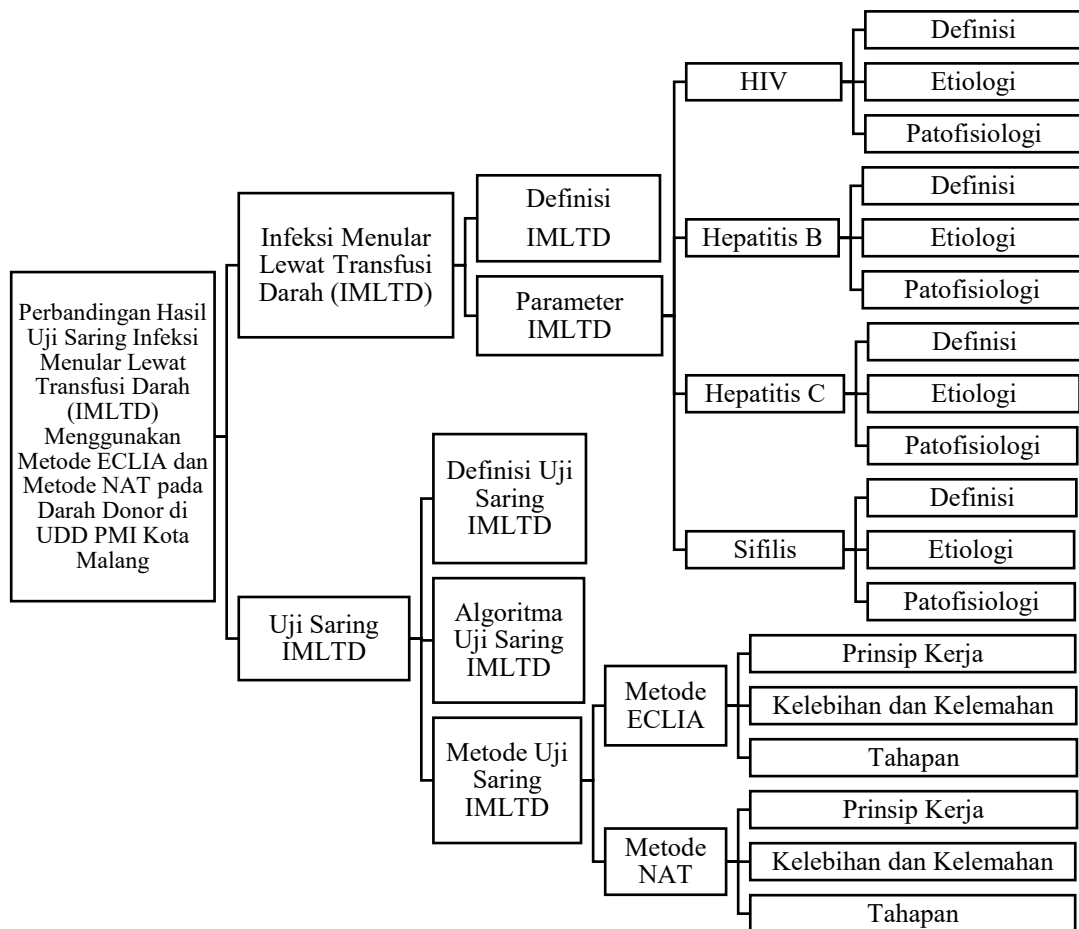
- (1) Lakukan *Maintenance*, tekan tombol *perform maintenance*, lakukan *Mag wash clean*.
- (2) Mengeluarkan reagen *probe*, *Enzyme*, *Internal Control*, dan *Amplification* dari penyimpanan *freezer*.

- (3) Mengeluarkan reagen *target Capture Reagent* (TCR) dari penyimpanan *refrigerator*.
- (4) Siapkan reagen *Target Enhancer Reagent* atau (TER) dan *Selection* yang ada di penyimpanan suhu ruang.
- (5) Pastikan semua reagen dari master LOT yang sama.
- (6) Nyalakan *Reagent Preparation Incubator* (RPI) sesuai SPO alat RPI.
- (7) Pastikan semua tutup reagen yang masuk ke dalam RPI rapat dan posisi *barcode* menghadap keluar (khusus TCR / wTCR harus di homogenkan terlebih dahulu).
- (8) Pilih program lalu jalankan RPI.
- (9) Nyalakan *Independent Temperature Monitor* (ITM) dan tekan tombol Hi/Lo Limit dan tombol Min/Max.
- (10) Siapkan *calibrator* yang sesuai dengan master lot dari *freezer*.
- (11) Biarkan *calibrator* dan *Internal control* mencair pada suhu ruang. Tuang *Internal control* pada *target capture reagent* (jika memakai kit baru).

- (12) Keluarkan reagen dari RPI dengan hati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara pada botol reagen.
- (13) Letakkan reagen ke dalam rak reagen sesuai *barcode*.
- (14) Tekan tombol *load assay reagent* atau langsung buka *reagent bay*.
- (15) Masukkan reagen pada salah satu jalur.
- (16) Buka pintu TCR masukkan wTCR dan TER pada posisi sesuai dengan jalur rak reagen yang digunakan.
- (17) Tutup kembali pintu TCR dan tunggu proses pindai w TCR dan TER dilanjutkan dengan pindai *barcode* dari botol *internal control* dengan *scanner* manual.
- (18) Lakukan pemeriksaan kalibrator yang sesuai dengan master lot reagen.
- (19) Jika hasil kalibrator valid, maka alat siap digunakan untuk pengujian cetak dan kalibrasinya.
- (20) Lakukan pengujian darah dengan memasukkan sampel darah yang sudah dipindai dan ditata pada rak sampel pada alat sampel *boy*.

- (21) Tunggu sampai proses pengujian selesai.
- (22) Cetak hasil pengujian dan lakukan transfer atau import data ke SIMDONDAR secara manual dengan file LIS.
- (23) Jika didapat hasil reaktif pada kasus tertentu untuk mengetahui parameternya dilakukan pemeriksaan diskriminatori (kondisional).
- (24) Keluarkan *assay reagent* dari alat dan simpan kembali ke *refrigerator* reagen.
- (25) Keluarkan rak sampel dari alat buang kalibrator.
- (26) Dekontaminasi area kerja dengan menggunakan cairan hipoklorit 0,5%, lalu dilakukan pembersihan dengan cairan alkohol 70% dan tunggu kering.
- (27) Pencatatan hasil dan stok reagen.

B. Kerangka Teori



Gambar 2. 3 Kerangka Teori

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat perbedaan antara hasil uji saring Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) menggunakan metode ECLIA dan metode NAT pada darah donor di UDD PMI Kota Malang.